

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

**CONTROLE DA LANOSIDADE, EM PÊSSEGOS  
'CHIRIPÁ', COM O USO DE ATMOSFERA  
CONTROLADA E ETILENO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Ricardo Fabiano Hettwer Giehl**

Santa Maria, RS, Brasil

2006

**CONTROLE DA LANOSIDADE, EM PÊSSEGOS  
'CHIRIPÁ', COM O USO DE ATMOSFERA CONTROLADA  
E ETILENO**

---

**Por**

**Ricardo Fabiano Hettwer Giehl**

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 a obtenção do grau de  
**Mestre em Agronomia**

**Orientador: Prof. Dr. Auri Brackmann**

Santa Maria, RS, Brasil

2006

**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

**CONTROLE DA LANOSIDADE, EM PÊSSEGOS ‘CHIRIPÁ’, COM O  
USO DE ATMOSFERA CONTROLADA E ETILENO**

elaborada por

**Ricardo Fabiano Hettwer Giehl**

como requisito para a obtenção do grau de  
**Mestre em Agronomia**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

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

---

Cesar Valmor Rombaldi  
Prof. Dr. – UFPel

---

Fernando Teixeira Nicoloso  
Prof. Dr. – UFSM

Santa Maria, 11 de setembro de 2006

Aos meus pais,

**Armando e Íris Maria,**

pelo apoio incondicional, durante toda minha formação,  
e pelo exemplo de dedicação e honestidade.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Ao meu irmão Eduardo, que sempre me apoiou.

À Ana Cristina, pelo auxílio, compreensão, amor e dedicação, os quais foram fundamentais para vencer mais esta etapa da minha vida.

Ao professor Auri Brackmann, pela orientação e amizade, durante a minha Graduação e Pós-graduação.

Aos meus colegas e amigos do Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita: Ana Cristina, Anderson Weber, Bruno, Cláudia, Cristiano, Daniel, Elizandra, Guilherme, Ivan, Josuel, Miguel, Terra e Vanderlei, que me auxiliaram neste e em tantos outros trabalhos.

Ao professor Fernando Teixeira Nicoloso, pelos incentivos, ensinamentos e pelo exemplo de perseverança.

Ao professor Cesar V. Rombaldi e ao Márcio Zanuzo, da UFPel, pela amizade e valiosa troca de conhecimento.

À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade de realizar minha Graduação e meu Mestrado.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de Mestrado.

À CAPES, por disponibilizar uma valiosa 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

### CONTROLE DA LANOSIDADE, EM PÊSSEGOS ‘CHIRIPÁ’, COM O USO DE ATMOSFERA CONTROLADA E ETILENO

AUTOR: Ricardo Fabiano Hettwer Giehl

ORIENTADOR: Prof. Dr. Auri Brackmann

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 11 de setembro de 2006

Foram conduzidos experimentos objetivando avaliar o efeito da atmosfera controlada (AC) e da aplicação exógena de etileno sobre o amadurecimento e a ocorrência de lanosidade, avaliada visualmente e objetivamente pelo conteúdo de suco livre na polpa, em pêssegos ‘Chiripá’, após o armazenamento. Além disso, estudou-se o efeito da inibição da ação do etileno em dois momentos, no início e no final do armazenamento em AC, sobre a ocorrência de desordens fisiológicas e a qualidade físico-química dos frutos. No primeiro experimento, realizado em 2005 e 2006, avaliou-se: [1] o armazenamento refrigerado (AR – 21,0kPa O<sub>2</sub> + <0,5kPa CO<sub>2</sub>); [2] a AC com 1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub>; [3] e a AC com 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub>. Em 2005, os frutos foram armazenados durante 25, 30 e 35 dias; e, em 2006, durante 40 dias. As análises foram realizadas, em ambos, na saída da câmara e aos 2, 4 e 6 dias a 20°C. No segundo experimento, avaliou-se o efeito da presença do etileno exógeno no ambiente de armazenamento, sendo: [1] AR; [2] AR + etileno exógeno ( $\approx 20\mu\text{L L}^{-1}$ ); [3] AC (1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub>); e [4] AC + etileno exógeno. No terceiro experimento, estudou-se o efeito da inibição da ação do etileno, pela aplicação de 900nL L<sup>-1</sup> de 1-metilciclopropeno (1-MCP), sendo: [1] AR + 1-MCP; [2] AC (2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de O<sub>2</sub>); [3] AC + 1-MCP aplicado nas 24 horas iniciais do armazenamento (P1); [4] AC + 1-MCP aplicado nas primeiras 24 horas iniciais da exposição a 20°C, após o armazenamento (P2). Os conteúdos de suco livre diminuiram à medida que o período de armazenamento foi aumentado, independente da condição utilizada. Durante o amadurecimento pós-armazenamento, a suculência decresceu drasticamente até o 2º dia, mas aumentou novamente a partir do 4º dia. Esse restabelecimento dos conteúdos de suco livre foi dependente do período e da condição de armazenamento utilizada. Os frutos armazenados em AC, especialmente em 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub>, restabeleceram mais rapidamente a suculência. Por outro lado os frutos do AR apresentaram um padrão anormal de síntese de etileno com o aumento do período de armazenamento, o que, provavelmente, impediu esses frutos de restabelecer satisfatoriamente seus conteúdos de suco livre na polpa. A aplicação de etileno exógeno, durante a conservação em AR, estimulou a síntese de etileno e permitiu um restabelecimento mais pronunciado da suculência dos frutos, em relação ao AR. Além da capacidade de síntese e da presença de etileno, a ação desse fito-hormônio, no período de amadurecimento pós-armazenamento, demonstrou ser fundamental para o restabelecimento dos níveis de suco livre na polpa. A aplicação de 1-MCP no início do armazenamento em AC demonstrou ser a mais promissora para o armazenamento de pêssegos ‘Chiripá’, por manter a qualidade físico-química dos frutos e evitar a acentuada redução da suculência nos primeiros dias que sucedem ao armazenamento.

Palavras-chave: *Prunus persica* (L.) Batsch.; O<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>; 1-metilciclopropeno; dano por frio.

**ABSTRACT**

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

**CONTROL OF MEALINESS, IN 'CHIRIPÁ' PEACH FRUITS, USING  
 CONTROLLED ATMOSPHERE AND ETHYLENE**

AUTHOR: Ricardo Fabiano Hettwer Giehl

ADVISER: Prof. Dr. Auri Brackmann

Santa Maria, Setember 11<sup>th</sup>, 2006

Experiments were performed aiming to study the effect of controlled atmosphere (CA) and exogenous ethylene treatment on both the post-storage ripening and mealiness (woolliness) occurrence, evaluated both visually and objectively by the free juice content in the flesh of 'Chiripá' peach fruits. Furthermore, the effect of inhibiting the ethylene action either in the beginning or in the end of CA storage on the incidence of physiological disorders and on the physical and chemical quality were also evaluated. In the first experiment, carried out both in 2005 and 2006, we evaluated: [1] cold storage (CS - 21.0 kPa O<sub>2</sub> + <0.5 kPa CO<sub>2</sub>); [2] CA with 1.0 kPa O<sub>2</sub> + 3.0 kPa CO<sub>2</sub>; and [3] CA with 2.0 kPa O<sub>2</sub> + 8.0 kPa CO<sub>2</sub>. In 2005, fruits were stored during 25, 30, and 35 days at -0.5°C, whereas in 2006, storage was prolonged until 40 days. The second experiment evaluated the effect of exogenously applied ethylene in the storage room. The storage conditions were: [1] CS; [2] CS + exogenous ethylene ( $\approx 20 \mu\text{L L}^{-1}$ ); [3] CA (1.0 kPa O<sub>2</sub> + 3.0 kPa CO<sub>2</sub>); and [4] CA + exogenous ethylene. In the third trial, the effect of the ethylene action was assessed by the application of 1-methylcyclopropene (1-MCP - 900 nL L<sup>-1</sup>), a potent inhibitor of the ethylene action. The treatments studied were: [1] CS + 1-MCP; [2] CA (2.0 kPa O<sub>2</sub> + 8.0 kPa CO<sub>2</sub>); [3] CA + 1-MCP applied during the first 24 h of storage (P1); and [4] CA + 1-MCP applied during the first 24 h of post-storage ripening at 20°C (P2). As the storage period was increased, the free juice contents decreased, independently of the storage condition. The flesh juiciness decreased sharply until 2 days of post-storage ripening at 20°C, but increased again thereafter. This free juice restoration was both a storage period- and a storage condition-dependent process. CA-stored fruits, especially in 2.0 kPa O<sub>2</sub> + 8.0 kPa CO<sub>2</sub>, restored free juice contents faster. However, CS-stored fruits showed an abnormal pattern of ethylene synthesis, as the storage period was prolonged, a behavior that possibly led these fruits to restore their free juice contents to a lesser extent. Ethylene treatment during CS enhanced post-storage ethylene production and allowed fruits to restore juiciness at the same level as CA did. In addition to the ability of fruits in synthesize ethylene and to the effect of the presence of this gas, the ethylene action, during the post-storage ripening, was critical for the process of free juice restoration to occur. The application of 1-MCP, in the beginning of the CA storage, is the most promising technique for storing 'Chiripá' peach fruits, because it allows both physical and chemical quality maintenance and avoids the dramatic decrease of flesh juiciness at the 2<sup>nd</sup> day after storage.

Key words: *Prunus persica* (L.) Batsch.; O<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>; 1-methylcyclopropene; chilling injury.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1: A rota de biossíntese do etileno e o ciclo de Yang.....05
- FIGURA 2: A percepção do etileno e a transdução do sinal em frutos.....11
- FIGURA 3: Síntese de etileno e produção de CO<sub>2</sub> de pêssegos ‘Chiripá’ durante o amadurecimento a 20°C. Santa Maria, RS. 2005.....37
- FIGURA 4: Síntese de etileno (A, B e C) e produção de CO<sub>2</sub> (D, E e F) de pêssegos ‘Chiripá’ durante o amadurecimento após 25 (A e D), 30 (B e E) e 35 (C e F) dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....38
- FIGURA 5: Síntese de etileno (A), produção de CO<sub>2</sub> (B) e atividade da ACC oxidase (C) durante o amadurecimento de pêssegos ‘Chiripá’ após 40 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2006.....39
- FIGURA 6: Conteúdo de suco livre, em pêssegos ‘Chiripá’, na saída da câmara após 20, 25, 30 e 35 dias de armazenamento (A) e durante o amadurecimento após 25 (B), 30 (C) e 35 (D) dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....42
- FIGURA 7: Conteúdo de suco livre (A) e incidência de lanosidade (B) em pêssegos ‘Chiripá’ após 40 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2006.....43
- FIGURA 8: Incidência de lanosidade em pêssegos ‘Chiripá’ durante o amadurecimento após 25 (A), 30 (B) e 35 (C) dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....45
- FIGURA 9: Firmeza da polpa (A, B e C) e acidez titulável (D, E e F) de pêssegos ‘Chiripá’, durante o amadurecimento após 25 (A e D), 30 (B e E) e 35 (C e F) dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....47
- FIGURA 10: Firmeza da polpa (A), acidez titulável (B), sólidos solúveis totais (C) e cor de fundo da epiderme (D) de pêssegos ‘Chiripá’, durante o amadurecimento após 40 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2006.....48
- FIGURA 11: Concentração de etileno no interior das câmaras de armazenamento de pêssegos ‘Chiripá’ durante o período do experimento. Santa Maria, RS. 2005.....53



- FIGURA 12: Síntese de etileno (A), produção de CO<sub>2</sub> (B), conteúdo de suco livre (C) e incidência de lanosidade (D) em pêssegos ‘Chiripá’ após 35 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....54
- FIGURA 13: Firmeza da polpa (A) e acidez titulável (B) de pêssegos ‘Chiripá’ após 35 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....56
- FIGURA 14: Síntese de etileno (A), produção de CO<sub>2</sub> (B) e atividade da ACC oxidase (C) em pêssegos ‘Chiripá’, após 40 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2006.....60
- FIGURA 15: Conteúdo de suco livre (A) e incidência de lanosidade (B) em pêssegos ‘Chiripá’ após 40 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2006...61
- FIGURA 16: Firmeza da polpa (A), acidez titulável (B) e cor de fundo (C) de pêssegos ‘Chiripá’ após 40 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2006.....64

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Coeficientes de correlação de Pearson para incidência de lanosidade e conteúdo de suco livre em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 25, 30 e 35 dias em AR e AC a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....	46
TABELA 2 - Efeito das condições e do período de armazenamento a -0,5°C sobre o índice de lanosidade em pêssegos ‘Chiripá’ expostos a 20°C. Santa Maria, RS. 2005.....	46
TABELA 3 - Efeito das condições de armazenamento a -0,5°C na cor de fundo da epiderme (°h) <sup>1/</sup> de pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante diferentes períodos. Santa Maria, RS. 2005.....	49
TABELA 4 - Efeito do período de amadurecimento pós-armazenamento na cor de fundo da epiderme (°h) <sup>1/</sup> de pêssegos ‘Chiripá’ armazenados sob diferentes condições a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....	49
TABELA 5 - Efeito das condições de armazenamento a -0,5°C na incidência de podridões em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante diferentes períodos. Santa Maria, RS. 2005.....	50
TABELA 6 - Efeito do período de amadurecimento pós-armazenamento na incidência de podridões em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados sob diferentes condições a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....	50
TABELA 7 - Efeito das condições de armazenamento na incidência de podridões e de avermelhamento da polpa em pêssegos ‘Chiripá’ após 40 dias de armazenamento a -0,5°C e mais seis dias a 20°C. Santa Maria, RS, 2006.....	51
TABELA 8 - Efeito do etileno e da atmosfera controlada na cor de fundo, nos teores de sólidos solúveis totais e na incidência de podridões de pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 35 dias a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.....	57
TABELA 9 - Efeito do período de exposição a 20°C, após 35 dias de armazenamento em diferentes condições, sobre a cor de fundo da epiderme e os teores de sólidos solúveis totais. Santa Maria, RS. 2005.....	57
TABELA 10 - Efeito da ação do etileno na incidência de podridões e de avermelhamento da polpa em pêssegos ‘Chiripá’, após 40 dias de armazenamento e mais seis dias a 20°C. Santa Maria, RS, 2006.....	65

## LISTA DE APÊNDICES

- APÊNDICE 1: Quadro da análise da variância referente às análises do conteúdo de suco livre, firmeza da polpa, acidez titulável, cor de fundo da epiderme, incidência de podridões e de lanosidade em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 25, 30 e 35 dias a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2005.....84
- APÊNDICE 2: Quadro da análise da variância referente à atividade da ACC oxidase ( $\text{nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), incidência de lanosidade (%), firmeza da polpa (N), conteúdo de suco livre (%), acidez titulável ( $\text{meq } 100\text{mL}^{-1}$ ), sólidos solúveis totais ( $^{\circ}\text{Brix}$ ), cor de fundo da epiderme ( $^{\circ} \text{h}$ ), incidência de podridões (%) e de avermelhamento da polpa (%) em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 40 dias a  $-0,5^{\circ}\text{C}$  e mais seis dias a  $20^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2006.....85
- APÊNDICE 3: Quadro da análise da variância referente à firmeza da polpa (N), conteúdo de suco livre (%), incidência de lanosidade (%), acidez titulável ( $\text{meq } 100\text{mL}^{-1}$ ), cor de fundo da epiderme ( $^{\circ} \text{h}$ ), sólidos solúveis totais ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) e incidência de podridões (%) em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 35 dias a  $-0,5^{\circ}\text{C}$  e mais seis dias a  $20^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2005.....86
- APÊNDICE 4: Quadro da análise da variância referente à atividade da ACC oxidase ( $\text{nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), incidência de lanosidade (%), firmeza da polpa (N), conteúdo de suco livre (%), acidez titulável ( $\text{meq } 100\text{mL}^{-1}$ ), sólidos solúveis totais ( $^{\circ}\text{Brix}$ ), cor de fundo da epiderme ( $^{\circ} \text{h}$ ), incidência de podridões (%) e de avermelhamento da polpa (%) em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 40 dias a  $-0,5^{\circ}\text{C}$  e mais seis dias a  $20^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2006.....87

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 Desenvolvimento de pêssegos .....	3
2.2 Amadurecimento .....	3
2.2.1 Biossíntese do etileno .....	3
2.2.1.1 ACC sintase .....	5
2.2.1.2 ACC oxidase.....	6
2.2.1.3 Inibidores da síntese de etileno.....	7
2.2.2 A ação do etileno .....	8
2.2.2.1 Percepção: os receptores de etileno .....	8
2.2.2.2 Transdução do sinal .....	9
2.2.2.3 Regulação gênica.....	10
2.2.2.4 Inibidores da ação do etileno .....	11
2.2.3 Atividade respiratória .....	13
2.2.4 Modificações nas paredes celulares e efeitos sobre a firmeza da polpa.....	14
2.2.4.1 Estrutura das paredes celulares.....	14
2.2.4.2 Alterações nas paredes celulares durante o amadurecimento.....	15
2.2.4.2.1 Poligalacturonases .....	16
2.2.4.2.2 Pectina metilesterases .....	17
2.2.4.2.3 Endo-(1→4)β-D-glucanases (EGases).....	18
2.2.4.2.4 β-galactosidades .....	18
2.2.4.2.5 Xiloglucano endotransglicosilases (XET).....	19
2.2.4.2.6 Expansinas .....	19
2.2.4.3 Coloração dos frutos .....	19
2.2.4.4 Acidez titulável.....	20
2.2.4.5 Sólidos solúveis totais .....	21
2.3 Armazenamento.....	21
2.3.1 Armazenamento em ar refrigerado (AR).....	21
2.3.2 Armazenamento em atmosfera controlada (AC).....	22
2.3.2.1 Efeito sobre a síntese de etileno .....	22
2.3.2.2 Efeito sobre o metabolismo respiratório.....	23
2.3.2.3 Efeito sobre a qualidade físico-química .....	24

2.3.2.4 Efeito sobre a ocorrência de podridões .....	25
2.3.3 Desordens fisiológicas provocadas pela frigoconservação .....	25
2.3.3.1 Lanosidade.....	26
2.3.3.1.1 Controle ou redução .....	27
2.3.3.1.2 Avaliação da lanosidade .....	29
2.3.3.2 Escurecimento e avermelhamento da polpa .....	30
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1 Colheita, transporte e prepare das amostras .....	31
3.2 Tratamentos .....	32
3.2.1 Experimento I.....	32
3.2.2 Experimento II.....	32
3.2.3 Experimento III .....	32
3.3 Manutenção das condições de armazenamento .....	33
3.4 Parâmetros avaliados .....	34
3.5 Análises estatísticas .....	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
4.1 Parte I.....	37
4.1.1 A atmosfera controlada afeta a síntese de etileno e o restabelecimento da suculência em pêssegos ‘Chiripá’ .....	37
4.1.2 Conclusões.....	51
4.3 Parte II .....	52
4.3.1 Efeito do etileno no restabelecimento da suculência e no amadurecimento pós-armazenamento de pêssegos ‘Chiripá’ .....	52
4.3.2 Conclusões.....	58
4.4 Parte III.....	59
4.4.1 A ação do etileno, após o armazenamento, é necessária para o restabelecimento da suculência em pêssegos ‘Chiripá’ .....	59
4.4.2 Conclusões.....	66
5. CONCLUSÕES GERAIS .....	67
6. BIBLIOGRAFIA.....	68
APÊNDICES .....	83

## 1. INTRODUÇÃO

O Rio Grande do Sul é maior produtor brasileiro de pêssegos. A produção gaúcha tradicionalmente possui dois destinos: o consumo *in natura* e o processamento industrial. As cultivares Chiripá e Chimarrita são as de maior destaque para o consumo *in natura*, devido as suas características de coloração, sabor e polpa branca. Pêssegos ‘Chiripá’ são colhidos tardiamente, o que justifica seu armazenamento, como forma de prolongar o período de oferta desses frutos no mercado, quando os preços costumam elevar-se.

Apesar dos benefícios do armazenamento refrigerado na redução do metabolismo de pêssegos, essas condições podem resultar na ocorrência de dano pelo frio, que causa alterações no metabolismo normal da parede celular, especialmente das pectinas. Essas alterações se manifestam mais tarde, durante o período de comercialização, na forma de frutos com sabor e aroma pouco pronunciados e ausência de suculência (polpa farinhenta). Esse distúrbio, conhecido como lanosidade, é, juntamente com a incidência de podridões, responsável pela maior parte da perda da qualidade pós-colheita de pêssegos e nectarinas.

As cultivares Chiripá e Chimarrita, bem como a maior parte das cultivares de mesa, de grande expressão no mercado mundial, são suscetíveis à ocorrência de lanosidade, principalmente após duas semanas de armazenamento. O desenvolvimento desse distúrbio fisiológico tem sido associado a uma redução na atividade das poligalacturonases (PGs), durante a exposição a baixas temperaturas, enquanto a atividade das pectina metilesterases (PMEs) se mantém relativamente estável nessas condições. Dessa forma, ocorre uma desmetilesterificação contínua, em função da atividade das PMEs, sem uma despolimerização sincronizada, devido à redução da atividade das PGs. Como resultado, há um acúmulo gradativo de pectinas solúveis de alto peso molecular e baixo grau de metilesterificação, capazes de formar pectatos de cálcio, que retêm a água e formam gel.

Um aspecto ainda pouco investigado é a reversibilidade da lanosidade. Em algumas situações, observa-se um restabelecimento da suculência dos frutos após a exposição dos frutos à temperatura ambiente. Todavia, a metodologia empregada na maior parte dos trabalhos para determinar a severidade desse distúrbio fisiológico, desenvolvida por Lill & van der Mespel (1988), algumas vezes apresenta baixa correlação com os sintomas visuais. Além disso, somente frutos com firmeza da polpa compreendida entre 10 e 50N podem ser avaliados por esse método. Isso tem ocasionado dúvidas quanto à confiabilidade dos dados até hoje obtidos e limitado a avaliação dos frutos em períodos maiores de exposição à

temperatura ambiente, quando a firmeza da polpa decresce drasticamente. No entanto, uma nova metodologia, proposta por Crisosto & Labavitch (2002), que determina o conteúdo de suco livre, tem demonstrado boa reprodutibilidade e alta correlação com os sintomas visuais.

A atmosfera controlada (AC) e a aplicação de etileno reduzem a incidência e a severidade da lanosidade, por atuarem sobre a atividade das PME's e das PG's (Zhou et al., 2000b; Girardi et al., 2005). No armazenamento em AC a atividade das PG's é aumentada, quando os frutos são expostos à temperatura ambiente. Por outro lado, a presença de etileno exógeno nas câmaras mantém a atividade dessa enzima mais elevada mesmo durante o armazenamento (Zhou et al., 2001). No entanto, o efeito dessas técnicas sobre uma possível reversão da lanosidade, ainda não foi avaliado. Além disso, é importante se conhecer como essas técnicas afetam a biossíntese e a ação do etileno e, conseqüentemente, o amadurecimento dos frutos após o armazenamento. A avaliação desses aspectos é muito importante para a determinação do potencial de armazenamento das cultivares sensíveis à ocorrência de lanosidade, estabelecendo-se os períodos máximos de armazenamento, de forma a minimizar as perdas em pós-colheita.

Portanto, as hipóteses deste trabalho foram: a) se ocorre uma modificação significativa na suculência dos frutos após o armazenamento, seria possível analisá-la objetivamente pelo método do suco livre? b) ocorrendo esse processo, seria possível acelerá-lo por meio da adoção de técnicas de armazenamento, como a AC? e c) considerando o papel do etileno no amadurecimento de frutos climatéricos, a presença e a ação deste fitohormônio seriam importantes para a prevenção da lanosidade?

Dessa forma, os objetivos deste trabalho foram: a) avaliar a ocorrência de lanosidade visualmente e pelo método do conteúdo de suco livre, após o armazenamento de pêssegos 'Chiripá' em ambiente refrigerado e em atmosfera controlada; b) avaliar o efeito da atmosfera controlada e da aplicação exógena de etileno sobre o amadurecimento e a ocorrência de lanosidade após o armazenamento; c) estudar o efeito da inibição da ação do etileno, durante e após o armazenamento, sobre a incidência de desordens fisiológicas e sobre a qualidade físico-química dos frutos.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Desenvolvimento de pêssegos**

Em pêssegos, o crescimento dos frutos segue um padrão sigmoidal duplo (Moing et al., 2000; Etienne et al. 2002). No estágio I, os frutos apresentam sucessivas divisões celulares, acompanhadas também pela expansão das células, determinando um rápido aumento no volume do pericarpo. No segundo estágio, ocorre o crescimento do embrião, enquanto o crescimento do pericarpo praticamente cessa. No estágio III, o endocarpo completa seu crescimento e o pericarpo se expande intensamente, predominantemente pelo aumento na expansão celular (Brady, 1993; Moing et al., 2000; Etienne et al., 2002).

### **2.2 Amadurecimento**

O amadurecimento de frutos é um processo complexo e geneticamente controlado, que culmina com uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e estruturais, como a cor, o aroma, a textura e o “flavour” dos frutos (Lelièvre et al., 1997; Alexander & Grierson, 2002). Os frutos podem ser classificados, em função dos diferentes mecanismos envolvidos com seu amadurecimento, em climatéricos e não-climatéricos. Nos frutos climatéricos, como maçãs, bananas, pêssegos, nectarinas, ameixas e tomates, observa-se um pico na taxa respiratória, que antecede ou sucede um drástico incremento na síntese de etileno (Yang & Hoffman, 1984; Kende, 1993; Lelièvre et al., 1997). Nos frutos não-climatéricos, como uvas, morangos e os citros em geral, não ocorre um aumento acentuado na respiração, sendo que a produção de etileno se mantém baixa.

#### **2.2.1 Biossíntese do etileno**

O envolvimento do etileno no processo de amadurecimento tem sido comprovado pelo estudo de plantas transformadas, nas quais a inibição da síntese de etileno reduz ou inibe o amadurecimento (Picton et al., 1993; Ayub et al., 1996; Silva et al., 2004). Além disso, plantas com mutações, que comprometem a síntese normal de etileno, apresentam padrões anormais de amadurecimento (Stepanova & Ecker, 2000). Apesar do efeito evidente do



etileno na regulação da maturação de frutos climatéricos, acredita-se que mecanismos reguladores moleculares dependentes e independentes de etileno coexistam nesse frutos (Lelièvre et al, 1997; Alexander & Grierson, 2002), o que torna esse processo, como um todo, ainda mais complexo.

Para descrever os diferentes padrões de biossíntese de etileno, que ocorrem em frutos não-climatéricos e climatéricos, foram propostos dois tipos de sistemas, o sistema I e II, respectivamente (McMurchie et al., 1972). A produção basal de etileno pelo sistema I é baixa e, geralmente, é inibida pela aplicação de etileno exógeno (autoinibição). Esse sistema está presente nos frutos não-climatéricos, em frutos climatéricos que estão na fase pré-climatérica e em tecidos vegetativos (Oetiker & Yang, 1995). O aumento drástico na síntese autocatalítica de etileno, concomitante com o amadurecimento de frutos climatéricos, representa o sistema II (Alexander & Grierson, 2002).

O etileno é produzido por uma rota relativamente complexa, utilizando-se da S-adenosil-L-metionina (SAM) como precursor (Adams & Yang, 1979) (Figura 1). No início dessa via metabólica, o aminoácido metionina é convertido à SAM, pela ação da SAM sintetase (EC 2.5.1.6), numa reação que consome energia na forma de ATP (Yang & Hoffman, 1984; Kende, 1993). Além de participar dessa rota, SAM é um dos principais doadores de grupamentos metil em plantas, sendo, portanto, utilizado como substrato em várias rotas metabólicas, como a síntese das poliaminas espermidina e espermina (Ravanel et al, 1998).

A etapa crucial na rota de síntese do etileno, no entanto, é a conversão de SAM ao aminoácido cíclico não-protéico ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), catalisada pela enzima ACC sintase (S-adenosil-L-metionina metiltioadenosinaliase, EC 4.4.1.14). Juntamente com a produção de ACC, a ação da ACC sintase sobre a SAM produz também 5'-metiltioadenosina (MTA), que é convertida à metionina por meio de uma via de síntese de metionina modificada (Miyazaki & Yang, 1987). Na etapa subsequente, o ACC é convertido a etileno, pela ação da ACC oxidase (EC 1.4.3) (Yang & Hoffman, 1984; Kende, 1993) (Figura 1). Além do etileno, a oxidação do ACC pela ACC oxidase gera CO<sub>2</sub>, cianeto (HCN) e água (Yang & Hoffman, 1984; Kende, 1993). O ACC pode ser metabolizado, ainda, a ácido 1-(malonilamino)ciclopropano-1-carboxílico (MACC) numa reação considerada irreversível sob condições fisiológicas (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).

