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

**Pós-colheita de nêspera ‘Fukuhara’: efeito de compostos salicilados,
1-metilciclopropeno e tratamentos térmicos**

Fernando Kazuhiro Edagi

Dissertação apresentada para obtenção do título de de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Fitotecnia

**Piracicaba
2009**

Fernando Kazuhiro Edagi
Engenheiro Agrônomo

Pós-colheita de nêspera 'Fukuhara': efeito de compostos salicilados, 1-metilciclopropeno e tratamentos térmicos

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO ALFREDO KLUGE**

Dissertação apresentada para obtenção do título de de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2009

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

Edagi, Fernando Kazuhiro

Pós-colheita de nêspera 'Fukuhara': efeito de compostos salicilados, 1-metilciclopropeno e tratamentos térmicos / Fernando Kazuhiro Edagi. - - Piracicaba, 2009.
86 p. : il.

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

1. Armazenagem de alimentos 2. Lignina 3. Nêspera 4. Pós-colheita 5. Refrigeração
6. Tratamento térmico I. Título

CDD 634.16
E21p

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

**Ao meu avô,
Sr. Suehiro Kano**

DEDICO

**Aos meus pais
e eternos ídolos,
Yusi e Olga**

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Yusi e Olga pelo apoio, dedicação e ajuda durante minha vida toda. Serei eternamente grato à vocês!

Ao Prof. Ricardo pela orientação, ensinamentos, churrascos e apoio durante esses cinco anos de trabalho. Sem esquecer dos 33,3% da avaliação da Fapesp.

Aos atuais e ex-membros do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita: Ivan “Magrão”, “Doc” Di-lúvio, Baguiña, Juan, Dedê, Dani Vitti, Mariana, Aninha, Til, Bia, Mindaña, Patinêti, K-ravela, Daniops, Lagarto, Nas-coxa, Félixion, In-k-ntado, Miñoleta, Superpop e Reqbra. Sem a ajuda de vocês, esse trabalho não seria possível.

À Associação Frutícola do Alto Tietê (AFRUT), em especial ao Mark Ide, pela doação dos frutos de nespereira, possibilitando a realização desse trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de mestrado e auxílio pesquisa.

Aos ex-moradores da Rep. ½-D-Kultura, irmãos que nunca tive: Tāpiko (Sex Symbol), Palmilha (Ah?), Chuck (Veja bem), K-miña (Frango), Skarro (Sandrinha), 3/4 (Blue Label) e Donha (Mai porque?), pelas conversas, risadas e “calores até chorar”.

Aos moradores e ex-moradores da Rep. Área 51: Ja-q-ta, Māco, Sr. Miagui, Yoda, Gônada, Alejado e Fidéu pelas conversas, mas principalmente pelas risadas!

Ao MSc. Marcelão pelas conversas, risadas e esporádicas hospedagens.

Não poderia deixar de agradecer meu grande amigo Zé Prata pelas inúmeras risadas, jogos do Todo Poderoso Corinthians, conversas e apoio, tanto na vida acadêmica, quanto na vida pessoal.

Agradeço à Gér, minha namorada, pelo carinho, companhia e apoio durante todo esse tempo.

“A sabedoria da vida não está em fazer aquilo que se gosta, mas em gostar daquilo que se faz”

Leonardo da Vinci

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

Edagi, Fernando Kazuhiro

Pós-colheita de nêspera 'Fukuhara': efeito de compostos salicilados, 1-metilciclopropeno e tratamentos térmicos / Fernando Kazuhiro Edagi. - - Piracicaba, 2009.
86 p. : il.

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

1. Armazenagem de alimentos 2. Lignina 3. Nêspera 4. Pós-colheita 5. Refrigeração
6. Tratamento térmico I. Título

CDD 634.16
E21p

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

SUMÁRIO

RESUMO ..	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Revisão bibliográfica	16
1.1.1 Generalidades sobre a cultura	16
1.1.2 Refrigeração	17
1.1.3 Tratamentos associados à refrigeração	19
Referências	21
2 COMPOSTOS SALICILADOS AMENIZAM INJÚRIA POR FRIO EM	25
NÊSPERAS 'FUKUHARA' REFRIGERADAS	
Resumo	25
Abstract	25
2.1 Introdução	26
2.2 Material e Métodos	27
2.3 Resultados e Discussão	30
2.4 Considerações finais	38
Referências	39
3 REDUÇÃO DE INJÚRIAS POR FRIO EM NÊSPERAS 'FUKUHARA' COM	43
APLICAÇÕES DE 1-METILCICLOPROPENO E SALICILATO DE METILA.....	
Resumo	43
Abstract	43
3.1 Introdução	44
3.2 Material e Métodos	46
3.3 Resultados e Discussão	48
3.4 Considerações finais	58
Referências	59
4 AUMENTO DO POTENCIAL DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE	63
NÊSPERAS 'FUKUHARA' UTILIZANDO TRATAMENTOS TÉRMICOS	
Resumo	63

Abstract	63
4.1 Introdução	64
4.2 Material e Métodos	65
4.3 Resultados e Discussão	68
4.4 Considerações finais	76
Referências	77
APÊNDICES.....	81

RESUMO

Pós-colheita de nêspira 'Fukuhara': efeito de compostos salicilados, 1-metilciclopropeno e tratamentos térmicos

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver técnicas para o aumento da conservação de nêspiras cv. Fukuhara, evitando a perda de suculência, enrijecimento e escurecimento da polpa dos frutos. Para tal, aliou-se ao armazenamento refrigerado (1°C) a aplicação de compostos salicilados, 1-metilciclopropeno e tratamentos de condicionamento térmico. Em um primeiro experimento foi aplicado o ácido salicílico (AS) por imersão nas concentrações de 0, 1, 10 e 100mM e o salicilato de metila (MeSA) na forma gasosa a 0,05mM. No segundo experimento foi aplicado o 1-metilciclopropeno (1-MCP) a 0, 50, 500 e 5000nL L⁻¹, além da aplicação de MeSA (0,01mM), associado ou não ao 1-MCP (500nL L⁻¹). No terceiro experimento, os seguintes tratamentos foram aplicados: Controle: armazenamento a 1°C durante 60 dias; Padrão: armazenamento a 5°C durante 60 dias; Condicionamento térmico 1: armazenamento a 5°C durante 7 dias e 1°C durante 53 dias; Condicionamento térmico 2: armazenamento a 10°C durante 7 dias e 1°C durante 53 dias; Aquecimento intermitente: ciclos de 6 dias a 1°C + 1 dia a 15°C durante 60 dias; Aquecimento 1: condicionamento dos frutos a 37°C durante 3h e 1°C durante 60 dias; Aquecimento 2: condicionamento dos frutos a 37°C durante 6h e 1°C durante 60 dias. Nos três experimentos, os frutos foram armazenados durante 60 dias em bandejas de tereftalato de polietileno (PET) e embalados com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 14 µm. As determinações realizadas foram: firmeza de polpa, índice de escurecimento e podridão, acidez titulável, pH, teor de sólidos solúveis, teor de ácido ascórbico, teor de compostos fenólicos, atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). As avaliações foram realizadas após 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento. A aplicação de 1mM de AS e 0,05mM de MeSA diminuíram a incidência de escurecimento interno enquanto concentrações superiores a 10mM de AS provocaram fitotoxidez nos frutos. Aplicação de 0,05mM de MeSA foi eficiente no controle de enrijecimento de polpa. A aplicação de 1-MCP foi eficiente no controle do escurecimento interno, enquanto que a aplicação de aquecimento intermitente e aquecimento a 37°C durante 3 horas foram eficientes no controle de escurecimento interno dos frutos.

Palavras-chave: *Eriobotrya japonica*; Refrigeração; Aquecimento intermitente; Etileno

ABSTRACT

Postharvest of loquat fruit 'Fukuhara': effect of salicylate compounds, 1-methylcyclopropene and heat treatments

The aim of this work was to develop new techniques to improve the loquat fruit 'Fukuhara' conservation, avoiding juiciness loss, increase in firmness and pulp internal browning. For this, allow to cold storage the application of salicylate compounds, 1-methylcyclopropene and temperature conditioning. In the first experiment four concentration of salicylic acid (SA) were applied: 0, 1, 10 and 100mM, and one concentration of methyl salicylate (MeSA) in gas: 0.05mM. In the second experiment four concentration of 1-MCP were applied: 0, 50, 500 and 5000nL L⁻¹ in addition to 0,01mM of MeSA, associated or not to 500nL L⁻¹ of 1-MCP. In the third experiment the treatment applied were: Control: storage at 1 °C for 60 days; Standard: storage at 5 °C for 60 days; Temperature conditioning 1: storage at 5 °C for 7 days and 1 °C for 53 days; Temperature conditioning 2: storage at 10 °C for 7 days and 1 °C for 53 days; Intermittent warming: cycles of 6 days at 1 °C + 1 day at 15 °C for 60 days; Heat treatment 1: fruit conditioning at 37 °C for 3h + 1 °C for 60 days; Heat treatment 2: fruit conditioning at 37 °C for 6h + 1 °C for 60 days. In the three trials, the fruits were packed in polyethylene tereftalate (PET) with PVC plastic film (14 µm thick). The parameters analyzed was: pulp firmness, decay and internal browning incidence, titratable acidity, pH, soluble solids content, ascorbic acid content, phenolic compounds content, activity of phenylalanine ammonium liase (PAL), polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD). The evaluation was made after 15, 30, 45 and 60 days of storage. The SA (1mM) and MeSA (0.05mM) were efficient to decrease internal browning incidence while the highest concentrations of SA caused phytotoxic effect in the fruit. The (0.05mM) was able in controlling of increase of pulp firmness. The 1-MCP was efficient to control the pulp internal browning; Intermittent warming and heat at 37 °C for 3h were efficient to control internal browning in pulp of the fruit.

Keywords: *Eriobotrya japonica*; Cold storage; Intermittent warming; Ethylene

1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta elevados níveis de perdas pós-colheita, segundo estimativas, entre 30 e 40% da produção anual das frutas e hortaliças deixam de ser consumidas no país (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2004). Vários fatores contribuem para este quadro desalentador, incluindo colheita e transporte inadequados, falta de cadeia de frio ou utilização inadequada da mesma, embalagens inapropriadas, entre outros.

Neste sentido, a redução de perdas pós-colheita torna-se de fundamental importância tanto do ponto de vista econômico quanto científico. É preferível um esforço na melhoria de técnicas pós-colheita que propiciem melhor conservação dos produtos maximizando os recursos disponíveis do que perseguir incrementos na produção.

A nêspera apresenta um curto período de vida pós-colheita, devido à perda de água por transpiração, elevada taxa de respiração, alta suscetibilidade a podridões e rápida perda do valor nutricional. O escurecimento da polpa (“internal browning”), a lignificação de tecidos e a perda de suculência são outros problemas encontrados na pós-colheita da nêspera (BRACKMANN et al., 2004).

O maior produtor mundial de nêspera in natura é o Japão, seguido por Israel e Brasil. No Brasil, o estado de São Paulo se destaca por apresentar praticamente 90% da produção nacional, concentrada nos municípios de Mogi das Cruzes e São Miguel Arcanjo. O maior volume produzido de nêspersas é de origem familiar, proveniente de pequenas propriedades, com média de 20 ha, e produtividade de 1500 t ano⁻¹.

A maneira mais efetiva de prolongar o armazenamento de frutas é a refrigeração. Porém, não existem muitos estudos e resultados a respeito desse método de conservação em nêspersas. A utilização de tratamentos químicos que são potencialmente prejudiciais tanto ao homem quanto ao ambiente estão sendo cada vez menos utilizados. Dessa forma, tratamentos físicos como o condicionamento térmico e tratamentos com compostos naturais e atóxicos estão sendo pesquisados em várias frutas e podem representar uma mudança nos tratamentos pós-colheita, tendo uma boa receptividade entre os produtores e consumidores.

A refrigeração tem sido utilizada como a principal técnica de conservação de frutos e hortaliças, entretanto, longos períodos de armazenamento podem provocar

desordens fisiológicas, como as injúrias pelo frio (“chilling injury”). Neste sentido, o aumento do benefício da refrigeração pode ser alcançado com técnicas complementares. Dentre essas técnicas, encontram-se: o condicionamento térmico em temperaturas baixas ou amenas, o aquecimento intermitente durante o armazenamento e o choque de calor para indução de resistência cruzada ao frio (KLUGE et al., 2006). Outras técnicas incluem a aplicação de compostos salicilados e 1-metilciclopropeno (1-MCP). Os compostos salicilados, considerados por alguns como hormônios vegetais, são naturais e pouco utilizados em pós-colheita, mas que pode estar envolvido com a redução na produção de etileno. Já o 1-MCP, descoberto em 1995, apresenta um grande potencial para uso de vários frutos, tendo já aplicações comerciais. Tanto os compostos salicilados quanto o 1-MCP tem sido pouco testados em nêspere e uma vez conhecidos seus efeitos para as condições de cultivo do Estado de São Paulo, podem contribuir para a ampliação do período de armazenamento e comercialização desta fruta. A nêspere apresenta alto valor comercial, e os estudos de pós-colheita dessa fruta podem contribuir para uma maior expansão da cultura e para estimular uma maior diversificação no consumo de frutas frescas pelos brasileiros.

Surge daí a necessidade do conhecimento das principais transformações físicas, fisiológicas e bioquímicas dos frutos de nêspere, como suporte para a aplicação de tecnologias adequadas de conservação pós-colheita, que não só contribuam para a redução das perdas pós-colheita, como também para um maior desenvolvimento da fruticultura no Brasil.

