Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Efeito da aplicação de 1-metilciclopropeno e etileno na fisiologia e no amadurecimento de mamões 'Golden'

Marcos José Trevisan

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2012

Marcos José Trevisan
Engenheiro Agrônomo

Efeito da aplicação de 1-metilciclopropeno e etileno na fisiologia e no amadurecimento de mamões 'Golden'

Orientador:
Prof. Dr. ANGELO PEDRO JACOMINO

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2012

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

Trevisan, Marcos José
Efeito da aplicação de 1-metilciclopropeno e etileno na fisiologia e no amadurecimento de mamões 'Golden' / Marcos José Trevisan.- - Piracicaba, 2012.
116 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Fisiologia 2. Hormônios vegetais 3. Mamão - Conservação 4. Maturação vegetal 5. Pós-colheita 6. Regulador de crescimento vegetal I. Título

CDD 634.651
T814e

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

Aos meus pais,

Lazaro dos Santos Trevisan (*in memoriam*)

Helena Bucciolotti Trevisan

Pelo que sou hoje.

A minha esposa,

Karin Cristina Milanez Trevisan

Pelo cuidado, amor e paciência nos momentos de maior dificuldade.

Aos meus filhos,

Caetano Milanez Trevisan

Lívia Milanez Trevisan

Por simplesmente existirem e me fazer voltar a ser criança algumas vezes.

Dedico

A minha irmã,

Elisabeth Trevisan Pedroso

Pelas conversas que tivemos, companherismo e puxões de orelha.

Ofereço

“A felicidade aparece para aqueles que choram, para aqueles que se machucam, para aqueles que buscam e tentam sempre, e, para aqueles que reconhecem a importância das pessoas que passam por suas vidas”

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

À DEUS, por ter me dado o dom da vida.

À Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP/ESALQ, Piracicaba, SP, pela oportunidade oferecida para realização deste Doutorado.

À Comissão do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade da realização deste curso.

Ao Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino, pela orientação, apoio, confiança e críticas construtivas sempre muito pertinentes.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Produção Vegetal, pela amizade e companheirismo em todos os momentos desta empreitada.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia Luciane, pelas inúmeras orientações e auxílio prestados nos transmites da USP-ESALQ e pela amizade.

Ao Sr. Geraldo Ferreguetti e demais funcionários da Caliman Agrícola S/A pelo apoio ao projeto.

Ao Sr. Walter Sergio Pinto Pereira e Fernando Kazumiro Edagi da DowAgrosciences pelo financiamento da pesquisa.

Ao prof. Ricardo Alfredo Kluge do Departamento de Ciências Biológicas por ter cedido seu laboratório e equipamentos para as análises enzimáticas.

Em especial à Karin Cristina Milanez Trevisan, pelo amor, companheirismo, respeito, paciência e compreenção das minhas muitas falhas.

A todos os meus amigos do Laboratório de Pós-colheita pela amizade, consideração e auxilio nos experimentos desta tese.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado a todos !!!

SUMÁRIO

RESUMO 11
ABSTRACT 13
1 INTRODUÇÃO 15
2 OBJETIVO 17
3 DESENVOLVIMENTO 19
3.1 Revisão de Bibliográfica 19
3.1.1 Aspectos da cultura 19
3.1.2 Aspectos econômicos 20
3.1.3 Conservação pós-colheita de frutas 21
4 PADRÕES DE AMADURECIMENTO EM FRUTOS CLIMATÉRICOS E NÃO CLIMATÉRICOS 23
4.1 Etileno 24
4.1.1 Mecanismo de ação 26
4.1.2 Genes associados ao amadurecimento 28
4.1.3 Algumas enzimas afetadas pelo etileno 29
5 ANTAGONISTAS DA AÇÃO DO ETILENO 33
5.1 1-Metilciclopropeno (1-MCP) 33
5.1.1 Uso do 1-MCP 34
5.1.2 Uso do 1-MCP associado ao etileno 37
6 MATERIAL E MÉTODOS 39
6.1 Etapa 1 40
6.2 Etapa 2 41
6.3 Etapa 3 43
6.4 Metodologia das análises 45
6.4.1 Análises físicas e químicas 45
6.4.2 Análises fisiológicas 46
6.4.2.1 Atividade respiratória e produção de etileno 46
6.4.2.2 Concentração de CO_2 e de etileno endógenos 47
6.4.3 Análises bioquímicas 48
6.4.3.1 Atividade da enzima ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidase (ACO, EC 1.14.17.4) 48

6.4.3.2 Atividade da enzima ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico sintase (ACS, EC 4.4.1.14) 49
6.4.3.3 Atividade da enzima Pectinametilesterase (PME, EC 3.1.1.11) 49
6.4.3.4 Clorofila e carotenóides totais 50
6.4.4 Incidência de podridões 51
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO 51
7.1 Etapa 1 51
7.1.1 Firmeza da polpa e cor da casca 51
7.1.2 Aparência e cor da casca (Análise Visual) 52
7.1.3 Firmeza da polpa e cor da casca 54
7.1.4 Aparência e cor da casca (Análise Visual) 55
7.1.5 Incidência de podridões e murchamento 57
7.2 Etapa 2 58
7.2.1 Firmeza da polpa e cor da casca 58
7.2.2 Aparência e cor da casca (Análise Visual) 59
7.2.3 Incidência de podridões e murchamento 61
7.2.4 Teor de sólidos solúveis e de ácido ascórbico 62
7.2.5 Atividade respiratória 64
7.2.6 Produção de etileno 65
7.3 Etapa 3 67
7.3.1 Firmezas externa e interna e cor da casca 67
7.3.2 Aparência e cor da casca (Análise Visual) 71
7.3.3 Incidência de podriões e murchamento 74
7.3.4 Teor de sólidos solúveis e de ácido ascórbico 75
7.3.5 Produção de etileno e etileno endógeno 77
7.3.6 Atividade respiratória e dióxido de carbono endógeno 81
7.3.7 Teor de clorofila e carotenóides totais 84
7.3.8 Atividade da enzima pectinametilesterase (PME) 88
7.3.9 Atividade das enzimas 1-aminociclopropano-1carboxílico sintase (ACS) e oxidase (ACO) 91
7.3.10 Atividade das enzimas 1-aminociclopropano-1carboxílico oxidase (ACO) 94
8 CONCLUSÕES 99
REFERÊNCIAS 101

RESUMO

Efeito da aplicação de 1-metilciclopropeno e etileno na fisiologia e no amadurecimento de mamões 'Golden'

O mamão é um fruto climatérico, cujas transformações resultantes do amadurecimento ocorrem rapidamente após a colheita. O tratamento com 1-metilciclopropeno (1-MCP) tem sido testado para ampliar sua vida útil, entretanto, com resultados até então pouco consistentes. Pesquisas com peras, bananas e ameixas foram realizadas utilizando conjuntamente 1-MCP e etileno, com resultados relevantes. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar a fisiologia e a conservação pós-colheita do mamão 'Golden', submetido a diferentes combinações de 1-MCP e etileno, aplicados simultaneamente. Os frutos foram colhidos em pomares comerciais no estádio 1 de maturação, tratados e armazenados em câmaras frias a 11 e a 22ºC. O projeto foi dividido em três etapas. Na primeira etapa, observou-se que doses de 100 e 200 $nL.L^{-1}$ de etileno combinados com iguais concentrações de 1-MCP, apresentaram resultados semelhantes aos do 1-MCP aplicado isoladamente. Na segunda etapa, o etileno nas concentrações entre 0 e 10 $\mu L.L^{-1}$ foi combinado com 100 $nL.L^{-1}$ de 1-MCP. Esse aumento na concentração de etileno diminuiu ou até mesmo anulou a ação do 1-MCP, nas concentrações mais elevadas. A mudança de cor e a perda da firmeza foram mais lentas nos tratamentos com 1-MCP na dose de 100 $nL.L^{-1}$, aplicado sozinho ou associado a menor dose de etileno (2,5 $\mu L.L^{-1}$). Estes mesmos tratamentos apresentaram atividade respiratória e produção de etileno menores que o controle. Na terceira etapa, os frutos tratados apenas com 1-MCP e 1-MCP mais etileno nas doses de 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$, mostraram maior retenção da firmeza externa, firmeza interna e cor da casca. A aparência também foi melhor nestes tratamentos, com menor porcentagem de frutos podres. O teor de sólidos solúveis foi semelhante em todos os tratamentos e o de ácido ascórbico foi mais elevado nos frutos tratados apenas com 1-MCP. A produção de etileno e a concentração de etileno endógeno foram maiores nos frutos que receberam apenas 1-MCP. A atividade respiratória e a concentração de CO_2 endógeno mostraram pouca variação entre os tratamentos, durante o armazenamento. O teor de carotenóides foi menor nos tratamentos que receberam as maiores doses de etileno. O teor de clorofila foi maior no tratamento que recebeu apenas 1-MCP o qual levou mais tempo para tornar-se amarelo. A atividade da enzima pectinametilesterase (PME) foi menor nos tratamentos com 1-MCP e 1-MCP mais etileno na dose de 1 $\mu L.L^{-1}$. A atividade das enzimas 1-aminociclopropano-1-carboxílico sintase (ACS) e oxidase (ACO) alternaram períodos de elevada e de baixa atividade em todos os tratamentos, durante o armazenamento. A aplicação simultânea de 1-MCP e do etileno mostrou resultados promissores no controle do amadurecimento do mamão 'Golden'.

Palavras chave: *Carica papaya*; 1-Metilciclopropeno; Etileno; Conservação pós-colheita; ACC Sintase e Oxidase; Biossíntese de Etileno

ABSTRACT

Effect of 1-methylcyclopropene and ethylene on the physiology and ripening of 'Golden' papaya

Papaya is a climacteric fruit which ripening resulting transformations occur rapidly after harvest. Treatment with 1-methylcyclopropene (1-MCP) has been tested to extend its shelf life, however, with inconsistent results so far. Researches with pears, bananas and plums were carried out using 1-MCP and ethylene with relevant results. Therefore, the aim was to study the physiology and postharvest storage of 'Golden' papaya subjected to different combinations of 1-MCP and ethylene applied in the same time. The fruits were harvested from commercial orchards in stage 1 of ripening, they were treated and stored in cold chambers. The study was divided into three stages. In the first step it was observed that doses of 100 and 200 $nL.L^{-1}$ of ethylene combined with equal concentrations of 1-MCP showed similar results to the 1-MCP applied alone. In the second step, ethylene concentrations between 0 and 10 $\mu L.L^{-1}$ were combined with 100 $nL.L^{-1}$ of 1-MCP. This increase in ethylene concentrations, decreased or even nullified the action of 1-MCP. The change in color and the firmness loss were slower in the treatments using 100 $nL.L^{-1}$ of 1-MCP applied alone or associated with a lower dose (2.5 $\mu L.L^{-1}$) of ethylene. These same treatments showed less respiratory activity and ethylene production than the control. In the third step, the fruits treated only with 1-MCP and 1-MCP more ethylene at the doses of 1 and 2.5 $\mu L.L^{-1}$, showed higher retention of external and internal firmness and the green color of peel. The appearance was also better in these treatments, with a lower percentage of rotten fruit. The soluble solids content was similar for all treatments and the ascorbic acid was higher in the fruits treated only with 1-MCP. The ethylene production and endogenous ethylene concentration was higher in fruits treated only with 1-MCP. Respiratory activity and endogenous CO_2 concentration showed few variation among the treatments during the storage. The carotenoid content was lower in the treatments that received the highest doses of ethylene. The chlorophyll content was higher in treatments with only 1-MCP, which took longer to become yellow. The pectinmethylesterase (PME) enzyme activity was lower in treatments only with 1-MCP and 1-MCP more ethylene at a dose of 1 $\mu L.L^{-1}$. The 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase (ACS) and oxidase (ACO) enzyme activity, alternate periods of high and low activity in all treatments during storage. Simultaneous application of 1-MCP and ethylene showed promising results in the ripening of papaya 'Golden'.

Keywords: *Carica papaya*; 1-Methylcyclopropene; Ethylene; Post-harvest conservation; ACC Synthase and Oxidase; Ethylene Biosynthesis

1 INTRODUÇÃO

Simão (1998) relatou que o mamão é uma das frutas mais cultivadas no mundo, especialmente em áreas tropicais onde a temperatura média anual é de 25°C. O Brasil é o segundo produtor mundial de mamão, perfazendo cerca de 19% do total produzido (FNP, 2011).

As áreas de fisiologia e tecnologia pós-colheita têm apresentado avanços substanciais, tendo como foco a redução das perdas quantitativas e qualitativas que ocorrem em frutos durante as atividades de classificação, armazenamento e comercialização (WILLS et al., 1998; KADER, 2002; CHITARRA; CHITARRA, 2005). Para reduzir estas perdas, foi necessário melhorar os processos de manejo pós-colheita e conhecer a biologia e os fatores ambientais envolvidos na deterioração dos frutos, bem como as tecnologias que retardam a senescência e preservam a qualidade dos mesmos (AMARANTE; STEFFENS, 2009).

Ao longo das últimas duas décadas, as conquistas em muitas disciplinas tiveram seus impactos na compreensão dos processos relacionados ao amadurecimento de frutos, especialmente a elucidação da biossíntese do etileno, os aspectos do amolecimento dos frutos e do controle genético do amadurecimento (HUBER, 1995).

O etileno está envolvido na aceleração do amadurecimento e da senescência de frutos climatéricos. Em determinado estádio do amadurecimento, este hormônio se liga ao seu receptor na célula, um complexo protéico-enzimático e desencadeia uma série de eventos que culminam com o amadurecimento do fruto (BURG; BURG, 1967; LELIÈVRE et al., 1997). Foi verificado que a inibição da ligação do etileno ao seu receptor pode reduzir a produção e a ação do mesmo e, com isso, retardar o amadurecimento e a senescência de frutos climatéricos (SISLER; SEREK, 1997).

Sendo o etileno o principal hormônio promotor do amadurecimento em frutos (KADER, 2002; CHITARRA; CHITARRA, 2005), o emprego do armazenamento refrigerado, associado ao uso de inibidores da síntese do etileno, como por exemplo a aminoetoxivinilglicina (AVG) e da ação, como o 1-metilciclopropeno (1-MCP) (WATKINS, 2006; RONGCAI; DAVID, 2007) preservam a qualidade pós-colheita dos frutos.

A utilização do 1-MCP é considerado um avanço para a maçã, como tecnologia de armazenamento, para manutenção da qualidade para o consumidor.

Em maçãs, o 1-MCP mantém componentes de qualidade como firmeza (crocância), conteúdo de açúcar (doçura) e acidez titulável. O 1-MCP é aplicado como um gás por períodos relativamente curtos (2-24 horas) e é eficaz em concentrações muito baixas, não é tóxico e praticamente não deixa resíduo. Hoje tem aprovação para produtos agrícolas em mais de 26 países da América Latina, América do Norte, Europa, África, Ásia e Oceania, com uso comercial em maçã, kiwi, tomate, banana, ameixa, caqui, abacate e melão (AGROFRESH, 2007).

Contudo, a aplicação do 1-MCP pode acarretar certos problemas para algumas frutas, como pêras, bananas e mamões, os quais podem apresentar o chamado comportamento “sempre verde”, ou ainda, haver mudança na coloração, sem que o fruto perca a firmeza. Com a finalidade de tentar solucionar este problema muitas vezes causado pela aplicação do 1-MCP, foi proposto a aplicação conjunta dos reguladores 1-MCP e etileno no mamão “Golden’, tendo como base, resultados promissores de pesquisas realizadas por Golding et al. (1998) em bananas e Abdi et al. (1998) em ameixas.

2 OBJETIVO

Determinar combinações de doses de 1-MCP e etileno, aplicados simultâneamente, com a finalidade de prolongar a vida útil pós-colheita do mamão ‘Golden’, sem prejudicar o amadurecimento.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Revisão Bibliográfica

3.1.1 Aspectos da Cultura

O mamoeiro é uma planta herbácea, com altura entre 2 e 8 m, sistema radicular superficial, com raízes brancas e pouco abundantes, caule geralmente único, fibro-esponjoso, verde a cinza-claro, fácil de quebrar e cercado por coroa de folhas. Folhas grandes, alternadas, lobadas, peciolo longo (25-100 cm), ôco e frágil. As flores podem ser masculinas, femininas ou hermafroditas (em indivíduos distintos), de cor branco-amarelada a amarela, com ovário de formato arredondado ou alongado (cilindrico). O fruto é uma baga, com formatos arredondado, cilindrico ou periforme, de cor amarela ou alaranjada quando maduro. A polpa tem consistência suave e suculenta, cor salmão, vermelha e até amarela, com sementes negras que se inserem na cavidade interna do fruto. A composição por 100 g de polpa é de 32 calorias, 90 g de água, 8,3 g de carboidratos totais, 0,6 g de fibra, 0,5 g de proteínas, 0,1 g de gorduras, 20 mg de calcio, 0,4 mg de ferro, 13 mg de fósforo, 110 mg de caroteno, 0,03 mg de vitamina B_1, 0,04 mg de vitamina. B_2 e 46 mg de vitamina C.

O mamão completa o amadurecimento de 4 a 6 meses após a abertura da flor, todavia os frutos normalmente são colhidos antes do amadurecimento completo. Aqueles destinados a exportação ou armazenamento por períodos longos são colhidos normalmente quando a coloração da casca passa do verde escuro para o verde claro (sementes negras e início de coloração rósea da polpa). Entretanto, se mantidos na planta por maior período, a qualidade da polpa será melhor (SÃO PAULO-SECRETARIA AGRICULTURA, 1998).

É a 3ª fruta mais consumida pelos brasileiros, sendo o consumo *per capita* pouco mais de 2 kg anuais, valor considerado ainda baixo pelo mercado. Os estados da Bahia e Espírito Santo respondem por 85% da produção brasileira. A exportação brasileira de mamão começou a ter alguma expressão a partir da década de 80 e os principias centros importadores encontram-se na Europa (80%) e USA (14%) (BRAPEX, 2010),

A produção brasileira é baseada em 2 grupos de variedades, sendo eles:

- Solo: procedente do Havaí, precoce, frutos periformes ou arredondados, muitos cultivares, com peso de 400-600 g, polpa laranja-avermelhada de excelente sabor.
- Formosa: vários híbridos, de origem chinesa, frutos com peso de 0,8 a 2,5 kg e polpa avermelhada.

3.1.2 Aspectos Econômicos

Manrique e Lajolo (2004) afirmaram que os frutos são colhidos após terem alcançado o estádio de maturidade fisiológica, quando o desenvolvimento está concluído e o crescimento cessou. Neste ponto, começa o amadurecimento e os frutos adquirem as características organolépticas para serem consumidos.

Não apenas o mercado interno, mas especialmente as exportações de frutas brasileiras, ressentem-se da falta de tecnologias adequadas que permitam conservar as características das frutas tropicais colhidas bem próximas ao completo amadurecimento (PIZA JUNIOR, 1992).

Segundo Lacerda, Lacerda e Assis (2004), o agronegócio brasileiro é responsável por 21% do Produto Interno Bruto (PIB), gerando 37% dos empregos no país e responsável por 41% das exportações. Contudo, o Brasil ainda pode melhorar sua inserção no mercado internacional de frutas frescas, com perspectivas de atingir US$ 2 bilhões em poucos anos, sendo que hoje é de US$ 610 milhões (IBRAF, 2011).

O Brasil é hoje o terceiro maior produtor de frutas do mundo, e o mamão representa cerca de 4,5% desta produção, segundo relatos do IBGE (2008). De acordo com dados do FNP (2011) a produção de mamão foi de 1.890.286t em 2008, e a exportação foi de 27.554t e US$ 34,5 milhões em 2009, ocupando o 2º lugar em produção mundial (FAEB, 2011).

Um dos principais problemas com o mamão depois de colhido é o amadurecimento irregular dos frutos de um mesmo lote, como conseqüência de uma inadequada escolha nas casas de embalagem (BRON et al., 2004).

Para a definição do ponto de colheita, deve-se levar em consideração a distância e a exigência do mercado consumidor, bem como o meio de transporte. Os frutos no estádio inicial de maturação (menos de 10% de cor) podem ser destinados à exportação por via marítima. Optando-se pelo embarque aéreo, os frutos podem

ser enviados num estádio mais maduro, e mesmo assim, chegarão ao mercado de destino em boas condições de comercialização (MARTINS; COSTA, 2003).

3.1.3 Conservação Pós-Colheita de Frutas

Chitarra e Chitarra (2005) mencionaram que as características de qualidade diferem entre os produtos de uma mesma espécie de acordo com a origem, condições de produção, armazenamento, comercialização e finalidade que será dada ao produto. Frutas e hortaliças necessitam de cuidados especiais no campo e na fase pós-colheita para apresentarem boas características de qualidade, próprias de cada espécie ou cultivar, mas que podem sofrer modificações decorrentes dos fatores externos ou mesmo do manuseio incorreto.

Malgarim et al. (2005) afirmaram que a refrigeração convencional é o método mais utilizado para o armazenamento de frutas. Tratamentos suplementares à refrigeração como uso de atmosfera modificada ou controlada, irradiação, tratamentos químicos, revestimentos comestíveis, ceras e biotecnologia, também são benefícios que controlam danos, reduzindo a perda de umidade, prevenindo as desordens fisiológicas e aumentando o período de vida útil dos vegetais (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O amolecimento dos frutos ocorre devido à perda de turgor (transpiração) e por degradação da parede celular (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A parede celular é constituída por celulose, hemicelulose, pectinas, proteínas estruturais e lignina. As principais modificações durante o amaciamento dos tecidos são atribuídas à degradação das pectinas, que são os principais constituintes da lamela média.

O 1-metilciclopropeno (1-MCP) é um produto que tem sido utilizado na extensão da vida pós-colheita e manutenção da qualidade de produtos vegetais, inibindo temporariamente a ação do etileno, em especial o amadurecimento dos frutos. Liberado para uso em vários países, incluindo o Brasil, o 1-MCP é um produto promissor para utilização na pós-colheita de produtos vegetais. O 1-MCP é um gás, embora seja comercializado na formulação pó. A aplicação do produto é realizada dentro de câmaras de armazenamento, pela mistura do pó a água, o que permite a liberação do gás (PINHEIRO et al., 2005).

Segundo Corrent et al. (2005) maçãs tratadas com 1-MCP apresentaram firmeza de polpa 6 N superior àquelas não tratadas. Isso significa um ganho

tecnológico importante uma vez que essa é uma das principais variáveis de qualidade. O conteúdo de sólidos solúveis totais também foi mais elevado em frutas tratadas com 1-MCP, provavelmente devido à menor atividade respiratória relacionada à menor produção de etileno.

4 PADRÕES DE AMADURECIMENTO EM FRUTOS CLIMATÉRICOS E NÃO CLIMATÉRICOS

O amadurecimento de uma fruta consiste em um complexo processo genético programado, que culmina em mudanças na cor, textura, sabor e aroma. Baseado em seus padrões respiratórios, as frutas podem ser divididas em 2 grupos: os climatéricos, nos quais o amadurecimento ocorre acompanhado por um pico respiratório e concomitantemente aumento do etileno, e os não climatéricos, no qual não existe mudança na respiração e produção de etileno ou estes são em níveis muito baixos (LÓPEZ-GÓMEZ et al., 2009).

O etileno tem um importante papel durante o amadurecimento de frutos climatéricos, iniciando e coordenando diversos processos, tais como desenvolvimento de cor, amolecimento e formação do aroma (BALBOTIN et al., 2007).

Portanto, muitas das alterações relacionadas com o amadurecimento em frutos climatéricos são desencadeadas pelo etileno, enquanto não se tem tal relação nos não climatéricos, mas, a natureza das mudanças associadas ao amadurecimento são semelhantes entre os dois tipos. Além disso, dentro de uma mesma espécie, algumas cultivares podem mostrar um padrão de fruto climatérico enquanto outras não. Assim, pode não haver fundamentais diferenças entre os dois tipos de frutos, no entanto, por razões históricas e conveniência da descrição, os dois são considerados separadamente (SRIVASTAVA, 2002).

Sabe-se que a quantidade de etileno nos frutos climatéricos aumenta durante o amadurecimento. A evolução do pico de etileno indica um aumento climatérico da respiração. O sistema 1 de ação da biossíntese do etileno em frutos verdes, produz uma quantidade insignificante de etileno endógeno. A concentração de etileno aumenta gradualmente com amadurecimento para atingir um nível limiar determinado para sua síntese em massa. Isto é associado com a ativação do sistema 2 da biossíntese do etileno, conhecido como ciclo da metionina (BULANTSEVA et al., 2009).

Nos frutos não climatéricos, os baixos níveis de produção de etileno continuam durante o amadurecimento e também não existe aumento da atividade respiratória, ou mesmo na produção de etileno (SRIVASTAVA, 2002)

Tais mudanças são decorrentes do aumento da atividade enzimática, e no caso de frutos climatéricos, estão associadas a mudanças da atividade respiratória e biossíntese de etileno (RHODES, 1980; VENDRELL; PALOMER, 1997).

Assim, temos uma série de enzimas que são reguladas pelo etileno, como por exemplo, celulase, pectinase, peroxidase, poligalacturonase, β-1,3-glucanase, fenilalanina-amonioliase (PAL), polifenol oxidase (PPO), entre outras. Deve ser destacado a importância do etileno na síntese dos compostos fenólicos, tanto dos ácidos fenólicos simples como dos flavonóides, através das enzimas PAL, PPO e chalcona sintetase (RODRIGUES; ONO, 2001).

Dessa forma, a atividade de algumas enzimas hidrolíticas, tais como poligalacturonase, pectinametilesterase, α e β-glucanase tem sido estudada durante o amadurecimento do mamão papaia (*Carica papaya* L.), sugerindo que estas enzimas tem um importante papel no amolecimento da fruta (EASTMAN et al., 2009).

4.1 Etileno

Praticamente todas as partes das plantas produzem etileno em pequenas quantidades em algum momento de sua ontogenia (TAIZ; ZEIGER, 2009). As frutas não climatéricas também produzem etileno, porém numa quantidade menor do que a verificada nas climátericas. O etileno é um hormônio vegetal de estrutura simples que está envolvido em inúmeros processos fisiológicos, desde a germinação de sementes até o amadurecimento e senescência de frutos.

Rodrigues e Ono (2001) afirmaram que o etileno apresenta inúmeros efeitos fisiológicos, como quebra da dormência de gemas e sementes, expansão de órgãos, formação de raízes, floração, expressão sexual, epinastia, formação do gancho plumular, senescência de folhas e flores, abscisão e maturação de frutos.

Embora pareça muito provável que o vacúolo seja o compartimento onde o etileno é formado na célula, não se sabe se é o único (KENDE, 1989). Este hormônio difunde-se dentro e fora dos tecidos vegetais, podendo afetar a qualidade de produtos hortícolas, como a cor, textura, sabor e aroma (CASTRO; SENA; KLUGE, 2002). Tais efeitos podem ser benéficos, como por exemplo, em centrais de distribuição na uniformização do amadurecimento de vários produtos, ou

indesejáveis, durante o armazenamento e transporte de frutos e hortaliças, por acelerar o seu amadurecimento, reduzindo sua vida útil.

Tem efeito sobre sua própria síntese e na percepção pelos tecidos das frutas, as quais sofrerão efeitos sobre os processos de amadurecimento. Apesar do amadurecimento também estar sob o controle de desenvolvimento de sinais como abscisão, germinação, senescência e maturação, ainda assim, quando se inibe a percepção do etileno no fruto, retarda-se o amadurecimento e aumenta sua vida de prateleira (LURIE, 2008).

Sabe-se, no entanto, que a síntese de etileno e também de seus receptores pode variar com o ciclo de vida das frutas, aumentando ou diminuindo seus receptores à medida que o orgão envelhece. Para frutos climatéricos colhidos antes do amadurecimento, como é o caso da banana, a aplicação de etileno encurta o período pré-climatérico, antecipando o amadurecimento dos frutos, indicando que o etileno estimula a síntese de etileno auto-catalítico e/ou de seus receptores (SILVA et al., 2003). Este fitohormônio é encontrado nos espaços interceluares, e tem como precursor primário o aminoácido metionina, como intermediário S-adenosilmetionina (SAM) e como percursor imediato o ácido aminociclopropano carboxilico (ACC) (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A metionina é convertida em SAM por ação da enzima metionia S-adenosiltransferase. A molécula de SAM é cindida em duas metades, sendo uma parte reciclada através do ciclo Yang e a outra parte é convertida em ACC por ação da enzima ACC sintase. A ACC oxidase em condições aeróbica converte a ACC em etileno (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005).

A maior produção de etileno deve-se também à reciclagem da metionina durante o climatérico através do ciclo Yang. A reciclagem do ACC também pode contribuir para um aumento na produção de etileno, mas este evento parece atuar mais como um ponto de regulação da produção do fitohormônio.

A aplicação de etileno nas frutas não climatéricas, em qualquer fase da maturação, resulta num aumento da atividade respiratória, proporcional à concentração aplicada e durável até cessar a exposição ao fitohormônio. Nas frutas climatéricas, a produção de etileno é reduzida na fase pré-climaterica, elevando-se até o máximo no climatérico para posteriormente declinar. Normalmente, a aplicação exógena de etileno nestas frutas antecipa uma única vez o pico climaterico quando aplicado na fase pré-climatérica. O aumento da respiração independe da

concentração de etileno aplicada. O padrão respiratório não é alterado, o que ocorre é a precocidade do pico proporcional à concentração de etileno (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Geralmente, os seus múltiplos efeitos, que culminam com a senescência, iniciam com a maturação dos frutos, sendo ele ativo biologicamente em quantidades traços, provocando importantes efeitos em nível comercial (YANG; HOFFMAN, 1984). Entretanto, a resposta dos frutos, quando expostos a este gás, são variáveis, dependendo da espécie e cultivar. De acordo com Saltveit (1999) a sensibilidade a este fitohormônio varia durante o desenvolvimento da planta e dos frutos, bem como da taxa de síntese e degradação desse gás nos tecidos.

Em trabalho realizado por Mainard et al. (2006) o tratamento com etileno antecipou os eventos relacionados ao amadurecimento, enquanto estes eventos foram atrasados pelo tratamento com 1-MCP. Embora os frutos tratados com 1-MCP tiveram a capacidade de recuperar a síntese de etileno, não se viu típico pico de respiração.

4.1.1 Mecanismo de Ação

O conhecimento do potencial de produção de etileno pelas frutas auxilia no manejo pós-colheita, uma vez que o armazenamento, numa mesma câmara frigorífica de frutas com diferentes taxas de produção de etileno, reduz a vida pós-colheita daquela que possui menor taxa de produção, devido ao efeito estimulante do etileno na antecipação do climatério (JACOMINO et al., 2008).

O mecanismo de ação do etileno em nível molecular ainda é objeto de estudo (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Para exercer sua ação o etileno se liga a receptores protéicos da membrana plasmática (hidroxiprolina-ETR1), que contém Cu^{2+} ou Zn^{2+} como sítio de ligação (Figura 1). Esse complexo etileno-receptor, através de um mensageiro secundário, leva o sinal do etileno até o DNA (núcleo), o que é chamado de transdução do sinal. No núcleo ocorre a produção de RNA mensageiro (mRNA) específico de algumas enzimas hidrolíticas (celulase, poligalacturonase e pectinases), sendo essa fase denominada de transcrição gênica. Em seguida, com o mRNA no citoplasma, ocorre a fase de tradução do sinal, ou seja, a síntese dessas enzimas no R.E. (retículo endoplasmático). Essas enzimas migram ao complexo de Golgi, onde são liberadas na parede celular (PC),

ocorrendo, em função da ação da enzima específica, a degradação da celulose, pectina, entre outras, amolecendo a parede e iniciando o processo de maturação (RODRIGUES; ONO, 2001).