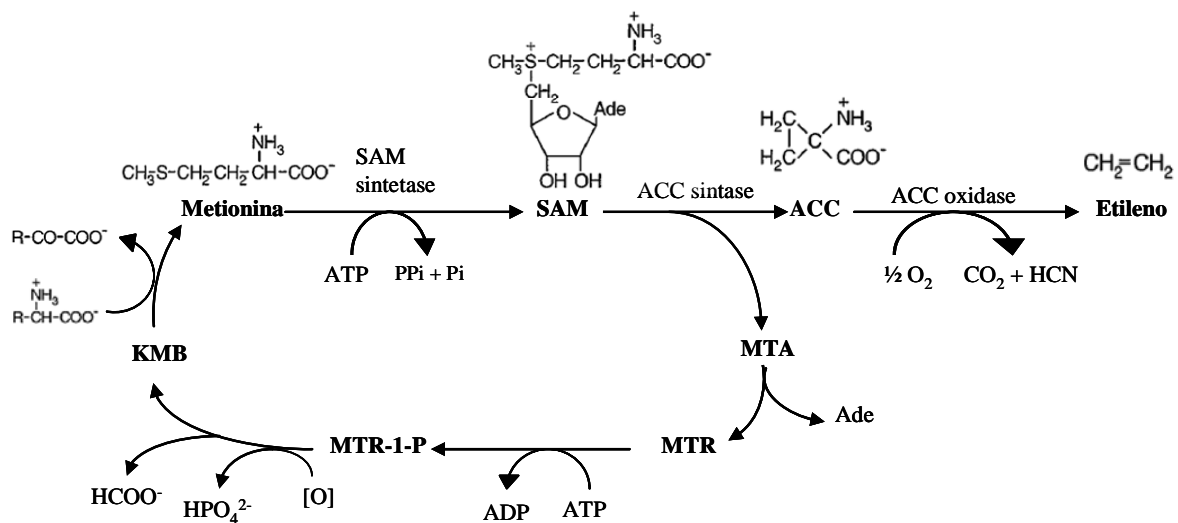


Figura 1: A rota de biossíntese do etileno e o ciclo de Yang. SAM, S-adenosil-L-metionina; ACC, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico; MTA, 5'-metiladenosina; MTR, 5'-metiltioribose; MTR-1-P, 5'-metiltioribose-1-P; KMB, ácido  $\alpha$ -ceto- $\gamma$ -metiltiobutírico. Adaptado de Yang & Hoffmann (1984) e Bleecker & Kende (2000).

### 2.2.1.1 ACC sintase

A conversão de SAM a ACC é uma etapa decisiva e geralmente limitante na rota de biossíntese do etileno (Yang & Hoffman, 1984). ACC sintase pertence à  $\alpha$ -família de enzimas dependentes do co-fator piridoxal-5'-fosfato (Boller et al., 1979; Yu et al., 1979). A ACC sintase é uma proteína homodimérica (White et al., 1994), sendo o sítio ativo da enzima localizado próximo à interface da subunidade, numa fenda entre os dois domínios (maior e menor), que a compõe (Capitani et al., 1999). Todavia, a forma ativa da enzima é um dímero (Tarun & Teologis, 1998).

Existem várias isoformas de ACC sintase (Jiang & Fu, 2000), que são codificadas por uma família multigênica, sendo cada membro expresso diferentemente em resposta a vários fatores internos e externos. Uma alteração na expressão de genes que codificam para isoformas de ACC sintase foi demonstrada durante a transição entre sistema I e o sistema II de produção de etileno em tomates (Nakatsuka et al., 1998; Barry et al., 2000). Enquanto a transcrição de *LeACS6* ocorre somente durante o sistema I (frutos imaturos), a transcrição de *LeACS2* aumenta drasticamente mais tarde, coincidindo com o início da produção autocatalítica de etileno e do amadurecimento (sistema II). Além disso, *LeACS1A* é expresso durante o sistema I e na transição entre os dois sistemas, enquanto a expressão de *LeACS4* é detectada somente na transição (Barry et al., 2000). Esses resultados, somados ao fato da

expressão de *LeACS2* e *LeACS4* ser estimulada pela exposição ao etileno (Nakatsuka et al., 1998), demonstram que, durante o desenvolvimento de frutos climatéricos, diferentes genes para ACC sintase são expressos. Esse comportamento pode explicar as diferenças nas respostas de frutos climatéricos imaturos e maduros a diversos fatores endógenos e exógenos.

Além do controle transcricional, existem várias evidências que sugerem que a ACC sintase pode sofrer controle pós-transcricional e pós-traducional (Chae & Kieber, 2005). A estabilidade da atividade da ACC sintase pode sofrer regulação, apresentando uma meia-vida variando de 20 minutos a duas horas (Spanu et al., 1990). Dessa forma, um aspecto importante no controle da biossíntese do etileno está em como a proteína ACC sintase é controlada. A atividade da ACC sintase é dependente da concentração do substrato SAM (Boller et al., 1979), sendo sugerido que, sob altas concentrações, SAM poderia atuar como um inibidor da ACC sintase (Satoh & Esashi, 1986). A rápida inibição ou degradação da ACC sintase pode estar sob o controle de processos dependentes de ATP e/ou fosforilação, que afetam a meia vida da enzima *in vivo* (Spanu et al., 1990). Como muitas proteínas, as ACC sintases também podem ser desativadas por meio da degradação mediada pela ubiquitinação e direcionamento para o complexo proteossomo 26S (Wang et al., 2004).

#### 2.2.1.2 ACC oxidase

Inicialmente acreditava-se que a ACC sintase era a enzima-chave no controle da produção de etileno, atribuindo-se à ACC oxidase uma atividade constante (Yang & Hoffman, 1984). No entanto, o papel da ACC oxidase na regulação da biossíntese de etileno tornou-se evidente (Lui et al., 1985). A ACC oxidase é relacionada com os membros da família das oxidases/dioxigenases dependentes de  $Fe^{2+}$  (Prescott, 1993). O íon  $Fe^{2+}$  parece estar envolvido com a ligação simultânea do ACC com o  $O_2$ , promovendo a transferência de elétrons, que inicia a conversão do ACC a etileno (Rocklin et al., 1999). Para atuar *in vivo* a ACC necessita de ascorbato como substrato (Ververidis & Jonh, 1991; Dong et al., 1992). Além disso, acredita-se que o  $CO_2$ , produzido durante o pico climatérico, possa ativar a enzima *in vivo*. O  $K_m$  aparente da ACC oxidase pelo seu substrato ACC é de  $60\mu M$ , estando o pH ótimo para sua atividade entre 7,5 e 6,5 (Prescott & John, 1996).

A localização sub-celular dessa enzima foi amplamente debatida por muitos anos. Diversos estudos demonstraram que a atividade da ACC oxidase era dependente da integridade das membranas celulares, o que levou à hipótese de que ela seria uma enzima ligada a membranas (Yang & Hoffman, 1984). Alguns estudos apresentaram conclusões

conflitantes em relação à localização sub-celular da ACC oxidase (Rombaldi et al., 1994; Reinhardt et al., 1994). No entanto, Ramassamy et al. (1998) demonstraram, por meio da combinação de técnicas de fracionamento celular e métodos imunocitológicos, que a ACC oxidase de maçãs está localizada na face externa da membrana plasmática. Esse resultado é, particularmente, interessante, pois até o momento nenhum dos cDNAs isolados possui um peptídeo sinal putativo que enderece a ACC oxidase para a membrana plasmática (Hamilton et al., 1991). No entanto, a análise das seqüências preditas de aminoácidos identificaram resíduos hidrofóbicos, que poderiam corresponder a uma região hélice transmembrana (Balagué et al., 1993). Essa região poderia permitir o trânsito da ACC oxidase até o apoplasto. Como o ascorbato provavelmente atua como um doador de elétrons durante a conversão do ACC a etileno (Ververidis & John, 1991), é provável que o potencial de membrana positivo mantenha o ascorbato, localizado no apoplasto, no estado reduzido como requisito para a atividade da ACC oxidase (Ramassamy et al., 1998). Todavia, o impasse ainda não foi solucionado, pois Chung et al. (2002) demonstraram, utilizando-se de anticorpos altamente específicos para a ACC oxidase de maçã, que essa enzima está localizada preferencialmente no citosol.

Em muitos tecidos, a forte correlação entre a atividade da ACC oxidase e o nível específico de mRNAs tem indicado que a atividade dessa enzima é regulada primariamente a nível de transcrição (Rupert et al., 2001). Famílias multigênicas, que codificam para ACC oxidase, têm sido caracterizadas em várias plantas (Barry et al., 1996; Rupert et al., 2001). Em pêsegos, foram clonados e caracterizados dois membros da família da ACC oxidase, *PP-ACO1* e *PP-ACO2* (Rupert et al., 2001). A expressão de *PP-ACO2* foi mais pronunciada nas fases iniciais do desenvolvimento dos frutos, enquanto que os transcritos de *PP-ACO1* aumentaram drasticamente próximo ao início do amadurecimento (Rupert et al., 2001).

### 2.2.1.3 Inibidores da síntese de etileno

A aminoetoxivinilglicina (AVG; ácido [S]-*trans*-2-amino-4-[2-aminoetoxi]-3-butenóico) é um composto que se liga de forma reversível à ACC sintase (Huai et al., 2001), dessa forma, impedindo a conversão de SAM para ACC (Yang & Hoffman, 1984; Kende, 1993). Esse composto, entre os análogos de vinilglicinas, é o que apresenta os melhores resultados (Yang & Hoffman, 1984). A aplicação pré-colheita de AVG em pêsegos e nectarinas reduz significativamente a produção de etileno (Bregoli et al., 2002; Torrigiani et al., 2004). Além do AVG, íons inorgânicos como o  $\text{Co}^{2+}$  e o  $\text{Ni}^{2+}$  e agentes desacopladores de

membrana também exercem efeito negativo sobre a síntese de etileno (Yang & Hoffman, 1984). O CO<sub>2</sub>, dependendo da concentração, também inibe substancialmente a síntese de etileno em tecidos vegetais (Ver item 2.3.2.1).

## 2.2.2 A ação do etileno

### 2.2.2.1 Percepção: os receptores de etileno

O etileno é percebido por uma família de receptores de membranas (Figura 2), que são homólogos aos sistemas de dois componentes da histidina quinase das bactérias, envolvidas com a percepção das condições ambientais (Chang & Stewart, 1998). Todas as proteínas receptoras de etileno possuem um domínio sensor, dividido num domínio transmembrana e num domínio GAF, um domínio histidina quinase e um domínio de resposta (Alexander & Grierson, 2002). A ligação de alta afinidade do etileno aos seus receptores é mediada por um co-fator, o cobre (Rodriguez et al., 1999). Mutantes de *Arabidopsis thaliana*, incapazes de ligar o cobre aos receptores, não possuem sensibilidade ao etileno (Rodriguez et al., 1999). Isso explicaria o efeito inibitório da aplicação de tiosulfato de prata (Ag(S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub><sup>3-</sup>) ou de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) sobre a ação do etileno (Ciardi & Klee, 2001), sendo que nenhum outro íon metálico apresenta esse efeito. Além disso, a clonagem e a análise funcional de *RANI* de *Arabidopsis* demonstraram que esse gene codifica para um transportador de cobre putativamente envolvido na liberação de cobre para os receptores de etileno (Wang et al., 2002).

Em tomate, pelo menos seis receptores putativos de etileno foram identificados, sendo cada um deles expressos de maneira distinta espacial e temporalmente, dependendo do estágio de desenvolvimento e de estímulos externos (Alexander & Grierson, 2002). Nesse contexto, *LeETR1* e *LeETR2* (Zhou et al., 1996; Lashbrook et al., 1998) são expressos constitutivamente em todos os tecidos durante o desenvolvimento, enquanto *NR* e *LeETR4* são estimulados durante o amadurecimento, a senescência, a abscisão e durante a infecção de tomates por patógenos (Payton et al., 1996; Tieman et al., 2000). Os receptores de etileno são, na maioria das vezes, induzidos pela presença de etileno (Alexander & Grierson, 2002). Em tomate, a expressão de *LeETR4* apresenta um papel importante durante o amadurecimento, sugerindo-se que *LeETR4* possa monitorar os níveis de receptores e iniciar a síntese de novos receptores durante a resposta ao etileno (Tieman et al., 2000).

### 2.2.2.2 Transdução do sinal

A ligação do etileno aos receptores inicia uma cascata de transdução de sinal, que culmina na regulação transcricional de determinados genes no núcleo (Guo & Ecker, 2004) (Figura 2). Recentemente, descobriu-se que a percepção e a sinalização do etileno ocorrem no retículo endoplasmático (Chen et al., 2002). CTR1 (CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE1), uma proteína quinase homóloga às MAP3K da família Raf é o componente imediatamente abaixo dos receptores na rota de transdução de sinal (Kieber et al., 1993). Interessantemente, a localização sub-celular de CTR1 também foi determinada como sendo no retículo endoplasmático (Gao et al., 2003). Todos os receptores de etileno são capazes de interagir com essa proteína por meio de seus domínios quinase carboxi-terminais, apesar de diferenças de afinidade entre receptores terem sido observadas (Guo & Ecker, 2004). A ligação do etileno aos receptores libera a proteína reguladora negativa CTR1, permitindo que as respostas ao etileno ocorram (Adams-Phillips et al., 2004).

Resultados recentes demonstram que a via de transdução de sinal do etileno envolve uma cascata de MAP (MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN) quinases (Chang, 2003). Os componentes dessa cascata podem estar sob o controle de vários fatores, tais como o estresse salino, a presença de ácido salicílico, de elicitores e de infecção viral (Guo & Ecker, 2004), indicando que a regulação dessa rota é extremamente complexa. A ligação do etileno ao receptor, na membrana do retículo endoplasmático, acarreta na inativação da CTR, permitindo que uma cascata putativa de MAP quinases seja ativada, transmitindo o sinal até o núcleo (Adams-Phillips et al., 2004). Acredita-se que, após a fosforilação da última proteína MAP quinase, ocorre a ativação de uma proteína de membrana.

Os próximos componentes envolvidos na sinalização do etileno têm sido identificados como fatores de transcrição primários (Wang et al., 2002) (Figura 2). *EIN3* codifica para uma proteína nuclear (Chao et al., 1997). *EIN3*, *EIL1* (EIN-LIKE1) e *EIL2* ligam-se especificamente em elementos primários de resposta ao etileno (PERE) do *ERF1* (ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR 1), um gene induzido pelo etileno e pertencente à família das proteínas ligadoras de elementos de resposta ao etileno (EREBP) (Solano et al., 1998).

Apesar dos componentes primários da rota de sinalização do etileno serem comuns em todas as respostas a esse fito-hormônio, a exposição ao etileno exógeno ou o aumento na síntese de etileno endógeno nem sempre induzem as mesmas respostas nos diferentes tecidos e estádios de desenvolvimento (Guo & Ecker, 2004). A ligação dos fatores de transcrição

primários nos elementos PERE de *ERF1*, estimula a acumulação de ERF1, que, por sua vez, passa a estimular a transcrição de outros genes (Solano et al., 1998) (Figura 2). Em tomate, dos quatro membros da família *ERF* (*LeERF1-4*) isolados, *LeERF2* parece estar relacionado especificamente com o amadurecimento dos frutos (Tournier et al., 2003). Para a *Arabidopsis thaliana* existem evidências de que a proteína ERF1 medeia também as respostas a outros hormônios, especialmente as respostas de defesa dependentes do ácido jasmônico (Lorenzo et al., 2003). Dessa forma, as rotas de sinalização do etileno e do ácido jasmônico podem estar integradas nas células vegetais.

### 2.2.2.3 Regulação gênica

Durante o processo de amadurecimento vários genes têm sua transcrição iniciada ou aumentada, entre eles *LeACO1,3* (Barry et al., 1996), *LeACS2* (Barry et al., 2000), *PG* (Nicholass et al., 1995; Sitrit & Bennett, 1998) e *LeEXPI* (Rose et al., 1997). No entanto, o amadurecimento compreende a regulação de genes tanto de maneira dependente, quanto independente do etileno (Alexander & Grierson, 2002).

A caracterização molecular das regiões promotoras de genes relacionados ao amadurecimento tem permitido um avanço considerável no entendimento da regulação desses genes e do papel que o etileno desempenha na transcrição (Alexander & Grierson, 2002). O promotor de *PG*, em tomate, apresenta elementos de resposta induzíveis pelo etileno (Nicholass et al., 1995). Fusões quiméricas, entre o gene reportador da  $\beta$ -glucuronidase e diferentes extensões da região promotora de *LeACO1*, permitiram estabelecer que uma região compreendida entre -396 e -1825bp confere expressão específica com o aumento na síntese do etileno (Blume & Grierson, 1997). Em relação ao pêssego, a região situada entre -2919 a -2141 do gene *PpACO1* é requerida para o controle da transcrição pelo etileno e pelo estágio de desenvolvimento, enquanto as regiões entre -1319 a -901bp e -403 a 0bp são responsáveis pela regulação quantitativa e tecido-específica desse gene, respectivamente (Moon & Callahan, 2004).

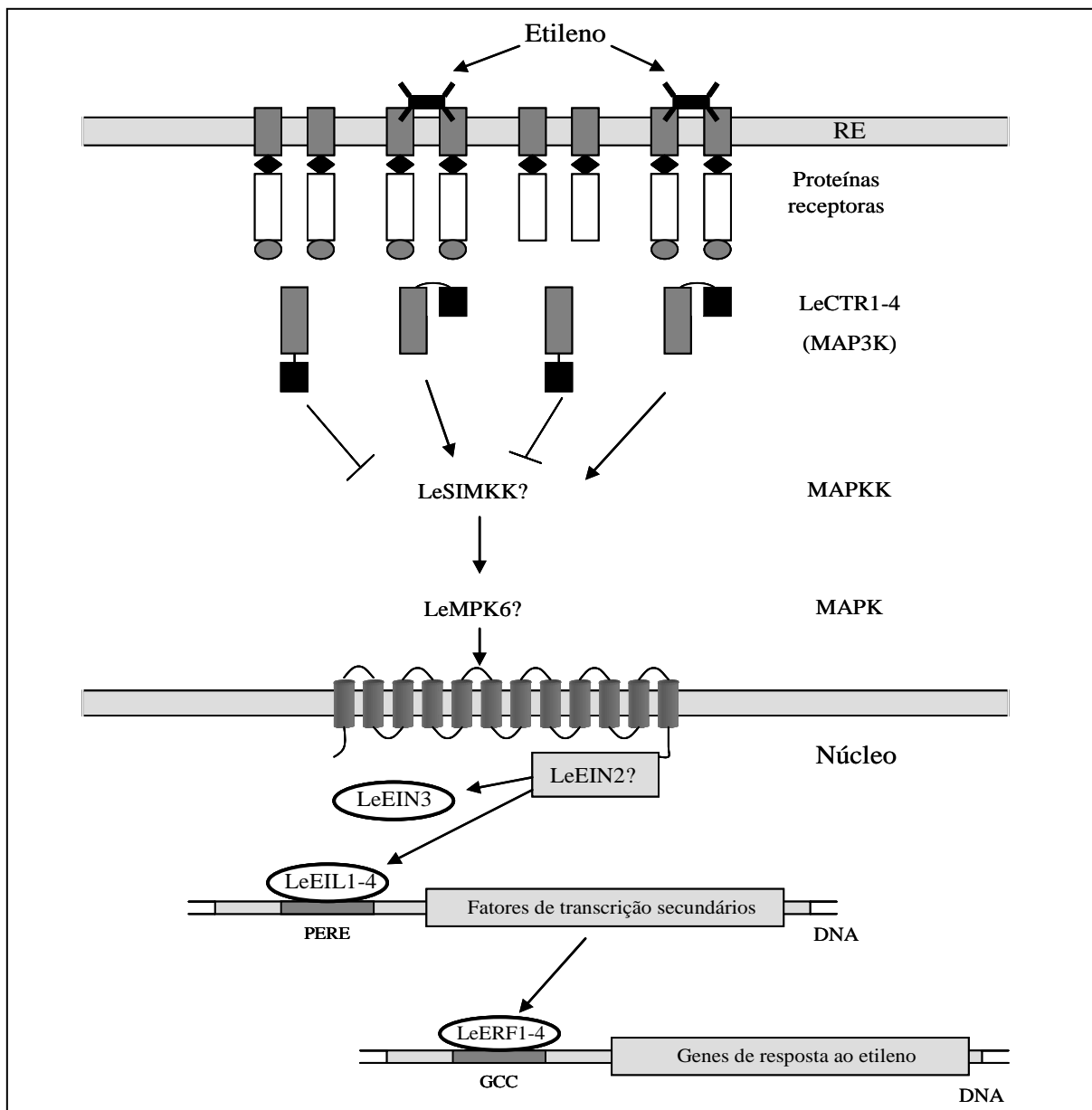


Figura 2: A percepção do etileno e a transdução do sinal em frutos. O esquema refere-se ao tomate, o principal modelo vegetal utilizado nos estudos bioquímicos e moleculares dos processos envolvidos com o amadurecimento. Na ausência de etileno os receptores estão ativos e inibem as respostas dependentes de etileno. A ligação do etileno no domínio sensor dos receptores, provoca uma alteração conformacional, que inativa as proteínas receptoras e as proteínas LeCTR1-4, permitindo que as respostas dependentes de etileno ocorram. As interrogações (?) representam componentes da rota de transdução de sinal ainda não devidamente identificados em tomate. Adaptado de Chang (2003), Guo & Ecker (2004) e Adams-Phillips et al. (2004).

#### 2.2.2.4 Inibidores da ação do etileno

Os diversos efeitos provocados pelo etileno nos tecidos vegetais podem ser controlados por meio da regulação da sua síntese ou da sua ação (Feng et al., 2000). O uso de inibidores da síntese de etileno, em muitas situações, pode ser limitado, devido aos produtos agrícolas e, especialmente, os frutos e hortaliças, serem costumeiramente expostos ao etileno



exógeno durante o armazenamento, transporte e/ou comercialização (Feng et al., 2000). Dessa forma, o uso de inibidores da ação do etileno tem se tornado uma alternativa mais interessante, pois esses compostos protegem os frutos, tanto do etileno endógeno, quanto do exógeno. Todavia, alguns inibidores da ação do etileno possuem algumas características que impedem seu uso em determinadas situações. Por exemplo, não é possível utilizar tiosulfato de prata, um potente inibidor da ação do etileno (Sisler & Serek, 1997), em frutas e hortaliças, devido à elevada toxicidade desse composto. Por outro lado, o composto 2,5-norbornadieno, que também inibe efetivamente a ação do etileno, tem seu uso limitado na prática em função de sua característica corrosiva e por apresentar odor desagradável (Sisler & Serek, 1997).

Recentemente, outro composto, capaz de inibir fortemente a ação do etileno passou a ser estudado: o 1-metilciclopropeno (1-MCP; C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>) (Sisler & Serek, 1997; Blankenship & Dole, 2003). Esse composto é capaz de interagir com os receptores do etileno, evitando a ligação do etileno e, conseqüentemente, o desencadeamento de processos dependentes de etileno. O 1-MCP parece ligar-se fortemente a um metal junto aos receptores (Sisler & Serek, 1997). Esses autores não fazem referência, mas possivelmente esse metal é o cobre (Rodriguez et al., 1999). O 1-MCP possui um modo de ação não-tóxico e é ativo mesmo em baixas concentrações (Sisler & Serek, 1997), sendo que em 2005 obteve registro para uso comercial, para determinados produtos agrícolas, em vários países, incluindo o Brasil (Watkins, 2006). A afinidade do 1-MCP aos receptores de etileno supera a do próprio etileno em cerca de 10 vezes (Blankenship & Dole, 2003).

A longevidade da ação do 1-MCP é dependente da espécie, cultivar, tecido e modo de indução da produção de etileno (Sisler & Serek, 1997). Como a ligação do 1-MCP ao receptor parece ser irreversível, o restabelecimento da sensibilidade de determinado tecido ao etileno requer a síntese *de novo* de receptores de etileno (Blankenship & Dole, 2003). Em pêssegos, a redução na síntese de etileno pela aplicação de 1-MCP está associada a uma menor atividade da enzima ACC oxidase e a uma reduzida expressão de *Pp-ACO1* e *Pp-ACO2* (Mathooko et al., 2001). Além disso, o 1-MCP afeta negativamente a expressão de *Pp-ERS1*, apesar de não exercer nenhum efeito sobre a transcrição de *Pp-ETRI* (Rasori et al., 2002). Interessantemente, o processo de amadurecimento de pêssegos só é inibido pelo 1-MCP se forem efetuadas aplicações freqüentes desse composto (Mathooko et al., 2001). Esse efeito está, possivelmente, relacionado à rápida regeneração dos receptores Pp-ERS1, quando o tratamento com 1-MCP é encerrado (Rasori et al., 2002).

Outras moléculas, análogas ao 1-MCP, como o 1-etilciclopropeno (1-ECP) e 1-propilciclopropeno (1-PCP), também são capazes de inibir a ligação do etileno aos seus

receptores (Feng et al., 2004). Entretanto, esses dois compostos são menos potentes que o 1-MCP (Feng et al., 2004).

### 2.2.3 Atividade respiratória

O amadurecimento de pêssegos é acompanhado de um aumento drástico e transitório na atividade respiratória, chamado de climatério respiratório. Esse evento, em frutos climatéricos, geralmente corresponde à maturação comercial dos frutos (Duque et al., 1999). O aumento da respiração nos frutos climatéricos parece estar relacionado a um incremento no fluxo glicolítico (Mertens et al., 1987). O aumento na atividade das fosfofrutoquinases ATP-dependentes (PFK; EC 2.7.1.11) e/ou das fosfofrutoquinases PP<sub>i</sub>-dependentes (PFP; EC 2.7.1.90) poderia ser responsável pelo incremento climatérico da respiração (Isaac & Rhodes, 1987; Mertens et al., 1987).

O papel central do climatério respiratório ainda não é conhecido. Acreditava-se que o aumento nos níveis de ATP nas células, em função desse processo, seria uma necessidade para suprir a demanda energética dos vários eventos que ocorrem durante o amadurecimento (Tucker, 1993). No entanto, a energia produzida pelo incremento respiratório é muito superior à demanda energética estimada para a maioria dos frutos. Além disso, os frutos não-climatéricos são capazes de amadurecer sem apresentar um aumento significativo na atividade respiratória (Tucker, 1993).

A relação entre o climatério respiratório e o aumento drástico na síntese de etileno, durante o amadurecimento, ainda não foi devidamente elucidado (Lelièvre et al., 1997). Todavia, possivelmente o etileno é responsável por estimular a rota alternativa de transporte de elétrons resistente ao cianeto (Solomos, 1977). Essa rota parece desempenhar um papel importante durante a respiração climatérica (Solomos, 1977), podendo atuar como um mecanismo de proteção contra o cianeto produzido durante o climatério do etileno (Yang & Hoffman, 1984; Kende, 1993). A rota alternativa auxilia na proteção contra as espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem ser formadas se a cadeia transportadora de elétrons é reduzida em excesso (Millar & Day, 1997). O acúmulo de mRNAs e da proteína oxidase alternativa (AOX), a oxidase terminal na cadeia alternativa de transporte de elétrons, ocorre de maneira mais pronunciada durante o amadurecimento de mangas (Cruz-Hernández & Gómez-Lim, 1995).

## 2.2.4 Modificações nas paredes celulares e efeitos sobre a firmeza da polpa

### 2.2.4.1 Estrutura das paredes celulares

As alterações que ocorrem na textura, durante o amadurecimento de frutos, são características de cada espécie, sendo as diferenças observadas decorrentes da espessura e composição das paredes celulares e também do tamanho, da forma, do conteúdo e da turgescência das células (Harker et al., 1993). A intensidade do processo de redução da firmeza de determinado fruto relaciona-se diretamente com seu período de conservação pós-colheita, com sua capacidade de reagir a infecções patogênicas e com as perdas e custos observados no seu transporte e armazenamento (Trainotti et al., 2003).

As paredes celulares, de modo geral, consistem de microfibrilas rígidas e inextensíveis, unidas por redes coesivas de glicanos, pectinas e glicoproteínas estruturais (Carpita & Gibeaut, 1993). As microfibrilas de celulose são “encapadas” e inter-cruzadas entre si pelas hemiceluloses da matriz, em particular os xiloglucanos (Brummell & Harpster, 2001). A estrutura fundamental (ou primária) de glucanos dos xiloglucanos é capaz de ligar-se fortemente à celulose por meio de pontes de hidrogênio. Os espaços remanescentes, entre a rede formada pela celulose e a matriz de glicanos, são preenchidos por pectinas hidratadas, que também formam uma rede, mantida por ligações éster entre as moléculas de pectina e por inter-ligações mediadas por  $\text{Ca}^{2+}$  entre homogalacturonanos desmetilesterificados (Brummell & Harpster, 2001). A estrutura, como um todo, é unida por ligações covalentes entre algumas moléculas de xiloglucano e pectinas (Thompson & Fry, 2000).

Apesar de restrito, o conhecimento detalhado da estrutura da parede celular de frutos demonstra que basicamente ela seja como descrito anteriormente. As paredes celulares dos frutos carnosos são ricas em pectinas, que podem constituir mais de 50% da composição das paredes, com variações consideráveis entre as espécies (Brummell & Harpster, 2001). As pectinas compreendem um grupo de heteropolissacarídeos ácidos com domínios estruturais distintos, sendo sujeitas à ação de proteínas de biossíntese e de enzimas modificadoras da parede celular (Willats et al., 2001). As pectinas são ricas em ácido galacturônico, o qual participa da formação da estrutura fundamental dos três principais polissacarídeos pécticos: o homogalacturonano ou ácido poligalacturônico (HGA), o ramnogalacturonano-I (RG-I) e o ramnogalacturonano-II (RG-II). O homogalacturonano é um homopolímero linear, contendo de 100 a 200 resíduos de ácido galacturônico com ligações  $\alpha$  (1→4) (Zhan et al., 1998). Ele é

sintetizado no complexo de Golgi e transportado às paredes celulares numa forma altamente metil-esterificada (70-80%) nas carboxilas C-6 (Perrin et al., 2001). Os RG-I são formados pelo dissacarídeo (1→2)- $\alpha$ -L-ramnose-(1→4)- $\alpha$ -D-ácido galacturônico, que se repete pelo menos 100 vezes, apresentando de 20-80% dos resíduos de ramnose substituídos por cadeias laterais (Willats et al., 2001). Em geral, os RG-I estão glicosidicamente ligados aos domínios dos HGA. O RG-II é uma pectina ramificada, contendo uma estrutura fundamental de HGA (Vincken et al., 2003). Na matriz péctica, os RG-II estão covalentemente ligados aos HGAs.