1.1 Revisão bibliográfica

1.1.1 Generalidades sobre a cultura da nêspere

A nêspere (*Eriobotrya japonica* Lindl.) pertence à família das *Rosaceae*, subfamília *Maloideae* e gênero *Eriobotrya*. Seus frutos são ovais, com 3 a 7 cm de diâmetro, com uma casca aveludada e macia de cor amarelo-alaranjada. A polpa é suculenta e doce ou ácida, dependendo da variedade e estágio de maturação do fruto. Cada fruto contém de 3 a 5 sementes de cor marrom.

Considerada uma planta de clima sub-tropical, seus frutos são sensíveis ao dano pelo frio quando submetidos a temperaturas inferiores a 5°C (DING et al., 2006). Seus frutos são considerados não climatéricos (AWAD, 1993), embora alguns autores tenham observado incremento na produção de etileno após a colheita e no amadurecimento (HAMAUZU et al., 1997).

A nêspera foi introduzida no Japão, atual maior produtor mundial, onde se adaptou e tem sido cultivada por mais de mil anos. Também se adaptou ao clima da Índia e aos países mediterrâneos como Turquia, Líbano, Grécia, sul da Itália, Portugal e Espanha. Destacam-se, também, como principais produtores mundiais, o Brasil e Israel (CAPTA, 2006).

No Brasil, São Paulo é o Estado que apresenta maior volume de produção, onde se destacam os municípios de Mogi das Cruzes e São Miguel Arcanjo (MELO; LIMA, 2003). As cultivares mais plantadas são: Fukuhara, Mizuho, Mogi, Precoce de Itaquera e Mizauto. Seu período de safra é curto, compreendendo final de julho a meados de novembro. Sua escassez no mercado nacional no período de entressafra é muito grande. Dessa forma, a capacidade de armazenar nêspersas num período longo pode ser de grande auxílio aos produtores na comercialização durante o período de entressafra. Outro aspecto é que o período da safra brasileira corresponde à época da entressafra dos demais produtores mundiais. Assim, soma-se a importância do desenvolvimento de tecnologias pós-colheita que possibilitem a exportação e comercialização em países como Estados Unidos, países europeus e asiáticos.

Seu consumo pela maioria da população é na forma in natura, porém, pode ser consumido também na forma de compotas e geléia. Dentre as características nutricionais, os teores de fósforo, cálcio, potássio e vitamina C se destacam na nêspera (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006).

1.1.2 Refrigeração

Em condições de armazenamento no ambiente, sem o controle de temperatura e umidade, a vida útil da nêspera é de 6 a 9 dias. Por outro lado, o armazenamento a 0°C provoca sintomas relacionados à formação de injúria pelo frio, que aparecem após 9

dias de armazenamento (CAI et al., 2006a). Alguns autores encontraram como faixa ideal para o armazenamento as temperaturas entre 1 e 5°C, o que permite o armazenamento durante 30 dias sem o comprometimento da qualidade dos frutos (DING et al., 1998). Esses mesmos autores observaram que temperaturas de armazenamento entre a 10 e 20°C propiciam vida útil de 15 e 20 dias, respectivamente.

Dentre os sintomas de formação de injúria pelo frio em nêspera, estão: escurecimento interno (“internal browning”) e externo, lignificação do tecido, adesão da casca à polpa, perda de suculência e aumento da firmeza (CAI et al., 2006b; DING et al., 2002).

De acordo com Cai et al. (2006b), o escurecimento interno da polpa está relacionado com a oxidação de compostos fenólicos e com o aumento da atividade da enzima polifenoloxidase (PPO). Ding et al. (1998) observaram que o escurecimento da polpa, é acompanhado pela queda dos valores dos fenóis totais e o aumento da atividade da polifenoloxidase (PPO). O escurecimento da polpa também foi observado quando nêspersas são armazenadas em temperaturas elevadas, podendo estar relacionado com a deterioração pela senescência e devido à atmosfera modificada contendo concentrações superiores a 12% de dióxido de carbono (DING et al., 1998).

Outro sintoma de injúria por frio em nêspera é a lignificação do tecido, que causa adesão da casca à polpa, dificultando a retirada da casca, também relacionada com a perda de suculência e aumento da firmeza da polpa. Além de estar relacionada com danos de frio, a lignificação também pode ser relacionada com danos mecânicos em alguns frutos como o mangostão. No processo de lignificação, a enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) está relacionada com o início do processo de formação de monômeros, que serão polimerizados através da atividade da peroxidase (POD) e assim sendo depositada na parede celular (CAI et al., 2006b). Acredita-se que o aumento da firmeza da polpa, não muito comum na senescência dos frutos, esteja relacionada com a lignificação e não com a perda de água por transpiração, pois frutos que apresentaram perdas de massa inferiores a 0,7% num período de 30 dias apresentaram, da mesma forma, aumento da firmeza da polpa e a perda de suculência, acompanhadas do aumento de teores de lignina (CAI et al., 2006c).

1.1.3 Tratamentos associados à refrigeração

No caso da nêspera, como em vários outros frutos, somente o armazenamento refrigerado não é suficiente para prolongar a conservação pós-colheita, devido à formação de injúrias pelo frio. Desta forma, é necessário realizar tratamentos complementares à refrigeração, tratamentos esses que promovam indução de resistência a estas injúrias.

O condicionamento térmico consiste em expor os frutos a temperaturas acima da temperatura mínima de segurança, por curtos períodos, antes de armazená-los. Frutos e vegetais expostos a temperaturas um pouco acima da temperatura crítica de formação de injúria por frio mostraram ser mais resistentes quando armazenadas logo em seguida a baixas temperaturas (WANG et al., 1992). Cai et al. (2006c) observaram que resfriamento de 5°C durante 6 dias antes de serem armazenadas a 0°C aumenta significativamente a vida de prateleira e a qualidade de nêspersas, sendo que sintomas de injúria pelo frio foram bastante reduzidos. O condicionamento de frutos de tangor 'Murcote' em temperaturas de 37°C durante 3 dias e 52°C por 15 minutos aumentaram a resistência dos frutos à formação de injúria pelo frio (EDAGI et al., 2004; KLUGE et al., 2006).

O aquecimento intermitente consiste na interrupção da baixa temperatura de armazenamento, por um ou mais períodos de alta temperatura. Esse tratamento deve ser realizado antes dos danos tornarem-se irreversíveis, o que varia de acordo com o produto (KLUGE et al., 1997). Foi verificada eficiência no controle de injúrias pelo frio com a aplicação do aquecimento intermitente em limão (COHEN, 1988; KLUGE et al., 2006), tangor 'Murcote' (EDAGI et al., 2004; KLUGE et al., 2006), tomate (CABRERA; SALTVEIT, 1990; ARTÉS; ESCRICHE, 1994; KLUGE et al., 1998b), pepino e abobrinha (WANG, 1993), pêssago (KLUGE et al., 1996), ameixa (KLUGE et al., 1997), berinjela, quiabo e pimentão (KLUGE et al., 1998a). No armazenamento refrigerado de nêspersas, os sintomas de injúria pelo frio começam a aparecer aos 9 dias de armazenamento a 0°C (CAI et al., 2006d), o que permite presumir que períodos menores que 9 dias de armazenamento a essa temperatura não provocam danos irreversíveis aos tecidos do fruto.

Um composto naturalmente produzido pelas plantas e utilizado em tratamentos de pós-colheita é o ácido salicílico. O ácido salicílico é um composto fenólico natural que está envolvido em processos do desenvolvimento da planta, incluindo o amadurecimento e a senescência do fruto. Pode também reduzir a concentração de radicais livres e diminuir a atividade de enzimas como a fenilalanina amônia-liase (PAL) e a peroxidase (POD), enzimas estas relacionadas com o processo de lignificação de tecidos (CAI et al., 2006b). Além disso, o ácido salicílico está relacionado com a redução da atividade da ACC oxidase, enzima formadora do etileno, e com a indução de defesa da planta contra estresse biótico e abiótico. Este composto também pode provocar aumento da tolerância às injúrias pelo frio. Utilizado na pós-colheita de nêspera, o ácido salicílico apresentou resultados positivos, impedindo a lignificação dos tecidos, o escurecimento de polpa e a perda de suculência, além de aumentar a vida útil do fruto (CAI et al., 2006d). Porém, em frutas cítricas, como lima 'Tahiti' (JOMORI et al., 2004) e tangor 'Murcote' (EDAGI et al., 2004), a aplicação de ácido salicílico não apresentou resultado satisfatório para a indução de resistência ao frio.

Outro método para aumentar o período de armazenamento de frutos é o controle da produção e da ação do etileno. A maturação de frutos não-climatéricos aparentemente é independente da ação do etileno, porém, alguns estudos estão sendo realizados e constatando que frutos não climatéricos respondem à presença de etileno exógeno, estimulando a respiração e acelerando processos de amadurecimento, tal como verificado em cerejas (GONG et al., 2002), frutos cítricos (PORAT et al., 1999) e morangos (TIAN et al., 2000). Em nêspersas, Cai et al. (2006c) observaram que a aplicação de etileno acelera a manifestação de sintomas de injúria pelo frio, inviabilizando a comercialização dos frutos em um intervalo de tempo muito mais curto. Já a aplicação de 1-MCP retarda o aparecimento desses sintomas, aumentando o tempo de armazenamento dos frutos e mantendo a qualidade desejada pelo consumidor. O 1-MCP também diminuiu a atividade da polifenoloxidase (PPO), provocando uma menor oxidação dos compostos fenólicos e, assim, retardando o escurecimento da polpa.

Desta forma, os tratamentos térmicos e a aplicação de ácido salicílico e 1-MCP podem incrementar a tolerância do produto às baixas temperaturas e diminuir a

incidência de podridões, possibilitando assim o armazenamento dos frutos por um maior período de tempo. Entretanto, não só o conhecimento dos efeitos dos tratamentos é importante, mas também a viabilidade prática e econômica da técnica que, uma vez estabelecida, podem tornar o tratamento aplicável em nível comercial para as nossas condições.

Referências

ARTÉS, F.; ESCRICHE, A.J. Intermittent warming reduces chilling injury and decay of tomato fruit. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, p. 1053-1056, Feb. 1994.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114 p.

BRACKMANN, A.; SAQUET, A.A.; CERETTA, M.; STORCK, L. Armazenamento de nêspas (*Eriobotrya japonica*, Lindl.) cv. Mizuho em atmosfera modificada. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 9, p. 18-24, dez. 2004.

CABRERA, R.M.; SALTVEIT Jr., M.E. Physiological response to chilling temperatures of intermittent warmed cucumber fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, p. 256-261, Mar. 1990.

CAI, C.; LI, X.; CHEN, K.; SHAN, L. Acetylsalicylic acid alleviates chilling injury of postharvest loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v. 223, p. 533-539, Aug. 2006a.

CAI, C.; XU, C.; LI, X.; FERGUSON, I.; CHEN, K. Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 163-169, Mar. 2006b.

CAI, C.; CHEN, K.; XU, W.; ZHANG, W.; LI, X.; FERGUSON, I. Effect of 1-MCP on postharvest quality of loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 155-162, Mar. 2006c.

CAI, C.; XU, C.; SHAN, L.; LI, X.; ZHOU, C.; ZHANG, W.; FERGUSON, I.; CHEN, K. Low temperature conditioning reduces postharvest chilling injury in loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, p. 252-259, Apr. 2006d.

CENTRO AVANÇADO DE PESQUISA DE TECNOLOGIA DO AGRONEGÓCIO FRUTAS. Disponível em <www.iac.sp.gov.br>. Acesso em: 18 set. 2006.

COHEN, E. Commercial use of long-term storage of lemon with intermittent warming. **HortScience**, Alexandria, v. 23, p. 400, Feb. 1988.

DING, C.; CHACHIN, K.; UEDA, Y.; IMAHORI, Y.; WANG, C.Y. Modified atmosphere packaging maintains postharvest quality of loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, p. 341-348, Sept. 2002.

DING, Z.; TIAN, S.; WANG, Y.; LI, B.; CHAN, Z.; HAN, J.; XU, Y. Effects of storage temperatures on physiology and quality of loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 14, p. 309-315, Nov. 1998.

_____. Physiological response of loquat fruit to different storage conditions and its storability. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, p. 143-150, Apr. 2006.

EDAGI, F.K.; TERRA, F.A.M; MIGUEL, P.; KLUGE, R.A. Injúrias pelo frio em tangores 'Murcote' submetidos a diferentes tratamentos de estímulo e bloqueio do etileno. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 12., 2004, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 2004. 1 CD-ROM.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agrianual**: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo, 2004. 498 p.

GONG, Y.; FAN, X.; MATTHEIS, J.P.; HARTMAN, C. Response of 'Bing' and 'Rainer' sweet cherries to ethylene and 1-methylcyclopropene. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 42, p. 38-43, Oct. 2002.

HAMAUZU, Y.; CHACHIN, K.; DING, C.; KUROOKA, H.; DING, C.K. Difference in surface color, flesh firmness, physiological activity, and some components of loquat fruits picked at various stages of maturity. **Journal of Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto, n. 65, p. 859-865, Jan. 1997.

JOMORI, M.L.L.; FELICIO, A.H.; KLUGE, R.A.; EDAGI, F.K. Envolvimento do etileno na manifestação de injúria pelo frio em lima ácida 'Tahiti'. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 19, p. 27-28, Set. 2004.

KLUGE, R.A. FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; BILHALVA, A.B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: UFPel, 1997. 163 p.