Contudo, o amadurecimento de frutos climatéricos é fortemente e, às vezes, irreversivelmente reprimida/suprimida em resposta a aplicação do 1-MCP, principalmente no início da maturação, quando a produção de etileno é baixa, ou seja, no nível pré-climatérico (ZHANG et al., 2009). Dependendo de quanto tempo o antagonista permanecerá ligado, às vezes um curto tempo outra por um longo período, o vegetal permanecerá insensível ao etileno (SISLER, 2006).

O 1-MCP vem sendo amplamente testado para utilização em pós-colheita. Este composto liga-se de modo irreversível aos receptores de etileno, impedindo sua ação e, conseqüentemente, bloqueando as reações de amadurecimento dependentes deste fitormônio (SEREK; SISLER; REID, 1994; GIRARDI et al. 2003). Porém, Sisler e Serek (1997; 1999) relataram que a meia vida do 1-MCP ligado ao receptor foi estimada em aproximadamente 30 dias.

Como o etileno é o fitormônio que desencadeia os processos de amadurecimento, faz-se então necessário a inibição de sua síntese ou de sua ação para retardar esse processo. Uma das formas de bloquear a ação do etileno é pela utilização de compostos que atuam em seus sítios receptores, presentes nas membranas celulares.

ZHANG et al. (2009) propuseram que os níveis de etileno interno influenciam fortemente a eficácia do 1-MCP e, que desse modo, poderia explicar a perda de sensibilidade de alguns frutos climatéricos ao 1-MCP, quando aplicado em estádios de maturação mais avançados.

Jiang et al. (2002a; 2004c) relataram que a síntese de novos sítios deve ser afetada pela temperatura. Em banana, temperaturas entre 30 e 40ºC resultaram em rápida recuperação do amadurecimento, enquanto que a aplicação de 1-MCP a 2,5ºC foi menos efetiva que a 15 e 20ºC, sugerindo que a ligação a baixas temperaturas foi incompleta.

Baseado na natureza e quantidade de etileno produzido durante o crescimento e desenvolvimento da planta, incluindo amadurecimento do fruto, foi introduzido o conceito de sistema 1 e 2 (McMURCHIE; McGLASSON; EAKS, 1972). No sistema 1, o etileno é produzido a baixos níveis e contribui para produção basal pela planta durante vários estádios do crescimento e desenvolvimento e é auto-

inibitório. No sistema 2, os níveis são altos, operando durante o climatérico dos frutos e senescência de algumas flores e é auto-estimulado (OETIKER; YANG, 1995). Yokotani et al. (2009) afirmaram que mesmo quando o efeito do etileno no sistema 1 é eliminado, o fruto pode iniciar o sistema 2, levando a maturação.

4.1.2 Genes Associados ao Amadurecimento

O principal foco nas pesquisas com etileno, tem sido a elucidação da recepção e transdução do sinal, usando *Arabidopsis thaliana* como modelo (GOLDING; EKMAN; McGLASSON, 2005). Em 1993, foi isolado o gene ETR_1, quando se descobriu que uma mutação pontual neste gene conferiu a *Arabidopsis thaliana* insensibilidade ao etileno. Quatro homólogos adicionais ao ETR_1 (ETR_2, ERS, ERS_2 e EIN_4) também foram isolados, e uma mutação pontual também foi realizada em cada homólogo que produz insensibilidade ao etileno (O'MALLEY; BLEECKER, 2003).

As respostas ao etileno são mediadas por famílias de receptores, sendo que o número de isoformas destes receptores varia de espécie para espécie. Em *Arabidopsis thaliana* onde a maioria das pesquisas têm sido desenvolvidas, existem 5 isoformas do receptor, onde todos podem se ligar ao etileno (BINDER, 2008). Rodrigo e Zacarias (2007) mostraram que o tratamento pós-colheita com etileno reproduz e acelera as mudanças bioquímicas e expressão de genes que ocorrem naturalmente durante o amadurecimento das frutas.

Um modelo inverso de agonista da transdução de sinal do etileno prevê que a magnitude da resposta a sensibilidade a esse fitohormônio aumenta quando o número de receptores diminui. Por outro lado, aumento na expressão dos receptores leva a uma diminuição da sensibilidade. Uma série de estudos tem mostrado existir mudanças nos níveis de transcrição dos receptores durante o desenvolvimento do fruto ou por resposta a certos estímulos (BINDER, 2007).

A variedade de mamão Golden tem curta vida pós-colheita e responde imediatamente ao tratamento com etileno, porém pouco se sabe sobre a expressão do gene correspondente (FABI et al., 2010). An e Paull (1990) mostraram que a aplicação exógena de 100 $\mu L.L^{-1}$ de etileno estimulou o amadurecimento de mamões, evidenciado pelo amolecimento da polpa, degradação da clorofila e síntese de carotenóides na casca.

O uso de etileno exógeno para induzir amadurecimento em mamão ‘Golden’ permitiu a Fabi et al. (2010) identificarem genes que são positivamente ou negativamente regulados por este hormônio. Como uma fruta típicamente climatérica, o mamão sofre enormes alterações físicas e químicas em um período muito curto, que denotam mudanças significativas no padrão de expressão de vários genes (FABI et al., 2009).

Descobertas recentes têm ampliado a compreensão do mecanismo regulador que precede e regula a indução de etileno durante o amadurecimento. Os receptores $LeERT_4$ e $LeETR_6$ são proteínas degradadas em resposta à aplicação de etileno, resultando em aceleração da maturação dos frutos. Como os receptores são reguladores negativos da sinalização do etileno, a degradação dos mesmos resultaria em aumento progressivo na ativação da sensibilidade hormonal, disparando o amadurecimento, quando um limite específico nos níveis de receptores é atingido (CARA; GIOVANNONI, 2008).

Se a ligação do etileno ao receptor é essencial para a degradação do mesmo, o 1-MCP deve estabilizar a proteína receptora. Os receptores $LeETR_4$ e $LeETR_6$ tem importante papel em modular o tempo de amadurecimento. Redução nos níveis destes receptores mediante RNA antisense ou degradação das proteínas, resulta em amadurecimento antecipado (KEVANY et al., 2007).

4.1.3 Algumas Enzimas Afetadas pelo Etileno

Jiang e Fun (2000) descreveram que o aumento do etileno após o pré-climatérico ocorre porque a ACC oxidase é ativada, havendo conversão de ACC em etileno. Este etileno produzido, por sua vez, induz uma maior atividade da ACC sintase para produzir maior quantidade de ACC, caracterizando, assim, a produção autocatalítica de etileno.

Portanto, as enzimas ACC sintase e ACC oxidase são consideradas chaves na biossíntese do etileno e suas atividades podem ser reguladas por diversos tratamentos pós-colheita, incluindo o uso de atmosfera modificada ou controlada e a aplicação de reguladores vegetais. Os compostos aminoetoxivinilglicina (AVG) e ácido aminoxiacético (AOA), quando aplicados, impedem a conversão de SAM em ACC, pois diminuem a atividade da enzima ACC sintase. Baixos teores de O_2 ou altas temperaturas podem inibir a atividade ACC oxidase. O aumento da produção

de etileno se faz pelo climatério, injúria mecânica, injúria pelo frio, auxinas em altas concentrações, aplicação de etileno, que aumentam a atividade da enzima ACC sintase. O amadurecimento aumenta a atividade da enzima ACC oxidase (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Alguns fatores interferem na ação do etileno, como por exemplo, alto teor de CO_2 que se liga ao sito receptor no lugar do etileno, alteração do pH do meio, que faz com que o etileno não consiga se ligar ao sítio, baixo teor de O_2, 1-MCP, entre outros (JACOMINO et al., 2008).

Nos processos de degradação da parede celular por enzimas como a poligalacturonase (PG) e a endo-β-1,4-glucanase (E-gase) são importantes participantes (TIWARI; BHATIA, 1995). Lazan, Selamat e Ali (1995) estudaram o papel das enzimas pectinolíticas no amolecimento e modificações da parede celular durante o amadurecimento de mamões. Os autores observaram aumento na solubilidade e despolimerização das pectinas. Para hemiceluloses foi verificado aumento na fração correspondente e na degradação de polímeros, levando a hipótese da ocorrência simultânea de síntese e degradação de tais polissacarídeos da parede celular. O papel das hemiceluloses no processo de amolecimento durante o amadurecimento não está ainda bem elucidado, em parte, devido ao comportamento irregular que estes tipos de polímeros têm nas diferentes espécies frutíferas.

Exames mais detalhados do amolecimento de frutas mostraram que a atividade das enzimas poligalacturonase (PG) e celulase foram diminuídas pelo uso do 1-MCP, porém a atividade destas enzimas foi normal em frutos de abacate e estes amadureceram normalmente, mesmo com a aplicação do 1-MCP (FENG et al., 2000).

O amolecimento de mamões foi caracterizado por um aumento de 6 vezes na pectina solúvel em água, o qual não foi correlacionado com a perda de firmeza durante o início do amadurecimento (PAULL; GROSS; YUNXIA, 1999)

Nakatsuka et al. (1997, 1998) afirmaram que a inibição do acúmulo de RNA mensageiro para transcrição de ACC sintase e oxidase pelo 1-MCP, indicou que existe uma resposta positiva da regulação da produção de etileno em tomate. Após o tratamento, a recuperação dos níveis de transcrição nos frutos com 1-MCP em relação aos do controle foi de 2 a 4 dias. Isto foi demostrado, com a aplicação de 1-MCP em frutos na fase inicial do amadurecimento (sistema I), os quais tiveram a

produção de etileno afetada, através da repressão de certos genes da via expressa da biossíntese de etileno, enquanto outros genes não foram afetados.

Oliveira et al. (2005) mostraram não existir evidências que relacionem o processo de amaciamento da polpa do pêssego 'Diamante' com a enzima PG. Apesar de se ter detectado atividade da enzima PME, uma das pectinases envolvidas no processo de amaciamento, com conseqüente aumento na porcentagem de solubilização de pectinas, não se pode inferir que somente essa enzima esteja envolvida no processo de degradação. Sabe-se que outras enzimas estão envolvidas na solubilização de pectinas

5 ANTAGONISTAS DA AÇÃO DO ETILENO

Algumas substâncias são conhecidas como antagonistas do etileno. São divididas em inibidores da atividade e inibidores da síntese desse hormônio. Do primeiro grupo fazem parte CO_2 em altas concentrações (5 a 10%), compostos à base de prata, como o nitrato ou o tiossulfato (STS), que inibem a abscisão de folhas, flores e frutos e o 1-metilciclopropeno (1-MCP), que diminui a atividade do etileno, por competir com o mesmo, ligando-se ao seu receptor e, portanto, impedindo a sua ligação. Como inibidores da síntese são conhecidos o cobalto, o ácido amino oxiacético (AOA), triazóis como o uniconmazole (Sumisevenâ) e o paclobutrazol (Paclobutrazolâ, Bonziâ, Cultarâ), além do AVG (aminoetoxivinilglicina), (RODRIGUES; ONO, 2001).

5.1 1-Metilciclopropeno (1-MCP)

Uma nova ferramenta, 1-metilciclopropeno (1-MCP), tem sido acrescida à lista de opções de produtos que aumentam a vida de prateleira e mantêm a qualidade de produtos vegetais. Porém, segundo Sisler e Serek (2003) o 1-MCP reduz o amolecimento de muitas frutas, mas algumas espécies vegetais não são afetadas.

O 1-MCP pode fornecer meios convenientes para se testar as respostas do etileno em muitos processos fisiológicos (GOLDING et al., 1998).

Blankenship e Dole (2003) relataram que em temperatura e pressão padrão, o 1-MCP é um gás com peso molecular de 54 e fórmula C_4H_6. Ele age nos vegetais através da ocupação dos receptores de etileno de tal modo que este não consegue se ligar e elicitar sua ação. Essa molécula tem dez vezes mais afinidade com o receptor do etileno que o próprio etileno.

Independente do mecanismo de sorção do 1-MCP, a taxa de captação também é impactada por fatores que afetam a difusão do gás. Um fator importante que afeta a difusão do gás através de produtos frescos é a resistência do tecido morfológico e cuticular. Na maioria das frutas e órgãos de armazenamento, a casca ou pericarpo é a maior barreira à difusão de gás, onde a maior parte entra através de poros ou lenticelas (THEOLOGIS; LATIES, 1982).

Existem dois principais usos comerciais do 1-MCP: a manutenção do frescor de plantas e flores ornamentais, e a prevenção do amadurecimento indesejado de

frutas. Em cada caso, 1-MCP é misturado a uma específica quantidade de água ou outra solução para liberar-se no ar. Ele é usado em ambientes fechados, tais como câmaras frias e containers.

Mudanças na ligação ao sítio são relatadas devido ao estádio de desenvolvimento, condições iniciais e cultivar, o que faz a obtenção de resultados confiáveis à baixa concentração de 1-MCP ser mais difícil. É possível também que a competição entre órgãos reduza a uniformidade de resposta quando baixos níveis de 1-MCP são utilizados (NANTHACHAI et al., 2007).

Foi demonstrado que o 1-MCP se liga aos receptores de etileno, com meia vida entre 7 e 12 dias, comparando com 2 a 10 minutos no caso do etileno. Esse tipo de difusão sugere que a ligação do 1-MCP ao receptor de etileno é praticamente irreversível, porém, assim que o complexo receptor do 1-MCP é metabolizado ou novos receptores são gerados a altas temperaturas, o processo é revertido (PEREIRA; BELTRAN, 2002). O período de ação do etileno é limitado, visto que novos receptores do etileno vão sendo sintetizados, dinamicamente, permitindo o amadurecimento normal dos frutos, preferentemente, após o período de armazenamento. Aplicações sucessivas deste produto podem ser viáveis na manutenção da qualidade de frutos por longos períodos (VILAS BOAS, 2002).

5.1.1 Uso do 1-Metilciclopropeno

O 1-MCP tem sido usado para investigar a ação do etileno e os tecidos responsáveis pelas respostas a ele durante o amadurecimento de frutos climatéricos e senescência de flores. Resultados demonstram a eficiência do 1-MCP em diminuir os processos de amadurecimento e retardar a senescência em frutas, flores e hortaliças. Toivonen (2008) mencionou que a respiração e produção de etileno estão diretamente ligados a aplicação de 1-MCP, os quais são afetados por este composto.

Ozkaya e Dendar (2009) verificaram que em maçãs cultivar Granny Smith tratadas com 1-MCP mostraram decréscimo na concentração interna de etileno e mantiveram a firmeza quando comparadas aos do controle. Também foi efetivo na manutenção da cor e acidez.

Wang et al. (2009) relataram que o 1-MCP aplicado em manga cultivar Tainong na concentração de 1 ppm, manteve a firmeza. O 1-MCP inibiu a atividade

das enzimas catalase, superóxido desmutase e ascorbato peroxidase. Os resultados sugerem que o 1-MCP pode ter papel positivo na regulação da ativação do balanço do metabolismo do oxigênio.

Dosagens elevadas de 1-MCP favoreceram o desenvolvimento de podridão em melões do tipo orange (TERAO et al., 2003). Jiang, Joyce e Terry (2001) afirmaram que dosagem de 1-MCP aceleraram o desenvolvimento de doenças em morango, em função da inibição da síntese de fenilalanina-amônio-liase (PAL) e de compostos fenólicos.

Os resultados obtidos por Tian et al. (2000) em morangos, relatam que frutos em diferentes estádios de maturação devem ter diferente sensibilidade ao etileno exógeno.

Maneoni et al (2007) relataram que o amolecimento dos frutos tratados com 1-MCP foi retardado comparado com os frutos não tratados. A firmeza de mamões não tratados foi de 15,1 N, quando totalmente maduros (100% amarelos), enquanto os tratados com 1-MCP tiveram firmeza de 162,9 N no décimo dia. A firmeza dos frutos tratados com 1-MCP diminuíram para 41,4 N, 20 dias após o tratamento, com uma textura de “borracha” quando totalmente amarelos. De acordo com estes autores, o mamão deve estar com mais de 25% de cor amarela antes do tratamento com 1-MCP. Frutos com coloração abaixo de 25% não amadurecem completamente, tem redução no pico respiratório e diminuição na produção de etileno.

Outros trabalhos mostram que a maçã cultivar Granny Smith pode ser armazenada com sucesso aplicando 1-MCP mais atmosfera controlada. Portanto, o 1-MCP pode ser uma alternativa viável em atmosfera controlada para manter uma ótima qualidade da fruta para consumo (AKBUDAK et al., 2009).

Corrent et al. (2005) observaram efeito positivo da aplicação de 1-MCP na conservação de maçãs “Fugi” armazenadas em ar refrigerado. As frutas apresentaram maior firmeza de polpa, acidez titulável, sólidos solúveis totais e menor produção de etileno que as não tratadas.

A aplicação de 1-MCP manteve a firmeza de polpa de caqui cv. Quioto, independentemente da época de aplicação e da condição de armazenamento, não influenciando sólidos solúveis totais, podridão e escurecimento da casca (BRACKMANN et al., 2003).

Terao et al. (2003) verificaram que o tratamento de melões tipo Orange com 1-MCP aliado ao armazenamento à baixa temperatura, constitui uma importante

ferramenta no manejo integrado de podridões pós-colheita. Os autores observaram que, em armazenamento à temperatura ambiente, o melhor controle de podridão foi obtido ao redor da dosagem de 400 $nL.L^{-1}$ de 1-MCP e em armazenamento refrigerado 350 $nL.L^{-1}$ e que aumento na dosagem não contribuiu para o controle da doença.

A inibição da ação do etileno resultou em dois padrões distintos de amadurecimento em tomates, dependendo da temperatura de armazenamento. Sob 5ºC, existe o desenvolvimento de danos pelo frio, que resulta em elevada produção de etileno, sem permitir alterações significativas no amadurecimento dos frutos, indicando que sob essa temperatura os frutos perdem a sensibilidade ao etileno. No entanto, sob temperaturas acima do limite de danos, a aplicação de 1-MCP reduz a síntese de etileno e o amadurecimento, sendo a duração desse efeito maior a 10ºC do que a 20ºC. Em relação à manutenção da qualidade pós-colheita, tomates da cultivar 'Monte Carlo' mantêm a qualidade por até 14 dias com o armazenamento a 10ºC ou com a aplicação de 1-MCP a 20ºC. Todavia, ainda precisa ser elucidado se o armazenamento de frutos tratados com 1-MCP e armazenados a 10ºC por períodos maiores que 14 dias permitiria superar a inibição do amadurecimento provocada pela aplicação de 1-MCP (BRACKMANN et al., 2009).

Tibola et al. (2005) observaram resultados positivos quanto à preservação da firmeza da polpa em caquis 'Fuyu', porém, não reduziu a incidência de escurecimento enzimático, e concluiram que pêssegos tratados com 1-MCP apresentaram menor perda de firmeza durante todo o período de armazenamento à temperatura ambiente, quando comparados aos frutos-controle e, que o 1-MCP apresenta-se com potencial de utilização para a manutenção da qualidade de pêssegos cv. Diamante (OLIVEIRA et al., 2005).

Resultados indicaram que o 1-MCP retardou o amadurecimento de figos, durante o período de armazenamento que foi de 15 dias (GOZLEKCI et al, 2008).

Existiram diferenças marcantes no comportamento do amadurecimento de pêras expostas ao etileno comparadas àquelas tratadas com 1-MCP. Tratamento com etileno resultou numa rápida perda de firmeza e alta taxa respiratória, enquanto com 1-MCP 0,5 $\mu L.L^{-1}$ inibiu efetivamente a perda de firmeza durante 14 dias numa simulação de mercado (MOON et al., 2008).

5.1.2 Uso do 1-MCP Associado ao Etileno

Muito já se sabe sobre os efeitos da aplicação do etileno em frutas, assim como os do 1-MCP, porém na maioria das vezes eles são aplicados separadamente, primeiro um depois outro ou o contrário, como em estudos realizados por Golding et al. (1998) em bananas, Villalobos-Acuña et al. (2011) em pêras e Abdi et al. (1998) em ameixas. Entretanto, praticamente não existe informação sobre a aplicação simultânea desses dois reguladores, apenas alguns estudos foram relatados para pêras e mamões. Chiriboga et al. (2011) estudaram o efeito da aplicação simultânea do 1-MCP e do etileno em peras 'Conference' e observaram que as frutas não apresentaram mais a resposta chamada de "sempre verde", devido à aplicação apenas do 1-MCP.

Sañudo-Barajas et al. (2009) observaram que a taxa inicial de respiração em mamões foi menor em frutos tratados apenas com 1-MCP, porém este efeito não foi observado quando o inibidor foi aplicado depois do etefon. Quando o etefon foi aplicado depois do 1-MCP, o pico respiratório foi visto dois dias após o tratamento. Os autores ainda verificaram que a produção de etileno nos frutos não tratados foi baixa no primeiro dia, com aumento gradual até um pico no 2º dia. A evolução da produção de etileno em frutos tratados somente com etefon, teve seu pico no terceiro dia e naqueles tratados apenas com 1-MCP, a produção do etileno teve um grande incremento no 2º dia, permanecendo alto até o 7º dia.

Jeong e Huber (2004) relataram que o 1-MCP atrasou o amadurecimento de abacates 'Hass', mesmo após o tratamento com etileno, uma vez que o amolecimento não tenha sido iniciado. Eles mencionam que o etileno pode superar a inibição do amadurecimento causado pelo 1-MCP, se este for aplicado em baixas concentrações.

Zhang et al. (2009) realizaram estudos em tomates com a finalidade de testar a hipótese de que as respostas a aplicação de 1-MCP podem ser alteradas por mudanças nos níveis de etileno endógeno dos frutos. Para tanto, o 1-MCP foi aplicado junto, antes ou depois do etileno. Para se ter rapidez na aplicação do 1-MCP seguida da exposição ao etileno, foi utilizada uma formulação aquosa do 1-MCP na concentração de 100 $\mu L.L^{-1}$.

O grau de inibição do amadurecimento pelo uso do 1-MCP em peras 'Bartlett' foi dependente da quantidade de etileno na câmara de tratamento. A adição de 0,28

$\mu L.L^{-1}$ de etileno durante o tratamento com 1-MCP, reduziu a variabilidade de amadurecimento dessas frutas. A aplicação do etileno associado ao 1-MCP, diminuiu significativamente o efeito do 1-MCP sobre a redução da produção de etileno, retenção do amolecimento e alterações da cor da casca, em relação aos frutos tratados apenas com 1-MCP e sobre efeito do etileno produzido por eles mesmos (0,06 $\mu L.L^{-1}$), (VILLALOBOS-ACUÑA et al., 2011).

A aplicação de propileno em ameixas de comportamento climatérico (‘Gulfruby’ and ‘Beauty’) e outras que tem supressão do climatérico (‘Shiro’ and ‘Rubyred’), depois de tratadas com 1-MCP, apresentou um pequeno efeito sobre o tempo para o início do climatério, nos frutos com este comportamento. No entanto, nas cultivares com supressão ao climatério, o propileno foi capaz de restaurar o climatério (ABDI et al., 1998). Sisler e Serek (1997) propuseram que as plantas podem superar a inibição causada pelo 1-MCP através da síntese de novos sítios receptores. As variedades com supressão parecem ser incapazes de fazer isso, sem que haja um estimulo pela aplicação de etileno exógeno.

6 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Hortícolas do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"-Universidade de São Paulo, em Piracicaba-SP, e foi dividido em 3 etapas.

Foram conduzidos diversos testes nos quais a meta foi buscar as melhores combinações entre aplicações de 1-MCP e de etileno. Os frutos utilizados em todas as etapas foram provenientes de cultivos comerciais do município de Linhares-ES, no estádio de maturação 1, que corresponde a 15% de coloração amarela da epiderme (Figura 1) e firmeza de polpa maior que 100 Newtons. Na casa de embalagem da empresa, os frutos foram submetidos aos tratamentos comumentes utilizados para exportação que envolvem lavagem, tratamento hidrotérmico, aplicação de fungicida e de cera, classificação por tamanho, embalagem em caixas de papelão de 3,8 kg e resfriamento a 10ºC.

Os frutos utilizados na etapa 1 foram transportados em caminhão refrigerado até São Paulo e então transportados para o Laboratório de Pós-colheita em Piracicaba, onde foram novamente selecionados e submetidos aos tratamentos. Os frutos das etapas 2 e 3 foram tratados na própria empresa e então transportados até Piracicaba em caminhão refrigerado.

Figura 1 - Mamões no estádio 1 de maturação, com até 15% de coloração amarela

6.1 Etapa 1

Nessa etapa os tratamentos foram aplicados no laboratório de pós-colheita da ESALQ, em Piracicaba-SP. Foram utilizadas duas concentrações de 1-MCP (100 e 200 $nL.L^{-1}$), com base nos resultados obtidos por Jacomino et al (2002). As doses de etileno aplicadas nesta etapa foram de 0, 100 e 200 $nL.L^{-1}$ num primeiro momento, passando para 1, 10 e 100 $\mu L.L^{-1}$, tendo como parâmetro estudos prévios, realizados por Golding et al. (1998) com bananas e por Abdi et al. (1998) com ameixas.

As aplicações de 1-MCP e etileno foram realizadas simultâneamente em câmaras herméticas de 0,186 m^3. Quantidades pré determinadas de 1-MCP (SmartFresh 0,14% i.a.) foram colocadas em frascos herméticos, com tampa plástica. Com uma seringa, adicionou-se ao frasco 3 mL de água deionizada através de um septo de silicone na tampa do frasco. Esse frasco foi agitado por cerca de 1 minuto e aberto dentro da câmara com os frutos, os quais ocupavam 60% do volume desta câmara (Figura 2).

Figura 2 - Tratamento dos mamões em caixas herméticas. 1=pesagem e acondicionamento do 1-MCP; 2=adição de água deionizada; 3=agitação por 1 minuto; 4=abertura do frasco no interior da câmara para liberação do 1-MCP; 5=fechamento da câmara

A aplicação do etileno (Azetil 5% i.a.) foi realizada com seringas de 3 a 60 mL, através dos orifícios nas tampas acrílicas das câmaras, os quais foram previamente vedados com silicone. Esses experimentos iniciais foram conduzidos em temperatura ambiente (22±1ºC e 90±5% UR) e os frutos foram analisados quanto a firmeza da polpa e cor da casca, por colorímetro, no início e no final do armazenamento, além de aparência, porcentagem de frutos com podridão, murchamento e análise visual da cor da casca, a cada 2 dias.

O delineamento estatístico foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial (combinações de 1-MCP e etileno x tempo de armazenamento). Para cor da casca e firmeza externa, foram avaliados 20 frutos no início (caracterização) e no final do armazenamento, sendo considerado cada fruto uma repetição. As avaliações de aparência e cor visual foram realizadas a cada 2 dias, em todos os frutos de cada tratamento. Os resultados obtidos para firmeza e cor, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste Tukey ao nível de 5% de significância, através do programa estatístico SISVAR. Quanto à avaliação da aparência e cor visual, as diferenças foram consideradas significativas, quando a soma de dois erros padrões foi maior que a diferença entre as médias. Para confirmação dos resultados, foram realizados quatro experimentos nesta etapa, entre os meses de maio e agosto de 2009.

6.2 Etapa 2

Nesta etapa, os mamões foram tratados na casa de embalagem, no Espírito Santo, aproximadamente 12 horas após a colheita, com o objetivo de simular o processo comercial. Os tratamentos foram realizados em câmaras herméticas de 4 m^3 constituídas de canos de PVC com encaixes nas pontas, que quando montadas formavam uma estrutura semelhante a um cubo. Essa estrutura foi coberta com um saco plástico que não permite a passagem dos gases através dele. O chão foi forrado com o mesmo material e a vedação foi realizada com fita adesiva do tipo “silver tape” tomando-se o cuidado de evitar qualquer tipo de vazamento (Figura 3).

Os frutos utilizados foram do tipo 10 (frutos/caixa), com aproximadamente 3,5 kg em cada caixa, destinados à exportação, no estádio 1 de maturação e firmeza externa maior que 100 N. A taxa de ocupação das câmaras foi de aproximadamente 60% do volume, num total de 250 caixas de mamão por câmara de tratamento.

Nessa etapa, utilizou-se 1-MCP na forma de pastilhas, que foram colocadas em uma solução ativadora, por pequena abertura deixada na câmara, prontamente lacrada após este procedimento. Essa solução é composta de 87% de água, 10% de ácido cítrico, 2,67% composto quaternário de amônio, 0,30% de hidróxido de sódio e 0,03% de emulsão de silicone, liberaram a concentração de 100 $nL.L^{-1}$, já previamente testada pelo fabricante, para câmaras de 4 m^3. O processo de liberação do 1-MCP segundo o fabricante, começa 5 minutos após a colocação da pastilha na solução ativadora.

Ambos reguladores foram aplicados simultâneamente e o tratamento teve a duração de 12 horas. De acordo com os resultados obtidos nesta fase, fixaram-se as concentrações de 1-MCP em 0 e 100 $nL.L^{-1}$ e as de etileno em 0; 2,5; 5 e 10 $\mu L.L^{-1}$, para a fase seguinte.

Para a aplicação do etileno (Azetil 5% i.a.) em pequenas quantidades, foram utilizadas seringas e mangueiras de silicone previamente colocadas nas câmaras de tratamento. Para as maiores quantidades, foram utilizados ‘sample bags’ (bolsas herméticas) com capacidade de 1 litro, onde o Azetil foi armazenado e então transferido para as câmaras de tratamento.

Os frutos foram então transportados para Piracicaba-SP em caminhão refrigerado a 10ºC e armazenados em temperatura ambiente de 22±1ºC e 90±5% UR, até atingirem coloração totalmente amarela. As análises de firmeza, cor da casca, aparência, teor de ácido ascórbico e sólidos solúveis foram realizadas no início e no final do armazenamento, em 20 frutos de cada tratamento. As avaliações de cor (visual), porcentagem de frutos com podridão e murchamento, foram realizadas a cada 2 dias e da atividade respiratória e produção de etileno, diariamente. Os experimentos desta etapa foram conduzidos 3 vezes, entre outubro de 2009 e maio de 2010.

Figura 3 - Câmara de aplicação de 1-MCP com 4 m^3, construídas com canos de PVC e plástico especial para evitar vazamento

O delineamento estatístico foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial (combinações de 1-MCP e etileno x tempo de armazenamento). Para cor da casca, firmeza externa, teor de sólidos solúveis e ácido ascórbico, foram avaliados 20 frutos no início (caracterização) e no final do armazenamento, sendo considerado cada fruto uma repetição. As avaliações de aparência e cor visual foram realizadas a cada 2 dias, em todos os frutos de cada tratamento. Os resultados obtidos para firmeza, cor, sólidos solúveis e ácido ascórbico, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste Tukey ao nível de 5% de significância, através do programa estatístico SISVAR. Quanto à avaliação da aparência e cor visual, produção de etileno e atividade respiratória, as diferenças foram consideradas significativas, quando a soma de dois erros padrões foi maior que a diferença entre as médias.

6.3 Etapa 3

Foram utilizadas as mesmas doses de 1-MCP da etapa 2, ou seja, 0 e 100 $nL.L^{-1}$ e as de etileno foram de 0; 1; 2,5; 5 e 10 $\mu L.L^{-1}$. Novamente foi aplicada a dose de 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, pois foi verificada a necessidade desta dose, com base nos resultados obtidos na etapa anterior.

