

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**APLICAÇÃO DE PRODUTOS DA FERMENTAÇÃO E
ULTRABAIXO OXIGÊNIO PARA A CONSERVAÇÃO
DE MAÇÃS ‘ROYAL GALA’**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Anderson Weber

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**APLICAÇÃO DE PRODUTOS DA FERMENTAÇÃO E
ULTRABAIXO OXIGÊNIO PARA A CONSERVAÇÃO DE
MAÇÃS ‘ROYAL GALA’**

Por

Anderson Weber

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia.**

Orientador: Prof. Auri Brackmann

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**APLICAÇÃO DE PRODUTOS DA FERMENTAÇÃO E ULTRABAIXO
OXIGÊNIO PARA A CONSERVAÇÃO DE MAÇÃS ‘ROYAL GALA’**

elaborada por
Anderson Weber

como requisito para a obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Auri Brackmann
Prof. Dr. – UFSM
(Presidente/Orientador)

Cristiano André Steffens
Prof. Dr. – UDESC

Jerônimo Luiz Andriolo
Prof. Dr. – UFSM

Santa Maria, 12 de Fevereiro de 2010

W373a Weber, Anderson, 1982-

Aplicação de produtos da fermentação e ultrabaixo oxigênio para a conservação de maçãs 'Royal Gala' / Anderson Weber. - 2010.
89 f. ; il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2010.

“Orientador: Prof. Auri Brackmann”

1. Agronomia 2. Etanol 3. Aldeído acético 4. Temperatura 5. Etileno 6. Respiração anaeróbica I. Brackmann, Auri II. Título

CDU: 662.754

Ficha catalográfica elaborada por
Patrícia da Rosa Corrêa – CRB 10/1652
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

© 2010

Todos os direitos autorais reservados a Anderson Weber. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Departamento de Fitotecnia/UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

Fone (0xx) 55 9123-0536; Endereço eletrônico: anweba@yahoo.com.br

Aos meus pais,

Clari e Osmar Weber,

E à minha amada

Ana Maria,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde e força para seguir em frente.

Aos meus pais, Osmar e Clari, pelo apoio incondicional e pelo exemplo de vida, trabalho, perseverança, dedicação e honestidade.

À minha querida e amada namorada Ana Maria, pelo amor, compreensão e dedicação, os quais foram fundamentais para vencer mais essa etapa da minha vida.

Aos meus irmãos, Anísio e André, e à minha irmã Ângela, que sempre me apoiaram durante toda minha formação profissional.

Ao professor Auri Brackmann, pela orientação, amizade e por possibilitar minha iniciação científica durante a Graduação e a realização da Pós-graduação.

Aos meus colegas e amigos do Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita: Vanderlei, Elizandra, Rogério, Márcio, Thiago, Jorge, Adriano, Fábio, Cássia e Cláudia e aos ex-colegas Cristiano, Daniel, Ivan, Ricardo e Ana Cristina, que me auxiliaram neste e/ou em tantos outros trabalhos.

Ao professor e amigo Cristiano André Steffens, pelos ensinamentos, incentivos e companheirismo.

À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade de realizar a Graduação e o Mestrado.

Ao CNPq, pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica durante a graduação e pela Bolsa de Mestrado.

À CAPES, por disponibilizar um portal com uma vasta coleção de periódicos, a partir dos quais obtive uma parte fundamental da minha formação acadêmica.

MUITO OBRIGADO.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

APLICAÇÃO DE PRODUTOS DA FERMENTAÇÃO E ULTRABAIXO OXIGÊNIO PARA A CONSERVAÇÃO DE MAÇÃS 'ROYAL GALA'

AUTOR: Anderson Weber
ORIENTADOR: Prof. Dr. Auri Brackmann
Santa Maria, 12 de fevereiro de 2010

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação pós-colheita de etanol e aldeído acético e comparar com tecnologias de armazenamento comprovadamente eficientes sobre a manutenção da qualidade de maçãs 'Royal Gala'. Além disso, objetivou-se avaliar o efeito de condições de atmosfera controlada (AC) com pressões parciais ultrabaixas de oxigênio sobre a manutenção da qualidade de maçãs 'Royal Gala' após o armazenamento. Para atingir tais objetivos foram conduzidos três experimentos no decorrer dos anos de 2008 e 2009. No primeiro experimento, realizado em 2008, foram testados os seguintes tratamentos: [1] controle; [2] aplicação de 0,5mL de etanol $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$; [3] aplicação de 0,25mL de aldeído acético $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$; [4] aplicação de 625 $\eta\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP; e [5] absorção de etileno ($<0,02\mu\text{L L}^{-1}$). Todos os frutos dos tratamentos avaliados foram armazenados em AC na condição de 1,0kPa O_2 e 2,0kPa CO_2 . No segundo experimento, conduzido em 2009, os tratamentos avaliados foram constituídos da seguinte forma: [1] controle; [2] baixa umidade relativa do ar (BUR); [3] BUR com aplicação de etanol na dosagem de 0,3mL $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$; e [4] aplicação de etanol na dosagem de 0,3mL $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$. Todos os frutos dos tratamentos foram armazenados em AC com 1,2kPa O_2 + 2,5kPa CO_2 . Nos dois experimentos os frutos foram armazenados na temperatura de 0,5°C. No terceiro experimento, conduzido em 2008, foram avaliadas cinco condições de AC: [1] 1,0kPa O_2 e 2,0kPa CO_2 ; [2] 0,8kPa O_2 e 1,5kPa CO_2 ; [3] 0,8kPa O_2 e 1,0kPa CO_2 ; [4] 0,6kPa O_2 e 1,5kPa CO_2 ; e [5] 0,6kPa O_2 e 1,0kPa CO_2 , combinadas com temperaturas de 0,0°C, 0,5°C e 1,0°C, resultando em um experimento fatorial. A aplicação de 0,5mL de etanol $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$ ou 0,25mL de aldeído acético $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$, provocou aumento da incidência de polpa farinácea, degenerescência de polpa e podridões, assim como diminuição da firmeza de polpa, resultando em menor manutenção da qualidade comparada com a aplicação de 1-MCP e absorção de etileno. Entretanto, a dose de 0,3mL de etanol $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$, do segundo experimento, resultou na manutenção de maior firmeza de polpa, menor atividade da ACC oxidase e menor produção de etileno. A redução da umidade relativa do ar (BUR) não apresentou eficiência na manutenção da qualidade, porém, potencializou o efeito da aplicação de 0,3mL de etanol $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$. Maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC sob pressões parciais de O_2 abaixo de 0,8kPa apresentaram inferior qualidade após o armazenamento. A temperatura de 1,0°C, comparado a 0,0°C e 0,5°C, manteve a qualidade superior após oito meses de armazenamento e mais sete dias de exposição à temperatura de 20°C. A melhor condição de ULO para frutos armazenados na temperatura de 1,0°C é de 1,0kPa O_2 combinado com 2,0kPa de CO_2 . A interação entre ULO e temperatura de armazenamento evidenciou a necessidade de elevação das pressões parciais de O_2 quando a temperatura de armazenamento foi aumentada. Este comportamento foi verificado quando analisadas atividade da ACC oxidase e incidência de degenerescência de polpa.

Palavras-chave: etanol; aldeído acético; temperatura; etileno; respiração anaeróbica

ABSTRACT

Master's Dissertation
Graduate Program in Agronomy
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

FERMENTATIVE PRODUCTS APPLICATION AND ULTRA LOW OXYGEN FOR 'ROYAL GALA' APPLES CONSERVATION

AUTHOR: Anderson Weber
ADVISER: Prof. Dr. Auri Brackmann
Santa Maria, February 12th, 2010

The aim of this work was to evaluate the effect of post harvest ethanol or acetaldehyde application and to compare them with consolidated storage techniques on the quality maintenance of 'Royal Gala' apples. Also, we aimed to evaluate the effect of controlled atmosphere condition with ultra low oxygen partial pressures on the post storage quality maintenance of 'Royal Gala' apples. To reach such aims, three experiments were performed during 2008 and 2009. In the first experiment, carried out in 2008, the following treatments were evaluated: [1] control; [2] application of 0.5mL of ethanol month⁻¹ kg⁻¹; [3] application of 0.25mL acetaldehyde month⁻¹ kg⁻¹; [4] application of 625 η L L⁻¹ 1-MCP; and [5] ethylene scrubbing (<0.02 μ L L⁻¹). All fruits from the evaluated treatments were stored in CA with 1.0kPa O₂ and 2.0kPa CO₂. In the second experiment, carried out in 2009, the treatments were constituted in the following way: [1] control; [2] low relative air humidity (LRH); [3] LRH and application of 0.3mL of ethanol month⁻¹ kg⁻¹; and [4] application of 0.3mL of ethanol month⁻¹ kg⁻¹. All treatments were stored in CA with 1.2kPa O₂ associated with 2.5kPa CO₂. In the two experiments the fruits were stored at 0.5°C. In the third experiment, carried out in 2008, five CA conditions were evaluated: [1] 1.0kPa O₂ and 2.0kPa CO₂; [2] 0.8kPa O₂ and 1.5kPa CO₂; [3] 0.8kPa O₂ and 1.0kPa CO₂; [4] 0.6kPa O₂ and 1.5kPa CO₂; and [5] 0.6kPa O₂ and 1.0kPa CO₂. All conditions were stored in 0.0°C, 0.5°C and 1.0°C resulting in a factorial experiment. The application of 0.5mL ethanol month⁻¹ kg⁻¹ or 0.25mL acetaldehyde month⁻¹ kg⁻¹ cause increase in mealiness, flesh browning and rottenness incidence and decrease flesh firmness, resulting in decrease in the quality maintenance when compared with the application of 1-MCP and ethylene scrubbing. However, 0.3mL ethanol month⁻¹ kg⁻¹, performed on second experiment, resulted in higher flesh firmness retention, lower ACC oxidase activity and lower ethylene production. The lower relative air humidity is not efficient in maintain apple quality, however, it potentiated the effect of the application of 0.3mL ethanol month⁻¹ kg⁻¹. 'Royal Gala' apples stored in CA with O₂ partial pressures below to 0.8kPa show lesser quality after storage. Temperature of 1.0°C, compared with 0.0°C and 0.5°C, provided highest apple quality maintenance after eight months of storage and more seven days in shelf life at 20°C. The best ULO condition for fruits stored at 1.0°C is 1.0kPa O₂ with 2.0kPa CO₂. The interaction between ULO and storage temperature showed a necessity to increase O₂ partial pressures when the storage temperature was increased. This behavior were verified especially when ACC oxidase activity and flesh browning incidence were analyzed.

Key words: ethanol; acetaldehyde; temperature; ethylene; anaerobic respiration

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Rota de biossíntese do etileno e o ciclo de Yang.....	22
Figura 2 – Taxa de produção de etileno (A e C, para os experimentos de 2008 e 2009, respectivamente) e taxa respiratória (B e D para os experimentos de 2008 e 2009, respectivamente) em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses e expostas durante 6 dias a 20°C.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atividade da ACC oxidase, acidez titulável total (ATT), sólidos solúveis totais (SST) e firmeza de polpa em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas em atmosfera controlada por 8 meses e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008 e 2009.....	54
Tabela 2 - Incidência de podridões na abertura das câmaras e aos sete dias de exposição a 20°C, incidência de degenerescência de polpa e polpa farinácea em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas em atmosfera controlada por 8 meses e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008 e 2009.	56
Tabela 3 – Produção de etileno em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses em diferentes condições de atmosfera controlada e temperaturas e expostas por 6 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.	59
Tabela 4 – Atividade da enzima ACC oxidase em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses, em diferentes condições de atmosfera controlada e temperaturas, e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.	60
Tabela 5 – Taxa respiratória em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses em diferentes condições de atmosfera controlada e temperatura e expostas durante 6 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.....	61
Tabela 6 - Incidência de podridões e firmeza de polpa em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses, em diferentes condições de atmosfera controlada e temperatura, e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.	63
Tabela 7 – Incidência de polpa farinácea e de degenerescência de polpa em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses em diferentes condições de atmosfera controlada e temperatura e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.....	65
Tabela 8 – Acidez titulável total (ATT) e sólidos solúveis totais (SST) em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses em diferentes condições de atmosfera controlada e temperatura e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS

1-MCP	1-metilciclopropeno
AA	Aldeído acético
AC	Atmosfera controlada
ACC oxidase	Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidase
ACC sintase	Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico sintase
ACC	Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
ADH	Álcool desidrogenase
ADP	Adenosina difosfato
APX	Ascorbato peroxidase
ATP	Adenosina trifosfato
AVG	Amimoetoxivinilglicina
BE	Baixo etileno
BUR	Baixa umidade relativa do ar
C ₂ H ₄	Etileno
CO ₂	Dióxido de carbono
°C	Temperatura em graus Celsius
DHAR	Dehidroascorbato redutase
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ERO	Espécie reativa ao oxigênio
EtOH	Etanol
FADH ₂	Flavina-adenina dinucleotídeo
GR	Glutathione redutase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCN	Ácido cianídrico
ILO	<i>Inicial low oxygen</i> (baixo oxigênio inicial)
Kg	quilograma
KMB	Ácido α -ceto- γ -metiltiobutírico
kPa	Kilopascal
LDH	Lactato desidrogenase
LOL	<i>Lowest oxygen limit</i> (limite mínimo de oxigênio)
m ³	Metro cúbico

MACC	Ácido 1-(malonilamino)ciclopropano-1-carboxílico
Meq	Miliequivalente
Met	Metionina
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mmol	Milimol
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
MTA	5'-metiladenosina
MTR	5'-metiltioribose
MTR-1-P	5'-metiltioribose-1-fosfato
$\mu\text{L L}^{-1}$	Micro litro por litro
NAD^+	Nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
$\eta\text{L L}^{-1}$	Nanolitro por litro
O_2	Oxigênio
PDC	Piruvato descarbolixase
PDH	Piruvato desidrogenase
pH	Potencial hidrogeniônico
P_i	Fosfato inorgânico
SAM	S-adenosil-L-metionina
ULO	<i>Ultra low oxygen</i> (ultrabaixo oxigênio)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	15
1.1 Hipóteses	17
1.2 Objetivo geral.....	17
1.2.1 Objetivos específicos.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Produção brasileira e perdas pós-colheita de maçãs	18
2.2 Amadurecimento de frutos climatéricos	19
2.2.1 Fisiologia do etileno e o seu envolvimento na maturação de frutos de clima temperado	20
2.2.2 Via metabólica aeróbica em frutos armazenados	23
2.2.3 Via metabólica fermentativa ou anaeróbica: rota metabólica e funções	27
2.2.3.1 Rota metabólica	27
2.2.3.2 Funções da fermentação	29
2.3 Atmosfera controlada para armazenamento de maçãs	30
2.3.1 Armazenamento em Ultrabaixo Oxigênio (ULO).....	31
2.3.1.1 ULO: mecanismo de ação celular.....	33
2.3.2 Armazenamento com aplicação de produtos da fermentação	35
2.3.3 Envolvimento do aldeído acético e do etanol na maturação e qualidade de frutos....	36
2.3.3.1 Efeito sobre a biossíntese e ação do etileno.....	36
2.3.3.2 Efeito sobre a respiração celular.....	38
2.3.3.3 Efeito sobre o sistema antioxidante (espécies reativas de oxigênio).....	39
2.3.3.4 Efeito sobre atributos de qualidade.....	40
2.3.3.5 Efeitos adversos	41
2.4 Umidade relativa em sistemas de armazenagem.....	42
2.4.1 Umidade relativa e difusão de gases via apoplasto	43
3. MATERIAL E MÉTODOS	45
3.1 Colheita, transporte e preparo das amostras.....	45
3.2 Descrição dos experimentos.....	45
3.2.1 Experimentos de 2008.....	45
3.2.2 Experimento de 2009.....	46
3.3 Equipamentos e manutenção das condições de armazenamento	46

3.4	Avaliações	48
3.5	Análise estatística.....	50
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1	Parte I.....	51
4.1.1	Aplicação de produtos da fermentação em maçãs ‘Royal Gala’	51
4.1.2	Conclusões.....	57
4.2	Parte II.....	58
4.2.1	Ultrabaixo oxigênio e temperaturas para armazenagem de maçãs ‘Royal Gala’	58
4.2.2	Conclusões.....	66
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Rio Grande do Sul é o segundo maior produtor brasileiro de maçãs, sendo suplantado apenas por Santa Catarina. Entre as cultivares exploradas no Rio Grande do Sul destacam-se a ‘Gala’ e suas mutantes, perfazendo aproximadamente 60% do volume total de maçãs produzidas (AGRIANUAL, 2009). Devido ao seu excelente sabor, boa suculência e coloração vermelha da epiderme, a cultivar Gala possui ótima aceitação no mercado nacional e internacional. Entretanto, as mutantes ‘Royal Gala’, ‘Galaxy’, ‘Brookfield’, ‘Maxi Gala’ entre outras, tem ganho considerável espaço na produção nacional, sendo usadas na renovação dos pomares, substituindo as tradicionais ‘Gala’ e ‘Fuji’. A principal variação das cultivares mutantes é a coloração vermelho intenso que cobre quase toda a epiderme do fruto, o que lhe agrega maior valor de mercado e melhor aceitação pelos consumidores.

A maçã, por ser um fruto climatérico, apresenta a capacidade de amadurecer após a colheita. Para prolongar o período de armazenamento, estes processos precisam ser retardados por meio de mecanismos como refrigeração e manejo da atmosfera de armazenagem, com a utilização da técnica conhecida como atmosfera controlada (AC). O armazenamento de maçãs em AC é muito utilizado no sul do Brasil com o objetivo de manter a qualidade dos frutos por longos períodos, a fim de regular a oferta na entressafra. Entretanto, há a necessidade de manter os frutos com excelente qualidade para o consumo.

A qualidade desejada pelo mercado consumidor nem sempre é conseguida pelo armazenamento em AC convencional sem a utilização de técnicas adicionais, em especial quando o período de armazenagem é longo. Para tanto, uma série de técnicas têm sido desenvolvidas com o objetivo de prevenir as perdas de pós-armazenamento de maçãs, decorrentes, principalmente, da incidência de distúrbios fisiológicos, podridões e do processo de senescência dos frutos em função da respiração e produção de etileno (KADER, 2002).

Como técnicas auxiliares pode-se citar o rápido resfriamento, rápida instalação da atmosfera controlada (BRACKMANN et al., 2007a), controle da umidade relativa durante o armazenamento (BRACKMANN et al., 2007b) e manejo do etileno na câmara de armazenagem através de sua absorção ou da aplicação de produtos que inibem sua síntese ou sua ação, como a AVG (aminoetovinilglicina) e o 1-MCP (1-metilciclopropeno), respectivamente (BRACKMANN et al., 2008; BRACKMANN et al., 2009b).

A pesquisa sobre a utilização de pressões parciais ultrabaixas de oxigênio e aplicação de produtos da fermentação, como etanol e aldeído acético, na conservação de maçãs ‘Gala’ ou de suas mutantes ainda é muito incipiente no Brasil.

O armazenamento de frutos em pressões parciais ultrabaixas de oxigênio e altas de gás carbônico pode ter um expressivo efeito sobre a inibição da respiração celular, já que o oxigênio é o último aceptor na cadeia transportadora de elétrons. Dessa forma, a redução de oxigênio pode inibir a respiração aeróbica ao máximo e, em alguns casos, iniciar a respiração anaeróbica para suprimento de energia química na forma de ATP (adenosina trifosfato) (TAIZ; ZEIGER, 2009). A indução da via fermentativa resulta na produção de aldeído acético e etanol. Baixas pressões parciais de O₂ também inibem a síntese de etileno, pois o O₂ é necessário no último passo de sua produção, em que o ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) é oxidado em etileno.

A exposição dos frutos e hortaliças, como tomate e brócolis, aos produtos da fermentação (etanol ou aldeído acético), em doses não tóxicas, pode diminuir a taxa respiratória, a produção de etileno (ASODA et al., 2009), a degradação da clorofila (FUKASAWA et al., 2010) e a incidência de podridões e distúrbios fisiológicos (PESIS, 2005). Entretanto, se as concentrações desses produtos da fermentação estiverem acima das doses toleradas, poderão ocorrer distúrbios fisiológicos e podridões, acarretando perda de qualidade dos frutos.

Para permitir que o etanol e o aldeído acético possam difundir para o exterior do fruto e não causem dano em função do acúmulo excessivo, investiga-se também a diminuição da umidade relativa do ar da câmara de armazenamento. O rebaixamento da umidade relativa do ar provoca a perda de água dos frutos pelo processo de transpiração, diminuindo o conteúdo de água livre. Conseqüentemente, ocorre diminuição da quantidade de água nos espaços intercelulares do fruto, o que poderia facilitar a difusão dos produtos da fermentação, quando em excesso.

A investigação de técnicas com baixo custo e acessíveis a todos os produtores e/ou armazenadores de maçãs é extremamente importante, tendo em vista a crescente procura por qualidade e eficiência na produção, com redução de custos e perdas. Além disso, novas técnicas que usem menos produtos químicos no período de pós-colheita podem levar produtos mais saudáveis ao consumidor.

1.1 Hipóteses

Diante do exposto, as hipóteses deste trabalho foram: a) o etanol e o aldeído acético agem sobre a rota de síntese do etileno, no metabolismo respiratório e, conseqüentemente, sobre a manutenção da qualidade pós-armazenagem de maçãs, b) pressões parciais ultrabaixas de oxigênio na câmara de armazenamento induzem a síntese de etanol resultando na diminuição da síntese ou ação do etileno e o processo de respiração, mantendo a qualidade pós-colheita.

1.2 Objetivo geral

Manter a qualidade pós-colheita de maçãs ‘Royal Gala’ após o armazenamento sob diferentes condições por oito meses.

1.2.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram: a) avaliar o efeito da aplicação de etanol e aldeído acético na conservação de maçãs armazenadas em atmosfera controlada e comparar com técnicas de conservação já consolidadas; b) avaliar o efeito de concentrações ultrabaixas de oxigênio (inferiores a 1,0 kPa O₂) e sua interação com diferentes temperaturas na conservação de maçãs ‘Royal Gala’.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção brasileira e perdas pós-colheita de maçãs

A produção brasileira de maçã ocupa uma área de 38 mil hectares com produção anual superior a 1,1 milhões de toneladas e rendimento médio de 29 ton ha⁻¹ (IBGE, 2008; AGRIANUAL, 2009; REENTZ et al., 2009), sendo o país auto-suficiente para o consumo interno e, além disso, gerando um excedente que é exportado. O principal destino das exportações brasileiras corresponde ao mercado Europeu (aproximadamente 88%) e o restante para a Ásia (REENTZ et al., 2009). A safra brasileira coincide com a entressafra no hemisfério norte, de forma que a maçã é um produto bastante atraente para o mercado europeu e asiático, o que normalmente resulta em bons preços na exportação nestes períodos. O Brasil exportou na safra 2007/2008 112,2 mil toneladas, o que equivale a um montante de 12,5% da produção anual brasileira e gerou faturamento de US\$ 80,876 milhões (REENTZ et al., 2009). Entretanto, Dörr; Marques (2006), afirmam que o mercado europeu está cada vez mais rigoroso quanto à qualidade das maçãs, exigindo a rastreabilidade dentro da cadeia de produção e a certificação. Frutas produzidas em um manejo integrado, com mínima utilização de produtos químicos, geram grande incremento no preço e conquistam a preferência destes mercados.