KLUGE, R.A.; RODRIGUES, D.S.; MINAMI, K.; TESSARIOLI, J. Aquecimento intermitente de tomates: efeito sobre injúrias pelo frio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, p. 4-6, Mar. 1998a.

KLUGE, R.A.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; BILHALVA, A.B.; FACHINELLO, J.C. Aquecimento intermitente em pêssegos 'Br-6' frigoconservados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 543-547, mar. 1996.

KLUGE, R.A.; MODOLO, V.A.; JACOMINO, A.P.; SCARPARE FILHO, J.A.; TESSARIOLI NETO, J.; MINAMI, K. Comportamento de três hortaliças de fruto submetidas ao aquecimento intermitente durante a frigoconservação. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, p. 473-479, jun. 1998b.

KLUGE, R.A.; AZEVEDO, R.A.; JOMORI, M.L.L.; EDAGI, F.K.; JACOMINO, A.P.; GAZIOLA, S.A.; AGUILA, J.S. Efeitos de tratamentos térmicos aplicados sobre frutas cítricas armazenadas sob refrigeração. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, p. 1388, set. 2006.

MELO, A.A.M.; LIMA, L.C.O. Influência de três diferentes embalagens de PVC na vida pós-colheita de nêspera. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 1330-1339, Dez. 2003.

PORAT, R.; WISS, B.; COHEN, L.; DAUS, A.; GOREN, R.; DROBY, S. Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of 'Shamouti' oranges. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, p. 155-163, Sept. 1999.

TIAN, M.S.; PRAKASH, S.; ELGAR, H.J.; YOUNG, H.; BURMEISTER, D.M.; ROSS, G.S. Responses of strawberry fruit to 1-methylcyclopropene (1-MCP) and ethylene. **Plant Growth Regulation**, Amsterdam, v. 32, p. 83-90, June 2000.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentos. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. Campinas: UNICAMP, NEPA, 2006. 114 p.

WANG, C.Y. Approaches to reduce chilling injury of fruits and vegetables. **Horticultural Reviews**, Leuven, v. 15, p. 63-95, Mar. 1993.

WANG, C.Y. KRAMER, G.F.; WHITAKER, B.D.; LUSBY, W.R. Temperature preconditioning increases tolerance to chilling injury and alters lipid composition in zucchini squash. **Journal of Plant Physiology**, Kusterdingen, v. 140, p. 229-235, July 1992.

2 COMPOSTOS SALICILADOS AMENIZAM INJÚRIA POR FRIO EM NÊSPERAS 'FUKUHARA' REFRIGERADAS

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da aplicação de compostos salicilados, visando o aumento do potencial de armazenamento de nêspas 'Fukuhara', através do controle do enrijecimento e escurecimento da polpa, sintomas estes de injúrias pelo frio. Foram aplicadas, por imersão, quatro concentrações de ácido salicílico (AS): 0, 1, 10 e 100mM; e, na forma gasosa, uma concentração de salicilato de metila (MeSA) - 0,05mM. Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram armazenados durante 60 dias a 1°C em bandejas de tereftalato de polietileno (PET) e embalados com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 14 µm. As determinações realizadas foram: firmeza de polpa, índice de escurecimento e podridão, acidez titulável, pH, teor de sólidos solúveis, teor de ácido ascórbico, teor de compostos fenólicos, atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). As avaliações foram realizadas após 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento. A aplicação de AS (1mM) e de MeSA diminuíram a incidência de escurecimento interno enquanto as concentrações superiores de AS (10 e 100mM) provocaram fitotoxidez nos frutos. A aplicação do MeSA foi eficiente no controle de enrijecimento de polpa.

Palavras-chave: *Eriobotrya japonica*; Ácido salicílico; Salicilato de metila; Escurecimento interno; Enrijecimento de polpa

Abstract

The aim of this study was to verify the effect of treatments with salicylic compounds in 'Fukuhara' loquat cold stored, to avoid the increase of firmness and internal browning of pulp, typical symptom of chilling injury. Four concentration of salicylic acid (AS) by immersion were applied: 0, 1, 10 and 100mM; and one concentration of methyl salicylate (MeSA) in gas (0,05mM) was used. After the treatments, fruit were stored at 1°C for 60 days in PET packed with PVC plastic film (14 µm thick). Pulp firmness, pH, titratable acidity, soluble solids content, ascorbic acid content, phenolic compounds content, activity of phenylalanine amônia-liase (PAL), polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) were evaluated. The assessments were performed after 15, 30, 45 and 60 days of storage. The application of 1mM of SA and 0,05mM of MeSA alleviates the internal browning and the highest concentrations of SA (10 or 100mM) caused phytotoxic effect in the fruit.. Treatment with 0,05mM of MeSA was efficient to control the increase in pulp firmness.

Keywords: *Eriobotrya japonica*; Salicylic acid; Methyl-salicylate; Internal browning; Firmness increase

2.1 Introdução

A nêspira (*Eriobotrya japonica* Lindl.) pertence à família das *Rosaceae*, subfamília *Maloideae* e gênero *Eriobotrya*. Seus frutos são ovais, com 3 a 7 cm de diâmetro, com uma casca aveludada e macia de cor amarelo-alaranjada. A polpa é succulenta e doce ou ácida, dependendo da variedade e estágio de maturação do fruto. Cada fruto contém de 3 a 5 sementes de cor marrom. Considerada uma planta de clima sub-tropical, seus frutos são sensíveis ao dano pelo frio quando submetidos a temperaturas inferiores a 5°C (DING et al, 2006). Seus frutos são considerados não climatéricos (AWAD, 1993), porém, alguns autores observaram incremento na produção de etileno após a colheita e no amadurecimento (HAMAUZU et al., 1997).

A nêspira apresenta um curto período de vida pós-colheita, devido à perda de água por transpiração, elevada taxa de respiração, alta suscetibilidade a podridões e rápida perda do valor nutricional. O escurecimento da polpa (“internal browning”), a lignificação de tecidos e a perda de succulência são outros problemas encontrados na pós-colheita da nêspira (BRACKMANN et al., 2004).

A maneira mais efetiva de prolongar o armazenamento de frutas é a refrigeração. Porém, para nêspiras poucos estudos desta técnica de conservação existem na literatura, o que prejudica as aplicações práticas de refrigeração. Adicionalmente, a refrigeração por longos períodos podem provocar danos de frio (“chilling injury”) nos frutos em geral, prejudicando a sua qualidade durante a posterior comercialização.

A utilização de tratamentos químicos que são potencialmente prejudiciais tanto ao homem quanto ao ambiente estão sendo cada vez menos utilizados. Dessa forma, tratamentos com compostos naturais e atóxicos estão sendo pesquisados em várias frutas e podem representar uma mudança nos tratamentos pós-colheita, tendo uma boa receptividade entre os produtores e consumidores. Dentre os compostos com potencial de uso estão os compostos salicilados. O ácido salicílico é um composto fenólico natural que está envolvido em processos do desenvolvimento da planta, incluindo o amadurecimento e a senescência do fruto. Pode também reduzir a concentração de radicais livres e diminuir a atividade de enzimas como a fenilalanina amônia-liase (PAL) e a peroxidase (POD), enzimas relacionadas com o processo de lignificação de tecidos

(CAI et al., 2006b). Além disso, o ácido salicílico está relacionado com a redução da atividade da enzima ACC oxidase, participante da rota metabólica de produção de etileno, estando também relacionado com a indução de defesa da planta contra estresse biótico e abiótico, e também com o aumento da tolerância à injúria pelo frio.

Os compostos salicilados podem conferir tolerância a diversos tipos de estresse, não apenas ao “chilling” (SENARATNA et al., 2000). Em tomates, a aplicação de salicilato de metila induz uma maior tolerância às injúrias por frio e ao ataque de patógenos (DING et al., 2002).

O ácido salicílico também é conhecido por ser um indutor da defesa vegetal, assim podendo ser responsável pelo aumento na tolerância à injúria por frio em plantas como milho, pepino e arroz (JANDA et al., 1999; KANG; SALTVEIT, 2002). Em bananas, a aplicação de ácido salicílico pode aumentar a resistência ao “chilling injury” quando as mesmas são armazenadas a 5°C (KANG et al., 2003). O aumento da resistência à formação de injúrias por frio pode estar relacionado com a formação de proteínas de choque de calor, que, em pêssegos, é induzida pelo ácido salicílico (WANG et al., 2006).

Surge daí a necessidade do conhecimento das principais transformações físicas, fisiológicas e bioquímicas dos frutos de nêspera, como suporte para a aplicação de tecnologias adequadas de conservação pós-colheita, que não só contribuam para a redução das perdas pós-colheita, como também para um maior desenvolvimento da fruticultura no Brasil.

O objetivo desse trabalho verificar o efeito da aplicação de compostos salicilados nêspersas ‘Fukuhara’, como forma de diminuir o desenvolvimento de injúrias pelo frio e aumentar o potencial de armazenamento dos frutos.

2.2. Material e Métodos

Frutos de nespereira cv. Fukuhara foram colhidos em pomar comercial localizado no município de Mogi das Cruzes, SP, e transportados para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita, no Departamento de Ciências Biológicas da Escola Superior

de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP. Os frutos foram rigorosamente selecionados quanto ao tamanho, ponto de maturação (com base na cor da casca) e ausência de doenças e danos mecânicos. Após obter um grupo homogêneo, os frutos foram divididos em cinco lotes para a aplicação dos tratamentos.

Os frutos controle foram imersos em água destilada a 20°C durante 5 minutos. Para a aplicação de três concentrações (1, 10 e 100mM) de ácido salicílico (SA), os frutos foram imersos em nas soluções a 20°C, pH 3,5 durante 5 minutos. Após a imersão, os frutos foram secos no ar. O salicilato de metila - MeSA (0,05mM) foi aplicado em câmaras herméticas, onde os frutos permaneceram durante 16 horas. Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram acondicionados em embalagens de tereftalato de polietileno (PET) e embalados com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 14 µm e armazenados a 1°C e 90% UR.

As análises foram realizadas após 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento a 1°C. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 5X4 (5 tratamentos e 4 tempos de armazenamento). Foram utilizadas 4 repetições de 12 frutos por tratamento.

As seguintes determinações foram realizadas:

a) Índices de podridão e escurecimento interno: dependendo da área da superfície afetada, os frutos foram classificados em cinco categorias: 0 = 0%, 1 < 5%, 2 = 5-25%, 3 = 25-50% e 4 = > 50%. A seguir foram calculados os índices de podridões e de escurecimento de polpa através da fórmula preconizada por Cai et al. (2006b): Índice = $(\sum \text{notas} \times \text{número de frutos afetados}) / (4 \times \text{total de frutos da amostra})$. Os frutos foram considerados não aptos à comercialização quando atingiram valores superiores a 0,4 de índice ou quando foram atribuídas as notas 3 ou 4, de acordo com Cai et al. (2006a).

b) Atividades enzimáticas de POD, PPO e PAL: para extração de POD e PPO, a polpa do fruto foi macerada em nitrogênio líquido, após isso, 2g de polpa macerada foi adicionado 8ml de tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 6,0 e centrifugados a 10000xg à 4°C durante 15 min. Para a mensurar a atividade de PPO, foi adicionada 0,5mL de solução de piro-catecol (100mM) a 1,5mL de extrato e 1,0mL de tampão fosfato de sódio. Foram aguardados 2 min à 25°C para execução da leitura. As leituras foram

realizadas em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 410nm em cubetas de vidro. Na quantificação da atividade de POD, a 1mL do extrato foram adicionados 0,5ml de solução contendo 20mM de peróxido de hidrogênio e tampão fosfato (0,2M e pH 6,7) e 0,5mL de solução contendo 4mM de aminoantipirina e 10mM de piro-catecol. A solução foi incubada em banho-maria durante 5min à 30°C. A reação enzimática foi interrompida com 2mL de álcool etílico. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 505nm.

Para a extração de PAL, a polpa dos frutos foi macerada em nitrogênio líquido, após isso, 2g de polpa macerada foi adicionada a 8ml de tampão borato 0,2M e centrifugado por 20 min à 4°C a 10000xg. A amostra foi filtrada em lã de vidro, formando o extrato. A 1mL de extrato foi adicionado 1mL de tampão borato 0,2M. A seguir, as amostras foram colocadas em banho-maria a 36°C durante 5 min. Foi adicionada 1mL de fenilalanina (100mM) e os tubos foram incubados em banho-maria durante 1 hora à 36°C. Foi adicionado 0,1mL de HCl 6N para parar a reação. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 290nm, utilizando cubetas de quartzo.