#### 2.2.4.2 Alterações nas paredes celulares durante o amadurecimento

Durante o amadurecimento, a estrutura das paredes celulares torna-se gradativamente mais hidratada, em decorrência das modificações na coesão das pectinas (Jarvis, 1984). Dessa forma, a textura do fruto é afetada principalmente pela facilidade com que as células rompem ou se separam umas das outras. As pectinas, as hemiceluloses e possivelmente as regiões amorfas das microfibrilas de celulose sofrem modificações estruturais durante o amadurecimento (O'Donoghue et al., 1994).

Algumas alterações nas paredes celulares, relacionadas ao amadurecimento de frutos, são comuns a várias espécies, como a despolimerização dos glicanos da matriz (Brummell et al., 2004). No entanto, o conteúdo de galactose e arabinose e a despolimerização de pectinas ligadas ionicamente, durante o processo de amadurecimento, variam consideravelmente entre as espécies (Redgwell et al., 1997). Além disso, a intensidade da solubilização das pectinas também é diferente entre as espécies, sendo alta em quivi, tomate e ameixa e pouco expressiva em maçãs e melancias (Redgwell et al., 1997). As pectinas são gradativamente despolimerizadas e solubilizadas durante o amadurecimento (Fischer & Bennett, 1991; Brummell & Harpster, 2001; Brummell et al., 2004). Entretanto, nem todos os poliuronídeos tornam-se solúveis, pois, mesmo que sejam despolimerizados, muitos permanecem associados por meio de ligações iônicas a outras moléculas de pectinas insolúveis. A porosidade da parede celular aumenta, à medida que as pectinas são despolimerizadas, e as cadeias laterais de galactose e arabinose dos ramnogalacturonanos I (RG I) são perdidas (Gross & Sams, 1984), o que vai permitindo o acesso das hidrolases da parede celular aos seus substratos (Baron-Epel et al., 1988).

Em pêssegos, o início do processo de redução da firmeza da polpa é acompanhado pelo incremento no conteúdo de pectinas frouxamente ligadas por ligações iônicas (extraídas

por quelante), mas sem a ocorrência de extensiva despolimerização (Brummell et al., 2004). No entanto, no período subsequente, de redução drástica de firmeza (estádio fundente), ocorre uma elevada despolimerização e solubilização dessas pectinas. Esse processo é acompanhado por uma redução gradual no nível de metilesterificação das pectinas. Além dos processos de degradação da parede celular serem acompanhados pela modificação da atividade de várias enzimas hidrolíticas (Brummell et al., 2004), ocorre, também, a síntese limitada de polissacarídeos e de uma elevada atividade de síntese de proteínas estruturais, que possivelmente auxiliam na manutenção da integridade das paredes celulares durante o processo de amolecimento (Trainotti et al., 2003).

#### 2.2.4.2.1 Poligalacturonases

As poligalacturonases (PGs; poli(1→4- $\alpha$ -D-galacturonídeo) glicanohidrolases) são enzimas que catalisam a clivagem das ligações  $\alpha$ -(1→4), sendo de dois tipos, as que atuam de forma *exo*- e de forma *endo*- (Brummell & Harpster, 2001). As *exo*-PGs (EC 3.2.1.67) removem unidades simples de ácido galacturônico somente das terminações não-redutoras dos HGAs, enquanto as *endo*-PGs (EC 3.2.1.15) clivam esse polímero de maneira aleatória (Brummell & Harpster, 2001). Como os HGAs são secretados na parede celular numa forma altamente metilesterificada, para tornarem-se os substratos das PGs, eles devem ser desmetilesterificados (Jarvis, 1984; Carpita & Gibeaut, 1993). Interessantemente, as pectato liases catalisam uma clivagem similar das ligações  $\alpha$ -(1→4) entre os ácidos D-galacturônicos, porém por meio de reações de  $\beta$ -eliminação (Fischer & Bennett, 1991).

Pêssegos das variedades que perdem rapidamente sua firmeza da polpa, durante o amadurecimento (polpa fundente), apresentam, além da atividade das *exo*-PGs, um aumento drástico na atividade das *endo*-PGs (Pressey & Avants, 1978). Entretanto, em pêssegos com caroço preso e que não apresentam essa redução acentuada da firmeza da polpa (polpa não fundente) é detectada somente a atividade da *exo*-PG (Pressey & Avants, 1978). Esse fato explica parcialmente a redução mais limitada da firmeza da polpa de pêssegos com o caroço preso à polpa. Um único locus gênico parece determinar tanto a característica de caroço livre da polpa e a característica fundente da polpa (Bailey & French, 1949).

As PGs são expressas a partir de grandes famílias multigênicas, porém, durante o amadurecimento, apenas poucos genes são expressos nos frutos (Della Penna et al., 1986). O etileno está envolvido com a regulação desse processo em vários frutos (Sitrit & Bennett,

1998; Zanuzo, 2004). A tradução das PGs envolve várias etapas, que correspondem a extensivas alterações pós-traducionais. A primeira corresponde à retirada dos 24 aminoácidos da seqüência sinalizadora, que guia o polipeptídeo recém traduzido para o sistema de endomembranas do retículo endoplasmático e do complexo de Golgi, onde ele será processado e, finalmente, secretado para a parede celular (Fischer & Bennett, 1991). Mais tarde, são suprimidos os 47 aminoácidos da pró-seqüência amino-terminal e 13 da terminação carboxílica. Duas proteínas maduras, PG2A e PG2B, são formadas, diferindo somente em relação à intensidade das glicosilações que sofreram, apresentando 43 e 45kDa, respectivamente. Além disso, uma terceira PG, a PG1, também tem sido identificada (Brummell & Harpster, 2001). Essa isoforma apresenta um elevado peso molecular, consistindo de uma ou, possivelmente, duas PG2A ou PG2B combinadas com uma glicoproteína de 38kDa, conhecida como subunidade  $\beta$  ou conversora de PG.

#### 2.2.4.2.2 Pectina metilesterases

Durante o crescimento celular, os HGAs, são secretados nas paredes celulares com um elevado grau de metilesterificação, sendo progressivamente desmetilesterificados. Esse processo é concomitante com o aumento da atividade das pectina metilesterases (PME; EC 3.1.1.11), enzimas que hidrolisam o grupamento metiléster da posição C-6 dos resíduos de HGAs das pectinas, formando pectinas com menor grau de metilação e metanol (Fischer & Bennett, 1991; Brummell & Harpster, 2001). Como as PGs são mais eficientes na degradação de pectinas desmetilesterificadas (Koch & Nevins, 1989), a ação das PMEs determina, em parte, quais pectinas são suscetíveis ao ataque das PGs. A atividade das PMEs é detectada durante todas as fases do desenvolvimento dos frutos, sendo que picos de atividade são observados quando os frutos são ainda pequenos e imaturos e logo no início do processo de amadurecimento (Harriman et al., 1991). No entanto, esses picos são alcançados após um declínio considerável na acumulação de mRNAs para PME. Em tomate, poucos genes codificam para a PME (Harriman et al., 1991), sendo que as proteínas sofrem alterações pós-traducionais, como a retirada da seqüência sinalizadora e de uma grande região amino-terminal (Gaffe et al., 1994).

O etileno, aparentemente, não regula a expressão da PME (Alexander & Grierson, 2002). No entanto, a expressão de *LeRab11a*, que codifica uma proteína putativamente relacionada ao tráfego de hidrolases para as paredes celulares, possivelmente é regulada pelo

etileno (Lu et al., 2001). A firmeza da polpa de frutos de plantas antisense para esse gene não decresceu durante o amadurecimento, sendo acompanhado por níveis reduzidos das enzimas PME e PG (Lu et al., 2001). Dessa forma, o etileno pode afetar indiretamente a atividade da PME por estimular um maior ou menor tráfego dessa enzima do complexo de Golgi às paredes celulares.

#### 2.2.4.2.3 Endo-(1→4) $\beta$ -D-glucanases (EGases)

Os glicanos da matriz das paredes celulares sofrem despolimerização considerável durante o processo de amadurecimento, o que contribui significativamente para a redução da firmeza dos frutos (Maclachlan & Brady, 1994). As EGases (EC 3.2.1.4) hidrolisam as ligações internas de cadeias adjacentes de glicanos, sendo seus substratos, *in muro*, provavelmente xiloglucanos, regiões periféricas e integrais da celulose não cristalina e glucomananos (Bennett & Harpster, 2001). Em pêsegos, apesar de detectada, a atividade da EGase é relativamente baixa e é pouco importante nas alterações que ocorrem durante o amadurecimento (Brummell et al., 2004).

#### 2.2.4.2.4 $\beta$ -galactosidades

A maior parte da galactose, presente nas paredes celulares, está nas cadeias laterais do RG-I (Carpita & Gibeaut, 1993). As *exo*- $\beta$ -D-galactosidades (EC 3.2.1.23) removem as terminações não-redutoras das  $\beta$ -D-galactosidades (Brummell & Harpster, 2001), sendo responsáveis por uma das principais alterações que ocorrem nas paredes celulares: a perda de resíduos galactosil (Gross & Sams, 1984). Em tomate existem três isoformas de  $\beta$ -galactosidade, sendo nomeadas de I, II e III. Enquanto as formas I e III apresentam alta atividade nos frutos imaturos, a atividade da forma II aumenta drasticamente durante o amadurecimento (Carey et al., 1995). Pelo menos sete genes codificam para  $\beta$ -galactosidades (Smith & Gross, 2000), sendo o gene *TBG4* altamente expresso durante o amadurecimento e, provavelmente, responsivo ao etileno (Brummell & Harpster, 2001).

#### 2.2.4.2.5 Xiloglucano endotransglicosilases (XET)

A XET (EC 2.4.1.207) faz a clivagem das ligações internas das estruturas fundamentais dos xiloglucanos e transfere a terminação redutora formada para a posição C-4 de uma glicose de outro xiloglucano (Brummell & Harpster, 2001). Essas enzimas podem ser divididas em dois grupos: as que possuem atividade hidrolase e as que não possuem. Em maçã e quivi, a atividade dessa enzima é alta durante a expansão dos frutos, decresce durante a maturação e aumenta novamente no amadurecimento (Percy et al. 1996). Esse padrão de atividade é resultante da expressão de diversos genes. Possivelmente, em frutos climatéricos, a expressão dos genes que codificam para a XET, durante o amadurecimento, é regulada pelo etileno (Brummell & Harpster, 2001).

#### 2.2.4.2.6 Expansinas

As expansinas são proteínas capazes de afrouxar a parede celular, pois promovem o rompimento das ligações não-covalentes presentes na interface celulose-hemicelulose (Cosgrove, 1998). Essas proteínas têm sido detectadas em vários frutos, como tomates (Rose et al., 1997), morangos (Civello et al., 1999) e pêssegos (Hayama et al., 2003). Três genes, que codificam para expansinas em pêssegos (*PpExp1-3*), são expressos especificamente nos frutos. Destes, *PpExp2* possivelmente exerça um papel no processo de expansão dos frutos, enquanto *PpExp1* e *PpExp3* são expressos especialmente durante o amadurecimento (Hayama et al., 2003). Além disso, esses mesmos autores indicam que enzimas hidrolíticas, como as PGs, podem atuar cooperativamente com as expansinas, reduzindo a firmeza da polpa dos frutos. A expressão das expansinas relacionadas ao amadurecimento de frutos é regulada pelo etileno (Rose et al., 1997).

#### 2.2.4.3 Coloração dos frutos

A modificação da cor de fundo da epiderme de pêssegos representa um dos índices usados para a determinação do ponto de colheita (Crisosto, 1994; Rombaldi et al., 2002). Essa alteração deve-se ao acúmulo e/ou revelação de pigmentos carotenóides, à medida que os cloroplastos são transformados em cromoplastos (Marano et al., 1993). Enquanto a sobre-cor



(cor vermelha) de pêssegos depende do genótipo e da exposição ao sol, a cor de fundo é muito dependente da maturação do fruto (Crisosto, 1994). Em pêssegos 'Chiripá', a cor de fundo da epiderme muda, durante o amadurecimento, de um tom esverdeado para uma tonalidade branco-creme (Araújo, 1998).

#### 2.2.4.4 Acidez titulável

O conteúdo de ácidos e açúcares é um dos principais determinantes da qualidade sensorial de pêssegos. A acidez titulável varia em função da quantidade e da composição dos ácidos orgânicos presentes. Os ácidos málico, cítrico e quínico são os principais ácidos orgânicos em pêssegos (Byrne et al., 1991). O ácido málico é o que acumula em maior quantidade na maturação, enquanto os ácidos cítrico e quínico estão presentes em menores quantidades (Dirlewanger et al., 1999).

O conteúdo final de ácidos orgânicos em frutos maduros pode ser controlado por três processos: a síntese, ainda no início do desenvolvimento; o armazenamento nos vacúolos; e a mobilização e consumo durante o amadurecimento (Moing et al., 2000). A fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC; EC 4.1.1.31) é considerada a enzima-chave na biossíntese de ácidos orgânicos em vegetais. O estudo de genótipos com baixa e alta acidez tem permitido avanços consideráveis na compreensão do processo de acumulação de ácidos orgânicos durante o desenvolvimento de pêssegos (Moing et al., 2000; Etienne et al., 2002). O máximo acúmulo de transcritos para PEPC coincide com o momento de maior acúmulo de ácido málico e cítrico em pêssegos 'Fantasia' (Moing et al., 2000). Da mesma forma, o baixo nível de transcritos para PEPC no estágio I de desenvolvimento de pêssegos 'Jalousia' (baixa acidez), corresponde a um baixo acúmulo de ácido málico nesse ponto. Cabe ressaltar, ainda, que outras enzimas e proteína transportadoras do vacúolo, expressas durante o amadurecimento, também são capazes de afetar significativamente os níveis de ácidos orgânicos nos frutos (Etienne et al., 2002). Durante a maturação de pêssegos, a concentração de ácidos orgânicos decresce, devido à redução na síntese e ao aumento no catabolismo (Tucker, 1993) e, também, em decorrência da importação e acumulação massiva de açúcares e da expansão celular (Etienne et al., 2002).

#### 2.2.4.5 Sólidos solúveis totais

O conteúdo de sólidos solúveis totais (SST) aumenta com a maturação e o amadurecimento dos pêssegos (Crisosto, 1994). A concentração de SST é variável, em função do genótipo e das condições ambientais (Ke et al., 1991). Os SST são representados, em grande parte, por açúcares, sendo os principais, em pêssegos, a sacarose, a frutose, a glicose e o sorbitol (Dirlewanger et al., 1999).

### 2.3 Armazenamento

#### 2.3.1 Armazenamento refrigerado (AR)

Pêssegos são frutos climatéricos, que apresentam elevado metabolismo, deteriorando rapidamente a temperaturas ambientes. Em função disso, o armazenamento desses frutos em baixas temperaturas tem sido utilizado, tanto para reduzir o metabolismo, quanto para restringir o desenvolvimento de podridões (Lurie & Crisosto, 2005). O armazenamento de pêssegos ‘Chiripá’ é bastante comum, pois essa é a última cultivar de mesa a ser colhida, tornando seu armazenamento interessante do ponto de vista econômico. Grande parte do pêssego produzido no Brasil é armazenado somente sob refrigeração. Nesse sistema de armazenamento controla-se a temperatura e a umidade relativa do ar.

Como a velocidade dos processos metabólicos é muito dependente da temperatura, a redução da temperatura do ar pode ser usada para ampliar o período de conservação de frutos, especialmente por reduzir a respiração celular (Steffens et al., 2006). No entanto, mesmo sob baixas temperaturas, maçãs podem apresentar uma elevação climatérica na atividade respiratória (Duque et al., 1999). No caso de pêssegos, o amadurecimento é extremamente reduzido a 1°C, enquanto a 5°C esse processo continua (Valero et al., 1997). Nesse sentido, a temperatura mais adequada, para o armazenamento de pêssegos, inclusive da cultivar Chiripá’, tem sido apontada como -0,5°C (Ceretta et al., 2000; Nava & Brackmann, 2002; Brackmann et al., 2005). Todavia, o período de armazenamento de pêssegos é limitado pela ocorrência de distúrbios fisiológicos, como a lanosidade e o escurecimento interno (Ver item 2.3.3), e de podridões (Ben-Arie & Lavee, 1971; Ben-Arie & Sonogo, 1980; von Mollendorff et al., 1989; Nava & Brackmann, 2002).

Além da temperatura, a umidade relativa do ar é outro fator de grande relevância em câmaras frigoríficas. Condições de UR do ar muito baixas podem levar à excessiva perda de massa pela transpiração, enquanto altas UR do ar podem favorecer o desenvolvimento de microorganismos patogênicos (Schwarz, 1994). Interessantemente, a perda de água na região do cálice de caquis resultou num incremento da síntese de etileno, pelo estímulo da expressão do gene *DK-ACS2* (Nakano et al., 2003). O etileno formado nessa região difundiu-se por toda a polpa, desencadeando a síntese autocatalítica de etileno nesses frutos. Além disso, a redução da perda de água no cálice atrasou significativamente a síntese de etileno (Nakano et al., 2003). Todavia, a ocorrência desse processo em outros frutos, bem como o efeito da desidratação durante o armazenamento sobre a maturação, ainda não foram estudados.

### 2.3.2 Armazenamento em atmosfera controlada (AC)

Além do abaixamento da temperatura, tem-se pesquisado o efeito da modificação das pressões parciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, como forma de incrementar o efeito do frio sobre a manutenção da qualidade de frutos por períodos prolongados de armazenamento. O armazenamento de frutos sob altas pressões parciais de CO<sub>2</sub> e/ou baixas de O<sub>2</sub> tem sido usado comercialmente para retardar o amadurecimento. Essas condições de armazenamento reduzem a biossíntese e a ação do etileno e o metabolismo respiratório, entre outros (Kerbel et al., 1988; Gorny & Kader, 1996; Mathooko, 1996a,b; de Wild et al., 1999; Liu et al., 2004; Mathooko et al., 2001).

#### 2.3.2.1 Efeito sobre a síntese de etileno

Níveis elevados de CO<sub>2</sub> (5-20%) inibem a produção de etileno em frutos climatéricos, devido à inibição da atividade da ACC sintase e da ACC oxidase (de Wild et al., 1999; Mathooko et al., 2001; de Wild et al., 2005). Uma das hipóteses em relação ao efeito inibitório do CO<sub>2</sub> sobre vários processos dependentes de etileno considerava que esse gás competia pelo sítio de ligação do etileno, inibindo sua biossíntese e ação (Burg & Burg, 1967). No entanto, recentemente novos estudos têm demonstrado que o local de ação do CO<sub>2</sub>, na via de biossíntese de etileno, situa-se antes da formação de ACC em etileno (de Wild et al., 1999; Mathooko et al., 2001; de Wild et al., 2005). Além disso, esses mesmos estudos

indicam que o CO<sub>2</sub> não afeta a ligação do CO<sub>2</sub> aos seus receptores, como postulado anteriormente. De acordo com Nakajima et al. (1990), o CO<sub>2</sub> inibe a atividade da ACC sintase por meio de inibição transcricional. Em pêssegos, foi demonstrada uma inibição da atividade da ACC sintase pelo CO<sub>2</sub> (Mathooko et al., 2001). O efeito inibitório do CO<sub>2</sub> sobre a produção de etileno pode estar relacionado a uma redução do conteúdo de ACC sintase, devido à degradação e/ou inibição de sua síntese, ou pela inibição de sua atividade. No entanto, a inibição da ACC sintase requer que o CO<sub>2</sub> esteja presente continuamente (Mathooko, 1996a).

O efeito do CO<sub>2</sub> sobre a ACC oxidase é dependente da concentração desse gás (Mathooko, 1996a). Dessa forma, baixos níveis de CO<sub>2</sub> estimulam e altos níveis inibem a atividade da ACC oxidase. O CO<sub>2</sub> é capaz de promover alterações no pH do citosol, o que pode reduzir a capacidade catalítica da ACC oxidase, reduzindo significativamente a biossíntese de etileno (Dong et al., 1992; Siriphanic & Kader, 1986). Interessantemente, o CO<sub>2</sub> é capaz de ativar a ACC oxidase, aumentando a V<sub>max</sub> da reação, mas, por outro lado, reduz a afinidade da enzima pelo seu substrato, ACC (Mathooko, 1996a). O modo como o CO<sub>2</sub> pode atuar positivamente sobre a ACC oxidase tem sido pesquisado, sendo que Dong et al. (1992) observaram que o CO<sub>2</sub> ativa reversivelmente essa enzima. Essa ativação possivelmente envolveria uma reação de carbamilação num resíduo específico de lisina da proteína (Fernandez-Maculet et al., 1993), semelhante à ativação da Rubisco pelo CO<sub>2</sub> (Lorimer & Mizioroko, 1980).

Além dos efeitos do CO<sub>2</sub> sobre a rota de síntese de etileno, a exposição de frutos e vegetais frescos a níveis de O<sub>2</sub> inferiores a 8% reduzem significativamente a biossíntese de etileno (Kader, 1986). Devido ao O<sub>2</sub> ser substrato na reação catalisada pela ACC oxidase, sob condições de anaerobiose a conversão de ACC a etileno pode ser completamente inibida (Kende, 1993). O armazenamento de maçãs sob 0,25% de O<sub>2</sub> reduziu a atividade da ACC oxidase e a síntese de ACC sintase (Gorny & Kader, 1996). Além disso, o armazenamento de maçãs em 0,25% de O<sub>2</sub> foi mais eficiente em reduzir a biossíntese de etileno do que o armazenamento em ar + 20% de CO<sub>2</sub> (Gorny & Kader, 1996).

#### 2.3.2.2 Efeito sobre o metabolismo respiratório

O armazenamento de frutos sob baixas pressões parciais de O<sub>2</sub> e/ou elevadas de CO<sub>2</sub> afetam a atividade respiratória dos mesmos (Kerbel et al., 1988; Liu et al., 2004). Nesse

contexto, o CO<sub>2</sub> pode atuar, tanto como um indutor, quanto um supressor da respiração durante e após o armazenamento, dependendo da sua concentração, da concentração de O<sub>2</sub>, da espécie e da temperatura (Kader, 1986). Todavia, é difícil discriminar exatamente quais eventos são afetados pelas altas concentrações de CO<sub>2</sub> e quais pelos baixos níveis de O<sub>2</sub> (Mathooko, 1996b).

Segundo Liu et al. (2004), o CO<sub>2</sub> inibe a atividade da isocitrato desidrogenase (IDH), enzima que catalisa a conversão de isocitrato à 2-oxoglutarato. Além disso, outras enzimas desta rota podem ser inibidas, porém em menor extensão. Da mesma forma, a exposição de frutos a elevados níveis de CO<sub>2</sub> poderia resultar na inibição de determinadas enzimas da via glicolítica. Nesse sentido, observou-se uma redução significativa na respiração de pêras expostas ao alto CO<sub>2</sub> devido à inibição da síntese e/ou da atividade das fosfofrutoquinases ATP-dependentes (PFK) e das fosfofrutoquinases PP<sub>i</sub>-dependentes (PFP) (Kerbel et al., 1988).

### 2.3.2.3 Efeito sobre a qualidade físico-química dos frutos

Devido às condições de AC afetarem significativamente a síntese de etileno e a respiração de pêssegos, essas condições exercem efeitos, também, nos atributos de qualidade desses frutos, especialmente a firmeza da polpa, a acidez titulável e a cor de fundo da epiderme. Segundo Rushing & Dinamarca (1993), as características qualitativas de pêssegos, que são mais afetadas pelo controle da atmosfera, são a firmeza da polpa e a cor de fundo da epiderme.

As condições de AC mais adequadas para o armazenamento de pêssegos variam em função da cultivar. Enquanto que para pêssegos 'Eldorado' a AC com 2,0kPa O<sub>2</sub> + 5,0kPa CO<sub>2</sub> permite melhor qualidade (Brackmann et al., 2005), para pêssegos 'Chimarrita' o uso de 5,0kPa O<sub>2</sub> + 10,0kPa CO<sub>2</sub> é o mais eficiente (Brackmann et al., 2003). Em relação ao pêssego 'Chiripá', as condições de AC com 1,0kPa O<sub>2</sub> + 3,0kPa CO<sub>2</sub> e 1,5kPa O<sub>2</sub> + 5,0kPa CO<sub>2</sub> têm sido apontadas como as mais eficientes na manutenção da qualidade físico-química e organoléptica desses frutos (Nava & Brackmann, 2002; Rombaldi et al., 2002). Todavia, comparando-se com o armazenamento refrigerado, o controle da atmosfera possui pouco efeito sobre a acidez titulável e o conteúdo de sólidos solúveis totais (Nava & Brackmann, 2002).

#### 2.3.2.4 Efeito sobre a ocorrência de podridões

A incidência de podridões em pêssegos é responsável por grandes perdas. O principal fungo causador de podridões em pêssego é a *Monilinia fructicola* (G.Wint.) Honey, que causa a podridão-parda (Emery et al., 2002). No entanto, dependendo das condições climáticas e do manejo pós-colheita, pode ocorrer, também, uma elevada incidência de outros fungos, como *Botrytis cinerea* Pers.:Fr., *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Lind. e *Penicillium expansum* Link., entre outros (Palou et al., 2002).

O crescimento de fungos, em frutos armazenados, pode ser reduzido por meio do abaixamento da temperatura e pelo aumento da pressão parcial de CO<sub>2</sub> (Agar et al., 1990). Nesse sentido, melhores resultados são obtidos se as pressões parciais de O<sub>2</sub> forem mantidas abaixo de 1kPa e as de CO<sub>2</sub> acima de 10kPa (Beaudry, 1999). Em pêssegos ‘Chiripá’, ocorreu menor incidência de podridões nos frutos armazenados sob 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub> (Nava & Brackmann, 2002), enquanto que em pêssegos ‘Chimarrita’ não houve diferença significativa entre os frutos armazenados em AC com 1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub> ou 5,0kPa de O<sub>2</sub> + 10,0kPa CO<sub>2</sub> (Brackmann et al., 2003).

#### 2.3.3 Desordens fisiológicas provocadas pela frigoconservação

Apesar dos benefícios do armazenamento refrigerado na conservação de pêssegos e nectarinas, grande parte das cultivares comerciais são sensíveis à ocorrência de dano por frio, quando armazenadas por longos períodos (Ben-Arie & Lavee, 1971; Ben-Arie & Sonogo, 1980; von Mollendorff et al., 1989; Zhou et al., 2001).

Os sintomas de dano por frio afetam, geralmente, apenas a polpa dos frutos, o que torna impossível a separação dos frutos afetados. Dessa forma, são os consumidores que detectam a ocorrência desses distúrbios, o que pode levá-los à insatisfação e à redução no consumo de pêssegos (Brummell et al., 2004). Dependendo da cultivar e do tempo de armazenamento, podem ser observados diferentes sintomas relacionados com o desenvolvimento de dano por frio. Frutos afetados pela lanosidade apresentam polpa seca, lanosa ou farinácea, que pode tornar-se dura e seca (“leatheriness”) (Ben-Arie & Lavee, 1971; Ben-Arie & Sonogo, 1980; von Mollendorff et al., 1989; Zhou et al., 2001). Por outro lado, o dano por frio pode manifestar-se na forma de escurecimento da polpa ou da cavidade do caroço (Fernandez-Trujillo et al., 1998; Brackmann et al., 2005; Lurie & Crisosto, 2005) ou,

ainda, como um avermelhamento exagerado da polpa (Lurie, 1992; Retamales et al., 1992; Dong et al., 2001). Outros sintomas, como a perda de “flavour” e o amadurecimento anormal, também podem ser induzidos pelo frio (Obenland et al., 2003).

#### 2.3.3.1 Lanosidade

A incidência de lanosidade (“mealiness” ou “woolliness”) tem causado efeitos negativos na ampliação da área produtiva e na infra-estrutura de armazenamento de pêssegos de polpa branca, como o ‘Chiripá’ e o ‘Chimarrita’, ambos suscetíveis a esse distúrbio fisiológico (Nava & Brackmann, 2002; Rombaldi et al., 2002; Brackmann et al., 2003; Girardi et al., 2005). Além disso, esse é um problema mundialmente reportado, por afetar as principais cultivares comerciais de pêssego e nectarinas (revisado em Lurie & Crisosto, 2005). Luchsinger & Walsh (1997) observaram que grande parte dos pêssegos exportadas pelo Chile, por meio do transporte marítimo em contêineres refrigerados, chegavam ao porto da Filadélfia, nos Estados Unidos, com sintomas severos de lanosidade. Além disso, a incidência atingia, dependendo da cultivar, até 100% dos frutos avaliados.

A expansão dos espaços intercelulares das células parenquimáticas do mesocarpo e o acúmulo de substâncias pécticas de alto peso molecular na matriz intercelular são conseqüências de dano por frio em pêssegos (Luza et al., 1992; Appezzato-da-Glória et al., 2004). Além disso, a fragmentação nuclear também foi observada em frutos com sintomas severos de lanosidade (Appezzato-da-Glória et al., 2004).