Com a finalidade de atender o mercado nacional e internacional, o Brasil possui uma estrutura frigorífica instalada na região de produção, com capacidade de armazenamento de aproximadamente 650 mil toneladas de frutas, dos quais aproximadamente 70% em atmosfera controlada. Isso permite a oferta do produto ao longo do ano.

Durante o período de armazenamento ou logo após a saída dos frutos das câmaras, ocorrem grandes perdas em virtude de distúrbios fisiológicos, incidência de podridões, mudanças físicas e químicas dos frutos, danos mecânicos e transpiração excessiva (BRACKMANN, 1990; SAQUET, 1997). Essas perdas são decorrentes, principalmente, de condições inadequadas de armazenamento, especialmente relacionados à temperatura, composição da atmosfera, velocidade do ar do evaporador e umidade relativa (UR) da câmara (BRACKMANN et al., 2000a; KADER, 2002; BRACKMANN et al., 2003).

Frutos com comportamento climatérico exibem, além do pico respiratório, um pico acentuado na síntese de etileno no início da maturação. Como resultado, ocorrem mudanças na sensibilidade dos tecidos à ação desse fitohormônio, causando indução da maturação e amadurecimento. Com o avanço do amadurecimento e o conseqüente início da senescência podem ocorrer perdas de qualidade dos frutos. Para evitar a rápida perda de qualidade é necessário o armazenamento imediato em baixa temperatura e instalação de condições adequadas de AC e, em algumas situações, o uso de produtos químicos, como o 1-metilciclopropeno (BRACKMANN et al., 2004; BRACKMANN et al., 2007a), aminoetoxivinilglicina, permanganato de potássio (BRACKMANN et al., 2008), difenilamina ou etoxyquin (JOHNSON et al., 1980; DeELL et al., 2005), dentre outros. Entretanto, é crescente a procura por maçãs produzidas com uso de menor quantidade de produtos químicos, mas que também tenham qualidade e sejam visualmente atrativas ao consumidor (DÖRR; MARQUES, 2006).

Segundo Janisiewicz (1996), pequenas perdas durante a pós-colheita da maçã já representam grandes perdas econômicas, em função do alto custo acumulado de instalação de pomar, produção, colheita e seleção de frutos. As estimativas de perdas de frutos não são muito conclusivas, em virtude da grande dificuldade de se conseguir um valor real dessas perdas. De acordo com Martins; Farias (2002), as perdas de maçãs no Brasil podem chegar a 14%.

2.2 Amadurecimento de frutos climatéricos

O amadurecimento de frutos é um processo complexo, geneticamente controlado e irreversível, culminando com uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, estruturais e sensoriais. As principais modificações que ocorrem no amadurecimento de frutos são o amarelecimento da cor de fundo da epiderme, em função da degradação da clorofila, a redução da firmeza da polpa, do teor de sólidos solúveis, amido e acidez titulável e do aumento na taxa respiratória, na produção de etileno e na produção de componentes de sabor e aroma (BRADY, 1987; LELIÈVRE et al., 1997; KADER, 2002). Essas alterações, que são em parte necessárias para tornar o fruto atrativo ao consumidor, variam de intensidade de espécie para espécie.

De acordo com o padrão da atividade respiratória os frutos podem ser classificados em climatéricos ou não-climatéricos (BIALE, 1964). Nos climatéricos, como maçãs, pêssegos, caquis, peras, abacates, bananas, entre outros, ocorre um pico na taxa respiratória, normalmente após um drástico incremento na síntese de etileno (YANG; HOFFMAN, 1984; LELIÈVRE et al., 1997). Esse pico respiratório ocorre no início da maturação de consumo, e após, declina (GAMAGE; REHMAN, 1999). Os frutos não-climatéricos não têm capacidade de continuar o processo de maturação quando destacados da planta mãe. Estes frutos produzem baixas quantidades endógenas de etileno e sua aplicação exógena não resulta em aumento de sua produção autocatalítica. Além disso, estes frutos normalmente apresentam baixas taxas respiratórias durante o processo de amadurecimento (GAMAGE; REHMAN, 1999).

Nos frutos climatéricos o período em que ocorrem várias mudanças na fisiologia pode ser dividido em maturação fisiológica (em inglês: *maturation*), maturação de consumo ou amadurecimento (em inglês: *ripening*) e a fase de senescência do fruto. A diferença qualitativa, que distingue os frutos quanto à relação entre a maturação fisiológica e maturação de consumo, é que na maturação fisiológica a qualidade para o consumo ainda não é ideal, sendo o fruto comestível apenas após ter ocorrido o processo de maturação de consumo (amadurecimento) (KADER, 2002). Esses processos são governados principalmente pelo aumento respiratório e pelo aumento na taxa de produção de etileno (YANG; HOFFMAN, 1984).

2.2.1 Fisiologia do etileno e o seu envolvimento na maturação de frutos de clima temperado

O etileno é um hormônio vegetal gasoso, hidrocarboneto alceno (C_2H_4) mais simples da família das olefinas, que desempenha um papel importante na regulação do processo de amadurecimento e senescência de frutos climatéricos (LI et al., 2002), senescência de folhas e flores (SALTVEIT, 1999), além do processo de germinação de sementes e respostas a estresses. Sua síntese autocatalítica é fortemente estimulada por fatores exógenos, como infecções fúngicas e/ou bacterianas, injúrias mecânicas, estresses hídrico, térmico e salino, e também por outros fitohormônios (YANG; HOFFMAN, 1984).

Vários eventos fisiológicos são dependentes da ação do etileno em maçãs, como a taxa respiratória, a degradação da firmeza de polpa e o amarelecimento da epiderme (FAN et al., 1999; FAN; MATTHEIS, 1999; WATKINS et al., 2000), além da própria taxa de produção de etileno (YANG; HOFFMAN, 1984; STOW et al., 2000).

O etileno é biologicamente ativo em pequenas quantidades. Johnson et al. (1997) verificaram que em manga e banana, concentrações de etileno de 0,01 e 0,05 $\mu\text{L L}^{-1}$, respectivamente, sintetizado de forma autocatalítica, já são suficientes para desencadear a amadurecimento desses frutos. Em kiwi armazenado a 0°C, uma concentração igual ou maior a 0,1 $\mu\text{L L}^{-1}$ acelera o processo de amadurecimento (HARRIS, 1981). Em maçãs as concentrações de etileno abaixo de 1,0 $\mu\text{L L}^{-1}$ proporcionam frutos com menor incidência de degenerescência de polpa e polpa farinácea e maior firmeza de polpa e acidez titulável (DOVER, 1989; STOW; GENGE, 1990; Van SCHAIK, 1996; BRACKMANN et al., 2000b; BRACKMANN et al., 2003).

O etileno é produzido em todos os tipos de frutos, porém o padrão de produção é diferente nos frutos climatéricos e não-climatéricos. Nestes últimos não ocorre um pico de produção de etileno e sim uma produção basal. Com base na natureza e na quantidade de etileno produzido durante o crescimento e desenvolvimento das plantas, incluindo a maturação de seus frutos, foi proposto o conceito de produção de etileno por dois sistemas: o sistema-1 e o sistema-2 (McMURCHIE et al., 1972). O sistema-1, em que há pequena produção de etileno, contribui para a produção basal durante vários estágios de crescimento e desenvolvimento. A produção basal é inibida pela aplicação exógena de etileno, sendo, portanto, autoinibitória (OETIKER; YANG, 1995). Esse padrão de biossíntese de etileno ocorre em todos tecidos vegetais, inclusive em frutos não-climatéricos (ALEXANDER; GRIERSON, 2002). No sistema-2, por sua vez, ocorre um aumento drástico na síntese autocatalítica de etileno, que coincide com o amadurecimento de frutos climatéricos. Nesse sistema a aplicação exógena de etileno estimula a sua própria biossíntese (OETIKER; YANG, 1995).

A rota de biossíntese do etileno já foi bem elucidada em maçãs e outros frutos como abacate, banana e tomate (YANG; HOFFMAN, 1984; KENDE, 1993, ALEXANDER; GRIERSON, 2002). O início dessa rota metabólica, chamado de ciclo da metionina ou ciclo de Yang (YANG; HOFFMAN, 1984), dá-se com a rota de regeneração ou reciclagem do aminoácido metionina. Esse aminoácido é convertido em S-adenosil-L-metionina (SAM), que é regenerado no ciclo da metionina. A conversão da metionina em SAM requer a enzima

SAM sintetase, e, portanto, requer também energia na forma de ATP (YANG; HOFFMAN, 1984; KENDE, 1993) (Figura 1).

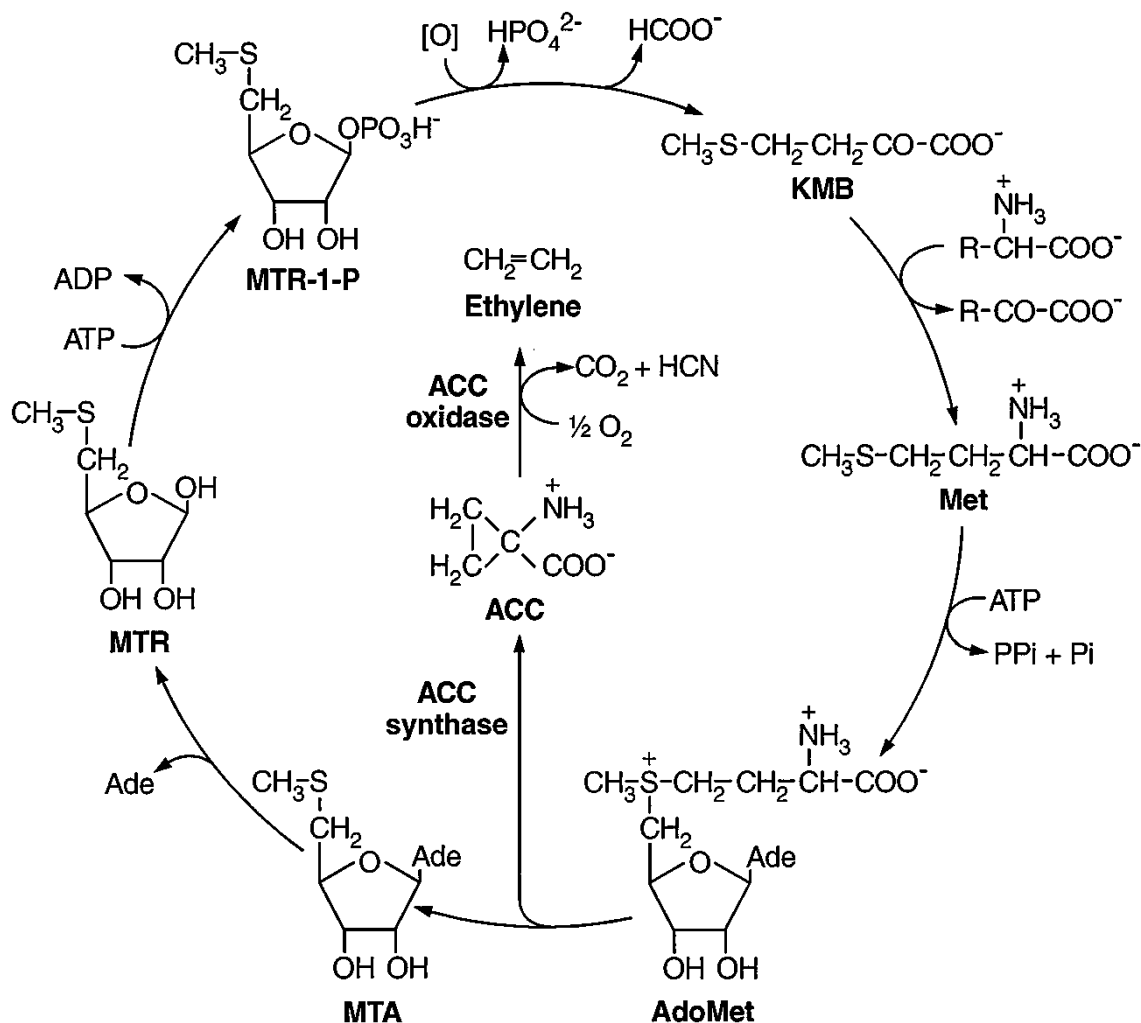


Figura 1 - Rota de biossíntese do etileno e o ciclo de Yang. AdoMet, S-adenosil-L-metionina; ACC, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico; MTA, 5'-metiltioadenosina; MTR, 5'-metiltioribose; MTR-1-P, 5'-metiltioribose-1-P; KMB, ácido α-ceto-γ-metiltiobutírico; Met, metionina. Bleecker; Kende (2000).

A conversão do SAM em ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) é catalizada pela enzima ACC sintase. Na etapa de conversão da SAM em ACC também há a formação da 5'-metiltioadenosina (MTA), que é novamente convertida em metionina por meio de uma via de síntese de metionina modificada (MIYAZAKI; YANG, 1987;

BÜRSTENBINDER et al., 2007). O ACC é oxidado a etileno, CO₂ e HCN pela ação da enzima ACC oxidase, que requer O₂ e pequena quantidade de CO₂. Alternativamente, o ACC pode ser metabolizado a ácido 1-(malonilamino)ciclopropano-1-carboxílico (MACC), pela ação da enzima N-malonil transferase (NMT) (YANG; HOFFMAN, 1984). O processo de malonização do ACC pode estar envolvido com a autoinibição da biossíntese do etileno, além de contribuir para a regulação dos níveis de ACC e da taxa de síntese do etileno (LIU et al., 1985).

A atividade da ACC oxidase é dependente da concentração de CO₂ (MATHOOKO, 1996a). Para a ACC oxidase estar ativa há a necessidade da presença de CO₂, porém concentrações muito baixas ou muito altas podem inibir a atividade dessa enzima (YANG; HOFFMAN, 1986). Dong et al. (1992) observaram em seu estudo que a atividade da enzima em maçãs ‘Golden Delicious’ aumentou com o aumento da concentração de CO₂ até 4%, sendo 10 vezes maior que a atividade da enzima na concentração de 0,03% de CO₂ do ar ambiente. O aumento da concentração de CO₂ reduz o pH do citosol, que aumenta a atividade da ACC oxidase, aumentando significativamente a biossíntese de etileno (MIZUTANI et al. 1995). Estes autores afirmam que o pH em que ocorre o pico da atividade da ACC oxidase varia conforme a concentração de CO₂.

2.2.2 Via metabólica aeróbica em frutos armazenados

A literatura menciona que a intensidade respiratória e a duração do armazenamento atuam em sentido proporcional contrário, ou seja, quanto mais elevada for a respiração de um determinado fruto, menor será o seu tempo de conservação (LAU, 1985; PATTERSON, 1989). Entretanto, essa simples relação nem sempre é observada durante o armazenamento de maçãs (SAQUET; STREIF, 2000). Desta forma torna-se necessário o entendimento do processo de respiração celular.

A respiração é um processo metabólico que tem por objetivo fornecer energia química para as células efetuarem processos bioquímicos. Além do fornecimento de energia química, a respiração também é a fonte de produção de vários compostos intermediários, como pigmentos, aminoácidos, ácido ascórbico, compostos fenólicos, compostos voláteis, entre outros, importantes em outras rotas metabólicas (PLAXTON, 1996; VALPUESTA; BOTELLA, 2004).

Em nível celular existem duas formas básicas de produção de energia: a respiração aeróbica e a anaeróbica. A primeira é um processo biológico pelo qual compostos orgânicos reduzidos, normalmente provenientes das reservas da célula, são mobilizados e subsequentemente oxidados de maneira controlada em estruturas moleculares mais simples, incluindo o CO₂ e água. Durante a respiração, a energia livre é liberada e transitoriamente armazenada na forma de ATP, a qual pode ser prontamente utilizada para a produção de novos compostos indispensáveis para o bom funcionamento celular (TAIZ; ZEIGER, 2009). Em frutos, na fase de pós-colheita, o principal destino da energia química produzida na respiração é a manutenção da organização celular, preservação da permeabilidade seletiva das membranas, produção de enzimas indispensáveis em várias rotas metabólicas e para processos de síntese e manutenção do metabolismo celular (SAQUET et al., 2000).

Os substratos orgânicos quebrados no processo da respiração incluem principalmente a glicose. No entanto, vários outros substratos podem ser oxidados e fornecer seu potencial redutor. O carbono reduzido pode ser proveniente de dissacarídeo sacarose, triose-fosfato da fotossíntese, polímeros contendo frutose e outros açúcares, assim como de lipídios, ácidos orgânicos e, algumas vezes, de proteínas (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A respiração aeróbica compreende basicamente três fases: a glicólise, o ciclo dos ácidos tricarboxílicos e a cadeia transportadora de elétrons (LEHNINGER et al., 2006).

A glicólise envolve uma série de reações, catalisadas por enzimas solúveis, localizadas tanto no citosol quanto nos plastídios. A quebra da glicose, composto de seis carbonos, resulta na consequente formação de duas moléculas do composto piruvato, que contém três átomos de carbono (TAIZ; ZEIGER, 2009). A glicólise possui duas fases distintas, em que a primeira é chamada de fase preparatória, onde ocorre gasto de 2 ATP, aumentando o conteúdo de energia livre dos compostos intermediários. Na segunda fase, chamada de pagamento da glicólise, cada molécula de gliceradeído-3-fosfato, produzido na primeira fase, sofre oxidação em vários passos, resultando na formação do piruvato, que é o composto final da glicólise. Nessa segunda fase ocorre a produção de 4 ATP e 2 NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido), o que resulta em um ganho líquido energético de 2 ATPs e 2 NADH. Entretanto a maior parte da energia ainda permanece nas moléculas do piruvato (LEHNINGER et al., 2006).

Em plantas o piruvato formado na glicólise segue, principalmente, por três rotas catabólicas alternativas. Em condições anaeróbicas, o piruvato tem como destino a produção de ácido láctico ou o aldeído acético, contudo essas rotas serão discutidas no próximo tópico. Em condições aeróbicas, o piruvato é oxidado, com perda do seu grupo carboxila na forma de

CO₂, para liberar o grupo acetila da acetil-coenzima A, a qual é então totalmente oxidada a CO₂ pelo ciclo dos ácidos tricarboxílicos. Nessa fase é gerada a maior parte do poder redutor da oxidação da glicose, onde são produzidos 10 NADH e mais 2 FADH₂ por glicose (TAIZ; ZEIGER, 2009) que resultam em 38 ATP (LEHNINGER et al., 2006). Essa fase ocorre na matriz aquosa das mitocôndrias.

Na última fase da respiração aeróbica, chamada de cadeia transportadora de elétrons e fosforilação oxidativa, os compostos reduzidos e altamente energéticos (NADH e FADH₂) são oxidados por complexos protéicos ligados à membrana interna da mitocôndria. A oxidação libera os elétrons dos compostos energéticos que são transferidos ao longo de uma cadeia de transporte de elétrons até o O₂, que é o acceptor final desses elétrons, formando água. Essa transferência de elétrons desprende uma grande quantidade de energia livre, da qual boa parte é conservada por meio da síntese de ATP a partir de ADP e P_i, pelo complexo enzimático ATP sintase (TAIZ; ZEIGER, 2009). Certa quantidade de energia é liberada ao ambiente externo na forma de calor (SIEDOW; UMBACH, 1995). Assim, aproximadamente 52% da energia livre padrão disponível para a completa oxidação da sacarose, é armazenada na forma de ATP, sendo que no metabolismo fermentativo o rendimento é de aproximadamente 4% (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Vários fatores influenciam na taxa respiratória de frutos durante a pós-colheita, como a concentração de O₂, CO₂ e etileno na atmosfera, a temperatura de exposição (KADER, 2002) e a proporção de perda de massa fresca (BRACKMANN et al., 2007b), além de fatores intrínsecos ao produto, como a cultivar (BRACKMANN et al., 2008; BRACKMANN et al., 2009b), o tamanho do fruto e o índice de maturação (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A respiração é, em geral, um bom indicador do metabolismo de frutos durante a fase pós-colheita. O controle da respiração pode ser um meio eficaz de regulação do metabolismo geral e, dessa forma, de aumento da vida útil de pós-colheita destes produtos (MATHOOKO, 1996b). O efeito de elevadas concentrações de CO₂ e baixas de O₂ sobre a respiração de frutos tem um interesse particular no contexto do armazenamento em AC, em que o principal efeito do aumento dos níveis de CO₂ é a diminuição da respiração celular (SMOCK, 1979). O seu efeito em maçãs foi descoberto por Kidd; West (1927).

Estudos do efeito de elevadas concentrações de CO₂ em frutos e hortaliças têm demonstrado que este composto inibe várias enzimas do ciclo do ácidos tricarboxílicos, particularmente a succinato desidrogenase, levando ao acúmulo de succinato e paralisação do ciclo dos ácidos tricaboxílicos (FRENKEL; PATTERSON, 1973; KE et al., 1993; KNEE, 1973; MONNING , 1983; ROMO-PARADA et al. 1989; SHIPWAY; BRAMLAGE, 1973).

Além disso, o CO₂ inibe a atividade da isocitrato desidrogenase (IDH), enzima que catalisa a conversão de isocitrato à 2-oxoglutarato (LIU et al., 2004). A atividade de enzimas da glicólise como a ATP-fosfofrutoquinase (TURNER; TURNER, 1980) e a PPI-fosfofrutoquinase (SMYTH et al., 1984) é inibida induzindo ao acúmulo de frutose 6-fosfato (F6-P) e conseqüente redução das concentrações de frutose 1,6-bifosfato (F1,6-P2) (KERBEL et al., 1988).

Estas observações sugerem que o CO₂ pode atuar como um fator de controle na operação da glicólise, do ciclo dos ácidos tricarboxílicos e na inibição da atividade mitocondrial. Além disso, o CO₂ desvia o piruvato para a formação de aldeído acético e etanol por meio da indução da enzima piruvato descarboxilase (PDC) (SHIPWAY; BRAMLAGE, 1973). Altas concentrações de CO₂ conduzem a uma diminuição no pH, o que leva, em alguns casos, à menor atividade de enzimas (KE et al., 1993).

De acordo com Kader (1986), a redução na atividade respiratória pelo baixo O₂ decorre do decréscimo na ação de várias enzimas com atividade oxidase, como a citocromo *c* oxidase, polifenoloxidase e ácido ascórbico oxidase. Além disso, o O₂ é o composto acceptor final na cadeia transportadora de elétrons e, desta forma, baixas concentrações de O₂ podem frear essa etapa da respiração.

A interação entre temperatura e pressão parcial de O₂ tem significativo efeito sobre a atividade respiratória. De acordo com Yearsley et al. (1997), a solubilidade do O₂ diminui com o aumento da temperatura. Conseqüentemente, se a solubilidade limita a disponibilidade de O₂ para a oxidase terminal, é esperado que a pressão parcial de O₂ também seja aumentada em função do aumento da temperatura de armazenamento. Wrigth et al. (2010) avaliou o limite mínimo de oxigênio (LOL) em função da mudança de temperatura em que inicia a emissão de fluorescência da clorofila em maçãs 'Honeycrisp'. Quando o armazenamento de maçãs ocorre em pressões parciais de O₂ muito baixas, as clorofilas emitem um sinal de fluorescência, podendo ser detectado o nível de estresse que o fruto está sofrendo. Em maçãs armazenadas na temperatura de 0,0°C o LOL foi de 0,08kPa, ao passo que, com o aumento da temperatura de armazenamento para 3,5°C, o limite mínimo de oxigênio foi de 0,22kPa.