A atividade das três enzimas foi expressa em unidades (U) g^{-1} polpa, sendo que 1 U correspondente ao aumento de 0,01 na absorbância por minuto.

c) Para a determinação dos compostos fenólicos, inicialmente foi feita a extração em álcool metílico 80%. Os extratos foram diluídos na proporção de 1mL de extrato para 10mL de água destilada. Foi adicionado 1mL de reagente de Folin-Ciocalteu a 200 μL de extrato. Após 8 minutos do início da reação, foram adicionados 800 μL de Na_2CO_3 a 7,5% e agitado em vortex. As amostras foram mantidas no escuro por duas horas e a leitura foi realizada em espectrofotômetro à 765nm de comprimento de onda. A quantidade de fenóis foi calculada pelo equivalente ácido gálico, através da comparação com curva padrão preparada usando-se concentrações que variam entre 0 e 500 μg de ácido gálico por 100mL. Este método foi proposto por Singleton e Rossi (1985) e quantificado em mg g^{-1} .

d) Firmeza de polpa: foi determinada utilizando-se um penetrômetro manual com ponteira plana e 5mm de diâmetro, penetrando 4mm. Foram efetuadas duas leituras por

fruto, em lados opostos da região equatorial os mesmos, após a remoção de uma pequena e superficial remoção da casca. Os resultados foram expressos em Newtons.

e) Teor de sólidos solúveis, acidez titulável e teor de ácido ascórbico: o teor de sólidos solúveis foi determinado em refratômetro digital (Atago), com correção automática de temperatura para 20°C e os resultados expressos em °Brix. Para a determinação da acidez titulável, 10g da amostra triturada foi colocada em 90mL de água destilada. Foi efetuada titulação potenciométrica com NaOH 0,1N até pH 8,10 e os resultados foram expressos em %. O teor de ácido ascórbico foi determinado por titulação, através da redução do indicador 2,6-diclorofenol indolfenol-sódio (DCFI) pelo ácido ascórbico. Foram pesadas 10g da amostra e colocada em erlenmeyer contendo 50mL de solução de ácido oxálico. A titulação foi efetuada com DCFI até atingir a coloração rosada persistente por 15 segundo. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de polpa.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa ($p \leq 0,05$), em que as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas (MORETTI et al., 2002; VITTI et al., 2004).

2.3. Resultados e Discussão

A imersão dos frutos em solução de SA provocou a remoção da pilosidade, fato este não observado nos frutos tratados com MeSA na forma gasosa. No tratamento com SA 10 e 100mM, os frutos apresentavam elevado índice de podridão (Figura 1), provavelmente devido a fitotoxidez provocada pelo ácido, tanto que os frutos tratados com 100mM estavam inviáveis até mesmo para as análises físico-químicas, as quais, por consequência, não foram realizadas. Os frutos tratados com MeSA apresentavam boa aparência e baixo índice de podridão. Assim, observou-se que o tratamento com MeSA foi mais eficiente no controle de podridão. É possível que a forma gasosa do MeSA tenha penetrado melhor no fruto, em comparação a forma líquida do SA. Além disso, diferente dos tratamentos por imersão, a pilosidade foi preservada nos frutos

tratados com MeSA. A pilosidade é uma característica procurada pelo consumidor e uma forma de proteção natural de casca. Os tratamentos por imersão, além de removerem a pilosidade, podem acarretar um pequeno acúmulo de água na região basal, facilitando a incidência de podridões.

Figura 1 – Índice de podridão em nêsperas tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) e salicilato de metila (MeSA) armazenadas a 1°C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Após 45 dias de armazenamento, os tratamentos com SA e o tratamento com MeSA reduziram os danos de frio, em comparação ao controle, cujos danos se iniciam aos 45 dias e se intensificaram aos 60 dias. Nos frutos tratados com SA 1mM também houve uma intensificação dos danos aos 60 dias (Figura 2). O retardo no aparecimento de danos de frio em frutos tratados com MeSA e SA 10mM pode estar associado, em parte, com o poder antioxidante do ácido salicílico. Sabe-se que ácido salicílico induz o sistema de defesa da planta contra estresses, incluindo as temperaturas baixas. O aumento da tolerância às injúrias pelo frio provocado pelos salicilatos também foi observado por Janda et al. (1999) e Kang et al. (2003). Cai et al. (2006b) observaram que a aplicação de 1mM de ácido acetilsalicílico em nêsperas cv. Luoyangqing diminui a

Incidência de injúrias por frio, mostrando que compostos salicilados podem ser utilizados como antioxidantes e prevenir a ocorrência deste tipo de dano fisiológico.

Figura 2 – Índice de escurecimento de polpa em nêsperas tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1°C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Houve aumento na atividade da polifenoloxidase (PPO) durante o armazenamento (Figura 3), podendo isso estar associado à ativação dos processos oxidativos que se desenvolvem à medida que o fruto sofre os efeitos do frio e/ou da senescência. Este aumento na PPO pode também explicar, em parte, a ocorrência do escurecimento, que é intensificado à medida que o armazenamento se prolonga. O frio pode causar perda de compartimentação celular, levando ao vazamento de substratos, principalmente fenóis estocados no vacúolo, que podem ser oxidados pela PPO (DING et al., 1998). Segundo Cai et al. (2006a), o escurecimento interno da polpa está relacionado com a oxidação de compostos fenólicos e com o aumento da atividade da PPO.

Figura 3 – Atividade de polifenoloxidase (PPO) em polpa em nêspersas tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1°C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Porém, no presente trabalho, não foi observada redução nos valores de compostos fenólicos (Figura 4). Tal fato também foi observado em nêspersas cv. Mogi submetidas a atmosfera modificada e armazenadas a 3°C (GEBER, 2001). A temperatura utilizada no presente experimento (1°C) pode ter acionado o metabolismo fenilpropanóide, através da ativação da PAL, e pode ter aumentado o teor de fenóis, que não puderam ser todos atacados pela PPO. Assim, neste trabalho pode ter havido um balanço entre oxidação e produção de fenóis.

Figura 4 – Teor de compostos fenólicos em polpa em nêspers tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1°C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Ao longo do armazenamento refrigerado ocorreu o aumento da firmeza de polpa e também a atividade da PAL. Entretanto não foi possível observar correlações entre as duas variáveis analisadas. O transcinamato, produto da reação envolvendo a fenilalanina e a PAL, ao invés de formar monômeros de lignina, pode ter provocado o acúmulo de outros compostos fenólicos, justificando a manutenção dos teores de fenóis totais observados (Figura 4). Entretanto, após 60 dias de armazenamento refrigerado, foi possível observar correlação entre a firmeza de polpa dos frutos e a atividade da POD (Figura 5).

Figura 5 - Firmeza de polpa e atividade de peroxidase em nêspervas cv. Fukuhara tratadas com ácido salicílico (AS) e salicilato de metila (MeSA) armazenadas a 1°C durante 60 dias. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

A POD, além de estar relacionada com a polimerização de monômeros de lignina (BOERJAN et al., 2003), pode ser um sinalizador de senescência (LIMA et al., 1999). A lignificação dos tecidos pode não ser apenas uma injúria pelo frio, mas um sintoma de senescência em nêspervas (CAI et al., 2006c). Portanto, a aplicação exógena de compostos salicilados pode ter controlado o enrijecimento de polpa por duas vias: através de sua característica antioxidante, pois pode agir como uma molécula sinalizadora, afetando a formação de espécies reativas de oxigênio, aumentando a tolerância à injúria pelo frio (JANDA et al., 1999; KANG; SALTVEIT, 2001; KANG et al., 2003); ou através do controle da senescência, visto que esse regulador vegetal pode inibir a atividade da ACC oxidase, diminuindo assim a produção de etileno e retardando o processo de senescência (LESLIE; ROMANI, 1988).

O teor de sólidos solúveis apresentou uma pequena diminuição ao longo do período de conservação (Figura 6). Fato esse que pode ser explicado, em parte, pelo consumo dos açúcares na respiração dos frutos durante o armazenamento, o que mantém o fruto vivo após a colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Em todos os

tratamentos observou-se uma redução no teor de acidez (Figura 7) e um aumento no pH (Figura 8), o que é normal, considerando que estas variáveis estão inversamente correlacionados. A diminuição da acidez pode ser devido ao consumo de ácidos na respiração, pois eles também constituem substratos respiratórios (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O teor de ácido ascórbico apresentou uma pequena elevação inicial, para depois mostrar decréscimo e certa estabilização até o final do armazenamento (Figura 9). Os tratamentos com SA e o tratamento com MeSa não causaram perdas nutricionais relativas ao ácido ascórbico.

Figura 6 – Teor de sólidos solúveis em nêsperas tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1°C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Figura 7 – Acidez titulável em nêspersas tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Figura 8 – Potencial hidrogeniônico em nêspersas tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Figura 9 – Teor de ácido ascórbico em nêspas tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

2.4. Considerações Finais

No presente trabalho foi possível verificar que a aplicação de salicilato de metila – MeSA (0,05mM) e ácido salicílico – SA (1mM) diminuem a incidência de escurecimento interno de polpa, enquanto concentrações iguais ou superiores a 10mM de SA causam fitotoxidez em nêspas cv. Fukuhara. O MeSA também é eficiente no controle do enrijecimento de polpa dos frutos, evitando a remoção da pilosidade e apresentando baixos níveis de podridão. Esses tratamentos podem apresentar aplicação comercial e aumentar a conservação pós-colheita de nêspas.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto de pesquisa e bolsa de mestrado (proc. nº 2006/05737 e 2006/05269-4).

À Associação Frutícola do Alto Tietê (AFRUT) pela doação dos frutos para os experimentos.

Referências

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114 p.

BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M.; GREGORY, B. Lignin biosynthesis. **Annual Reviews of Plant Biology**, Palo Alto, v. 54, p. 519-546, Mar. 2003.

BRACKMANN, A.; SAQUET, A.A.; CERETTA, M.; STORCK, L. Armazenamento de nêspas (*Eriobotrya japonica*, Lindl.) cv. Mizuho em atmosfera modificada. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 9, p. 18-24, Dez. 2004.

CAI, C.; LI, X.; CHEN, K.; SHAN, L. Acetylsalicylic acid alleviates chilling injury of postharvest loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v. 223, p. 533-539, Aug. 2006a.

CAI, C.; XU, C.; LI, X.; FERGUSON, I.; CHEN, K. Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 163-169, Mar. 2006b.

CAI, C.; XU, C.; SHAN, L.; LI, X.; ZHOU, C.; ZHANG, W.; FERGUSON, I.; CHEN, K. Low temperature conditioning reduces postharvest chilling injury in loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, p. 252-259, Apr. 2006c.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: ESAL, FAEPE, 2005. 320 p.

DING, C.K.; CHACHIN, K.; UEDA, Y.; IMAHORI, Y. Purification and properties of polyphenol oxidase from loquat fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Davis, v. 46, p. 4144-4149, Sept. 1998.

DING, C.K.; CHIEN, Y.W.; GROSS, K.C.; SMITH, D.L. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. **Planta**, Heidelberg, v. 214, p. 895-901, Apr. 2002.

DING, Z.; TIAN, S.; WANG, Y.; LI, B.; CHAN, Z.; HAN, J.; XU, Y. Physiological response of loquat fruit to different storage conditions and its storability. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, p. 143-150, Apr. 2006.

GEBER, D.A.O. **Uso de atmosfera modificada no prolongamento da vida pós-colheita de nêspers cv. Mogi**. 2001. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

HAMAUZU, Y.; CHACHIN, K.; DING, C.; KUROOKA, H.; DING, C.K. Difference in surface color, flesh firmness, physiological activity, and some components of loquat fruits picked at various stages of maturity. **Journal of Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto, v. 65, p. 859-865, Jan. 1997.

JANDA, T.; SZALAI, G.; TARI, I.; PALDI, E. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. **Planta**, New York, v. 208, p. 175-180, Nov. 1999.

KANG, G.; WANG, C.; SUN, G.; WANG, Z. Salicylic acid changes activities of H₂O₂-metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 50, p. 9-15, June. 2003.

KANG, H.M.; SALTVEIT, M.E. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicles. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 113, p. 548-556, Aug. 2001.

LESLIE, C.A.; ROMANI, R.J. Inhibition of ethylene biosynthesis by salicylic acid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 88, p. 833-837, Oct. 1988.

LIMA, G.P.P.; BRASIL, O.G.; OLIVEIRA, A.M.; BROETTO, F. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 21-25, Mar.1999.

MORETTI, C.L.; ARAUJO, A.L.; MAROUELLI, W.A.; SILVA, W.L.C. Respiratory activity and browning of minimally processed sweet potatoes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 497-500, Jan. 2002.

SENARATNA, T.; TOUCHELL, D.; BUNN, E.; DIXON, K. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. **Plant Growth Regulation**, Amsterdam, v. 30, p. 157-161, Feb. 2000.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p. 144-158, Apr. 1985.

VITTI, M.C.D.; KLUGE, R.A.; GALLO, C.R.; SCHIAVINATO, M.A.; MORETTI, C.L.; JACOMINO, A.P. Aspectos fisiológicos e microbiológicos de beterrabas minimamente processadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 1027-1032, Out. 2004.

WANG, L.; CHEN, S.; KONG, W.; LI, S.; ARCHBOLD, D.D. Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. **Postharvest Biology Technology**, Amsterdam, v. 41, p.244-251, Mar. 2006.

3 REDUÇÃO DE INJÚRIAS POR FRIO EM NÊSPERAS 'FUKUHARA' COM APLICAÇÕES DE 1-METILCICLOPROPENO E SALICILATO DE METILA

Resumo

Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito da aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e do salicilato de metila (MeSA) no controle de injúrias pelo frio em nêsperas 'Fukuhara'. Foram aplicadas 4 concentrações de 1-MCP (0, 50, 500 e 5000nL L⁻¹), além da aplicação de 0,01mM de MeSA, associado ou não a 500nL L⁻¹ de 1-MCP. Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram acondicionados em bandejas de tereftalato de polietileno (PET) e embalados com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 14 µm, e armazenados a 1 °C durante 15, 30, 45 e 60 dias. As determinações realizadas foram: firmeza de polpa, índice de escurecimento e podridão, acidez titulável, pH, teor de sólidos solúveis, teor de ácido ascórbico, teor de compostos fenólicos, atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). Após 60 dias de armazenamento refrigerado não foi observado desenvolvimento de escurecimento interno nos frutos tratados com 1-MCP e MeSA. Os frutos controle apresentaram elevados índices de escurecimento interno, juntamente com elevada atividade de PPO. A aplicação de 1-MCP e MeSA não foram eficientes no controle do enrijecimento de polpa.