As aplicações foram realizadas na casa de embalagem em Linhares-ES, de acordo com metodologia descrita na etapa 2. A única diferença da etapa anterior foi

quanto ao tempo entre a colheita e o tratamento, que passou de 12 para 24 horas, para que os frutos ficassem com a temperatura estabilizada. Nesta etapa, os frutos foram armazenados por 20 dias a 11ºC e depois transferidos para 22ºC, até atingirem coloração completamente amarela. Foram analisadas firmeza externa e interna, cor visual e pelo colorímetro, aparência, porcentagem de frutos podres, murchamento, atividade das enzimas 1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidase (ACO) e 1-aminociclopropano-1-carboxílico sintase (ACS), pectinametilesterase (PME), teor de clorofila e carotenóides totais, CO_2 e etileno endógenos atividade respiratória, produção de etileno, teor de sólidos solúveis e ácido ascórbico.

As análises foram realizadas a cada 5 dias enquanto os tratamentos estavam refrigerados a 11±1ºC e 90±5% UR e a cada 2 dias, quando foram transferidos para temperatura ambiente de 22±1ºC e 90±5% UR, com exceção da análise de sólidos solúveis e ácido ascórbico, que foram realizadas apenas no inicio e no final do experimento. Os experimentos feitos nesta etapa foram repetidos 3 vezes, para confirmação dos resultados, entre julho de 2010 e maio de 2011.

A repetição dos experimentos nesta e nas etapas anteriores, em diferentes épocas de cada ano, teve por finalidade minimizar os erros, advindos da grande variação que existe nas características físicas e químicas do mamão ‘Golden’ ao longo do ano, verificadas em estudos anteriores a este trabalho.

O delineamento estatístico foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial (combinações de 1-MCP e etileno x tempo de armazenamento), onde foram avaliadas diferentes concentrações de 1-MCP e etileno. Para cor da casca, firmeza externa, firmeza interna, aparência e cor visual, foram avaliados 10 frutos de cada tratamento no dia da análise, sendo considerado cada fruto uma repetição. Quanto a essas avaliações, as diferenças foram consideradas significativas, quando a soma de dois erros padrões foi maior que a diferença entre as médias. Esse mesmo tipo de comparação entre os tratamentos, também foi utilizado para as avaliações fisiológicas, de clorofila e carotenóides totais. Os resultados de cada tratamento para sólidos solúveis e ácido ascórbico, e da atividade das enzimas PME, ACS e ACO, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste Tukey ao nível de 5% de significância.

6.4 Metodologia das Análises

6.4.1 Análises Físicas e Químicas

- Cor da casca: determinada com colorímetro (Minolta CR-300, Osaka, Japão), tomando-se duas leituras por fruto, em lados opostos da região de maior diâmetro. Os resultados foram expressos em ângulo Hue (ºh), considerando-se a média das duas leituras em cada fruto.

- Avaliação visual da cor da casca: determinada através de notas aplicadas a cada fruto, de acordo com uma escala, onde 0=0% amarelo, 1=até 15% amarelo, 2=até 25% amarelo, 3=até 50% amarelo, 4=até 75% amarelo e 5=até 100% amarelo. Os resultados foram apresentados considerando a média das notas do lote de frutos de cada tratamento.

- Aparência: determinada através de notas aplicadas a cada fruto, de acordo com uma escala, onde 5=excelente; 4=bom; 3=regular; 2=ruim; 1=péssimo. Os resultados foram apresentados considerando a média das notas do lote de frutos de cada tratamento.

- Firmeza externa: foi avaliada com penetrômetro digital (53200-Samar, Tr Turoni, Forli, Itália) com ponteira de 8mm de diâmetro. Foram realizadas 2 leituras por fruto em lados opostos da região de maior diâmetro, após a retirada da casca. Os resultados foram expressos em Newtons (N), considerando-se a média das duas leituras em cada fruto.

- Firmeza interna: foi avaliada com penetrômetro digital (53200-Samar, Tr Turoni, Forli, Itália) com ponteira de 8mm de diâmetro. Com uma faca bem afiada, foram feitos 2 cortes transversais no fruto, deixando um pedaço cilíndrico de 4 a 5 cm de espessura (Figura 4-1). As medidas de firmeza foram tomadas em 3 pontos eqüidistantes, em um dos lados da amostra (Figura 4-2 e 4-3) e os resultados foram expressos em Newtons (N), considerando-se a média das três leituras em cada fruto.

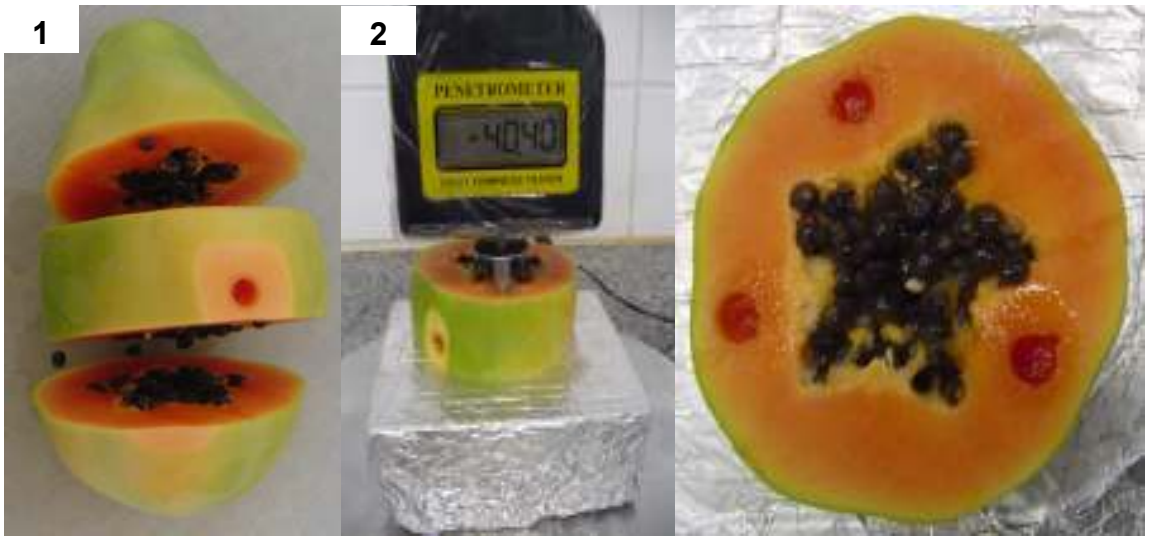

Figura 4 - Metodologia utilizada para análise da firmeza interna da polpa de mamões 'Golden'. 1-retirada da parte central do fruto com auxílio de uma faca; 2-leitura em 3 pontos equidistantes da parte retirada; 3-fruto após a avaliação da firmeza interna da polpa

- Teor de Sólidos Solúveis (SS): leitura direta em refratômetro digital Atago Co Ltda., Tókio, Japão, modelo Palete 101. Foram analisadas 5 repetições de 2 frutos homogenizados, com auxilio de um "mixer" de uso doméstico. Foram realizadas 2 leituras para cada repetição e os resultados foram expressos em °Brix.

- Teor de ácido ascórbico: foi determinado por titulometria, de acordo com metodologia descrita por Carvalho et al. (1990). Foram analisadas 5 repetições de 2 frutos homogenizados, com auxilio de um "mixer" de uso doméstico. Foi realizada 1 titulação por repetição, e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de polpa.

6.4.2 Análises Fisiológicas

6.4.2.1 Atividade Respiratória e Produção de Etileno

Dez frutos de cada tratamento foram acondicionados isoladamente em recipientes herméticos de vidro com volume de 1700 mL, por 1 hora. Após este período, amostras de 1 mL de gás foram coletadas dos frascos, utilizando-se uma seringa (Hamilton, Gastight, Nevada, EUA) com capacidade de 2,5 mL e imediata injeção no cromatógrafo. Para as coletas realizadas na casa de embalagem no Espírito Santo, foram utilizadas seringas comuns de 20 mL, marca Injex, para retirar

as amostras dos frascos (Figura 5-2) cujo conteúdo foi transferido para frascos tipo "vacuntainers" com 10 mL de capacidade (Figura 5-3), herméticos e com tampa de borracha, para posterior análise por cromatografia gasosa no laboratório de pós-colheita da ESALQ/USP (Figura 6-2). Esses recipientes foram previamente testados quanto a sua hermeticidade para CO_2 e etileno, levando em consideração o tempo de armazenamento das amostras. As amostras foram armazenadas nos "vacuntainers" por 3 a 4 dias, tempo necessário entre a coleta na casa de embalagem no Espírito Santo e a análise no Laboratório da ESALQ, em Piracicaba. As determinações das concentrações de etileno e atividade respiratória (CO_2) foram realizadas por cromatografia gasosa, em equipamento modelo Trace GC 2000, marca ThermoScience, com 2 injetores, 2 detectores de ionização de chama (FID) e 2 colunas "Porapak N", uma delas com 1,8 metros para amostras de etileno e outra com 4 metros para amostras de CO_2. O gás de arraste utilizado nestas análises foi o hidrogênio, a um fluxo constante de 27 $mL.min^{1}$ para determinação do CO_2 e nitrogênio a um fluxo também constante de 30 $mL.min^{-1}$, para determinação de etileno. As temperaturas mantidas no aparelho foram de 140ºC na coluna, 120ºC no injetor, 250ºC no detector e 350ºC no metanador. Foram utilizados gases padrões de CO_2 e etileno para elaboração das curvas padrões.

A atividade respiratória e a produção de etileno foram calculadas com base nos resultados obtidos das determinações cromatográficas, massa dos frutos, tempo de incubação e volume do frasco. Os resultados da atividade respiratória foram expressos em mL de $CO_2.kg^{-1}.h^{-1}$ e os resultados da produção de etileno expressos em µL de $C_2H_4.kg^{-1}.h^{-1}$.

6.4.2.2 Concentração de CO_2 e de Etileno Endógenos

Essa metodologia foi adaptada de Kapotis et al. (2004), com algumas modificações, Amostras da atmosfera endógena de cada fruto foram coletadas utilizando seringa comum de 20 mL, marca Injex. As amostras foram coletadas com os frutos embaixo d'agua, para não haver perda dos gases (Figura 5-1). Retirou-se cerca de 10 mL de gás do interior dos frutos e o conteúdo dessa coleta foi transferido para tubos tipo "vacuntainers" de 10 mL (Figura 5-3), herméticos, para posterior análise por cromatografia gasosa. Amostras de 1 mL foram retiradas dos vacuntainers utilizando seringa modelo Hamilton, marca Gastight de 2,5 mL e foram

injetadas em cromatógrafo a gás, de acordo com a metodologia descrita no item anterior 6.5.1. As concentrações de etileno e CO_2 foram expressas em $\mu L.L^{-1}$ de etileno e dióxido de carbono, respectivamente.

Para as amostras coletadas na ESALQ, as determinações foram realizadas imediatamente após a coleta e para aquelas coletadas no Espírito Santo, após 3 a 4 dias.

Figura 5 - Metodologia utilizada para coleta de amostra de gás 1-coleta de gás do interior do fruto pelo ápice, com seringa comum, embaixo d'água; 2-coleta de gás do interior do recipiente com fruto, através de septo de silicone na tampa; 3-tranferência do gás para os vacuntainers, também embaixo d'água

6.4.3 Análises Bioquímicas

6.4.3.1 Atividade da Enzima Ácido 1-Aminociclopropano-1-Carboxílico Oxidase (ACO, EC 1.14.17.4)

A ACC oxidase (ACO) foi analisada de acordo com a metodologia proposta por Moya-Leòn e John (1994) com algumas modificações. Amostras de mamão com cerca de 10 gramas foram previamente congeladas em freezer com temperatura de -80ºC, e então pulverizadas em moinho com nitrogênio liquido. A seguir, aproximadamente 1 g do tecido pulverizado foi homogeneizado em tampão de extração contendo tris (hidroximetil) aminometano (Tris-HCl) 100 mM pH 7,5; ditiotreitol (DTT) 5 mM; glicerol 10% (v/v); ascorbato de sódio 30 mM e polivinil polipirrolidona (PVPP) 4% (p/v). Então, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 x g por 30 minutos a 4ºC. O ensaio foi realizado incubando-se 1 mL do sobrenadante em triplicata, contendo a enzima (extrato enzimático) com 2 mL de uma solução tampão reativa contendo tricina 0,1 M pH 7,5; sulfato de ferro (Fe_2SO_4) 0,1 mM; ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) 1 mM; bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$) 20 mM e ascorbato de sódio 30 mM. Após a incubação da solução a 30ºC

por 30 minutos em frascos herméticos, com tampa de borracha, a concentração de etileno presente no 'headspace' dos frascos foi determinada através da coleta de 1 mL do gás com auxílio de uma seringa marca Hamilton, modelo Gastight, Nevada, EUA de 2,5 mL. As amostras foram injetadas e analisadas para etileno em cromatógrafo a gás, como descrito nos itens anteriores. A atividade da ACC oxidase foi expressa em C_2H_4 ($nMol.g^{-1}.h^{-1}$).

6.4.3.2 Atividade da Enzima Ácido 1-Aminociclopropano-1-Carboxílico Sintase (ACS, EC 4.4.1.14)

Para a extração da ACC sintase a metodologia foi adaptada de Oz, Gulen e Eris (2010), onde tecidos congelados do mamão armazenados em freezer a -80ºC foram homogeneizados em moinho com etileno liquido. Aproximadamente 5g do tecido moído foi homogeneizado em tampão de extração contendo fosfato de potássio 400 mM pH 8,5; 1 mM de ácido etileno diamino tetracético (EDTA); 5 $mL.L^{-1}$ de 2-mercaptoetanol e 0,01 mM de fosfato piridoxal (PP) a 4ºC. O homogenizado foi filtrado através de quatro camadas de gaze e em seguida, centrifugado a 16.000 rpm por 30 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspendido novamente no tampão de extração. Essa solução foi novamente centrifugada a 16.000 rpm por 20 minutos e o sobrenadante foi descartado. O precipitado resultante foi dissolvido mais uma vez no tampão de extração em triplicata e a atividade da ACC sintase foi determinada como descrito por Gorny e Kader (1996), cujo método foi modificado por Yip, Dong e Yang (1991). A ACC formada foi analisada pelo método de Lizada e Yang (1979) utilizando 1 µmol de cloreto de mercúrio ($HgCl_2$) e coleta de 1 mL de gás de frascos herméticos, para injeção em cromatógrafo gasoso. A atividade foi expressa em nMol de $C_2H_4.g^{-1}.h^{-1}$.

6.4.3.3 Atividade da Enzima Pectinametilesterase (PME, EC 3.1.1.11)

A atividade da pectinametilesterase (PME) foi avaliada determinando-se por titulometria a liberação dos grupos carboxílicos ácidos, resultantes da ação da enzima (KERTESZ, 1951). Porções retangulares de polpa, compostas do epicarpo, mesocarpo e endocarpo de aproximadamente 5 g, previamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a -80ºC, foram homogeneizadas em 20

mL de solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,2 N a 4ºC. Um volume de 5 mL deste extrato foi adicionado a 30mL de pectina cítrica 1%, pH 7, diluída em NaCl 0,2 N e a mistura teve o pH rapidamente corrigido para 7. A titulação do substrato foi realizada utilizando-se hidróxido de sódio (NaOH) 0,01N, durante 10 minutos, de modo que seu pH fosse sempre mantido próximo a 7. A atividade foi expressa em nMol de ésteres hidrolisados por grama de polpa por unidade de tempo ($nMol.g^{-1}.min^{-1}$). Foram utilizadas 4 repetições, sendo cada repetição constituída de 2 frutos, em triplicata.

6.4.3.4 Clorofila e Carotenóides Totais

a) Teor de Clorofila Total

Discos da epiderme do mamão 'Golden' foram acondicionados em 10 mL de acetona 80% e deixados em repouso por 72 horas em BOD a 4ºC, para extração da clorofila. Amostras de 3 mL desta solução foram transferidas para cubetas de acrílico com capacidade de 3,2 mL para leitura em espectrofotômetro marca Biochrom, modelo Libra S22, a 645 e 663 nm. O teor de clorofila total foi determinado a partir da equação a seguir , onde A_{645} é a absorbância a 645 nm e A_{663} é a absorbância a 663 nm (LICHTENTHALER, 1987). Os resultados foram expressos em miligramas de clorofila total por grama de tecido.

Equação: Clorofila total=$7,15\ A_{663} + 18,71\ A_{645}$

b) Teor de Carotenóides Totais

Discos da epiderme do mamão 'Golden' foram acondicionados em 10 mL de acetona 80% e deixados em repouso por 72 horas em BOD a 4ºC, para extração dos carotenóides. Amostras de 3 mL desta solução foram transferidas para cubetas de acrílico com capacidade de 3,2 mL para leitura em espectrofotômetro marca Biochrom, modelo Libra S22, a 645 e 663 nm. O teor de carotenóides foi determinado a partir da equação abaixo (LICHTENTHALER, 1987), onde A_{470} é a absorbância a 470 nm, A_{646} é a absorbância a 646 nm e A_{663} é a absorbância a 663

nm. Os resultados foram expressos em miligramas de clorofila total por grama de tecido.

$$\text{Equação: Carot.} = \frac{1000\ A_{470} - 1{,}82\ (12{,}25\ A_{663} - 2{,}79\ A_{645}) - 85{,}02\ (21{,}50\ A_{645} - 5{,}10\ A_{663})}{198}$$

6.4.4 Incidência de Podridões

Contou-se o número de frutos com pelo menos uma lesão de diâmetro igual ou maior que 1 cm. O resultado foi expresso em porcentagem de frutos com lesão, em relação ao número total de frutos da amostra.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Etapa 1

7.1.1 Firmeza da Polpa e Cor da Casca

Nos tratamentos onde foi aplicado etileno na mesma dose que o 1-MCP, a resposta observada para firmeza foi semelhante as respectivas doses de 1-MCP sem etileno. A firmeza inicial foi de 146,69 N. Após 8 dias de armazenamento a 22ºC, a firmeza dos frutos tratados com 200 $nL.L^{-1}$ de 1-MCP com ou sem etileno, foi de aproximadamente 130 N. Já os frutos tratados com tratados com 100 $nL.L^{-1}$ estavam com firmeza entre 90 e 100 N (Tabela 1). Resultados de retenção da firmeza causada pela aplicação do 1-MCP, também foram relatados por Fabi et al. (2009) e Jacomino et al. (2002) em mamão, Tibola et al. (2005) em caqui e Zhang et al. (2009) em tomate.

Na avaliação da cor, observou-se que quanto maior foi a dose de 1-MCP aplicado, maior foi a retenção da coloração verde (Tabela 1). A cor caracterizada no início do tratamento foi de 114,36, representada pelo ângulo hue (ºh). Frutos do controle e aqueles que receberam 1-MCP na dose de 100 $nL.L^{-1}$, com ou sem etileno, apresentavam ao final do armazenamento valores de ângulo de cor hue (ºh) próximos a 80, enquanto que os que foram tratados com 200 $nL.L^{-1}$ de 1-MCP estavam com valores próximos a 85 (Tabela 1). Resultados semelhantes de atraso na mudança da coloração da casca devido a aplicação de 1-MCP foram observados

em bananas (GOLDING et al., 1998), peras (VILLALOBOS-ACUÑA et al., 2011) e mamões (BRON; JACOMINO, 2006).

Tabela 1 - Firmeza externa e ângulo de cor da casca de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno em diferentes concentrações e armazenados por 8 dias a 22ºC

Tratamentos		Variáveis analisadas		Tempo de conservação (nº de dias)
1-MCP ($nL.L^{-1}$)	Etileno ($nL.L^{-1}$)	Firmeza externa (N)	Cor da casca (ºhue)	
0	**0**	7,52a	79,75a	6
100	**0**	92,40b	80,62ab	8
200	**0**	131,62c	85,99c	8
100	**100**	101,55b	80,82ab	8
200	**200**	131,34c	83,83c	8
dms		25,00	3,42	---
CV (%)		30,78	5,07	---

*Médias seguidas de pelo menos uma letra igual para cada variável, não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05)

7.1.2 Aparência e Cor da Casca (Avaliação Visual)

Os frutos que foram submetidos aos tratamentos com 1-MCP, apresentaram melhor aparência do que os frutos do controle. Quando se comparou entre as doses de 1-MCP, os frutos que foram tratados com a dose de 200 $nL.L^{-1}$ estavam com melhor aparência do que aqueles que receberam 100 $nL.L^{-1}$, independentemente da presença ou não do etileno (Figura 6).

Um dos fatores fundamentais para a manutenção da aparência por um período mais longo é a ausência de manchas e principalmente de podridões. Segundo Leverentz et al. (2003), frutos com amadurecimento retardado pelo 1-MCP são mais resistentes à deterioração por doenças, e por conseqüência, tem melhor aparência, como de fato também foi observado no presente experimento. No entanto, Jiang et al. (2001) afirmaram que dosagens elevadas de 1-MCP aceleraram o desenvolvimento de doenças em morangos, devido a inibição da síntese da enzima fenilalanina-amônio-liase (PAL) e de compostos fenólicos.

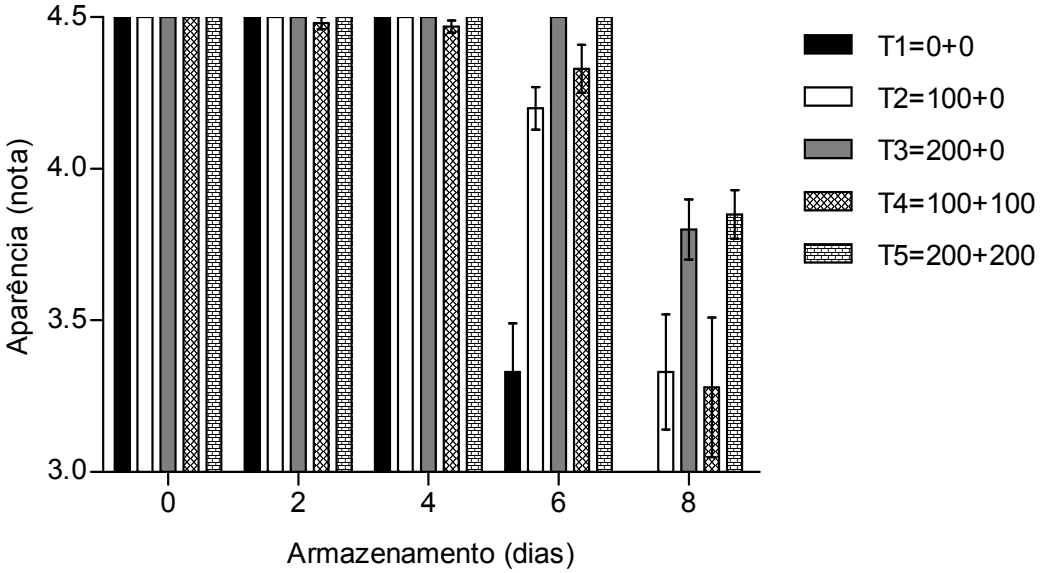

Figura 6 - Aparência de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno e armazenados por 8 dias a 22ºC. Notas: 5=excelente; 4=bom; 3=regular; 2=ruim; 1=péssimo. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1 a T5 representam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($nL.L^{-1}$)

Na avaliação visual da cor da casca, observou-se significativa diferença na retenção da cor verde entre os tratamentos com 1-MCP e o controle, assim como entre as doses de 1-MCP. Os frutos tratados com 200 $nL.L^{-1}$ de 1-MCP, mantiveram-se mais verdes, independentemente do etileno aplicado (Figura 7). Essa resposta causada pela aplicação do 1-MCP já foi verificada por outros autores, que estudaram o efeito do 1-MCP em outras espécies vegetais, como Feng et al. (2000) em abacates e Wills e Ku (2002) em tomates.

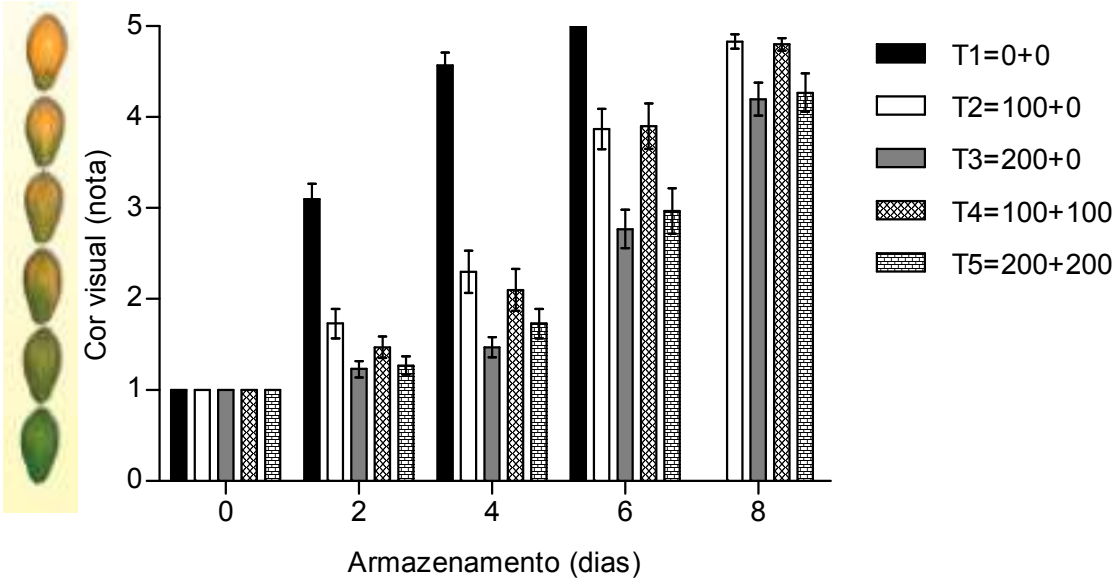

Figura 7 - Notas de cor da casca de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno em diferentes concentrações e armazenados por 8 dias a 22ºC. Notas: 0=0% amarelo, 1=até 15% amarelo, 2=até 25% amarelo, 3=até 50% amarelo, 4=até 75% amarelo e 5=até 100% amarelo. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($nL.L^{-1}$)

7.1.3 Firmeza da Polpa e Cor da Casca

Tendo em vista que as concentrações de 100 e 200 $nL.L^{-1}$ de etileno não foram suficientes para reduzir o efeito causado pelo 1-MCP nos frutos, foram então avaliadas concentrações de 1, 10 e 100 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, combinadas com 100 $nL.L^{-1}$ de 1-MCP. Com essa alteração nas concentrações de etileno, os tratamentos com 1 e 10 $\mu L.L^{-1}$ desse hormônio associados ao 1-MCP, mostraram resposta intermediária na retenção da firmeza, quando comparados ao 1-MCP e ao controle (Tabela 2).

Sisler e Serek (1997) relataram que o 1-MCP uma vez ligado ao receptor do fruto, bloqueia as respostas do etileno, impedindo ou atrasando seu completo amadurecimento. A retomada do processo de amadurecimento, possivelmente ocorre pela síntese de novos receptores ou pela dissociação do 1-MCP do sitio receptor (BLANKENSHIP; DOLE, 2003). Paull e Chen (1991) relataram que mamões tratados com 1-MCP não recuperaram sua máxima capacidade de biossintetizar etileno, quando comparados com frutos do controle.

Portanto, a aplicação do 1-MCP associado ao etileno mostrou nestes experimentos iniciais, que o etileno minimizou os efeitos causados pelo 1-MCP, com algum ganho em tempo de conservação após os frutos serem colhidos. Os resultados mostraram um gradiente na retenção da firmeza, sendo que a menor perda foi observada nos tratamentos onde aplicou-se 1-MCP associado às menores doses de etileno, além do controle (Tabela 2).

Para cor da casca, os tratamentos apenas com 1-MCP e 1-MCP associado a 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, mostraram retenção da cor verde por mais tempo (Tabela 2). Jacomino et al. (2007) avaliaram mamões 'Golden' tratados apenas com 1-MCP em diferentes dias após a colheita, e relataram que o 1-MCP retardou o desenvolvimento da cor amarela, principalmente nos frutos que foram tratados bem próximos à colheita. Golding et al. (1998) num estudo de aplicação de 1-MCP e propileno em bananas 'Williams', mencionaram que os frutos que receberam apenas 1-MCP tiveram respostas mais lentas a mudança de coloração que os do controle.

Tabela 2 - Firmeza externa e cor da casca de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno em diferentes concentrações e armazenados por 10 dias a 22ºC

Tratamentos		**Variáveis analisadas**		**Tempo de conservação (nº de dias)**
1-MCP ($nL.L^{-1}$)	**Etileno ($\mu L.L^{-1}$)**	**Firmeza externa (N)**	**Cor da casca (ºhue)**	
0	**0**	21,38c	82,91bc	6
100	**0**	74,60a	87,09a	10
100	**1**	61,52ab	83,26bc	10
100	**10**	43,85b	83,98ab	6
100	**100**	20,84c	80,67bc	6
dms		20,19	3,54	---
CV (%)		42,44	4,48	---

* Médias seguidas de letras iguais para cada variável, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

7.1.4 Aparência e Cor da Casca (Avaliação Visual)

A avaliação da aparência dos frutos não mostrou diferença entre os tratamentos até o 6º dia de avaliação, quando ainda havia todos os tratamentos, com valores próximos a quatro. Os tratamentos com 1-MCP e 1-MCP mais 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno atrasaram a senescência dos frutos, que tiveram o tempo de vida útil prolongado por mais quatro dias. Nestes, ocorreu aumento número de frutos com podridões e manchas, o que prejudicou a aparência dos frutos. Isso também foi relatado por Hofman et al. (2001), os quais constataram elevada incidência de

manchas em mamões tratados apenas com 1-MCP em comparação ao controle, armazenados por 9 dias.

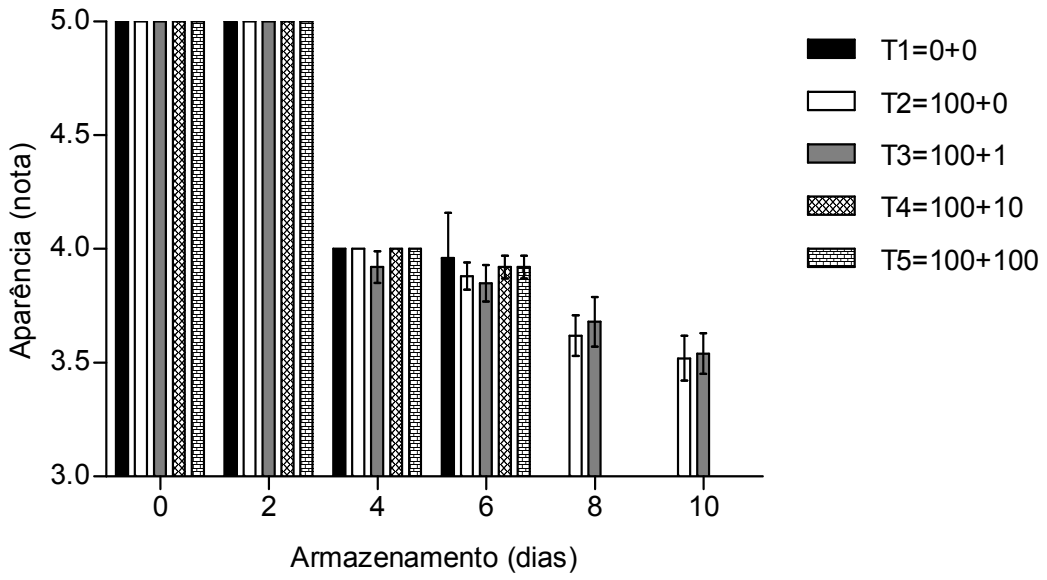

Figura 8 - Aparência de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno em diferentes concentrações, armazenados por 10 dias a 22ºC. Notas: 5=excelente; 4=bom; 3=regular; 2=ruim; 1=péssimo. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

A avaliação visual da cor da casca (Figura 9), mostra que o tratamento com 1-MCP e aquele que recebeu 1-MCP mais 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, foram os que levaram mais tempo para se tornarem amarelos, e mesmo recebendo nota 5 na avaliação, ainda não tinham 100% da superfície da casca de cor amarela. Na mesma figura, também é possível observar que ao final do armazenamento, houve diferença de coloração da casca entre o tratamento onde foi aplicado apenas o 1-MCP, o qual estava mais atrasado do que aquele em que foi aplicado 1-MCP mais etileno na dose de 1 $\mu L.L^{-1}$.