A temperatura de armazenamento é a forma isoladamente mais eficaz para a manutenção da qualidade de frutos armazenados, pois a velocidade dos processos metabólicos é em grande parte governada pela temperatura de armazenagem dos frutos, reduzindo a respiração celular, entre outros processos (HONG; KIM, 2001, STEFFENS et al., 2006).

2.2.3 Via metabólica fermentativa ou anaeróbica: rota metabólica e funções

2.2.3.1 Rota metabólica

A rota metabólica da fermentação ocorre principalmente quando o suprimento de O_2 à oxidase terminal da respiração aeróbica é limitado, entretanto, essa rota também ocorre em condições normóxicas (ZABALZA et al., 2009). Essa rota é composta das seguintes etapas sucessivas: a fermentação inicia com a glicólise, que converte a glicose em piruvato e este, por sua vez, é convertido a lactato ou etanol e CO_2 . Quando as pressões parciais de O_2 são insuficientes para a respiração aeróbica, o piruvato é inicialmente fermentado a lactato, pela ação da enzima lactato desidrogenase (LDH) (ROBERTS et al., 1992). A diminuição das concentrações de O_2 no interior da célula também conduz à saída de prótons dos vacúolos e inibe a volta desses através do transporte ativo realizado pelas ATPases, localizadas no tonoplasto. Isso ocorre em função da quantidade de ATP produzida pela fermentação ser insuficiente para o transporte ativo dos prótons de volta aos vacúolos (TAIZ; ZEIGER, 2009). O aumento da concentração de lactato e de prótons H^+ no citosol, resultam em redução do pH citoplasmático. Em condições de pH ácido do citosol, as enzimas piruvato desidrogenase (PDH) e LDH são desativadas e a piruvato descarboxilase (PDC) é ativada (KE et al. 1995). Dessa forma, ocorre mudança da produção de lactato para a produção de aldeído acético. Além disso, o acúmulo de piruvato e acetil CoA ativam a rota de biossíntese fermentativa (MATHEWS; Van HOLDE, 1996).

A reação de descarboxilação do piruvato pode ser dividida em dois passos: o primeiro é uma reação irreversível catalisada pela PDC, enzima que requer Mg^{+2} e tem uma coenzima firmemente ligada à tiamina pirofosfato. Essa etapa produz aldeído acético. No segundo passo, ocorre a redução do aldeído acético a etanol por meio da ação da enzima álcool desidrogenase (ADH), utilizando NADH derivado da atividade da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase. Essa enzima atua na glicólise e fornece o poder redutor para a reação (ZABALZA et al., 2009). Os produtos finais dessa via são o etanol, CO_2 e 2 ATPs, estes últimos produzidos na glicólise (LEHNINGER et al., 2006).

Loulakakis et al. (2006) observaram que abacates na fase inicial da maturação, sob 10 e 21kPa de O_2 por 48 horas, apresentaram a expressão constitutiva de uma isoenzima de ADH. Entretanto, quando os frutos foram armazenados em 0 a 5kPa de O_2 ocorreu a

expressão de mais duas outras isoenzimas, regulada pela deficiência de O₂ na câmara de armazenagem. Apesar da produção do etanol ocorrer como resultado de condições de hipóxia, envolvendo a estimulação da atividade da PDC e ADH, ela também pode ocorrer em condições normais de oxigênio (normóxicas), em que somente a atividade da ADH é influenciada (CHEN; CHASE, 1993; OR et al., 2000).

Imahori et al. (2003) estudaram a produção de etanol em resposta ao estresse de baixo oxigênio em tomates e concluíram que ela é limitada pela taxa de atividade da PDC, que, por sua vez, provavelmente é limitada pela disponibilidade de piruvato. Pode-se supor que a PDC esteja presente em níveis basais ao longo do desenvolvimento da planta e só seja induzida como um caminho necessário para a síntese de ATP em momentos em que o oxigênio torna-se limitante. A ADH, por sua vez, seria induzida durante o amadurecimento normal de frutos como um caminho necessário para eliminar o aldeído acético (produzido por níveis basais de atividade da PDC e altas concentrações de piruvato) e combater as alterações no pH citosólico devido à liberação de ácido do vacúolo.

A velocidade do consumo total de glicose é maior em condições de anaerobiose em relação às condições normóxicas. Isto ocorre porque a glicólise é controlada de forma a manter níveis constantes de ATP. Como a produção de ATP é muito menor pela fermentação, grandes quantidades de glicose devem ser consumidas anaerobicamente para fornecer a mesma quantidade de ATP produzida em condições aeróbicas.

Em um estudo com peras ‘Conference’ observou-se que a produção de ATP foi reduzida em aproximadamente 15 vezes quando a concentração de O₂ na câmara de armazenagem foi reduzida de 20,8kPa para 0,5kPa (VELTMAN et al., 2003). Portanto, em condições de anaerobiose a disponibilidade de glicose também deve ser alta para que a glicólise possa ocorrer. Em experimentos com coleóptilos de arroz em condições de anóxia (concentração de O₂ igual a zero) observou-se que a sobrevivência é dependente da aplicação exógena de glicose (VARTAPETIAN et al., 1974; VARTAPETIAN et al., 1976, WEBB; ARMSTRONG, 1983). Vartapetian et al. (1974) verificaram que, quando plântulas de arroz, cultivadas em ambiente aeróbico, foram transferidas a um ambiente anaeróbico não houve danos à membrana mitocondrial até que a plântula perdesse a sua fonte de açúcares, a semente. Dessa forma, a tolerância à condição de anaerobiose por frutos armazenados também depende da concentração e disponibilidade de açúcares para serem quebrados na glicólise.

2.2.3.2 Funções da fermentação

O armazenamento em condições de O_2 abaixo do nível de tolerância pode induzir a via fermentativa para suprir a produção de energia na forma de ATP. A via fermentativa ocorre de maneira predominante quando os frutos são expostos a condições de anaerobiose ou de hipóxia. Nesse caso, a rota glicolítica de produção de energia é a principal fonte de suprimento de ATP para os tecidos. Esse processo permite a produção de ATP em nível de substrato, possibilitando o suprimento de energia por um curto período de tempo (KE et al., 1995).

A maior função da via fermentativa é produzir energia em pequena quantidade, além da utilização do piruvato e do NADH oriundos da glicólise. Isso ocorre quando a cadeia de transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa estiverem inibidas (ZABALZA et al., 2009).

A produção de etanol, catalisada pela PDC e ADH, pode ocorrer durante a maturação dos frutos mesmo sob condições normóxicas, em especial se as condições no interior das células tornarem-se demasiadamente ácidas. Tal situação pode ocorrer quando a glicólise excede a fosforilação oxidativa seguindo ao acúmulo de piruvato (ZABALZA et al., 2009), ou ainda quando a atividade respiratória é limitada devido ao estado de energia altamente redutora, ou alta relação $NADH/NAD^+$ (PONCE-VALADEZ; WATKINS, 2008).

Manriquez et al. (2006) observaram aumento da expressão de dois genes ADH em manga em resposta ao etileno e a diminuição da expressão após a aplicação de um inibidor de etileno (1-metilciclopropeno) em condições ambientais. Esse experimento mostrou que a expressão destes genes também ocorre durante amadurecimento dos frutos em condições normóxicas.

É muito importante que o NADH produzido durante a glicólise seja consumido em algum processo metabólico. A molécula de NADH é um composto reduzido, e, portanto, altamente energético, e que poderia doar esse potencial redutor ao oxigênio, formando espécies reativas de oxigênio (EROs) (FOREMAN, et al., 2003). Esse processo é catalisado pela enzima NAD(P)H oxidase, que usa NADH ou NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido) como substrato (APEL; HIRT, 2004). O resultado desse evento químico é a produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (APEL; HIRT, 2004) e radical hidroxila (OH^{\cdot}) (CHEN; SCHOPFER, 1999). Segundo Hodges et al. (2004), a presença de EROs está diretamente relacionada com a senescência de frutas e hortaliças, e desta forma, com perdas na pós-colheita. Em tomates o aumento da concentração

H₂O₂ resulta em oxidação de lipídeos e proteínas, o que culmina com o amadurecimento e senescência dos frutos (JIMÉNEZ et al. 2002).

A oxidação do NADH reduzido também é importante para que a glicólise possa prosseguir e produzir a quantidade de energia necessária para o metabolismo celular básico. Se o suprimento celular de NAD⁺ estiver limitado, a glicólise não poderá continuar a operar, já que, nessas condições, a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase é inibida (TAIZ; ZEIGER, 2009).

2.3 Atmosfera controlada para armazenamento de maçãs

No Brasil, a atmosfera controlada (AC) se difundiu rapidamente e intensamente nos últimos anos em empresas armazenadoras de maçãs. Esta técnica, que visa o controle das concentrações de oxigênio, dióxido de carbono e, em alguns casos, etileno, já é amplamente estudada para diferentes espécies e cultivares. Porém, cada espécie e/ou cultivar possui uma condição específica em que a qualidade dos frutos é mantida a um nível desejado (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Nesse sistema de armazenamento são induzidas baixas pressões parciais de O₂ e altas pressões de CO₂, em condições consideradas ideais, objetivando a redução da taxa respiratória e da produção de etileno, além da manutenção das características físicas e químicas dos frutos (KE et al., 1991).

O estudo das condições ideais para o armazenamento de cultivares mutantes da maçã ‘Gala’ ainda está em processo de desenvolvimento, sendo que poucos experimentos foram conduzidos até o momento. Isso faz com que as empresas armazenadoras usem as condições de atmosfera controlada adequadas para a ‘Gala’ para o armazenamento das cultivares mutantes. Recentemente, Brackmann et al. (2008) avaliaram diversas condições de AC para as cultivares Royal Gala e Galaxy, definindo que as condições adequadas para o armazenamento dessas cultivares foram 1,0kPa O₂ + 2,5kPa CO₂ e 0,8 a 1,0kPa O₂ e 2,5kPa CO₂, respectivamente. No entanto, a maçã ‘Galaxy’ apresentou menor incidência de podridões, polpa farinácea e degenerescência de polpa, além de maior firmeza de polpa e acidez titulável em relação à ‘Royal Gala’. Consequentemente, os autores concluíram que a ‘Galaxy’ pode ser armazenada por um período maior, já que apresentou potencial de armazenamento superior à ‘Royal Gala’.

Brackmann et al. (2009a) avaliaram as cultivares Royal Gala, Galaxy e Brookfield. A condição de atmosfera controlada de 1,0 a 1,2 kPa O₂ e 2,5 CO₂, com baixa umidade relativa, foi a que manteve a melhor qualidade dessas maçãs. Nesse mesmo trabalho os autores observaram que maçãs ‘Brookfield’ apresentam o melhor potencial de armazenamento, enquanto a ‘Galaxy’ apresentou comportamento intermediário e a ‘Royal Gala’ o menor potencial de armazenamento. Para a cultivar Gala o uso da AC, associado à eliminação do etileno das câmaras durante o armazenamento, permite a manutenção da qualidade dos frutos por um período ainda maior, chegando até nove meses (BRACKMANN et al., 2000a; BRACKMANN et al., 2003; BRACKMANN et al., 2008).

Apesar do efeito positivo da AC sobre a conservação de maçãs por um período relativamente extenso, o controle de gases na atmosfera de armazenamento deve ser muito preciso. A redução excessiva de O₂ ou o excessivo acúmulo de CO₂ por determinados períodos durante o armazenamento pode prejudicar a qualidade das maçãs (CERETTA, 2003), devido, em grande parte, à mudança da respiração aeróbica normal para a respiração anaeróbica. Essa mudança no metabolismo pode causar acúmulo de substâncias voláteis e distúrbios fisiológicos, como a degenerescência de polpa (PEDRESCHI et al., 2009).

2.3.1 Armazenamento em Ultrabaixo Oxigênio (ULO)

O uso de técnicas auxiliares no armazenamento em AC pode aumentar consideravelmente o período de armazenagem e a vida de prateleira da maçã (CORRENT et al., 2004; STEFFENS et al. 2005; BRACKMANN et al., 2007a). O armazenamento em condições ultrabaixas de oxigênio (ULO, do inglês *Ultra Low Oxygen*) é uma dessas técnicas, que emerge como alternativa para minimizar perdas durante o período de pós-colheita. Para a manutenção da qualidade pós-colheita dos frutos em ULO, as concentrações de oxigênio devem ser mantidas logo acima do ponto de compensação anaeróbico, em que há o início da respiração anaeróbica. Isso possibilita a menor perda de ácidos ou açúcares no processo de respiração, porém sem ocorrer perdas por incidência de distúrbios fisiológicos (GRAN; BEAUDRY, 1993; YEARSLEY et al., 1996). Contudo, essa técnica deve ser muito bem estudada antes do seu uso em nível comercial, pois a tolerância ao ULO e ao alto CO₂ varia com a cultivar, a temperatura de armazenamento e a duração do armazenamento (GRAN; BEAUDRY, 1993; CERETTA, 2003).

O limite mínimo de oxigênio (LOL – do inglês: *Lowest Oxygen Limit*) em frutos e hortaliças pode ser determinado pela redução gradual dos níveis de O₂, com monitoramento simultâneo da emissão de fluorescência das clorofilas, que respondem ao estresse provocado pela baixa pressão parcial de O₂. À medida que os níveis de O₂ declinam, a emissão de fluorescência permanece relativamente estável até que o LOL seja atingido, sendo que após a emissão de fluorescência aumenta expressivamente.

O LOL pode variar em função dos diferentes frutos e produtos hortícolas (PRANGE et al., 2003), dentro de uma mesma espécie (DeLONG et al., 2004), como resultado da região ou ano de produção (DeLONG et al., 2004; ZANELLA et al., 2005) ou com uso de diferentes temperaturas de armazenamento (WRIGHT, et al., 2010). Os limites mínimos de pressões parciais de O₂ para as cultivares ‘Delicious’, ‘Law Rome’ e ‘McIntosh’ são, respectivamente, 0,7kPa, 0,9kPa e 1,9kPa (GRAN; BEAUDRY, 1993). Brackmann et al. (2000a) verificaram que para a cv. Gala a melhor condição de armazenamento foi de 0,75 a 1,0kPa de O₂ combinado com 3,0kPa de CO₂, na temperatura de 1°C. Segundo Ceretta (2003), a redução das pressões parciais de O₂ para níveis inferiores a 0,8kPa durante oito meses ininterruptos ou por períodos menores, não é indicada para o armazenamento de maçãs ‘Gala’, por provocar rachadura da epiderme, degenerescência interna e podridões nos frutos. Esse autor aponta que a pressão parcial de 0,8kPa pode ser usada somente durante seis meses de conservação.

Um estudo mostrou que, durante o armazenamento em AC, a perda de firmeza de polpa e a diminuição da acidez titulável em maçãs ‘Golden Delicious’ foi mais pronunciada sob condição de O₂ de 3,0kPa, mantendo-se mais elevada sob armazenamento em ULO a 1,0kPa (LOPEZ et al., 2000). No entanto, estes autores afirmam que o armazenamento em ULO por longos períodos diminui a produção de aroma. Em maçãs ‘Pink Lady®’, expostas por um curto período (24 horas) em condições anaeróbicas, já é possível constatar danos por baixo O₂, com concomitante perda de aroma e flavor (BOAMFA et al., 2004). Além disso, o armazenamento em ULO reduz o desenvolvimento de escaldadura em maçãs ‘Granny Smith’ (LITTLE et al. 1985; LITTLE; PEGGIE, 1987). No entanto, a eficiência da técnica na redução da escaldadura depende das variações sazonais (LAU, 1990) e do estágio de maturação (TRUTER et al., 1994).

Maçãs ‘Granny Smith’, armazenadas sob pressões parciais de O₂ de 0,7kPa por seis meses, mantiveram cor de fundo da epiderme muito semelhante à cor de fundo no momento da colheita (ZANELLA, 2003). Este autor também verificou menor incidência de degenerescência de miolo, maior retenção da firmeza de polpa, além de total ausência de escaldadura nas maçãs quando armazenadas em ULO ou quando armazenadas sob um

estresse inicial com baixo oxigênio (ILO), duas semanas sob 0,4kPa de O₂, seguido de armazenamento em AC com 1,0kPa de O₂.

Por outro lado, alguns trabalhos mostram que baixas concentrações de O₂ podem provocar danos aos frutos. Apesar do rebaixamento das concentrações de O₂ até 2,0kPa resultar em manutenção da firmeza de polpa, se as concentrações de O₂ forem rebaixadas além de 1,0kPa não se verifica efeito benéfico sobre a conservação de maçãs ‘Cox’s Orange Pippin’ e ainda, em alguns casos, ocorre acúmulo de etanol, principalmente com o uso de pressões parciais de 0,5kPa de O₂ (STOW, 1989).

Em peras armazenadas sob pressão parciais de O₂ muito baixas e CO₂ muito altas ocorre hipóxia no centro do fruto em função da resistência do tecido do córtex à difusão destes gases (LAMMERTYN et al., 2003; HO et al., 2006b). Estes resultados levam a um estresse oxidativo e à mudança no metabolismo respiratório celular, iniciando a rota de fermentação. A consequência dessa mudança no metabolismo é a deficiência no suprimento de energia para processos bioquímicos e para reparo de danos à membrana, causados por espécies reativas de oxigênio (LARRIGAUDIÈRE et al., 2001a; VELTMAN et al., 2003). Quando ocorrem danos à membrana celular, a célula perde a normal compartimentalização, extravasando o conteúdo celular e permitindo a oxidação de compostos fenólicos, o que gera o escurecimento da polpa dos frutos (FRANCK et al., 2007; PEDRESCHI et al., 2009).

2.3.1.1 ULO: mecanismo de ação celular

Em plantas, a resposta às condições de hipóxia e/ou anóxia envolve um mecanismo adaptativo que permite a sobrevivência das células a baixas pressões de oxigênio por longos períodos (GEIGENBERGER, 2003). Nesse contexto, o estresse por baixo oxigênio nos tecidos induz mudanças fisiológicas, bioquímicas e moleculares, que fazem parte dos mecanismos de adaptação a pressões parciais extremas de O₂ (DREW, 1997). Em termos de alterações moleculares, uma atmosfera com baixo oxigênio implica numa significativa reprogramação da expressão gênica, que consiste na indução de transcrição (KLOK et al., 2002) e tradução seletiva de mRNAs (ácido ribonucléico mensageiro) para proteínas importantes em ambiente anaeróbico (FUKAO; BAILEY-SERRES, 2004).

Além da diminuição da taxa respiratória (GUPTA et al., 2009), discutida anteriormente, a baixa concentração de O₂ na câmara de armazenagem inibe a síntese de

etileno. A conversão de ACC (Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) em etileno requer, além da enzima formadora do etileno (ACC oxidase), a presença de O₂ (YANG; HOFFMAN, 1984). Na ausência de O₂, o ACC é acumulado na forma de N-Malonil ACC (TAIZ; ZEIGER, 2009). Dessa forma, o armazenamento em ULO pode diminuir a perda de qualidade de maçãs durante a pós-colheita, pois o etileno tem ação sobre várias rotas que induzem o amadurecimento de frutos climatéricos.

A diminuição da concentração de O₂ de 21,0 para 0,0kPa resulta em inibição da biossíntese de aminoácidos (GEIGENBERGER et al., 2000), proteínas e lipídeos (GEIGENBERGER et al., 2003). A análise das populações de mRNA em abacate na fase pré-climatérica ou no início do amadurecimento revelou frutos de ambos estádios de desenvolvimento responderam similarmente a baixos níveis de oxigênio, induzindo novas espécies de mRNA (LOULAKAKIS et al., 2006). Estes mRNAs possivelmente estão envolvidos no mecanismo adaptativo a condições de baixo oxigênio, por meio da supressão da síntese *de novo* de proteínas, especialmente evidente em frutos com maturação climatérica já iniciada, e a expressão continuada de mRNAs pré-existentes. Todo esse mecanismo indica que a resposta do oxigênio é complexa e envolve mais do que uma simples adaptação no metabolismo energético (SAAB, SACHS, 1996; TREVASKIS et al., 1997; DOLFERUS et al., 2003; SUBBAIAH et al., 2003). A hipóxia suprime a síntese da maioria das proteínas normóxicas, aumentando a síntese de uma série de proteínas envolvidas na respiração anaeróbica, incluindo ADH, gliceraldeído-3-P desidrogenase, piruvato descarboxilase, enolase, entre outras (CHANG et al., 2000). Por exemplo, uma análise do perfil do DNA em cultura de raízes de *Arabidopsis thaliana* revelou a expressão diferencial de 210 genes em baixo O₂ (KLOK et al., 2002).

Em abacates na fase inicial de amadurecimento há uma grande quantidade de proteínas e transcritos para celulase (LOULAKAKIS et al., 2006). Com o avanço do amadurecimento, a quantidade de celulase aumenta a partir do pico climatérico até a senescência (BENNETT; CHRISTOFERSEN, 1986; CHRISTOFERSEN et al., 1984; KANELIS et al., 1991). No entanto, pressões parciais de O₂ de 0,0 e 1,0kPa impedem o acúmulo de celulase e de seus correspondentes mRNA e, dessa forma, diminuem a perda de firmeza de polpa (LOULAKAKIS et al., 2006). Adicionalmente a isso, concentração de 10,0kPa de O₂ não apresentou efeito supressor sobre a proteína celulase e sua abundância de mRNA. Esses dados sugerem que a concentração ultrabaixa de O₂ reprime nova síntese protéica e acúmulo de mRNA de proteínas reguladas pelo etileno. Da mesma forma, a atividade de celulase em

pêssegos foi menor em frutos armazenados em ULO e com alto CO₂ quando comparado com frutos armazenados em atmosfera refrigerada (BONGHI et al., 1999).

Em frutos na fase pré-climatérica a proteína celulase e seu mRNA são independentes do O₂, e portanto insensíveis ao etileno. Ao contrário, na fase climatérica, a proteína é fortemente influenciada pela concentração de O₂ (CHANG et al., 2000; KLOK et al., 2002; DOLFERUS et al., 2003; SUBBAIAH et al., 2003). Portanto, parece que o efeito do baixo oxigênio sobre os genes de maturação pode ser exercido por meio de duas rotas: ação na supressão da expressão gênica e síntese protéica e ação na inibição da síntese e ação do etileno.

2.3.2 Armazenamento com aplicação de produtos da fermentação

O etanol e o aldeído acético estão envolvidos na rota de síntese do etileno, no metabolismo respiratório, na produção de aroma e na expressão de algumas proteínas e enzimas. A regulação da respiração e do etileno através da aplicação de etanol e aldeído acético tem diversos efeitos sobre atributos de qualidade pós-colheita em frutos, hortaliças e flores (PODD; Van STADEN, 1998; PESIS, 2005; ASODA et al., 2009; MORI et al., 2009). O etanol e aldeído acético são considerados compostos naturais e, portanto, passíveis de serem usados em sistemas de conservação de produtos vegetais cultivados de forma orgânica ou agroecológica (PESIS, 2005).

O uso do etanol em pós-colheita pode ser uma boa alternativa para a conservação de flores, hortaliças e frutos. Segundo Asoda et al. (2009), a aplicação de etanol em sistemas de armazenagem possui vantagens, como o tratamento simples e pouco oneroso, a aplicação com poucos efeitos negativos e o fácil controle das concentrações.