Palavras-chave: *Eriobotrya japonica*; Escurecimento interno; Enrijecimento de polpa; Armazenamento refrigerado

Abstract

The aim of this study was to verify the effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) and methyl salicylate (MeSA) in chilling injury control in 'Fukuhara' loquat fruit. It was applied four concentrations of 1-MCP (0, 50, 500 e 5,000nL L⁻¹) and 0,01mM of MeSA associated or not to 500nL L⁻¹ of 1-MCP. After the treatment, fruit were packed in polyethylene tereftalate (PET) with PVC plastic film (14 µm thick) and stored at 1 °C for 15, 30, 45 and 60 days. The variables analyzed were: pulp firmness, pH, titratable acidity, soluble solids content, ascorbic acid content, phenolic compounds content, activity of phenylalanine amônia-liase (PAL), polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD). After 60 days of cold storage there was no development of internal browning in fruit treated with 1-MCP and MeSA. The control fruit showed higher levels of internal browning, with high activity of PPO. The applications of 1-MCP and MeSA were not efficient to control the increase in firmness of fruit.

Keywords: *Eriobotrya japonica*; Internal browning; Firmness increase; Cold storage

3.1 Introdução

A nespereira (*Eriobotrya japonica* Lindl.), da família *Rosaceae*, é originada da China, sendo que esse país, juntamente com a Espanha, são um dos maiores produtores de nêspersas. No Brasil, a produção de nêspersas concentra-se no Estado de São Paulo, na região de Mogi das Cruzes.

A nêspersa é um fruto não-climatérico e bastante perecível em pós-colheita. Os frutos são suscetíveis às podridões e aos danos mecânicos, apresentando também consideráveis perdas nutricionais e de matéria fresca (DING et al., 1998a; CAI et al., 2006a). A recomendação para sua conservação tem sido 0 a 5°C, podendo serem armazenados, nestas condições, durante 2 a 4 semanas, dependendo da cultivar e estágio de maturação (DING et al., 1998; KADER, 2008).

A nêspersa, assim como outras frutas de clima subtropical e tropical, quando armazenada por longos períodos sob refrigeração, desenvolve desordens fisiológicas associadas ao frio ("chilling injury"). Dentre os sintomas de injúria pelo frio em nêspersas estão o escurecimento interno da polpa, a lignificação e o aumento de firmeza dos frutos (DING et al., 2002a; CAI et al., 2006a). O escurecimento interno tem causa enzimática, em que os compostos fenólicos presentes nas células do fruto são oxidados à quinonas, que uma vez polimerizadas com proteínas ou aminoácidos, formam compostos de cor escura (DING et al., 1998b). A principal enzima responsável pela oxidação de compostos fenólicos é a polifenoloxidase (PPO, EC 1.10.3.1). Com relação à lignificação, é uma desordem particular da nêspersas e que pode prejudicar sua comercialização (CAI et al., 2006a,b,c; YANG et al., 2008). A formação de monômeros de lignina é catalisada pela fenilalanina amônia-liase (PAL, EC 4.3.1.24), e a polimerização desses monômeros é feita pela peroxidase (POD, EC 1.11.1.7), na presença de peróxido de hidrogênio (ZHENG et al., 2000). A lignificação dos tecidos internos de nêspersa pode resultar em aumento de firmeza e perda de suculência (SHAN et al., 2008).

Para prolongar o benefício da refrigeração, técnicas complementares tem sido testadas, como forma de aumentar a resistência dos frutos a armazenamento mais longos. Estas técnicas incluem uso de atmosfera modificada, tratamentos térmicos e

uso de produtos químicos ou naturais. A utilização de tratamentos químicos que são potencialmente prejudiciais tanto ao homem quanto ao ambiente estão sendo cada vez menos utilizados. Por outro lado, tratamentos com compostos naturais e atóxicos estão sendo pesquisados em várias frutas e podem representar uma mudança nos tratamentos pós-colheita, tendo uma boa receptividade entre os produtores e consumidores.

Dentre os produtos naturais que potencialmente podem trazer bons resultados, em associação com a refrigeração estão os compostos salicilados, como o metil éster do ácido salicílico, ou metil salicilato (MeSA), que provém da via dos metabólitos secundários. Em plantas, o MeSA participa do desenvolvimento de resistência sistêmica adquirida contra patógenos (VAN LOON; ANTONIW, 1982). Os compostos salicilados também podem ativar sistemas antioxidantes, quais removem espécies reativas de oxigênio sob condições de estresse oxidativo, em situações de ataque de fungos e baixas temperaturas (XU; TIAN, 2008).

Os compostos salicilados podem também bloquear a produção de etileno (ALTVORST; BOVY, 1995) e retardar os efeitos causados por esse hormônio. Outro composto que pode controlar os efeitos do etileno é o 1-metilciclopropeno (1-MCP), que se liga de forma irreversível aos sítios de ação desse hormônio vegetal, bloqueando, assim, a ação desse composto (BLANKENSHIP; DOLE, 2003). Assim, com a supressão da produção e da ação do etileno, é possível retardar a senescência dos frutos e adiar a formação de radicais livres, responsáveis pela saturação de ácidos graxos presentes na membrana plasmática, que causam a descompartmentalização celular e assim tornando as injúrias pelo frio mais severas (SALA, 1998).

Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito do 1-MCP associado ou não ao MeSA sobre a incidência de injúrias por frio em nêspersas 'Fukuhara' armazenadas em baixa temperatura, bem como em aspectos relacionados a qualidade da fruta e respostas bioquímicas a estes tratamentos.

3.2 Material e Métodos

Nêspersas 'Fukuhara' foram colhidas em pomar comercial localizado no município de Mogi das Cruzes, São Paulo, no período da manhã e transportados para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita, no Departamento de Ciências Biológicas da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo. Os frutos foram rigorosamente selecionados quanto ao tamanho, ponto de maturação (com base na cor da casca) e ausência de doenças e danos mecânicos. Após obter um grupo homogêneo, os frutos foram divididos em seis lotes para a aplicação dos tratamentos.

Os seguintes tratamentos foram aplicados: 1-MCP (50, 500 e 5000 nL L⁻¹), MeSA (0,01mM), 1-MCP (500 nL L⁻¹) + MeSa (0,01mM), além do controle. As caixas mantiveram-se fechadas durante 12h a 20°C. Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram acondicionados em embalagens de tereftalato de polietileno (PET) e embalados com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 14 µm e armazenados a 1 °C e 90% UR.

As análises foram realizadas após 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 6X4 (6 tratamentos e 4 tempos de armazenamento). Foram utilizadas 4 repetições de 12 frutos por tratamento.

As seguintes variáveis foram determinadas:

a) Índices de podridão e escurecimento interno: dependendo da área da superfície afetada, os frutos foram classificados em cinco categorias: 0 = 0%, 1 < 5%, 2 = 5-25%, 3 = 25-50% e 4 = > 50%. A seguir foram calculados os índices de podridões e de escurecimento de polpa através da fórmula preconizada por Cai et al. (2006b):

$$\text{Índice} = (\sum \text{notas} \times \text{número de frutos afetados}) / (4 \times \text{total de frutos da amostra})$$

Os frutos foram considerados não aptos à comercialização quando atingiram valores superiores a 0,4 de índice ou quando foram atribuídas as notas 3 ou 4 (Cai et al. 2006b).

b) Atividades enzimáticas de POD, PPO e PAL: Para a determinação dessas três enzimas foram utilizadas as metodologias de Cai et al. (2006a,b). Para extração de

POD e PPO, a polpa do fruto foi macerada em nitrogênio líquido. Em 2g de polpa macerada foi adicionado 8mL de tampão fosfato de sódio (0,1M, pH 6,0) e centrifugados a 10000xg à 4°C durante 15 min. Para a mensurar a atividade de PPO, foi adicionada 0,5mL de solução de pirocatecol (100mM) a 1,5mL de extrato e 1,0mL de tampão fosfato de sódio. Foram aguardados 2 min à 25°C para execução da leitura. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 410nm. Na quantificação da atividade de POD, a 1mL do extrato foram adicionados 0,5mL de solução contendo 20mM de peróxido de hidrogênio e tampão fosfato (0,2M e pH 6,7) e 0,5mL de solução contendo 4mM de aminoantipirina e 10mM de pirocatecol. A solução foi incubada em banho-maria durante 5min à 30°C. A reação enzimática foi interrompida com 2mL de álcool etílico. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 505nm. Para a extração de PAL, em 2g de polpa macerada foi adicionada a 8mL de tampão borato 0,2M, sendo a amostra centrifugada por 20 min à 4°C em 10000xg. A amostra foi filtrada em lã de vidro, formando o extrato. A 1mL de extrato foi adicionado 1mL de tampão borato 0,2M. A seguir, as amostras foram colocadas em banho-maria a 36°C durante 5 min. Foi adicionada 1mL de fenilalanina (100mM) e os tubos foram incubados em banho-maria durante 1 hora à 36°C. Foi adicionado 0,1mL de HCl 6N para parar a reação. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 290nm. A atividade das três enzimas foi expressa em unidades (U) g⁻¹ polpa, sendo que 1 U correspondente ao aumento de 0,01 na absorbância por minuto.

c) Teor de compostos fenólicos: Foi determinado de acordo com a metodologia de Singleton e Rossi (1985). A extração foi realizada em álcool metílico 80%. Os extratos foram diluídos na proporção de 1ml de extrato para 10mL de água destilada. Foi adicionado 1mL de reagente de Folin-Ciocalteu a 200μL de extrato. Após 8 minutos do início da reação, foram adicionados 800μL de Na₂CO₃ a 7,5% e agitado em vortex. As amostras foram mantidas no escuro por duas horas e a leitura foi realizada em espectrofotômetro à 765nm de comprimento de onda. A quantidade de fenóis foi calculada pelo equivalente ácido gálico, através da comparação com curva padrão preparada usando-se concentrações que variam entre 0 e 500μg de ácido gálico por 100ml. Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de polpa.

d) Firmeza de polpa: utilizando-se um penetrômetro digital com ponteira plana e 5mm de diâmetro, penetrando 4mm. Foram efetuadas duas leituras por fruto, em lados opostos da região equatorial os mesmos, após uma pequena e superficial remoção da casca. Os resultados foram expressos em Newtons.

e) Teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e teor de ácido ascórbico (AA): O teor de SS foi determinado em refratômetro digital (Atago), com correção automática de temperatura para 20°C e os resultados expressos em °Brix. Para a determinação da AT, 10g da amostra triturada foi colocada em 90mL de água destilada. Foi efetuada titulação potenciométrica com NaOH 0,1N até pH 8,10 e os resultados foram expressos em %. O teor de AA foi determinado por titulação, através da redução do indicador 2,6-diclorofenol indolfenol-sódio (DCFI) pelo ácido ascórbico. Foram pesadas 10g da amostra e colocada em erlenmeyer contendo 50mL de solução de ácido oxálico. A titulação foi efetuada com DCFI até atingir a coloração rosada persistente por 15 segundo. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de polpa. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a diferença mínima significativa foi calculada ($p \leq 0,05$). Diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas (MORETTI et al., 2002; VITTI et al., 2004).

3.3 Resultados e Discussão

As aplicações de 1-MCP e MeSA, isolados ou em associação, foram eficiente no controle do escurecimento interno da polpa dos frutos de nespereira, tendo sido observado índices de escurecimento inferiores a 0,4 durante 60 dias de armazenamento (Figura 1). Por outro lado, frutos do controle apresentaram índice de escurecimento acima de 0,4 a partir de 45 dias de armazenamento. O escurecimento da polpa é um dos sintomas de injúria por frio em nêspersas, causado pela oxidação dos compostos fenólicos (DING et al., 1998a). Frutos sensíveis ao frio, quando expostos à baixa temperatura por longos períodos sofrem alterações estruturais em seus tecidos e modificações em seu metabolismo. A resposta primária de frutos expostos a baixa temperatura é a alteração de fase das membranas celulares, que passam de líquida-

cristalina para gel-sólida, devido ao estresse oxidativo e peroxidação de lipídios (WANG, 1994). Isso leva a perda da estrutura e permeabilidade seletiva das membranas, e subsequentemente, à descompartimentalização celular, vazamento de solutos e outras disfunções celulares, e finalmente, à manifestação dos sintomas (PEIXOTO et al., 1999).

Figura 1 – Índice de escurecimento de polpa em nêsperas 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

A diminuição do escurecimento de polpa causado pelo 1-MCP e pelo MeSA pode estar relacionado com o retardo na senescência dos frutos. O estágio de senescência é caracterizado, entre outros, pela formação de radicais livres, os quais podem danificar as membranas celulares. O 1-MCP, ao bloquear a ação do etileno retarda a senescência, enquanto que o MeSA, além de diminuir a produção de etileno atua diretamente como antioxidante, aliviando os efeitos do estresse oxidativo, enquanto os frutos estão expostos à baixa temperatura (ZHANG et al., 2003).

Frutos do controle apresentaram maior atividade da PPO ao longo do armazenamento, em comparação aos frutos tratados com 1-MCP e MeSA (Figura 2), o que pode explicar as diferenças obtidas para o índice de escurecimento. A PPO é uma

das principais enzimas envolvidas com o processo de escurecimento. Quando as injúrias por frio se desenvolvem, compostos fenólicos, que inicialmente estavam contidos nos vacúolos, entram em contato com a PPO, presente no citossol, causando reações que levam ao escurecimento dos tecidos (DING et al., 1998a; MARCHART et al., 2006). Assim, possivelmente o 1-MCP e o MeSA reduziram estas reações, não diretamente, mas por mecanismos de defesa ao extravazamento de solutos transmembranais, associados ao retardo na senescência.