Na literatura existem vários exemplos de pesquisadores que também encontraram essa mesma resposta de retenção da cor verde, comumente observada em diversas espécies de frutas que foram tratadas com 1-MCP, como nos estudos realizados com mamões por Jacomino et al. (2002; 2007).

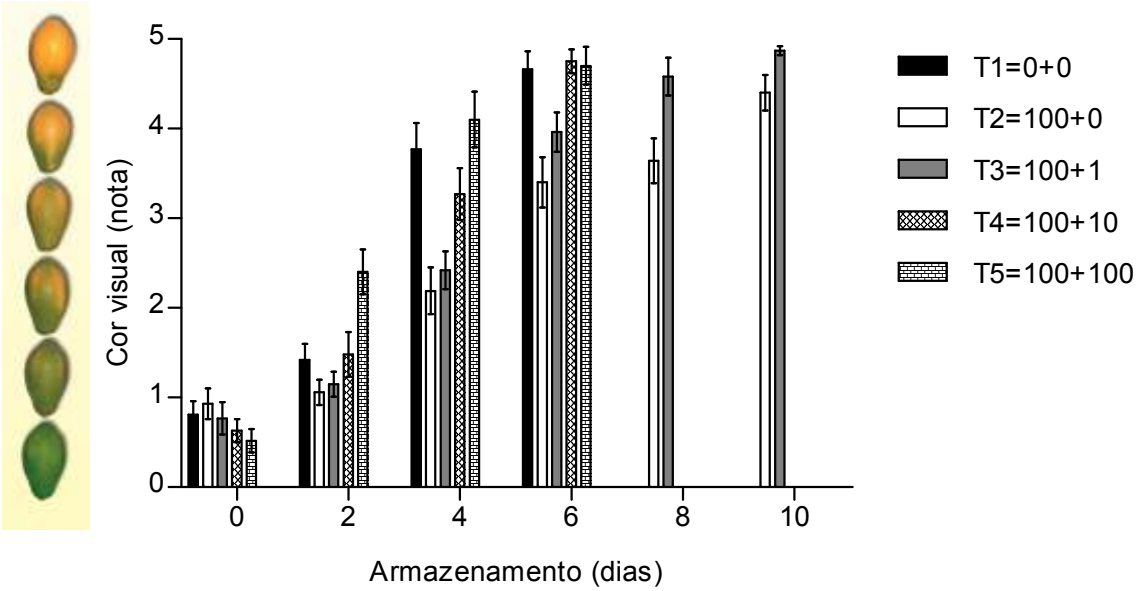

Figura 9 - Notas de cor da casca de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno em diferentes concentrações, armazenados por 10 dias a 22º C. Notas: 0=0% amarelo, 1=até 15% amarelo, 2=até 25% amarelo, 3=até 50% amarelo, 4=até 75% amarelo e 5=até 100% amarelo. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

7.1.5 Incidência de Podridões e Murchamento

A incidência de podridão foi baixa, com menos de 5% de frutos afetados, independentemente do tratamento. De acordo com Blankenshipe e Dole (2003) as respostas do 1-MCP para vários tipos de distúrbios e doenças tem sido inconsistentes, com resultados específicos para cada espécie. A aplicação deste composto pode diminuir ou intensificar distúrbios e doenças, dependendo de vários fatores como por exemplo, dose aplicada, tempo entre a colheita e a aplicação, tempo de exposição ao produto, temperatura de tratamento, entre outros.

Nas avaliações de murchamento, não foram encontrados frutos com sintoma, provavelmente devido à alta umidade relativa do ar dentro da câmara de armazenamento, que foi de 90±5% UR.

Estes resultados sinalizaram a possibilidade de aplicação dos dois reguladores (1-MCP+etileno) simultaneamente, com a finalidade de prolongar o tempo de conservação dos frutos, sem, no entanto, prejudicar o amadurecimento dos mesmos, como pode ocorrer se forem tratados apenas com 1-MCP.

7.2 Etapa 2

Com base nos resultados da etapa 1, deu-se continuidade aos experimentos utilizando as doses de 2,5; 5 e 10 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, combinadas com 100 $nL.L^{-1}$ de 1-MCP. Além disso, as aplicações passaram a ser realizadas na casa de embalagem do produtor, no Espírito Santo.

7.2.1 Firmeza da Polpa e Cor da Casca

A firmeza inicial dos frutos foi de 142,21 N e a diferença na retenção desta firmeza ficou bem evidenciada, entre o tratamento onde foi aplicado somente 1-MCP (127,87 N) e o controle (7,31 N). Considerando que a firmeza de consumo de acordo com relatos de Bron (2006) deve estar em torno de 20 N, os frutos tratados apenas com 1-MCP encontravam-se impróprios para o consumo, com a casca totalmente amarela. O tratamento com 1-MCP mais 10 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, estava com firmeza de 11,92 N, e, portanto, não trouxe benefício quando comparado ao controle. No entanto, os tratamentos com etileno nas concentrações de 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$, mostraram resultados promissores, com valores de firmeza de 48 e 35,46 N respectivamente, os quais provavelmente atingiriam a firmeza de consumo com mais 2 dias de armazenamento (Tabela 3).

A avaliação da cor da casca com uso do colorímetro mostrou que foram necessários mais dias para que os frutos se tornassem totalmente amarelos, nos tratamentos onde foram aplicados 1-MCP e 1-MCP mais 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno. Em todos os tratamentos os frutos atingiram 100% de cor amarela, o que mostrou que o 1-MCP não prejudicou essa resposta, ou seja, ela apenas foi retardad em relação ao controle e demais tratamentos onde o etileno foi aplicado nas doses mais elevadas.

Tabela 3 - Firmeza externa, ângulo de cor da casca, teor de sólidos solúveis e de ácido ascórbico de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno e armazenados por 12 dias a 22ºC

Tratamentos		Variáveis analisadas		Tempo de conservação (nº de dias)
1-MCP ($nL.L^{-1}$)	Etileno ($nL.L^{-1}$)	Firmeza externa (N)	Cor da casca (ºhue)	
0	**0**	7,31c	83,17b	6
100	**0**	127,87a	81,95bc	12
100	**2,5**	48,00b	80,92c	10
100	**5**	35,46b	86,24a	6
100	**10**	11,92c	81,99bc	6
dms		15,60	2,21	---
CV (%)		18,88	2,50	---

* Médias seguidas de pelo menos uma letra igual para cada variável, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

O aumento no número de dias para que os mamões tratados apenas com 1-MCP ficassem totalmente amarelos, também foi observado por outros pesquisadores que trabalharam com este regulador vegetal, tanto em mamão (JACOMINO et al., 2007), como em bananas (PELAYO et al., 2003), entre outras espécies de frutas.

7.2.2 Aparência e Cor da Casca (Avaliação Visual)

Os tratamentos que receberam apenas 1-MCP e 1-MCP associado a 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, foram avaliados quanto à aparência por um período mais longo, principalmente o que recebeu apenas 1-MCP. Nem por isso, os frutos destes tratamentos receberam notas menores que os outros, que ficaram armazenados por um tempo bem menor. O lote de frutos já estava com nota 4,5 no início do experimento, ou seja, um pouco abaixo do padrão desejado. Entretanto, esse valor se manteve praticamente o mesmo até o final do armazenamento, o que significa que os frutos de todos os tratamentos mantiveram boa aparência, durante o período em que ficaram armazenados (Figura 10).

Entretanto, essa resposta é muito relativa quando se trata da aplicação do 1-MCP, que pode em certos casos, como ocorreu neste experimento, manter a aparência dos mamões num bom padrão para o consumo, como também pode ocorrer o contrário, até mesmo em frutas da mesma espécie. Para mamão, o que normalmente se observa, é que os frutos tratados com 1-MCP apresentam aparência melhor em comparação aos que não foram tratados. Isso talvez aconteça, pela capacidade que esse composto tem de retardar o amadurecimento desta fruta,

devido à redução na produção de etileno e da atividade respiratória. Por outro lado, esse bloqueio na produção de etileno pode causar inibição da síntese de enzimas que desempenham papel de defesa nos frutos contra os danos causados por patógenos.

Segundo Marcos et al. (2005), o atraso no amadurecimento associado com a produção reduzida de etileno pode aumentar a resistência do produto contra infecções e desenvolvimento de lesões. Contudo, a sensibilidade pode ser benéfica contra alguns patógenos, mas deletério à resistência contra outros patógenos. Pequenas quantidades de etileno endógeno podem ser necessárias para manter níveis básicos de resistência ao stresse ambiental e por patógenos, devido ao seu envolvimento na regulação de genes de defesa das plantas.

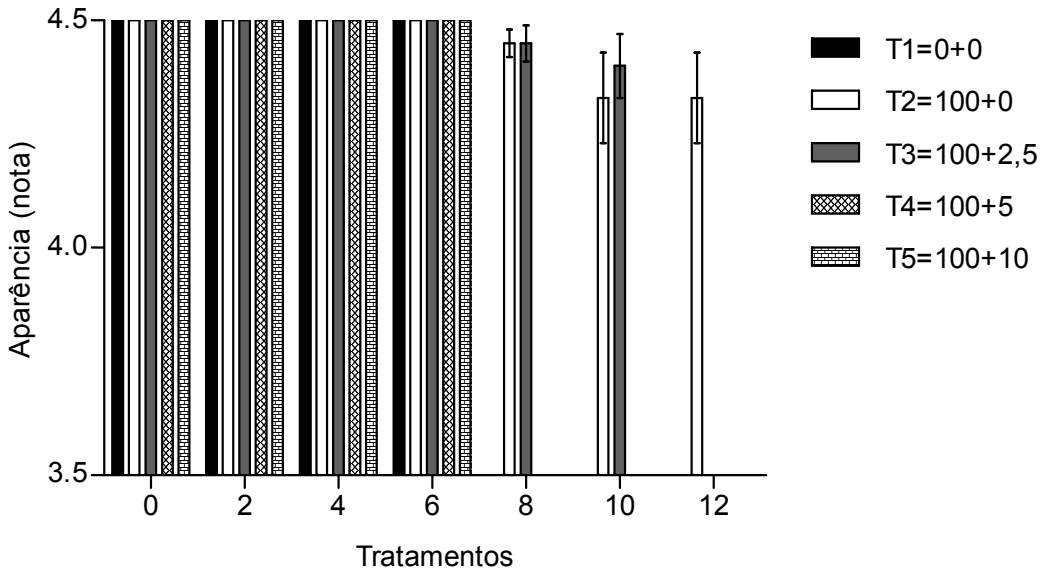

Figura 10 - Aparência de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno em diferentes concentrações, armazenados por 12 dias a 22ºC. Notas: 5=excelente; 4=bom; 3=regular; 2=ruim; 1=péssimo. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Na avaliação visual da cor da casca (Figura 11), é possível observar que os tratamentos com 1-MCP e com 1-MCP mais 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno necessitariam de mais tempo para se tornarem totalmente amarelos. Essa resposta foi ainda mais acentuada nos frutos do tratamento que recebeu apenas 1-MCP. Provavelmente, seriam necessários mais 2 dias para que isso ocorresse, uma vez que para uma grande variedade de frutas, o 1-MCP causa significativo atraso na degradação da clorofila e aparecimento ou síntese dos carotenóides. Jacomino et al. (2007) também

relataram em seus experimentos com 1-MCP, que houve retenção da cor verde em relação aos frutos que não foram tratados com 1-MCP.

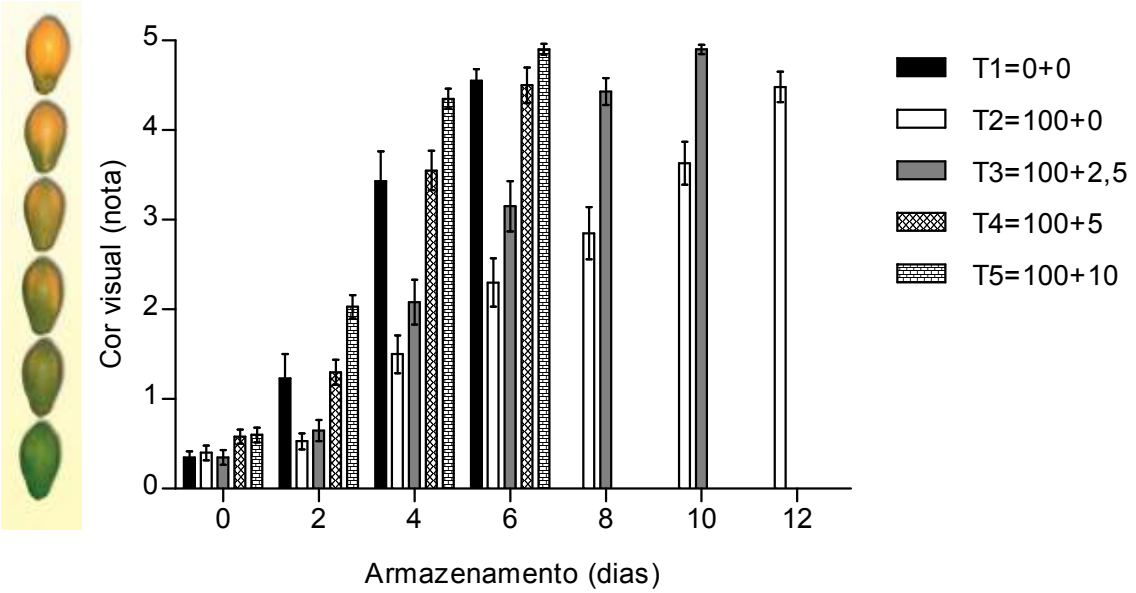

Figura 11 - Notas de cor da casca de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno e armazenados por 12 dias a 22ºC. Notas: 0=0% amarelo, 1=até 15% amarelo, 2=até 25% amarelo, 3=até 50% amarelo, 4=até 75% amarelo e 5=até 100% amarelo. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

7.2.3 Incidência de Podridões e Murchamento

A porcentagem de podridão até o 6º de armazenamento foi de praticamente zero em todos os tratamentos, chegando a 10% no 12º dia, para os frutos dos tratamentos com 1-MCP e 1-MCP mais 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno. No entanto, estes tratamentos duraram respectivamente 6 e 4 dias a mais que os outros, nas mesmas condições de armazenamento, e por esse motivo mostraram maior percentual de frutos com manchas e podridões.

Terao et al. (2003) relataram que o 1-MCP associado à refrigeração constituiu numa importante ferramenta no manejo integrado de podridões pós-colheita do melão cultivar Orange flesh, enquanto que Hofman et al. (2001) observaram alta incidência de mamões com sintomas de podridão quando se comparou frutos tratados com 1-MCP ao controle.

A incidência de sintomas de murchamento foi praticamente nula até o 6º dia de armazenamento, independentemente dos tratamentos aplicados. Isso se deu,

provavelmente devido à alta umidade relativa mantida na câmara de armazenamento, que foi de 90±5%. No entanto, o tratamento que recebeu apenas 1-MCP e que permaneceu na câmara de armazenamento por 12 dias, apresentou 5% de frutos com sintomas de murchamento.

7.2.4 Teor de Sólidos Solúveis e de Ácido Ascórbico

O teor de sólidos solúveis não apresentou diferença significativa entre os tratamentos e esteve entre 9,5 e 10,5 ºBrix (Tabela 4), com valor inicial de 8,60 ºBrix. Bron (2006) e Pereira (2009) mostraram em seus estudos, também com mamões da variedade Golden, que não houve diferença entre os frutos tratados e não tratados com 1-MCP. Uma variação de 9 a 11 ºBrix foi mencionada por D'Innocenzo (1996) em mamão do cultivar Solo, também sem diferenças durante o amadurecimento. Gallon (2010) também estudando mamões 'Golden' encontrou valores entre 11 e 12 ºBrix, o que mostra que quase não existe variação no teor de sólidos solúveis durante o amadurecimento desta variedade. Portanto, concluiu-se que a aplicação do 1-MCP não afetou o teor de sólidos solúveis no mamão, o qual praticamente não mudou durante o armazenamento desta fruta.

Tabela 4 - Teor de sólidos solúveis e de ácido ascórbico de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno e armazenados por 12 dias a 22ºC

Tratamentos		Variáveis analisadas		Tempo de conservação (nº de dias)
1-MCP ($nL.L^{-1}$)	Etileno ($nL.L-^{1}$)	SS (ºBrix)	AA (mg.100 g $amostra^{-1}$)	
0	**0**	9,25a	55,78b	6
100	**0**	9,66a	71,85a	12
100	**2,5**	9,30a	72,96a	10
100	**5**	10,52a	67,18ab	6
100	**10**	9,46a	67,02ab	6
dms		1,38	11,76	---
CV (%)		8,02	10,84	---

*Médias seguidas de pelo menos uma letra igual para cada variável, não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05)

Normalmente, a quantidade de ácido ascórbico diminui com o amadurecimento das frutas, em função do gasto energético para que elas se mantenham vivas e controlem sua homeostase. De acordo com Selvarajh et al. (1982) o teor de ácido ascórbico em mamões aumenta com o amadurecimento, o que também ocorreu neste trabalho, exceto nos frutos do controle (Tabela 4).

Esse aumento foi mais acentuado nos tratamentos onde foram aplicados apenas 1-MCP e 1-MCP mais 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno. Nestes tratamentos, o valor passou de 54,53 mg.100 g $polpa^{-1}$ no inicio, para aproximadamente 72 mg.100 g $polpa^{-1}$ ao final do armazenamento. Nos frutos do controle, praticamente não houve aumento, com valor de 55,78 mg. 100 g $polpa^{-1}$ (Tabela 4). Isso provavelmente deve ter ocorrido devido ao atraso no amadurecimento, com queda na atividade respiratória e na produção de etileno, com menor gasto de substratos, em resposta a aplicação do 1-MCP.

Essa manutenção da quantidade de ácido ascórbico pode ocorrer em algumas espécies e não em outras. Valdenegro et al. (2012) relatou em seus estudos com fisalis, que o 1-MCP evitou rápidas perdas na concentração desse ácido, mantendo níveis superiores ao controle durante o armazenamento. Resultados semelhantes foram observados por Sun et al. (2012), em couve chinesa, e por Bomfim et al. (2011) em mangas 'Tommy Atkins'. Entretanto, Santoso e Perera (2003) afirmaram não haver diferença na concentração de ácido ascórbico em fatias de goiaba e carambola tratadas e não tratadas com 1-MCP.

7.2.5 Atividade Respiratória

A atividade respiratória inicial foi de aproximadamente 7 mL $CO_2.Kg^{-1}.h^{-}1$. Em geral, até o 6º dia, a atividade respiratória dos frutos tratados apenas 1-MCP e 1-MCP mais 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno esteve entre 10 e 25 mL $CO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$, ou seja, mais baixa que a dos demais tratamentos. Os frutos do controle mostraram pico máximo de atividade de 45 mL $CO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$, que poderia ser caracterizado como um pico climatérico (Figura 12). O tratamento que recebeu 1-MCP mais 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno também mostrou um pico de respiração no 4º dia, até mais definido que o do controle, porém de menor intensidade. Os demais tratamentos apresentaram discreto aumento na atividade respiratória no mesmo dia.

De acordo com Kader (2002) a atividade respiratória do mamão está entre 4 a 6 mL $CO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$ a uma temperatura de 10ºC, e aumenta para 15 a 35 mL $CO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$, quando armazenado a 20ºC.

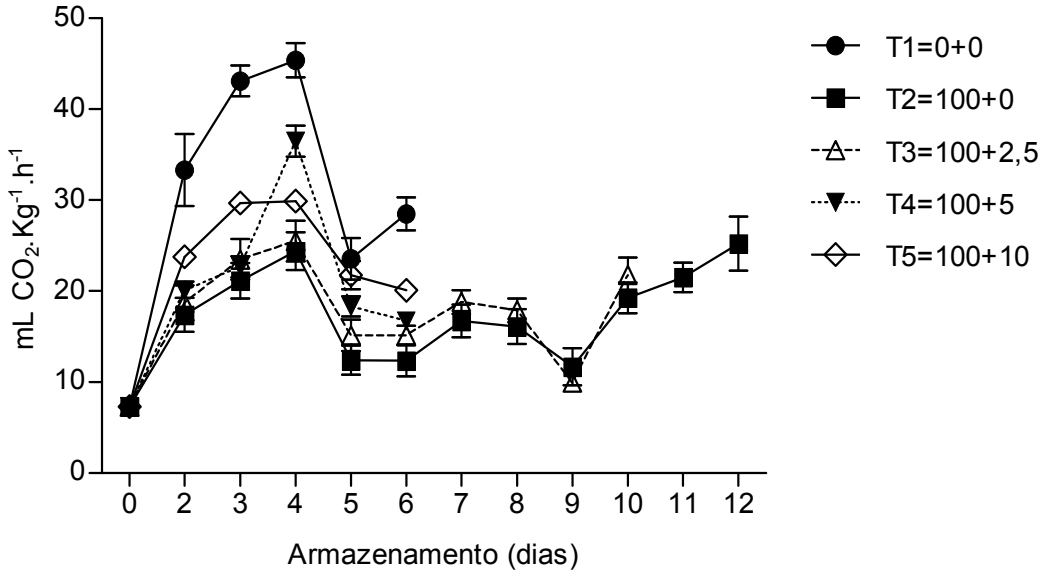

Figura 12 - Atividade respiratória de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 12 dias a 22ºC. As barras verticais representam o erro padrão da média (n=5). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Sañudo-Barajas et al. (2009) mostraram resultados semelhantes, onde observaram que a taxa de produção de CO_2 em mamões aumentou nos frutos do controle, porém, ela foi significativamente menor em frutos tratados apenas com 1-MCP ou com 1-MCP seguido da aplicação de etefon.

Com relação à presença de pico climatérico durante o amadurecimento do mamão, alguns autores que trabalharam com esta mesma variedade mencionaram não o haver detectado.

7.2.6 Produção de Etileno

A produção inicial de etileno foi de aproximadamente 0,27 $\mu L.Kg^{-1}.h^{-1}$ e esteve mais elevada nos frutos do controle até o 5º dia, em comparação aos tratamentos com 1-MCP (Figura 13). Neste tratamento, a produção de etileno foi inferior a 0,1 $\mu L.Kg^{-1}.h^{-1}$ até o 6º dia de armazenamento, enquanto os frutos dos demais tratamentos produziram entre 2 e 3 µL $C_2H_4.Kg^{-1}.h^{-1}$. Após o 6º dia, somente os tratamentos com 1-MCP e 1-MCP mais 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno continuaram a ser avaliados até a total mudança de cor da casca, com diferença significativa na produção de etileno entre eles até o 9º dia, igualando-se no 10º dia. A partir do 10º dia, havia apenas o tratamento com 1-MCP e foi observado um significativo aumento na produção de etileno destes frutos, o qual atingiu aproximadamente 16 $\mu L.Kg^{-1}.h^{-1}$ no 12º dia (Figura 13). Pelayo et al. (2003) também observaram que a produção de etileno foi maior em bananas tratadas com 1000 $nL.L^{-1}$ de 1-MCP do que nos frutos controle, após nove dias de armazenamento a 20ºC.

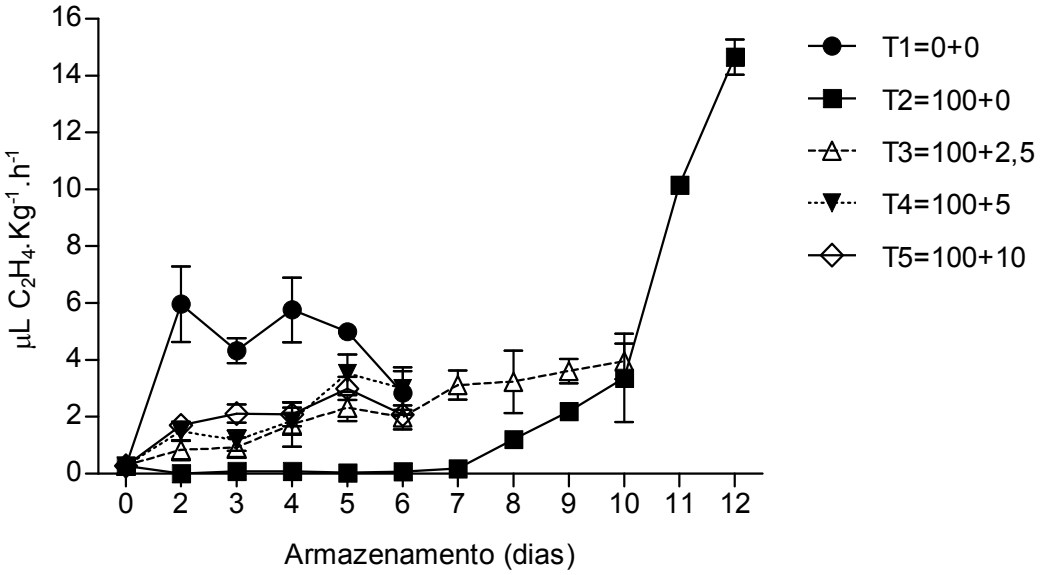

Figura 13 - Produção de etileno de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 12 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=5). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Os mamões que foram tratados apenas com 1-MCP estavam com firmeza maior que 120 N, ou seja, extremamente duros e totalmente amarelos aos 12 dias, mesmo com elevada produção de etileno. A elevada produção de etileno poderia estar relacionada com a presença de podridões, devido à tentativa do fruto em combater as injúrias causadas pelos patógenos, conhecido como etileno de estresse. No entanto, neste caso foi pouco provável que esse aumento tenha ocorrido devido à presença de frutos com podridões, os quais sempre foram descartados quando apresentavam algum sintoma. É bem provável que esse aumento na produção de etileno seja da própria fisiologia do fruto, que após algum tempo do tratamento com 1-MCP recuperou a capacidade de biossintetizar etileno, porém numa quantidade maior que a observada nos frutos do controle.

É provável que o estímulo à produção de etileno seja devido a perda do *feedback* negativo da sua biossintese (WATKINS, 2006). Entretanto, mesmo com a retomada da produção de etileno, o fruto não conseguiu completar seu amadurecimento, provavelmente devido a perda do momento entre essa produção auto-catalítica, que foi atrasada pela aplicação do 1-MCP e a capacidade que o fruto tem de perceber o etileno**.** Essa falha na habilidade do fruto em recuperar a capacidade de amolecimento da polpa, segundo estudos realizados por Paull e Chen (1983), pode estar relacionado com as enzimas poligalacturonase (PG) e xilanase. É que de acordo com relatos dos autores, essas enzimas tem um pico de atividade quando o mamão está com 40 a 60% da epiderme amarela. Os autores também confirmaram em outro estudo (PAULL; CHEN, 1991), que o RNA mensageiro para estas enzimas em mamões foi produzido por um curto período de tempo durante o amadurecimento do mamão.

Estudos realizados por Piriyavinit, Ketsa e van Doorn (2011) também mostraram que o 1-MCP causou o aumento da produção de etileno em frutos de mangostin, no entanto, esse aumento não resultou em mudanças na cor da casca e nem mesmo na perda de firmeza. Esses fatos poderiam explicar porque mesmo com elevada produção de etileno, mamões ‘Golden’ tratados apenas com 1-MCP podem não retomar o processo de amadurecimento, ou ele pode ocorrer tardiamente em relação aos que não foram tratados com 1-MCP.

A conclusão deste etapa reforça os benefícios da aplicação conjunta de 1-MCP e etileno no aumento da vida útil do mamão ‘Golden’. Os resultados mostraram que quanto maior a dose de etileno aplicado juntamente com 1-MCP, menor foi a

ação do 1-MCP, sendo que a melhor associação foi a do 1-MCP com 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno.

7.3 Etapa 3

Nessa etapa os frutos também foram tratados na casa de embalagem. Entretanto, os tratamentos foram aplicados 24 horas após terem sido colhidos e não 12 horas como nas etapas anteriores. Este procedimento permitiu que a temperatura da polpa dos frutos se estabilizasse em 11ºC. Também se diferenciou da etapa anterior quanto ao armazenamento, que foi de 20 dias a 11ºC, seguido de transferência para 22ºC até que os frutos ficassem 100% amarelos. Esse procedimento foi realizado, com a finalidade de simular a exportação dos frutos para Europa ou EUA.

7.3.1 Firmeza da Polpa e Cor da Casca

Para a firmeza externa, os resultados mostraram que quanto maior a dose de etileno aplicado em associação ao 1-MCP, mais semelhante ao controle foi a resposta, como nos resultados obtidos nas etapas anteriores (Figura 14). Os frutos tratados apenas com 1-MCP, mantiveram-se com elevada firmeza, em torno de 108 N até o 4º dia na temperatura de 22ºC, com acentuada queda a partir deste momento, com valor próximo a 40 N no 8º dia. É muito provável que esses frutos chegariam à firmeza de consumo, se armazenados por mais 2 ou 3, entretanto, houve grande incidência de podridões. Os tratamentos com 1-MCP associado a 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, perderam a firmeza mais rapidamente que os frutos tratados apenas com 1-MCP. Entretanto, no 4º dia ainda apresentavam valores em torno de 45 N, duas vezes maior que a firmeza de consumo, que só foi atingida no 8º dia. Os frutos que receberam 1-MCP mais 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno estavam com firmeza próxima a de consumo no 6º dia a 22ºC, enquanto que o tratamento controle já havia atingido firmeza próxima a 20 N no 4º dia (Figura 14).

Esperava-se que a retomada da capacidade de amadurecimento pelos frutos tratados com 1-MCP associado às menores doses de etileno (1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$), fosse mais lenta. E mais ainda para aqueles que foram tratados apenas com 1-MCP, a ponto de que seu amolecimento fosse bloqueado, uma vez que os frutos foram

tratados próximo à colheita e com firmeza inicial elevada (121,99 N). Um aspecto que pode ter sido relevante seria a concentração de etileno e CO_2 endógenos no momento da aplicação dos tratamentos, os quais poderiam ter atenuado a resposta do causada pelo 1-MCP.

Experimentos conduzidos por Tatsuki, Endo e Ohkawa (2007) em maçãs 'Orin' e 'Fuji', comprovaram que quanto mais próximo à colheita foi o tratamento com 1-MCP, maior foi o resultado quanto a retenção da firmeza. Jacomino et al. (2007) também realizaram experimentos com mamão 'Golden', e os resultados mostraram maior efeito do 1-MCP quando este foi aplicado próximo à colheita dos frutos.