A aplicação pode ser efetuada por meio do mergulho dos frutos em uma solução de etanol (MARGOSAN et al., 1997; LICHTER et al., 2002). Asoda et al. (2009) e Mori et al. (2009) realizaram a liberação de etanol na câmara de armazenagem através de um bloco sílica gel impregnado com etanol envolvido em filme especial, laminado com etileno vinil acetato (Antimold Mild[®], Freund Industrial Co. Ltd., Japão). O filme permitiu difusão constante do etanol para o ambiente. Bai et al. (2004) e Burdon et al. (1996) aplicaram etanol sobre papel filtro dentro da câmara de armazenagem, possibilitando a evaporação do composto. Com o

uso de uma seringa, Scott et al. (1995) e Ritenour et al. (1997) aplicaram etanol, respectivamente, no espaço carpelar da maçã e na cavidade seminal do melão.

2.3.3 Envolvimento do aldeído acético e do etanol na maturação e qualidade de frutos

A via fermentativa induz acúmulo de aldeído acético e etanol no fruto. No entanto, esses compostos ocorrem também naturalmente em condições de aerobiose na relação de uma parte de aldeído acético para 100 partes de etanol (PODD; Van STADEN, 1998; ZABALZA et al., 2009). O armazenamento em baixas condições de O₂ e altas de CO₂ favorece o aumento desta relação para 1:5 ou até 1:2 (PODD; Van STADEN, 1998). O aumento dessa relação pode ocorrer também pela aplicação dos produtos da fermentação (etanol e aldeído acético) na câmara de armazenagem, o que pode ser uma alternativa para a manutenção da qualidade das maçãs durante o armazenamento (PESIS, 2005).

2.3.3.1 Efeito sobre a biossíntese e ação do etileno

Em geral, a inibição do amadurecimento pelo etanol está associada à significativa redução da produção de etileno e, conseqüentemente, da respiração climatérica (PODD; Van STADEN, 1998). Segundo Suzuki et al. (2004), a aplicação de etanol inibe a produção de etileno e mantém a coloração verde de inflorescências de brócolis. Saltveit; Mencarelli (1988) mostraram que o etileno não é capaz de estimular a maturação de tomates previamente tratados com etanol. A aplicação de pequenas quantidades de etanol pode inibir completamente a produção endógena de etileno e reduzir em 60% a produção de CO₂ em cravos de corte (HEINS; BLAKELY, 1980; WU et al., 1992).

Inicialmente foi proposto que o etanol pudesse inibir a produção de etileno por um mecanismo e a ação do etileno por outro, porém os dois mecanismos seriam dependentes da concentração de etanol e aldeído acético (PODD; Van STADEN, 1998). Em concentrações abaixo de 0,6mmol g⁻¹, o etanol é convertido a aldeído acético, composto que inibe a formação de etileno por prevenir a conversão de ACC em etileno (SALTVEIT; MENCARELLI, 1988) inibindo (PESIS et al., 1998) ou desnaturando a enzima ACC oxidase

(BEAULIEU et al., 1997). Entretanto, em flores de cravo ‘Yellow Candy’, a vida de vaso foi reduzida quando ocorreu a aplicação exógena de ACC, mesmo em flores tratadas com etanol. Porém, o tratamento com etanol sem adição exógena de ACC, proporcionou reduzida produção de etileno e maior vida de vaso das flores (PUN et al., 2001). A redução da vida de vaso, na presença de ACC e etanol, sugere que o etanol pode não agir sobre a enzima ACC oxidase em flores de cravo, mas em outro ponto de controle da rota de biossíntese de etileno. Burdon et al. (1996) também observaram esse comportamento em mangas.

Outra hipótese é defendida por Saltveit (1989), que propôs que a inibição da ação do etileno ocorre por meio da permeação do etanol na bicamada lipídica da membrana plasmática. Isto provocaria um pequeno rompimento das membranas e dos receptores de etileno. No entanto, as concentrações necessárias para provocar esse dano deveriam ser bem menores que as concentrações que provocariam extravasamento de íons.

Recentemente, Asoda, et al. (2009), propuseram outro sistema de ação do etanol sobre a inibição da produção de etileno. Em um estudo desses autores, a aplicação de etanol em brócolis inibiu fortemente a produção de etileno e a atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase. O amarelecimento das inflorescências de brócolis, que em condições naturais é acelerado pela presença de etileno, foi inibido pela aplicação de etanol. A inibição da resposta fisiológica do etileno em brócolis tratados com etanol sugere que esse composto suprime a responsividade e a biossíntese do etileno em brócolis, reduzindo o processo de senescência das inflorescências.

O etileno afeta a expressão de vários genes, incluindo os responsáveis por sua biossíntese (INABA, 2007). A produção de etileno é suprimida quando a maturação e senescência são inibidas com etanol. Em brócolis a aplicação exógena de etileno estimula a atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, além da expressão dos seus genes, como a *BO-ACO1*, *BO-ACO2* e *BO-ACSI*. A aplicação de etanol, mesmo na presença de etileno, inibe a expressão dos genes responsáveis pela produção do etileno. Dessa forma, Asoda et al. (2009) concluíram que o mecanismo de regulação da biossíntese de etileno pela aplicação de etanol se dá em nível molecular. A aplicação de etanol suprime a expressão das enzimas *BO-ACO1*, *BO-ACO2* e *BO-ACSI* em nível transcricional, bloqueando a produção de etileno.

Com base no conhecimento atual do mecanismo de percepção do etileno, transdução de sinal e regulação de transcrição (GUO; ECKER, 2004), ainda é necessário investigar em nível molecular como o etanol age sobre a rota de sinalização do etileno e sobre a expressão gênica.

2.3.3.2 Efeito sobre a respiração celular

A aplicação de etanol pode ter um efeito na redução respiratória em diversos frutos. Entretanto, em frutos não-climatéricos, como laranja (FIDLER, 1968; PESIS; AVISSAR, 1989), figo (HIRAI et al., 1968), morango, mirtilo (JANES et al., 1978) e uva (PESIS; MARINIANSKY, 1992) a aplicação pós-colheita de aldeído acético pode causar a indução da produção de CO₂. Em figos o aldeído acético causou a aceleração do amadurecimento, o que proporcionou maior acúmulo de açúcares (HIRAI et al., 1968).

Em frutos ou hortaliças responsivas ao etileno e que apresentam um pico climatérico durante a pós-colheita, a aplicação de produtos da fermentação pode ter significativo efeito sobre a redução da respiração. Em brócolis o pico de produção de CO₂, em função do aumento climatérico da respiração, foi detectado no terceiro dia sob armazenagem. Em inflorescências tratadas com etanol, independentemente do tratamento adicional com etileno, nenhum pico respiratório foi detectado (SUZUKI et al., 2004; ASODA et al., 2009).

Em tomates (SALTVEIT; MENCARELLI, 1988) e flores de cravo (HEINS; BLAKELY, 1980) ocorreu redução significativa no pico respiratório. Ritenour et al. (1997) observaram que em melão e abacate a produção de CO₂ foi reduzida pela aplicação de etanol. Além disso, o aumento na taxa respiratória é muito mais gradual do que em frutos não tratados (KELLY; SALTVEIT, 1988; SALTVEIT; SHARAF, 1992). Alguns autores afirmam que enquanto o aldeído acético é responsável pela inibição da conversão do ACC em etileno (BEAULIEU et al., 1997, PESIS; MARINANSKY, 1992; PODD; Van STADEN, 1999), o etanol é responsável pela redução na taxa de respiração (PESIS; MARINANSKY, 1992).

Em melão, para que o etanol tivesse efeito sobre a redução da respiração e manutenção da qualidade, a aplicação teve que ser efetuada na cavidade seminal, sendo que, nos frutos expostos ao vapor de etanol, a maturação não foi bloqueada (RITENOUR et al., 1997). Estes autores hipotetizaram que, possivelmente, a barreira formada pelas células suberizadas da epiderme dificultaria a difusão do etanol, impedindo sua entrada na polpa do fruto. Por esse motivo a exposição dos frutos ao vapor de etanol seria menos eficiente na manutenção da qualidade.

O mecanismo pelo qual o etanol age sobre a diminuição da respiração ainda não foi bem elucidado. No caso da aplicação de vapor de etanol, provavelmente, a diminuição da taxa respiratória em brócolis é função da supressão da produção de etileno (SUZUKI et al., 2004).

2.3.3.3 Efeito sobre o sistema antioxidante (espécies reativas de oxigênio)

A senescência em tecidos vegetais está fortemente associada a um excesso de produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), incluindo radicais superóxido e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (HODGES et al., 2004). O ciclo ascorbato-glutationa desempenha um papel crucial no controle do nível de EROs, devido a sua localização diversificada e alta afinidade da ascorbato peroxidase (APX) ao H_2O_2 (MITTLER, 2002). O ciclo ascorbato-glutationa é composto de enzimas antioxidantes, incluindo a ascorbato peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR) e glutatona redutase (GR). Outras enzimas que também atuam na remoção de EROs são a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) (APEL; HIRT, 2004) e substâncias redutoras, como a glutatona reduzida e o ácido ascórbico (APEL; HIRT, 2004). Dessa forma, o ciclo parece contribuir para retardar a senescência e prolongar a vida pós-colheita.

O tratamento com vapor de etanol retarda a senescência de brócolis colhidos e mantém as inflorescências verdes (SUZUKI et al., 2004; ASODA et al., 2009). Recentemente, foi verificado que o etanol pode regular, além da produção de etileno e respiração (ASODA et al., 2009), o sistema antioxidante (HAN et al., 2006; MORI et al., 2009), o que resulta em um atraso na senescência de brócolis. Em brócolis que mantiveram a qualidade pós-colheita em função do tratamento temporário com vapor de etanol, as atividades da peroxidase (POD), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) durante o armazenamento foram, respectivamente, 25,7, 11 e 48% maiores que nas inflorescências não tratadas (HAN et al., 2006).

Mori et al. (2009) observaram que a atividade da APX, GR e DHAR em brócolis tratados com etanol foi constante durante o armazenamento por 5 dias, enquanto nas inflorescências não tratadas ocorreu diminuição, quase linear, da atividade dessas enzimas. Estes resultados sugerem que o vapor de etanol suprimiria a diminuição da redução de substâncias e da atividade de enzimas relacionadas com o ciclo ascorbato-glutationa. Conseqüentemente, o estresse oxidativo é reduzido pela remoção efetiva de H_2O_2 , o que contribui na redução da senescência em brócolis tratados com vapor de etanol (HAN et al., 2006; MORI et al., 2009).

2.3.3.4 Efeito sobre atributos de qualidade

O aldeído acético e o etanol têm efeito na manutenção de vários atributos de qualidade, como firmeza de polpa, produção de aroma, inibição de danos por frio, desordens fisiológicas e incidência de podridões.

A firmeza de polpa é mantida em pêssago, nectarina, tomate, uva e abacate como resultado da aplicação de aldeído acético e etanol (PESIS, 2005) ou por meio da indução da produção desses compostos pelo armazenamento em ULO (LOULAKAKIS et al., 2006). A redução da perda da firmeza é decorrente da redução da atividade de enzimas ligadas à degradação da parede celular. A atividade da poligalacturonase, por exemplo, é reduzida em pêssago, nectarina (LURIE; PESIS, 1992) e tomate (PESIS; MARINANSKY, 1993). A aplicação de etanol ou aldeído acético em abacate causa, além da redução dessa enzima, a redução da celulase, β -galactosidase e endoglucanase (DORI et al., 1995; RITENOUR et al., 1997; PESIS et al., 1998; LOULAKAKIS et al., 2006).

O aldeído acético é um componente natural do aroma em quase todos os frutos. Tanto o etanol quanto o aldeído acético são precursores de compostos naturais de aroma (KNEE; HATFIELD, 1981). Ambos os compostos se acumulam durante o amadurecimento, mesmo sob condições aeróbicas (ZABALZA et al., 2009). Os dois produtos formados a partir do aldeído acético são o etanol e o acetil coenzimaA (Acetil CoA). O primeiro é produzido através da ação da enzima ADH, enquanto o segundo pela ação da aldeído desidrogenase (COSSINS, 1978). O acetil CoA é o precursor da produção dos ésteres acetato, enquanto a acil-CoA é precursora da formação dos ésteres de cadeia longa, atuando como agente de acilação (GILLIVER; NURSTEN, 1976). O aumento dos níveis de aldeído acético e etanol durante a maturação associa-se ao aumento de compostos voláteis responsáveis pelo aroma (ZERBINI et al., 2001). Berger; Drawert (1984) mostraram que o armazenamento de maçãs 'Red Delicious' por 24 h com vapor de etanol resultou no acréscimo de três vezes nas concentrações de etil-ésteres, enquanto a aplicação de álcoois resultou na produção de seus ésteres correspondentes (BARTLEY et al., 1985).

O etanol e o aldeído acético podem ter efeito positivo no aumento da resistência do fruto a danos por frio. Também podem atuar na inibição de desordens fisiológicas que envolvem atividade oxidativa, como a escaldadura superficial (PESIS, 2005). Este distúrbio, que é resultado da oxidação do composto α -farneseno, foi controlado em maçãs 'Granny

Smith', altamente suscetíveis, pela aplicação de etanol na dose de 0,5 a 1,0g maçã⁻¹ na temperatura de 0 ou 20°C (SCOTT et al., 1995; GHAMAMANI; SCOTT, 1998).

A aplicação de etanol também pode reduzir a incidência de podridões. A germinação de esporos de *Botrytis cinerea* em uvas (LICHTER et al., 2002) e a incidência de podridões causadas por *Penicillium italicum* e *P. digitatum* em laranjas expostas por cinco dias ao vapor de etanol (YUEN et al., 1995) foram inibidas com a aplicação de etanol. Isso também ocorreu com podridões em pêssegos, nectarinas e limões (SMILANICK et al., 1995; MARGOSAN et al., 1997).

2.3.3.5 Efeitos adversos

A aplicação de produtos da fermentação ou pressões parciais de O₂ reduzidas abaixo do ponto de Pasteur (ponto de compensação anaeróbico), onde é induzido o acúmulo de aldeído acético e etanol, pode levar ao desenvolvimento de “off-flavours” (FIDLER; NORTH, 1971). Altas concentrações de aldeído acético podem causar “off-flavours” e injúria na epiderme em morango (PESIS; AVISSAR, 1990; SIMPSON, 2003), além de escurecimento da epiderme em maçãs (VIDRIH et al., 1999). A ocorrência de “off-flavours” foi relatada também em melão (CHOI et al., 2001), cereja (PETRACEK, 2002), lichia (PESIS et al., 2002) e citrus (PORAT et al., 2003), quando expostos por períodos prolongados a altas doses de produtos da fermentação.

Ainda há dúvida se a causa de incidência de distúrbios fisiológicos é o acúmulo de produtos da fermentação (PESIS, 2005). A incidência e severidade de degenerescência de miolo em peras aumentaram com o aumento de CO₂, sendo sugerido que a degenerescência do miolo é indiretamente correlacionada com a fermentação, mas diretamente com o dano oxidativo (PINTO et al., 2001). Em maçãs ‘Braeburn’ expostas ao vapor de etanol em baixa temperatura não foi observado o escurecimento de polpa (JAMIESON et al., 2003). Por outro lado, em outras frutas, como frutas cítricas e subtropicais, o acúmulo de aldeído acético e etanol provocam danos severos, como, por exemplo, a descoloração da casca de banana associada ao tratamento com aldeído acético (HEWAGE et al., 1995). Sabe-se que o acúmulo de aldeído acético e etanol em citros pode causar graves danos (COHEN et al., 1983; COHEN et al., 1990).

Condições anaeróbicas devem ser aplicadas com cuidado e atenção para diferentes espécies e cultivares de frutos. Frutos subtropicais estão entre os mais sensíveis a danos por

anaerobiose e são menos tolerantes a baixos níveis de O₂ na atmosfera, como tem sido mostrado em laranja (NORMAN, 1977) e mamão (YAHIA et al., 1992).

2.4 Umidade relativa em sistemas de armazenagem

A transpiração é um dos importantes processos fisiológicos que afeta a qualidade pós-colheita dos frutos. A perda de água pela transpiração afeta diretamente a aparência (murcha), textura (crocância), sabor (suculência) e peso dos frutos. A transpiração excessiva pode ainda causar estresse hídrico e, conseqüentemente, acelerar a maturação e a senescência, reduzindo o período de armazenamento e aumentando a síntese de etileno e a degradação das membranas celulares (BEN-YEHOSHUA, 1987).

Segundo Kader (1986), a umidade relativa do ar não deve permanecer muito baixa, pois, além da perda de peso, prejudica a aparência pelo murchamento e causa perdas nutricionais. Entretanto, recentemente Brackmann et al. (2007; 2009a) verificaram que a perda de massa de 2,4 e 4% em maçãs, em condições de armazenagem com umidade relativa baixa (92%), resultou em frutos com melhor qualidade pós-armazenagem. A umidade relativa do ar ambiente tem um considerável efeito sobre a perda de massa do produto durante a armazenagem (SALUNKHE; KADAM, 1995).

Embora o vapor de água seja importante em sistemas de armazenagem de AC, ainda há pouco conhecimento de qual seria a melhor concentração desse gás. Isto provavelmente é devido à dificuldade de medição e controle do conteúdo de vapor de água em baixas temperaturas (PRANGE et al., 2005). Dessa forma, embora a maioria dos trabalhos recomende maximizar o conteúdo de vapor de água em armazenamento de AC para evitar a desidratação do produto, este alto nível de umidade talvez não seja totalmente apropriado.

A perda de água pelos frutos, através da transpiração, é um processo que envolve três fases: o movimento da água dos espaços intercelulares para a cutícula, tanto na forma líquida quanto de vapor; a solubilização e difusão de moléculas de água dentro e através da membrana cuticular; e, por fim, a evaporação da água na superfície externa do fruto. A força motriz para a difusão é a diferença no potencial de vapor de água. Já a velocidade do fluxo é dependente tanto do potencial de membrana como das propriedades da membrana (VERAVERBEKE et al., 2003).

Em maçãs, Prange et al. (2001) verificaram redução da respiração e manutenção da qualidade pós-colheita quando procedeu-se ao rebaixamento da umidade relativa no ambiente de AC. O armazenamento de pimentões a 5°C por três semanas com umidade relativa de 90,5% resultou em melhor controle de podridões sem causar murchamento (DIJKING et al., 2004). Vários autores verificaram que níveis de umidade relativa do ar próximos a 100% podem predispor à ocorrência de degenerescência de polpa (LITTLE; BARRAND, 1989; BRACKMANN et al., 2007b) e ao desenvolvimento de infecções por fungos patogênicos. De acordo com Lidster (1990), com umidade relativa entre 96% e 100%, é maior a incidência de degenerescência da polpa da cultivar McIntosh, e a possibilidade de surgimento de rachaduras da epiderme (EBERT, 1984). Brackmann et al. (2009a) observaram melhor manutenção da qualidade pós-armazenagem em maçãs ‘Royal Gala’, ‘Galaxy’ e ‘Brookfield’ armazenadas sob baixa umidade relativa do ar da câmara (92%).

2.4.1 Umidade relativa e difusão de gases via apoplasto

No fruto existem várias barreiras contra a difusão de gases para o exterior e o interior da polpa. As principais barreiras são a epiderme, a polpa, a parede celular, as membranas celulares e o citoplasma, cada uma exercendo seu próprio efeito na taxa de difusão de gases. De acordo com Rajapakse et al. (1990), a difusão do O₂ e do CO₂ ocorre pelas lenticelas na epiderme do fruto. A permeabilidade de O₂ em frutos revestidos com cera é dependente do número de poros bloqueados pelo revestimento e não da permeabilidade deste (BANKS et al., 1993; BANKS et al., 1997). Isso confirma que a troca de O₂ ocorre principalmente através dos poros da epiderme do fruto. Em maçãs maduras os estômatos não são funcionais, sendo a maioria deles fechados (PARK, 1991), completamente cobertos com cera ou transformados em lenticelas.

A fase aquosa dentro da fruta representa uma segunda barreira, especialmente para o O₂, uma vez que a solubilidade de O₂ em água é consideravelmente menor que a solubilidade de CO₂. Este efeito pode conduzir a um gradiente de concentração adicional para o O₂ (SCHOUTEN et al., 2004), que pode resultar em desordens fisiológicas durante longos períodos de armazenamento (PEREIRA et al., 2009).

A perda de água por transpiração, em função do armazenamento em condições de baixa umidade relativa do ar, poderia aumentar o espaço intercelular livre e,

consequentemente, aumentaria a difusão de gases, já que a taxa de difusão de gases em água é menor que no ar. Nas células do córtex de maçãs 'Braeburn' o aumento da difusividade coincidiu com um aumento significativo na quantidade de espaço intercelular e uma mudança na forma das células (SCHOTSMANS et al., 2004). Durante o amadurecimento de frutos, as membranas celulares rompem e os espaços intercelulares do tecido são preenchidos com o conteúdo da célula e representam um entrave à difusão de gás (RAJAPAKSE et al., 1990). A remoção do conteúdo celular líquido extravasado, por meio da perda de água pela transpiração, poderia aumentar o espaço intercelular livre. Este fenômeno poderia aumentar a taxa de difusão do etanol, O₂, CO₂, entre outros, e consequentemente, diminuir a incidência de distúrbios internos, como a degenerescência de polpa. Em peras, esse distúrbio é provocado pela deficiência de O₂ e acúmulo de CO₂ e de produtos da fermentação (FRANCK et al., 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Colheita, transporte e preparo das amostras

Foram conduzidos três experimentos no Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Na safra de 2008 foram conduzidos dois experimentos e na safra de 2009 um experimento, todos com a cultivar Royal Gala.

Os frutos foram colhidos no período da manhã em pomar comercial do município de Vacaria, RS. Após a colheita, foi realizada a pré-seleção dos frutos, eliminando-se aqueles de diâmetro muito pequeno. Em seguida, os frutos foram transportados a Santa Maria para instalação dos experimentos.

Antes da homogeneização das amostras experimentais foi efetuada uma nova seleção dos frutos, sendo descartados aqueles que apresentaram danos mecânicos em função do transporte, lesões causadas por insetos, podridões ou que estavam excessivamente maduros. Os frutos apresentaram no momento da colheita os seguintes índices do teste de iodo-amido: 6,72 para os experimentos conduzidos em 2008 e 4,54 no experimento conduzido em 2009.

3.2 Descrição dos experimentos

3.2.1 Experimentos de 2008

No primeiro experimento, realizado em 2008, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de produtos da fermentação em comparação ao uso de técnicas já comprovadamente eficientes na manutenção da qualidade de maçãs. Todos os tratamentos avaliados foram armazenados em AC na condição de 1,0kPa O₂ e 2,0kPa CO₂ e temperatura de 0,5°C. Os tratamentos testados foram: [1] Atmosfera controlada (AC); [2] AC e aplicação de 0,5mL de etanol mês⁻¹ kg⁻¹ de fruto; [3] AC e aplicação de 0,25mL de aldeído acético mês⁻¹ kg⁻¹ de

fruto; [4] AC e aplicação de 625 $\eta\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP; [5] AC e absorção de etileno ($<0,02\mu\text{L L}^{-1}$).

No segundo experimento conduzido em 2008, objetivou-se avaliar o comportamento de pressões ultrabaixas de oxigênio (ULO) em diferentes temperaturas. Para tal foram avaliadas cinco condições de atmosfera controlada, que foram as seguintes: [1] 1,0kPa O₂ e 2,0kPa CO₂; [2] 0,8kPa O₂ e 1,5kPa CO₂, [3] 0,8kPa O₂ e 1,0kPa CO₂, [4] 0,6kPa O₂ e 1,5kPa CO₂ e [5] 0,6kPa O₂ e 1,0kPa CO₂. Todas as condições foram armazenadas nas temperaturas de 0,0°C, 0,5°C e 1,0°C resultando num experimento bifatorial (5 x 3) x 4 ((fator A x fator D) x repetição).