A ocorrência de lanosidade possui uma base genética, sendo seu desenvolvimento dependente da combinação entre a temperatura e o tempo de armazenamento (Ben-Arie & Lavee, 1971; Mitchell, 1987; Crisosto et al., 1999). A incidência de lanosidade aumenta consideravelmente com o prolongamento do período de armazenamento, sendo observada, geralmente, após duas semanas de armazenamento (Ben-Arie & Lavee, 1971; Brummell et al., 2004).

A menor suculência observada em frutos lanosos não decorre da alteração no conteúdo de água (Ben-Arie & Lavee, 1971; Zhou et al., 2000b), mas do aprisionamento desta à fração péctica das paredes celulares (Ben-Arie & Sonogo, 1980; Obenland et al., 2003; Brummell et al., 2004). O desenvolvimento da lanosidade tem sido associado a uma redução na atividade das PGs, durante a exposição a baixas temperaturas, enquanto a atividade das PME's continua relativamente estável nesse período (Ben-Arie & Lavee, 1971; Ben-Arie & Sonogo, 1980;

Zhou et al., 2000a). Dessa forma, a contínua desmetilesterificação, causada pela atividade da PMEs, sem uma despolimerização sincronizada das pectinas, devido à redução da atividade das PGs, leva ao acúmulo de pectinas insolúveis de alto peso molecular e baixo grau de metilesterificação (Ben-Arie & Sonogo, 1980). Pectinas com um grau de metilesterificação menor que 50% tendem a ligar  $\text{Ca}^{2+}$  (Zhou et al., 2000a), formando complexos de pectato de cálcio de alto peso molecular (Ben-Arie & Lavee, 1971), capazes de ligar a água livre (Obenland et al., 2003) e formar gel (Ben-Arie & Sonogo, 1980; Von Mollendorff et al., 1989). Apesar da expressão dos genes que codificam para PG e PME ser pouco afetada, as condições de baixa temperatura reduzem a tradução e/ou a atividade das PGs, modificando significativamente a razão PG/PME (Zhou et al., 2000b).

Além de envolver alterações na atividade das PGs e PMEs, o desenvolvimento da lanosidade é acompanhado por um declínio na expressão gênica e no acúmulo de expansinas (Obenland et al., 2003). Além disso, várias enzimas, envolvidas com o processo de degradação das paredes celulares, apresentam baixa atividade em frutos lanosos, como as *endo*-1,4- $\beta$ -glucanases, as *endo*-1,4- $\beta$ -mananases, as  $\beta$ -galactosidases e as  $\alpha$ -arabinosidades (Brummell et al., 2004). No entanto, a participação dessas enzimas no processo de desenvolvimento da lanosidade ainda não foi completamente elucidada.

#### 2.3.3.1.1 Redução da incidência da lanosidade

Uma série de estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de prevenir ou reduzir o desenvolvimento de lanosidade em pêssegos e nectarinas, o que demonstra a extensão desse problema em nível mundial (Lurie & Crisosto, 2005). Além do manejo pós-colheita, algumas técnicas adotadas em pré-colheita têm se mostrado eficientes na redução ou no atraso da incidência de dano por frio.

A ocorrência de dano por frio não parece ser afetada pela adubação nitrogenada das plantas (Daane et al., 1995). No entanto, o tamanho dos frutos e sua posição na copa das plantas pode afetar sua susceptibilidade à incidência de dano por frio (Crisosto et al., 1997, 1999). Em função dos frutos desenvolvidos nos locais mais sombreados da copa apresentarem maior incidência de dano por frio, a realização de poda verde pode beneficiar a qualidade dos frutos após o armazenamento (Crisosto et al., 1997). Frutos mais expostos à insolação atingem maiores temperaturas diárias, o que pode reduzir a sua susceptibilidade a baixas temperaturas de armazenamento, pelo estímulo da atividade antioxidante (Kang et al., 2002).



O prolongamento da vida pós-colheita de pêsegos e nectarinas é extremamente necessário, tanto para a comercialização do produto quando o mercado está desabastecido, quanto para o transporte a longas distâncias. No entanto, a possibilidade de perdas decorrentes da incidência de desordens fisiológicas causadas pelas baixas temperaturas de armazenamento, tem tornado evidente a necessidade de se desenvolver técnicas que possam ser associadas ao armazenamento refrigerado para o controle desse problema. Entre as técnicas desenvolvidas com esse objetivo, pode-se mencionar o aquecimento intermitente, com ou sem o controle da atmosfera (Anderson, 1982; Fernández-Trujillo et al., 1998), a atmosfera controlada isoladamente ou o atraso no resfriamento (Ben-Arie & Sonogo, 1980; Lurie, 1992; Zhou et al., 2000; Nava & Brackmann, 2002; Girardi et al., 2005) e a aplicação de etileno exógeno durante o armazenamento (Dong et al., 2001; Zhou et al., 2001).

O armazenamento de pêsegos e nectarinas em atmosfera controlada (AC) apresenta resultados satisfatórios na prevenção da lanosidade (Lurie, 1992; Zhou et al., 2000b; Nava & Brackmann, 2002; Girardi et al., 2005). O nível de CO<sub>2</sub> utilizado, aparentemente, parece ser o componente mais importante para a redução dessas desordens, sendo a eficácia da AC dependente da cultivar, da temperatura e do tempo de armazenamento (Lurie & Crisosto, 2005). Essa condição de armazenamento afeta a respiração (Mathooko, 1996b; Watkins, 2000) e a síntese de etileno dos frutos (Mathooko, 1996a; Mathooko et al., 2001). Além disso, as condições de AC são capazes de afetar a expressão e a atividade de enzimas hidrolíticas, como as *endo*-PGs, durante o armazenamento e o posterior amadurecimento dos frutos (Zhou et al., 2000b; Girardi et al., 2005). Apesar de não avaliado, esse efeito pode estar relacionado primariamente à alteração na síntese de etileno.

Além da AC, o papel do etileno na prevenção ou controle de desordens causadas pelo frio também vem sendo estudado, tanto pela aplicação exógena desse composto, quanto pela inibição de sua ação (Dong et al. 2001; Zhou et al., 2001; Palou et al., 2003; Liguori et al., 2004). Apesar de seu efeito sobre os eventos que controlam o amadurecimento (Alexander & Grierson, 2002), a presença de etileno durante o armazenamento refrigerado de pêsegos e nectarinas pode reduzir a incidência de lanosidade, sem afetar negativamente os demais parâmetros de qualidade (Palou et al., 2003). Da mesma forma, a exposição de nectarinas e pêsegos ao etileno, durante o armazenamento, reduz a incidência de lanosidade (Zhou et al., 2001; Palou et al., 2003; Girardi et al., 2005). A aplicação de 1-MCP, um inibidor da ação do etileno (Sisler & Serek, 1997), aumenta a incidência de lanosidade em nectarinas (Dong et al., 2001). Da mesma forma, a aplicação pré-colheita de AVG aumentou a incidência de lanosidade em nectarinas, apesar de retardar a colheita e manter a firmeza da polpa mais

elevada (McGlasson et al., 2005). Por outro lado, a eliminação do etileno, da câmara de armazenamento, não traz benefícios à qualidade de pêssegos ‘Chiripá’ (Nava & Brackmann, 2001) e ‘Chimarrita’ (Brackmann et al., 2003). Todos esses resultados indicam que o etileno é essencial para o amadurecimento normal de pêssegos e nectarinas após o armazenamento.

#### 2.3.3.1.2 Avaliação da lanosidade

Um ponto crítico no estudo de técnicas para o controle da lanosidade refere-se à avaliação desse distúrbio. A avaliação subjetiva, por meio da visualização direta da polpa, é ainda uma das formas mais utilizadas para determinar a incidência desse distúrbio fisiológico (Luchsinger, 2000). Todavia, alguns pesquisadores, considerando que a baixa suculência observada em frutos lanosos decorre do seu aprisionamento, passaram a desenvolver metodologias objetivas para a análise dessa desordem. Basicamente, existem três metodologias para a avaliação objetiva da lanosidade (Lill & van der Mespel, 1988; von Mollendorff et al., 1992; Crisosto & Labavitch, 2002).

No método do suco aparente, desenvolvido por Lill & van der Mespel (1988), os tecidos são rompidos numa seringa, simulando a mastigação. Apesar de relativamente rápido e sensível, esse método é muito dependente da firmeza da polpa dos frutos, não sendo possível analisar frutos muito firmes ou com firmeza muito baixa (Luchsinger, 2000; Crisosto & Labavitch, 2002; Kluch, 2003). Esse método, portanto, não permite uma avaliação adequada da suculência após o armazenamento, pois, na saída da câmara, a firmeza da polpa costuma ser ainda elevada e, após poucos dias, pêssegos com polpa fundente, como o ‘Chiripá’, apresentam firmeza muito baixa. Na determinação do suco extraível, proposto por von Mollendorff et al. (1992), a homogeneização é efetuada com liquidificador. Todavia, em ambos os métodos, possivelmente, ocorre uma geleificação adicional durante o processo de homogeneização e centrifugação. Isso pode ser responsável por algumas discrepâncias obtidas entre a avaliação visual e a análise objetiva da lanosidade (von Mollendorff et al. 1992; Zhou et al., 2000b; Kluch, 2003).

Recentemente, um novo método foi proposto por Crisosto & Labavitch (2002), no qual se determina o conteúdo de suco livre na polpa. Nesse método, a amostra é submetida a uma elevada força de pressão, liberando o suco livre da polpa. Os níveis de suco livre, obtidos por esse método, correlacionam-se melhor com os sintomas visuais, do que os determinados pelo método do suco extraível (Crisosto & Labavitch, 2002). Além disso, esse método

apresenta maior flexibilidade, em relação à firmeza da polpa dos frutos, e melhor reprodutibilidade. Essas características são particularmente importantes, porque se torna possível analisar a incidência da lanosidade objetivamente durante todo o período de amadurecimento pós-armazenamento. Isso porque, visualmente, tem-se observado uma reversão no processo de lanosidade à medida que o período de exposição à temperatura ambiente, após o armazenamento, é prolongado (von Mollendorff et al., 1989; Luchsinger & Walsh, 1997; Zhou et al., 2000b).

### 2.3.3.2 Escurecimento e avermelhamento da polpa

Pêssegos e nectarinas frigoconservados podem desenvolver, além dos sintomas de lanosidade mencionados anteriormente, um escurecimento na polpa e/ou cavidade do caroço (“flesh browning”). Esse distúrbio fisiológico deprecia a qualidade visual e o sabor dos frutos, tornando-os inaceitáveis para o consumo (Lurie & Crisosto, 2005). Os frutos afetados por essa desordem também são detectados somente pelos consumidores finais.

A quantidade de compostos fenólicos presentes nos frutos e a atividade das polifenol oxidases são determinantes do potencial de escurecimento dos frutos de determinada cultivar (Kader & Chordas, 1984). Essa relação ocorre porque, ao contrário da lanosidade, o escurecimento interno é causado, possivelmente, pela alteração na permeabilidade das membranas plasmáticas, permitindo o contato das polifenol oxidases com seus substratos (Lurie & Crisosto, 2005).

As cultivares diferem em relação à susceptibilidade de desenvolver escurecimento da polpa. Além disso, o ponto de colheita (Fernandez-Trujillo et al., 1998), a aplicação de AVG (Ju et al., 1999; Brackmann et al., no prelo) e as condições de armazenamento utilizadas (Retamales et al., 1992; Ceretta et al., 2000; Brackmann et al., 2005) afetam significativamente a incidência e a severidade desse distúrbio fisiológico.

Algumas cultivares de pêssego, como o ‘Chiripá’, e nectarina possuem células, junto à cavidade do caroço, com altas concentrações de pigmentos antocianínicos. O armazenamento por períodos prolongados pode ocasionar o avermelhamento das regiões próximas à cavidade do caroço ou, em condições extremas, afetar toda a polpa (Lurie & Crisosto, 2005). As causas desse distúrbio fisiológico, chamado de avermelhamento da polpa (“flesh reddening”), ainda não são conhecidas. No entanto, a senescência dos tecidos ou o amadurecimento anormal dos frutos têm sido relacionados à sua ocorrência (Dong et al., 2001; Lurie & Crisosto, 2005). O

etileno, de alguma forma, parece estar envolvido com o desenvolvimento de avermelhamento da polpa, pois a aplicação de 1-MCP aumenta drasticamente a incidência dessa desordem (Dong et al., 2001).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Colheita, transporte e preparo das amostras

Para os experimentos, realizados no ano de 2005, os frutos foram adquiridos diretamente do 'packing house' da empresa Kiwistrin, de Farroupilha, RS. Os frutos haviam sido colhidos pela manhã, sendo acondicionados em caixas plásticas com capacidade para aproximadamente 12kg e transportados, imediatamente, para o Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita (NPP) da UFSM, Santa Maria, RS.

Para os experimentos do ano de 2006, os frutos foram colhidos num pomar comercial, localizado na Linha São José, 1º Distrito de Farroupilha, RS, Brasil. As plantas do referido pomar possuíam oito anos de idade. Os frutos foram colhidos durante o período da manhã, sendo imediatamente acondicionados em caixas plásticas e transportados para o NPP.

Em ambos os anos, chegando ao NPP, os frutos passaram por uma seleção, quando foram eliminados aqueles que apresentavam danos mecânicos, podridões e/ou que estavam imaturos ou excessivamente maduros. Em 2006, os frutos foram tratados com fungicida Rovral® (Iprodione – 150mL p.c. 100L<sup>-1</sup>) por dois minutos antes de serem armazenados. O objetivo disso foi evitar uma possível incidência elevada de podridões, que poderia comprometer a avaliação visual e objetiva da lanosidade.

Em 2005, os frutos apresentavam, no momento da colheita (n=15), 90±10g de massa, 30,93±1,84% de conteúdo de suco livre, 105,5±3,5 de cor de fundo da polpa (ângulo 'hue'), 66±4 N de firmeza da polpa, 5,50±0,20 meq 100mL<sup>-1</sup> (acidez titulável) e 13,5±0,3°Brix de sólidos solúveis totais. Além disso, a síntese de etileno e a produção de CO<sub>2</sub> dos frutos foi avaliada diariamente durante sete dias de amadurecimento a 20°C (Figura 1).

Em 2006, na análise inicial, os frutos (n=15) apresentavam 120±5g de massa, 28,87±1,84% de suco livre, 110,53±3,34 de cor de fundo da polpa (ângulo 'hue'),

70,34±5,30N de firmeza da polpa, 6,42±0,35meq 100mL<sup>-1</sup> de acidez titulável e 13,7±0,4°Brix de sólidos solúveis totais.

## 3.2 Tratamentos

### 3.2.1 Experimento I

No primeiro experimento, executado em 2005 e 2006, avaliou-se o efeito do armazenamento em atmosfera controlada (AC) sobre a qualidade e à incidência de lanosidade dos frutos. Os tratamentos avaliados foram: [1] armazenamento refrigerado (AR – 21,0kPa de O<sub>2</sub> + < 0,5kPa de CO<sub>2</sub>); [2] AC com 1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub>; e [3] AC com 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub>. A temperatura de armazenamento foi de -0,5°C. Em 2005, os frutos permaneceram armazenados por 25, 30 e 35 dias. Já em 2006, o período de armazenamento foi prolongado para 40 dias. Em ambos, as avaliações foram efetuadas na saída da câmara e aos dois, quatro e seis dias a 20°C. As duas condições de AC utilizadas foram as recomendadas por Nava & Brackmann (2002) para o armazenamento de pêssegos ‘Chiripá’.

### 3.2.2 Experimento II

Este experimento foi realizado somente em 2005. As condições de armazenamento avaliadas foram: [1] AR; [2] AR + etileno exógeno (≈20μL L<sup>-1</sup>); [3] AC com 1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub>; e [4] AC + etileno exógeno. A temperatura de armazenamento também foi de -0,5°C. Os frutos foram avaliados após 35 dias de armazenamento, na saída da câmara e aos dois, quatro e seis dias a 20°C.

### 3.2.3 Experimento III

No terceiro experimento avaliou-se como a ação do etileno afeta o amadurecimento e a ocorrência de lanosidade em pêssegos ‘Chiripá’. Este experimento foi conduzido em 2006. As condições avaliadas foram: [1] AR + 1-metilciclopropeno (1-MCP); [2] AC com 2,0kPa O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub>; [3] AC + 1-MCP aplicado no início do armazenamento (P1), durante 24 horas; [4] AC + 1-MCP aplicado nas primeiras 24 horas de exposição a 20°C (P2). A

temperatura de armazenamento foi de  $-0,5^{\circ}\text{C}$  e o período foi de 40 dias. As avaliações foram realizadas na saída da câmara e aos dois, quatro e seis dias a  $20^{\circ}\text{C}$ .

### **3.3 Manutenção das condições de armazenamento**

As condições de AC foram instaladas em minicâmaras experimentais, com volume de 233L depois de estabilizada a temperatura de armazenamento, mediante a injeção, nas minicâmaras, de nitrogênio ( $\text{N}_2$ ), proveniente de um gerador de  $\text{N}_2$ , que funciona pelo princípio “Pressure Swing Adsorption” (PSA). Por meio da diluição com  $\text{N}_2$ , reduziu-se a pressão parcial do  $\text{O}_2$  até o nível preestabelecido para cada tratamento. As pressões parciais de  $\text{CO}_2$  foram obtidas mediante a injeção deste gás, proveniente de cilindros de alta pressão, no interior das minicâmaras.

As pressões parciais dos gases ( $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$ ), durante o período de armazenamento, foram monitoradas e corrigidas por um equipamento totalmente automatizado da marca Kronenberger-Climasul<sup>®</sup>, aferido semanalmente com gases padrões. A temperatura das câmaras frigoríficas foi regulada automaticamente através de termostatos eletrônicos. Além disso, foi monitorada diariamente através de termômetros de mercúrio com resolução de  $0,1^{\circ}\text{C}$  inseridos na polpa de alguns frutos.

A aplicação do 1-MCP foi efetuada no início do armazenamento ou na saída da câmara, dependendo do tratamento (ver item 3.2.3), durante 24 horas a  $-0,5^{\circ}\text{C}$  ou  $20^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. Como fonte de 1-MCP utilizou-se o produto SmartFresh<sup>®</sup> (Rohm & Hass Co.), na formulação pó (0,14% ingrediente ativo). A quantidade de produto, necessária para se obter a concentração desejada, foi calculada em função do volume da minicâmara e da concentração do ingrediente presente no produto comercial. Essa quantidade foi, então, colocada em frascos de vidro de 10mL, fechados hermeticamente com septos de borracha. Após a adição de água destilada e deionizada à temperatura ambiente, os frascos foram agitados vigorosamente, até o produto dissolver-se completamente. 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.

Nos tratamentos com elevadas concentrações de etileno ( $\cong 20\mu\text{L L}^{-1}$ ), efetuou-se a injeção desse gás, oriundo de um cilindro de alta pressão com  $50.000\mu\text{L L}^{-1}$  de etileno. As concentrações de etileno de todas as minicâmaras foram analisadas a cada quatro a cinco dias, por meio de cromatografia gasosa. Para isso, amostrou-se, de cada minicâmara, cerca de 60mL da composição gasosa. Duas alíquotas de 1mL, sub-amostradas de cada amostra, foram injetadas num cromatógrafo a gás, marca Varian<sup>®</sup>, modelo CX 3400, equipado com uma coluna de aço inox de 1/8" e de 0,70m de comprimento, preparada com Porapak N80/100 e um detector de ionização de chama (FID). Como gás de arraste, utilizou-se o  $\text{N}_2$  a  $30\text{mL min}^{-1}$ . As temperaturas da câmara de injeção, coluna e detector foram ajustadas para  $90^\circ\text{C}$ ,  $140^\circ\text{C}$  e  $200^\circ\text{C}$ , respectivamente. O cromatógrafo estava conectado num microcomputador, sendo os dados processados por um software com curva de calibração, que fornecia os resultados em ppm ou  $\mu\text{L L}^{-1}$ .

### 3.4 Parâmetros avaliados

As análises laboratoriais foram efetuadas depois de decorrido o período de armazenamento e de exposição a  $20^\circ\text{C}$  previsto em cada um dos experimentos, conforme descrito no item 3.2. Os parâmetros avaliados foram:

- a) Atividade da ACC oxidase: realizada de acordo com a metodologia proposta por Bufler (1986). Foram retiradas algumas amostras de casca 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 adicionou-se 1mL de  $\text{CO}_2$ . Depois de 30 minutos, a concentração de etileno presente nas seringas foi determinada, sendo os dados expressos em  $\text{nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .
- b) Produção de etileno: determinada a partir da composição gasosa formada após cerca de 1 hora num recipiente hermético, com 5 litros de volume, contendo cerca de 1000g de frutos. Amostras de 1mL dessa composição foram injetadas num cromatógrafo a gás, conforme descrito anteriormente (item 3.3). Os resultados foram expressos em síntese de etileno ( $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), calculada com base na concentração de etileno no interior dos

recipientes, na massa de frutos, no volume do espaço livre no recipiente e no tempo de fechamento dos recipientes.

- c) Respiração: determinada com o auxílio de um analisador de CO<sub>2</sub> de fluxo contínuo, marca Agri-Datalog<sup>®</sup> (Itália), pelo qual foi circulada a composição gasosa dos recipientes, após a amostragem para a síntese de etileno. Os resultados foram expressos em mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, calculados em função da concentração de CO<sub>2</sub> presente nos recipientes, da massa de frutos, do volume do espaço livre e do tempo de fechamento.
- d) Cor de fundo da epiderme: avaliada com o auxílio de um colorímetro Minolta<sup>®</sup>, modelo CR-310 (Japão), pelo sistema CIE L\*a\*b\*. Os valores foram expressos em ângulo “hue”, onde °h = arco tangente (b\* / a\*), de acordo com McGuire (1992).
- e) Firmeza da polpa: avaliada na região equatorial dos frutos, em dois lados opostos sem a presença de epiderme. Para a determinação utilizou-se um penetrômetro manual (Effigi<sup>®</sup>, Itália) com ponteira de 7,9mm de diâmetro, sendo os valores expressos em Newton (N);
- Para a determinação dos parâmetros acidez titulável, sólidos solúveis totais, ocorrência de lanosidade e conteúdo de suco livre, os frutos foram cortados ao meio, a partir da região da sutura.
- f) Acidez titulável: determinada pela titulação, com NaOH 0,1N, de uma solução contendo 10mL de suco, extraído dos frutos de cada unidade experimental, diluídos em 100mL de água destilada, até atingir pH 8,1. O pH foi determinado por um medidor de pH marca Digimed<sup>®</sup>. Os valores foram expressos em meq 100mL<sup>-1</sup>;
- g) Teor de sólidos solúveis totais (SST): obtidos por refratometria (refratômetro manual Atago<sup>®</sup>, Japão), com correção da temperatura (20°C), utilizando-se o suco extraído conforme descrito no item f, com correção da temperatura. Os valores foram expressos em °Brix;
- h) Incidência de podridões: avaliada pela contagem dos frutos que apresentarem lesões com diâmetro superior a 5mm, características de ataque por fungos ou bactérias. Os resultados foram expressos em porcentagem de frutos podres;
- i) Índice e ocorrência de lanosidade (análise subjetiva): avaliada pela atribuição de índices, conforme von Mollendorff et al. (1989), onde índice 0 = frutos completamente lanosos (farinhentos); 1 = frutos mediamente lanosos; 3 = frutos suculentos (ausência de lanosidade). Os resultados foram expressos em índice de lanosidade, determinado pela fórmula = [(n° frutos x 0) (n° frutos x 1) (n° frutos x 3)] / n° total de frutos da amostra. Os frutos classificados no índice 1 e 3 foram contabilizados como lanosos, sendo os resultados de incidência de lanosidade expressos em porcentagem.



i) Porcentagem de suco livre: determinado de acordo com metodologia proposta por Crisosto et al. (2002), com pequenas alterações. Aproximadamente 40g de polpa por amostra foram prensados numa prensa experimental desenvolvida no próprio NPP/UFSM. Essa alíquota foi submetida a uma pressão de cerca de  $10\text{kg cm}^{-2}$  durante 1 min. O suco extraído pela prensagem foi, então, centrifugado a 10.000 g durante 10 minutos. Após, o suco obtido foi separado do sobrenadante e filtrado. A partir da diferença entre a massa inicial da polpa ( $\approx 40\text{g}$ ) e o peso final do suco, foi obtida a porcentagem de suco livre na polpa.

### 3.5 Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado em todos os experimentos foi o inteiramente casualizado em esquema bifatorial (condições de armazenamento x período de exposição a  $20^{\circ}\text{C}$  após o armazenamento). Os dados foram submetidos à análise da variância, sendo verificado o efeito da interação e dos efeitos principais de cada fator pelo teste F ( $P \leq 5\%$ ). A análise complementar adotada, tanto nos desdobramentos das interações, quanto para a separação das médias de cada fator principal, foi o teste LSD (“Least Significant Difference”) em nível de 5% de probabilidade de erro.

Os dados expressos em porcentagem, provenientes de contagens, foram transformados pela fórmula arco-seno  $(X+0,5/100)^{1/2}$ , antes de serem submetidos à análise da variância. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados com o auxílio do pacote estatístico SOC (Software Científico:NTIA/EMBRAPA).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Parte I

#### 4.1.1 A atmosfera controlada afeta a síntese de etileno e o restabelecimento da suculência em pêssegos ‘Chiripá’

Durante o período de amadurecimento, imediatamente após a colheita, observou-se um aumento gradativo na síntese de etileno e na atividade respiratória dos frutos, com a formação de picos coincidentes no 5º dia a 20°C (Figura 3). Esse padrão é típico de frutos climatéricos, sendo responsável por desencadear uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e estruturais, que caracterizam a maturação e o amadurecimento desses frutos (Lelièvre et al., 1997). O aumento drástico na produção autocatalítica de etileno representa o sistema II de síntese de etileno, sendo concomitante com o amadurecimento de frutos climatéricos, (Alexander & Grierson, 2002; Katz et al., 2004).

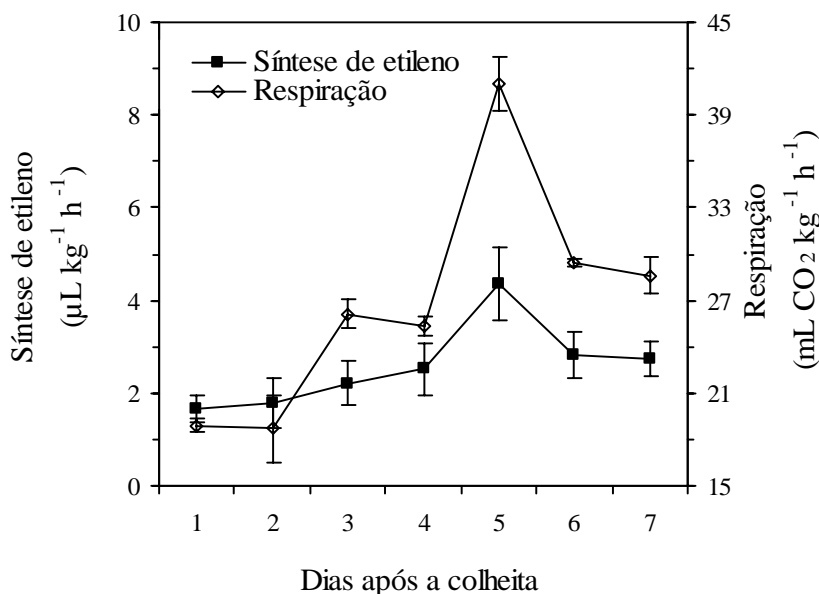


FIGURA 3: Síntese de etileno e respiração de pêssegos ‘Chiripá’ durante o amadurecimento a 20°C. Santa Maria, RS. 2005. Os dados mostrados representam a média de quatro repetições  $\pm$  o desvio padrão.

No experimento realizado em 2005, a síntese de etileno dos frutos, na saída da câmara, foi baixa, independente do tratamento e do período de armazenamento (Figura 4A-C). No

entanto, com a exposição dos frutos à temperatura ambiente, a produção desse fito-hormônio aumentou drasticamente. Após 25 dias de armazenamento, os frutos produziram níveis crescentes de etileno até o 2º e 3º dias de exposição a 20°C, sendo que os frutos conservados em AR apresentaram valores de síntese de etileno ligeiramente superiores aos frutos armazenados em ambas as condições de atmosfera controlada (AC) (Figura 4A). Todavia, à medida que o período de armazenamento foi prolongado, observou-se que os frutos frigoconservados apresentaram um padrão ‘anormal’ de síntese de etileno, quando comparado ao padrão apresentado após a colheita, sendo crescente durante todo o período de exposição a 20°C, sem a formação de um pico característico (Figura 4B e C). Já os frutos armazenados em AC apresentaram uma síntese de etileno tanto mais adiantada, quanto mais elevada, atingindo picos de produção no 3º dia de amadurecimento pós-armazenamento (Figura 4B e C). Possivelmente, esses frutos mantiveram sua habilidade normal de sintetizar etileno. Interessantemente, as quantidades de etileno produzidas após o armazenamento foram bem superiores às produzidas logo após a colheita (Figura 3). Resultado semelhante foi reportado por Dong et al. (2001), em nectarinas ‘Flavortop’.