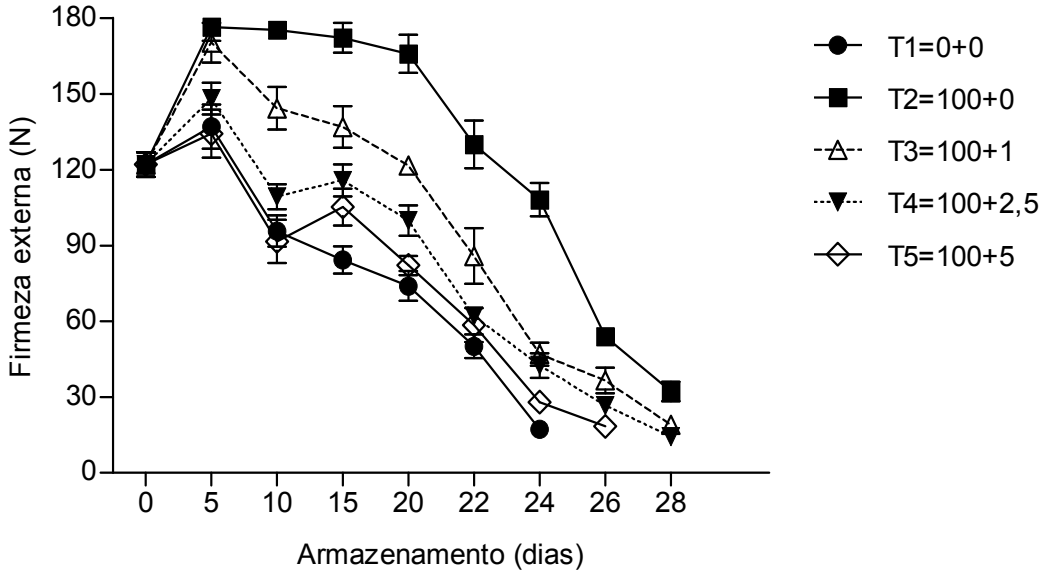

Figura 14 - Firmeza externa de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1=0+0; T2=100+0; T3=100+1; T4=100+2,5; T5=100+5, com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Experimentos conduzidos com tomate demonstraram que a quantidade de proteínas receptoras foi maior na fruta no período pré-climatérico, diminuindo significativamente após o inicio do amadurecimento, resultado da degradação proteolítica através de um mecanismo iniciado pela ligação do etileno ao seu sítio receptor, que foi suprimida pela ligação ao 1-MCP (KEVANY et al., 2007).

Cara e Giovannoni (2008) e Kevany et al. (2007) também mostraram em seus estudos com tomates, que os receptores $LeETR_4$ e $LeETR_6$ foram degradados em resposta à aplicação de etileno exógeno, resultando em aceleração do amadurecimento dos frutos. A conclusão deste estudo foi que os receptores seriam

reguladores negativos da sinalização do etileno, e que sua diminuição resultaria em aumento progressivo na sensibilidade ao hormônio, quando um limite específico em seus níveis fosse atingido.

Analisando os resultados da firmeza interna (Figura 15) observa-se que as diferenças foram mais acentuadas durante o período em que os frutos ficaram refrigerados. O tratamento onde foi aplicado apenas 1-MCP manteve a firmeza inicial de aproximadamente 80 N, durante todo o período refrigerado. Os demais tratamentos possuíam ao final deste mesmo período firmeza entre 15 e 25 N. Após dois dias a 22ºC, todos os tratamentos estavam com firmeza interna de aproximadamente 20 N, à exceção do que foi tratado apenas com 1-MCP, o qual mostrou firmeza interna de 50 N. Neste tratamento, somente após o 6º dia nesta temperatura os frutos atingiram a firmeza interna abaixo de 20 N.

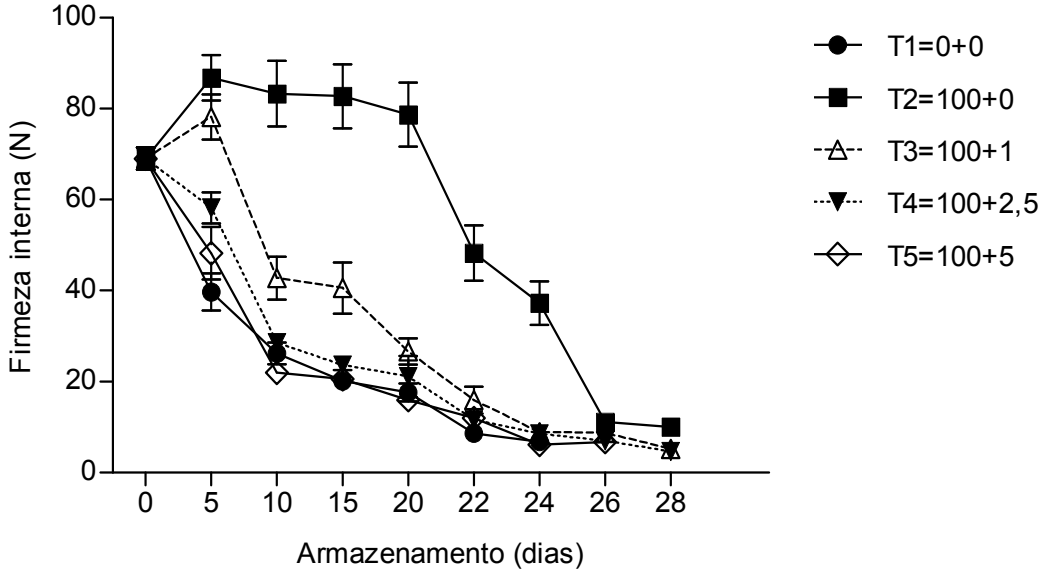

Figura 15 - Firmeza interna de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1=0+0; T2=100+0; T3=100+1; T4=100+2,5; T5=100+5, com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Gallon, Broetto e Silva (2009) observaram redução da firmeza da polpa em frutos da variedade Golden armazenados por 10 dias a 10ºC. Isso também pode ser evidenciado neste trabalho, onde todos os tratamentos mostraram redução da firmeza da polpa durante o armazenamento refrigerado a 11ºC. A exceção foi o tratamento que recebeu apenas 1-MCP, o qual manteve sua firmeza próxima aquela do inicio do tratamento até o final do período refrigerado.

Tibola et al. (2005) trabalharam com caquis 'Fuyu' e também obtiveram bons resultados para firmeza nos frutos tratados com 1-MCP em comparação ao controle. O fato da aplicação de 1-MCP ter contribuído para maior preservação da firmeza da polpa, pode estar relacionado à inibição do efeito auto-catalitico do etileno, que estimula enzimas hidrolíticas como as poligalacturonases, pectinametilesterases, β-galactosidases e celulases (PECH et al, 1999; BRUMMELL; HARPSTER, 2001; ZANUZO, 2004).

Portanto, a perda da firmeza tem estreita relação com a atividade de enzimas pectinolíticas, cuja resposta está diretamente relacionada ao etileno em diferentes graus de dependência (JEONG; HUBER; SARGENT, 2002). Além da atuação de enzimas, mecanismos não enzimáticos de degradação da parede também influenciam na perda da firmeza, como por exemplo, a geração de hidroxilas a partir do ascorbato (DUMVILLE; FRY, 2003).

Nos frutos dos tratamentos com 1-MCP e aqueles que receberam 1-MCP associado às doses de 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, foi observado aumento no tempo para que eles mudassem de cor, entretanto, em todos eles os frutos se tornaram completamente amarelos (Figura 16). Este atraso na coloração da casca foi causado pelo 1-MCP, que ao bloquear o sitio de ligação do etileno, deve ter reduzido os sinais para síntese de clorofilase, o que fez com que o processo de quebra da clorofila por esta enzima fosse mais lento.

Os frutos inicialmente apresentavam ângulo de cor (ºhue) de aproximadamente 110, e ao final entre 75 e 80. Estes valores foram observados nos tratamentos que receberam apenas 1-MCP e 1-MCP mais etileno nas doses de 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ (Figura 16). Em todos os tratamentos ocorreu mudança na coloração da casca, entretanto, aqueles que foram tratados com 1-MCP e 1-MCP mais etileno, mostraram pequeno atraso em relação ao controle, no 4º dia a 22ºC. No 6º dia, todos os tratamentos com exceção do controle, o qual teve sua última avaliação no 4º dia, mostraram a mesma coloração da casca. Apenas três tratamentos foram mantidos até o 8º dia a 22ºC. Aquele que foi tratado apenas com 1-MCP e os tratados com 1-MCP mais 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno. Dentre estes, os frutos tratados apenas com 1-MCP se mostraram menos amarelos do que os que receberam 1-MCP mais etileno nas doses de 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ (figura 16).

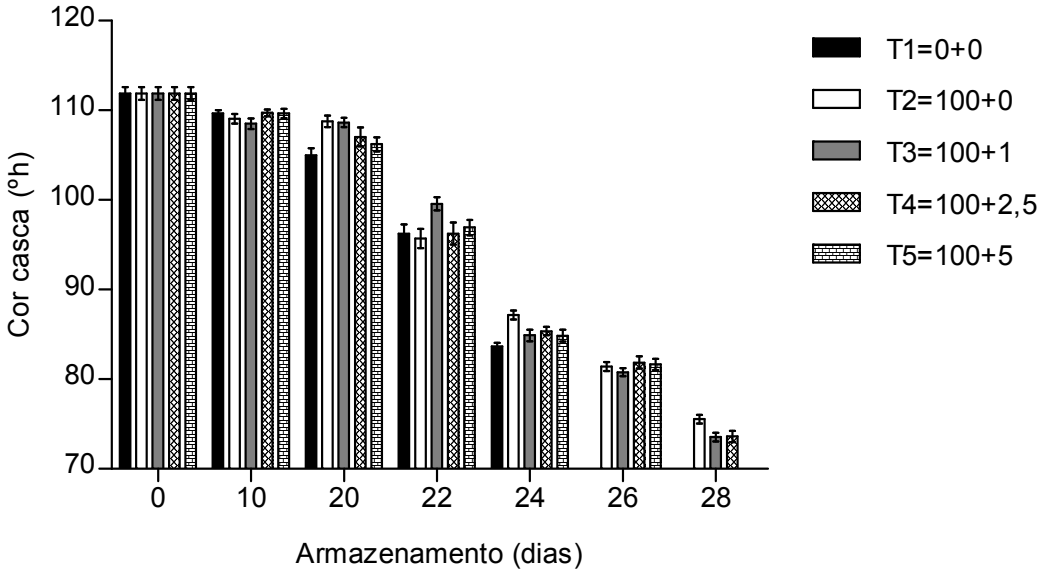

Figura 16 - Cor da casca de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1=0+0; T2=100+0; T3=100+1; T4=100+2,5; T5=100+5, com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Resultados que mostraram atraso no desenvolvimento da coloração da casca também foram constatados por Jacomino et al. (2002) em mamões 'Sunrise'. Isto acontece porque o 1-MCP tem maior afinidade pelo sitio de ligação do etileno, quando comparado ao próprio etileno (BLANKENSHIP; DOLE, 2003), bloqueando ou retardando as respostas a ação deste hormônio gasoso, como por exemplo, a retenção da coloração verde.

Essa resposta causada pela aplicação do 1-MCP em diversos frutos, principalmente nos climatéricos, foi tema dos estudos com tomates realizados por Hoeberichts et al. (2002). Os autores mencionaram que o 1-MCP alterou padrões de RNA's mensageiros de genes relacionados ao desenvolvimento da cor da casca.

7.3.2 Aparência e Cor da Casca (Análise Visual)

A aparência dos frutos manteve-se excelente (nota 5) durante o armazenamento refrigerado. Após quatro dias a 22ºC, os frutos do tratamento controle já apresentavam notas de aparência menores que os demais tratamentos. Os frutos do tratamento que recebeu 1-MCP mais 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno foram mantidos por seis dias a 22ºC, com boa aparência. Nos tratamentos onde aplicou-se apenas 1-MCP e 1-MCP mais 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, os frutos foram mantidos por oito dias

a 22ºC, com notas acima de 4. Esses frutos ainda mantinham bom padrão de qualidade para o consumo, além do que, foram conservados por um período maior de tempo (Figura 17).

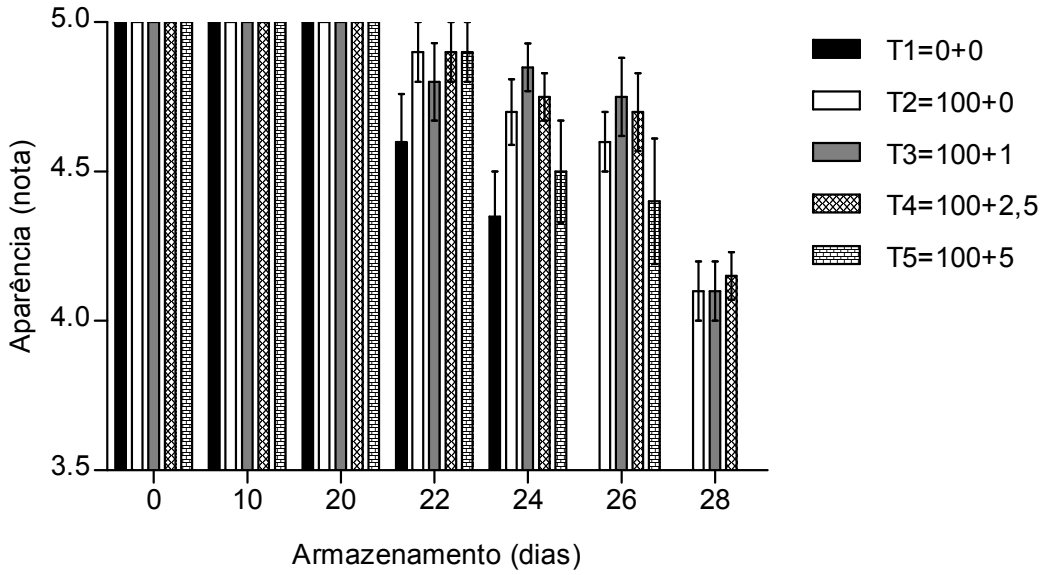

Figura 17 - Aparência de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno em diferentes concentrações, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. Notas: 5=excelente; 4=bom; 3=regular; 2=ruim; 1=péssimo. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Portanto, os frutos tratados com 1-MCP mostraram aparência melhor do que aqueles não tratados (Figura 17). Ocorreu que, provavelmente, devido à retenção da firmeza por mais tempo nos frutos que foram tratados apenas com 1-MCP, e com 1-MCP mais etileno nas menores doses, estes apresentaram notas de aparência mais altas. A manutenção da firmeza por maiores períodos pela aplicação do 1-MCP, pode por exemplo, ajudar na prevenção de danos mecânicos, os quais podem facilitar a entrada de microorganismos que vão deteriorar a fruta, acelerando o processo de senescência. Portanto, neste caso, a aplicação do 1-MCP mostrou ter influência significativa na manutenção da aparência dos frutos, os quais mantiveram por mais tempo a boa aparência, principalmente naqueles com nenhuma ou baixa adição de etileno.

Watkins (2002) mencionou que as respostas tecnológicas ao 1-MCP são variadas, dependendo da espécie, cultivar, condições edafoclimáticas e de cultivo, ponto de colheita e condições de armazenamento. Estudos realizados em maçãs por Fan, Blankenship e Mattheis (1999), em bananas por Golding et al. (1998), em

brócolis por Ku e Wills (1999), em ameixas, pêssegos e nectarinas por Lurie et al. (2002) e em mangas, bananas e abacates por Pesis et al. (2002), mostraram efeitos positivos da aplicação do 1-MCP nestas espécies. Entretanto, Blankenshipe e Dole (2003) mencionaram que pode haver aumento na incidência de doenças para algumas espécies, provavelmente devido à inibição de algum metabólito benéfico, relacionado ao mecanismo de defesa dos vegetais (KU; WILLS; BEM-YEHOSHUA, 1999), prejudicando a aparência das frutas.

As notas de cor mantiveram valores próximos a 1 em todos os tratamentos, durante os 20 dias sob refrigeração. Após esse período, os frutos foram armazenados a 22ºC, onde foi observado que os tratamentos com 1-MCP e 1-MCP mais 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, mostraram significativo atraso na mudança de cor da casca. Portanto, esses tratamentos atingiram praticamente 100% de coloração amarela (nota 5), porém, isso somente ocorreu quatro dias depois em relação ao controle (Figura 18). De acordo com Blankenship e Dole (2003), o 1-MCP impede ou retarda a degradação da clorofila e também de vários outros tipos de pigmentos em uma vasta gama de espécies vegetais.

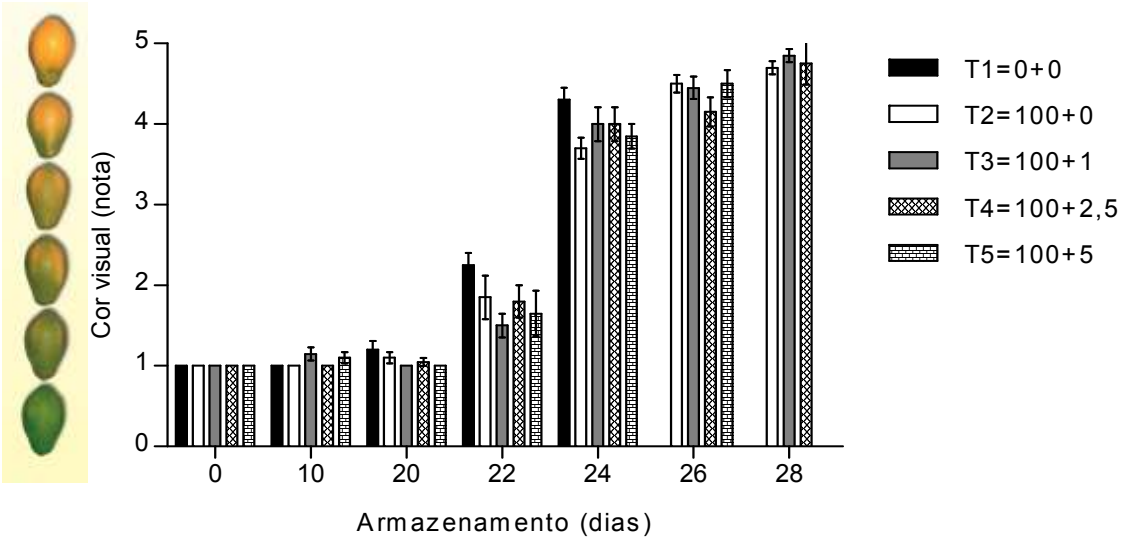

Figura 18 - Notas de cor da casca de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno em diferentes concentrações, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. Notas: 0=100% verde; 1=até 15% amarelo; 2=até 25% amarelo; 3=até 50% amarelo; 4=até 75% amarelo; 5=até 100% amarelo. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

7.3.3 Incidência de Podridões e Murchamento

O número de frutos podres durante o armazenamento refrigerado foi praticamente zero, a exceção do controle que aos 20 dias sob refrigeração apresentava cerca de 2%. A partir do 4º dia a 22ºC, o aumento do número de frutos com podridões foi significativo, por volta de 10% em todos os tratamentos, a exceção do que foi tratado com 1-MCP mais 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, que apresentava 5%. No 6º dia, os frutos dos tratamentos onde foram aplicados apenas 1-MCP e 1-MCP mais 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, mostraram aproximadamente 15% de frutos com podridão. Os outros dois tratamentos com 1-MCP mais etileno nas doses de 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$, foram quantificados por volta de 18% de podridão. Ao final do armazenamento (28 dias), restaram três tratamentos, 1-MCP e 1-MCP mais 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, todos com alta incidência de podridões, entre 27 e 32%, sendo que o tratamento com 1-MCP mais 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, apresentava a maior porcentagem (Figura 19).

Terao et al. (2003) observaram que o tratamento de melões do tipo Orange com o 1-MCP aliado ao armazenamento à baixa temperatura, constituiu numa importante ferramenta no manejo integrado de podridões pós-colheita desta fruta.

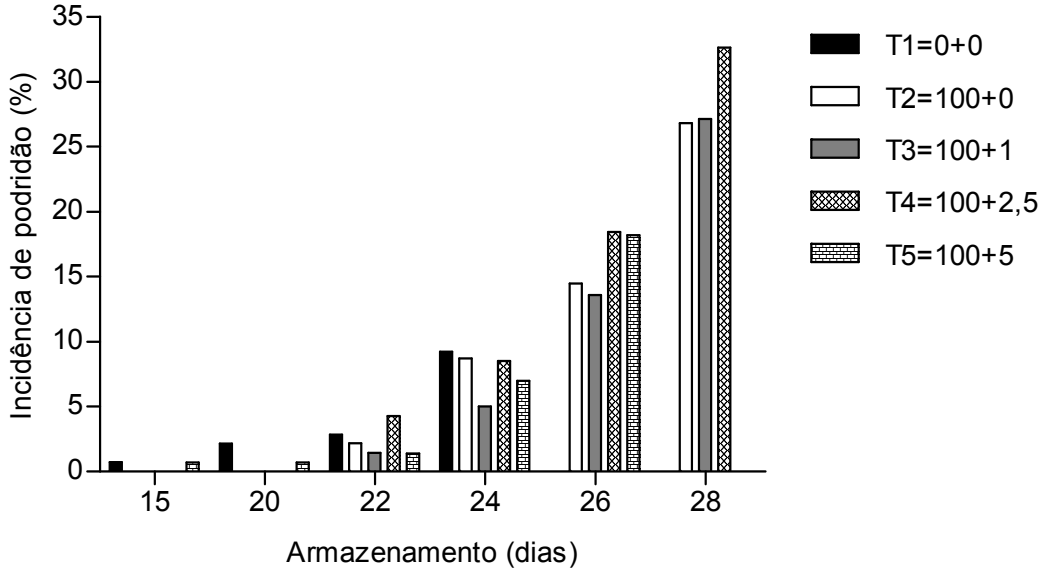

Figura 19 - Incidência de podridões em mamões 'Golden' com podridão, submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno em diferentes concentrações, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Hofman et al. (2001) relataram que o tratamento com 1-MCP foi associado a maior presença de manchas externas em mamões e maçãs e também com a maior

incidência de podridões em abacates, maçãs e mamões, em comparação aos frutos não tratados.

A incidência de mamões com sintoma de murchamento foi de aproximadamente 2%. Esse baixo índice de frutos murchos foi provavelmente devido à alta umidade relativa do ar mantida no interior da câmara de armazenamento, que estava acima de 90%. Por outro lado, esta condição certamente favoreceu a incidência de podridões, especialmente no período em que os frutos foram mantidos a temperatura de 22ºC.

7.3.4 Teor de Sólidos Solúveis e de Ácido Ascórbico

O teor de sólidos solúveis em frutos tratados com 1-MCP pode ser maior, menor ou igual aos que não foram tratados (FAN; BLANKENSHIP; MATTHEIS, 1999; WATKINS et al., 2000; ZANELLA, 2003). Neste trabalho com mamões, não foi observadas diferenças no teor de sólidos solúveis entre os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5 - Teor de sólidos solúveis e de ácido ascórbico de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC

Tratamentos		Variáveis analisadas		Tempo de conservação (nº de dias)
1-MCP ($nL.L^{-1}$)	Etileno ($nL.L^{-1}$)	SS (ºBrix)	AA (mg.100 g $amostra^{-1}$)	
0	**0**	11,80a	83,29b	24
100	**0**	11,30a	94,02a	28
100	**1**	11,72a	93,14a	28
100	**2,5**	11,72a	82,27b	28
100	**5**	11,74a	83,32b	26
dms		0,70	5,74	---
CV (%)		1,41	3,50	---

* Médias seguidas de letras iguais para cada variável, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

Os teores de sólidos solúveis encontrados neste trabalho, para mamões no estádio de maturação 1, estão de acordo com Chitarra e Prado (2000). Os autores mencionaram que o teor de sólidos solúveis para mamões do grupo Solo não deve ser inferior a 11,5 ºBrix, quando os frutos apresentarem pelo menos 6% da superfície da casca amarela. Esse valor foi de 11,70 ºBrix no início do experimento, em frutos com 15% de cor amarela, e permaneceu neste patamar até o final do armazenamento, em todos os tratamentos, com pouca diferença entre eles (Tabela 5). A pouca variação no teor de sólidos solúveis durante o amadurecimento do

mamão ‘Golden’ ocorreu devido ao fato de que esta fruta, segundo relatos de Bron (2006), não apresenta quantidade significativa de amido para ser hidrolisado durante o processo de amadurecimento.

Jacomino et al. (2002) também relataram que o teor de sólidos solúveis não foi influenciado pelo tratamento com 1-MCP em mamões ‘Sunrise Solo’ colhidos em dois estádios de maturação, assim como também foi observado neste trabalho.

O mamão é considerado uma ótima fonte de ácido ascórbico e dependendo do cultivar e estádio de maturação, o conteúdo de vitamina C pode variar de cerca de 45 a 145 mg por 100 g da fruta fresca (PAL et al., 1980; INUGI; WABULE, 1990; FIRMIN, 1997; PROULX, 2002).

A análise do teor de ácido ascórbico mostrou valores finais maiores que 90 mg por 100 g de polpa, para os tratamentos onde foram aplicados apenas 1-MCP e 1-MCP associado ao etileno na dose 1 $\mu L.L^{-1}$. Nos tratamentos controle e 1-MCP mais 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno foram quantificadas concentrações um pouco menores desse ácido, aproximadamente 83 mg por 100 g de polpa, sendo que a inicial foi de 84,89 mg (Tabela 5). A concentração deste ácido normalmente aumenta no mamão ‘Golden’ da colheita até seu ponto de consumo. Godoy (2008) e Pereira (2009) relataram aumento no teor de ácido ascórbico durante o amadurecimento de mamões da variedade Golden. Neste presente trabalho, não houve aumento nos frutos do controle e dos tratamentos com 1-MCP mais 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, entretanto, o valor inicial já se encontrava alto. Os teores mais elevados encontrados nos tratamentos com 1-MCP e 1-MCP mais 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, podem ser devidos ao menor uso deste composto, assim como de outros, nos processos fisiológicos relacionados ao amadurecimento destes frutos. Alguns trabalhos mostraram que o tratamento com 1-MCP retardou a perda de ácido ascórbico, como em jujuba chinesa (JIANG et al., 2004a), pêssegos (LIU et al., 2005) e abacaxis (SELVERAJAH; BAUCHOT; JOHN, 2001).

Estudos prévios propuseram que a manose e a L-galactose seriam intermediários na via de síntese de ácido ascórbico em plantas. Essas substâncias seriam utilizadas para a biossíntese de carboidratos da parede celular. Assim, a degradação da parede celular durante o amadurecimento proveria substratos para a síntese de ácido ascórbico (WOLUCKA; VAN MONTAGU, 2003; CONKLIN, 2001).

Contudo, essa proposta não serviria para explicar o aumento no teor de ácido ascórbico nos mamões ‘Golden’ tratados apenas com 1-MCP e 1-MCP mais etileno

na dose de 1 $\mu L.L^{-1}$. Isto porque nestes tratamentos, a degradação da parede celular se deu de forma mais lenta, devido ao bloqueio do etileno pelo 1-MCP. Portanto, esse aumento deve ter acontecido, provavelmente, devido a outras vias que sintetizam esse ácido. Hojo et al. (2009) realizaram análises em mangas 'Palmer' tratadas com 1-MCP, e também observaram maior quantidade de ácido ascórbico neste tratamento em comparação ao controle. Os autores relacionaram esse fato com o aumento da síntese de metabólitos intermediários precursores desse ácido no tratamento com 1-MCP, enquanto que as baixas concentrações obtidas nos frutos do controle foram associadas à oxidação dos ácidos orgânicos durante o amadurecimento das frutas.

7.3.5 Produção de Etileno e Etileno Endógeno

A produção de etileno no inicio do armazenamento foi de aproximadamente 19 $\mu L.Kg^{-1}.h^{-1}$, com acentuada queda aos cinco dias. Do 5º até o 20º dia de armazenamento refrigerado, os tratamentos apresentaram valores entre 0,05 e 0,30 $\mu L\ C_2H_4.Kg^{-1}.h^{-1}$. Com a mudança dos tratamentos para a temperatura de 22ºC, a produção de etileno começou a se elevar primeiro nos frutos que foram tratados apenas com 1-MCP, 1-MCP mais 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno e nos do controle, por volta de 3 $\mu L.Kg^{-1}.h^{-1}$ no 2º dia (Figura 20). Os tratamentos com 1-MCP mais etileno nas doses de 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$, somente iniciaram o aumento da concentração desse hormônio a partir do 2º dia a 22ºC. Os valores ao final do armazenamento estavam entre 1,5 e 4,5 $\mu L\ C_2H_4.Kg^{-1}.h^{-1}$ nos tratamentos com 1-MCP e 1-MCP mais 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, com maior valor para os frutos que foram tratados apenas com 1-MCP (Figura 20).

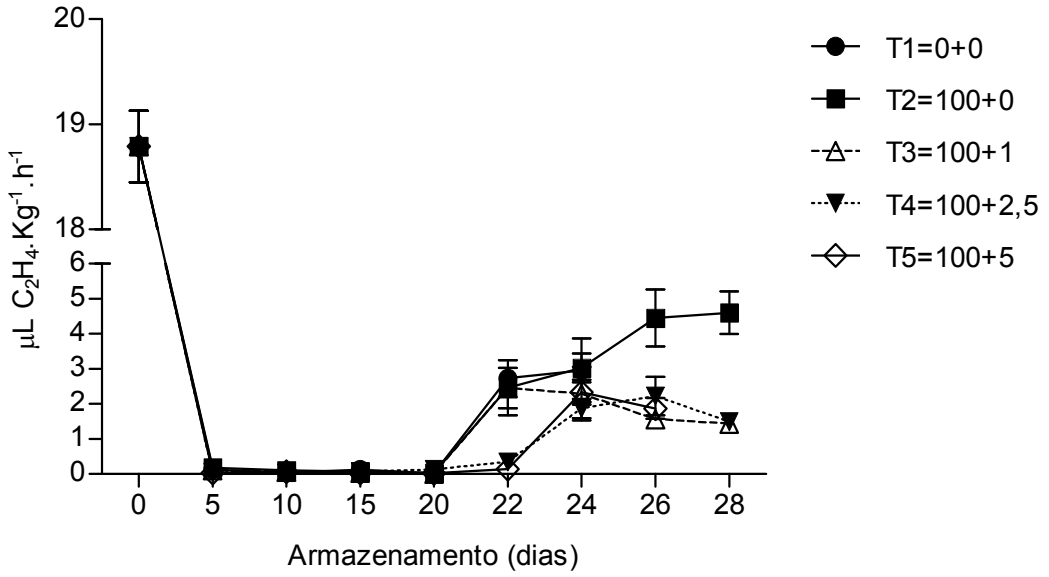

Figura 20 - Produção de etileno de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=5). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Sestari (2010) observou em limas ácidas 'Tahiti' o mesmo comportamento quando os frutos passaram da refrigeração a 1ºC para a temperatura de 20ºC. Em confirmação a este resultado, o autor verificou que na presença de ACC exógeno, os discos de flavedo removidos dos frutos tratados com 1-MCP exibiram maior produção de etileno em todos os períodos avaliados. Sisler e Blankenship (1993) observaram esse mesmo comportamento em plântulas de feijão, as quais passaram a ter uma grande capacidade de produção de etileno quando os receptores haviam sido inativados pelo 1-MCP. Após 2 horas do tratamento com 10 $\mu L.L^{-1}$ de 1-MCP em folhas de salsa, este induziu a biossíntese de etileno a altos níveis, mais que 50% do que se observou no tratamento controle (ELLA et al., 2003).