Figura 2 – Atividade de polifenoloxidase (PPO) em polpa de nêspersas 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Era de se esperar que, nos tecidos dos frutos controle onde foi verificado maior índice de escurecimento, houvesse uma diminuição no teor de compostos fenólicos, o que não ocorreu, não sendo observadas diferenças significativas para nos fenóis totais para frutos tratados ou não (Figura 3). Resultados semelhantes foram observados em nêspersas cv. Mogi (GEBER, 2001), que ao longo do armazenamento refrigerado observou-se um aumento na concentração de compostos fenólicos. Uma explicação para tal fato é que baixas temperaturas podem acionar o metabolismo fenilpropanóide através do aumento na atividade da enzima PAL. O aumento do metabolismo

secundário pode promover o aumento da síntese de compostos fenólicos, assim compensando a oxidação dos mesmos. Assim, um balanço entre síntese e oxidação de fenóis pode ter ocorrido no presente trabalho.

Figura 3 – Teor de compostos fenólicos em nêsperas 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Ao longo do armazenamento refrigerado ocorreu o aumento da firmeza de polpa em todos os tratamentos, sendo inicialmente nos frutos do controle a partir dos 30 dias (Figura 4). As alterações na firmeza é um dos principais processos que se desenvolvem durante o amadurecimento e senescência de frutos, afetando diretamente a sua vida útil pós-colheita e o seu valor comercial. Enquanto o amolecimento causado pela degradação da parede celular é um fenômeno comum na maioria dos frutos durante o amadurecimento e armazenamento, o incremento na firmeza causado pela lignificação da parede secundária tem sido observado em alguns frutos, como em nêsperas (CAI et al., 2006a,b,c) e em mangostão (*Garcinia mangostana* L.) submetido a impactos. (BUNSIRI et al., 2003). O aumento da firmeza de polpa de nêsperas armazenadas sob refrigeração tem sido reportado por outros autores como um sintoma de injúria por frio

(DING et al., 2002a; CAI et al., 2006a), estando associado ao aumento na síntese de lignina (CAI et al., 2006a, b,d; YANG et al., 2008).

Figura 4 – Firmeza de polpa em nêsperas 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

A formação de lignina envolve, necessariamente, a ativação do metabolismo secundário, incluindo o aumento da atividade da PAL, a enzima inicial do metabolismo fenilpropanóide, e a POD, que atua nos estágios finais de lignificação (BOUDET, 2000). Verificou-se variações significativas na atividade da PAL (Figura 5), porém sem padrão definido, e impossibilitando observar uma correlação entre a atividade desta enzima e a firmeza de polpa. O transcinamato, produto da reação envolvendo a fenilalanina e a PAL, ao invés de formar monômeros de lignina, pode ter provocado o acúmulo de outros compostos fenólicos, justificando a manutenção dos teores de fenóis totais observados (Figura 3). É possível observar maiores níveis de firmeza de polpa nos frutos controle aos 30 dias, juntamente com os maiores níveis de atividade de PAL do mesmo tratamento. Pode-se observar que os frutos controle apresentam maiores níveis de atividade de PAL, quando comparado aos frutos tratados com 1-MCP e MeSA (Figura 5). Ao se aplicar o 1-MCP, bloqueia-se a ação do etileno, hormônio este,

responsável por inúmeras sinalizações celulares, inclusive, relacionadas à defesa vegetal e ativação do metabolismo secundário (BLANKENSHIP & DOLE, 2003). Os compostos salicilados podem diminuir a atividade da enzima ACC oxidase e, assim, diminuir ou até bloquear a produção de etileno. Dessa forma, o efeito da aplicação de MeSA seria semelhante à aplicação de 1-MCP na diminuição do metabolismo secundário, consequentemente na diminuição da atividade da PAL.

Figura 5 – Atividade de Fenilalanina amônia-liase (PAL) em nêspereiras 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSA) armazenadas a 1°C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Por outro lado, na Figura 6 pode-se observar que houve correlação entre a firmeza e a atividade da POD após 60 dias de armazenamento, em função dos tratamentos aplicados. Os frutos do controle, os quais apresentaram maior firmeza mostraram também maior atividade da POD, enquanto que o MeSA provocou menor atividade da POD e menor firmeza de polpa.

Figura 6 - Firmeza de polpa e atividade de peroxidase em nêspere 'Fukuhara' tratadas com 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSA) armazenadas a 1 °C durante 60 dias. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Mesmo diminuindo a atividade da PAL, não foi possível controlar a lignificação de tecidos em nêspere, com a aplicação de 1-MCP e MeSa. A formação de lignina no tecido de nêspere pode não ser um sintoma de injúria por frio, mas uma característica de sua senescência (CAI et al., 2006c), tanto que foi possível observar correlação entre os valores de firmeza de polpa e atividade de POD em nêspere após 60 dias de armazenamento. A POD é uma enzima que está relacionada com a senescência dos frutos (CANO, et al., 1995; SINGH et al., 2008). Tal relação poderia ser mais um indício de que a lignificação de tecidos em polpa de frutos de nêspere é um dos sintomas de senescência.

Mesmo tendo havido algumas diferenças entre os tratamentos, os níveis de podridão mantiveram-se abaixo do limite aceitável de 0,4 (CAI et al., 2006b) durante o período avaliado (Figura 7). A partir dos 45 dias de armazenamento os frutos tratados com 500 nL L⁻¹ apresentaram índice de podridão superiores aos dos demais tratamentos, embora ainda bem abaixo do limite aceitável. Frutos tratados com MeSa apresentaram baixos índices de podridão durante todo o período analisado. Os

compostos salicilados são considerados sinalizadores celulares que promovem a expressão de proteínas relacionadas com a defesa de células vegetais ao ataque de patógenos (DING et al., 2002b).

Figura 7 – Índice de podridão em nêsperas 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

O teor de sólidos solúveis apresentou uma pequena diminuição ao longo do período de conservação (Figura 8). A nêspera é um fruto não climatérico e, de fato, poucas alterações são esperadas neste tipo de fruto após a colheita, embora a pequena diminuição nos teores de SS possa ser atribuída a respiração dos frutos, que embora baixa, consome parte dos carboidratos, os quais são os componentes principais dos sólidos solúveis.

Figura 8 – Teor de sólidos solúveis em nêspas 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Em todos os tratamentos observou-se uma redução no teor de acidez titulável (Figura 9) e um aumento no pH (Figura 10), o que é normal, considerando que estas variáveis estão inversamente relacionadas. A diminuição da acidez pode ser devido ao consumo de ácidos na respiração, pois eles também constituem substratos respiratórios. Geber (2001) também verificaram decréscimos nos teores de acidez durante o armazenamento de nêspas 'Mogi' em diferentes temperaturas.

Figura 9 – Acidez Titulável em nêperas 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1°C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Figura 10 – pH em nêperas 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1°C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

O teor de ácido ascórbico apresentou uma pequena elevação até 45 dias de armazenamento, mostrando decréscimo no final do armazenamento (Figura 11). Elevações no teores de ácido ascórbico podem ser devido à sua biossíntese, pois seus precursores podem advir da degradação da parede celular. Também pode haver redução em seus teores, em estádio avançados de senescência (AGIUS et al., 2003).

Figura 11 – Teor de ácido ascórbico em nêsperas 'Fukuhara' tratadas com diferentes concentrações de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e salicilato de metila (MeSa) armazenadas a 1 °C. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

3.4 Considerações Finais

O presente trabalho foi verificado que o 1-MCP e o MeSa são eficientes no controle de escurecimento interno de polpa de nêsperas cv. Fukuhara, sem afetar aspectos de qualidade desta fruta. Estes tratamentos podem apresentar aplicação comercial e aumentar a conservação de nêsperas.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto de pesquisa e bolsa de mestrado (proc. nº 2006/05737 e 2006/05269-4).

À Associação Frutícola do Alto Tietê (AFRUT) pela doação dos frutos para os experimentos.

Referências

AGIUS, F.; LAMOTHE, R.G.; CABALLERO, J.L.; BLANCO, J.M.; BOTELLA, M.A.; VALUESTA, V. Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a D-galacturonic acid reductase. **Nature Biotechnology**, London, v. 21, p. 177-181, Apr. 2003.

ALTVORST, A.C.; BOVY, A.G. The role ethylene in the senescence of carnation flowers, a review. **Plant Growth Regulation**, Amsterdam, v. 16, p. 43-53, Aug. 1995.

BLANKENSHIP, S.M.; DOLE, J.M. 1-Methylcyclopropene: a review. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 28, p. 1-25, June 2003.

BOUDET, A.M. Lignins and lignification: selected issues. **Plant Physiology and Biochemistry**, London, v. 38, p. 81-96, Aug. 2000.

BUNSIRI, A.; KETSA, S.; PAULL, R.E. Phenolic metabolism and lignin synthesis in damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 29, p. 61–71, Apr. 2003.

CAI, C.; LI, X.; CHEN, K.; SHAN, L. Acetylsalicylic acid alleviates chilling injury of postharvest loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v. 223, p. 533-539, Aug. 2006a.

CAI, C.; XU, C.; LI, X.; FERGUSON, I.; CHEN, K. Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 163-169, Mar. 2006b.

CAI, C.; CHEN, K.; XU, W.; ZHANG, W.; LI, X.; FERGUSON, I. Effect of 1-MCP on postharvest quality of loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 155-162, Mar. 2006c.

CAI, C.; XU, C.; SHAN, L.; LI, X.; ZHOU, C.; ZHANG, W.; FERGUSON, I.; CHEN, K. Low temperature conditioning reduces postharvest chilling injury in loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, p. 252-259, Apr. 2006d.

CANO M.P.; ANCOS, B.; LOBO, G. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in papaya during postharvest ripening and after freezing/thawing. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, p. 815-817, Jan. 1995.

DING, C.K.; CHACHIN, K.; UEDA, Y.; IMAHORI, Y. Purification and properties of polyphenol oxidase from loquat fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Davis, v. 46, p. 4144-4149, Sept. 1998.

DING, C.K.; CHACHIN, K.; UEDA, Y.; IMAHORI, Y.; WANG, C.Y. Modified atmosphere packaging maintains postharvest quality of loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, p. 341-348, Sept. 2002.

DING, C.K.; CHIEN, Y.W.; GROSS, K.C.; SMITH, D.L. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. **Planta**, Heidelberg, v. 214, p. 895-901, Apr. 2002.

DING, Z.; TIAN, S.; WANG, Y.; LI, B.; CHAN, Z.; HAN, J.; XU, Y. Effects of storage temperatures on physiology and quality of loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 14, p. 309-315, Nov. 1998.

GEBER, D.A.O. **Uso de atmosfera modificada no prolongamento da vida pós-colheita de nêspas cv. Mogi**. 2001. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

KADER, A.A. **Loquat**: recommendations for maintaining postharvest quality. University of California, Postharvest Technology Research & Information Center, 2008. Disponível em: <<http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Fruit/loquat.shtml>>. Acesso em: 10 dez. 2008.

MARCHART, S.S.; VELA, J.C.; MARTÍNEZ, R.B. Isolation of a latent polyphenol oxidase from loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.): kinetic characterization and comparison with the active form. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Oxford, v. 446, p. 175-185, Jan. 2006.

MORETTI, C.L.; ARAUJO, A.L.; MAROUELLI, W.A.; SILVA, W.L.C. Respiratory activity and browning of minimally processed sweet potatoes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 497-500, Jan. 2002.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANTANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, p. 137-143, jun. 1999.

SALA, J.M. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 13, p. 255-261, Oct. 1998.

SHAN, L.L.; LI, X.; WANG, P.; CAI, C.; ZHANG, B.; SUN, C.; ZHANG, W.S.; XU, C.J.; FERGUSON, I.; CHEN, K.S. Characterization of cDNAs associated with lignification and their expression profiles in loquat fruit with different lignin accumulation. **Planta**, Heidelberg, v. 227, p. 1243-1254, Dec. 2008.

SINGH, R. DWIVEDI, U.N. Effect of ethrel and 1-methylcyclopropene (1-MCP) on antioxidants in mango (*Mangifera indica* var. Dashehari) during fruit ripening. **Food Chemistry**, Londres, v. 111, p. 951-956, Feb. 2008.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p. 144-158, Apr. 1985.

VAN LOON, L.C.; ANTONIW, J.F. Comparison of the effects of salicylic acid and ethephon with virus-induced hypersensitivity and acquired resistance in tobacco. **Netherlands of Journal of Plant Pathology**, Amsterdam, v. 88, p. 237-256, Oct. 1982.

VITTI, M.C.D.; KLUGE, R.A.; GALLO, C.R.; SCHIAVINATO, M.A.; MORETTI, C.L.; JACOMINO, A.P. Aspectos fisiológicos e microbiológicos de beterrabas minimamente processadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 1027-1032, out. 2004.

WANG, C.Y. Chilling injury of tropical horticultural commodities. **HortScience**, Alexandria, v. 29, p. 986-988, Aug. 1994.

XU, X.; TIAN, S. Salicylic acid alleviated pathogen-induced oxidative stress in harvested sweet cherry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.49, p. 379-385, Dec. 2008.

YANG, S.; SUN, C.; WANG, P.; SHAN, L.; CAI, C.; ZHANG, B.; ZHANG, W.; LI, X.; FERGUSON, I.; CHEN, K. Expression of expansin genes during postharvest lignification and softening of 'Luoyangqing' and 'Baisha' loquat fruit under different storage conditions. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 49, p. 43-53, Dec. 2008.