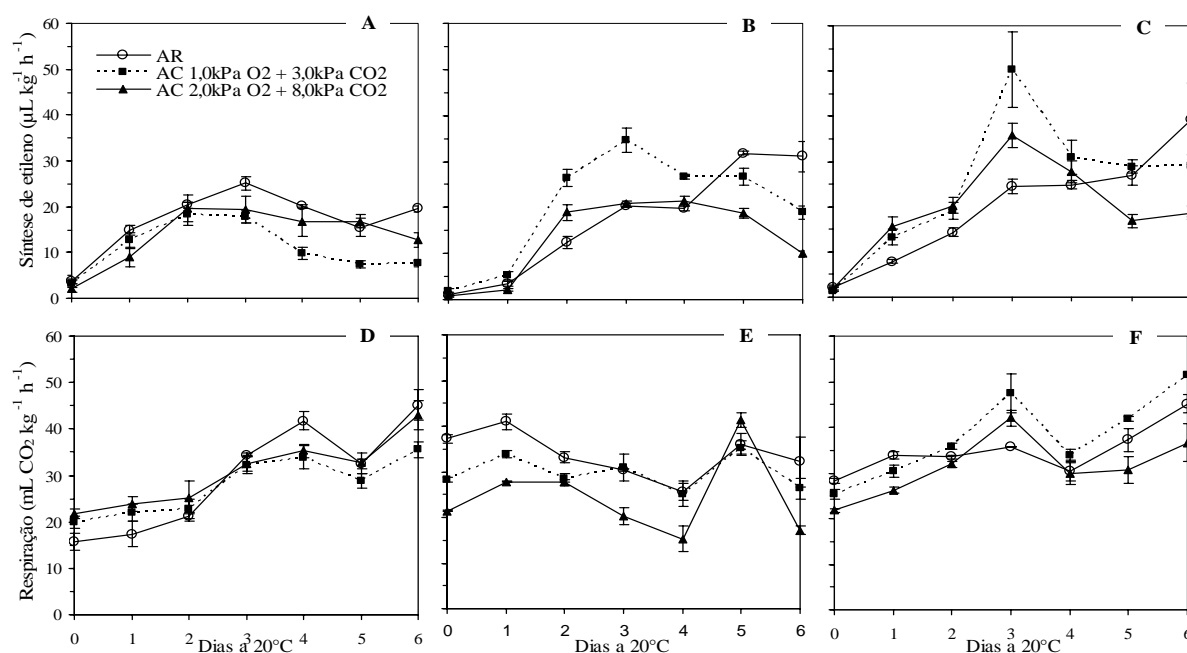


FIGURA 4: Síntese de etileno (A, B e C) e respiração (D, E e F) de pêsegos ‘Chiripá’ durante o amadurecimento após 25 (A e D), 30 (B e E) e 35 (C e F) dias de armazenamento a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2005. Os dados mostrados representam a média de quatro repetições  $\pm$  o desvio padrão.

No experimento de 2006, observou-se, durante os primeiros dias de exposição a 20°C, após 40 dias de armazenamento, um aumento drástico na síntese de etileno dos frutos armazenados em AC, especialmente sob 2,0kPa O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub> (Figura 5A). Os frutos

armazenados em ambas as condições de AC apresentaram um pico de produção de etileno no 2º dia de amadurecimento pós-armazenamento, enquanto os frutos do AR apresentaram um aumento lento da síntese desse fito-hormônio (Figura 5A). Esses resultados são similares àqueles obtidos no ano de 2005, demonstrando que o armazenamento de pêsegos ‘Chiripá’ em AR, por longos períodos, afeta dramaticamente sua habilidade normal em sintetizar etileno, possivelmente influenciando todos os processos dependentes de etileno.

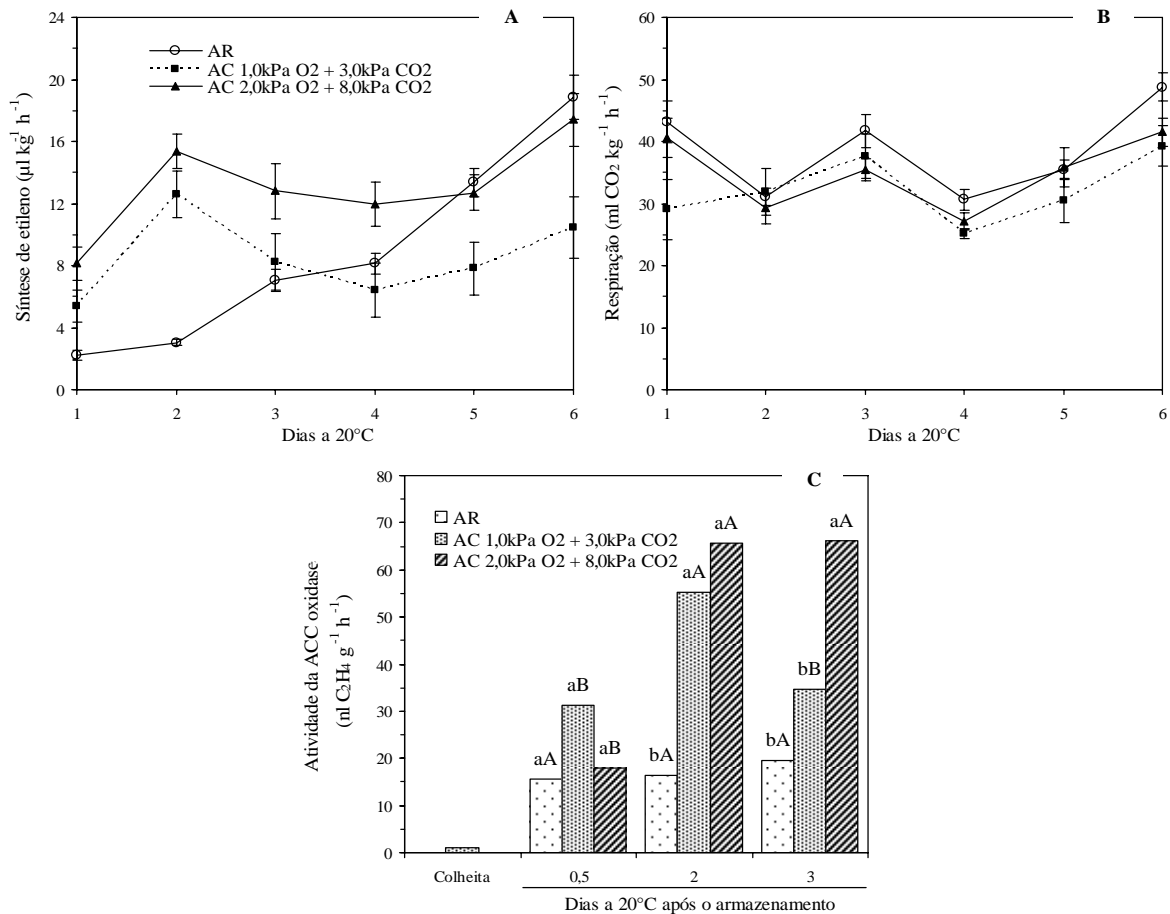


FIGURA 5: Síntese de etileno (A), respiração (B) e atividade da ACC oxidase (C) durante o amadurecimento de pêsegos ‘Chiripá’ após 40 dias de armazenamento a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2006. Os dados mostrados em A e B representam a média de quatro repetições  $\pm$  o desvio padrão. Em C, letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD ( $P < 0,05$ ).

O uso de altos níveis de  $\text{CO}_2$  pode inibir vários processos dependentes de etileno, como a própria produção autocatalítica de etileno, e, portanto, pode atrasar o amadurecimento de frutos climatéricos (Mathooko, 1996a,b). O sítio primário de ação do  $\text{CO}_2$ , na via de biossíntese do etileno, ainda não foi devidamente elucidado, mas possivelmente esteja na conversão de SAM a ACC (de Wild et al., 2005), uma etapa catalisada pela ACC sintase (Yang & Hoffman, 1984; Kende, 1993). Portanto, durante o armazenamento em AC, os altos

níveis de CO<sub>2</sub> e baixos de O<sub>2</sub> reduzem a síntese de etileno, possivelmente pela inibição da ACC sintase e ACC oxidase, respectivamente. No entanto, os resultados do presente trabalho demonstram que, quando os frutos são retirados dessas condições e expostos a condições ambientes, a produção de etileno aumenta drasticamente. Em maçãs, o armazenamento em ar + 20% de CO<sub>2</sub> ou 0,25% de O<sub>2</sub> reduziu drasticamente a síntese de etileno durante o armazenamento, porém os frutos voltaram a apresentar elevadas taxas de síntese quando expostos à atmosfera natural (Gorny & Kader, 1996).

Objetivando uma melhor compreensão do efeito das condições de armazenamento avaliadas sobre o processo de síntese de etileno, determinou-se, no ano de 2006, a atividade da ACC oxidase nos primeiros dias de exposição dos frutos a 20°C. Os frutos do AR apresentaram baixa atividade dessa enzima em todas as avaliações (Figura 5C). Já os frutos armazenados em AC apresentaram um rápido incremento na atividade da ACC oxidase. Os frutos armazenados sob 1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub> exibiram maior atividade no 2º dia a 20°C, enquanto os submetidos a 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub> mantiveram uma elevada atividade mesmo no 3º dia (Figura 5C). Analisando-se a atividade da ACC oxidase e a produção de etileno, observa-se que o incremento lento na síntese de etileno nos frutos do AR está relacionado, pelo menos em parte, a um reduzido aumento na atividade da ACC oxidase (Figuras 5A e C). Além disso, os maiores níveis de etileno produzidos pelos frutos armazenados sob 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub>, em comparação àqueles armazenados sob 1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub> (Figura 5A), correlacionam-se com a manutenção de uma atividade mais elevada da ACC oxidase durante os primeiros dias de amadurecimento pós-armazenamento (Figura 5C). Esses resultados demonstram que as condições de armazenamento afetaram significativamente a atividade da ACC oxidase, o que possivelmente causou os diferentes padrões de síntese de etileno observados a partir da exposição a 20°C.

O aparecimento de mRNAs para ACC oxidase precede o início climatérico da síntese de etileno, em pêssegos (Callahan et al., 1992), sendo a máxima expressão concomitante com o pico de produção desse fito-hormônio (Lester et al., 1994). A produção de etileno em frutos climatéricos pode ser reduzida com o uso de níveis elevados de CO<sub>2</sub> (5-20%), que inibem a atividade da ACC sintase e da ACC oxidase (de Wild et al., 1999; Mathooko et al., 2001; de Wild et al., 2005). No caso da ACC oxidase, o efeito do CO<sub>2</sub> sobre sua atividade depende da concentração usada. Essa enzima é ativada reversivelmente pela aplicação de CO<sub>2</sub> (Dong et al., 1992), possivelmente pela carbamilação de um resíduo específico de lisina (Fernández-Maculet et al., 1993). Em pêssegos, o alto CO<sub>2</sub> (20%) reduziu aproximadamente 50% a expressão dos isôgenos *Pp-ACO1* e *Pp-ACO2*, apesar de promover ligeiramente a atividade da

ACC oxidase (Mathooko et al., 2001). Além disso, nesse mesmo estudo, o CO<sub>2</sub> inibiu completamente a expressão e a atividade da ACC sintase, reduzindo a concentração de ACC nas células. Existe, ainda, a possibilidade do CO<sub>2</sub> atuar diretamente sobre os lipídeos e proteínas de membranas, protegendo-as dos danos causados pelas baixas temperaturas (Purvis, 1993). Considerando-se a hipótese da ACC oxidase ser uma enzima ligada às membranas celulares (Rasmassamy et al., 1998), poderia-se vislumbrar o efeito da manutenção das membranas sobre a retomada da atividade dessa enzima após o armazenamento.

Os frutos conservados em AR apresentaram, na saída da câmara aos 25 e 30 dias de armazenamento, produção de CO<sub>2</sub> ligeiramente superior aos frutos armazenados em AC (Figura 4D e E). Após 35 dias de armazenamento, entretanto, os frutos submetidos à AC apresentaram maior produção de CO<sub>2</sub>, com a formação de pico no 3º dia a 20°C (Figura 4F). Além disso, os frutos armazenados na AC com 1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub> produziram maiores quantidades de CO<sub>2</sub> durante esse período. No experimento de 2006, a respiração não foi muito afetada pelas condições de armazenamento, sendo os padrões de produção de CO<sub>2</sub> bastante similares entre si (Figura 5B). Níveis elevados de CO<sub>2</sub> reduzem a atividade de enzimas da rota glicolítica e do ciclo do ácido tricarboxílico (Kerbel et al., 1988; Liu et al., 2004), diminuindo a produção de CO<sub>2</sub>. Segundo Zhou et al. (2001), nectarinas que desenvolvem lanosidade produzem menos CO<sub>2</sub> do que aquelas que amadurecem normalmente. Todavia, os resultados do presente experimento não permitem relacionar a respiração com os conteúdos de suco livre (ver mais adiante).

O conteúdo de suco livre, determinado na saída da câmara, demonstra que, durante o armazenamento, houve uma redução considerável na suculência dos frutos, à medida que o período de armazenamento foi prolongado (Figura 6A). Menor redução nos níveis de suco livre foi obtida com o armazenamento dos frutos em AC com 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub>. No entanto, durante o período de amadurecimento pós-armazenamento, observou-se uma redução drástica nos níveis de suco livre até o 2º dia, em todos os momentos de avaliação e independente dos tratamentos (Figura 6B-D). A partir desse momento, o conteúdo de suco livre aumentou, atingindo, após seis dias a 20°C, valores superiores àqueles observados na saída da câmara. Resultados semelhantes foram reportados por von Mollendorff et al. (1989; 1993) em nectarinas. O processo de restabelecimento da suculência é dependente do período e da temperatura de amadurecimento pós-armazenamento (von Mollendorff et al., 1989). Além disso, os resultados deste experimento demonstram que a capacidade dos frutos restabelecerem sua suculência após o armazenamento depende, também, do período em que

os frutos são mantidos sob baixa temperatura e das condições de armazenamento empregadas (Figura 6B-D). O nível de suculência no 6º dia de amadurecimento após 25 dias de armazenamento foi semelhante, independente dos tratamentos (Figura 6B). Entretanto, os frutos armazenados em AR não conseguiram restabelecer sua suculência após 30 e 35 dias de armazenamento (Figura 6C e D). Além disso, apesar de eficiente até 30 dias de armazenamento, o armazenamento em AC com 1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub> não conseguiu restabelecer a suculência dos frutos a níveis semelhantes à AC com 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub> após 35 dias de armazenamento (Figura 6C).

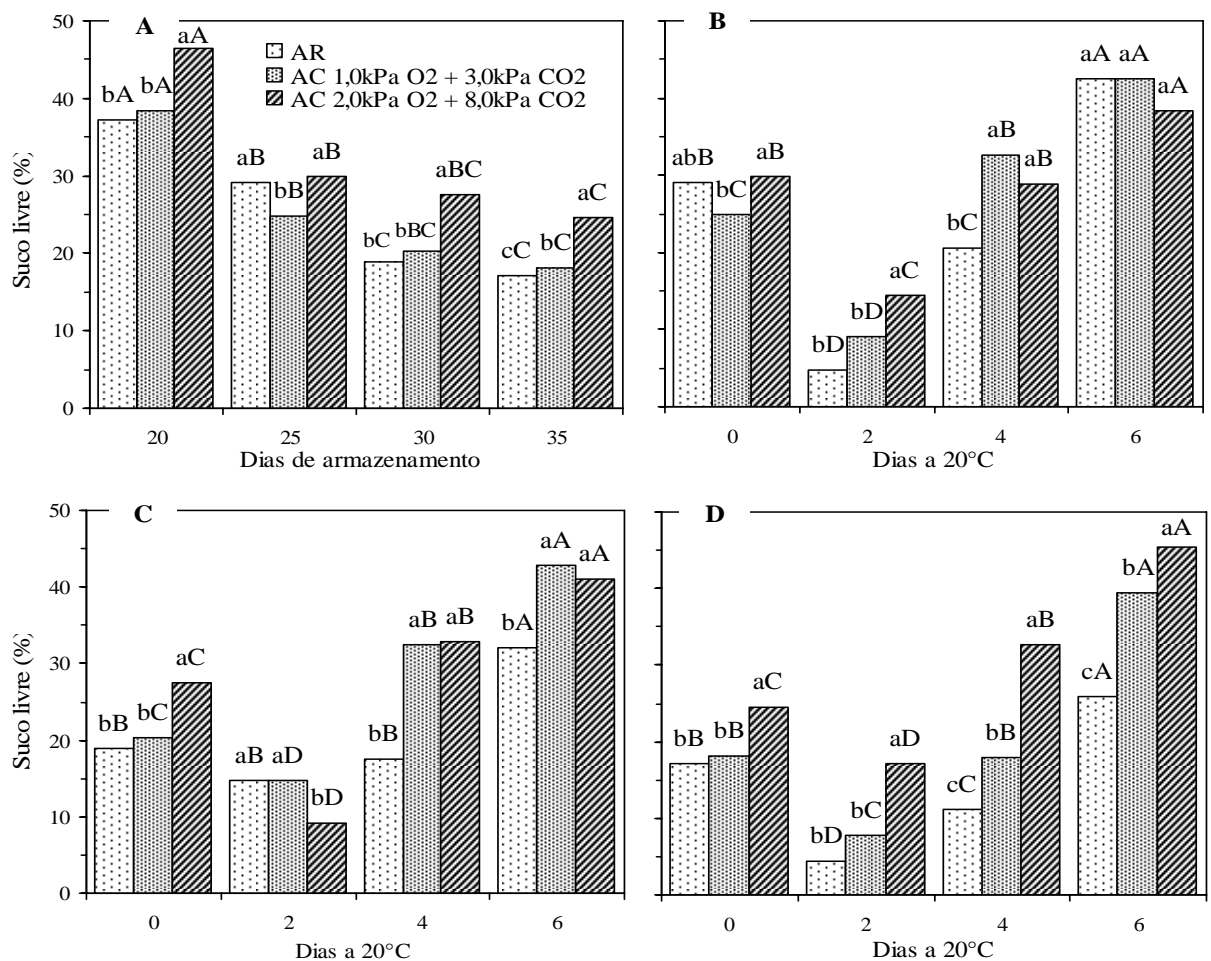


FIGURA 6: Conteúdo de suco livre, em pêssegos 'Chiripá', na saída da câmara após 20, 25, 30 e 35 dias de armazenamento (A) e durante o amadurecimento após 25 (B), 30 (C) e 35 (D) dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005. Letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD (P<0,05).

O conteúdo de suco livre, no experimento de 2006, também foi significativamente alterado durante o período de exposição a 20°C (Figura 7A). Os frutos armazenados em AC apresentaram uma redução acentuada na suculência até o 2º dia de amadurecimento pós-

armazenamento, restabelecendo os níveis iniciais após quatro dias nessas condições (Figura 7A). Já os frutos do AR apresentaram conteúdos decrescentes de suculência até o 4º dia a 20°C, sendo o restabelecimento do conteúdo de suco livre menor do que nos frutos armazenados em AC. Contrariamente ao observado no ensaio de 2005, não houve diferença significativa entre as condições de AC, em relação aos níveis de suculência durante todo o período de exposição a 20°C (Figura 7A).

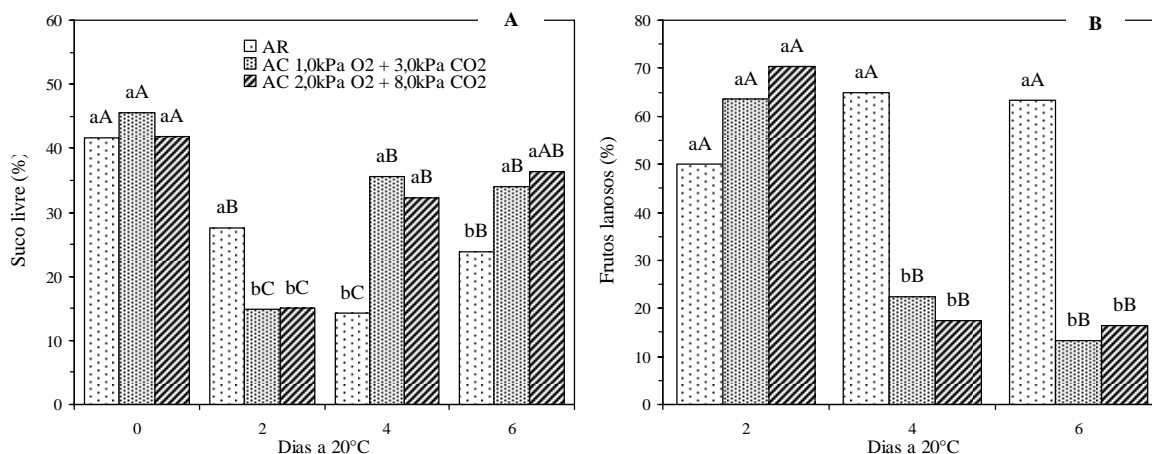


FIGURA 7: Conteúdo de suco livre (A) e incidência de lanosidade (B) em pêsesgos 'Chiripá' após 40 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2006. Letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD ( $P < 0,05$ ).

O desenvolvimento da lanosidade resulta da acumulação de moléculas de pectina de elevado peso molecular, que podem formar complexos geleificados de pectato de cálcio com os fluídos celulares na lamela média (Ben-Arie & Lavee, 1971). A pectina metilesterase (PME) é estável sob baixas temperaturas (Zhou et al., 2000a), mantendo um nível basal de atividade nessas condições (Ben-Arie & Sonogo, 1980), enquanto a atividade da poligalacturonase (PG) decresce significativamente durante o armazenamento refrigerado (Brummell et al., 2004). Dessa forma, a falta de sincronia entre a atividade dessas duas enzimas tem sido apontada como uma das principais desencadeadoras do desenvolvimento da lanosidade (Ben-Arie & Sonogo, 1980; Zhou et al., 2000a,b). Nesse sentido, o processo de restabelecimento da suculência, observado no presente estudo, poderia estar associado com a reativação da PG após o armazenamento e, conseqüentemente, com um aumento na despolimerização das pectinas desmetilesterificadas pela PME durante o armazenamento. Nectarinas submetidas à AC apresentaram menor atividade da PME durante o armazenamento (Zhou et al., 2000a,b). Além disso, enquanto a transcrição da PG foi inibida durante o



armazenamento sob alto CO<sub>2</sub> e baixo O<sub>2</sub>, ela aumentou rapidamente durante o amadurecimento pós-armazenamento (Zhou et al., 2000b).

Esses resultados podem indicar que a AC reduz a desmetilesterificação das pectinas sob baixas temperaturas e estimula a despolimerização durante o amadurecimento, aumentando, por conseqüência, a intensidade do restabelecimento da suculência. Essas observações, em conjunto, poderiam explicar a reduzida capacidade dos frutos do AR em restabelecer seus conteúdos de suco livre durante a exposição a 20°C, à medida que o período de armazenamento foi prolongado (Figuras 6B-D e 7A). Por outro lado, os frutos armazenados em AC, especialmente com 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub>, conseguiram restaurar sua suculência mesmo após 35 dias de armazenamento.

O efeito do armazenamento em AC em prevenir ou reduzir a ocorrência de dano por frio em pêssegos e nectarinas já foi observado por outros autores (Lurie, 1992; Retamales et al., 1992; Zhou et al., 2000b; Girardi et al., 2005). Segundo Lurie (1992), a atmosfera com alto CO<sub>2</sub> mantém a habilidade dos frutos armazenados sob temperaturas críticas, em amadurecer normalmente. Esse efeito pode estar relacionado à manutenção da capacidade dos frutos da AC produzirem etileno após o armazenamento, conforme observado no presente trabalho (Figuras 4A-C e 5A).

Os resultados do conteúdo de suco livre, obtidos objetivamente pela metodologia desenvolvida por Crisosto & Labavitch (2002) e adaptada neste trabalho, foram coerentes com os resultados da incidência de lanosidade, avaliada subjetivamente (Tabela 1 e Figuras 6, 7 e 8). As correlações entre os valores de incidência de lanosidade, determinados visualmente, e os conteúdos de suco livre, obtidos objetivamente, foram significativamente elevadas e negativas, evidenciando a existência de uma relação inversa entre a ocorrência de lanosidade e a suculência dos frutos (Tabela 1). Isso demonstra a eficiência dessa metodologia na determinação da ocorrência dessa desordem fisiológica em pêssegos, possibilitando não só sua detecção, mas o estabelecimento de níveis de intensidade. Esse método tem demonstrado uma alta sensibilidade, permitindo a obtenção de dados quantitativos, que podem ser comparados entre locais e anos (Crisosto & Labavitch, 2002). Além disso, a adoção desse método permitiu avaliar os conteúdos de suco livre tanto na saída da câmara, quando os frutos apresentavam alta firmeza da polpa, quanto após períodos longos de exposição à temperatura ambiente, quando a firmeza da polpa estava extremamente baixa (Figuras 9 e 10). Segundo Luchsinger (2000) e Kluch (2003), a análise de frutos com firmeza da polpa muito elevada (>50N) ou muito baixa (<10N), por meio do método do suco aparente, proposto por Lill & van der Mespel (1988), é muito dificultada. Além disso, nesse método é possível que ocorra

mais geleificação durante a extração, ocasionando resultados com baixa correlação aos dados obtidos visualmente (Crisosto & Labavitch, 2002).

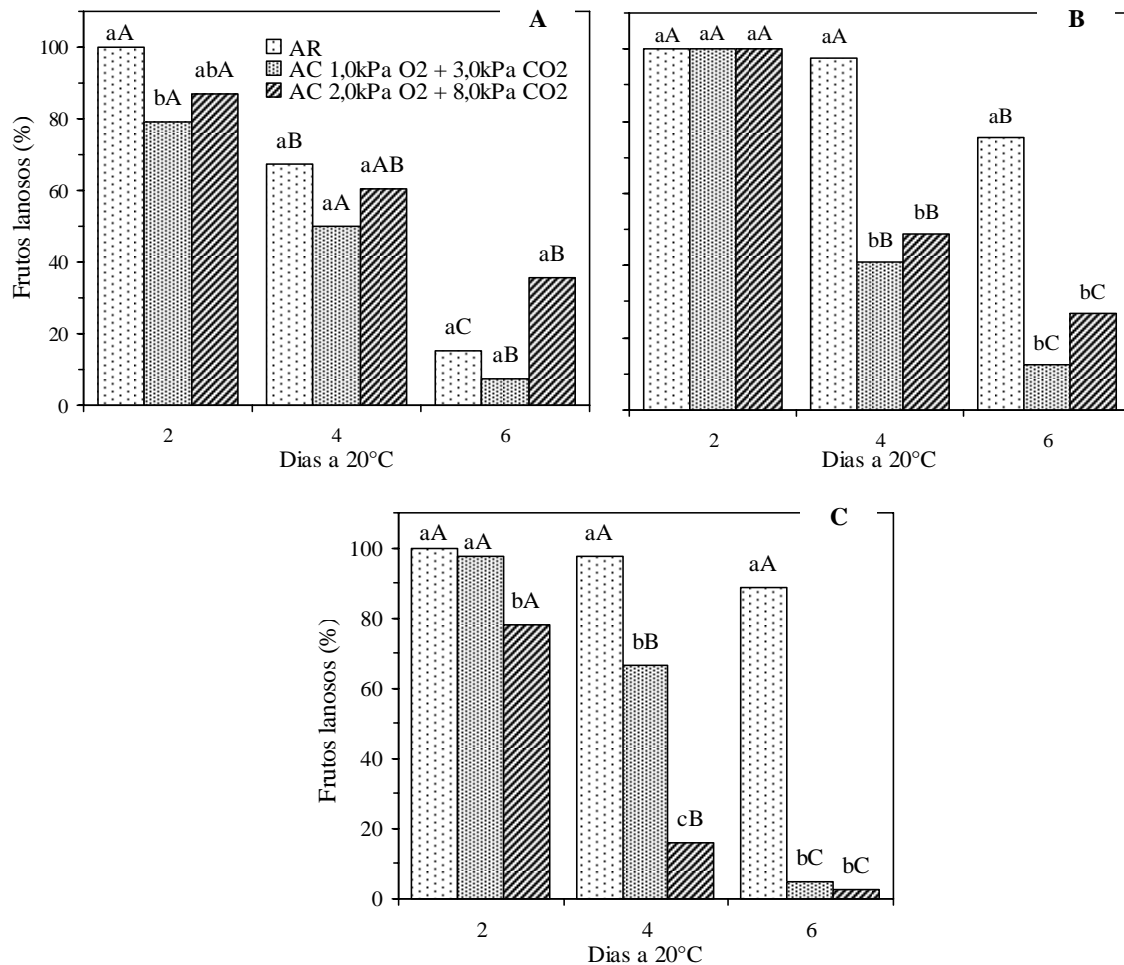


FIGURA 8: Incidência de lanosidade em pêsegos 'Chiripá' durante o amadurecimento após 25 (A), 30 (B) e 35 (C) dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005. Letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD ( $P < 0,05$ ).

A análise subjetiva, baseada na avaliação visual ou em índices, também é dificultada se os frutos apresentam firmeza da polpa muito elevada, o que impossibilitou a análise dos frutos na saída da câmara, independente do período de armazenamento (Figura 7B, 8A-C e Tabela 2). Nas análises subjetivas da lanosidade (incidência e índice) também se observou maior ocorrência de frutos lanosos no 2º dia, com uma posterior redução (Figura 8A-C e Tabela 2). Após 25 dias de armazenamento, independente da condição de armazenamento, a incidência de lanosidade diminuiu drasticamente à medida que o período de amadurecimento pós-armazenamento se prolongava (Figura 8A). No entanto, após 30 e 35 dias de armazenamento, os frutos frigoconservados apresentaram um processo de reversão da lanosidade mais lento, com elevada incidência, mesmo após seis dias a 20°C (Figura 8B e C).