Brackmann et al. (2009) relataram que tomates armazenados por 14 dias a 5ºC e tratados com 1-MCP apresentaram produção de etileno mais elevada, em comparação aos frutos do controle. A aplicação de 1-MCP, no entanto, reduziu a produção de etileno nos frutos armazenados a 20ºC e mais ainda a 10ºC. Pesquisas conduzidas por Hoeberichts et al. (2002) demonstraram que a síntese de etileno em tomates tratados com 1-MCP manteve-se baixa por períodos que duraram de 8 a 15 dias, dependendo do estádio de maturação em que os frutos foram colhidos.

O fato da produção de etileno ter sido maior nos frutos que receberam apenas 1-MCP, deve estar relacionado com o mecanismo de auto-inibição que este hormônio exerce sobre a sua própria biossíntese. Estudos realizados por Golding et al. (1998) e Pelayo et al. (2003) com bananas, mostraram que frutos tratados com 1-MCP no estádio pré-climatérico tiveram aumento na produção de etileno. Esses resultados levaram a conclusão de que o 1-MCP ao se ligar ao sítio do etileno bloqueia a regulação normal por *feedback* da produção de etileno, que pode ser exercida na via da sua biossíntese. Presumivelmente, o 1-MCP se ligou ao sítio de forma irreversível, impossibilitando a malonização da ACC pela ação da enzima ACC N-maloniltransferase.

Entretanto, com mamão pode ter ocorrido o contrário, onde o 1-MCP aplicado sem a presença do etileno exógeno favoreceu a malonização do ACC durante o período refrigerado a 11ºC. Com a mudança dos frutos para a temperatura de 22ºC, o ACC foi novamente disponibilizado, sendo convertido a etileno pela ACC oxidase, a qual mostrou maior atividade neste tratamento, com aumento na produção de etileno ao final do armazenamento.

Estudos realizados por Philosoph-Hadas, Meir e Aharoni (1985) e Mullins, McCollun e McDonald (1999; 2000) mostraram que diminuição da ação do etileno auto-inibitório através da presença do 1-MCP ligado ao seu receptor, resultou em maiores níveis de ACC e por sua vez, aumento da biossíntese de etileno. Kim et al. (1992) também demonstraram em seus experimentos com hipocótilos de feijão que certos genes da ACC sintase respondiam especificamente para esse efeito auto-inibitório da produção de etileno.

Já Mathooko et al. (2001) em estudos com pêssegos notaram que frutos tratados com 1-MCP mostraram pouca supressão da produção de etileno e inibição da perda de firmeza durante os primeiros dias, porém, o teor de ACC foi maior que nos frutos do controle. Segundo os autores, o 1-MCP não teve efeito na atividade da ACC sintase, porém inibiu em 50% a atividade da ACC oxidase, fato este que poderia explicar pelo menos em parte, o aumento no conteúdo de ACC observado nos frutos que foram tratados com 1-MCP.

A produção de etileno endógeno é uma parte essencial do amadurecimento de frutos climatéricos e provavelmente atua como um reostato para processos que dependem do etileno (THEOLOGIS, 1992). Uma vez que o amadurecimento da fruta climatérica tem inicio, a concentração interna de etileno aumenta rapidamente até

um certo nível, onde aplicações exógenas de etileno não tem efeito na promoção do amadurecimento (SALTVEIT, 1999).

A concentração de etileno endógeno no início do experimento foi de aproximadamente 5 $\mu L.L^{-1}$, e, após 5 dias sob refrigeração passou para valores entre 0,025 a 0,05 $\mu L.L^{-1}$. Esses valores mostraram pouca variação no período refrigerado, com concentrações entre 0,04 a 0,20 $\mu L.L^{-1}$ aos 20 dias, com valores mais elevados observados no tratamento onde aplicou-se apenas o 1-MCP. A partir deste dia, os frutos foram transferidos para temperatura de 22ºC, com aumento da concentração de etileno endógeno, sendo mais elevada nos frutos que foram tratados apenas com 1-MCP e menor naqueles com 1-MCP mais 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno (Figura 21). A concentração de etileno endógeno ao final do armazenamento para os 3 tratamentos restantes, estava entre 4 e 12 $\mu L.L^{-1}$, com a maior concentração no tratamento em que foi aplicado apenas 1-MCP. Portanto, tanto a produção de etileno como a concentração de etileno endógeno esteve mais elevada nos frutos tratados apenas com 1-MCP, no período em que estavam armazenados a 22ºC (Figura 21).

Da mesma forma que neste trabalho com mamões, a concentração de etileno endógeno em frutos de pomelo foi substancialmente elevada depois da exposição ao tratamento com 1-MCP (MULLINS; McCOLLUN; McDONALD, 2000). Neste estudo com mamões, esse aumento na concentração de etileno endógeno ocorreu principalmente no final do armazenamento a 22ºC, coincidindo com a elevada atividade da ACC oxidase, que será mostrada mais adiante.

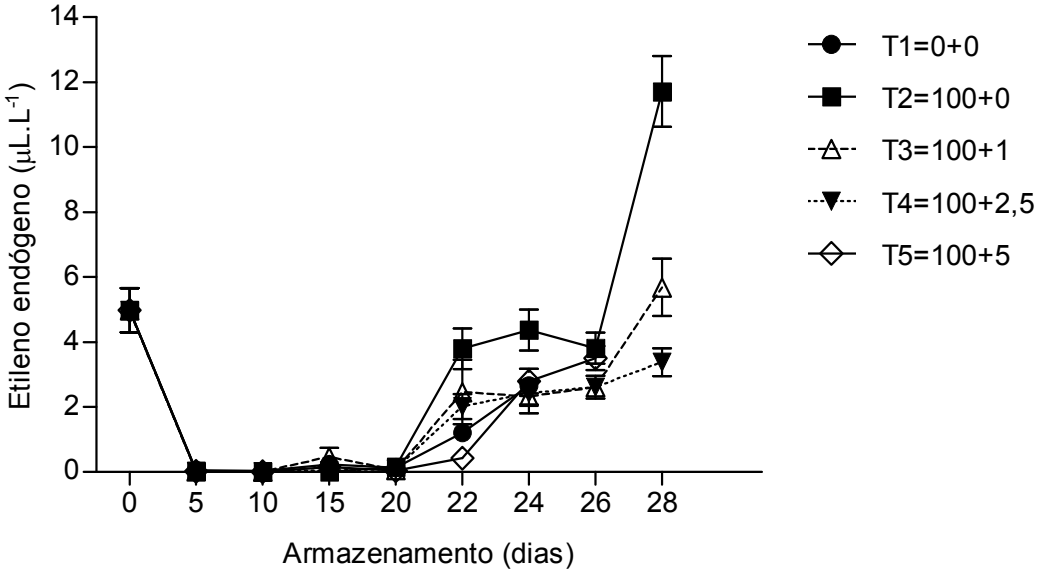

Figura 21 - Concentração de etileno endógeno de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=10). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Zhang et al. (2009) demostraram que a eficácia do 1-MCP gasoso em nível de saturação (21 $\mu mol.m^{-3}$, 500 $nL.L^{-1}$), foi completamente suprimida quando aplicado em combinação com etileno (4,07 $\mu mol.m^{-3}$, 100 $nL.L^{-1}$) em tomates. Estes resultados corroboram com a hipótese de que a concentração de etileno interno em frutos climatéricos, pode modular a sensibilidade dos mesmos ao 1-MCP (ZHANG et al., 2009; ZHANG; HUBER; RAO, 2010), através do controle indireto das enzimas ligadas a sua biossíntese.

7.3.6 Atividade Respiratória e Dióxido de carbono Endógeno

Os resultados para taxa respiratória e dióxido de carbono endógeno mostraram o mesmo padrão entre eles em todos os tratamentos. Os valores de atividade respiratória no inicio do tratamento estavam em torno de 8 mL de $CO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$, com queda logo após o tratamento, chegando em 5 mL $CO_2.kg^{-1}.h^{-1}$ no 5º dia, mantendo-se próximo a este valor até o final do período refrigerado. Com a mudança de temperatura de 11ºC para 22ºC, os tratamentos atingiram atividade respiratória entre 25 e 30 mL $CO_2.kg^{-1}.h^{-1}$, um pouco mais elevada que no tratamento onde foi aplicado apenas 1-MCP (Figura 22).

Bron (2006) mostrou em seus resultados, que mamões 'Golden' tratados com 1-MCP apresentaram redução na atividade respiratória, que nos primeiros 5 dias esteve perto de 19 mL $CO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$, cerca de 40% menor quando comparado aos frutos não tratados a 23ºC. O autor ainda mencionou que durante os 20 dias de armazenamento a 11ºC, a atividade respiratória dos frutos tratados e não tratados com 1-MCP foi baixa, com valores de em torno 7 mL $CO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$. A respiração aumentou assim que os frutos saíram do armazenamento refrigerado, atingindo valores constantes após o 2º dia a 23ºC. Estes valores foram de aproximadamente 20 a 25 mL $CO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$ para frutos tratados e não tratados com 1-MCP respectivamente, um pouco menor que os observados neste estudo (Figura 22).

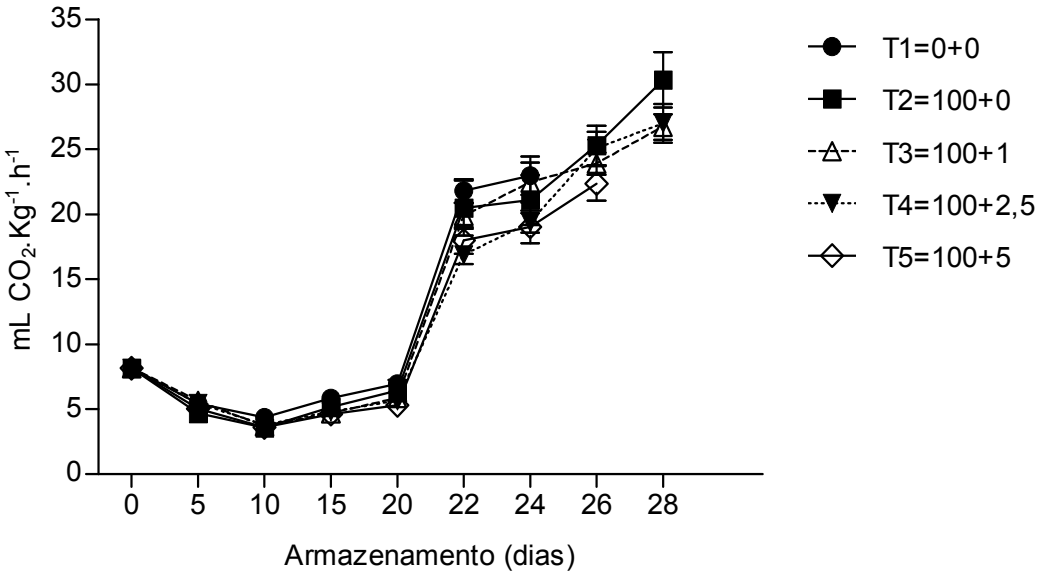

Figura 22 - Atividade respiratória de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=5). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP ($nL.L^{-1}$)+etileno ($\mu L.L^{-1}$)

Pelayo et al. (2003) relataram em seus estudos que a atividade respiratória foi menor em bananas tratadas com 1-MCP em comparação aos frutos do tratamento controle. Resultados obtidos por Wills e Ku (2002) mostraram que o mais evidente efeito do tratamento com 1-MCP no tratamento de tomates, foi a redução da taxa respiratória, porém esse efeito só foi sustentado durante os primeiros 8 dias após o tratamento.

Maneoni et al. (2007) também observaram em seus estudos, que a taxa respiratória de mamões não tratados com 1-MCP começou a aumentar depois de 2

dias a 22ºC, saindo de 15 para 22 $mL.Kg^{-1}.h^{-1}$, atingindo um ponto máximo após 10 dias. A taxa respiratória de frutas tratadas com 1-MCP não mostraram um pico climatérico distinto, mantendo-se por volta de 15 mL $CO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$, praticamente constante por cerca de 15 dias.

O resultado de CO_2 endógeno apresentou comportamento semelhante ao da atividade respiratória. No período em que os tratamentos permaneceram refrigerados, a concentração de CO_2 endógeno esteve entre 5000 e 8000 $\mu L.L^{-1}$ aproximadamente, aumentado a partir do 2º dia a 22ºC. No 4º e 6º dias, os frutos com 1-MCP mais 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno apresentaram concentração de CO_2 endógeno entre 17000 e 20000 $\mu L.L^{-1}$, com os demais com valores entre 13000 e 16000 $\mu L.L^{-1}$. Ao final do período de armazenamento, os frutos onde aplicou-se apenas 1-MCP estavam com a concentração de CO_2 endógeno próxima a 22000 $\mu L.L^{-1}$, enquanto que os tratamentos com 1-MCP mais 1,0 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno apresentavam valores em torno de 19000 $\mu L.L^{-1}$ (Figura 23).

Os resultados mostrados anteriormente por outros autores revelaram que na maioria das vezes, as espécies vegetais respondem ao tratamento com 1-MCP com menor atividade respiratória e concentração de dióxido de carbono. Entretanto, mesmo dentro da mesma espécie, é possível encontrar respostas diferentes, uma vez que estes processos estão condicionados a vários fatores fisiológicos e também não fisiológicos (ZHANG et al., 2009).

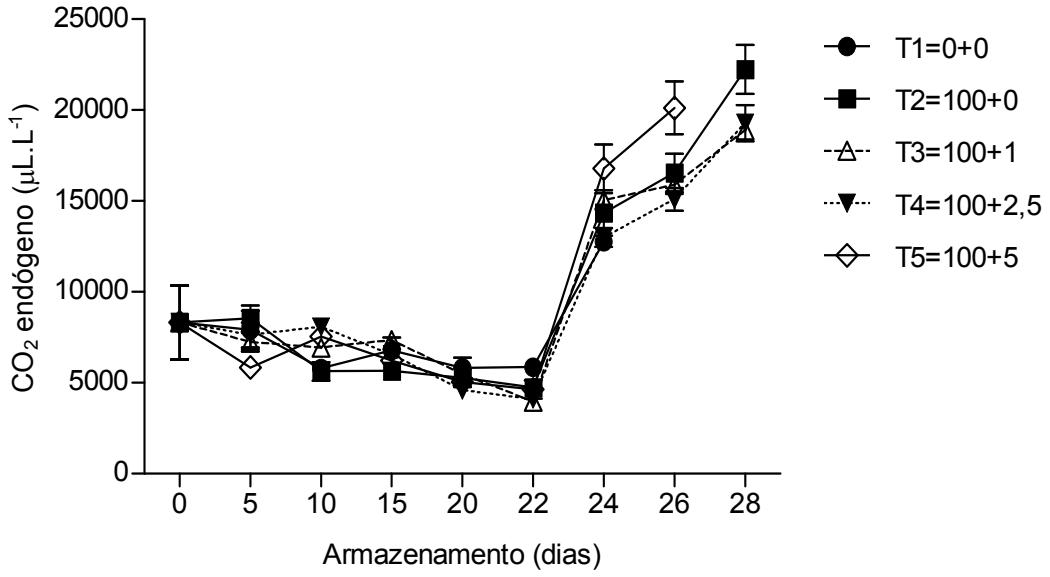

Figura 23 - Concentração de CO_2 endógeno de mamões 'Golden', submetidos ao 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=5). T1 a T5 indicam os tratamentos com 1-MCP (nL.L^{-1})+etileno (µL.L^{-1})

7.3.7 Teor de Clorofila e Carotenóides Totais

O mamão é uma excelente fonte dietética de compostos bioativos benéficos como, por exemplo, os carotenóides (FABI et al., 2007). Os pigmentos do mamão assim como de outras frutas, são derivados desses carotenóides, que são moléculas lipossolúveis localizadas nos cromoplastos das células das frutas (DEVITT et al., 2006).

A quantidade de carotenóides totais nos frutos foi praticamente igual entre os tratamentos enquanto estavam sob refrigeração, com exceção do tratamento com 1-MCP mais etileno na dose de 5 µL.L^{-1}, que ao final do período refrigerado mostrou a menor quantidade, mantendo-se assim até o 2º dia a 22ºC (Figura 24). A síntese desse pigmento foi muito baixa no mamão, a julgar pela pouca variação na quantidade observada no tratamento controle, do inicio ao final do armazenamento. Portanto, o que provavelmente ocorreu com os frutos foi a degradação da clorofila, que fez com que aparecessem os pigmentos amarelos da casca. No 4º dia a 22ºC, os frutos do controle apresentavam maior quantidade de carotenóides totais, por volta de 2,8 mg.g^{-1}. Nos demais tratamentos, observou-se que mesmo com a aplicação do etileno associado ao 1-MCP, este bloqueador conseguiu retardar a

mudança de cor da casca, sendo mais evidente nos frutos tratados apenas com 1-MCP (Figura 24). No entanto, quando se compara os tratamentos que receberam 1-MCP e 1-MCP mais etileno no 2º dia, é possível notar que o tratamento que recebeu a maior dose de etileno (5 $\mu L.L^{-1}$) mostrou a menor quantidade de carotenóides totais, provavelmente porque havia auto-inibição do etileno neste momento. Barreto et al. (2011) afirmaram que mamões tratados com 1-MCP ou etileno, mostraram baixo conteúdo de carotenóides totais quando foram comparados aos frutos do controle. Este fato sugeriu que ambos os tratamentos podem inibir ou deslocar a via biossintética dos carotenóides. Porém, segundo os mesmos autores, esse fato mudou em poucos dias após o tratamento, onde então foi observado aumento nas quantidades de carotenóides nos frutos tratados com etileno em relação aos tratados com 1-MCP. Esse fato também foi observado neste trabalho, sendo mais evidente nos tratamentos onde foram aplicadas as doses de 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, mesmo na presença do 1-MCP (Figura 24). Nestes tratamentos, foi observado um substancial aumento na quantidade de carotenóides totais a partir do 6º dia, com níveis mais elevados nos tratamentos com 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, decrescendo a medida que a dose de etileno aplicada também foi menor (Figura 24). Esse aumento na quantidade de carotenóides totais ao final do armazenamento, caracterizada como síntese, pode ter ocorrido por uma mudança na via biossintética destes pigmentos causada pelos tratamentos, ou porque eles permaneceram armazenados por um período mais longo.

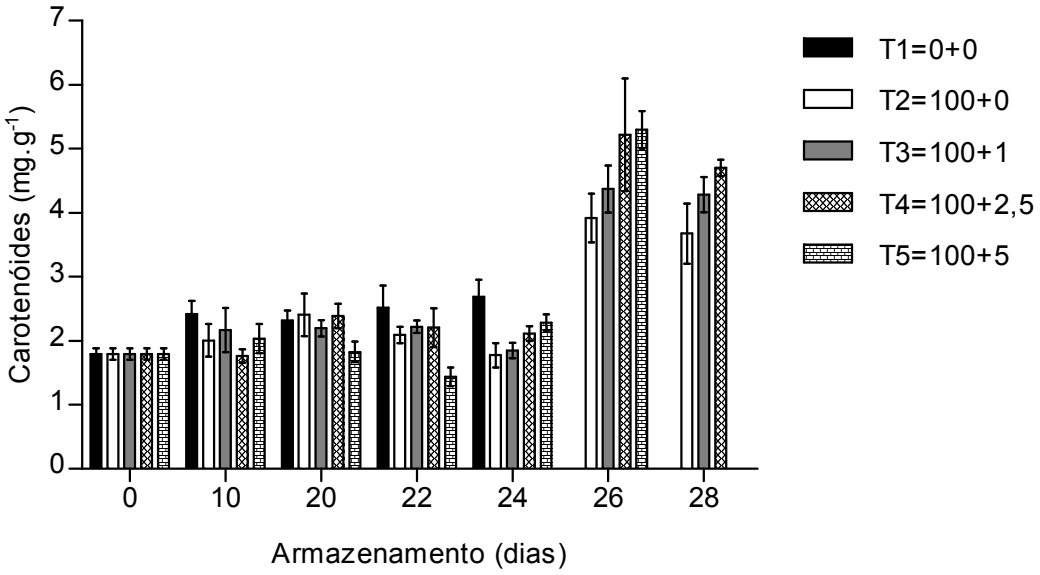

Figura 24 - Teor de carotenóides totais de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=9). T1=0+0; T2=100+0; T3=100+1; T4=100+2,5; T5=100+5, em $nL.L^{-1}$ 1-MCP+$\mu L.L^{-1}$ etileno

Marty et al. (2005) usaram tratamentos com 1-MCP para investigar a regulação pelo etileno no acúmulo de carotenóides, bem como a expressão do gene carotenogenico em laranja e damasco. Ambas espécies acumularam os pigmentos incolores fitoeno e fitoflueno, mas o β-caroteno só foi acumulado nas laranjas. Foi verificado neste estudo, que o 1-MCP inibiu a produção de etileno nas 2 espécies, no entanto, os efeitos sobre o acúmulo de pigmentos foram pequenos. No experimento com mamão, ocorreu a mesma resposta enquanto os frutos estavam armazenados no frio, o que poderia não ser uma resposta ao 1-MCP, e sim à baixa temperatura No entanto, após serem transferidos para a temperatura de 22ºC, tanto o 1-MCP como o 1-MCP associado ao etileno nas doses de 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$ afetaram muito a síntese de carotenóides no final do armazenamento, com aumentos consistentes em relação ao controle.

O teor de clorofila foi maior nos mamões que receberam apenas 1-MCP durante o armazenamento refrigerado, mantendo-se com este teor mais elevado até o 4º dia a 22ºC, igualando-se aos tratamentos com 1-MCP mais etileno somente no 6º e 8º dias (Figura 25). Todos os tratamentos apresentaram teores de clorofila muito semelhantes no 2º dia no ambiente, a exceção do que foi tratado com 1-MCP mais 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, que apresentou teor mais baixo. No 4º dia, todos os

tratamentos estavam com valores próximos, a exceção daquele tratado apenas com 1-MCP, o qual mostrou quantidade mais elevada de clorofila total. Isso provavelmente deve ter ocorrido, devido à ação do etileno nos outros tratamentos, o qual pode ter favorecido mais a atividade da enzima clorofilase, em comparação ao que foi tratado apenas com 1-MCP. No 6º dia, 4 os tratamentos avaliados mostraram quantidades semelhantes de clorofila total, a qual estava muito baixa (1,5 $mg.g^{-1}$) em relação a quantidade inicial, aproximadamente 10 vezes maior (Figura 25). Dos tratamentos que foram avaliados no 8º dia, aquele que foi tratado apenas com 1-MCP apresentou teor de clorofila maior que os demais, caracterizando este tratamento como mais verde, confirmando o que se observou na análise de cor da casca pelo colorímetro.

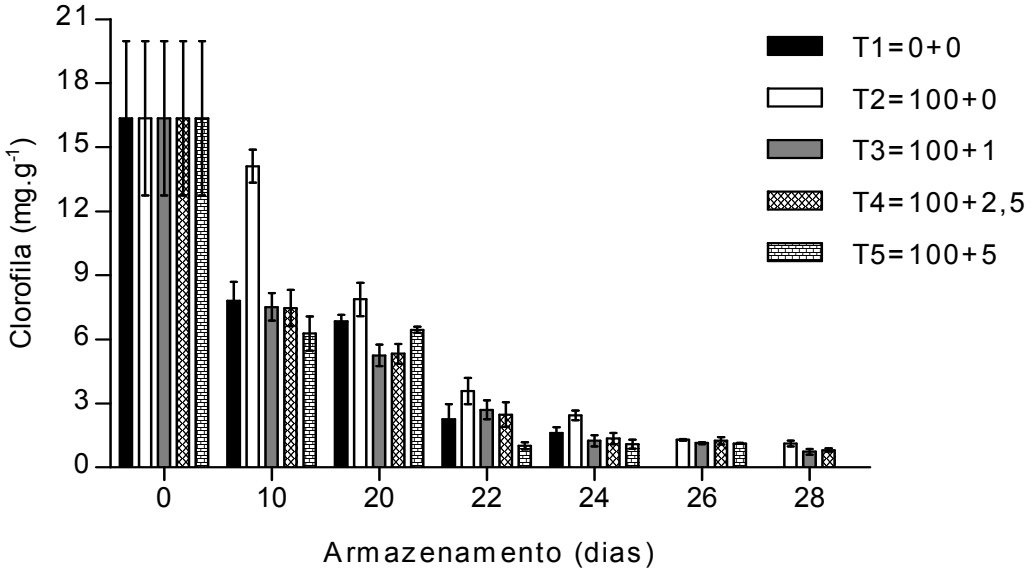

Figura 25 - Teor de clorofila total de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=9). T1=0+0; T2=100+0; T3=100+1; T4=100+2,5; T5=100+5, em $nL.L^{-1}$ 1-MCP+$\mu L.L^{-1}$ etileno

A perda da cor verde deve-se à decomposição da clorofila em decorrência de vários fatores que atuam isoladamente ou em conjunto, como por exemplo o pH, ativação da enzima clorofilase e a presença de sistemas oxidantes (BLEINROTH et al., 1992). Portanto, o 1-MCP ao bloquear a ação do etileno, retardou o processo de quebra da clorofila do mamão 'Golden' em relação ao controle, quando este foi aplicado sozinho. Quando o 1-MCP foi aplicado em conjunto com o etileno, esse atraso em relação ao controle foi menos acentuado. Isto porque, na presença do

etileno, alguns sítios provavelmente não foram ocupados pelo 1-MCP, reduzindo seu efeito no bloqueio do etileno. Com isso, a atividade das enzimas responsáveis pela quebra da clorofila deve ter sido um pouco maior, quando comparado ao tratamento apenas 1-MCP.

O etileno promove, portanto, um aumento na atividade das enzimas clorofilase e oxidase (SHIMOKAWA; SHIMADA; YAEO, 1978; YAMAUCHI et al., 1997), responsáveis pela degradação da clorofila e desaparecimento da cor verde. Ao mesmo tempo, o etileno estimula a carotenogênese, o que promove o aparecimento da cor amarela ou laranja (STEWART; WHEATON, 1972) e conduz à decomposição das giberelinas responsáveis pela manutenção da coloração verde da fruta (GOLDSCHMIDT; GALILI, 1974; SCHECHTER; GOLDSCHIDT; GALILI, 1989).

7.3.8 Atividade da Enzima Pectinametilesterase (PME)

O etileno tem ação sobre as enzimas responsáveis pelo desmembramento da parede celular, causando o amolecimento dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 1990). Essa perda de firmeza da polpa do mamão é atribuída à atividade das pectinases em especial à poligalacturonase (PG) e pectinametilesterase (PME). Sendo assim, o amolecimento da polpa aliado à mudança da cor da casca, é a transformação mais característica que ocorre durante o amadurecimento de mamões (BRON, 2006).

Os resultados obtidos neste estudo com mamões ‘Golden’ mostraram que a atividade da PME foi dependente do etileno, e que a aplicação do 1-MCP retardou essa atividade durante o armazenamento. A atividade desta enzima foi nitidamente menor para os frutos do tratamento onde foi aplicado apenas o 1-MCP, sendo gradualmente intensificada, à medida que o 1-MCP foi combinado com maiores doses de etileno (Figura 26).

Os valores observados nos tratamentos variaram de pouco mais 2000 nMol $NaOH.g^{-1}.min^{-1}$ no inicio, a pouco mais 4000 nMol $NaOH.g^{-1}.min^{-1}$ ao final do armazenamento refrigerado. Neste período, os valores mais baixos em relação ao controle foram observados principalmente nos tratamentos apenas com 1-MCP e 1-MCP mais etileno na dose de $1\mu L.L^{-1}$ (Figura 26).

Gallon (2010) encontrou valores de 8900 e 4700 nMol $NaOH.g^{-1}.min^{-1}$ no primeiro dia de armazenamento, respectivamente para frutos com e sem o distúrbio

do amolecimento precoce, distúrbio esse que faz com que o fruto apresente rápida perda de firmeza mesmo sob refrigeração a 11ºC em relação aos frutos sem o problema.

Paull e Chen (1983) e Lazan, Selamat e Ali (1995) relataram aumento na atividade desta enzima durante o amadurecimento de mamões. Bron (2006) também observou acréscimo na atividade da PME em mamões 'Golden' durante o período de armazenamento a 23ºC, o que não ocorreu nos frutos tratados com 1-MCP. O autor mencionou ainda, que a atividade da PME atingiu valor máximo de 8000 nMol $NaOH.g^{-1}.min^{-1}$ aos 9 dias de armazenamento.

Neste trabalho, quando os frutos foram transferidos para a temperatura de 22ºC, os valores aumentaram, ficando entre 4000 e 6000 nMol $NaOH.g^{-1}.min^{-1}$. Após 2 dias nesta temperatura, o controle e o tratamento com 1-MCP mais 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno mostraram maior atividade que os outros tratamentos, principalmente em comparação ao que foi tratado apenas o 1-MCP. A maior atividade da enzima nos frutos do controle, foi observada no 4º dia a 22ºC e a menor, nos frutos que foram tratados apenas com 1-MCP (Figura 26). No 6º dia, foram avaliados 4 dos 5 tratamentos, uma vez que o controle já havia completado seu amadurecimento, e destes, é possível visualizar na figura 26, que quanto maior foi a dose de etileno aplicada, mais atividade teve a enzima PME. Esse fato também foi observado ao final do armazenamento, onde somente 3 tratamentos foram avaliados, e dentre eles, o que foi tratado apenas com 1-MCP mostrou a menor atividade. Esses resultados de maior e menor atividade da PME em relação à dose de etileno aplicada junto com o 1-MCP, mostraram reflexo diretamente na firmeza dos frutos, com amolecimento mais rápido naqueles onde foram aplicados mais etileno junto com 1-MCP, além do controle.