3.2.2 Experimento de 2009

No terceiro experimento, conduzido em 2009, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de etanol em menor dose em relação à utilizada em 2008 e associar o uso do etanol à baixa umidade relativa do ar na câmara durante a armazenagem. Todos os tratamentos foram armazenados em atmosfera controlada com 1,2kPa O₂ + 2,5kPa CO₂ e temperatura de 0,5°C. Os tratamentos avaliados foram constituídos da seguinte forma: [1] atmosfera controlada (AC); [2] AC associado à baixa umidade relativa do ar (BUR) [3] AC em BUR e aplicação de etanol na dosagem de 0,3mL $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$ de fruto, [4] AC e aplicação de etanol na dosagem de 0,3mL $\text{mês}^{-1} \text{kg}^{-1}$ de fruto.

3.3 Equipamentos e manutenção das condições de armazenamento

Em todos os experimentos, as amostras foram armazenadas em minicâmaras experimentais herméticas, com volume entre 0,232 e 0,400m³. As minicâmaras foram acondicionadas no interior de câmaras frigoríficas de 48m³, nas temperaturas de 0,0°C, 0,5°C e 1,0°C, dependendo do experimento. A umidade relativa, no interior das minicâmaras, foi mantida em 96±1%, salvo condições específicas de uso de baixa umidade relativa do ar. O controle da temperatura foi efetuado por meio de termostatos eletrônicos e acompanhado

diariamente por meio de termômetros de bulbo de mercúrio com resolução de 0,1°C, inseridos na polpa de frutos.

As condições de AC foram instaladas em minicâmaras experimentais mediante a injeção de nitrogênio (N₂), proveniente de um gerador de N₂, que funciona pelo princípio “Pressure Swing Adsorption” (PSA). Por meio da diluição com N₂, reduziu-se a pressão parcial do O₂ até o nível preestabelecido para cada tratamento. As pressões parciais de CO₂ foram obtidas mediante injeção deste gás, proveniente de cilindros de alta pressão, no interior das minicâmaras.

Durante o período de armazenamento, as pressões parciais dos gases (O₂ e CO₂), foram monitoradas e corrigidas por equipamento totalmente automatizado, da marca Kronenberger-Climasul[®], aferido semanalmente com gases padrão.

A aplicação de etanol foi efetuada mensalmente na dose de 0,5mL kg⁻¹ de fruto para o experimento I e 0,3mL kg⁻¹ de fruto para o experimento II. Foi utilizado álcool etílico com concentração de 92,5%. A aplicação foi realizada por meio da abertura de um orifício na câmara de armazenamento, onde o etanol era injetado sobre um recipiente forrado com papel filtro para facilitar a evaporação. A aplicação de aldeído acético foi efetuada da mesma forma que a do etanol, com a utilização do produto com pureza de 99,9%, na dose de 0,25mL mês⁻¹ kg⁻¹ de fruto.

A aplicação do 1-MCP foi efetuada no início do armazenamento, durante 24 horas na temperatura de 0,5°C. Como fonte de 1-MCP utilizou-se o produto SmartFresh[®] (Rohm & Hass Co.), na formulação pó (0,53% ingrediente ativo). A quantidade de produto, necessária para se obter a concentração de 625nL L⁻¹, foi calculada em função do volume da minicâmara e da concentração do ingrediente presente no produto comercial. Essa quantidade foi colocada em frascos de vidro de 20mL, fechados hermeticamente com septos de borracha. Após a adição de água destilada e deionizada em temperatura ambiente, os frascos foram agitados vigorosamente, até o produto dissolver-se por completo. Os frascos foram colocados no interior das minicâmaras, onde previamente já estavam acondicionados os frutos que seriam tratados. Finalmente, os frascos foram abertos, liberando-se a solução em placas de Petri, sendo as minicâmaras fechadas imediatamente, assim permanecendo durante 24 horas. A composição gasosa das minicâmaras foi renovada completamente depois de encerrado o período de tratamento, eliminando-se da câmara frigorífica o resíduo do produto.

No tratamento com baixo etileno utilizou-se o produto Always Fresh[®], que contém *pellets* impregnados com permanganato de potássio. Este produto foi colocado no interior da minicâmara, com a finalidade de absorver o etileno produzido pelos frutos. As concentrações

de etileno de todas as minicâmaras foram acompanhadas semanalmente, por meio de cromatografia gasosa, mantendo a concentração abaixo do nível de leitura mínima do cromatógrafo, que é de $0,02\mu\text{L L}^{-1}$. Para isso, de cada minicâmara, amostrou-se cerca de 60mL da composição gasosa. Duas alíquotas de 1mL, sub-amostras de cada amostra, foram injetadas num cromatógrafo a gás, marca Varian®, modelo CX 3400, equipado com uma coluna de aço inox de 1/8” e de 2,00m de comprimento, preparada com Porapak N80/100 e um detector de ionização de chama (FID). Como gás de arraste, utilizou-se o N_2 a 30mL min^{-1} . As temperaturas da coluna, câmara de injeção e detector foram ajustadas para 90°C , 140°C e 200°C , respectivamente. O cromatógrafo estava conectado a um microcomputador, sendo os dados processados pelo software STAR com curva de calibração, que fornecia os resultados em $\mu\text{L L}^{-1}$.

Nos tratamentos com baixa umidade relativa do ar utilizou-se o produto cloreto de cálcio (CaCl_2) devido ao seu alto poder higroscópico. Foram utilizados em torno de 80g do produto para cada 13kg de frutos, com uma renovação na metade do período de armazenamento. Essa dosagem permitiu uma perda de massa de 3% dos frutos e umidade relativa de $92\% \pm 1,5\%$.

3.4 Avaliações

Para os três experimentos as análises laboratoriais foram realizadas aos oito meses de armazenamento (somente para parâmetro em que os frutos não foram destruídos) e após sete dias de exposição à temperatura de 20°C (todos os parâmetros), com vistas a simular o período de prateleira. Os parâmetros avaliados foram os seguintes:

a) Incidência de podridões: foram avaliadas pela contagem dos frutos que apresentaram lesões com diâmetro superior a 5mm, características de ataque de fungos ou bactérias. Os resultados foram expressos em percentagem de frutos podres.

b) Degenerescência interna: foi avaliada através da realização de cortes transversais nos frutos. Após o corte, foi realizada uma avaliação visual do escurecimento e do surgimento de “cavernas” na polpa. Esses cortes expuseram totalmente a polpa para a observação visual, sendo determinada a percentagem de frutos com sintomas do distúrbio.

c) Polpa farinácea: determinada pela quantificação visual dos frutos que apresentaram sintomas do distúrbio (polpa seca e sem suculência). Os resultados foram expressos em percentagem de frutos com o distúrbio.

d) Firmeza da polpa: após a retirada de parte da epiderme, os frutos foram avaliados em lados opostos, na região equatorial, com um penetrômetro manual, marca Effegi, com ponteira de 11mm, sendo que os valores foram expressos em Newton (N).

e) Teor de sólidos solúveis totais (SST): obtido por refratometria a partir do suco extraído de cada amostra de 20 frutos. Os valores foram expressos em °Brix;

f) Acidez titulável: determinada pela titulação, com NaOH 0,1N, de uma solução contendo 10mL de suco diluídos em 100mL de água deionizada, até atingir pH 8,1. O pH foi determinado por um medidor marca Digimed®. Os valores foram expressos em meq 100mL⁻¹.

g) Produção de etileno: foi determinada com a utilização de aproximadamente 1500g de frutos, colocados em recipientes com volume de 5000mL, fechados hermeticamente durante aproximadamente 1,5 hora. Para a análise da produção de etileno foram injetadas duas amostras de gás de 1mL, provenientes de cada recipiente, em um cromatógrafo a gás, marca Varian® modelo Star 3400CX, equipado com um detector de ionização por chama (FID) e coluna Porapak N80/100. A temperatura da coluna, injetor e detector foi de 90, 140 e 200°C, respectivamente. A síntese de etileno foi calculada em $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ por meio da concentração de etileno determinada pelo cromatógrafo, da massa do fruto, do volume do espaço livre no recipiente e do tempo de fechamento.

h) Respiração: determinada pela quantificação da produção de CO₂. O ar do mesmo recipiente utilizado para a determinação do etileno foi circulado através de um analisador eletrônico de CO₂, marca Schelle®. A partir da concentração de CO₂, do espaço livre do recipiente, do peso do fruto e do tempo de fechamento, foi calculada a respiração em mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

i) Atividade da ACC oxidase: de acordo com a metodologia proposta por Bufler (1986), foram retiradas algumas amostras de epiderme da região equatorial dos frutos de cada unidade experimental, totalizando 3g. Estas foram imediatamente incubadas numa solução contendo 0,1mM de ACC em 10mM do tampão MES (ácido 2 (N-morfolino) etanossulfônico) em pH 6,0. Após 30 minutos, as amostras foram acondicionadas em seringas herméticas de 50ml, nas quais foi adicionado 2% de CO₂. Depois de 30 minutos, a concentração de etileno presente nas seringas foi determinada, e os dados foram expressos em $\eta\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

3.5 Análise estatística

Todos os experimentos foram conduzidos e analisados segundo o delineamento inteiramente casualizado. Os experimentos com aplicação de etanol e/ou aldeído acético, conduzidos em 2008 e 2009, foram conduzidos e analisados como unifatoriais e o experimento com ultrabaixo oxigênio, conduzido em 2008, como bifatorial. Cada tratamento foi constituído de quatro repetições contendo 25 frutos.

Os dados, antes da análise de variância (ANOVA), foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade dos erros, pelos testes de Lilliefors e Bartlett, respectivamente. Os parâmetros que não apresentavam normalidade dos erros foram transformados pela fórmula $\text{arc.sen} \sqrt{(x + 0,5)/100}$, e os parâmetros cujos erros se apresentavam heterocedásticos foram transformados pela fórmula $\log_{10}(x + 1,0)$ para serem submetidos com os demais à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

Para a realização das análises estatísticas foram utilizados os pacotes SOC (Software Científico: NTIA/EMBRAPA) e SisVar da Universidade Federal de Lavras (FERREIRA, 2000).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parte I

4.1.1 Aplicação de produtos da fermentação em maçãs ‘Royal Gala’

O manejo do etileno em pós-colheita, seja por absorção ou por inibição da ação através da aplicação de 1-MCP, está bastante difundido e seu efeito já é conhecido sobre a manutenção da qualidade pós-armazenagem (BLANKENSHIP; DOLE, 2003; BRACKMANN et al., 2008; BRACKMANN et al., 2009b). Essas técnicas de manejo do etileno foram utilizadas no experimento conduzido em 2008 com o objetivo de fazer uma comparação com a aplicação de produtos da fermentação.

Após meio dia de exposição a 20°C a aplicação de aldeído acético proporcionou menor produção de etileno comparado com o tratamento controle. Entretanto, aos dois a diferiu estatisticamente dos frutos em que ocorreu a absorção de etileno e aos quatro dias de exposição dos frutos a 20°C a aplicação de aldeído acético provocou a maior taxa de produção de etileno (Figura 2A). Esse fato, possivelmente, está diretamente relacionado à maior incidência de distúrbios fisiológicos e podridões, causando também um aumento na taxa respiratória dos frutos, equivalendo ao tratamento controle (AC) (Figura 2B). O manejo do etileno no experimento conduzido em 2008, seja com a sua absorção ou com aplicação de 1-MCP, resultou na menor atividade respiratória até o quarto dia de exposição à temperatura de 20°C (Figura 2B).

A atividade da enzima formadora do etileno (ACC oxidase) não foi alterada pela aplicação de etanol e de aldeído acético no experimento conduzido em 2008, em comparação com frutos somente armazenados em AC (Tabela 1). Somente a aplicação de 1-MCP proporcionou redução na atividade dessa enzima (Tabela 1).

No experimento conduzido em 2009 a aplicação de 0,3mL de etanol kg⁻¹ de fruto mês⁻¹ possibilitou diminuição da atividade da ACC oxidase, principalmente, quando associado à redução da umidade relativa do ar (Tabela 1), resultando em menor produção de etileno

(Figura 2C). Comparada com o controle (AC), a aplicação de etanol somente reduziu a taxa respiratória aos dois dias de exposição a 20°C (Figura 2D).

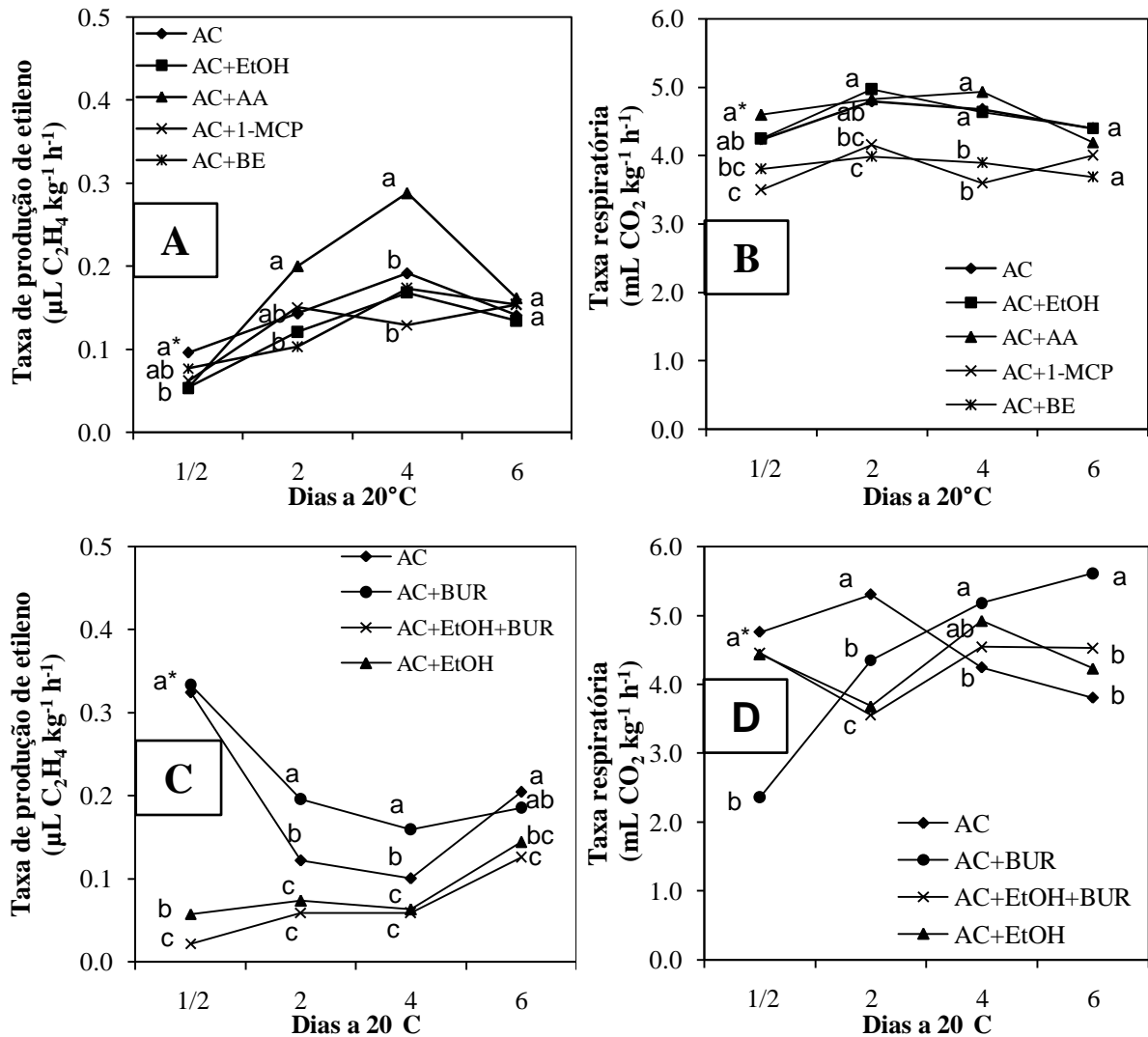


Figura 2 – Taxa de produção de etileno (A e C, para os experimentos de 2008 e 2009, respectivamente) e taxa respiratória (B e D para os experimentos de 2008 e 2009, respectivamente) em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses e expostas durante 6 dias a 20°C. * Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula em uma mesma data de avaliação diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Análise inicial: etileno: $1,33\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respiração: $6,86\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para o experimento I e para o experimento II etileno: $0,52\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respiração: $8,82\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. AC: atmosfera controlada; EtOH: etanol; AA: aldeído acético; 1-MCP: 1-metilciclopropeno; BE: baixo etileno; BUR: baixa umidade relativa do ar.

De acordo com a literatura, a aplicação de etanol e/ou aldeído acético em tomates e brócolis causa redução da atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, além da redução da expressão gênica dessas enzimas. Conseqüentemente, ocorre redução drástica da produção de etileno e CO₂ (PESIS, 2005; ASODA, 2009). Em maçãs, com a aplicação de produtos da fermentação no experimento de 2008 não se observaram esses resultados. Contudo, no experimento de 2009 houve significativa redução da atividade da ACC oxidase e de produção de etileno com a aplicação de etanol. Estes resultados mostram que a ação dos produtos da fermentação sobre a manutenção da qualidade dos frutos é dependente da dose aplicada. Possivelmente a dose utilizada no experimento de 2008, em que foi aplicado 0,5mL de etanol kg⁻¹ de fruto mês⁻¹, tenha sido muito alta e o tempo de exposição tenha sido excessivo. Isso pode ter resultado em dano ao tecido (alta incidência de degenerescência de polpa e polpa farinácea, conforme a tabela 2) e conseqüente aumento da produção de etileno e CO₂.

A acidez titulável não apresentou diferença entre tratamentos no experimento de 2008, todavia em 2009 o maior teor de acidez titulável foi observado no tratamento com redução de umidade relativa e aplicação de 0,3mL de etanol kg⁻¹ de fruto mês⁻¹, entretanto, não diferiu dos frutos armazenados somente em BUR (Tabela 1). O conteúdo de sólidos solúveis totais (SST), em 2008, foi maior nos frutos dos tratamentos em que a AC estava associada a técnicas adicionais com relação ao tratamento controle (Tabela 1). No experimento de 2009, a aplicação de etanol e BUR proporcionaram maiores teores de SST após a exposição dos frutos por sete dias a 20°C (Tabela 1), evidenciando menor consumo de açúcares no metabolismo do fruto. A baixa umidade do ar durante o armazenamento provocou a perda de água dos frutos, induzindo a concentração dos açúcares, o que pode ter contribuído no aumento dos níveis de SST.

A aplicação de produtos da fermentação, principalmente de etanol, influenciou negativamente a firmeza de polpa no experimento realizado no ano de 2008. Entretanto, em 2009, a firmeza de polpa foi mantida mais alta com a aplicação de etanol (Tabela 1). Este resultado diferenciado nos dois experimentos provavelmente ocorreu devido à dose de etanol aplicada. Possivelmente no experimento de 2008 a dose de 0,5mL de etanol kg⁻¹ de fruto mês⁻¹ possivelmente a tolerância máxima da maçã ao produto e causou danos aos frutos expostos, corroborando estudos que verificaram que concentrações muito altas de etanol podem ser tóxicas aos frutos (PESIS, 2005). Os resultados de firmeza de polpa do experimento de 2009 podem ser comparados aos de Bai et al. (2004), que trabalharam com maçã e com os de Ritenour et al. (1997), que estudaram melão e abacate. Nesses estudos, a aplicação de etanol

e/ou aldeído acético proporcionou frutos com maior firmeza de polpa. A atividade de enzimas relacionadas à degradação da parede celular, como a poligalacturonase, foi reduzida em pêssego, nectarina, (LURIE; PESIS, 1992) e tomate (PESIS; MARINANSKY, 1992) com a aplicação de etanol. A atividade de enzimas despolimerizadoras da parede celular como a poligalacturonase, β -galactosidase e endoglucanase, foi reduzida também com a aplicação de aldeído acético em abacate (PESIS et al., 1998).

Tabela 1 – Atividade da ACC oxidase, acidez titulável total (ATT), sólidos solúveis totais (SST) e firmeza de polpa em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas em atmosfera controlada por 8 meses e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008 e 2009.

Tratamento	Atividade da ACC oxidase ($\eta\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	ATT ($\text{meq } 100\text{mL}^{-1}$)	SST (°Brix)	Firmeza de polpa (N)
----- Experimento de 2008 -----				
Análise inicial**	21,8	5,1	11,8	92,8
AC***	44,1 a*	4,10 a	13,1 b	79,1 a
Etanol	37,8 a	4,10 a	13,8 a	74,3 b
Aldeído acético	39,7 a	3,98 a	13,8 a	76,0 ab
1-MCP	20,8 b	4,03 a	13,7 a	80,2 a
Baixo etileno	39,5 a	4,15 a	13,6 a	79,6 a
CV (%)	20,08	3,26	1,06	2,74
----- Experimento de 2009 -----				
Análise inicial**	17,4	4,9	11,7	99,3
AC	39,8 a*	4,26 b	13,2 c	76,9 b
BUR****	39,6 a	4,38 ab	13,6 b	79,6 b
BUR + Etanol	8,2 c	4,60 a	13,9 a	81,1 ab
Etanol	17,3 b	4,20 b	13,4 bc	81,9 a
CV (%)	6,63	2,56	0,86	1,91

* Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula na vertical diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

** Análise inicial foi realizada antes da armazenagem dos frutos.

***AC: atmosfera controlada.

**** BUR: Baixa umidade relativa do ar.

A incidência de podridões aos sete dias de exposição a 20°C foi maior com a aplicação de aldeído acético e etanol no experimento de 2008 (Tabela 2). Este resultado difere dos experimentos realizados com aplicação de aldeído acético em pêssegos, inoculados com esporos dos fungos *Bortyis cinerea* e *Monilia fruticola*, nos quais o crescimento dos fungos foi inibido proporcionalmente à concentração de aldeído acético usado (EL-SHEIKH ALY et al., 2000). Esses autores observaram que, quando os pêssegos foram imersos em uma solução de 40% de aldeído acético, o crescimento dos micélios de *Monilia fruticola* foi completamente inibido. A alta dose de etanol e aldeído acético usada em 2008 resultou em maior incidência de polpa farinácea e degenerescência de polpa o que pode ter deixado o tecido mais suscetível a penetração e infecção dos patógenos.

O etanol é considerado um composto que pode ter efeito sobre o retardamento da incidência de podridões em vários frutos, como pêssegos, citros e uva de mesa (FELICIANO et al., 1992; SMILANICK et al., 1995; KARABULUT et al., 2003; ROMANAZZI et al., 2007), e por ser um composto natural, pode ser usado em frutas no período pós-colheita (PESIS, 2005). Entretanto, neste trabalho a aplicação deste composto não resultou na redução da incidência de podridões (Tabela 2), sugerindo que, em maçãs, esse efeito pode não ocorrer.