ZHANG, Y.; CHEN, K.; ZHANG, S.; FERGUSON, I. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 28, p. 67-74, Jan. 2003.

ZHENG, Y.H.; LI, S.Y.; XI, Y.F. Changes of cell wall substances in relation to flesh woodiness in cold-stored loquat fruits. **Acta Phytophysiology Sinica**, Leuven, v. 26, p. 306-310, Sept. 2000.

4 AUMENTO DO POTENCIAL DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE NÊSPERAS 'FUKUHARA' UTILIZANDO TRATAMENTOS TÉRMICOS

Resumo

Esse trabalho teve como objetivo avaliar técnicas de tratamentos térmicos para aumentar o potencial da frigoconservação de nêsperas cv. Fukuhara, bem como estudar os efeitos desses tratamentos na qualidade e nas alterações físico-químicas e bioquímicas dos frutos. Os tratamentos de condicionamento térmico aplicados foram: Controle: armazenamento a 1°C durante 60 dias; Padrão: armazenamento a 5°C durante 60 dias; Condicionamento térmico 1: armazenamento a 5°C durante 7 dias e 1°C durante 53 dias; Condicionamento térmico 2: armazenamento a 10°C durante 7 dias e 1°C durante 53 dias; Aquecimento intermitente: ciclos de 6 dias a 1°C + 1 dia a 15°C durante 60 dias; Aquecimento 1: condicionamento dos frutos a 37°C durante 3h e 1°C durante 60 dias; Aquecimento 2: condicionamento dos frutos a 37°C durante 6h e 1°C durante 60 dias. Os frutos foram armazenados durante 60 dias em bandejas de tereftalato de polietileno (PET) e embalados com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 14 µm. As determinações realizadas foram: firmeza de polpa, índice de escurecimento e podridão, acidez titulável, pH, teor de sólidos solúveis, teor de ácido ascórbico, teor de compostos fenólicos, atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). As avaliações foram realizadas após 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento. A aplicação de aquecimento intermitente e aquecimento a 37°C durante 3 horas foram eficientes no controle de escurecimento interno. Os tratamentos térmicos não foram eficientes no controle do enrijecimento de polpa. Foi possível observar correlação entre os níveis de firmeza de polpa com a atividade de POD após 60 dias de armazenamento refrigerado.

Palavras-chave: *Eriobotrya japonica*; Condicionamento térmico; Escurecimento interno; Enrijecimento de polpa

Abstract

The main of this work was to evaluate techniques of heat treatment to improve the cold storage of 'Fukuhara' loquat and to study the effects of these treatments on fruit quality and physical-chemical and biochemistry changes. The treatments applied were: Control: storage at 1°C for 60 days; Standard: storage at 5°C for 60 days; Temperature conditioning 1: storage at 5°C for 7 days and 1°C for 53 days; Temperature conditioning 2: storage at 10°C for 7 days and 1°C for 53 days; Intermittent heat: cycles of 6 days at 1°C + 1 day at 15°C for 60 days; Heat treatment 1: fruit conditioning at 37°C for 3h + 1°C for 60 days; Heat treatment 2: fruit conditioning at 37°C for 6h + 1°C for 60 days. In the three trials, the fruits were packed in polyethylene terephthalate (PET) with PVC plastic

film (14 μm thick). The parameters analyzed was: pulp firmness, decay and internal browning incidence, titratable acidity, pH, soluble solids content, ascorbic acid content, phenolic compounds content, activity of phenylalanine ammonium liase (PAL), polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD). The evaluation was made after 15, 30, 45 and 60 days of storage. Intermittent heat and heat at 37°C for 3h were efficient to control internal browning in pulp of fruit. Heat treatments did not prevent the increase of pulp firmness. There was a correlation in firmness level with POD activity after 60 days of cold storage.

Keywords: *Eriobotrya japonica*; Heat conditioning; Internal browning; Firmness increase

4.1 Introdução

A nêspera apresenta alto valor comercial e um curto período de vida pós-colheita, devido à perda de água por transpiração, à elevada taxa de respiração, à alta suscetibilidade a podridões, à rápida perda das qualidades nutricionais e à sensibilidade dos frutos a baixas temperaturas de armazenamento (BRACKMANN et al., 2004)

O método mais utilizado para prolongar o armazenamento de frutas em geral é a refrigeração. As condições de refrigeração recomendada para nêspersas são temperatura entre 0 e 5°C e umidade relativa entre 90 e 95%, com os frutos podendo ser armazenados por um período de até 60 dias, dependendo da cultivar (DING et al., 1998a, 2006; Kader, 2009). Períodos demasiados sob refrigeração, ou temperaturas muito baixas, ocasionam prejuízos na qualidade dos frutos, devido a incidência de danos de frio. Os sintomas de danos de frio em nêspersas são o escurecimento da polpa, a perda da suculência, a lignificação de tecidos e o aumento de firmeza (CAI et al., 2006a; DING et al., 2002a; DING et al., 1998b; BRACKMANN et al., 2004). Com estes problemas, torna-se difícil o armazenamento de nêspersas por longos períodos.

O desenvolvimento dos danos de frio envolve a atividade de enzimas específicas, responsáveis tanto pela formação de compostos fenólicos quanto pelo escurecimento destes compostos. A enzima fenilalanina amônia-liase (PAL, EC 4.3.1.24) é a principal enzima do metabolismo secundário e pode estar envolvida, juntamente com outras, na formação *de novo* de lignina bem como de outros compostos fenólicos (DING et al., 2002b). Além da PAL, a enzima peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) também participa do

processo de lignificação (IMBERTY et al., 1985; ZHENG et al., 2000). A POD, juntamente com a polifenoloxidase (PPO, EC 1.10.3.1) participa também da oxidação de compostos fenólicos, o que pode levar ao escurecimento dos tecidos.

Em função dos problemas encontrados durante o armazenamento refrigerado torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas que minimizem estes problemas e contribuam para o prolongamento do período de armazenamento e comercialização de nêspersas. A utilização de tratamentos químicos potencialmente prejudiciais tanto ao homem quanto ao ambiente estão sendo cada vez menos utilizados. Dessa forma, tratamentos físicos e alternativos estão sendo pesquisados em várias frutas e podem representar uma mudança nos tratamentos pós-colheita, tendo uma boa receptividade entre os produtores e consumidores. Dentre estes tratamentos destacam-se os tratamentos térmicos, como o condicionamento térmico e o aquecimento intermitente, no quais se utilizam ar ou água quente, com diferentes metodologias de aplicação. São tratamentos que vêm sendo utilizados como forma de aumentar a resistência dos frutos à baixa temperatura (KLUGE et al., 2006). Assim, o aumento do benefício da refrigeração pode ser alcançado com estes tratamentos (KLUGE et al., 2006).

O efeito dos tratamentos térmicos na conservação refrigerada de nêspersas tem sido pouco estudado. Cai et al (2006a), trabalhando com nêspersas 'Luoyangqing', verificaram que o condicionamento dos frutos a 5°C durante 6 dias antes do armazenamento a 0°C reduziu significativamente a incidência de injúrias por frio nos frutos, em comparação a aqueles armazenado diretamente a 0°C.

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a efetividade dos tratamentos térmicos aplicados em nêspersas 'Fukuhara' visando a redução de danos pelo frio e prolongamento do período de conservação, bem como estudar os efeitos desses tratamentos nas características físico-químicas e bioquímicas dos frutos.

4.2 Material e Métodos

Frutos de nespereira cv. Fukuhara foram colhidos em região produtora localizada no município de Mogi das Cruzes, SP, sendo transportados para o Laboratório de

Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita, no Departamento de Ciências Biológicas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba, SP. Os frutos foram selecionados quanto ao tamanho, ponto de maturação com base na coloração da casca, e ausência de doenças e danos mecânicos. Após obter um grupo homogêneo, os frutos foram divididos em sete lotes e acondicionados em embalagens de tereftalato de polietileno (PET) e embalados com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 14 µm para posterior aplicação dos tratamentos.

Os tratamentos aplicados foram: Controle: armazenamento a 1°C durante 60 dias; Padrão: armazenamento a 5°C durante 60 dias; Condicionamento térmico 1: armazenamento a 5°C durante 7 dias e 1°C durante 53 dias; Condicionamento térmico 2: armazenamento a 10°C durante 7 dias e 1°C durante 53 dias; Aquecimento intermitente: ciclos de 6 dias a 1°C + 1 dia a 15°C durante 60 dias; Aquecimento 1: condicionamento dos frutos a 37°C durante 3h e 1°C durante 60 dias; Aquecimento 2: condicionamento dos frutos a 37°C durante 6h e 1°C durante 60 dias.

Estes tratamentos foram escolhidos com base em pré-testes realizados anteriormente.

As análises foram realizadas após 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento a 1°C. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 7X4 (7 tratamentos e 4 tempos de armazenamento). Foram utilizadas 4 repetições de 12 frutos por tratamento.

As seguintes determinações foram realizadas:

a) Índices de escurecimento interno: dependendo da área da superfície afetada, os frutos foram classificados em cinco categorias: 0 = 0%, 1 < 5%, 2 = 5-25%, 3 = 25-50% e 4 = > 50%. A seguir foram calculados os índices de podridões e de escurecimento de polpa através da fórmula preconizada por Cai et al. (2006b):

$$\text{Índice} = (\Sigma \text{ notas} \times \text{número de frutos afetados}) / (4 \times \text{total de frutos da amostra})$$

Os frutos foram considerados não aptos à comercialização quando atingiram valores superiores a 0,4 de índice ou quando foram atribuídas as notas 3 ou 4 (Cai et al. 2006b).

b) Atividades enzimáticas de POD, PPO e PAL: Para a determinação dessas três enzimas foram utilizadas as metodologias de Cai et al. (2006a,b). Para extração de

POD e PPO, a polpa do fruto foi macerada em nitrogênio líquido. Em 2g de polpa macerada foi adicionado 8mL de tampão fosfato de sódio (0,1M, pH 6,0) e centrifugados a 10000xg à 4°C durante 15 min. Para a mensurar a atividade de PPO, foi adicionada 0,5mL de solução de pirocatecol (100mM) a 1,5mL de extrato e 1,0mL de tampão fosfato de sódio. Foram aguardados 2 min à 25°C para execução da leitura. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 410nm. Na quantificação da atividade de POD, a 1mL do extrato foram adicionados 0,5mL de solução contendo 20mM de peróxido de hidrogênio e tampão fosfato (0,2M e pH 6,7) e 0,5mL de solução contendo 4mM de aminoantipirina e 10mM de pirocatecol. A solução foi incubada em banho-maria durante 5min à 30°C. A reação enzimática foi interrompida com 2mL de álcool etílico. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 505nm. Para a extração de PAL, em 2g de polpa macerada foi adicionada a 8mL de tampão borato 0,2M, sendo a amostra centrifugada por 20 min à 4°C em 10000xg. A amostra foi filtrada em lã de vidro, formando o extrato. A 1mL de extrato foi adicionado 1mL de tampão borato 0,2M. A seguir, as amostras foram colocadas em banho-maria a 36°C durante 5 min. Foi adicionada 1mL de fenilalanina (100mM) e os tubos foram incubados em banho-maria durante 1 hora à 36°C. Foi adicionado 0,1mL de HCl 6N para parar a reação. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 290nm. A atividade das três enzimas foi expressa em unidades (U) g⁻¹ polpa, sendo que 1 U correspondente ao aumento de 0,01 na absorbância por minuto.

c) Teor de compostos fenólicos: Foi determinado de acordo com a metodologia de Singleton e Rossi (1985). A extração foi realizada em álcool metílico 80%. Os extratos foram diluídos na proporção de 1mL de extrato para 10mL de água destilada. Foi adicionado 1mL de reagente de Folin-Ciocalteu a 200μL de extrato. Após 8 minutos do início da reação, foram adicionados 800μL de Na₂CO₃ a 7,5% e agitado em vortex. As amostras foram mantidas no escuro por duas horas e a leitura foi realizada em espectrofotômetro à 765nm de comprimento de onda. A quantidade de fenóis foi calculada pelo equivalente ácido gálico, através da comparação com curva padrão preparada usando-se concentrações que variam entre 0 e 500μg de ácido gálico por 100ml. Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de polpa.

d) Firmeza de polpa: utilizando-se um penetrômetro digital com ponteira plana e 5mm de diâmetro, penetrando 4mm. Foram efetuadas duas leituras por fruto, em lados opostos da região equatorial os mesmos, após uma pequena e superficial remoção da casca. Os resultados foram expressos em Newtons.

e) Teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e teor de ácido ascórbico (AA): O teor de SS foi determinado em refratômetro digital (Atago), com correção automática de temperatura para 20°C e os resultados expressos em °Brix. Para a determinação da AT, 10g da amostra triturada foi colocada em 90mL de água destilada. Foi efetuada titulação potenciométrica com NaOH 0,1N até pH 8,10 e os resultados foram expressos em %. O teor de AA foi determinado por titulação, através da redução do indicador 2,6-diclorofenol indolfenol-sódio (DCFI) pelo ácido ascórbico. Foram pesadas 10g da amostra e colocada em erlenmeyer contendo 50mL de solução de ácido oxálico. A titulação foi efetuada com DCFI até atingir a coloração rosada persistente por 15 segundo. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de polpa.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a diferença mínima significativa foi calculada ($p \leq 0,05$). Diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas (MORETTI et al., 2002; VITTI et al., 2004).