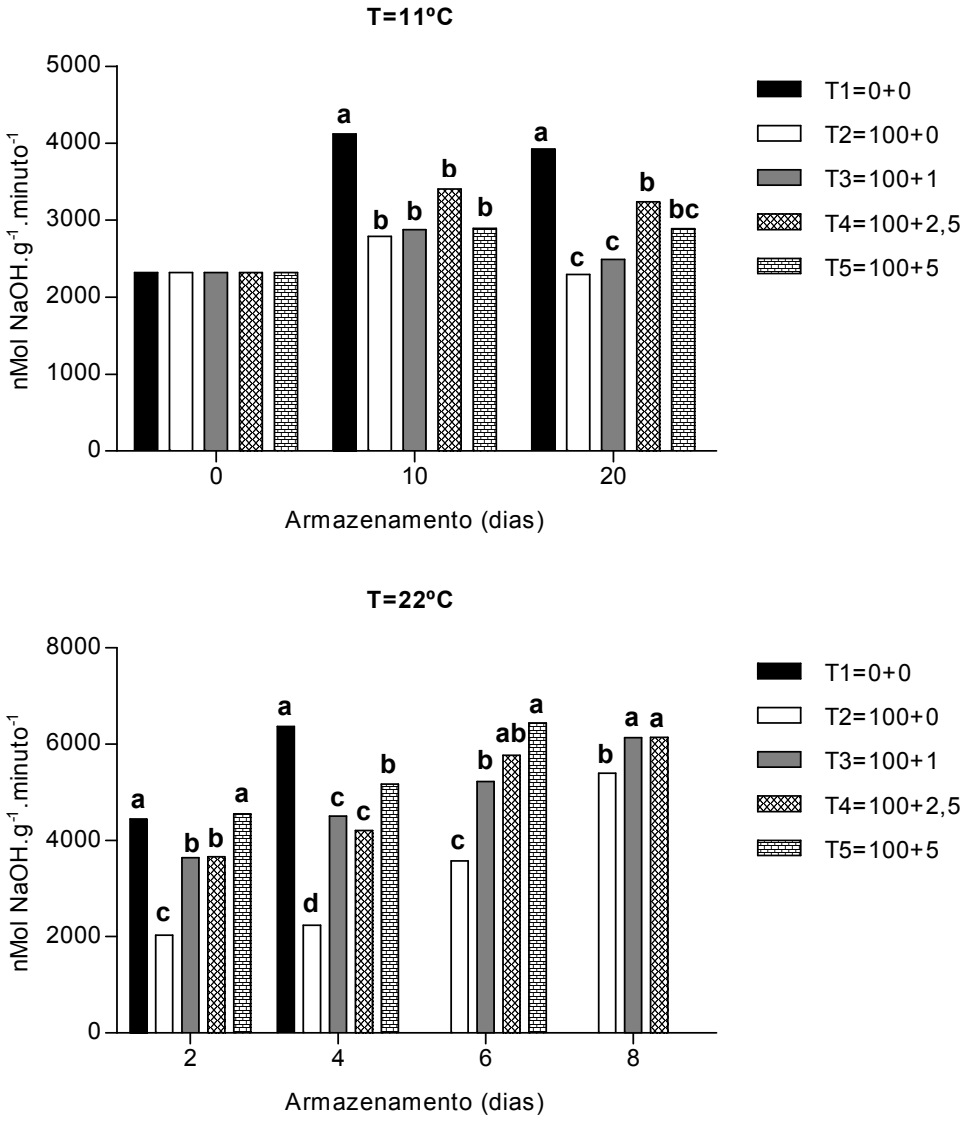

Figura 26 - Atividade da pectinametilesterase (PME) de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. T1=0+0; T2=100+0; T3=100+1; T4=100+2,5; T5=100+5, em $nL.L^{-1}$ 1-MCP+$\mu L.L^{-1}$ etileno. Médias com pelo menos uma letra igual em cada dia de análise, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

O resultado da análise da atividade da PME mostrou claramente que o 1-MCP diminuiu a atividade desta enzima, causando atraso no amolecimento dos frutos. Essa observação foi mais evidente nos frutos onde esse bloqueador foi aplicado sem o etileno ou com etileno nas doses de 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$. Portanto, a aplicação conjunta de 1-MCP mais etileno nestas doses, mostrou que a resposta da PME e com certeza de outras enzimas responsáveis pelo amolecimento dos frutos foi atenuada, ocorrendo num tempo maior que os frutos do controle.

Neste caso, até mesmo os frutos do tratamento que recebeu apenas 1-MCP provavelmente também amoleceriam, no entanto, seriam necessários talvez mais 2 dias em relação aqueles que foram tratados com 1-MCP mais 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno. Entretanto, essa perda de firmeza pode às vezes não acontecer quando os frutos são tratados apenas com 1-MCP, inviabilizando o seu consumo e causando problemas à sua comercialização.

7.3.9 Atividade da Enzima 1-Aminociclopropano-1-Carboxílico Sintase (ACS)

As mudanças observadas durante o amadurecimento das frutas são consequências de inúmeras reações bioquímicas, dentre as quais muitas estão relacionadas com a biossintese de etileno auto-catalítico, o qual pode ser responsável pelo aumento respiratório em frutos climatéricos (BARRY; GIOVANNONI, 2007). A produção de etileno auto-catalitico requer auto-regulação da sua síntese por parte das enzimas ACO e ACS, envolvidas nas reações limitantes da sua biossíntese (LELIÈVRE et al., 1997).

Ambas enzimas são codificadas por famílias multi gênicas e a expressão diferencial de seus membros tem sido relatada durante o amadurecimento dos frutos (ZAREMBINSKI; THEOLOGIS, 1994; BARRY; LLOP-TOUS; GRIERSON, 2000). Em tomateiro, a expressão diferencial das isoformas da enzima ACC sintase modula a produção autoinibitoria e autocatalica do etileno. No entanto, em mamões, Bapat et al. (2010) mostraram que para ACS existe apenas um gene codificador, enquanto que para ACO existe uma família multi gênica.

Neste presente trabalho, durante o período em que os frutos ficaram sob refrigeração a 11ºC, a atividade desta enzima foi muito baixa. No 10º dia, o tratamento onde foi aplicado apenas 1-MCP apresentou menor atividade desta enzima. Neste mesmo dia, o controle e o tratamento que recebeu 1-MCP mais 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, mostraram menor atividade da enzima, que nos tratamentos onde foram aplicados 2,5 e 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, nos quais provavelmente houve estímulo da atividade da ACS (Figura 27). Estudos prévios com base no fenômeno da auto-inibição demonstraram que o etileno modifica sua própria biossíntese pela influência do nível de expressão do gene ACS ou metabolismo da ACC (PHILOSOPH-HADAS; MEIR; AHARONI, 1985; MULLINS; McCOLLUN; McDONALD, 1999, 2000).

No 20º dia, o controle exibiu um aumento bastante considerável na atividade da ACC sintase em relação aos demais tratamentos, com atividade decrescente, quanto menor a dose de etileno aplicada em associação ao 1-MCP (Figura 27). Entretanto, o aumento da atividade desta enzima observado em alguns tratamentos, não se refletiu em maior produção de etileno no mesmo período. Isto sugere que o ACC produzido ACC sintase pode ter sido armazenado, através da rota da enzima N-maloniltransferase. Estudos realizados por Larrigaudière et al. (2009) com ameixas, mostraram que a conversão de ACC para MACC foi elemento chave no controle do amadurecimento e prevenção de distúrbios relacionados ao etileno durante o armazenamento.

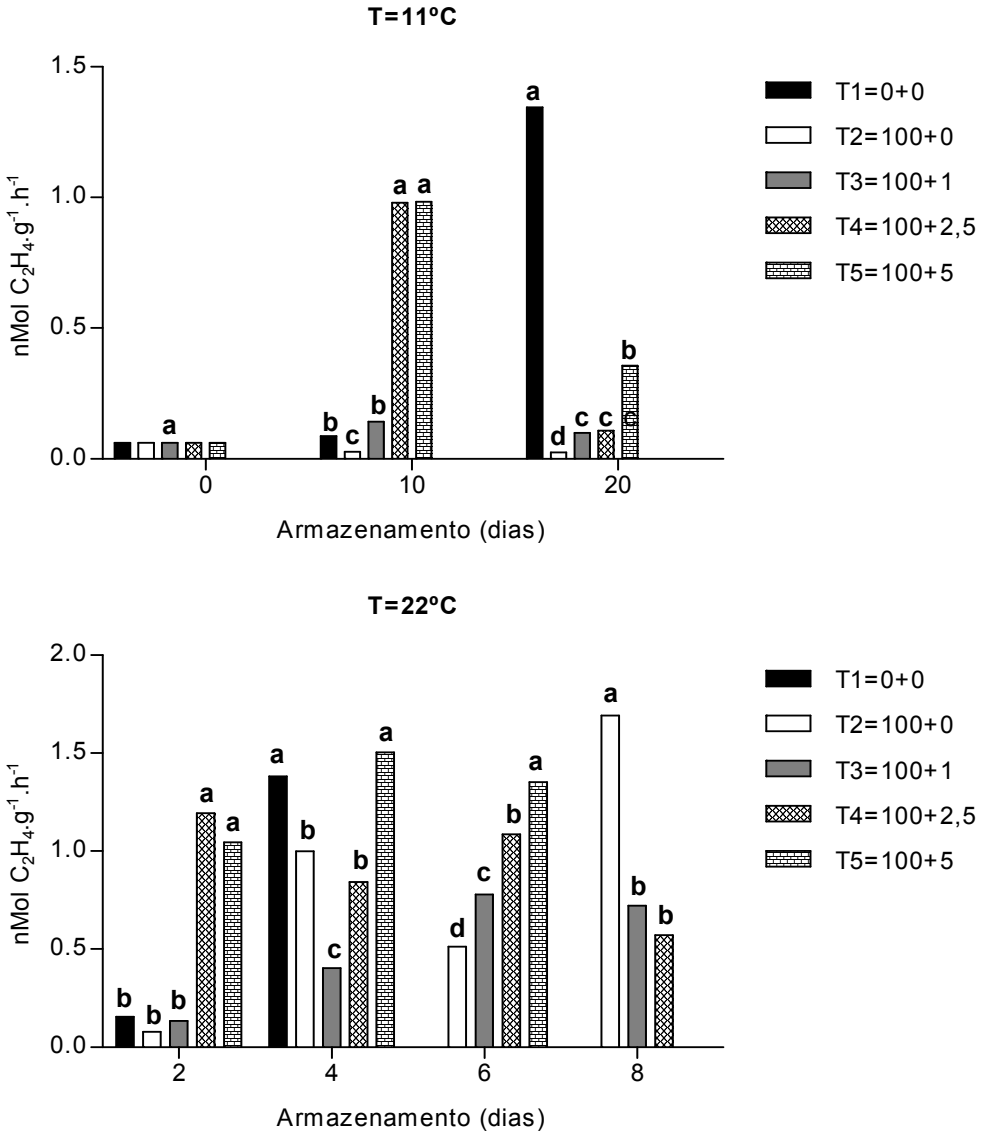

Figura 27 - Atividade da enzima 1-aminociclopropano-1-carboxílico sintase (ACS) de mamões 'Golden', submetidos aos tratamentos com 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. T1=0+0; T2=100+0; T3=100+1; T4=100+2,5; T5=100+5, em $nL.L^{-1}$ 1-MCP+$\mu L.L^{-1}$ etileno. Médias com letras iguais em cada dia de análise, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

Quando os frutos foram transferidos para temperatura de 22ºC, estes mostraram no 2º dia, atividade da enzima muito semelhante a que foi observada no 10º dia sob refrigeração. Esse resultado de queda na atividade desta enzima e posterior elevação, também foi relatado por Pelayo et al. (2003) em bananas, possivelmente devido ao fato desta enzima ter uma alta taxa de rotatividade (KIM; YANG, 1992). Já no 4º dia, o controle e o tratamento onde foi aplicado 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno associado ao 1-MCP mostraram elevada atividade, e os que foram tratados

com 1-MCP e 1-MCP mais 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, mostraram elevação na atividade da enzima em relação aos dias anteriores. A partir do 6º dia, observou-se que a atividade desta enzima foi crescente a medida que a concentração de etileno aplicada junto com o 1-MCP também aumentou (Figura 27). Ao final do armazenamento (8º dia), os frutos tratados apenas com 1-MCP mostraram elevada atividade da enzima em comparação aos outros tratamentos, o que também refletiu em maior produção de etileno e etileno endógeno neste dia de avaliação (Figuras 20 e 21). Chiriboga et al. (2012) relataram em estudos realizados com peras 'Conference' tratadas com 1-MCP, que as mudanças na produção de etileno dependem da ativação do metabolismo da ACC em temperaturas mais elevadas. Entretanto, segundo relatos desses mesmos autores, o início do processo de recuperação certamente ocorreu durante o armazenamento refrigerado.

Neste trabalho, foi observado que esta enzima alternou períodos de elevada e de baixa atividade em quase todos os tratamentos, à exceção do que foi tratado com 1-MCP mais etileno na dose de 1 $\mu L.L^{-1}$ (Figura 27). Estes frutos apresentaram atividade crescente e praticamente constante ao longo de todo o armazenamento. Isso pode ser um indicativo de que a associação do 1-MCP ao etileno, pode otimizar a resposta da ACC sintase em relação ao tratamento apenas com 1-MCP e controle, os quais não mostraram regularidade na atividade desta enzima. Larrigaudière et al. (2009) mostraram que o 1-MCP aplicado em ameixas a 0ºC, armazenadas por alguns dias nesta temperatura e depois transferidas a 20ºC, não inibiu a formação do MACC, que normalmente ocorre sob refrigeração. Os níveis desse composto foram bem mais elevados em comparação ao controle, indicando que o 1-MCP não inibiu totalmente a biossíntese do etileno, e por consequência, a atividade da enzima ACC sintase.

Portanto, mais uma vez a aplicação conjunta desses 2 reguladores vegetais mostrou relevante avanço nos estudos, para viabilizar o aumento da vida útil pós-colheita do mamão 'Golden', sem prejudicar o seu amadurecimento.

7.3.10 Atividade da Enzima 1-Aminociclopropano-1-Carboxílico Oxidase (ACO)

Os tratamentos com 1-MCP e 1-MCP associado a 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno apresentaram queda na atividade da enzima ACC oxidase na avaliação realizada no 10º dia sob refrigeração, em relação a sua atividade inicial (Figura 28). Nesta

avaliação realizada na metade do armazenamento refrigerado, o tratamento com 1-MCP mais 1 $\mu L.L^{-1}$ de etileno, apresentou atividade da ACC oxidase intermediária entre o controle e o tratamento em que foi aplicado apenas o 1-MCP.

Na avaliação realizada no final do período refrigerado, o controle apresentou atividade da ACO bastante reduzida em comparação às análises anteriores, e se manteve baixa até o final do seu armazenamento aos 24 dias. Os tratamentos onde foram aplicados 1-MCP mais etileno nas doses de 1; 2,5 $\mu L.L^{-1}$, também mostraram valores mais baixos no 20º em relação a avaliação anterior, num patamar intermediário entre o controle e os frutos que foram tratados apenas com 1-MCP. O tratamento com 1-MCP mais 5 $\mu L.L^{-1}$ de etileno mostrou atividade igual ao que foi tratado apenas com 1-MCP (Figura 28).

Contudo, mesmo com alguma atividade da ACO, a produção de etileno foi bem pequena no período em que os frutos ficaram sob refrigeração (Figuras 20 e 21). Possivelmente, esse resultado também possa ser devido ao limitado conteúdo de ACC livre durante o período refrigerado, quando comparado ao elevado conteúdo malonilado, fisiologicamente inativo até a mudança de temperatura (SESTARI, 2010), ou de outro fator qualquer, que disponibilize o ACC para ser convertido a etileno pela ACO.

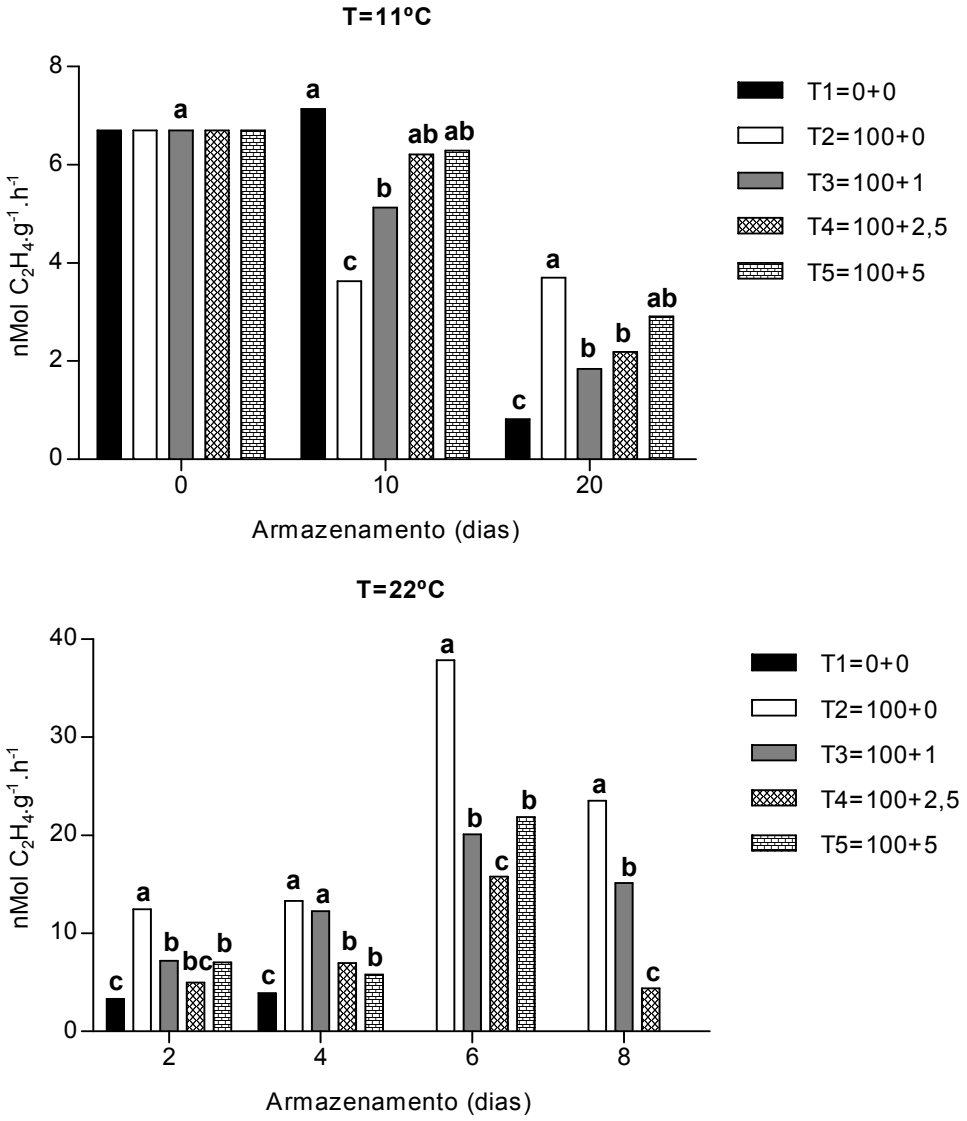

Figura 28 - Atividade da enzima 1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidase (ACO) de mamões 'Golden', submetidos ao 1-MCP e etileno, armazenados por 20 dias a 11ºC e 8 dias a 22ºC. T1=0+0; T2=100+0; T3=100+1; T4=100+2,5; T5=100+5, em $nL.L^{-1}$ 1-MCP+$\mu L.L^{-1}$ etileno. Médias com pelo menos uma letra igual em cada dia de análise, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

A explicação para esse fato é que o ACC pode ser desviado de sua rota para etileno pela ação da ACC N-maloniltransferase para gerar um derivado conjugado chamado malonil ACC (MACC) (AMRHEIN et al., 1981; HOFFMAN; YANG; MCKEON, 1982). O MACC é considerado um produto final inativo, que é armazenado no vacúolo (BOUNZAYEN et al., 1989) e que deve ser convertido novamente em ACC somente em condições não fisiológicas (JIAO et al., 1986). A malonização do ACC pode, portanto, ser um fator que contribui para a baixa taxa de produção de etileno no pré-climatérico das frutas (LELIÈVRE et al., 1997). Essa

baixa produção de etileno e etileno endógeno foi observada neste estudo com mamões ‘Golden’, durante o período em que os frutos ficaram sob refrigeração a 11ºC (Figuras 20 e 21).

Quando os frutos foram transferidos para temperatura ambiente (22ºC), o tratamento controle não mostrou elevação na atividade da enzima ACC oxidase. No entanto, o tratamento apenas com 1-MCP mostrou maior atividade que os demais no 2º dia, mantendo-se assim também no 4º dia. Essa atividade foi igual ao tratamento onde foi aplicado 1-MCP mais etileno na dose de 1 $\mu L.L^{-1}$, que foi o único tratamento em que a atividade da enzima aumentou neste período (Figura 28)

A partir do 6º dia, frutos que foram tratados apenas com 1-MCP mostraram maior atividade em relação aos outros tratamentos (Figura 28). Essa alta atividade da ACC sintase ao final do armazenamento, principalmente nos frutos do tratamento onde foi aplicado apenas 1-MCP, resultou em elevada produção de etileno e etileno endógeno nos frutos deste tratamento. A explicação para este fato, novamente deve ter relação com o processo conhecido como auto-inibição que o etileno causa sobre sua própria biossíntese, que foi descrito por Riov e Yang (1982). Esses autores relataram que em diferentes tipos de tecidos, o etileno exerce um efeito inibitório sobre sua própria síntese. Portanto, a aplicação do 1-MCP nos frutos deve ter bloqueado esse mecanismo de ação direta sobre as enzimas da biossintese do etileno, induzindo a sua própria síntese (PORAT et al. 1999; LAFUENTE et al. 2001). Wang et al. (2009) encontraram em seus estudos com mangas ‘Tainong’, maior atividade da ACO em frutos tratados com 1-MCP em relação ao controle, porém menor que aqueles que foram tratados com etileno exógeno.

Esse efeito que o 1-MCP tem em induzir a biossíntese do etileno também foi observado em folhas de salsa e teve inicio poucas horas após a aplicação do composto, sendo mais elevado quando a aplicação do inibidor foi logo no início do armazenamento (ELLA et al., 2003).

8 CONCLUSÕES

O tratamento com 1-MCP na dose de 100 $nL.L^{-1}$, associado ao etileno nas doses de 1 e 2,5 $\mu L.L^{-1}$, aplicados no mamão 'Golden', no estádio 1 de maturação, retardou a perda da firmeza e prolongou a sua vida útil pós-colheita. Isto ocorreu sem prejudicar outras características de qualidade, tais como teor de ácido ascórbico, sólidos solúveis e cor da casca, que foi retardada, mas não bloqueada.

As avaliações do teor de clorofila e carotenóides totais reforçaram os resultados obtidos quanto ao atraso na mudança da cor da casca, mais pronunciado nos frutos que foram tratados apenas com 1-MCP.

Quanto aos carotenóides, as avaliações mostraram pequeno incremento na síntese dos frutos do controle, quando comparado aos outros tratamentos, nos quais ela foi maior, principalmente nos que receberam as maiores doses de etileno.

A atividade da enzima PME foi retardada pelos tratamentos com 1-MCP, sendo mais evidente quando este regulador foi aplicado sem etileno.

A atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase foi reduzida pela aplicação do 1-MCP, associado ou não ao etileno, durante o armazenamento refrigerado. Após a transferência para o ambiente, ocorreu a retomada na atividade destas enzimas, especialmente naqueles frutos tratados apenas com 1-MCP.

REFERÊNCIAS

ABDI, N.; McGLASSON, W.B.; HOLFORD, P.; WILLIAMS, M.; MIZRAHI, Y. Responses of climacteric and suppressed-climacteric plums to treatment with propylene and 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology,** Richmond, v. 14, p. 29-39, 1998.

AGROFRESH, 2007. Disponivel em http://www.smartfresh.com/faqs.html. Acesso em: 25 fev. 2010.

AKBUDAK, B.; OZER, M.H.; ERTURK, U.; CAVUSOGLU, S. Response of 1-methylcyclopropene treated "Granny Smith" apple fruit to air and controlled atmosphere storage conditions. **Journal of Food Quality,** Boston, v. 32, n. 1, p. 18-33, 2009.

AMARANTE, C.V.T. do; STEFFENS, C.A. Sachês absorvedores de etileno na pós-colheita de maçãs 'Royal Gala'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n.1, p. 71-77, 2009.

AMRHEIN, N.; SCHEEEBECK, D.; SKOMPKA, H.; TOPHOF, S. Identification of a major metabolite of the ethylene precursor 1-aminocyclopropane-l-carboxylic acid in higher plants. **Naturwissenschaften**, Danvers, v. 68, p. 619-620, 1981.

AN, J.; PAULL, R.E. Storage temperature and ethylene influence on ripening of papaya fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, p. 949-953, 1990.

BALBONTÍN, C.; GAETE-EASTMAN, C.; VERGARA, M.; HERRERA, R.; MOYA-LÉON, M.A. Treatment with 1-MCP and the role of ethylene in aroma development of mountain papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology,** Talca, v. 43, p. 67-77, 2007.

BAPAT, V.A.; TRIVEDI, P.K.; GHOSH, A.; SANE, V.A.; GANAPATHI, T.R.; NATH, P. Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene. **Biothechnology Advances**, Kolhapur, v. 28, p. 94-107, 2010.

BARRETO, G.M.P.; FABI, J.P.; CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M.; NASCIMENTO, J.R.O.; MERCADANTE, A.Z. Influence of ethylene on carotenoids biosynthesis during papaya post harvesting ripening. **Journal of Food Composition and Analysis**, Beltsville, v. 24, p. 620-624, 2011.

BARRY, C.S.; GIOVANNONI, J.J. Ethylene and fruit ripening. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 26, p. 143-159, 2007.

BARRY, C.S.; LLOP-TOUS, M.I.; GRIERSON, D. The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during the transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato. **Plant Physiology**, Oxford, v. 123, p. 979-986, 2000.

BINDER, B.M. Rapid kinetic analysis of ethylene growth responses in seedlings: new insights into ethylene signal transduction. **Journal of Plant Growth Regulation**, Knoxville, v. 26, n. 2, p. 131-142, 2007.

BINDER, B.M. The ethylene receptors: complex perception for a simple gas. **Plant Science**, Madison, v. 175, p. 8-17, 2008.

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

BLEINROTH, E.W.; SIGRIST, J.M.M.; ARDITO, E.F.G.; CASTRO, J.V.; SPAGNOL, W.A.; NEVES FILHO, L.C. **Tecnologia pós-colheita de frutas tropicais**. 2. ed. Campinas: ITAL, 1992. 203p. (Manual Técnico, 9).

BOMFIM, M.P.; LIMA, G.P.P.; SÃO JOSÉ, A.R.; VIANELLO, F.; OLIVEIRA, L.M. de. Conservação pós-colheita de manga 'Tommy Atkins' com 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. esp.1, p. 290-297, 2011.

BOUZAYEN, M.; LATCHÉ, A.; PECH, J.C.; MARIGO, G. Carrier mediated uptake of l (malonylamino) cyclopropane 1-carboxylic acid in vacuoles isolated from *Catharanthus roseus* cells. **Plant Physiology**, Toulouse Cedex, v. 91, p. 1317-1322, 1989.

BRACKMANN, A.; FREITAS, S.T. de; MELLO, A.M. de; STEFFENS, C.A. Aplicação de 1-MCP em caqui 'quioto' armazenado sob refrigeração e atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 42-44, 2003.

BRACKMANN, A.; GIEHL, R.F.H.; EISERMANN, A.C.; WEBER, A.; HELDWEIN, A.B. Inibição da ação do etileno e temperatura de armazenamento no padrão de amadurecimento de tomates. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6, p. 1688-1694, 2009.

BRAPEX, 2010. Associação Brasileira dos Exportadores de Papaia. Disponível em: <https://www.brapex.net/index_800/asp>. Acesso em: 15 maio 2011.

BRON, I.U. **Armazenamento do mamão 'Golden':** ponto de colheita, bloqueio da ação do etileno e armazenamento refrigerado. 2006. 66 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

BRON, I.U.; JACOMINO, A.P. Ripening and quality of 'Golden' papaya fruit harvested at different maturity stages. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Jundiaí, v. 18, n. 3, p. 389-396, 2006.

BRON, I.U.; RIBEIRO, R.V.; AZZOLINI, M.; JACOMINO, A.P.; MACHADO, E.C. Chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the ripening of 'Golden' papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 33, p. 163-173, 2004.

BRUMMELL D.A.; HARPSTER, M.H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 47, p. 311-340, 2001.

BULANTSEVA, E.A.; THANG, N.T.; RUZHITSKY, A.O.; PROTSENKO, M.A.; KORABLEVA, N.P. The effect of ethylene biosynthesis regulators on metabolic processes in the banana fruits in various physiological states. **Applied Biochemistry and Microbiology**, Moscow, v. 45, n. 1, p. 93-96, 2009.

BURG, S.P.; BURG, E.A. Molecular requirements for the biological activity of ethylene. **Plant Physiology,** Rockville, v. 42, p. 144-152, 1967.

CARA, B.; GIOVANNONI, J.J. Molecular biology of ethylene during tomato fruit development and maturation. **Plant Science**, Ithaca, v. 175, p. 106-113, 2008.

CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M.M. **Análises químicas de alimentos**. Campinas: ITAL, 1990. 121 p.

CASTRO, P.R.C.; SENA, J.O.A.; KLUGE, R.A. **Introdução a fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Eduem, 2002. 255 p.

CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A.; PERES, L.E.P. **Manual de fisiologia vegetal:** teoria e prática. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 2005. 650 p.

CHIRIBOGA, M.A.; SCHOTSMANS, W.C.; LARRIGAUDIÈRE, C.; DUPILLE, E.; RECASENS, I. How to prevent ripening blockage in 1-MCP-treated 'Conference' pears. **Journal of Science and Food Agriculture**, Lleida, v. 10, n. 15, p. 1781-1788, 2011.

CHIRIBOGA, M.A.; RECASENS, I.; SCHOTSMANS, W.C.; DUPILLE, E.; LARRIGAUDIÈRE, C. Cold-induced changes in metabolism determine softening recovery in 1-MCP-treated 'Conference' pears. **Postharvest Biology Technology**, Lleida, v. 68, n. 6, p. 78-85, 2012.

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

CHITARRA, A.B.; PRADO, M.E.T. **Tecnologia de armazenamento pós-colheita para frutos e hortaliças in natura.** Lavras: UFLA; FAEPE, 2000. 112 p.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças:** fisiologia e manuseio. Lavras: UFLA, 2005. 783 p.

CONKLIN, P.L. Recent advences in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. **Plant Cell Environment**, v. 25, Oxford, p. 425-438, 2001.

CORRENT, A.R.; GIRARDI, C.L.; PARUSSOLO, A.T.; FRONZA, E.; ROMBALDI, C.V. Efeito do 1-metilciclopropeno em maçãs 'Fuji' armazenadas em atmosfera refrigerada e atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 1, p. 91-94, 2005.

DEVITT, L.C.; SAWBRIDGE, T.; HOLTON, T.A.; MITCHELSON, K.; DIETZGEN, R.G. Discovery of genes associated with fruit ripening in Carica papaya using expressed sequence tags, **Plant Science**, St. Lucia, v. 170, p. 256-363, 2006.

D'INNOCENZO, M. **Comportamento de enzimas da parede celular e textura da polpa relacionados ao tratamento de irradiação de mamões (*Carica papaya* L. cv. Solo) durante o amadurecimento**. 1996. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1996.

DUMVILLE, J.C.; FRY, S.C. Solubilisation of tomato fruit pectins by ascorbate: a possible non-enzymic mechanism of fruit softening. **Planta**, Berlin, v. 217, p. 951-961, 2003.

EASTMAN, C.G.; FIGUEROA, C.R.; BALBOTIN, C.; MOYA, M.; ATKINSON, R.G.; HERRERA, R.; LÉON, M.A.M. Expression of an ethylene-related expansin gene during softening of mountain papaya fruit (*Vasconcellea pubescens*). **Postharvest Biology and Technology**, Talca, v. 53, n. 1/2, p. 58-65, 2009.

ELLA, L.; ZION, A.; NEHEMIA, A.; AMNON, L. Effect of the ethylene action inhibitor 1-methylcyclopropene on parsley leaf senescence and ethylene biosynthesis. **Postharvest Biology and Technology**, Bet Dagan, v. 30, p. 67-74, 2003.

FABI, J.P.; MENDES, L.R.B.C.; LAJOLO, F.M.; NASCIMENTO, J.O.R. Transcript profiling of papaya fruit reveals differentially expressed genes associated with fruit ripening. **Plant Science**, Limerick, v. 179, p. 225-233, 2010.

FABI, J.P.; CORDENUNSI, B.R.; SEYMOUR, G.B.; LAJOLO, F.M.; NASCIMENTO, J.R.O. Molecular cloning and characterization of a ripening-induced polygalacturonase related to papaya fruit softening. **Plant Physiology and Biochemistry**, Bologne, v. 47, n. 11/12, p. 1075-1081, 2009.