A incidência de degenerescência de polpa no experimento de 2008 foi maior com a aplicação de 0,25mL de aldeído acético kg⁻¹ de fruto mês⁻¹, não diferindo do tratamento com aplicação de etanol (Tabela 2). Já em 2009, a aplicação de 0,3mL de etanol kg⁻¹ de fruto mês⁻¹, não apresentou diferença estatística do tratamento controle, sendo que a BUR manteve a menor incidência deste distúrbio (Tabela 2). Brackmann et al. (2007b) em maçãs ‘Royal Gala’ e Alves et al. (2010) em ameixa ‘Laetitia’ também observaram que a perda de massa fresca, em função do uso de BUR, reduziu significativamente a incidência de degenerescência.

No presente trabalho, a incidência de polpa farinácea foi maior com a aplicação de etanol, não diferindo da aplicação de aldeído acético no experimento de 2008. A aplicação de 1-MCP resultou na menor incidência de polpa farinácea, entretanto não diferiu dos frutos do tratamento controle (Tabela 2).

Tabela 2 - Incidência de podridões na abertura das câmaras e aos sete dias de exposição a 20°C, incidência de degenerescência de polpa e polpa farinácea em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas em atmosfera controlada por 8 meses e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008 e 2009.

Tratamento	Podridão (%)		Degenerescência de polpa (%)	Polpa farinácea (%)
	Saída da Câmara	Sete dias a 20°C		
----- Experimento de 2008 -----				
AC**	1,3 a*	4,0 b	6,3 b	6,5 bc
Etanol	1,3 a	18,0 a	15,5 ab	23,2 a
Aldeído acético	11,3 a	41,0 a	21,2 a	14,1 ab
1-MCP	1,3 a	3,7 b	6,7 b	2,9 c
Baixo etileno	2,4 a	3,8 b	4,9 b	12,3 b
CV (%)	77,86	36,39	32,45	26,94
----- Experimento de 2009 -----				
AC	0,0 a*	4,0 a	4,0 ab	7,1 a
BUR***	0,0 a	9,0 a	3,0 b	7,0 a
BUR + Etanol	0,0 a	3,0 a	7,0 a	10,0 a
Etanol	2,0 a	3,0 a	7,0 a	7,2 a
CV (%)	40,3	48,7	20,2	21,7

* Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula na vertical diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**AC: atmosfera controlada.

*** BUR: Baixa umidade relativa do ar.

A incidência de polpa farinácea normalmente está associada ao estado avançado de amadurecimento dos frutos. Com a evolução do amadurecimento as moléculas de pectina insolúvel (protopectina) são transformadas em pectinas solúveis na lamela média, o que diminui a força de coesão entre as células. Isso contribui para o surgimento de polpa farinácea (REEVE, 1970; De SMEDT et al., 1998; PRASANNA et al., 2007). Franck et al. (2007) descreveram a incidência de distúrbios fisiológicos ligados à senescência, como a degenerescência de polpa e a polpa farinácea. Esses distúrbios estariam diretamente relacionados à concentração de etanol na polpa de pera. Entretanto, Fernandez-Trujillo et al. (2001) e Argenta et al. (2002) observaram que o acúmulo de produtos da fermentação, como

etanol e aldeído acético, não é a causa direta da degenerescência do córtex em maçãs. O envolvimento direto de produtos da fermentação na manifestação de distúrbios fisiológicos ainda não foi comprovado. O composto final da respiração anaeróbica é o etanol, porém a causa mais provável do desenvolvimento da degenerescência é a privação de energia à célula que este tipo de metabolismo provoca. Isso resultaria em deficiência de potencial redutor para mecanismos de defesa, reparação de membranas danificadas e reações de biossíntese (PEDRESCHI et al 2009).

4.1.2 Conclusões

A aplicação de etanol na dose de $0,5\text{mL kg}^{-1}$ de fruto mês^{-1} ou aldeído acético $0,25\text{mL kg}^{-1}$ de fruto mês^{-1} , prejudicou a qualidade de maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por oito meses em atmosfera controlada.

A dose de $0,3\text{mL}$ de etanol kg^{-1} de fruto mês^{-1} resultou na manutenção da qualidade pós-armazenagem de maçãs ‘Royal Gala’.

A redução da umidade relativa do ar (BUR) apresentou pouco efeito sobre a manutenção da qualidade da maçã ‘Royal Gala’, porém, potencializou o efeito da aplicação de $0,3\text{mL}$ de etanol kg^{-1} de fruto mês^{-1} .

4.2 Parte II

4.2.1 Ultrabaixo oxigênio e temperaturas para armazenagem de maçãs 'Royal Gala'

Após meio, quatro e seis dias de exposição à temperatura de 20°C ocorreu interação significativa entre as condições de ULO e as temperaturas de armazenagem para a taxa de produção de etileno (Tabela 3). Meio dia após a retirada dos frutos das condições de armazenagem e exposição dos mesmos à temperatura de 20°C, não se observou diferença na produção de etileno nas diversas temperaturas de armazenagem estudadas. Entretanto, a partir do segundo dia de exposição a 20°C até a avaliação aos seis dias, a temperatura teve um efeito significativo na redução da produção de etileno. No segundo dia a 20°C a temperatura de 1,0°C foi a que apresentou menor produção de etileno. Esse comportamento permaneceu até o sexto dia de exposição a 20°C, contudo, a partir do quarto dia de exposição, a temperatura de armazenagem de 0,5°C não diferiu da temperatura de 1,0°C (Tabela 3). Essa redução na produção de etileno está diretamente relacionada com a atividade da enzima ACC oxidase, cuja menor atividade foi obtida na temperatura de armazenagem de 1,0°C (Tabela 4).

A redução da taxa de produção de etileno e atividade da ACC oxidase com o aumento da temperatura de 0,0°C para 1,0°C pode em princípio parecer contraditória, uma vez que a redução da temperatura de armazenagem normalmente reduz o metabolismo respiratório e a produção de etileno. Entretanto, pode ser justificada pelo limite de redução da temperatura de armazenagem, pois a redução excessiva pode causar danos às células e, assim, aumentar a produção de etileno (KNEE et al., 1983), resultando em perda da qualidade dos frutos. Isso é reforçado pelo fato de que a temperatura de armazenagem de 0,0 e 0,5°C provocou maior incidência de distúrbios fisiológicos nos frutos (Tabela 7) o que, provavelmente, tem relação com a maior produção de etileno.

Durante os seis dias de avaliações não houve diferenças na produção de etileno nas diferentes condições de ULO na temperatura de 1,0°C. Do mesmo modo, as avaliações realizadas meio e dois dias após o armazenagem, demonstrou que os frutos armazenados a 0,0°C não apresentaram diferenças entre as condições de ULO avaliadas (Tabela 3). Todavia, na temperatura de armazenagem de 0,5°C, a condição de ULO com 0,6kPa O₂ associado com

1,5kPa CO₂ proporcionou menor produção de etileno, sem no entanto diferir da condição com 0,6kPa O₂ associada com 1,0kPa de CO₂ (Tabela 3). Após quatro dias a 20°C os frutos armazenados na temperatura de 0,0 com 0,6 ou 0,8kPa O₂ apresentaram a menor biossíntese de etileno (Tabela 3). A avaliação dos frutos armazenados à temperatura de 0,0°C no sexto dia de exposição a 20°C e à condição de AC em ULO de 0,6kPa O₂ e 1,5kPa CO₂, resultou em menor produção de etileno. Por outro lado, os frutos armazenados na temperatura de 0,5°C na condição de 0,8kPa O₂ e 1,5kPa CO₂ também mantiveram baixa a biossíntese desse fitohormônio (Tabela 3).

Tabela 3 – Produção de etileno em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses em diferentes condições de atmosfera controlada e temperaturas e expostas por 6 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.

O ₂ + CO ₂ (kPa)	Taxa de produção de etileno (µL C ₂ H ₄ kg ⁻¹ h ⁻¹)							
	----- ½ dia a 20°C -----				----- 2 dias a 20°C -----			
	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média
Análise inicial**	1,33							
1,0 + 2,0	0,18 a	0,22 a	0,12 a	0,17	0,18	0,15	0,10	0,14 a
0,8 + 2,0	0,13 a	0,16 a	0,15 a	0,15	0,11	0,13	0,10	0,11 a
0,8 + 1,5	0,15 a	0,18 a	0,17 a	0,16	0,11	0,11	0,10	0,11 a
0,6 + 1,5	0,16 a	0,12 b	0,18 a	0,15	0,12	0,11	0,12	0,12 a
0,6 + 1,0	0,17 a	0,13 ab	0,18 a	0,16	0,12	0,13	0,12	0,12 a
Média	0,16 A	0,16 A	0,16 A		0,13 A	0,13 A	0,11B	
CV (%)	19,22				30,27			
	----- 4 dias a 20°C -----				----- 6 dias a 20°C -----			
1,0 + 2,0	0,20 a	0,15 a	0,10 a	0,15	0,26 a	0,16 ab	0,18 a	0,20
0,8 + 2,0	0,14 b	0,12 ab	0,11 a	0,12	0,25 ab	0,19 ab	0,19 a	0,22
0,8 + 1,5	0,13 b	0,10 b	0,12 a	0,11	0,19 bc	0,15 b	0,19 a	0,18
0,6 + 1,5	0,11 b	0,12 ab	0,12 a	0,12	0,16 c	0,14 b	0,19 a	0,17
0,6 + 1,0	0,13 b	0,14 ab	0,10 a	0,12	0,19 bc	0,21 a	0,17 a	0,19
Média	0,14 A	0,13 AB	0,11 B		0,21 A	0,17 B	0,18 B	
CV (%)	1,86				1,99			

* Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula na vertical (condições de atmosfera controlada) e maiúscula na horizontal (média das temperaturas) diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

** Análise inicial foi realizada antes da armazenagem dos frutos.

Com relação à atividade da enzima ACC oxidase, observou-se que pressões parciais de O₂ e CO₂ tiveram diferentes efeitos nas diferentes temperaturas de armazenamento. Na temperatura de 0,0°C o ULO com 0,6kPa O₂ com 1,5kPa de CO₂ favoreceu a maior redução da atividade dessa enzima, porém não diferiu da condição de AC com 0,6kPa O₂ mais 1,0kPa CO₂. Já na temperatura de 0,5°C, a pressão parcial de 0,6kPa O₂ com 1,5kPa de CO₂ teve maior efeito na inibição da atividade da enzima formadora do etileno, diferindo apenas da condição de AC com 1,0kPa O₂ mais 2,0kPa de CO₂. À temperatura de 1,0°C os frutos armazenados em ULO com 0,6kPa associado a 1,0kPa CO₂ apresentaram maior atividade da ACC oxidase, não diferindo da condição de AC com 0,8kPa O₂ mais 1,5kPa CO₂. (Tabela 4). Estes resultados demonstram que quando a temperatura é elevada de 0,0 até 1,0°C há também a necessidade da elevação das pressões parciais de O₂ e CO₂.

Tabela 4 – Atividade da enzima ACC oxidase em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses, em diferentes condições de atmosfera controlada e temperaturas, e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.

O ₂ + CO ₂ (kPa)	Atividade da ACC oxidase ($\eta\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$)			
	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média
Análise inicial**	21,8			
1,0 + 2,0	43,0 a	44,8 a	23,3 b	37,0
0,8 + 2,0	42,5 a	29,7 ab	23,3 b	31,9
0,8 + 1,5	37,3 a	33,8 ab	25,4 ab	32,2
0,6 + 1,5	22,1 b	25,0 b	20,9 b	22,7
0,6 + 1,0	33,3 ab	29,5 ab	35,1 a	32,7
Média	35,7 A	32,6 A	25,6 B	
CV (%)	6,21			

* Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula na vertical (condições de atmosfera controlada) e maiúscula na horizontal (média das temperaturas) diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

** Análise inicial foi realizada antes da armazenagem dos frutos.

Baixas pressões parciais de oxigênio afetam diretamente a produção de etileno, uma vez que a enzima ACC oxidase, enzima chave na rota de biossíntese desse fitohormônio, requer oxigênio molecular para a formação do etileno (YANG; HOFFMAN, 1984; JOHN, 1997). Já a ação do CO₂ ocorre pela inibição da síntese e da atividade da enzima ACC sintase (BUFLER et al., 1986; GORNY; KADER, 1996; GORNY; KADER, 1997) e inibir a ACC oxidase (YANG; HOFFMAN, 1984).

Tabela 5 – Taxa respiratória em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses em diferentes condições de atmosfera controlada e temperatura e expostas durante 6 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.

O ₂ + CO ₂ (kPa)	Taxa respiratória (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)							
	----- ½ dia a 20°C -----				----- 2 dias a 20°C -----			
	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média
Análise inicial**	6,86							
1,0 + 2,0	5,36 b*	5,54 a	6,68 a	5,19	5,71	6,17	4,81	5,56 a
0,8 + 2,0	6,19 ab	5,44 a	4,51 b	5,38	6,23	6,23	4,68	5,71 a
0,8 + 1,5	5,25 b	5,25 a	4,55 b	5,01	5,68	5,65	4,46	5,26 a
0,6 + 1,5	5,47 ab	4,05 b	5,11 ab	4,88	5,64	5,29	4,48	5,14 a
0,6 + 1,0	6,61a	5,77 a	4,88 ab	5,75	6,23	5,78	4,61	5,54 a
Média	5,74 A	5,21 B	4,74 C		5,90 A	5,82 A	4,61 B	
CV (%)	4,60				12,05			
	----- 4 dias a 20°C -----				----- 6 dias a 20°C -----			
1,0 + 2,0	6,62 a	4,76 ab	4,87 a	5,42	8,89	5,71	5,78	6,80 a
0,8 + 2,0	7,56 a	4,99 ab	4,79 a	5,78	8,09	6,04	6,31	6,82 a
0,8 + 1,5	6,28 a	4,31 b	4,67 a	5,08	7,40	5,19	5,86	6,15 a
0,6 + 1,5	6,29 a	4,13 b	5,23 a	5,21	7,26	5,26	6,28	6,27 a
0,6 + 1,0	6,71 a	5,41 a	5,21 a	5,78	7,60	7,08	6,03	6,90 a
Média	6,69 A	4,72 B	4,95 B		7,85 A	5,86 B	6,05 B	
CV (%)	4,26				5,67			

* Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula na vertical (condições de atmosfera controlada) e maiúscula na horizontal (média das temperaturas) diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

** Análise inicial foi realizada antes da armazenagem dos frutos.

Na avaliação da taxa respiratória após meio e quatro dias de exposição a 20°C foi observada interação significativa entre as condições de ULO e temperatura de armazenamento. O comportamento da taxa respiratória dos frutos em função da temperatura de armazenagem foi semelhante ao da produção de etileno durante o período de exposição a 20°C. Entretanto, já na primeira avaliação após a abertura das câmaras, verificou-se menor taxa respiratória dos frutos armazenados a 1,0 e 0,5°C em comparação aos armazenados à temperatura de 0,0°C (Tabela 5). Resultados semelhantes foram observados por Brackmann et al. (2008) em maçãs ‘Royal Gala’ e ‘Galaxy’, que, submetidas às condições de AC na temperatura de -0,5°C, apresentaram a maior taxa respiratória após um dia de exposição dos frutos a 20°C em comparação aos armazenados na temperatura de 0,5°C.

A incidência de podridões em maçãs ‘Royal Gala’, após a abertura da câmara, não diferiu estatisticamente entre tratamentos (dados não apresentados). Porém, os frutos armazenados na condição de 0,8kPa O₂ e 1,5kPa CO₂ e expostos por sete dias a 20°C, apresentaram menor incidência de podridões, sem sofrer interferência da temperatura de armazenagem (Tabela 6). Sommer et al. (1981) sugerem que a redução da concentração de O₂ é mais eficaz no controle de podridões que a elevação do teor de CO₂ durante o armazenagem. A diminuição das pressões parciais de O₂ normalmente resulta na redução da incidência de podridões no período de pós-armazenagem. Contudo sob condições hipóxicas, como as praticadas neste trabalho com 0,6kPa O₂, ocorre a indução da via anaeróbica para produção de energia. Entretanto, quando a respiração anaeróbica ocorrer de forma demasiada, é provável o surgimento de danos às células em função do acúmulo de produtos da fermentação, o que facilita infecções patológicas (KADER, 2002). Ceretta (2003) também observou maior incidência de podridões em maçãs ‘Gala’ armazenadas em pressões parciais de O₂ abaixo de 0,8kPa.

As temperaturas de armazenagem 0,5 e 1,0°C mantiveram maior firmeza de polpa. Porém as diferentes condições de ULO e CO₂ não influenciaram na manutenção da firmeza de polpa (Tabela 6). Brackmann et al. (2001) observaram que a temperatura de 0,5°C durante o armazenagem em AC mantém a firmeza de polpa mais elevada em comparação com a temperatura de -0,5°C.

A perda da firmeza de polpa normalmente está ligada à taxa respiratória e à produção de etileno (HIWASA, et al., 2003). No presente estudo observou-se que, na temperatura de armazenagem de 0,0°C, a taxa de produção de etileno foi superior à produzida nas demais temperaturas de armazenagem a partir do quarto dia de exposição a 20°C (Tabela 6). A

maior síntese de etileno induz também à síntese e à atividade de enzimas ligadas à degradação da parede celular, como a poligalacturonase, pectinametilesterase, β -galactosidase, xiloglucano endotransglicolase, expansinas, celulases, entre outras (PRASANNA et al., 2007; PAYASI et al., 2009). A atividade de tais enzimas contribui para a diminuição da firmeza da polpa dos frutos.

Tabela 6 - Incidência de podridões e firmeza de polpa em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses, em diferentes condições de atmosfera controlada e temperatura, e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.

O ₂ + CO ₂ (kPa)	Podridão (%)				Firmeza de polpa (N)			
	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média
Análise inicial**	-				92,8			
1,0 + 2,0	14,0	8,8	7,5	10,1 ab	75,6	75,4	76,5	75,8 a
0,8 + 2,0	10,0	12,7	7,6	10,1 ab	73,1	77,5	77,5	76,0 a
0,8 + 1,5	7,6	8,9	6,3	7,6 b	73,2	79,3	75,8	76,1 a
0,6 + 1,5	10,6	14,3	16,5	13,8 a	75,1	77,7	77,2	76,7 a
0,6 + 1,0	8,8	12,5	11,4	10,9 ab	73,5	76,3	76,8	75,5 a
Média	10,2 A	11,5 A	9,9 A		74,1 B	77,2 A	76,8 A	
CV (%)	20,17				2,70			

* Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula na vertical (condições de atmosfera controlada) e maiúscula na horizontal (média das temperaturas) diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

** Análise inicial foi realizada antes da armazenagem dos frutos.

A incidência de polpa farinácea não apresentou interação entre as condições de ULO e temperaturas e na temperatura de armazenagem de 1,0°C, ocorreu menor incidência deste distúrbio. Já a condição de 0,8kPa O₂ com 2,0kPa CO₂ resultou na maior porcentagem de frutos com polpa com aspecto farináceo, porém não diferiu da condição de 0,8kPa O₂ com 1,5kPa CO₂ (Tabela 7).

A interação entre temperatura de armazenamento e condições de ULO foi significativa para a degenerescência de polpa (Tabela 7). O aumento da temperatura de 0,0 para 1,0°C resultou em diminuição da incidência deste distúrbio. Segundo Lau (1998) e Streif et al.

(2003) vários fatores pós-colheita afetam a incidência de degenerescência de polpa em maçãs, como a data de colheita, tempo até o resfriamento, pressões parciais de CO₂ e O₂, duração e temperatura de armazenagem. A menor incidência de degenerescência de polpa na temperatura de 0,0°C foi no tratamento de 0,6kPa O₂ com 1,0kPa CO₂, não diferindo das condições com 0,6 ou 0,8kPa O₂ associada com 1,5kPa CO₂. Na temperatura de 0,5°C, a menor incidência de degenerescência de polpa foi observada nas condições de 0,6 a 0,8kPa O₂ com 1,5kPa CO₂. Na temperatura de 1,0°C, em que foi verificada menor incidência deste distúrbio, a melhor combinação de pressões parciais foi de 0,8 a 1,0kPa O₂ com 2,0kPa CO₂, porém não diferiram do tratamento 0,8kPa O₂ com 1,5kPa CO₂ (Tabela 7).

A interação entre os fatores resultou em necessidade de aumento das pressões parciais de O₂ e CO₂ à medida que a temperatura foi aumentada de 0,0°C até 1,0°C (Tabela 7). Segundo Ho et al. (2006a), a temperatura não influencia a taxa de difusão do O₂, embora tenha significativa influência sobre a taxa de difusão do CO₂. Porém, segundo Yearsley et al. (1997), a solubilidade do O₂ na polpa de maçã diminui com o aumento da temperatura. Conseqüentemente, se a solubilidade limita a disponibilidade de O₂ para a oxidase terminal da respiração, é esperado que o limite mínimo de oxigênio aumente em função do aumento da temperatura de armazenamento. Isso pode explicar, em parte, a necessidade de maior pressão parcial de O₂ quando a temperatura de armazenamento foi aumentada de 0,0 para 1,0°C. Wrigth et al. (2010) observaram que, à medida que a temperatura de exposição de maçãs ‘Honeycrisp’ foi aumentada, o limite mínimo de oxigênio também foi maior. Se a pressão parcial de O₂ estiver abaixo do limite mínimo necessário para a produção de energia para manter o metabolismo básico, a célula pode iniciar a respiração anaeróbica, com produção de etanol e aldeído acético. Se este processo ocorrer demasiadamente, a célula pode entrar em colapso energético, resultando na degenerescência de polpa (FRANCK et al., 2007). A incidência deste distúrbio é atribuída à toxidez por CO₂ e à deficiência de O₂ (FRANCK et al., 2007), principalmente em função das taxas de difusão e solubilização desses gases (YEARSLEY et al., 1997). A deficiência na difusão ou solubilização de gases poderia provocar locais com hipóxia ou mesmo anóxia, resultando na mudança do metabolismo aeróbico, para o metabolismo fermentativo, com acúmulo de CO₂, etanol, aldeído acético e etil acetato e com baixo rendimento de energia na forma de ATP. A falta de energia metabólica (SAQUET, 2000) aliada à menor produção de compostos antioxidantes, como ácido ascórbico, glutathione redutase, ascorbato peroxidase, superóxido dismutase, entre outros, diminui a remoção de espécies reativas ao oxigênio que causam danos aos lipídeos de membranas (LENTHERIC et al., 1999; VELTMAN et al., 1999; VELTMAN et al., 2000;

LARRIGAUDIÈRE et al., 2001; ZERBINI et al., 2002; FRANCK et al., 2003a). Isso acontece porque os compostos antioxidantes requerem potencial redutor ou o pleno funcionamento da rota aeróbica para serem produzidos. Quando há danos nas membranas, elas sofrem diminuição da permeabilidade seletiva. Ocorre então a migração dos polifenóis, concentrados nos vacúolos, para o citoplasma, onde está localizada a enzima polifenoloxidase (NICOLAS et al., 1994; DIXON; PAIVA, 1995). A oxidação enzimática dos substratos fenólicos em *o*-quinonas, resulta no escurecimento da polpa, pois esses compostos são altamente reativos e formam polímeros de cor marrom (MATHEW; PARPIA, 1971; MAYER, 1987).

Tabela 7 – Incidência de polpa farinácea e de degenerescência de polpa em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses em diferentes condições de atmosfera controlada e temperatura e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.