Após 35 dias, o processo de reversão foi mais rápido nos frutos armazenados em AC com 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub>, que praticamente não apresentavam incidência de lanosidade no 4º dia a 20°C (Figura 8C). Cabe ressaltar, novamente, que esses resultados são muito semelhantes aos resultados do conteúdo de suco livre (Figura 6). Esses resultados, em conjunto, demonstram que é possível obter-se conclusões diferentes, em relação à condição de armazenamento mais adequada para a prevenção ou redução de lanosidade, em função do momento em que se efetua a avaliação dos frutos.

**TABELA 1 – Coeficientes de correlação de Pearson para incidência de lanosidade e conteúdo de suco livre em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 25, 30 e 35 dias em AR e AC a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.**

	Suco livre (%)		
	25 dias	30 dias	35 dias
Incidência de lanosidade (%)	-0,916*	-0,888*	-0,900*

\* Significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

**TABELA 2 - Efeito das condições e do período de armazenamento a -0,5°C sobre o índice de lanosidade em pêssegos ‘Chiripá’ expostos a 20°C. Santa Maria, RS. 2005.**

Condições	Dias a 20°C		
	2	4	6
25 dias de armazenamento			
AR	0,15±0,191 <sup>1/</sup>	1,28±0,250	2,63±0,790
AC 1,0kPa O <sub>2</sub> + 3,0kPa CO <sub>2</sub>	0,99±0,280	1,88±0,512	2,85±0,043
AC 2,0kPa O <sub>2</sub> + 8,0kPa CO <sub>2</sub>	0,72±0,285	1,50±0,334	2,23±0,096
30 dias de armazenamento			
AR	0,08±0,106	0,48±0,126	1,14±0,329
AC 1,0kPa O <sub>2</sub> + 3,0kPa CO <sub>2</sub>	0,23±0,150	2,06±0,304	2,68±0,473
AC 2,0kPa O <sub>2</sub> + 8,0kPa CO <sub>2</sub>	0,39±0,229	1,86±0,514	2,44±0,255
35 dias de armazenamento			
AR	0,26±0,052	0,42±0,260	1,08±0,799
AC 1,0kPa O <sub>2</sub> + 3,0kPa CO <sub>2</sub>	0,43±0,150	1,22±0,775	2,63±0,369
AC 2,0kPa O <sub>2</sub> + 8,0kPa CO <sub>2</sub>	0,88±0,613	2,63±0,178	2,94±0,111

<sup>1/</sup> Valores representam a média dos índices ± o desvio padrão, sendo índice 0 = frutos completamente lanosos (farinhentos); 1 = frutos mediantemente lanosos; 3 = frutos suculentos (ausência de lanosidade).

A AC com 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub> reduziu a degradação da firmeza da polpa dos frutos durante o armazenamento, nos experimentos de ambos os anos (Figuras 9A-C e 10A). No entanto, durante o período de amadurecimento a 20°C, todos os frutos apresentaram uma redução drástica na firmeza da polpa, especialmente até o 2º dia. Resultados semelhantes foram reportados por Zhou et al. (2000b) em nectarinas. A redução drástica da firmeza da

polpa de pêssegos envolve uma elevada despolimerização e solubilização das pectinas, pela ação de enzimas hidrolases (Brummell et al., 2004). Dessa forma, o efeito positivo da AC, em manter a firmeza da polpa mais elevada durante o armazenamento, pode estar relacionado a uma redução na expressão e atividade das *endo*-PGs, devido aos altos níveis de CO<sub>2</sub> e/ou baixos de O<sub>2</sub> (Zhou et al., 2000b).

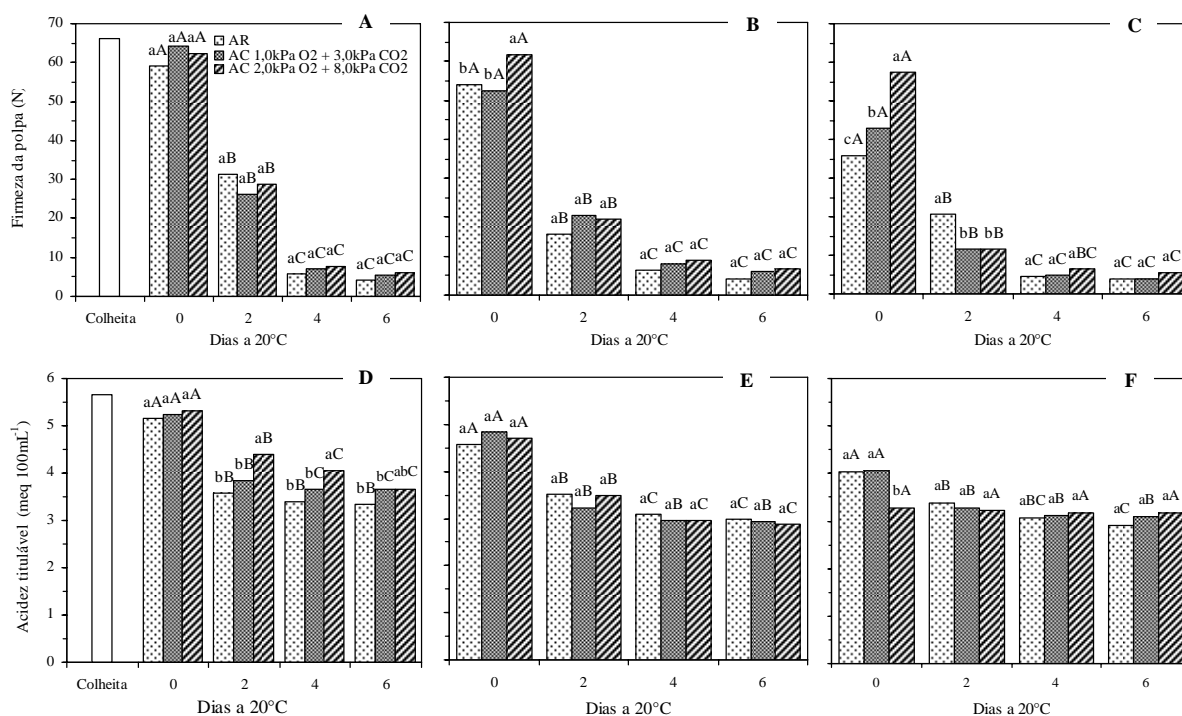


FIGURA 9: Firmeza da polpa (A, B e C) e acidez titulável (D, E e F) de pêssegos 'Chiripá', durante o amadurecimento após 25 (A e D), 30 (B e E) e 35 (C e F) dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005. Letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD (P<0,05).

A AC reduz a atividade de enzimas responsáveis pela degradação dos componentes da parede celular e da lamela média (1986). Em morangos, o armazenamento em alto CO<sub>2</sub> manteve os frutos mais firmes, sendo que o baixo O<sub>2</sub> não apresentou efeito significativo sobre esse parâmetro (Larsen & Watkins, 1995), o que pode explicar o efeito mais pronunciado da AC com 8,0kPa de CO<sub>2</sub> (Figuras 9A-C). Após períodos extremos de armazenamento (35 e 40 dias), os frutos do AR apresentaram maior firmeza da polpa aos dois dias a 20°C (Figuras 9C e 10A). Esse resultado deve estar relacionado à baixa produção de etileno nos frutos mantidos em AR, pois a expressão da PG, das expansinas e de outras enzimas da parede celular é dependente de etileno (Sitrit & Bennett, 1998; Rose et al., 1997; Brummell & Harsper, 2001; Zanuzo, 2004).

A acidez titulável decresceu à medida que o período de armazenamento aumentou (Figuras 9D-F). Durante o período de pós-armazenamento, observou-se um decréscimo mais

acentuado na acidez titulável dos frutos até o 2º dia (Figuras 9D-F). Os frutos armazenados em AC com 2,0kPa O<sub>2</sub> + 8,0kPa CO<sub>2</sub> apresentaram maior acidez, após 25 dias de armazenamento, mesmo durante a exposição a 20°C (Figura 9D). No experimento de 2006, a acidez titulável dos frutos foi pouco afetada pelas condições de armazenamento e pelo período de exposição à temperatura de 20°C (Figura 10B). As pequenas diferenças observadas, além disso, são pouco perceptíveis do ponto de vista prático. Os teores de sólidos solúveis totais não foram afetados pelas condições de armazenamento e durante o período a 20°C (Figura 10C).

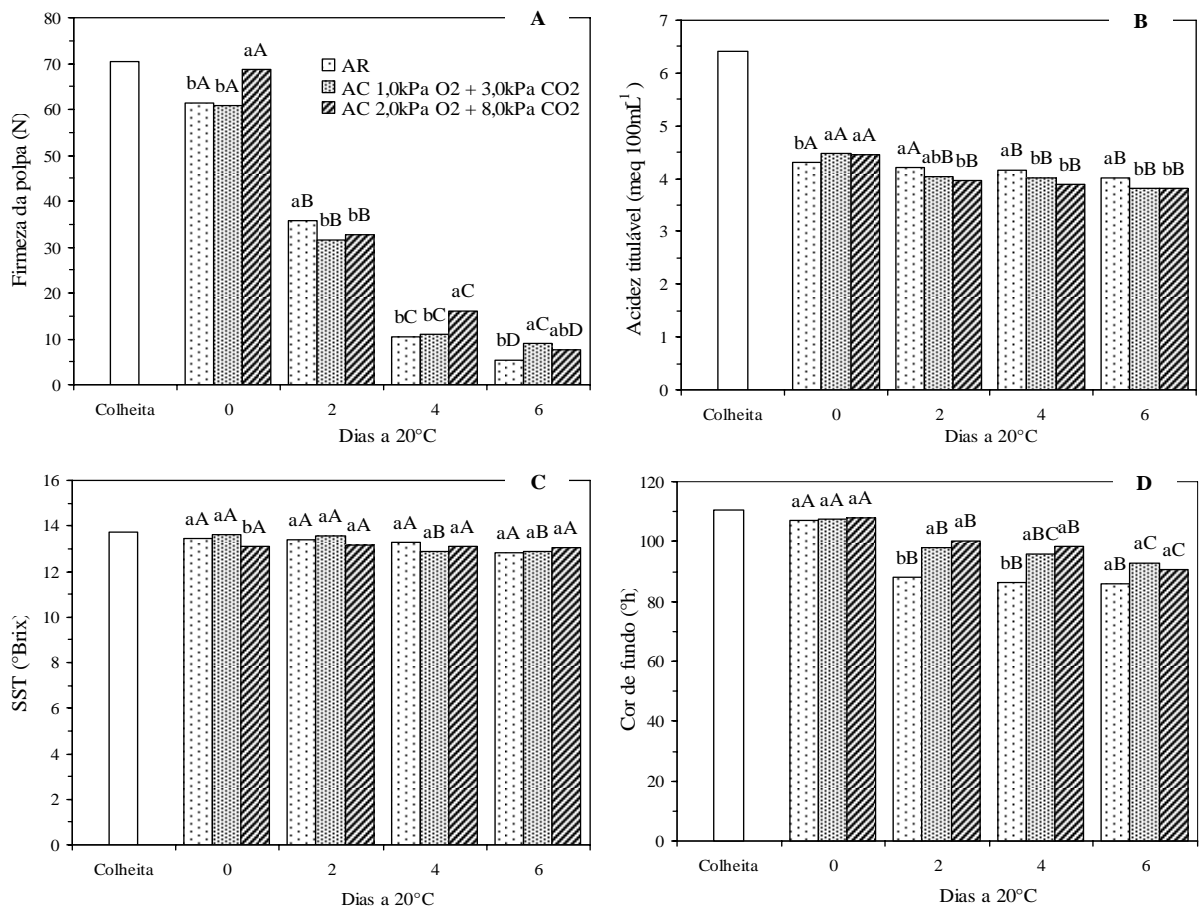


FIGURA 10: Firmeza da polpa (A), acidez titulável (B), sólidos solúveis totais (C) e cor de fundo da epiderme (D) de pêssegos ‘Chiripá’, durante o amadurecimento após 40 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2006. Letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD (P<0,05).

**TABELA 3 - Efeito das condições de armazenamento a -0,5°C na cor de fundo da epiderme (°h)<sup>1/</sup> de pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante diferentes períodos. Santa Maria, RS. 2005.**

Condição de armazenamento	Dias de armazenamento		
	25	30	35
AR	93,27 b <sup>2/</sup>	93,91 b	91,99 b
AC 1,0kPa O <sub>2</sub> + 3,0kPa CO <sub>2</sub>	99,50 a	98,07 a	96,28 a
AC 2,0kPa O <sub>2</sub> + 8,0kPa CO <sub>2</sub>	99,27 a	99,43 a	97,28 a
CV (%)	5,76	3,16	2,79

<sup>1/</sup> Onde: 0° = vermelho; 90° = amarelo; 180° = verde; 270° = azul.

<sup>2/</sup> Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste DMS em nível de 5% de probabilidade de erro.

**TABELA 4 - Efeito do período de amadurecimento pós-armazenamento na cor de fundo da epiderme (°h)<sup>1/</sup> de pêssegos ‘Chiripá’ armazenados sob diferentes condições a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.**

Dias a 20°C	Dias de armazenamento		
	25	30	35
0	109,74 a <sup>2/</sup>	107,68 a	106,31 a
2	96,31 b	99,81 b	96,18 b
4	94,19 b	92,79 c	90,93 c
6	89,15 c	88,27 d	87,86 d
CV (%)	5,76	3,16	2,79

<sup>1/</sup> Onde: 0° = vermelho; 90° = amarelo; 180° = verde; 270° = azul.

<sup>2/</sup> Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste DMS em nível de 5% de probabilidade de erro.

Para a cor de fundo da epiderme, expressa em ângulo de cor (°h), não houve interação significativa para os fatores estudados em 2005 (Tabelas 3 e 4). Já no ensaio de 2006, mesmo sem diferença significativa na saída da câmara, os frutos armazenados em AR apresentaram uma alteração mais proeminente na coloração de fundo da epiderme com a exposição a 20°C (Figura 10D). Em ambos, os frutos armazenados em AC apresentavam coloração da epiderme mais verde, em relação aos frutos frigoconservados.

A degradação das clorofilas é retardada na presença de baixos níveis de O<sub>2</sub> e/ou elevados de CO<sub>2</sub> (Beaudry, 1999). Em pêssegos ‘Eldorado’, o alto CO<sub>2</sub> apresentou efeito mais pronunciado do que o baixo O<sub>2</sub> na manutenção da cor verde (Brackmann et al., 2005). Em grande parte dos tecidos verdes, a redução da degradação das clorofilas em condições de AC parece estar vinculada primeiramente ao efeito do alto CO<sub>2</sub> e baixo O<sub>2</sub> na síntese do etileno (Beaudry, 1999). Como o etileno estimula a expressão de mRNAs e a atividade de clorofilases, ele promove uma redução significativa nos conteúdos de clorofila (Jacob-Wilk et

al., 1999). A cor da epiderme dos frutos tornou-se gradativamente mais amarelada durante o período de exposição a 20°C (Tabela 4). Esse resultado deve estar relacionado tanto à temperatura, que aumentou a atividade enzimática, quanto ao aumento na síntese de etileno (Figura 4A-C).

**TABELA 5 - Efeito das condições de armazenamento a -0,5°C na incidência de podridões em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante diferentes períodos. Santa Maria, RS. 2005.**

Condição de armazenamento	Dias de armazenamento		
	25	30	35
AR	8,8 <sup>ns</sup>	16,8 <sup>ns</sup>	18,8 <sup>ns</sup>
AC 1,0kPa O <sub>2</sub> + 3,0kPa CO <sub>2</sub>	10,3	19,4	13,1
AC 2,0kPa O <sub>2</sub> + 8,0kPa CO <sub>2</sub>	10,5	15,0	11,9
CV (%)	28,84	37,61	41,26

<sup>ns</sup> Efeito de tratamento não significativo pelo teste F em nível de 5% de probabilidade de erro.

**TABELA 6 - Efeito do período de amadurecimento pós-armazenamento na incidência de podridões em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados sob diferentes condições a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.**

Dias a 20°C	Dias de armazenamento		
	25	30	35
0	0,4 d <sup>1/</sup>	0,0 c	0,0 d
2	2,5 c	1,7 c	7,5 c
4	8,8 b	21,7 b	15,8 b
6	27,5 a	45,0 a	35,0 a
CV (%)	28,84	37,61	41,26

<sup>1/</sup> Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste DMS em nível de 5% de probabilidade de erro.

A incidência de podridões não foi afetada significativamente pelas condições de armazenamento, em nenhum dos anos (Tabelas 5 e 7). No experimento de 2005, a baixa temperatura foi eficiente no controle das podridões, porém com a exposição dos frutos a 20°C a incidência aumentou significativamente (Tabela 6). O crescimento de fungos pode ser retardado com a redução da temperatura ou com o aumento da pressão parcial de CO<sub>2</sub> (Agar et al., 1990). Nesse sentido, a incidência de podridões, em pêssegos ‘Chimarrita’, foi reduzida com o armazenamento em AC (Brackmann et al., 2003). Em relação à ocorrência de avermelhamento da polpa, as condições de armazenamento avaliadas não ocasionaram esse distúrbio fisiológico (Tabela 7).

**TABELA 7 - Efeito das condições de armazenamento na incidência de podridões e de avermelhamento da polpa em pêssegos ‘Chiripá’ após 40 dias de armazenamento a -0,5°C e mais seis dias a 20°C. Santa Maria, RS, 2006.**

Condições de armazenamento	Frutos podres (%)	Frutos com avermelhamento da polpa (%)
AR	16,1 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>
AC 1,0kPa O <sub>2</sub> + 3,0kPa CO <sub>2</sub>	10,2	0,0
AC 2,0kPa O <sub>2</sub> + 8,0kPa CO <sub>2</sub>	9,2	0,0
CV (%)	38,39	-

<sup>ns</sup> Efeito de tratamento não significativo pelo teste F em nível de 5% de probabilidade de erro.

#### 4.1.2 Conclusões

A metodologia do suco livre consegue determinar a incidência de lanosidade objetivamente, podendo ser usada para a determinação de índices de ocorrência desse distúrbio fisiológico em pêssegos.

Os conteúdos de suco livre diminuem à medida que o período de armazenamento de pêssegos ‘Chiripá’ é prolongado. Durante o período de amadurecimento pós-armazenamento, a suculência decresce rapidamente, porém ocorre um restabelecimento dos conteúdos de suco livre. Esse restabelecimento depende tanto do período, quanto das condições de armazenamento.

Os frutos conservados em AR perdem a habilidade normal de produzir etileno, à medida que o período de armazenamento é estendido. Esse padrão afeta a capacidade desses frutos em restabelecer a suculência, quando armazenados por mais de 30 dias a -0,5°C.

O armazenamento em AC proporciona um restabelecimento mais rápido e consistente dos níveis de suco livre, reduzindo significativamente a incidência de lanosidade depois de dois dias a 20°C. Esse comportamento é devido, pelo menos em parte, à manutenção da capacidade dos frutos produzirem etileno após o armazenamento.

A incidência de podridões no 6º dia a 20°C atinge níveis elevados, sendo que as condições de armazenamento avaliadas não afetaram significativamente esse processo.

Entre as condições de AC avaliadas, o uso de 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub> é a mais adequada para o armazenamento de pêssegos ‘Chiripá’.



### 4.3 Parte II

#### 4.3.1 Efeito do etileno no restabelecimento da suculência e no amadurecimento pós-armazenamento de pêssegos 'Chiripá'

A concentração de etileno nas câmaras de AR e AC, sem a aplicação de etileno exógeno, manteve-se sempre abaixo de  $5\mu\text{L L}^{-1}$  (Figura 11). Como não foi utilizado um sistema de fluxo contínuo, mas uma atmosfera estática, os níveis desse gás, nas câmaras onde se aplicou etileno exógeno, oscilaram entre 17,3 e  $30,1\mu\text{L L}^{-1}$  (Figura 11).

A exposição dos frutos armazenados em AR e AC ao etileno exógeno resultou num incremento mais acelerado na síntese de etileno nos primeiros dois dias de exposição a  $20^{\circ}\text{C}$  (Figura 12A). Por exemplo, os frutos armazenados em AR atingiram produção de etileno semelhante àqueles armazenados em AR + etileno apenas aos três dias de exposição a  $20^{\circ}\text{C}$  (Figura 12A). Diferentemente dos frutos armazenados somente em AC, os frutos armazenados em AC + etileno não apresentaram um pico de produção de etileno (Figura 12A). Esses resultados demonstram que a presença de etileno exógeno durante o armazenamento afeta o padrão e a quantidade de etileno produzida durante o período de amadurecimento pós-armazenamento. Esse efeito já havia sido constatado em pêssegos 'Chiripá', com a manutenção de  $10\text{-}15\mu\text{L L}^{-1}$  de etileno na câmara (Girardi et al., 2005). A presença constante de  $15\mu\text{L L}^{-1}$  de etileno na câmara de armazenamento estimulou a síntese de etileno de nectarinas 'Flavortop', durante o período de amadurecimento pós-armazenamento (Dong et al., 2001).

Em frutos climatéricos, a biossíntese de etileno está sob o controle de um mecanismo de retroalimentação positivo, sendo que a presença de etileno afeta a síntese ou atividade da ACC sintase (Nakatsuka et al., 1998; Barry et al., 2000) e ACC oxidase (Lelièvre et al., 1997; Nakatsuka et al., 1998). Atualmente, existem evidências experimentais indicando que alguns genes, que codificam para isoformas de ACC sintase e ACC oxidase, são estimulados pelo etileno, enquanto outros têm sua expressão inibida por esse hormônio (Lelièvre et al., 1997; Nakatsuka et al., 1998; Barry et al., 1996, 2000). Em tomate, a aplicação de propileno, um composto análogo ao etileno, estimula a expressão de *LeACS4* e *LeACS2*, que codificam isoformas de ACC sintase expressas no início e durante o amadurecimento (Nakatsuka et al., 1998). Além disso, a expressão de *LeACO1* e *LeACO4* também é afetada positivamente pelo etileno (Nakatsuka et al., 1998). Por outro lado, o etileno inibe a expressão de *LeACS6* e

*LeACO3*, sugerindo que esses genes são regulados por um mecanismo de retroalimentação negativo (Lelièvre et al., 1997; Nakatsuka et al., 1998). A atividade da ACC oxidase, em nectarinas, foi estimulada pelo armazenamento sob 14ppm de etileno (Zhou et al., 2001).

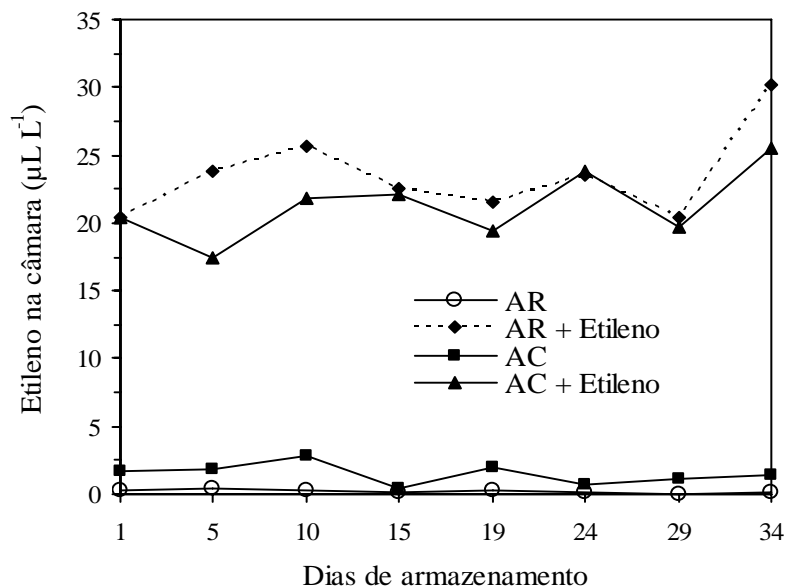


FIGURA 11: Concentração de etileno no interior das câmaras de armazenamento de pêssegos 'Chiripá' durante o período do experimento. Santa Maria, RS. 2005. Etileno = manutenção de  $20\mu\text{L L}^{-1}$  de etileno no interior das câmaras; AC =  $1,0\text{kPa O}_2 + 3,0\text{kPa CO}_2$ .

Os frutos armazenados em AC apresentaram menor atividade respiratória na saída da câmara, mas atingiram os maiores valores de produção de  $\text{CO}_2$  durante a exposição a  $20^\circ\text{C}$  (Figura 12B). A manutenção de altos níveis de etileno exógeno durante o armazenamento dos frutos em AC, determinou um padrão de produção de  $\text{CO}_2$  semelhante aos frutos armazenados em AR, sem a formação de um pico característico (Figura 12B). Interessantemente, a presença do etileno na condição de AC alterou, tanto o padrão de síntese de etileno, quanto o padrão de produção de  $\text{CO}_2$ , em relação aos frutos armazenados somente em AC (Figuras 12A e B). A relação entre o climatério respiratório e o aumento drástico na síntese de etileno, durante o amadurecimento, ainda não foi devidamente elucidado (Lelièvre et al., 1997). Todavia, possivelmente o etileno é responsável por estimular a rota alternativa de transporte de elétrons insensível ao cianeto (Solomos, 1977). Essa rota parece desempenhar um papel importante durante a respiração climatérica (Solomos, 1977), podendo atuar como um mecanismo de proteção contra o cianeto produzido durante o climatério do etileno (Yang & Hoffman, 1984; Kende, 1993). A evidência mais contundente dessa relação é que o acúmulo de mRNAs e da proteína oxidase alternativa (AOX), a oxidase terminal na cadeia alternativa de transporte de elétrons, ocorre de maneira mais pronunciada nos frutos maduros (Cruz-Hernández & Gómez-Lim, 1995).

A exposição dos frutos ao etileno exógeno, durante o AR, restabeleceu a suculência em níveis semelhantes aos frutos armazenados em AC, com ou sem etileno (Figura 12C). A incidência de lanosidade, nos frutos em AR, também foi drasticamente reduzida com a presença de etileno (Figura 12D). Comparando-se os frutos armazenados em AC, a presença do etileno incrementou levemente a suculência, porém a incidência de lanosidade foi semelhante aos frutos armazenados somente em AC (Figuras 12C e D). A incidência de lanosidade foi decrescendo durante todo o período de amadurecimento pós-armazenamento,

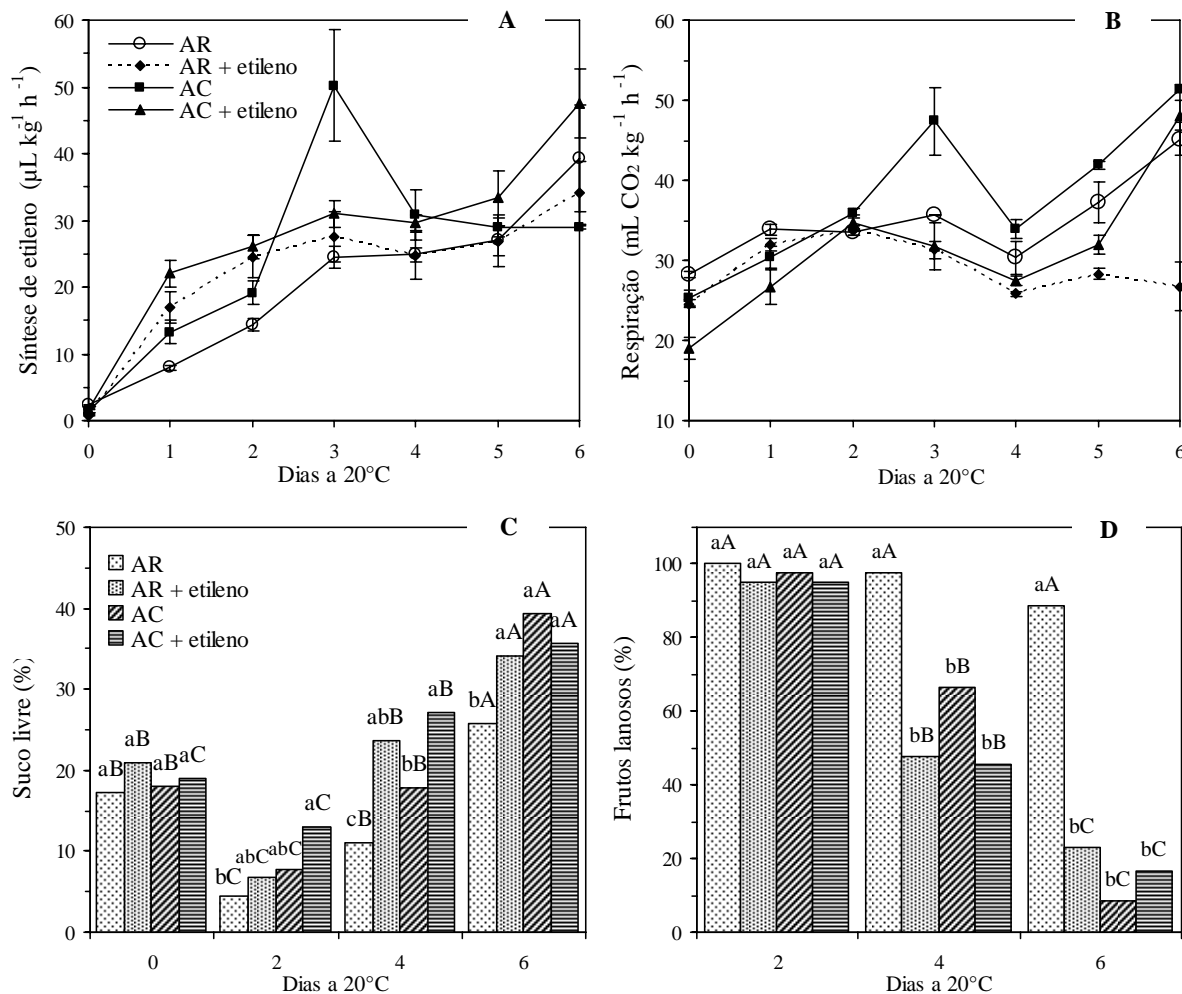


FIGURA 12: Síntese de etileno (A), respiração (B), conteúdo de suco livre (C) e incidência de lanosidade (D) em pêssegos 'Chiripá' após 35 dias de armazenamento a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2005. Etileno = manutenção de  $20\mu\text{L L}^{-1}$  de etileno no interior das câmaras; AC =  $1,0\text{kPa O}_2 + 3,0\text{kPa CO}_2$ . Os dados mostrados em A e B representam a média de quatro repetições  $\pm$  o desvio padrão. Em C e D, letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD ( $P < 0,05$ ).

exceto nos frutos armazenados em AR. A existência de uma relação entre a síntese de etileno e a incidência de lanosidade já foi reportada anteriormente (Dong et al., 2001; Zhou et al., 2001). Nectarinas que desenvolveram sintomas severos de lanosidade apresentaram baixa

produção de etileno durante o amadurecimento pós-armazenamento (Zhou et al., 2001). Além disso, o tratamento de nectarinas com 1-MCP aumentou a incidência de lanosidade (Dong et al., 2001). Os resultados obtidos no presente estudo (Parte I) também reforçam essa relação, demonstrando que a manutenção da habilidade dos frutos em produzir etileno, após o armazenamento, acelera a dissipação dos sintomas desse distúrbio.