FABI, J.P.; CORDENUNSI, B.R.; BARRETO, G.P.M.; MERCADANTE, A.Z.; LAJOLO, F.M.; NASCIMENTO, J.R.O. Papaya fruit ripening: response to ethylene and 1-methylcyclopropene (1-MCP). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Paris, v. 55, p. 6118-6123, 2007.

FAEB. **Federação da Agricultura e Pecuária do Estado da Bahia,** 2011. Disponível em: <https://www.faeb.org.br/> . Acesso em 01 fev. 2012.

FAN, X.T.; BLANKENSHIP, S.M.; MATTHEIS, J.P. 1-methylcyclopropene inhibits apple ripening. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 124, p. 690-695, 1999.

FENG, X.; APELBAUM, A.; SISLER, E.C.; GOREN, R. Control of ethylene responses in avocado fruit with 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 143-150, 2000.

FIRMIN, A. Physicochemical changes in papaya during storage. **Tropical Science**, New York, v. 37, p. 49-51, 1997.

FNP CONSULTORIA & AGRO-INFORMATIVOS. **AGRIANUAL:** anuário da agricultura brasileira. 14. ed. São Paulo, 2011.

GALLON, C.Z. **Amolecimento precoce da polpa e sua relação com as modificações da parede celular em mamões 'Golden'**. 2010. 111 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

GALLON, C.Z.; BROETTO, S.G.; SILVA, D.M. Atividade da celulase e β-galactosidase no estudo da firmeza da polpa de mamões 'Golden' e 'Gran Golden'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1178-1183, 2009.

GIRARDI, C.L.; PARUSSOLO, A.; DANIELI, R.; CORRENT, A.R.; ROMBALDI, C.V. Conservação de caqui (*Diospyros kaki*, L.), cv. Fuyu, pela aplicação de 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 54-56, 2003.

GODOY, A.E. de. **Injúrias mecânicas e seus efeitos na fisiologia e na qualidade de mamões 'Golden'**. 2008. 71 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

GOLDING, J.B.; EKMAN, J.H.; McGLASSON, W.B. Regulation of fruit ripening. In: **Postharvest Review,** London, v. 1, n. 3, p. 1-12, 2005.

GOLDING, J.B.; SHEARER, D.; WYLLIE, S.G.; McGLASSON, W.B. Aplication of 1-MCP and propylene to identify ethylene dependent ripening processes in mature banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Hawkesbury, v. 14, p. 87-98, 1998.

GOLDSHMIDT, E.E.; GALILI, D. The fate endogenous gibberellins and applied rediactive gibberellin A3 during natural and ethylene-induced senescence in *Citrus* peel. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 15, n. 3, p. 485-491, 1974.

GORNY, J.R.; KADER, A. Controlled-atmosphere suppression of ACC synthase and ACC oxidase in 'Golden delicious' apple during long-term cold storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Davis, v. 121, p. 751-755, 1996.

GOZLEKCI, S.; ERKAN, M.; KARASAHIN, I.; SAHIN, G. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fig (*Fícus carica* cv. Bardakci) storage. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 798, p. 325-330, 2008. Apresentado no INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FIG, 3., 2008, Algarve. Proceedings… **-**

HOEBERICHTS, F.A.; VAN DER PLAS, L.H.W.; WOLTERING, E.J. Ethylene perception is required for the expression of tomato ripening-related genes and associated physiological changes even at advanced stages of ripening. **Postharvest Biology and Technology**, Wageningen, v. 26, p. 125-133, 2002.

HOFFMAN, N.E.; YANG, S.P.; MCKEON, T. Identification of 1-(malonylamino) cyclopropane-1-carboxylic acid as a major conjugate of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor in higher plants. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 104**,** p. 765-770, 1982.

HOFMAN, P.J.; JOBIN-DÉCOR, M.; MEILBURG, G.F.; MACNISH, A.J.; JOYCE, D.C. Ripening and quality responses of avocado, custard apple, mango and papaya fruit to 1- methylcyclopropene. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Victoria, v. 41, p. 567-572, 2001.

HOJO, E.T.D.; ABREU, C.M.P. de; ASMAR, S.A.; HOJO, R.H.; CÔRREA, A.D.; VILAS BOAS, E.V.B. Avaliação da qualidade de manga 'Palmer' tratadas com 1-metilciclopropeno e armazenada sob refrigeração e condição ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 28-38, 2009.

HUBER, D.J. Book review. **Postharvest Biology and Technology**, London, v. 5, p. 363-364, 1995.

IBRAF. **Instituto Brasileiro de Frutas**, 2009. Disponível em: <https://www.ibraf.org.br/>. Acesso em 10 fev. 2012.

INUGI, J.K.; WABULE, M.N. Some chemical characteristics and availability of vitamin A and vitamin C from Kenyan varieties of papayas (*Carica papaya* L.). **Ecology of Food and Nutrition**, Philadelphia, v. 24, p. 115-120, 1990.

JACOMINO, A.P.; ARRUDA, M.C. de; BRON, I.U.; KLUGE, R.A. Transformações bioquímicas em produtos hortícolas após a colheita. In: KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de alimentos:** teorias e aplicações práticas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 153-189.

JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A.; BRACKMANN, A.; CASTRO, P.R.C. Amadurecimento e senescência de mamão com 1-metilciclopropeno. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 303-308, 2002.

JACOMINO, A.P.; TREVISAN, M.J.; ARRUDA, M.C. de; KLUGE, R.A. Influence of the interval between harvest and 1-methylcyclopropene application on papaya ripening. **Revista Brasileira Fruticultura,** Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 456-459, 2007.

JEONG, J.; HUBER, D.J. Suppression of avocado (*Persea Americana* Mill.) fruit softening and changes in cell wall matrix polysaccharides and enzyme activities: differential responses to 1- MCP and delayed ethylene application. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 129, p. 752-759, 2004.

JEONG, J.; HUBER, D.J.; SARGENT, S.A. Influence of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on ripening and cell-wall matrix polysaccharides of avocado (*Persea Americana* Mill.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 25, p. 241-256, 2002.

JIANG, Y.; FUN, J. Ethylene regulation of fruit ripening: molecular aspects. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 30, p. 193-200, 2000.

JIANG, Y.; JOYCE, D.C.; TERRY, L. A. 1-Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.23, n.3, p.227-232, 2001.

JIANG, Y.M.; JOYCE, D.C.; JIANG, W.B.; LU, W.J. Effects of chilling temperatures on ethylene binding by banana fruit. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 43, p. 109-115, 2004a.

JIANG, W.B.; SHENG, Q.; JIANG, Y.M.; ZHOU, X.J. Effects of 1-methylcyclopropene and gibberellic acid on ripening of Chinese jujube (Zizyphus jujuba M.) in relation to quality. **Journal of the Science Food and Agriculture**, Guangzhou, v. 84, p. 31-35, 2004a.

JIANG, W.B.; SHENG, Q.; ZHOU, X.J.; ZHANG, M.J.; LIU, X.J. Regulation of detached coriander leaf senescence by 1-methylcyclopropene and ethylene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 26, p. 339-345, 2002c.

JIAO, X.; PHILOSOPH-HADAS, S.; SU, L.; YANG, S.R. The conversion of 1-(malonylamino) cyclopropane-1-carboxylic acid to 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. **Plant Physiology**, Beltsville, v. 81, p. 637-641, 1986.

KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural products**. 3rd ed. Los Angeles: University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 2002. 535 p. (Publication, 3311).

KAPOTIS, G.; PASSAM, H.C.; AKOUMIANAKIS, K.; OLYMPIOS, C.M. Storage of tomatoes in low oxygen atmospheres inhibits ethylene action and polygalacturonase activity. **Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 51, p. 112-115, 2004.

KENDE, H. Enzymes of ethylene biosynthesis. **Plant Physiolology**, Michigan, v. 91, p. 1-4, 1989.

KEVANY, B.; TAYLOR, M.; DAL CIN, V.; KLEE, H.J. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit. **Plant Journal**, Gainesville, v. 51, n. 481, p. 458-467, 2007.

KERTESZ, Z.I. Pectic enzymes. In: _____. **The pectic substances**. Geneva: Interscience Publ., 1951. chap. 14, p. 333-375.

KIM, W.T.; YANG, S.F. Turnover of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase protein in wounded tomato fruit tissue. **Plant Physiology**, Davis, v. 100, p. 1126-1131, 1992.

KU, V.V.V.; WILLS, R.B.H. Effect of 1-methylcyclopropene on the storage life of broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 17, p. 127-132, 1999.

KU, V.V.V.; WILLS, R.B.H.; BEN-YEHOSHUA, S. 1-methylcyclopropene can differentially affect the postharvest life of strawberries exposed to ethylene. **HortScience,** Alexandria, v. 34, p. 119-120, 1999.

LACERDA, M.A.D. de; LACERDA, R.D. de; ASSIS, P.C.O. A participação da fruticultura no agronegócio brasileiro. **Revista Biologia e Ciência da Terra**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 350-358, 2004.

LAFUENTE, M.T.; ZACARIAS, L.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M.A.; SANCHEZ-BALLESTA, M.T.; DUPILLE, E. Phenylalanine ammonialyase as related to ethylene in the development of chilling symptoms during cold storage of citrus fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, p. 6020-6025, 2001.

LARRIGAUDIÈRE, C.; CANDAN, A.P.; UBACH, D.; GRAELL, J. Physiological response of 'Larry An' plums to cold storage and 1-MCP treatment. **Postharvest Biology and Technology**, Llieda, v. 51, p. 56-61, 2009.

LAZAN, H.; SELAMAT, M.K.; ALI, Z.M. Beta-galactosidase, polygalacturonase and pectinesterase in differential softening and cell wall modification during papaya fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 95, p. 106-12, 1995.

LELIÈVRE, J.M.; LATCHE, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M.; PECH, J.C. Ethylene and fruit ripening. **Physiology Plantarum**, Toulouse Cedex, v. 101, p. 727-739, 1997.

LELIÈVRE, J.M.; TICHIT, L.; DAO, P.; FILLION, L.; NAM, Y.W.; PECH, J.C. Effects of chilling on the expression of ethylene biosynthetic genes in Passe-Crassane pear (*Pyrus communis* L.) fruits. **Plant Molecular Biology**, Toulouse Cedex, v. 33, p. 847-55, 1997.

LEVERENTZ, B.; CONWAY, W.S.; JANISIEWICZ, W.J.; SAFNER, R.A.; CAMP, M.J. Effect of combining MCP treatment, heat treatment and biocontrol on the redution of postharvest decay of 'Golden Delicious' apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 27, n. 3, p. 221-233, 2003.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymologics**, Pasadena, v. 148, p. 350-382, 1987.

LIU, H.X.; JIANG, W.B.; ZHOU, L.G.; WANG, B.G.; LUO, Y.B. The effects of 1-methylcyclopropene on peach fruit (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) ripening and disease resistance. **International Journal of Food Science and Technology**, Qinghua Donglu, v. 40, p. 1-17, 2005.

LIZADA, M.C.C.; YANG, S.F. A simple and sensitive assay for ACC. **Analytical Biochemistry,** San Diego, v. 100, n. 1, p. 140-145, 1979.

LÓPEZ-GÓMEZ, R.; CABRERA-PONCE, J.L.; SAUCEDO-ARIAS, L.J.; CARRETO-MONTOYA, L.; VILLANUEVA-ARCE, R.; DÍAZ-PEREZ, J.C.; GÓMEZ-LIM, M.A.; HERRERA-ESTRELLA, L. Ripening in papaya fruit is altered by ACC oxidase cosuppression. **Transgenic Research,** Morelia, v. 18, p. 89-97, 2009.

LURIE, S. Regulation of ethylene biosynthesis in fruits by aminoethoxyvinyl glycine and 1-methylcyclopropene. In: Proceedings of the international conference on ripening regulation and postharvest fruit quality, **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 796, p. 31-41, 2008.

LURIE, S.; PRE-AYMARD, C.; RAVID, U.; LARKOV, O.; FALLIK, E. Effect of 1-methylcyclopropene on volatile emission and aroma in cv. Anna apples. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 4251-4256, 2002.

MAINARDI, J.A.; PURGATTO, E.; VIEIRA JÚNIOR, A.; BASTOS, W.A.; CORDENUNSI, B.R.; NASCIMENTO, J.R.O.; LAJOLO, F.M. Effects of Ethylene and 1-Methylcyclopropene (1-MCP) on Gene Expression and Activity Profile of α-1,4-Glucan-phosphorylase during Banana Ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 19, p. 7294-7299, Sept. 2006.

MALGARIM, M.B.; CANTILLANO, R.F.F.; TREPTOW, R.O.; SOUZA, E.L de; COUTINHO, E.F. Modificação da atmosfera na qualidade pós-colheita de ameixas cv. Reubennel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 373-378, 2005.

MANEONI, A.; BAYOGAN, E.R.; THUMDEE, S.; PAULL, R.E. Utility of 1-methylcyclopropene as a postharvest treatment. **Postharvest Biology and Technology**, Honolulu, v. 44, p. 55-62, 2007.

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

MARCOS, J.F.; GONZALEZ-CANDELAS, L.; ZACARIAS, L. Involvement of ethylene biosynthesis and perception in the susceptibility of citrus fruits to Penicillium digitatum infection and the accumulation of defencerelated mRNAs. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 2183-2193, 2005.

MARTINS, D.S.; COSTA, A.F.S. **A cultura do mamoeiro:** tecnologias de produção. Vitória: ENCAPER, 2003. 497 p.

MARTY, I.; BUREAU, S.; SARKISSIAN, G.; GOUBLE, B.; AUDERGON, J.M.; ALBAGNAC, G. Ethylene regulation of carotenoid accumulation and carotenogenic gene expression in colour-contrasted apricot varieties (*Prunus armeniaca*). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 1877-1886, 2005

MATHOOKO, F.M.; TSUNASHIMA, Y.; OWINO, W.Z.O.; KUBO, Y.; INABA, A. Regulation of genes encoding ethylene biosynthetic enzymes in peach (*Prunus persica* L.) fruit by carbon dioxide and 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Nairobi, v. 21, p. 265-281, 2001.

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

MOON, S.J.; LEE, S.H.; HAN, J.H.; HWANG, Y.S.; CHUN, J.P. Effects of 1-MCP and storage condition on fruit quality of 'Whangkeumbae' Pear during storage and simulated marketing. **Acta Horticulturae**, The Hague, Madrid, v. 26, n. 4, p. 387-392, 2008. Apresentado no INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FIG, 3., 2008, Madrid. Proceedings… -

MOYA-LEÓN, M.A.; JOHN, P. Activity of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase (ethylene-forming enzyme) in the pulp and the peel of ripening bananas. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 69, p. 243-250, 1994.

MULLINS, E.D.; McCOLLUN, T.G.; McDONALD, R.E. Ethylene: a regulator of stress-induced ACC synthase activity in nonclimacteric fruit. **Physiologia Plantarum**, Pierce, v. 107, p. 1-7, 1999.

_____. Consequences on ethylene metabolism of inactivating the ethylene receptor sites in diseased non climacteric fruit. **Postharvest Biology Technology**, Amsterdam, v. 19, p. 155-164, 2000.

NANTHACHAI, N.; RATANACHINAKORN, B.; KOSITTRAKUN, M.; BEAUDRY, R.M. Absorption of 1-MCP by fresh produce. **Postharvest Biology and Technology**, Khonkaen, v. 43, p. 291-297, 2007.

NAKATSUKA, A.; SHIOMI, S.; KUBO, Y.; INABA, A. Expression and internal feedback regulation of ACC synthase and ACC oxidase genes in ripening tomato fruit. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 38, p. 1103-1110, 1997.

NAKATSUKA, A.; MURACHI, S.; OKUNISHI, H.; SHIOMI, S.; NAKANO, R., KUBO, Y.; INABA, A. Differential expression and internal feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1- carboxylate synthase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, and ethylene receptor genes in tomato fruit during development and ripening. **Plant Physiology**, Rockville, v. 118, p. 1295-1305, 1998.

OETIKER, J.H.; YANG, S.F. The role of ethylene in fruit ripening. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 398, p. 167-178, 1995.

OLIVEIRA, F.E.R.; ABREU, C.M.P. de; ASMAR, S.A.; CORRÊA, A.D.; SANTOS, C.D. dos. Firmeza de pêssegos 'diamante' tratados com 1-MCP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 366-368, 2005.

O'MALLEY, R.C.; BLEECKER, A. **Hisdidine kinases in signal transduction**. San Diego: Academic Press, 2003. 520 p.

OZ, A.T.; GULEN, H.; ERIS, A. The effect of harvest maturity stage on ACC synthase activity and total proteins profile in kiwifruits during normal and controlled atmosphere storages. **International Journal of Agriculture and Biology**, Islamabad, v. 12, n. 6, p. 828-832, 2010.

OZKAYA, O.; DENDAR, O. 1-Methylcyclopropene effects on quality parameters of long term stored apples cv. Granny Smith. **Journal of Food Agricultural and Environment,** Helsinki, v. 7, n. 1, p. 52-55, 2009.

PAL, D.K.; SUBRAMANYAM, M.D.; DIVAKAR, N.G.; IYER, C.P.A.; SELVARAJ, V. Studies on the physico-chemical composition of fruits of twelve papaya varieties. **Journal of Food Science and Technology**, Chicago, v. 17, p. 254-256, 1980.

PAULL, R.E.; CHEN, N.J. Heat shock response in field grown papaya. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, p. 623-631, 1990.

PAULL, R.E.; CHEN, N.J. Postharvest variation in cell wall-degrading enzymes of papaya (*Carica papaya* L.) during fruit ripening. **Plant Physiology**, Rockville, v. 72, p. 382-385, 1983.

PAULL, R.E.; GROSS, K.; YUNXIA, Q. Changes in papaya cell walls during fruit ripening. **Postharvest Biology and Technology**, Honolulu, v. 16, p. 79-89, 1999.

PECH, J.C.; GUIS, M.; BOTONDI, R.; AYUB, R.; BOUZAYEN, M.; LELIEVRE, J.M.; EL YAHYAOUI, F.; LATCHE, A. Ethylene-dependent and ethylene-independent pathways in a climacteric fruit, the melon. In: KANELLIS, A.K. (Ed.). **Biology and biotechnology of the plant hormone ethylene II**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. p. 105-110.

PELAYO, C.; VILAS-BOAS, E.V.D.; BENICHOU, M.; KADER, A.A. Variability in responses of partially ripe bananas to 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Iztapalapa, v. 28, p. 75-85, 2003.

PEREIRA, E.C.C. **Caracterização e comparação de sistemas de embalagem e transporte de mamão 'Solo' destinado ao mercado nacional**. 2009. 116 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PEREIRA, W.S.P.; BELTRAN, A. Mecanismo de ação e uso do 1-MCP - bloqueador de etileno, visando prolongar a vida útil das frutas. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado**: fruteiras tropicais - doenças e pragas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. p. 31-44.

PESIS, E.; ACKERMAN, M.; BEN-ARIE, R.; FEYGENBERG, O.; FENG, X.Q.; APELBAUM, A. Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, p. 171-181, 2002.

PINHEIRO, A.C.M.; VILAS BOAS, E.V. de; MESQUITA, C.T. **Ação do 1-metilciclopropeno (1-MCP) na vida de prateleira da banana maçã.** 2005. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br>. Acesso em: 20 jun. 2011.

PIRIYANINIT, P.; KETSA, S.; van DOORN, W.G. 1-MCP extends the storage and shelf life of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Bangkok, v. 61, p. 15-20, 2011.

PIZA JUNIOR, C.T. Aspectos gerais da fruticultura tropical. In: _____. **Fruticultura tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p. 1-14.

PHILOSOPH-HADAS, S.; MEIR, S.; AHARONI, N. Autoinhibition of ethylene production in tobacco leaf discs: enhancement of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid conjugation. **Physiologia Plantarum**, Bet Dagan, v. 63, p. 431-437, 1985.

PORAT, R.; WEISS, 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, 1999.

PROULX, E. **Étude de la qualité de la papaya (*Carica papaya* L.) et des haricots verts (*Phaseoulus vulgaris* L.) en fonction de la température d'entreposage**. 2000. 103 p. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval pour l'obtention du grade de maître ès Sciences (M.Sc.). Département des Sols et Génie Agroalimentaire, Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation, Université Laval, Québec, 2000.

RHODES, M.J.C. The maturation and ripening of fruits. In: THIMANN, K.V.; ADELMAN, R.C.; ROTH, G.S. (Ed.) **Senescence in plants**. Boca Raton: CRC Press, 1980. chap. 8, p. 157-205.

RIOV, J.; YANG, S.F. Effects of exogenous ethylene on ethylene production in citrus leaf tissue. **Plant Physiology**, Rockville, v. 70, p. 136-141, 1982.

RODRIGO, M.J.; ZACARIAS, L. Effect of postharvest ethylene treatment on carotenoid accumulation and the expression of carotenoid biosynthetic genes in the flavedo of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdan, v. 43, p. 14-22, 2007.

RODRIGUES, J.D.; ONO, E.O. Grandes culturas: café. **Revista Cultivar Grandes Culturas,** Jaboticabal, v. 30, p. 32-34, 2001.

RONGCAI, Y.; DAVID, H.C. Effects of NAA, AVG, and 1-MCP on ethylene biosynthesis, preharvest fruit drop, fruit maturity, and quality of 'Golden Supreme' and 'Golden Delicious' apples. **Hortscience**, Alexandria, v. 42, n. 1, p. 101-105, 2007.

SALTVEIT, M.E. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 279-292, 1999.

SANTOSO, S.I.; PERERA, C.O. Effect of 1-MCP treatment on starfruit and guava slices. Singapore: National University of Singapore, Department of Chemistry, Food Science and Technology Programme. 2003. 420 p.

SAÑUDO-BARAJAS, J.A.; LABAVITCH, J.; GREVE, C.; OSUNA-ENCISO, T.; MUY-RANGEL, D.; SILLER-CEPEDA, J. Cell wall disassembly during papaya softening: role of ethylene in changes in composition, pectin-derived oligomers (PDOs) production and wall hydrolases. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 51, p. 158-167, 2009.

SÃO PAULO. Secretaria de Agricultura. 1998. Disponível em: <https://www.seagri.ba.org.br/mamao.htm>. Acesso em: 20 abr. 2011.

SCHECHTER, S.; GOLDSHMIDT, E.E.; GALILI, D. Persistence of (14C) gibberellin A3 and (3H) gibberellin A1 in senescing ethylene treated citrus and tomato fruit. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 8, n. 3, p. 243-253, 1989.

SELVARAJAH, S.; BAUCHOT, A.D.; JOHN, P. Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 23, p. 167-170, 2001.

SELVARAJ, Y.; SUBRAMANYAN, M.D.; IYER, C.P.A. Changes in the chemical composition of four cultivar of papaya (*Carica papaya* L.) during growth and development. **Journal of Horticultural Science**, Bengalore, v. 5, p. 135-143, 1982.

SEREK, M.; SISLER, E.C.; REID, M.S. Novel gaseous ethylene binding inhibitor prevents ethylene effects in poted flowring plants. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 119, n. 6, p. 1230-1233, 1994.

SESTARI, I. **Indução de tolerância de frutos às injúrias de frio: aspectos fisiológicos e bioquímicos**. 2010. 142 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SHIMOKAWA, K.; SHIMADA, S.; YAEO, H. Ethylene-enhanced chlorophylate activity during degreening of *Citrus unshiu* Marc. **Scientia Hortuculturae**, Amsterdam, v. 8, n. 2, p. 129-135, 1978.

SILVA, E.O.; PUSCHMAN, R.; MOSQUIN, P.R.; SOARES, N.F.F.; SILVA, D.F.P.; RIBEIRO JUNIOR, J.I.; MENDONÇA, F.V.S.; SIMÕES, A.N. Uso do Smartfresh™ (1-MCP) no amadurecimento controlado de banana ‘Prata Anã’. **Proceedings of Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Viçosa, v. 47, p. 129-131, 2003.

SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 760 p.

SISLER, E.C. The discovery and development of compounds counteracting ethylene at the receptor level. **Biotechnology Advances**, Raleigh, v. 24, p. 357-367, 2006.

SISLER, E.C.; BLANKENSHIP, S.M. Effect of diazocyclopentadiene on tomato ripening. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 12, p. 155-160, 1993.

SISLER, E.C.; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 100, p. 577-582, 1997.

_____. Compounds controlling the ethylene receptor. **Botanical Bulletin Academia Sinica**, New York, v. 40, p. 1-7, 1999.

_____. Compounds interacting with the ethylene receptor in plants. **Plant Biology,** New York, v.5, p.473-480, 2003.

SRIVASTAVA, L.M. **Plant growth and development:** hormones and environment. Amsterdam: Academic Press, 2002. 772 p.

STEWART, I.; WHEATON, T.A. Carotenoids in citrus: their accumulation induced by ethylene. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 20, n. 2, p. 448-449, 1972.

SUN, B.; YAN, H.; LIN, N.; WEI, J.; WANG, Q. Effect of 1-MCP treatment on postharvest quality characters antioxidants and glucosinolates of Chinese Kale. **Food Chemistry**, Hangzhou, v. 131, p. 519-526, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TATSUKI, M.; ENDO, A.; OHKAWA, H. Influence of time from harvest to 1-MCP treatment on apple fruit quality and expression of genes for ethylene biosynthesis. **Postharvest Biology and Technology**, Fukushima, v. 43, p. 28-35, 2007.

TERAO, D.; OLIVEIRA, S.M.A. de; VIANA, F.M.P.; ALVES, R.E.; ROSSETTI, A.G.; SOUSA, C.C.M. de; GONDIM, D.M.F.; MOURA, R.D. Efeito de 1-metilciclopropeno (1-MCP) combinado à refrigeração no controle de podridão pós-colheita em frutos de melão. **Proceedings of Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Fortaleza, v. 47, p. 53-57, 2003.

THEOLOGIS, A. One rotten apple spoils the whole bushel-the role of ethylene in fruit ripening. **Cell**, Cambridge, v. 70, p. 181-184, 1992.

THEOLOGIS, A.; LATIES, G.G. Potentiating effect of pure oxygen on the enhancement of respiration by ethylene in plant storage organs: a comparative study. **Plant Physiology**, Cambridge, v. 69, p. 1031-1035, 1982.

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**, Dordrecht, v. 32, p. 83-90, 2000.

TIBOLA, C.S.; LUCHETTA, L.; ZANUZO, M.R.; SILVA, P.R. da; FERRI, V.C.; ROMBALDI, C.V. Inibição da ação do etileno na conservação de caquis (*Diospyrus kaki* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 36-39, 2005.

TIWARI, S.P.; BHATIA, V.S. Characters of pod anatomy associated with resistance to pod-shattering in soybean. **Annals of Botany**, London, v. 76, p. 483-485, 1995.

TOIVONEN, P.M.A. Application of 1-methylcyclopropene in fresh-cut/minimal processing systems. **HortScience**, Ashford, v. 43, p. 102-105, 2008.

VALDENEGRO, M.; FUENTES, L.; HERRERA, R.; MOYA-LEÓN, M.A. Changes in antioxidant capacity during development and ripening of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) fruit and in response to 1-methylcyclopropene treatment. **Postharvest Biology and Technology**, Talca, v. 67, p. 110-117, 2012.

VENDRELL, M.; PALOMER, X. Hormonal control of fruit ripening in climacteric fruits. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 463, p. 325-334, 1997.

VILAS BOAS, E.V.B. 1-MCP: um inibidor da ação do etileno. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS: PATOLOGIA PÓS-COLHEITA DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 3., 2002, Lavras. **Palestras...** Lavras: UFL, 2002. p. 24-30.

VILLALOBOS-ACUÑA, M.G.; BIASI, W.V.; MITCHAM, E.J.; HOLCROFT, D. Fruit temperature and ethylene modulate 1-MCP response in 'Bartlett' pears. **Postharvest Biology and Technology,** Davis, v. 60, p. 17-23, 2011.

VILLALOBOS-ACUÑA, M.G.; BIASI, W.V.; FLORES, S.; JIANG, C.Z.; REID, M.S.; WILLITS, N.H.; MITCHAM, E.J. Effect of maturity and cold storage on ethylene biosynthesis and ripening in 'Bartlett' pears treated after harvest with 1-MCP. **Postharvest Biology and Technology,** Davis, v. 59, p. 1-9, 2011.

WANG, B.; WANG, J.; FENG, X.; LIN, L.; ZHAO, Y.; JIANG, W. Effects of 1-MCP and exogenous ethylene on fruit ripening and antioxidants in stored mango. **Plant Growth Regulation**, Beijing, v. 57, p. 185-192, 2009.

WATKINS, C.B. Ethylene synthesis, mode of action, consequences and control. In: KNEE, M. (Ed.). **Fruit quality and its biological basis**. Boca Raton: Sheffield Academic Press, 2002. p. 180-224.

_____. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v. 24, n. 4, p. 389-409, 2006.

WATKINS, C.B.; NOCK, J.F.; WHITAKER, B.D. Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) under air and controlled atmosphere storage conditions. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 19, p. 17-32, 2000.

WILLS, R.B.H.; KU, V.V.V. Use of 1-MCP to extend the time to ripen of green tomatoes and postharvest life of ripe tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**, Ourimbah, v. 26, p. 85-90, 2002.

WILLS, R.H.; MCGLASSON, W.B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. **Postharvest, an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals**. 4th ed. New York: CAB International, 1998. 262 p.

WOLUCKA, B.A.; VAN MONTAGU, M. GDP-mannose 3',5'-epimerase forms GDP-L-gulose, a putative intermediate for the novo biosynthesis of vitamin C in plants. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 278, p. 47483-47490, 2003.

YAMAUCHI, N.; AKIYAMA, Y.; KAKO, S.; HASHINAGA, F. Chlorophyll degradation in Wase Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruit with on-tree maturation and ethylene treatment. **Scientia Hortuculturae**, Amsterdam, v. 71, n. 1/2, p. 35-42, 1997.

YANG, S.F.; HOFFMAN, N.E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Stanford, v. 35, p. 155-189, 1984.

YIP, W.K.; DONG, J.G.; YANG, S.F. Purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase from apple fruit. **Plant Physiology**, Davis, v. 95, p. 251-257, 1991.

YOKOTANI, N.; NAKANO, R.; IMANISHI, S.; NAGATA, M.; INABA, A.; KUBO, Y. Ripening-associated ethylene biosynthesis in tomato fruit is autocatalytically and developmentally regulated. **Journal of Experimental Botany**, Okayama, v.60, n.12, p.3433-3442, 2009.

ZANELLA, A. Control of apple superficial scald and ripening: a comparison between 1-methylcyclopropene and diphenylamine postharvest treatments, initial low oxygen stress and ultra low oxygen storage. **Postharvest Biology and Technology**, Post Auer, v. 27, p. 69-78, 2003.

ZANUZO, M. **Etileno na transcrição de poligalacturonases em melões transformados geneticamente com o clone pAP4 antisense**. 2004. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

ZAREMBINSKI, T.I.; THEOLOGIS, A. Ethylene biosynthesis and action: a case of conservation. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 26, p. 1579-1597, 1994.

ZHANG, Z.; HUBER, D.J.; RAO, J. Short-term hypoxic hypobaria transiently decreases internal ethylene levels and increases sensitivity of tomato fruit to subsequent 1-methylcyclopropene treatments. **Postharvest Biology and Technology**, Gainesville, v. 56, p. 131-137, 2010.

ZHANG, Z.; HUBER, D.J.; HURR, B.M.; RAO, J. Delay of tomato fruit ripening in response to 1-methylcyclopropene is influenced by internal ethylene levels. **Postharvest Biology and Technology**, Gainesville, v. 54, p. 1-8, 2009.