O ₂ + CO ₂ (kPa)	Polpa Farinácea (%)				Degenerescência de polpa (%)			
	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média
	1,0 + 2,0	26,7	30,3	16,3	24,4 b*	35,9 a	17,7 ab	5,0 c
0,8 + 2,0	42,5	38,0	17,8	32,8 a	36,3 a	17,8 ab	8,9 c	21,0
0,8 + 1,5	34,1	29,1	20,3	27,8 ab	28,9 ab	14,0 b	10,2 bc	17,7
0,6 + 1,5	28,6	29,4	11,4	23,1 b	27,2 ab	14,0 b	19,2 ab	20,1
0,6 + 1,0	27,5	32,5	17,8	25,9 b	25,0 b	27,5 a	22,7 a	25,1
Média	31,9 A	31,9 A	16,7 B		30,1 A	18,2 B	13,2 C	
CV (%)	11,51				14,54			

* Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula na vertical (condições de atmosfera controlada) e maiúscula na horizontal (média das temperaturas) diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A acidez titulável total e o teor de sólidos solúveis totais não diferiram estatisticamente nas temperaturas testadas. Entretanto, houve diferença estatística nas diversas condições de ULO. Para a temperatura de 0,0°C a condição de 0,8kPa O₂ combinado com 2,0kPa CO₂ causou maior consumo de ácidos no metabolismo do fruto. Na temperatura de 0,5°C a condição de 0,6kPa O₂ com 1,5kPa CO₂ proporcionou maior manutenção da acidez

titulável. Já na temperatura de 1,0°C a condição de 1,0kPa O₂ com 2,0kPa CO₂ manteve o maior conteúdo de ácidos (Tabela 8). Na temperatura de 1,0°C, os teores de SST foram menores quando foi usada a pressão parcial de 0,6kPa O₂ (Tabela 8). A concentração de ácidos e açúcares reflete em parte a magnitude do metabolismo respiratório dos frutos. Os ácidos de três carbonos, como o ácido málico, predominante na maçã, são diretamente metabolizados no ciclo dos ácidos tricarboxílicos (ciclo de Krebs) (SWEETMAN et al., 2009), entretanto, essa relação não foi claramente observada neste trabalho. Ceretta (2003) não observou diferenças nos teores de SST e acidez titulável em maçãs ‘Gala’ armazenadas em pressões parciais de 0,4 a 1,0kPa O₂ por oito meses e expostas por mais sete dias a 20°C.

Tabela 8 – Acidez titulável total (ATT) e sólidos solúveis totais (SST) em maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por 8 meses em diferentes condições de atmosfera controlada e temperatura e expostas por mais 7 dias a 20°C. Santa Maria, 2008.

O ₂ + CO ₂ (kPa)	ATT (meq 100 mL ⁻¹)				SST (°Brix)			
	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média	0,0 °C	0,5°C	1,0°C	Média
Análise inicial**	5,1				11,8			
1,0 + 2,0	3,95 a*	3,85 ab	4,05 a	3,95	13,10 a	13,20 a	13,10 a	13,25
0,8 + 2,0	3,55 b	3,80 b	3,90 ab	3,75	12,85 a	13,00 a	13,15 a	13,00
0,8 + 1,5	3,82 a	3,75 b	3,70 b	3,76	12,90 a	12,95 a	13,15 a	13,00
0,6 + 1,5	3,95 a	4,10 a	3,87 ab	3,98	13,10 a	13,15 a	12,75 b	13,00
0,6 + 1,0	3,90 a	3,75 b	3,82 ab	3,82	13,10 a	13,10 a	12,70 b	12,97
Média	3,83 A	3,85 A	3,87 A		13,08 A	13,08 A	12,97 A	
CV (%)	1,41				0,58			

* Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula na vertical (condições de atmosfera controlada) e maiúscula na horizontal (média das temperaturas) diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

** Análise inicial foi realizada antes da armazenagem dos frutos.

4.2.2 Conclusões

Maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas sob pressões parciais de O_2 abaixo de 0,8kPa não mantêm a qualidade pós-armazenagem, provavelmente, pela indução da respiração anaeróbica, causando danos aos frutos.

O armazenamento na temperatura de 1,0°C proporciona melhor qualidade da maçã ‘Royal Gala’ após oito meses de armazenagem e mais sete dias de exposição à temperatura de 20°C.

A melhor condição de ULO para frutos armazenados na temperatura de 1,0°C é de 1,0kPa O_2 aliado a 2,0kPa de CO_2 .

A interação entre condições de ULO e temperatura de armazenamento evidencia necessidade de aumento das pressões parciais de O_2 quando a temperatura de armazenamento é mais elevada.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação de aldeído acético ou altas doses de etanol ($0,5\text{mL}$ de etanol kg^{-1} de fruto mês^{-1}) causam perda da qualidade de maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas por oito meses em atmosfera controlada. Entretanto, a dose menor de etanol ($0,3\text{mL}$ kg^{-1} de fruto mês^{-1}) resulta na manutenção da qualidade pós-armazenagem de maçãs ‘Royal Gala’.

A redução da umidade relativa do ar (BUR) potencializou o efeito da aplicação de $0,3\text{mL}$ de etanol kg^{-1} de fruto mês^{-1} , entretanto, seu uso isolado, apresentou pouco efeito sobre a manutenção da qualidade da maçã ‘Royal Gala’.

Pressões parciais ultrabaixas de O_2 (abaixo de $0,8\text{kPa}$) não mantém a qualidade pós-armazenagem de maçãs ‘Royal Gala’.

O armazenamento na temperatura de $1,0^\circ\text{C}$ proporciona melhor qualidade da maçã ‘Royal Gala’ após oito meses de armazenagem e mais sete dias de exposição à temperatura de 20°C . Nesta temperatura a melhor condição de ULO para frutos armazenados de ‘Royal Gala’ é de $1,0\text{kPa}$ O_2 aliado a $2,0\text{kPa}$ de CO_2 . Se a temperatura de armazenamento usada for de $0,5^\circ\text{C}$ a melhor pressão parcial de O_2 é de $0,8\text{kPa}$ associada com $1,5\text{kPa}$ de CO_2 .

A interação entre condições de ULO e temperatura de armazenamento evidencia necessidade de aumento das pressões parciais de O_2 na atmosfera de armazenagem quando a temperatura de armazenamento é mais elevada.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira**. [S.l.]: FNP, 2009. 497 p.

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

ALVES, E. O. et al. Armazenamento refrigerado de ameixas 'Laetitia' com uso de 1-MCP e indução de perda de massa fresco. **Ciência Rural**, v. 40, n.1, 2010.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

ARGENTA, L. C.; FAN, X.; MATTHEIS, J. P. Responses of 'Fuji' apples to short and long duration exposure to elevated CO₂ concentration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p. 13-24, 2002.

ASODA, T. et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, p. 216-220, 2009.

BAI, J. et al. Effect of pretreatment of intact 'Gala' apple with ethanol vapor, heat, or 1-methylcyclopropene on quality and shelf life of fresh-cut slices. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 129, n. 4, p. 583-593, 2004.

BANKS N. H.; CUTTING, J. G. M.; NICHOLSON, S. E. Approaches to optimising surface coatings for fruits. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 25, p. 261-272, 1997.

BANKS, N. H.; DADZIE, B. K.; CLELAND, D. J. Reducing gas exchange of fruits with surface coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 3, p. 269-284, 1993.

BARTLEY, I. M. et al. Synthesis of aroma compounds by apples supplied with alcohols and methyl esters of fatty acids. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 36, p. 567-574, 1985.

BEAULIEU, J. C.; PEISER, G.; SALTVEIT, M. E. Acetaldehyde is a causal agent responsible for ethanol-induced ripening inhibition in tomato fruit. **Plant Physiology**, v. 113, p. 431-439, 1997.

BENNETT, A. B.; CHRISTOFERSEN, R. E. Synthesis and processing of cellulase from ripening avocado fruit. **Plant Physiology**, v. 81, p. 830-835, 1986.

BEN-YEHOSHUA, S. Transpiration, water stress and gas exchange. In: WEICHMANN, J. **Postharvest physiology of vegetables**. New York : Marcel Dekker, 1987. p. 113-170.

BERGER, R. G.; DRAWERT, F. Changes in the composition of volatiles by postharvest application of alcohols to Red Delicious apples. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 35, p. 1318-1325, 1984.

BIALE, J. B. Growth, maturation and senescence in fruits. **Science**, v. 146, p. 880-888, 1964.

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

BLEECKER A. B.; KENDE H. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 16, p. 1-18, 2000.

BOAMFA, E. I. et al. Trace gas detection from fermentation in apples; an intercomparison study between proton-transfer-reaction mass spectrometry and laser photoacoustics. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 239, p. 193-210, 2004.

BONGHI, C. et al. Peach fruit ripening and quality in relation to picking time, and hypoxic and high CO₂ short-term postharvest treatments. **Postharvest Biology and Technology**, v. 16, p. 213–222, 1999.

BRACKMANN, A. **Einfluss von Lagerung unter Kontrollierter Atmosphäre (CA) und Ethylenbehandlungen auf verschiedene Merkmale der Fruchtreife unter besonderer Berücksichtigung der Aromabildung bei Äpfeln**. 1990. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Univesität Hohenheim, Alemanha, 1990.

BRACKMANN, A. et al Armazenamento de maçã ‘Royal Gala’ sob diferentes concentrações de etileno. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 6, n. 1, p. 39-41, 2000b.

BRACKMANN, A. et al Qualidade da maçã ‘Gala’ armazenada em atmosfera controlada associada à absorção e ao controle da síntese e da ação do etileno. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2151-2156, 2008.

BRACKMANN, A. et al. A. Indução da perda de massa fresca e a ocorrência de distúrbios fisiológicos em maçãs 'Royal Gala' durante o armazenamento em atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Armazenamento**, n. 2, v. 32, p. 87-92, 2007b.

BRACKMANN, A. et al. Armazenamento de maçã 'Gala' em atmosfera controlada com remoção de etileno. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, p. 647-650, 2003.

BRACKMANN, A. et al. Armazenamento de maçãs 'Royal Gala' sob diferentes temperaturas e pressões parciais de oxigênio e gás carbônico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 532-536, 2001.

BRACKMANN, A. et al. Armazenamento em atmosfera controlada de maçãs mutantes da cultivar Gala. **Revista Brasileira de Armazenamento**, 2009a. No prelo.

BRACKMANN, A. et al. Manejo do etileno e sua relação com a maturação de maçãs 'Gala' armazenadas em atmosfera controlada. **Bragantia**, v. 68, n. 2, p. 519-525, 2009b.

BRACKMANN, A. et al. Manutenção da qualidade pós-colheita de maçãs 'Royal Gala' e 'Galaxy' sob armazenamento em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p. 2478-2484, 2008.

BRACKMANN, A. et al. Qualidade da maçã cv. Gala tratada com 1-metilciclopropeno. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1415-1420, 2004.

BRACKMANN, A. et al. Qualidade de maçãs cv. Gala armazenadas em diferentes pressões parciais de O₂ e CO₂. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 2, p. 195-198, 2000a.

BRACKMANN, A. et al. Substituição do 1-metilciclopropeno pela instalação rápida das condições de atmosfera controlada em maçãs 'Fuji'. **Revista Brasileira de Armazenamento**, n. 1, v. 32, p. 38-43, 2007a.

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

BUFLER, G. Ethylene-promoted conversion of 1-aminocyclopropene-1-carboxylic acid to ethylene in peel of apple at various stages of fruit development. **Plant Physiology**, v. 80, p. 539-543, 1986.

BURDON, J. N. et al. Acetaldehyde inhibition of ethylene biosynthesis in mango fruit, **Postharvest Biology and Technology**, v. 8, p. 153-161, 1996.

BÜRSTENBINDER, K. et al. The role of methionine recycling for ethylene synthesis in Arabidopsis. **The Plant Journal**, v.49, p. 238-249, 2007.

CERETTA, M. **Tolerância de maçã ‘Gala’ e ‘Fuji’ a baixas temperaturas e extremas pressões parciais de O₂ e CO₂ durante o armazenamento em atmosfera controlada.** 2003. 70 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2003.

CHANG, W. W. P. et al. Patterns of protein synthesis and tolerance of anoxia in root tips of maize seedlings acclimated to a low oxygen environment, and identification of proteins by mass spectrometry. **Plant Physiology**, v. 122, p.295-317, 2000.

CHEN, A. R. S.; CHASE, T. Alcohol dehydrogenase and pyruvate decarboxylase induction in ripening and hypoxic tomato fruit. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 31, p. 875-885, 1993.

CHEN, S. X.; SCHOPFER, P. Hydroxyl-radical production in physiological reactions. A novel function of peroxidase. **European Journal of Biochemistry**, v. 260, n. 3, p. 726–735, 1999.

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

CHOI, H. K. et al. Effects of shelf temperature on the fruit quality of muskmelon after storage. **Korean Journal of Horticultural Science & Technology**, n. 2, v. 19, p. 135-139, 2001.

CHRISTOFERSEN, R. E.; TUCHER, M. L.; LATIES, G. G. Cellulase gene expression in ripening avocado fruit: The accumulation of cellulose mRNA and protein as demonstrated by cDNA hybridization and immunodetection. **Plant Molecular Biology**, v. 3, p. 385-391, 1984.

COHEN, E.; SHALOM, Y.; ROSENBERGER, I. Postharvest ethanol buildup and off-flavor in ‘Murcott’ tangerine fruits. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, p. 775-778, 1990.

COHEN, E.; SHUALI, M.; SHALOM, Y. Effect of intermittent warming on the reduction of chilling injury of ‘Villa Franca’ lemon fruits stored at cold temperature. **Journal of Horticultural Science**, v. 58, p. 593-598, 1983.

CORRENT, A. R. et al. Efeito do 1-metilciclopropeno na conservação de maçãs 'Royal Gala' em ar refrigerado e atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 217-221, 2004.

COSSINS, E. A. Ethanol metabolism in plants. In: HOOK, D.D.; CRAWFORD, R.M.M. (Eds.). **Plant life in anaerobic environments**. Michigan : Ann Arbor Science Publishers, 1978. p. 169-202.

DeELL, J. R. et al. Influence of 1-methylcyclopropene (1-MCP), diphenylamine (DPA), and CO₂ concentration during storage on 'Empire' apple quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 38, n. 1, p. 1-8, 2005.

DeLONG, J. M. et al. A new technology that determines low-oxygen thresholds in controlled-atmosphere-stored apples. **HortTechnology**, v. 14, p. 262-266, 2004.

De SMEDT, V. et al. Microscopic observation of mealiness in apples: a quantitative approach. **Postharvest Biology and Technology**, v. 14, p. 151-158, 1998.

DIJKINK, B. H. et al. Humidity control during bell pepper storage, using a hollow fiber membrane contactor system. **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, n. 3, p. 311-320, 2004.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, v. 7, p. 1085-1097, 1995.

DOLFERUS, R. et al. Enhancing the anaerobic response. **Annals of Botany**, v. 91, p. 111-117, 2003.

DONG, J. G.; FERNÁNDEZ-MACULET, J. C.; YANG, S. F. Purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase from apple fruit. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, p. 9789-9793, 1992.

DORI, S. et al. Effect of anaerobiosis on aspects of avocado fruit ripening. **Acta Horticulturae**, v. 379, p. 129-136, 1995.

DÖRR, A. C.; MARQUES, P. V. Exigências dos consumidores europeus em relação à maçã gaúcha, na visão dos exportadores. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 8, n. 1, p. 40-48, 2006.

DOVER, C. J. The principles of effective low ethylene storage. **Acta Horticulturae**, v. 258, p. 25-36, 1989.

DREW, M. C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 223-250, 1997.

EBERT, A. Distúrbios fisiológicos. In: EMPASC (Florianópolis, SC). **Palestras do II curso sobre a cultura da macieira**. Caçador : EMPASC, 1984. p. 129-134.

EL-SHEIKH ALY, M. M. et al. The effectiveness of fumigants and biological protection of peach against fruit rots. **Assiut journal for Agricultural Science**, v. 3, p. 19-31, 2000.

FAN, X. T.; BLANKENSHIP, S. M.; MATTHEIS, J. P. 1-methylcyclopropene inhibits apple ripening. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 124, n. 6, p. 690-695, 1999.

FAN, X. T.; MATTHEIS, J. P. Methyl jasmonate promotes apple fruit degreening independently of ethylene action. **HortScience**, n. 34, p. 310-312, 1999

FELICIANO, A. et al. Efficacy of ethanol in postharvest benomyl-DCNA treatments for control of brown rot of peach. **Plant Diseases**, v. 76, p. 226-229, 1992.

FERNANDEZ-TRUJILLO, J. P.; NOCK, J. F.; WATKINS, C. B. Superficial scald, carbon dioxide injury, and changes of fermentation products and organic acids in 'Cortland' and 'Law Rome' apples after high carbon dioxide stress treatment. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 126, p. 235-241, 2001.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows: versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Resumos...** São Carlos: UFScar, 2000. p. 235.

FIDLER, J. C. The metabolism of acetaldehyde by plant tissues. **Journal of Experimental Botany**, v.19, p.1-51, 1968.

FIDLER, J. C.; NORTH, C. J. The effect of periods of anaerobiosis on the storage of apples. **Journal for Horticultural Science**, v. 46, p. 221-231, 1971.

FOREMAN, J. et al. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. **Nature**, v. 422, p. 442-446, 2003.

FRANCK, C. et al. Ascorbic acid mapping to study core breakdown. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, p. 133-142, 2003a.

FRANCK, C. et al. Browning disorders in pear fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 43, p. 1-13, 2007.

FRENKEL, C.; PATTERSON, M. E. Effect of carbon dioxide on activity of succinic dehydrogenase in 'Bartlett' pears during cold storage. **HortScience**, v. 8, p. 395-396, 1973.

FUKAO, T.; BAILEY-SERRES, J. Plant responses to hypoxia - is survival a balancing act? **Trends Plant Science**, v. 9, p. 449-456, 2004.

FUKASAWA, A. et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on activities and gene expression of chlorophyll catabolic enzymes in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, n. 2, p. 97-102, 2010.

GAMAGE, T. V.; RAHMAN, M. S. Post harvest handling of foods of plant origin. RAHMAN, S.; RAHMAN, M. S. **Handbook of Food Preservation**. New York : Marcel Dekker Inc., 1999. p. 11-46

GEIGENBERGER, P. et al. Metabolic activity decreases as an adaptive response to low internal oxygen in growing potato tubers. **Biological Chemistry**, v. 381, n. 6, p. 723-740, 2000.

GEIGENBERGER, P. Response of plant metabolism to too little oxygen. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 6, p. 247-256, 2003.

GHAHAMANI, F.; SCOTT, K. J. The action of ethanol in controlling superficial scald of apples. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 49, p. 199-205, 1998.

GILLIVER, P. J.; NURSTEN, H. E. The source of the acyl moiety in the biosynthesis of volatile banana esters, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 27, p. 152-158, 1976.

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

GORNY, J. R.; KADER, A. A. Low oxygen and elevated carbon dioxide atmospheres inhibit ethylene biosynthesis in preclimacteric and climacteric apple fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 122, p. 542-546, 1997.

GRAN, C. D.; BEAUDRY, R. M. Determination of the low oxygen limit for several commercial apple cultivars by respiratory quotient breakpoint. **Postharvest Biology and Technology**, v. 3, p. 259-267, 1993.

GUO, H. W.; ECKER, J. R. The ethylene signaling pathway: new insights. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p. 40-49, 2004.

GUPTA, K. J.; ZABALZA, A.; Van DONGEN, J. T. Regulation of respiration when the oxygen availability changes. **Physiologia Plantarum**, v. 137, n .4, p. 383-391 , 2009.

HAN, J. H. et al. Physiology and quality responses of fresh-cut broccoli florets pretreated with ethanol vapor. **Journal of Food Science**, v. 71, p. 385-389, 2006.

HARRIS, S.; REID, M. S. **Techniques for improving the storage life of kiwifruit (*Actinidia chinensis*)**. Auckland : Auckland Industrial Development Division, 1981. 23 p. (Publication G120).

HEINS, R. D.; BLAKELY, N. Influence of ethanol on ethylene biosynthesis and flower senescence of cut carnation. **Scientia Horticulturae**, v. 13, p. 361-369, 1980.

HEWAGE, K. S.; WAINWRIGHT, H.; LUO, Y. Effect of ethanol and acetaldehyde on banana ripening. **Journal of Horticultural Science**, v. 70, p. 51-55, 1995.

HIRAI, J.; HIRATA, N.; HORIUCHI, S. Effect of deification on hastening the maturity of the fig fruit. VI. Respiration and changes in concentrations of metabolic substances in the treated fruits with products in oxidative process of fatty acid such as acetaldehyde or ethylene, **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 37, p. 20-29, 1968.

HIWASA, K. et al. Ethylene is required for both the initiation and progression of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 771-779, 2003.

HO, Q. T. et al. A permeation-diffusion-reaction model of gas transport in cellular tissue of plant materials. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 4215-4224, 2006b.

HO, Q. T. et al. Gas diffusion at different positions in the pear. **Postharvest Biology and Technology**, v. 41, p. 113-120, 2006a.

HODGES D. M. et al. Oxidative stress: importance for postharvest quality. **HortScience**, v. 39, n. 5, p. 924-929, 2004.

HONG, S. -I.; KIM, D. -M. Influence of oxygen concentration and temperature on respiratory characteristics of fresh-cut green onion. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, p. 283-289, 2001.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal** : área plantada, área colhida, quantidade produzida e valor da produção da lavoura permanente. Rio de Janeiro: IBGE, 2008.

IMAHORI, Y. et al. Regulation of fermentative metabolism in tomato fruit under low oxygen stress. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 78, p. 386-393, 2003.

INABA, A. Studies on the internal feedback regulation of ethylene biosynthesis and signal transduction during fruit ripening, and the improvement of fruit quality. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 76, p. 1-12, 2007.

JAMIESON, L. E. et al. Effect of ethanol vapor treatments on lightbrown apple moth larval mortality and 'Braeburn' apple fruit characterization. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p. 391-403, 2003.

JANES, H. W.; CHIN, C.; FRENKEL, C. Respiratory upsurge in blueberries and strawberries as influenced by ethylene and acetaldehyde. **Botanical Gazette**, v. 139, p. 50-52, 1978.

JANISIEWICZ, W. J. Ecological diversity, niche overlap, and coexistence of antagonists used in developing mixtures for biocontrol of post-harvest diseases of apples. **Phytopathology**, v. 86, p. 473-479, 1996.

JIMÉNEZ, A. et al. Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. **Planta**, v. 214, p. 751-758, 2002.

JOHN, P. Ethylene biosynthesis: the role of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase, and its possible evolutionary origin. **Physiologia Plantarum**, v. 100, p. 583-592, 1997.

JOHNSON, D. S.; ALLEN, J. G.; WARMAN, T. M. Post-harvest application of diphenylamine and ethoxyquin for the control of superficial scald on Bramley's seedling apples. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 31, n. 11, p. 1189-1194, 1980.

JOHNSON, G. I. et al. Postharvest technology and quarantine treatments. In: LITZ, R.E. (Ed.). **The mango: botany, production and uses**. Wallingsford : CAB International, 1997. p. 447-507

KADER, A. A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. **Food Technology**, v. 40, p. 99-104, 1986.

KADER, A. A.. **Postharvest technology of horticultural crops**. 3rd ed. Oakland : University of California, 2002. 580 p.

KANELIS, A. K.; SOLOMOS, T.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A. Suppression of cellulase and polygalacturonase and induction of alcohol dehydrogenase isoenzymes in avocado fruit mesocarp subjected to low oxygen stress. **Plant Physiology**, v. 96, p. 269-274, 1991.