Apesar de não apresentarem um pico de produção de etileno no 3º dia a 20°C, como os frutos armazenados em AC, os frutos expostos ao etileno manifestaram uma produção mais antecipada de etileno (Figura 12A), o que pode ter sido suficiente para restabelecer mais rapidamente a suculência (Figura 12C) e reduzir a incidência de lanosidade (Figura 12D). Por outro lado, o incremento lento na síntese de etileno pelos frutos do AR pode ter prejudicado o restabelecimento dos conteúdos de suco livre e, conseqüentemente, a diminuição do número de frutos apresentando sintomas visuais de lanosidade. Como as PGs são estimuladas pelo etileno (Sitrit & Bennett, 1998), a síntese antecipada desse fito-hormônio resultou, possivelmente, num incremento mais precoce da atividade das PGs e, conseqüentemente, na despolimerização dos homogalacturonanos desmetilesterificados. Esse efeito poderia explicar os maiores conteúdos de suco livre nos frutos mantidos sob alto etileno, tanto em AR como em AC (Figura 12C). A exposição ao etileno aumenta drasticamente a atividade das *endo*-PGs e *exo*-PGs em pêssegos 'Chiripá', tanto na saída da câmara, quanto após cinco dias a 20°C (Girardi et al., 2005). Esses mesmos autores, também observaram uma produção mais acentuada de etileno, na saída da câmara, nos frutos expostos a 10-15µL L<sup>-1</sup> de etileno. Além disso, a expressão e o acúmulo das expansinas (Rose et al., 1997; Hayama et al., 2003) também é dependente de etileno. O menor acúmulo da expansina PpEXP1 tem sido relacionado com o desenvolvimento da lanosidade (Obenland et al., 2003). Como algumas expansinas possivelmente facilitam o acesso das PGs aos seus substratos (Brummell et al., 1999), o acúmulo destas, em resposta ao etileno, poderia acelerar ainda mais a despolimerização dos homogalacturonanos.

A firmeza da polpa dos frutos decresceu drasticamente com a exposição dos frutos a 20°C, especialmente até o 4º dia (Figura 13A). Os maiores valores de firmeza da polpa, aos dois dias a 20°C, nos frutos armazenados em AR, podem ser decorrentes de maior dano pelo frio, o qual tem sido associado não só aos sintomas de lanosidade, mas também à perda da habilidade de amadurecimento e à retenção da firmeza (Luchsinger, 2000; Obenland et al., 2003). A presença de etileno exógeno não afetou significativamente a perda de firmeza dos frutos armazenados em AC (Figura 13A). Resultados semelhantes foram obtidos em nectarinas (Brecht & Kader, 1982; Dong et al., 2001). Entretanto, a exposição de pêssegos

‘Chiripá’ ao etileno acelerou significativamente a perda da firmeza após o armazenamento (Girardi et al., 2005). Por outro lado, a absorção do etileno, durante o armazenamento refrigerado, não afetou a firmeza da polpa de pêssegos ‘Chimarrita’ (Brackmann et al., 2003). Segundo Brecht & Kader (1982), mesmo com a presença de  $100\mu\text{L L}^{-1}$  de etileno na câmara, durante quatro semanas a  $0^{\circ}\text{C}$ , a taxa de redução da firmeza da polpa de nectarinas ‘Flamekist’, durante a exposição a  $20^{\circ}\text{C}$ , não foi aumentada significativamente.

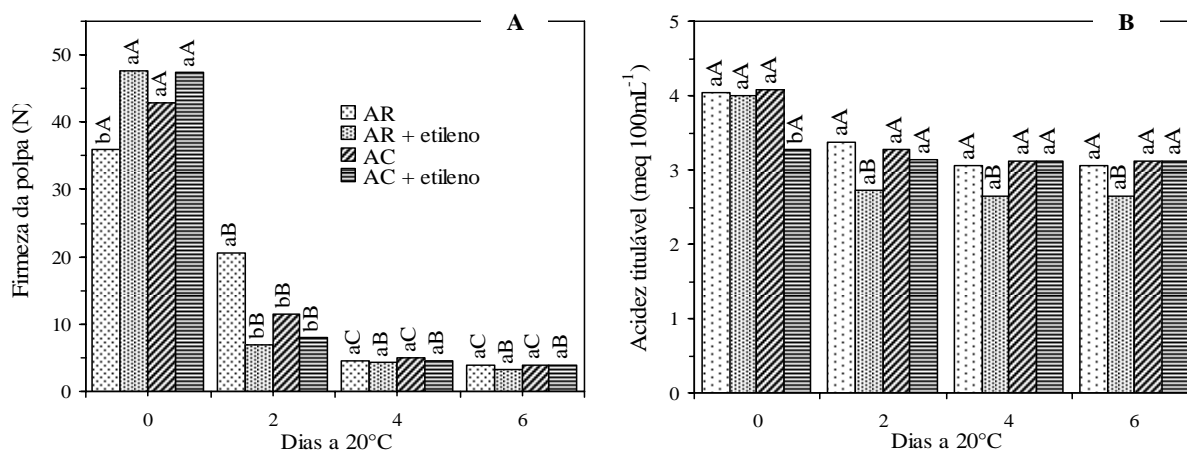


FIGURA 13: Firmeza da polpa (A) e acidez titulável (B) de pêssegos ‘Chiripá’ após 35 dias de armazenamento a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2005. Etileno = manutenção de  $20\mu\text{L L}^{-1}$  de etileno no interior das câmaras; AC =  $1,0\text{kPa O}_2 + 3,0\text{kPa CO}_2$ . Letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD ( $P < 0,05$ ).

A acidez titulável não foi significativamente afetada pelas condições de armazenamento (Figura 13B). Esse resultado contraria Girardi et al. (2005), que observaram uma redução acentuada da acidez em pêssegos ‘Chiripá’ expostos a  $10\text{-}15\mu\text{L L}^{-1}$ . De acordo com esses mesmos autores, o etileno estimula a atividade respiratória, promovendo uma degradação mais acentuada dos ácidos orgânicos. Porém, a absorção do etileno de câmaras de frigoconservação não afeta a acidez titulável de pêssegos ‘Chiripá’ (Nava e Brackmann, 2001) e ‘Chimarrita’ (Brackmann et al., 2003).

Os frutos armazenados em atmosfera controlada e sem a presença de etileno mantiveram-se mais verdes (Tabela 8). A presença de etileno nas câmaras de armazenamento, no entanto, não afetou sensivelmente a cor de fundo da epiderme dos frutos (Tabela 8). O amadurecimento dos frutos a  $20^{\circ}\text{C}$  reduziu gradativamente a coloração verde dos frutos (Tabela 9).

**TABELA 8 - Efeito do etileno e da atmosfera controlada na cor de fundo, nos teores de sólidos solúveis totais e na incidência de podridões de pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 35 dias a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2005.**

Condição de armazenamento	Cor de fundo da epiderme (° h) <sup>3/</sup>	Sólidos solúveis totais (°Brix)	Incidência de podridões (%)
AR	91,99 b <sup>4/</sup>	13,3 <sup>ns</sup>	45,0 <sup>ns</sup>
AR + etileno <sup>1/</sup>	93,47 b	13,4	40,5
AC <sup>2/</sup>	96,28 a	13,1	35,0
AC + etileno <sup>1/</sup>	94,14 ab	13,5	30,0
CV (%)	3,42	3,55	24,47

<sup>1/</sup> Presença constante de 20µL L<sup>-1</sup> de etileno na câmara de armazenamento. <sup>2/</sup> AC = 1,0kPa de O<sub>2</sub> + 3,0kPa de CO<sub>2</sub>. <sup>3/</sup> Onde: 0° = cor vermelha; 90° = cor amarela; 180° = cor verde; 270° = cor azul. <sup>4/</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD em nível de 5% de probabilidade de erro. <sup>ns</sup> Efeito de tratamento não significativo pelo teste de F em nível de 5% de probabilidade de erro.

As condições de armazenamento não afetaram significativamente a incidência de podridões (Tabela 8). De acordo com Palou et al. (2003), a exposição de frutos de caroço a diferentes concentrações de etileno, durante o armazenamento, não altera a incidência e a severidade de podridões causadas por *Monilinia fructicola*. Todavia, a ocorrência de podridões foi maior em pêssegos armazenados sob alto etileno (Girardi et al., 2005). Esses autores atribuíram esse resultado à maturação mais avançada desses frutos, o que pode ter facilitado a infecção e a atividade de patógenos. Em pêssegos ‘Chimarrita’, a remoção do etileno da câmara reduziu a incidência de podridões (Brackmann et al., 2003).

**TABELA 9 - Efeito do período de exposição a 20°C, após 35 dias de armazenamento em diferentes condições, sobre a cor de fundo da epiderme e os teores de sólidos solúveis totais. Santa Maria, RS. 2005.**

Dias a 20°C	Cor de fundo epiderme (° h) <sup>1/</sup>	Sólidos solúveis totais (°Brix)
0	106,04 a <sup>2/</sup>	12,8 d
2	93,44 b	13,9 a
4	90,27 c	13,6 b
6	86,15 d	13,2 c
CV (%)	3,42	3,55

<sup>1/</sup> Onde: 0° = cor vermelha; 90° = cor amarela; 180° = cor verde; 270° = cor azul. <sup>2/</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD em nível de 5% de probabilidade de erro.

#### 4.3.2 Conclusões

A presença de etileno exógeno na câmara de armazenamento acelera o restabelecimento da suculência de pêssegos 'Chiripá' conservados durante 35 dias em AR a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Como resultado, a incidência de lanosidade decresce rapidamente a partir do 2º dia a  $20^{\circ}\text{C}$ . No entanto, sob condições de AC, a presença de etileno apresenta menos efeito em termos de conteúdo de suco livre e ocorrência de lanosidade.

A presença de etileno nas câmaras afeta a síntese de etileno dos frutos após o armazenamento. No entanto, as características físico-químicas são pouco alteradas pela presença de  $>17\mu\text{L L}^{-1}$  de etileno.

#### 4.4 Parte III

4.4.1 A ação do etileno, após o armazenamento, é necessária para o restabelecimento da suculência em pêssegos ‘Chiripá’

O tratamento dos frutos da AC com 1-MCP, tanto no início do armazenamento (P1), quanto na saída da câmara (P2), resultou num padrão de síntese de etileno diferente daquele dos frutos armazenados em AC sem 1-MCP (Figura 14A). Esses frutos apresentaram uma síntese crescente de etileno sem a formação de pico, mas superior àquela apresentada pelos frutos tratados com 1-MCP e conservados em AR (Figura 14A).

A atividade da ACC oxidase não diferiu significativamente após 12 horas de exposição a 20°C (Figura 14C). No entanto, os frutos apresentaram um incremento na atividade dessa enzima durante o amadurecimento pós-armazenamento, sendo esse incremento mais pronunciado nos frutos armazenados em AC e AC + 1-MCP em P1 (Figura 14C). Após três dias a 20°C, os frutos armazenados em AC e tratados com 1-MCP na saída da câmara (P2) apresentaram menor atividade da ACC oxidase do que os frutos tratados no início do armazenamento (P1) (Figura 14C). Por outro lado, a aplicação de 1-MCP associada ao AR reduziu significativamente o incremento da atividade da ACC oxidase. A aplicação de 1-MCP, em pêssegos, não afeta a atividade da ACC sintase, mas reduz significativamente a atividade da ACC oxidase (Mathooko et al., 2001). Comportamento semelhante foi verificado em nectarinas, onde a aplicação de 1-MCP seguida do armazenamento refrigerado resultou em menor expressão da ACC oxidase durante o período exposição a 20°C, sendo a expressão da ACC sintase pouco afetada (Dong et al., 2001). Por outro lado, o alto CO<sub>2</sub> inibe a síntese de etileno, especialmente, por atrasar ou suprimir a expressão da ACC sintase em nível de transcrição (Mathooko et al., 2001; de Wild 2005), apresentando menor efeito sobre a ACC oxidase (Mathooko et al., 2001). Entretanto, o efeito da combinação da AC com a aplicação de 1-MCP sobre a atividade da ACC oxidase ainda não havia sido avaliado.

Esses resultados, em conjunto, indicam que a maior produção de etileno nos frutos armazenados em AC, tratados ou não com 1-MCP, está em parte associada ao incremento mais acentuado da atividade da ACC oxidase (Figuras 14A e C). Por outro lado, o aumento lento das quantidades de etileno produzidas pelos frutos tratados com 1-MCP e conservados em AR, possivelmente ocorra devido a um acréscimo menos pronunciado na atividade dessa enzima. Dessa forma, as pressões de O<sub>2</sub>, de CO<sub>2</sub>, a aplicação e o momento da aplicação de



1-MCP e, mais provavelmente, a combinação destes, afetam distintamente a atividade da ACC oxidase, alterando a quantidade e o padrão de síntese de etileno. Além disso, essas condições devem afetar outras enzimas da via de biossíntese do etileno.

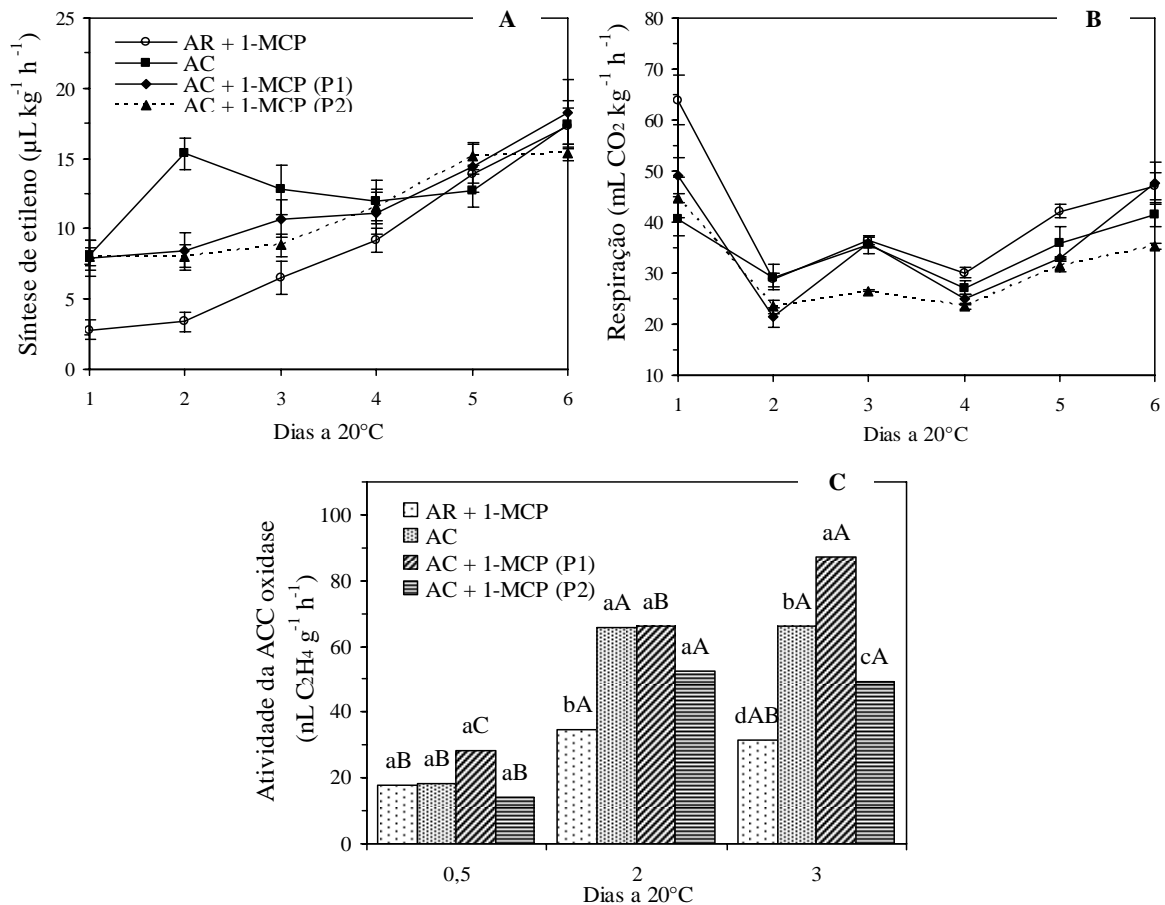


Figura 14: Síntese de etileno (A), respiração (B) e atividade da ACC oxidase (C) de pêssegos 'Chiripá' após 40 dias de armazenamento a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS, 2006. AC =  $2,0\text{kPa O}_2 + 8,0\text{kPa CO}_2$ ; P1 =  $900\text{ nL L}^{-1}$  de 1-MCP aplicados no início do armazenamento; e P2 =  $900\text{ nL L}^{-1}$  de 1-MCP aplicados na saída da câmara. Os dados mostrados em A e B representam a média de quatro repetições  $\pm$  o desvio padrão. Em C, letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD ( $P < 0,05$ ).

A produção de  $\text{CO}_2$  não foi muito afetada pelas condições de armazenamento e pelo bloqueio da ação do etileno (Figura 14B). O 1-MCP, em geral, reduz ou atrasa a taxa respiratória (Blankenship & Dole, 2003), apesar de não afetar o metabolismo dos carboidratos (Golding et al., 1998). No entanto, esse composto parece exercer pouco efeito sobre a produção de  $\text{CO}_2$  em nectarinas (Dong et al., 2001) e damascos (Dong et al., 2002).

O bloqueio da ação do etileno em frutos armazenados em AC, além de afetar significativamente a síntese de etileno e a atividade da ACC oxidase, também alterou os conteúdos de suco livre durante o período de amadurecimento pós-armazenamento (Figura

14A). Os frutos tratados com 1-MCP (P1) e armazenados em AC apresentaram valores decrescentes de suculência até o 4º dia a 20°C, porém sempre superiores a 25% (Figura 15A). Por outro lado, a suculência dos frutos armazenados em AC, sem a aplicação de 1-MCP, decresceu drasticamente até o 2º dia, aumentando expressivamente a partir de então. Interessantemente, apesar de submetidos às mesmas condições de armazenamento, os frutos armazenados em AC, mas tratados com 1-MCP na saída da câmara (P2), apresentaram um decréscimo acentuado da suculência, demonstrando um comportamento similar aos frutos tratados com 1-MCP e mantidos em AR (Figura 15A). Esses resultados demonstram o efeito da inibição da ação do etileno sobre a suculência e a incidência de lanosidade, indicando, ainda, que a ação do etileno, durante o período de amadurecimento pós-armazenamento, é fundamental para o restabelecimento da suculência e, conseqüentemente, para a redução dos sintomas de lanosidade.

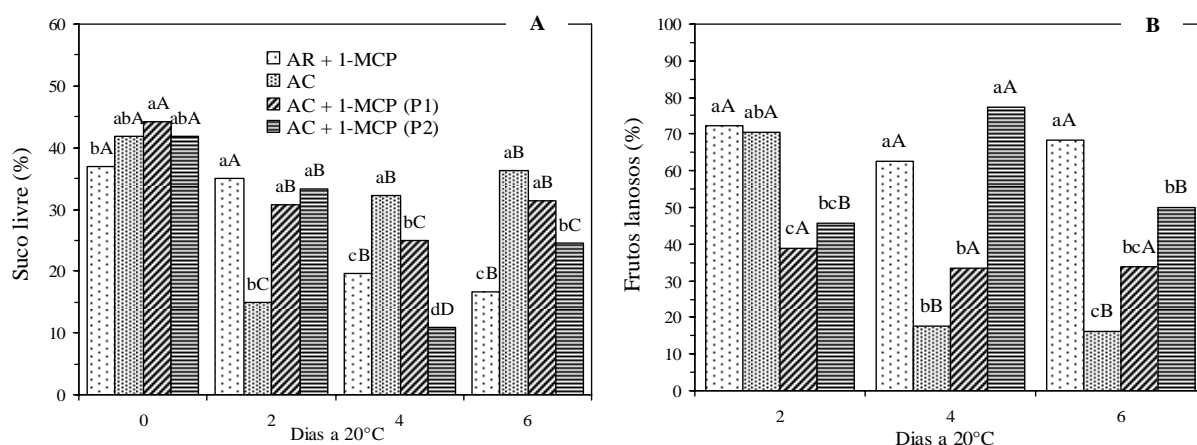


Figura 15: Conteúdo de suco livre (A) e incidência de lanosidade (B) em pêssegos ‘Chiripá’ após 40 dias de armazenamento a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2006. AC =  $2,0\text{kPa O}_2 + 8,0\text{kPa CO}_2$ ; P1 =  $900\text{ nL L}^{-1}$  de 1-MCP aplicados no início do armazenamento; e P2 =  $900\text{ nL L}^{-1}$  de 1-MCP aplicados na saída da câmara. Letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD ( $P < 0,05$ ).

O etileno, geralmente, é considerado indesejável durante o armazenamento de várias espécies e variedade de frutos e hortaliças, por induzir a perda de firmeza, o amadurecimento e as deteriorações. No entanto, em pêssegos e nectarinas, sua presença na câmara de armazenamento parece ser benéfica, especialmente na redução de desordens fisiológicas (Zhou et al., 2001; Palou et al., 2003). No presente estudo, também observamos que a manutenção de altas concentrações de etileno na câmara de armazenamento reduz a incidência de lanosidade em pêssegos ‘Chiripá’ (Parte II). Além disso, a intensidade dos sintomas de lanosidade é dependente da maior ou menor capacidade dos frutos em produzir

etileno, após longos períodos de armazenamento (Dong et al., 2001; Zhou et al., 2001). Esse comportamento também foi evidenciado neste estudo (Parte I). No entanto, no presente experimento, observamos que, apesar dos frutos armazenados em AC e tratados com 1-MCP em P2 apresentarem produção mais precoce e intensa de etileno, em relação aos tratados com 1-MCP e conservados em AR, o comportamento da suculência foi muito semelhante entre ambos (Figuras 14A e 15A). Esse resultado indica que não apenas a presença do etileno (exógeno ou endógeno), mas a ação desse fito-hormônio é essencial para o metabolismo normal das paredes celulares após o armazenamento.

Interessantemente, os frutos tratados com 1-MCP em P1 e P2 apresentaram síntese de etileno muito semelhante durante o período de amadurecimento pós-armazenamento, mas o comportamento da suculência diferiu drasticamente entre eles, especialmente após quatro dias a 20°C (Figura 15A). Provavelmente, os frutos tratados em P1 foram capazes de sintetizar novos receptores durante e, especialmente, após o armazenamento. Segundo Mathooko et al. (2001), em pêssegos, os receptores de etileno são sintetizados dentro de pouco tempo, o que requer a aplicação mais freqüente de inibidores para se obter uma inibição contínua. Em relação à ligação do 1-MCP aos receptores, foi demonstrado, em estudos com bactérias expressando os receptores ETR1 e ERS1 de *Arabidopsis thaliana*, que a afinidade destes pelo 1-MCP é muito similar (Hall et al., 2000). Além disso, esse mesmo estudo demonstrou que a ligação do 1-MCP a um grupo de receptores possivelmente é suficiente para inibir as respostas dependentes de etileno.

A aplicação de 1-MCP, combinada com o AR, acentua ainda mais os danos provocados pela baixa temperatura, sendo que essa combinação aumenta drasticamente a incidência de lanosidade e reduz a suculência em nectarinas (Dong et al., 2001). De acordo com esses mesmos autores, durante o AR, a capacidade dos frutos em produzir níveis basais de etileno ou sintetizar novos receptores foi suprimida, enquanto que os receptores bloqueados pelo 1-MCP persistiram, bloqueando, dessa forma, a regulação do etileno por retroalimentação. Todavia, cabe ressaltar que, no presente estudo, a combinação da aplicação de 1-MCP (P1) com a AC, resultou em maior suculência e menor incidência de lanosidade nos frutos (Figura 15). Esse resultado pode indicar que sob condições de AC o aparato de síntese de receptores e de etileno é preservado, permitindo a retomada normal do amadurecimento após o armazenamento. Além disso, essa combinação evita a queda drástica na suculência dos frutos nos primeiros dias a 20°C, como observado nos frutos armazenados somente em AC (Figura 15A).

Considerando que a atividade das PGs, das expansinas e de outras enzimas envolvidas no metabolismo normal das paredes celulares, durante o amadurecimento, é dependente do etileno (Nicholass et al., 1995; Rose et al., 1997; Sitrit & Bennett, 1998; Brummell & Harpster, 2001; Hayama et al., 2003; Zanuzo, 2004), podemos tentar estabelecer algumas hipóteses, em relação aos resultados obtidos neste experimento. A aplicação do 1-MCP no início do armazenamento, tanto em AR, quanto em AC, deve ter bloqueado os receptores de etileno presentes naquele momento. Todavia, pode ter ocorrido, mesmo durante o armazenamento, uma síntese *de novo* significativa desses receptores, pois esse processo é relativamente rápido em pêssegos (Mathooko et al., 2001). Evidentemente, as baixas temperaturas devem ter reduzido significativamente esse processo. Todavia, após 40 dias de armazenamento, provavelmente os frutos apresentavam uma quantidade considerável de novos receptores, além daqueles que passaram a ser sintetizados com a exposição a 20°C. No entanto, devemos considerar que os receptores, na ausência de etileno, são reguladores negativos das respostas desse fito-hormônio (Tieman et al., 2000; Klee, 2002), ou seja, eles estão ativos e inibem as respostas de etileno. Isso pode explicar a diferença, em termos de suculência, entre os frutos tratados com 1-MCP, mas armazenados em AR ou AC (Figura 15A), pois os últimos produziram quantidades de etileno significativamente maiores durante os três primeiros dias a 20°C (Figura 14A). Nesse caso, a presença de receptores livres, aliada aos elevados níveis de etileno produzidos com a exposição a 20°C, poderia desencadear as respostas dependentes de etileno, como a despolimerização das pectinas desmetilesterificadas durante o armazenamento (Nicholass et al., 1995; Sitrit & Bennett, 1998; Girardi et al., 2005), levando ao restabelecimento da suculência.

Por outro lado, a aplicação de 1-MCP na saída da câmara de AC (P2), bloqueou os receptores, impedindo a ligação do etileno aos receptores existentes naquele momento. Por isso, mesmo esses frutos apresentando uma produção de etileno semelhante aos tratados em P1, houve um atraso significativo nas respostas dependentes ao etileno, que pode ter sido proporcional ao tempo necessário para a síntese de novos receptores. Essas hipóteses podem explicar, em parte, os efeitos observados neste experimento. Entretanto, para a elucidação desse processo são necessários estudos que avaliem a expressão dos genes e o acúmulo das proteínas receptoras durante o armazenamento e o período pós-armazenamento. Além disso, esse estudo deve ser concomitante à análise da expressão de genes altamente responsivos ao etileno.

A aplicação de 1-MCP reduziu a perda da firmeza até o 2º dia a 20°C (Figura 16A). Uma retenção da firmeza da polpa, possivelmente devido ao dano mais expressivo pelo frio,

foi observada nos frutos tratados com 1-MCP e conservados em AR (Figura 16A). Esse resultado demonstra que a inibição da ação do etileno durante o AR pode agravar ainda mais o desenvolvimento de desordens fisiológicas relacionadas ao frio. A expressão da PG e das expansinas são eventos dependentes de etileno (Sitrit & Bennett, 1998; Rose et al., 1997), sendo que a aplicação de 1-MCP reduz a perda de firmeza de nectarinas e damascos (Dong et al., 2001, 2002; Menniti et al., 2006).