4.3 Resultados e Discussão

O índice de escurecimento foi afetado pelos tratamentos, sendo que a incidência foi maior no controle em relação ao padrão (5°C) e aos tratamentos térmicos, principalmente a partir dos 45 dias de armazenamento (Figura 1). O escurecimento interno é um dos sintomas de injúria por frio em nêspersas (CAI et al., 2006b), a qual se desenvolve quando os frutos são armazenados em temperatura abaixo da mínima de segurança por longos períodos (KLUGE et al., 2001). Frutos tratados com aquecimento intermitente mantiveram baixos índices de escurecimento de polpa, sendo que após 60 dias de armazenamento esses índices foram mais baixos neste tratamento em relação aos demais. O benefício do aquecimento intermitente é o fato de que a quebra da baixa

temperatura e a exposição a maiores temperaturas impedem a alteração irreversível nas membranas celulares, promovendo, assim, uma maior resistência dos tecidos ao frio subsequentemente ao tratamento (KLUGE et al., 1996, 2006). Esta maior resistência pode estar relacionada à manutenção da estrutura e permeabilidade das membranas e ao incremento na atividade de sistemas antioxidantes que auxiliam na remoção de substâncias tóxicas acumuladas durante o período de exposição a baixa temperatura (WANG et al., 2003; KLUGE et al., 2006; YAHIA et al., 2007).

Figura 1 – Escurecimento de polpa de nêspersas 'Fukuhara' em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Os tratamentos com aquecimentos rápidos e os armazenamentos prévios a 5 e 10°C também resultaram em redução na incidência de escurecimento de polpa, oferecendo uma boa proteção ao fruto até 45 dias de armazenamento. Estes tipos de tratamentos estimulam os mecanismos de defesa antes dos frutos serem submetidos ao frio, estabelecendo uma resistência cruzada, ou seja, as respostas decorrentes da exposição a moderadas ou altas temperaturas permanecem atuando durante a

exposição à temperaturas mais baixas (WANG et al., 2003; KLUGE et al., 2006). Os principais mecanismos de defesa envolvidos no estabelecimento de maior resistência de frutos tratados termicamente incluem o estímulo a biossíntese de poliaminas (MIRDEHGHAN et al., 2007), ao aumento da expressão de enzimas antioxidativas (YAHIA et al., 2007) e de proteínas de choque térmico (WANG et al., 2004).

Com o aumento da incidência de escurecimento interno na polpa, esperava-se aumento na atividade da PPO (Figura 2) e uma diminuição no teor de compostos fenólicos, o que não foi observado.

Figura 2 – Atividade de polifenoloxidase (PPO) em polpa de nêspersas 'Fukuhara' em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

A PPO, além da forma ativa presente no citossol apresenta formas latentes, presentes tanto no citossol quanto em plastídeos, isoladas do restante da célula (MARCHART et al., 2006). A manutenção dessa enzima na forma latente ou a não descompartimentalização dos plastídeos durante o armazenamento refrigerado podem ter causado a oscilação da atividade de PPO nesse experimento. O estresse causado aos frutos devido ao armazenamento refrigerado pode ter ativado o metabolismo

secundário das células, que é uma das rotas formadoras de compostos fenólicos (DING et al., 2001), justificando o incremento no teor de fenóis totais presentes nos frutos de nêspera ao longo do armazenamento (Figura 3).

Figura 3 – Teor de compostos fenólicos em polpa de nêsperas 'Fukuhara' em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

O teor de sólidos solúveis apresentou pouca oscilação durante o armazenamento (Figura 4), mostrando assim o caráter típico de frutos não climatéricos (ZHANG et al., 1990). Já os valores de pH aumentaram durante o armazenamento refrigerado (Figura 5). Esse aumento pode ser explicado pela diminuição de ácidos orgânicos (Figura 6), que são mais facilmente consumidos durante a respiração celular, quando comparado aos açúcares (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Já o teor de ácido ascórbico teve o mesmo comportamento do teor de sólidos solúveis durante a refrigeração, não tendo grandes variações nas avaliações (Figura 7). Assim, durante 60 dias de armazenamento, não foi observada diferença entre os tratamentos, mostrando que os condicionamentos térmicos não alteram as características físico-químicas de nêsperas.

Figura 4 – Teor de sólidos solúveis em polpa de nêspersas 'Fukuhara' em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Figura 5 – Potencial hidrogeniônico em polpa de nêspersas 'Fukuhara' em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Figura 6 – Acidez Titulável em polpa de nêperas 'Fukuhara' em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Figura 7 – Teor de ácido ascórbico em polpa de nêperas 'Fukuhara' em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Durante o armazenamento refrigerado, foi observado aumento na firmeza de polpa em todos os tratamentos (Figura 8). Tal fenômeno é causado pela lignificação do tecido (ZHENG et al., 2000), catalisada principalmente pelas enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL) e peroxidase (POD). O aumento da firmeza pode ser observado após 30 dias de armazenamento a 1°C, entretanto, aos 15 dias de refrigeração, ocorre um pico de atividade de PAL (Figura 9). Esse aumento na atividade de PAL pode ser devido ao aumento na produção de monômeros de lignina (BOUDET, 2000). Em reação catalizada pela POD, os monômeros de lignina são polimerizados e aderidos à parede celular, causando o enrijecimento do tecido (IPELEC et al., 1999).

Figura 8 – Firmeza de polpa de nêspersas 'Fukuhara' em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Figura 9 – Atividade de Fenilalanina amônia-liase (PAL) em polpa de nêspas 'Fukuhara' em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

Entretanto, alguns autores caracterizam o enrijecimento de polpa como um sintoma da senescência do fruto, ao invés de injúria por frio (CAI et al., 2006c). Tal afirmação pode ser reforçada, pois após 60 dias de armazenamento, é possível observar correlação entre a atividade de POD com os valores de firmeza de polpa (Figura 5). A POD, além de estar relacionada com a polimerização de monômeros de lignina, é uma enzima sinalizadora de senescência (CANO et al., 1995; SINGH et al., 2008).

Figura 10 - Firmeza de polpa e atividade de peroxidase (POD) em nêspersas cv. Fukuhara após 60 dias de armazenamento em função da aplicação de tratamentos térmicos. Barras verticais representam o desvio padrão da média (n=4)

4.4 Considerações Finais

No presente trabalho foi possível verificar que a aplicação aquecimento intermitente e aquecimento a 37°C durante 3 horas diminuem a incidência de escurecimento interno de polpa. Entretanto, os tratamentos térmicos não são eficientes no controle do enrijecimento de polpa em nêspersas 'Fukuhara'. Com a aplicação de tratamentos térmicos é possível aumentar o potencial de armazenamento de nêspersas sem a alteração nas características físico-químicas, porém sua aplicação comercial ainda é bastante limitada.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto de pesquisa (proc. 2006/05737-8) e bolsa de mestrado (proc. 2006/05269-4), e à Associação Frutícola do Alto Tietê (AFRUT) pela doação dos frutos para os experimentos.

Referências

- BOUDET, A.M. Lignins and lignification: selected issues. **Plant Physiology and Biochemistry**, London, v. 38, p. 81-96, Aug. 2000.
- BRACKMANN, A.; SAQUET, A.A.; CERETTA, M.; STORCK, L. Armazenamento de nêspas (*Eriobotrya japonica*, Lindl.) cv. Mizuho em atmosfera modificada. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 9, p. 18-24, Dez. 2004.
- CAI, C.; LI, X.; CHEN, K.; SHAN, L. Acetylsalicylic acid alleviates chilling injury of postharvest loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v. 223, p. 533-539, Aug. 2006a.
- CAI, C.; XU, C.; LI, X.; FERGUSON, I.; CHEN, K. Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 163-169, Mar. 2006b.
- CAI, C.; XU, C.; SHAN, L.; LI, X.; ZHOU, C.; ZHANG, W.; FERGUSON, I.; CHEN, K. Low temperature conditioning reduces postharvest chilling injury in loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, p. 252-259, Apr. 2006c.
- CANO, M.P.; ANCOS, B.; LOBO, G. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in papaya during postharvest ripening and after freezing/thawing. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, p. 815-817, Jan. 1995.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: ESAL, FAEPE, 2005. 320 p.
- DING, C.K.; CHACHIN, K.; UEDA, Y.; IMAHORI, Y. Purification and properties of polyphenol oxidase from loquat fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Davis, v. 46, p. 4144-4149, Sept. 1998.

DING, C.K.; CHIEN, Y.W.; GROSS, K.C.; SMITH, D.L. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. **Planta**, Heidelberg, v. 214, p. 895-901, Apr. 2002.

DING, C.K.; CHACHIN, K.; UEDA, Y.; IMAHORI, Y.; WANG, C.Y. Metabolism of phenolic compounds during loquat fruit development. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Davis, v. 49, p. 2883-2888, Dec. 2001.

_____. Modified atmosphere packaging maintains postharvest quality of loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, p. 341-348, Sept. 2002.

DING, Z.; TIAN, S.; WANG, Y.; LI, B.; CHAN, Z.; HAN, J.; XU, Y. Effects of storage temperatures on physiology and quality of loquat fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 14, p. 309-315, Nov. 1998.

_____. Physiological response of loquat fruit to different storage conditions and its storability. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, p. 143-150, Apr. 2006.

IMBERTY, A.; GOLDBERG, R.; CATESSON, A. Isolation and characterization of populus isoperoxidases involved in the last step of lignin formation. **Planta**, Heidelberg, v. 164, p. 221-226, Oct. 1985.

IPELEC, Z.; OGRAS, T.; BAJROVIC, K.; KAZAN, K.; BAYDAK, M.; TUNCTANER, K.; TULUKCU, M.; BALKAN, H.; TANRIYAR, H. Reduced leaf peroxidase activity is associated with reduced lignin content on transgenic poplar. **Plant Biotechnology**, Tóquio, v. 16, p. 381-387, Feb. 1999.

KADER, A.A. **Loquat**: recommendations for maintaining postharvest quality. University of California, Postharvest Technology Research & Information Center, 2008. Disponível em: <<http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/Producefacts/Fruit/loquat.shtml>> Acesso em: 13 mar. 2009.

KLUGE, R.A.; SCARPARE FILHO, J.A.; PEIXOTO, C.P. **Distúrbios fisiológicos em frutos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 2001. 58p.

KLUGE, R.A.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; BILHALVA, A.B.; FACHINELLO, J.C. Aquecimento intermitente em pêssegos 'Br-6' frigoconservados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 8, p. 543-547, Mar. 1996.

KLUGE, R.A.; AZEVEDO, R.A.; JOMORI, M.L.L.; EDAGI, F.K.; JACOMINO, A.P.; GAZIOLA, S.A.; AGUILA, J.S. Efeitos de tratamentos térmicos aplicados sobre frutas cítricas armazenadas sob refrigeração. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, p. 1388, Set. 2006.

MARCHART, S.S.; VELA, J.C.; MARTÍNEZ, R.B. Isolation of a latent polyphenol oxidase from loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.): kinetic characterization and comparison with the active form. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Oxford, v. 446, p. 175-185, Jan. 2006.

MIRDEHGHAN, S.H.; RAHEMI, M.; MARTINEZ, D.; GUILLEN, F.; VALVERDE, J.M.; ZAPATA, P.J.; SERRANO, M.; VALERO, D. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: role of polyamines. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 44, p. 19-25, July 2007.

SINGH, R.; DWIVEDI, U.N. Effect of ethrel and 1-methylcyclopropene (1-MCP) on antioxidants in mango (*Mangifera indica* var. Dashehari) during fruit ripening. **Food Chemistry**, London, v. 111, p. 951-956, Feb. 2008.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p. 144-158, Apr. 1985.

WANG, W.X.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, Heidelberg, v. 218, p.1-14, Mar. 2003.

WANG, W.X.; VINOCUR, B.; SHOSEYOV, O.; ALTMAN, A. Role of heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 9, p. 245-251, Oct. 2004.

YAHIA, E.M.; SOTO-ZAMORA, G.; BRECHT, J.K.; GARDEA, A. Postharvest hot air treatment effects on the antioxidant system in stored mature-green tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 44, p. 107-115, July 2007.

ZHANG, H.Z.; PENG, S.A.; CAI, L.H.; FANG, D.Q. The germoplasm resources of the genus *Eriobotrya* with special reference on the origin of *E. japonica* Lindl. **Acta Horticulturae Sinica**, Leuven, v. 17, p. 5-12, Oct. 1990.

ZHENG, Y.H.; LI, S.Y.; XI, Y.F.; PENG, S.A. Changes of cell wall substances in relation to flesh woodiness in cold-stored loquat fruits. **Acta Phytophysiology Sinica**, Leuven, v. 26, p. 306-310, Sept. 2000.

APÊNDICES

Frutos Controle armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 1mM de ácido salicílico armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 10mM de ácido salicílico armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 100mM de ácido salicílico armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 0,05mM de metil salicilato armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos Controle armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 50ppb de 1-MCP armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 500ppb de 1-MCP armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 5000ppb de 1-MCP armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 500ppb de 1-MCP e 0,01mM de metil-salicilato armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 0,01mM de metil-salicilato armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos Controle armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos Padrão armazenados a 5°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos condicionados a 5°C durante 7 dias e armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos condicionados a 10°C durante 7 dias e armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos armazenados a ciclos de 6 dias a 1°C + 1 dia a 15°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos aquecidos a 37°C durante 3h e armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos aquecidos a 37°C durante armazenados a 1°C durante 15, 30, 45 e 60 dias respectivamente

Frutos tratados com 100mM de ácido salicílico 1 dia após a aplicação do tratamento

Escurecimento interno da polpa em frutos de nêspera

Aplicação de metil-salicilato em frutos de nêspera

Aplicação de 1-MCP em frutos de nêspera