KARABULUT, O. A. et al. Near-harvest applications of *Metschnikowia fructicola*, ethanol, and sodium bicarbonate to control postharvest diseases of grape in central California. **Plant Diseases**, v. 87, p. 1384-1389, 2003.

KE, D. et al. Regulation of fermentative metabolism in avocado fruit under oxygen and carbon dioxide stresses. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 120, n. 3, p. 481-490, 1995.

KE, D. et al. Carbon dioxide action on metabolism of organic and amino acids in crisphead lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 3, p. 235-247, 1993.

KE, D.; RODRIGUES-SINOBAS, L.; KADER, A. A. Physiology and prediction of fruit tolerance to low-oxygen atmosphere. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 116, n. 2, p. 253-260, 1991.

KELLY, M. O.; SALTVEIT, M. E. Effect of endogenously synthesized and exogenously applied ethanol on tomato fruit ripening. **Plant Physiology**, v. 88, p. 143-147, 1988.

KENDE, H. Ethylene biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, v. 44, p. 238-307, 1993.

KERBEL, E. L.; KADER, A. A.; ROMANI, R. J. Effect of elevated CO₂ concentrations on glycolysis in intact 'Bartlett' pear fruit. **Plant Physiology**, v. 86, p. 1205-1209, 1988.

KIDD, E.; WEST, E. A relationship between the concentration of oxygen and carbon dioxide in the atmosphere, rate of respiration and length of storage in apples. Report of the **Food Investment Board 1925 and 1926**, p. 41-45, 1927.

KLOK, E. J. et al. Expression profile analysis of the low-oxygen response in Arabidopsis root cultures. **Plant Cell**, v. 14, p. 2481-2494, 2002.

KNEE, M. Effects of controlled atmosphere storage on respiratory metabolism of apple fruit tissue. **Journal of Science Food Agile**, v. 24, p. 1289-1298, 1973.

KNEE, M. et al. Initiation of rapid ethylene synthesis by apple and pear fruits in relation to storage temperature. **Journal of Experimental Botany**, v. 34, p. 1207-1212, 1983.

KNEE, M.; HATFIELD, S. G. S. The metabolism of alcohols by apple fruit tissue. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 32, p. 593-600, 1981.

LAMMERTYN, J. et al. A respiration-diffusion model for Conference pears I: model development and validation, **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, p. 29-42, 2003.

LARRIGAUDIÈRE, C. et al. Involvement of oxidative processes in the development of core browning in controlled atmosphere pears. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 76, p. 157-162, 2001.

LAU, O. L. Efficacy of diphenylamine, ultra-low oxygen, and ethylene scrubbing on scald control in 'Delicious' apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, p. 959-961, 1990.

LAU, O. L. Influence of climate, harvest maturity, waxing, O₂ and CO₂ on browning disorder of Braeburn apples. In: INTERNATIONAL CONTROLLED ATMOSPHERE RESEARCH CONFERENCE, 7., 1997, Davis, USA. **Proceedings...** Davis : University of California, 1997. v. 2, p. 126-131.

LAU, O. L. Storage procedures, low oxygen and low carbon dioxide atmospheres on storage quality of 'Golden Delicious' and 'Delicious' apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 110, p. 541-547, 1985.

LELIÈVRE, J. M. et al. Ethylene and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, v. 101, p. 727-739, 1997.

LENHINGER, A. L. et al. **Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2004. 839 p.

LENTHERIC, I. et al. Harvest date affects the antioxidative systems in pear fruits. **The Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 74, p. 791-795, 1999.

LI, Z.; GEMMA, H.; IWAHORI, S. Stimulation of 'Fuji' apple skin color by ethephon and phosphorus-calcium mixed compounds in relation to flavonoid synthesis. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 94, n. 1-2, p. 193-199, 2002.

LICHTER, A. et al. Ethanol controls postharvest decay of table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p. 301-308, 2002.

LIDSTER, P. D. Storage humidity influences fruit quality and permeability to ethane in 'McIntosh' apples stored in diverse controlled atmospheres. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 114, n. 1, p. 94-96, 1990.

LITTLE, C. R. ; BARRAND, L. The effect of preharvest, postharvest and storage conditions on some fruit disorders. In: INTER. CONTROLLED ATMOSPHERE RESEARCH CONFERENCE, 5., Washington, 1989. **Proceedings...** Washington, 1989. v. 1, p. 185-192.

LITTLE, C. R. ; PEGGIE, I. A. Storage injury of pome fruits caused by stress levels of O₂, CO₂, temperature and ethylene. **HortScience**, v. 22, p. 783-790, 1987.

LITTLE, C. R. ; TAYLOR, H. J. ; McFARLANE, F. Postharvest storage factors affecting superficial scald and core flush of 'Granny Smith' apples. **HortScience**, v. 20, p. 1080-1082, 1985.

LIU, S. et al. Effects of CO₂ on respiratory metabolism in ripening banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 27-34, 2004.

LIU, Y.; HOFFMAN, N. E.; YANG, S. F. Promotion by ethylene of the capability to convert ethylene in preclimacteric tomato and cantaloupe fruits. **Plant Physiology**, Rockville, v. 77, p. 407-411, 1985.

LOPEZ, M. L. et al. Changes in aroma quality of 'Golden Delicious' apples after storage at different oxygen and carbon dioxide concentrations. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 311-324, 2000.

LOULAKAKIS, C. A. et al. Effects of low oxygen on *in vitro* translation products of poly(A)⁺ RNA, cellulase and alcohol dehydrogenase expression in preclimacteric and ripening-initiated avocado fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, p. 29-37, 2006.

LURIE, S.; PESIS, E. Effect of acetaldehyde and anaerobiosis as postharvest treatments on the quality of peaches and nectarines. **Postharvest Biology and Technology**, v. 1, p. 317-326, 1992.

MANRIQUEZ, D. et al. Two highly divergent alcohol dehydrogenases of melon exhibit fruit ripening-specific expression and distinct biochemical characteristics. **Plant Molecular Biology**, v. 61, p. 675-685, 2006.

MARGOSAN, D. A. et al. Combination of hot water and ethanol to control postharvest decay of peaches and nectarines. **Plant Disease**, v. 81, p. 1405-1409, 1997.

MARTINS, C. R.; FARIAS, R. de M. Produção de alimentos x desperdício: tipos, causas e como reduzir perdas na produção agrícola – revisão. Revista da **Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia de Uruguaiana**, v. 9, n. 1, p. 20-32, 2002.

MATHEW, A. G.; PARPIA H. A. B. Food browning as a polyphenol reaction. **Advanced Food Research**, v. 19, p. 75-145, 1971.

MATHEWS, C. K.; Van HOLDE, K. E. **Biochemistry**. 2nd ed. Menlo Park : The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1996. 1159 p.

MATHOOKO, F. M. Review - Regulation of respiratory metabolism in fruits and vegetables by carbon dioxide. **Postharvest Biology and Technology**, v.9, p.247-264, 1996b.

MATHOOKO, F. M. Review - Regulation of ethylene biosynthesis in higher plants by carbon dioxide. **Postharvest Biology and Technology**, v. 7, p. 1-26, 1996a.

MAYER, A. M. Polyphenoloxidase in plants-recent progress. **Phytochemistry**, v. 26, p. 11-20, 1987.

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

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MIYAZAKI, J. H.; YANG, S. F. The methionine salvage pathway in relation to ethylene and polyamine biosynthesis. **Physiologia Plantarum**, v. 69, p. 366-370, 1987.

MIZUTANI, F.; DONG, J. G.; YANG, S. Effect of pH on CO₂ - activated 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase activity from apple fruit. **Phytochemistry**, v. 39, n. 4, p. 751-755, 1995.

MONNING, A. Studies on the reaction of Kreb's cycle enzymes from apple tissue (cv. Cox Orange) to increased levels of CO₂. **Acta Horticulturae**, v. 138, p. 113-119, 1983.

MORI, T. et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on the ascorbate–glutathione cycle in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, p. 134-136, 2009.

NATH, P. et al. Role of ethylene in fruit ripening In: KHAN, N.A. (Ed.). **Ethylene Action in Plants**. Berlin/Heidelberg : Springer-Verlog, 2006. p. 151-176.

NICOLAS, J. J. et al. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 34, p. 109-157, 1994.

NORMAN, S. M. The role of volatiles in storage of citrus fruits. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, v. 1, p. 238-242, 1977.

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

OR, E. et al. Fermentative metabolism in grape berries: isolation and characterization of pyruvate decarboxylase cDNA and analysis of its expression throughout berry development. **Plant Science**, v. 156, p. 151-158, 2000.

PARK, Y. M. Seasonal changes in resistance to gas diffusion of 'McIntosh' apples in relation to development of lenticels structure. **Journal of the Korean Society for Horticulture Science**, v. 32, p. 329-334, 1991.

PATTERSON, M. E. Handling Granny Smith apples: The biology and storage technology for maximum storage. In: INTERNATIONAL CONTROLLED ATMOSPHERE RESEARCH CONFERENCE, 5., 1989, Washington. **Proceedings...**, Washington, 1989. v. 1, p. 7-11.

PAYASI, A. et al. Biochemistry of fruit softening: an overview. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 15, n. 2, p. 103-113, 2009.

PEDRESCHI, R. et al. Metabolic profiling of 'Conference' pears under low oxygen stress. **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, p. 123-130, 2009.

PEREIRA, T. et al. Gas diffusion in 'Golden' papaya fruit at different maturity stages. **Postharvest Biology and Technology**, v. 54, p. 123-130, 2009.

PESIS, E.; AVISSAR, I. Effect of postharvest application of acetaldehyde vapour on strawberry decay, taste, and certain volatiles. **Journal of the Science for Food and Agriculture**, v. 52, p. 377-385, 1990.

PESIS, E.; AVISSAR, I. The postharvest quality of orange fruits as affected by prestorage treatments with acetaldehyde vapors or anaerobic conditions. **Journal of Horticultural Science**, v. 64, p. 107-113, 1989.

PESIS, E. et al. Production of acetaldehyde and ethanol during maturation and modified atmosphere storage of litchi fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 26, p. 157-165, 2002.

PESIS E.; FAIMAN, D.; DORI, S. Postharvest effects of acetaldehyde vapour on ripening-related enzyme activity in avocado fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 13, p. 245-253, 1998.

PESIS, E.; MARINANSKY, R. Carbon dioxide and ethylene production in response to acetaldehyde and ethanol treatments in grapes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 117, p. 110-113, 1992.

PESIS, E. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, p. 1-19, 2005.

PETRACEK, P. D. Modified atmosphere packaging of sweet cherry (*Prunus avium* L., cv. 'Sams') fruit: metabolic responses to oxygen, carbon dioxide, and temperature. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p. 259-270, 2002.

PINTO, E. et al. Role of fermentative and antioxidant metabolisms in the induction of core browning in controlled-atmosphere stored pears. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 364-370, 2001.

PLAXTON, W. C. The organization and regulation of plant glycolysis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 47, p. 185-214, 1996.

PODD, L. A.; Van STADEN, J. Is acetaldehyde the causal agent in the retardation of carnation flower senescence by ethanol? **Journal of Plant Physiology**, v. 154, n. 3, p. 351-354, 1999.

PODD, L. A.; Van STADEN, J. The role of ethanol and acetaldehyde in flower senescence and fruit ripening – A review. **Plant Growth Regulation**, v. 26, p. 183-189, 1998.

PONCE-VALADEZ, M.; WATKINS, C. B. Fermentation and malate metabolism in response to elevated CO₂ concentrations in two strawberry cultivars. **Physiologia Plantarum**, v. 134, p. 121-133, 2008.

PORAT, R. et al. Effects of intermittent warming and temperature conditioning on the postharvest quality of 'Oroblanco' citrus fruit following long-term cold storage. **HortTechnology**. V .13, p. 70-74, 2003.

PRANGE, R. K. et al. Innovation in controlled atmosphere technology. **Stewart Postharvest Review**, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2005.

PRANGE, R. K. et al. Oxygen concentration affects chlorophyll fluorescence in chlorophyll-containing fruit and vegetables. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 128, p. 603-607, 2003.

PRANGE, R. K.; DeLONG, J. M.; HARRISON, P. A. Storage humidity and post-storage handling temperature affect bruising and other apple quality characteristics. **Acta Horticulturae**, v. 553, p. 717-720, 2001.

PRASANNA, V.; PRABHA, T. N.; THARANATHAN, R. N. Fruit Ripening Phenomena-An Overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n. 1, p. 1-19, 2007.

PUN, U. K. et al. The role of ethanol or acetaldehyde in the biosynthesis of ethylene in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) cv. Yellow Candy. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, p. 235-239, 2001.

RAJAPAKSE, N. C. et al. Development of oxygen concentration gradients in flesh tissues of bulky plant organs. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, p. 793-797, 1990.

REENTZ, E. R. et al. **Anuário brasileiro da fruticultura**. Santa Cruz do Sul : Gazeta Santa Cruz, 2009. 128 p.

REEVE, R. M. Relationships of histological structure to texture of fresh and processed fruits and vegetables. **Journal of Texture Studies**, v. 1, p. 247-284, 1970.

RITENOUR, M. A. et al. Ethanol effects on the ripening of climacteric fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 12, p. 35-42, 1997.

ROBERTS, J. K. M. et al. Contribution of malate and amino acid metabolism to cytoplasmic pH regulation in hypoxic maize root tips studied using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Plant Physiology**, v. 98, n. 2, p. 480-487, 1992.

ROMANAZZI, G.; KARABULUT, O. A.; SMILANICK, J. L. Combination of chitosan and ethanol to control postharvest gray mold of table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, p. 134-140, 2007.

ROMO-PARADA, L. et al. Effect of controlled atmospheres (low oxygen, high carbon dioxide) on storage of cauliflower (*Brassica oleracea* L., Botrytis group). **Journal of Food Science**, v. 54, p. 122-124, 1989.

SAAB, I. N.; SACHS, M. M. A flooding-induced xyloglucan endotransglycosylase homolog in maize is responsive to ethylene and associated with aerenchyma. **Plant Physiology**, v. 112, p. 385-391, 1996.

SALTVEIT, M. E. Effect of alcohols and their interaction with ethylene on the ripening of epidermal pericarp discs of tomato fruit. **Plant Physiology**, v. 90, p. 167-174, 1989.

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.

SALTVEIT, M. E.; MENCARELLI, F. Inhibition of ethylene synthesis and action in ripening tomato fruit by ethanol vapours. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 113, p. 572-576, 1988.

SALTVEIT, M. E.; SHARAF, A. R. Ethanol inhibits ripening of tomato fruit harvested at various degrees of ripeness without affecting subsequent quality. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 11, p. 793-798, 1992.

SALUNKHE, D. K.; KADAM, S. S. **Handbook of fruit science and technology**. New York : Marcel Dekker, 1995. 611 p.

SAQUET, A. A. **Efeito das temperaturas e concentrações de CO₂ e O₂ sobre a qualidade da maçã cultivar Gala durante o armazenamento em atmosfera controlada**. 1997. 105 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1997.

SAQUET, A. A.; STREIF, J. Untersuchungen zur Atmung und zur Ethylenbildung einiger neuer Apfelsorten. **Erwerbsobstbau**, v. 42, p. 109-112, 2000.

SAQUET, A.A.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Changes in ATP, ADP and pyridine nucleotide levels related to the incidence of physiological disorders in 'Conference' pears and 'Jonagold' apples during controlled atmosphere storage. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 75, p. 243-249, 2000.

SCHOTSMANS, W. et al. The relationship between gas transport properties and the histology of apple. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1131-1140, 2004.

SCHOUTEN, R. E. et al. Determination of O₂ and CO₂ permeance, internal respiration and fermentation for a batch of pears (cv. Conference). **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, n. 3, p. 289-298, 2004.

SCOTT, K. J. et al. Ethanol vapour-a new antiscald treatment for apple. **Postharvest Biology and Technology**, v. 6, p. 201-208, 1995.

SELVARAJ, Y.; KUMAR, R. Pyruvate kinase activity in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. **Journal of Food Science and Technology**, v. 26, p. 228-229, 1989.

SHIPWAY, M. R.; BRAMLAGE, W. J. Effect of carbon dioxide on activity of apple mitochondria. **Plant Physiology**, v. 51, p. 1095-1098, 1973.

SIEDOW, J. N.; UMBACH, A. L. Plant mitochondrial electron transfer and molecular biology. **The Plant Cell**, v. 7, p. 821-831, 1995.

SIMPSON, T. Effects of acetaldehyde on fruit quality and target pest mortality for harvested strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p. 405-416, 2003.

SMILANICK, J. L.; MARGOSAN, D. A.; HENSON, D. J. Evaluation of heated solutions of sulfur dioxide, ethanol, and hydrogen peroxide to control postharvest green mold of lemons. **Plant Diseases**, v. 79, p. 742-747, 1995.

SMOCK, R. M. Controlled atmosphere storage of fruits. **Horticultural Review**, v. 1, p. 301-336, 1979.

SMYTH, D. A.; WU, M. X.; BLACK, C. C., Pyrophosphate and fructose 2,6-bisphosphate effects on glycolysis in pea seed extracts. **Plant Physiology**, v. 76, p. 316-320, 1984.

SOMMER, N. F. et al. Effect of oxygen on carbon monoxide suppression of postharvest pathogens of fruits. **Plant Disease**, v. 65, n. 4, p. 347-349, 1981.

STEFFENS, C. A. et al. Maçã 'Gala' armazenada em atmosfera controlada e tratada com aminoetoxivinilglicina e ethephon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 9, p. 837-843, 2005.

STEFFENS, C. A. et al. Taxa respiratória de frutas de clima temperado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 3, p. 313-321, 2007.

STOW, J.; DOVER, C. J.; GENGE, P. M. Control of ethylene biosynthesis and softening in 'Cox's Orange Pippin' apples during low-ethylene, low-oxygen storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 18, p. 215-225, 2000.

STOW, J.; GENGE, P. Low-ethylene storage of apples cv. 'Cox's Orange Pippin': effects of 'Rapid CA' and ultra-low oxygen. **Annals of Applied Biology**, v. 117, p. 673-681, 1990.

STOW, J. R. The response of apples cv. 'Cox's Orange Pippin' to different concentrations of oxygen in the storage atmosphere. **Annals of Applied Biology**, v. 114, p. 149-156, 1989.

STREIF, J.; SAQUET, A. A.; XUAN, H. CA-related disorders of apples and pears. **Acta Horticulturae**, v. 600, p. 223–230, 2003

SUBBAIAH, C. C.; BUSH, D. S.; SACHS, M. M. Molecular and cellular adaptations of maize to flooding stress. **Annals of Botany**, v. 90, p. 119-127, 2003.

SUZUKI, Y.; UJI, T.; TERAJ, H. Inhibition of senescence in broccoli florets with ethanol vapor from alcohol powder. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31, p. 177-182, 2004.

SWEETMAN, C. et al. Review - Regulation of malate metabolism in grape berry and other developing fruits. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1329-1344, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 4. ed. Porto Alegre : Artmed, 2009. 848 p.

TREVASKIS, B. et al. Two hemoglobin genes in *Arabidopsis thaliana*: The evolutionary origins of leghemoglobins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.94, p.12230-12234, 1997.

TRUTER, A. B.; COMBRINK, J. C.; BURGER, S. A. Control of superficial scald in Granny Smith apples by ultra-low and stress levels of oxygen as an alternative to diphenylamine. **Horticultural Science**, v. 69, p. 581-587, 1994.

TURNER, J. F.; TURNER, D. H. The regulation of glycolysis and the pentose phosphate pathway. In: DAVIES, D. D. (Ed.). **The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise**, v. 2. New York : Academic Press, 1980. p. 279-316.

VALPUESTA V.; BOTELLA, M. A. Biosynthesis of L-ascorbic acid in plants: new pathways for an old antioxidant. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 12, p. 573-577, 2004.

Van SCHAIK, A. Ethylene management can limit loss of hardness in 'Elstar'. **Fruittelt Den Haag**, v. 86, p. 10-11, 1996.

VARTAPETIAN B. B.; ANDREEVA, I. N.; KURSANOV, A. L. Appearance of unusual mitochondria in rice coleoptiles at conditions of secondary anoxia. **Nature**, v. 248, p. 258-259, 1974.

VARTAPETIAN, B. B.; ANDREEVA, I. N.; KOZLOVA, G. I. The resistance to anoxia and the mitochondrial fine structure of rice seedlings. **Protoplasma**, v. 88, p. 215-224, 1976.

VELTMAN, R. H. et al. Ascorbic acid and tissue browning in pears (*Pyrus communis* L. cvs Rocha and Conference) under controlled atmosphere conditions. **Postharvest Biology and Technology**, v. 19, p. 129-137, 2000.

VELTMAN, R. H. et al. Decreased ascorbic acid levels and brown core development in pears (*Pyrus communis* cv. communis). **Physiologia Plantarum**, v. 107, p. 39-45, 1999.

VELTMAN, R. H. et al. Internal browning in pear fruit (*Pyrus communis* L. cv Conference) may be a result of a limited availability of energy and antioxidants. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p. 295-302, 2003.

VERAVERBEKE, E. A. et al. Prediction of moisture loss across the cuticle of apple (*Malus sylvestris* subsp. *mitis* (Wallr.)) during storage: part 2. Model simulations and practical applications. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, p. 89-97, 2003.

VIDRIH, R.; ZAVRTANIK, M.; HRIBAR, J. The influence of added acetaldehyde and ethanol on changes of aroma compounds in apples. **Acta Horticulturae**, v. 485, p. 383-388, 1999.

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**, v. 19, n. 1, p. 17-32, 2000.

WEBB, T.; ARMSTRONG, W. The effects of anoxia and carbohydrates on the growth and viability of rice, pea and pumpkin roots. **Journal of Experimental Botany**, v. 34, p. 579-603, 1983.

WRIGHT, H. et al. The effect of temperature and other factors on chlorophyll *a* fluorescence and the lower oxygen limit in apples (*Malus domestica*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, n. 1, p. 21-28, 2010.

WU, M-J. et al. Alcohols and carnation senescence. **HortScience**, v. 27, p. 136-138, 1992.

YAHIA, E. M.; RIVERA, M.; HERNANDEZ, O. Responses of papaya to short-term insecticidal oxygen atmosphere. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 117, p. 96-99, 1992.

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

YEARSLEY, C. W. et al. Determination of lower oxygen limits for apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 8, p. 95-109, 1996.

YEARSLEY, C. W.; BANKS, N. H.; GANESH, S. Temperature effects on the internal lower oxygen limits of apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 11, p. 73-83, 1997.

YUEN, C. M. C. et al. Effect of ethanol, acetaldehyde and ethyl formate on the growth of *Penicillium italicum* and *P. digitatum* on oranges. **Journal of Horticultural Science**, v. 70, p. 81-84, 1995.

ZABALZA, A. et al. Regulation of respiration and fermentation to control the plant internal oxygen concentration. **Plant Physiology**, v. 149, p. 1087-1098, 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**, v. 27, p. 69-78, 2003.

ZANELLA, A. et al. Fruit fluorescence response to low-oxygen stress: modern storage technologies compared to 1-MCP treatment of apple. **Acta Horticulturae**, v. 682, p. 1535-1542, 2005.

ZERBINI, P. E. et al. Harvest and quality indexes of peach. **Informatore Agrario**, v. 57, p. 57-60, 2001.

ZERBINI, P. E. et al. Loss of ascorbic acid during storage of Conference pears in relation to the appearance of brown heart. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1-7, 2002.