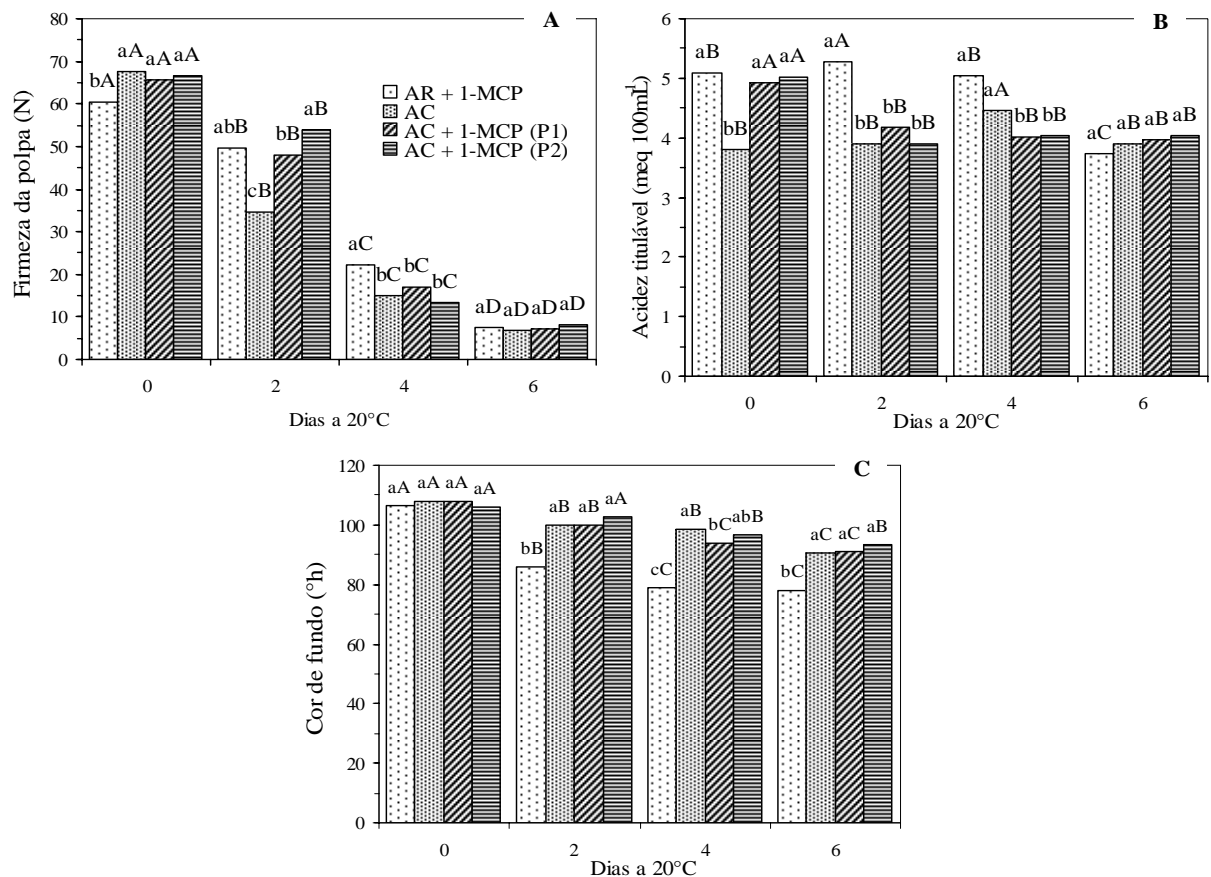


Figura 16: Firmeza da polpa (A), acidez titulável (B) e cor de fundo da epiderme (C) de pêssegos 'Chiripá' após 40 dias de armazenamento a -0,5°C. Santa Maria, RS. 2006. AC = 2,0kPa O<sub>2</sub> + 8,0kPa CO<sub>2</sub>; P1 = 900 nL L<sup>-1</sup> de 1-MCP aplicados no início do armazenamento; e P2 = 900nL L<sup>-1</sup> de 1-MCP aplicados na saída da câmara. Letras minúsculas representam a comparação entre as médias das condições de armazenamento, para um mesmo momento de avaliação, e letras maiúsculas a comparação entre os momentos de avaliação, para uma mesma condição de armazenamento, pelo teste LSD (P<0,05).

A acidez titulável manteve-se mais elevada nos frutos tratados com 1-MCP e mantidos em AR (Figura 16B). É possível que os maiores valores de acidez nos frutos do AR estejam relacionados a uma maior desidratação, que pode ter concentrado os ácidos orgânicos. Em ameixas 'Red Rosa', o 1-MCP manteve maior acidez titulável (Dong et al., 2002).

O armazenamento em AC manteve os frutos mais verdes, independente da aplicação ou não de 1-MCP (Figura 16C). Esse resultado aponta para um efeito mais pronunciado dos

níveis de O<sub>2</sub> e/ou de CO<sub>2</sub> na manutenção da cor de fundo, em relação ao etileno, conforme já observado em tomates (Streif & Bangerth, 1976). No entanto, em laranjas, o tratamento com 1-MCP reduziu o desverdecimento, enquanto que a aplicação de etileno exógeno estimulou esse processo (Porat et al., 1999). Já a perda da funcionalidade de cloroplastos em maçãs ‘Red Chief’ é um processo independente do etileno (Mir et al., 2001).

A incidência de podridões não foi afetada pelas condições de armazenamento avaliadas (Tabela 10). Os efeitos da inibição da ação do etileno na incidência de podridões são muito variáveis (Blankenship & Dole, 2003). Enquanto resultados positivos foram verificados em damascos e ameixas (Dong et al., 2002; Menniti et al., 2006), a aplicação de 1-MCP acelerou o desenvolvimento de fungos em morangos (Jiang et al., 2001). Esse último resultado foi relacionado ao decréscimo nas concentrações de fenóis nos frutos tratados com 1-MCP.

**TABELA 10 - Efeito da ação do etileno na incidência de podridões e de avermelhamento da polpa em pêssegos ‘Chiripá’, após 40 dias de armazenamento e mais seis dias a 20°C. Santa Maria, RS, 2006.**

Tratamentos	Frutos podres (%)	Incidência de avermelhamento da polpa (% frutos)
AR + 1-MCP <sup>1/</sup>	9,8 <sup>ns</sup>	51,1 a*
AC	9,2	0,0 c
AC + 1-MCP (P1)	2,9	0,0 c
AC + 1-MCP (P2)	8,9	34,1 b
CV (%)	82,22	18,99

<sup>1/</sup> AC = 2,0kPa de O<sub>2</sub> + 8,0kPa de CO<sub>2</sub>; P1 = 900nL L<sup>-1</sup> de 1-MCP aplicados no início do armazenamento; e P2 = 900nL L<sup>-1</sup> de 1-MCP aplicados na saída da câmara.

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup> Efeito de tratamento não significativo pelo teste F em nível de 5% de probabilidade de erro.

Além do efeito drástico sobre a incidência de lanosidade, a aplicação de 1-MCP associada ao AR, estimulou fortemente a ocorrência de outra desordem fisiológica, o avermelhamento da polpa (Tabela 10). Essa desordem fisiológica parece ser decorrente da senescência ou do amadurecimento anormal de algumas cultivares de pêssegos e nectarinas armazenadas durante longos períodos (Dong et al., 2001; Lurie & Crisosto, 2005). Nessas condições, os pigmentos antociânicos, presentes em grande quantidade na cavidade do caroço, se espalham por toda a polpa. É possível que ocorra alguma alteração em termos de permeabilidade das membranas, o que poderia facilitar a difusão desses pigmentos para os espaços intercelulares. O armazenamento em AC reduziu a ocorrência de avermelhamento da polpa (Tabela 10). Resultado semelhante foi observado por Lurie (1992) e Retamales et al.

(1992). No entanto, a aplicação de 1-MCP na saída da câmara de AC (P2), aumentou significativamente a incidência desse distúrbio (Tabela 10). Por outro lado, a aplicação de 1-MCP no início da AC (P1) não ocasionou a manifestação de avermelhamento da polpa (Tabela 10). Infelizmente, existem poucos estudos em relação a esse distúrbio fisiológico, porém, novamente, o etileno parece desempenhar um papel fundamental na sua prevenção. Enquanto a aplicação desse fito-hormônio não afeta a ocorrência de avermelhamento em pêssegos (Palou et al., 2003), a inibição da ação do etileno, pela aplicação de 1-MCP, aumenta dramaticamente a incidência dessa desordem em nectarinas (Dong et al., 2001).

#### 4.4.2 Conclusões

A inibição da ação do etileno, no período de amadurecimento pós-armazenamento, obtida pela aplicação de 1-MCP ( $900\text{nL L}^{-1}$ ) na saída da câmara, reduz a suculência e aumenta a incidência de lanosidade em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados em AC ( $2,0\text{kPa O}_2 + 8,0\text{kPa CO}_2$ ) a  $-0,5^\circ\text{C}$  durante 40 dias. Essa condição estimula, ainda, a incidência de polpa avermelhada.

A aplicação de 1-MCP no início do armazenamento em AC resulta em níveis relativamente constantes de suculência durante todo o período de exposição a  $20^\circ\text{C}$ . Esse tratamento evita a redução da suculência no 2º dia, apresentada pelos frutos armazenados somente em AC.

A aplicação de 1-MCP nos frutos armazenados em AC, independente do momento, reduz a síntese de etileno durante o amadurecimento pós-armazenamento.

A aplicação de 1-MCP associada à AC reduz a perda da firmeza da polpa até dois dias a  $20^\circ\text{C}$ .

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

A incidência de lanosidade, em pêssegos, pode ser determinada de forma objetiva pela metodologia do suco livre.

Os conteúdos de suco livre diminuem à medida que o período de armazenamento de pêssegos ‘Chiripá’ é prolongado. Durante o período de amadurecimento pós-armazenamento, a suculência decresce rapidamente, porém ocorre um restabelecimento dos conteúdos de suco livre. Esse restabelecimento depende tanto do período, quanto das condições de armazenamento.

Os frutos conservados em armazenamento refrigerado perdem a habilidade normal de produzir etileno, à medida que o período de armazenamento é estendido. Esse padrão afeta a capacidade desses frutos em restabelecer a suculência, quando armazenados por mais de 30 dias a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ .

O armazenamento em atmosfera controlada (AC), especialmente sob 2,0kPa de  $\text{O}_2$  + 8,0kPa de  $\text{CO}_2$  proporciona um restabelecimento mais rápido e consistente dos níveis de suco livre, reduzindo significativamente a incidência de lanosidade depois de dois dias a  $20^{\circ}\text{C}$ .

A presença de etileno exógeno na câmara de armazenamento acelera o restabelecimento da suculência de pêssegos ‘Chiripá’ após 35 dias de armazenamento refrigerado a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ .

A ação do etileno, no período de amadurecimento pós-armazenamento, é fundamental para restabelecer a suculência e diminuir a incidência de lanosidade em pêssegos ‘Chiripá’

A aplicação de 1-MCP ( $900 \text{ nL L}^{-1}$ ) no início do armazenamento em AC resulta em níveis relativamente constantes de suculência durante todo o período de exposição a  $20^{\circ}\text{C}$ . Esse tratamento evita a redução da suculência no 2º dia, apresentada pelos frutos armazenados somente em AC, sendo a condição de armazenamento mais promissora para o armazenamento de pêssegos ‘Chiripá’.



## 6. BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, D.O.; YANG, S.F. Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropene-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.76, p.170-174, 1979.
- ADAMS-PHILLIPS, L.; BARRY, C.; GIOVANNONI, J. Signal transduction systems regulating fruit ripening. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v.9, n.7, p.331-338, 2004.
- AGAR, T. et al. Effect of high CO<sub>2</sub> and low O<sub>2</sub> concentrations on the growth of *Botrytis cinerea* at different temperatures. **Gartenbauwissenschaft**, Berlin, v.55, n.5, p.219-222, 1990.
- ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.53, p.2039-2055, 2002.
- ANDERSON, R.E. Long-term storage of peaches and nectarines intermittently warmed during controlled atmosphere storage. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.107, n.2, p.214-216, 1982.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; BRON, I.U.; MACHADO, S.R. Lanosidade em cultivares de pêsego (*Prunus persica* (L.) Batsch): estudos anatômicos e ultra-estruturais. **Revista Brasileira de Botânica**, v.27, n.1, p.55-61, 2004.
- ARAÚJO, P.J. Manejo e conservação pós-colheita: Fisiologia pós-colheita de pêsego. In: **A cultura do pessegueiro**. Brasília: Embrapa-SPI; Pelotas: Embrapa-CPACT, p.318-337. 1998.
- AYUB, R. et al. Expression of ACC oxidase antisense gene inhibits ripening of cantaloupe melon fruits. **Nature Biotechnology**, London, v.14, p.862-866, 1996.
- BAILEY, J.S.; FRENCH, H.P. The inheritance of certain fruit and foliage characters in peach. **Mass. Agriculture Experimental Station Bulletin**, v.452, p.2-31, 1949.
- BALAGUÉ, C. et al. Isolation of ripening and wounding-induced cDNA from *Cucumis melo* L. encoding a protein with homology to the ethylene-forming enzyme. **European Journal of Biochemistry**, v.212, p.27-34, 1993.
- BARON-EPEL, O.; GHARYAL, P.K.; SCHINDLER, M. Pectins as mediators of wall porosity in soybean cells. **Planta**, Berlin, v.175, p.389-395, 1988.
- BARRY, C.S. et al. Differential expression of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene family of tomato. **Plant Journal**, v.9, p.525-535, 1996.
- BARRY, C.S.; LLOP-TOUS, M.I.; GRIERSON, D. The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during the transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato. **Plant Physiology**, Rockville, v.123, p.979-986, 2000.

BEAUDRY, R.M. Effect of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.15, p.293-303, 1999.

BEN-ARIE, R.; LAVEE, S. Pectic changes occurring in 'Elberta' peaches suffering from woolly breakdown. **Phytochemistry**, Oxford, v.10, p.531-538, 1971.

BEN-ARIE, R.; SONEGO, L. Pectolytic enzyme activity involved in woolly breakdown of stored peaches. **Phytochemistry**, Oxford, v.19, p.2553-2555, 1980.

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

BLUME, B.; GRIERSON, D. Expression of ACC oxidase promoter-GUS fusions in tomato and *Nicotiana plumbaginifolia* regulated by developmental and environmental stimuli. **Plant Journal**, v.12, p.731-746, 1997.

BOLLER, T.; HERNER, R.C.; KENDE, H. Assay for an enzymatic formation of an ethylene precursor, 1-aminocyclopropene-1-carboxylic acid. **Planta**, Berlin, v.145, p.293-303, 1979.

BRACKMANN, A. et al. Qualidade de pêssegos cv. Eldorado tratados com aminoetoxivinilglicina e ethephon e armazenados em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, 2007 (no prelo).

BRACKMANN, A. et al. Utilização da atmosfera controlada para o armazenamento de pêssegos 'Eldorado' colhidos em dois estádios de maturação. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.30, n.2, p. 209-214, 2005.

BRACKMANN, A.; STEFFENS, C.A.; GIEHL, R.F.H. Armazenamento de pêssego 'Chimarrita' em atmosfera controlada e sob absorção de etileno. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.3, p.431-435, 2003.

BRADY, C.J. Stone fruit. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993, Cap.13, p.379-404.

BRECHT, J.K.; KADER, A.A. Ripening and reduced ethylene production by nectarine fruits following exposure to ethylene. **HortScience**, Alexandria, v.17, p.224-225, 1982.

BREGOLI, A.M. et al. Peach (*Prunus persica*) fruit ripening: aminoethoxyvinylglycine (AVG) and exogenous polyamines affect ethylene emission and flesh firmness. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.114, p.472-481, 2002.

BRUMMELL, D.A. et al. Cell wall metabolism during the development of chilling injury in cold-stored peach fruit: association of mealiness with arrested disassembly of cell wall pectins. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.55, p.2041-2052, 2004.

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

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**, Rockville, v.80, p.539-543, 1986.

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

BYRNE, D.H.; NIKOLIC, A.N.; BURNS, E.E. Variability in sugars, acids, firmness, and colour characteristics of 12 peach genotypes. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.116, p.1004-1006, 1991.

CALLAHAN, A.M. et al. Comparison of pch313 (pTOM13 homolog) RNA accumulation during fruit softening and wounding of two phenotypically different peach cultivars. **Plant Physiology**, Rockville, v.100, p.482-488, 1992.

CAPITANI, G. Structure of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, a key enzyme in the biosynthesis of the plant hormone ethylene. **Journal of Molecular Biology**, v.294, p.745-756, 1999.

CARPITA, N.C.; GIBEAUT, D.M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **Plant Journal**, v.3, p.1-30, 1993.

CERETTA, M. et al. Conservação em atmosfera controlada de pêssego cultivar Eldorado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.73-79, 2000.

CHAE, H.S.; KIEBER, J.J. *Eto brute?* Role of ACS turnover in regulating ethylene biosynthesis. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v.10, n.6, 2005.

CHANG, C. Ethylene signaling: the MAPK module has finally landed. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v.8, n.8, p.365-368, 2003.

CHANG, C.; STEWART, R.C. The two-component system: regulation of diverse signaling pathways in prokaryotes and eukaryotes. **Plant Physiology**, Rockville, v.117, p.723-731. 1998.

CHAO, Q. et al. Activation of the ethylene gas response pathway in *Arabidopsis* by the nuclear protein ETHYLENE-INSENSITIVE3 and related proteins. **Cell**, v.89, p.1133-1144, 1997.

CHEN, Y.F. et al. Localization of the ethylene receptor ETR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis*. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v.277, p.19861-19866, 2002.

CHUNG, M.-C. et al. Subcellular localization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase in apple fruit. **Plant Cell Physiology**, v.43, n.5, p.549-554, 2002.

CIARDI, J.; KLEE, H. Regulation of ethylene-mediated responses at the level of the receptor. **Annals of Botany**, Lancaster, v.88, p.813-822, 2001.

- CIVELLO, P.M. et al. An expansin gene expressed in ripening strawberry fruit. **Plant Physiology**, Rockville, v.121, p.1273-1279, 1999.
- COSGROVE, D.J. Cell wall loosening by expansins. **Plant Physiology**, Rockville, v.118, p.333-339, 1998.
- CRISOSTO, C.H. et al. Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality. **HortScience**, Alexandria, v.32, p.820-823, 1997.
- CRISOSTO, C.H. Stone fruit maturity indices: a descriptive review. **Postharvest News and Information**, London, v.5, n.6, p.65-68, 1994.
- CRISOSTO, C.H.; LABAVITCH, J.M. Developing a quantitative method to evaluate peach (*Prunus persica*) flesh mealiness. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.25, p.151-158, 2002.
- CRISOSTO, C.H.; MITCHELL, F.G.; JU, Z. Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine, and plum cultivars grown in California. **HortScience**, Alexandria, v.34, p.1116-1118, 1999.
- CRUZ-HERNÁNDEZ, A.; GÓMEZ-LIM. Alternative oxidase from mango (*Mangifera indica* L.) is differentially regulated during fruit ripening. **Planta**, Berlin, v.197, p.569-576, 1995.
- DAANE, K.M. et al. Excess of nitrogen raises nectarine susceptibility to disease and insects. **California Agriculture**, v.49, n.1, p.13-17, 1995.
- DE WILD, H.P.J. et al. The action site of carbon dioxide in relation to inhibition of ethylene production in tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.36, p.273-280, 2005.
- DE WILD, H.P.J.; WOLTERING, E.J.; PEPPELENBOS, H.W. Carbon dioxide and 1-MCP inhibit ethylene production and respiration of pear fruit by different mechanisms. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.50, n.335, p.837-844, 1999.
- DELLA PENNA, D.; ALEXANDER, D.C.; BENNETT, A.B. Molecular cloning of tomato fruit polygalacturonase: analysis of polygalacturonase mRNA levels during ripening. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.83, p.6420-6424, 1986.
- DIRLEWANGER, E. et al. Mapping QTLs controlling fruit quality in peaches (*Prunus persica* (L.) Batsch). **Theoretical and Applied Genetics**, v.98, n.1, p.18-31, 1999.
- 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 USA**, Washington, v.89, p.9789-9793, 1992.
- DONG, L. et al. Ethylene involvement in the cold storage disorder of 'Flavortop' nectarine. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.23, p.105-115, 2001.

DONG, L.; LURIE, S.; ZHOU, H.-W. Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal Zee' plums. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam v.24, n.1, .135-145, 2002.

DUQUE, P.; BARREIRO, M.G.; ARRABAÇA, J.D. Respiratory metabolism during cold storage of apple fruit. I. Sucrose metabolism and glycolysis. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.107, p.14-23, 1999.

EMERY, K.M.; SCHERM, H.; SAVELLE, A.T. Assessment of interactions between components of fungicide mixtures against *Monilinia fructicola*. **Crop Protection**, v.21, n.1, p.41-47, 2002.

ETIENNE, C. et al. Isolation and characterization of six peach cDNAs encoding key proteins in organic acid metabolism and solute accumulation: involvement in regulating peach fruit acidity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.114, p.259-270, 2002.

FENG, X. et al. Control of ethylene activity in various plant systems by analogues of 1-methylcyclopropene. **Plant Growth Regulation**, New York, v.42, p.29-38, 2004.

FENG, X. et al. Control of ethylene responses in avocado fruit with 1-aminocyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam v.20, p.143-150, 2000.

FERNÁNDEZ-MACULET, J.C.; DONG, J.G.; YANG, S.F. Activation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase by carbon dioxide. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.193, p.1168-1173, 1993.

FERNÁNDEZ-TRUJILLO. J.P.; CANO, A.; ARTÉS, F. Physiological changes in peaches related to chilling injury and ripening. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.13, p.109-119, 1998.

FISCHER, R.L.; BENNETT, A.B. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.675-703, 1991.

GAFFE, J.; TIEMAN, D.M.; HANDA, A.K. Pectin methylesterase isoforms in tomato (*Lycopersicon esculentum*) tissues. **Plant Physiology**, Rockville, v.105, p.199-203, 1994.

GAO, Z. et al. Localization of the Raf-like kinase CTR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis* through participation in ethylene receptor signaling complexes. **Journal Biological Chemistry**, Maryland, v.278, p.34725-34732, 2003.

GIRARDI, C.L. et al. Effect of ethylene, intermittent warming and controlled atmosphere on postharvest quality and the occurrence of woolliness in peach (*Prunus persica* cv. Chiripá) during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.38, p.25-33, 2005.

GOLDING, J.B. et al. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam v.14, n.1, p.87-98, 1998

GORNY, J.R.; KADER, A.A. Regulation of ethylene biosynthesis in climacteric apple fruit by elevated CO<sub>2</sub> and reduced O<sub>2</sub> atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.9, p.311-323, 1996.

GROSS, K.C.; SAMS, C.E. Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. **Phytochemistry**, Oxford, v.23, p.2457-2461, 1984.

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

HALL, A.E. et al. Ethylene perception by the ERS1 protein in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Rockville, v.123, p.1449-1457, 2000.

HAMILTON, A.J.; BOUZAYEN, M.; GRIERSON, D. Identification of a tomato gene for ethylene-forming enzyme by expression in yeast. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.88, p.7437-7437, 1991.

HARKER, F.R.; SUTHERLAND, P.W. Physiological changes associated with fruit ripening and the development of mealy texture during storage of nectarines. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.2, p.269-277, 1993.

HARRIMAN, R.W. et al. Molecular cloning of tomato pectin methylesterase gene and its expression in Rutgers, ripening inhibitor, nonripening, and Never Ripe tomato fruits. **Plant Physiology**, Rockville, v.97, p.80-87, 1991.

HAYAMA, H. et al. Identification of a new expansin gene closely associated with peach fruit softening. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.29, n.1, p.1-10, 2003.

HUAI, Q. et al. Crystal structures of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase in complex with aminoethoxyvinylglycine and pyridoxal-5'-phosphate provide new insight into catalytic mechanisms. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v.276, n.4, p.38210-38216, 2001.

ISAAC, J.E.; RHODES, M.J.C. Phosphofructokinase and ripening in *Lycopersicum esculentum* fruits. **Phytochemistry**, Oxford, v.26, p.649-653, 1987.

JACOB-WILK, D. et al. Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: isolation and functional expression of the *Chlase1* gene from ethylene-treated *Citrus* fruit and its regulation during development. **Plant Journal**, v.20, n.6, p.653-661, 1999.

JARVIS, M.C. Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. **Plant Cell and Environment**, v.7, p.153-164, 1984.

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

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

JU, Z.; DUAN, Y.; JU, Z. Combinations of GA<sub>3</sub> and AVG delay fruit maturation, increase fruit size and improve storage life of 'Feicheng' peaches. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v.74, p.579-583, 1999.

KADER, A.A. Biochemical and physiological basis for the effect of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v.40, n.5, p.99-105, 1986.

KADER, A.A.; CHORDAS, A. Evaluating the browning potential of peaches. **California Agriculture**, v.38, n.1, p.14-15, 1984.

KANG, H.-M.; PARK, K.-W.; SALTVEIT, M.E. Elevated growing temperatures during the day improve the postharvest chilling tolerance of greenhouse-grown cucumber (*Cucumis sativus*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.24, n.1, p.49-57, 2002.

KATZ, E. et al. Molecular and physiological evidence suggests the existence of a system II-like pathway of ethylene production in non-climacteric *Citrus* fruit. **Planta**, Berlin, v.219, p.243-252, 2004.

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

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

KERBEL, E.L.; KADER, A.A.; ROMANI, R.J. Effect of elevated CO<sub>2</sub> concentrations on glycolysis in intact 'Bartlett' pear fruit. **Plant Physiology**, Rockville, v.86, p.1205-1209, 1988.

KIEBER, J.J. et al. *CTR1*, a negative regulator of the ethylene response way in *Arabidopsis*, encodes a member of the Raf family of protein kinases. **Cell**, v.72, p.427-441, 1993.

KLEE, H.J. Control of ethylene-mediated processes in tomato at the level of receptors. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.53, n.377, 2002.

KLUCH, H.D.W. **Efeito de condições de atmosfera controlada sobre a incidência de lanosidade em pêssegos cv. Chiripá**. 2003. 83p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria.

KOCH, J.L.; NEVINS, D.J. Tomato fruit cell wall. 1. Use of purified tomato polygalacturonase and pectinmethylesterase to identify developmental changes in pectins. **Plant Physiology**, Rockville, v.91, p.816-822, 1989.

LARSEN, M.; WATKINS, C.B. Firmness and concentration of acetaldehyde, ethyl acetate and ethanol in strawberries stored in controlled and modified atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.5, p.39-50, 1995.

LASHBROOK, C.C.; TIEMAN, D.M.; KLEE, H.J. Differential regulation of the tomato *ETR* gene family throughout plant development. **Plant Journal**, v.15, p.243-245, 1998.

- LELIÈVRE, J.-M. et al. Ethylene and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.101, p.727-739, 1997.
- LESTER, D.R. et al. Peach (*Prunus persica*) endopolygalacturonase cDNA isolation and mRNA analysis in melting and nonmelting peach cultivars. **Plant Physiology**, Rockville, v.105, p.225-231, 1994.
- LIGUORI, G. et al. Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of melting flesh peaches and nectarines. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.31, p.263-268, 2004.
- LILL, R.E.; VAN DER MESPEL, G.J. A method for measuring the juice content of mealy nectarines. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.36, p.267-271, 1988.
- LIU, S. et al. Effects of CO<sub>2</sub> 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.
- LORENZO, O. et al. ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. **The Plant Cell**, Rockville, v.15, p.165-178, 2003.
- LORIMER, G.H.; MIZIORKO, H.M. Carbamate formation on the ε-amino group of a lysyl residue as the basis for the activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase by CO<sub>2</sub> and Mg<sup>2+</sup>. **Biochemistry**, v.19, p.5321-5328, 1980.
- LU, C.G. et al. Developmental abnormalities and reduced fruit softening in tomato plants expressing an antisense *Rab11* GTPase gene. **The Plant Cell**, Rockville, v.13, p.1819-1833, 2001.
- LUCHSINGER, L. Avanços na conservação de frutas de caroço. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FRUTAS DE CAROÇO – PÊSSEGOS, NECTARINAS E AMEIXAS, 1., 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2000. p.95-104.
- LUCHSINGER, L.; WALSH, C. Problemática de la exportación de duraznos, nectarines y ciruelas. II Parte: Desórdenes fisiológicos. **Aconex**, v.56, p.27-32, 1997.
- LUI, Y.; HOFFMAN, N.E.; YANG, S.F. Promotion by ethylene of the capacity to convert 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene in preclimacteric tomato and cantaloupe fruit. **Plant Physiology**, Rockville, v.77, p.407-411, 1985.
- LURIE, S. Controlled atmosphere storage to prevent physiological disorders in nectarines. **Journal of International Food Science and Technology**, v.27, p.507-514, 1992.
- LURIE, S.; CRISOSTO, C.H. Chilling injury in peach and nectarine. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.37, p.195-208, 2005.



LUZA, J.G. Chilling injury in peaches: a cytochemical and ultrastructural cell wall study. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.117, n.1, p.114-118, 1992.

MACLACHLAN, G.; BRADY, C. Endo-1,4- $\beta$ -glucanase, xyloglucanase and xyloglucan endo-transglycosylase activities versus potential substrates in ripening tomatoes. **Plant Physiology**, Rockville, v.105, p.965-974, 1994.

MARANO, M.R. et al. The path of chromoplast development in fruits and flowers. **Plant Science**, Amsterdam, v.94, n.1, p.1-17, 1993.

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

MATHOOKO, F.M. Regulation of genes encoding ethylene biosynthetic enzymes in peach (*Prunus persica* L.) fruit by carbon dioxide and 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.21, p.265-281, 2001.

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

McGLASSON, W.B.; RATH, A.C.; LEGENDRE, L. Preharvest application of aminoethoxyvinylglycine (AVG) modifies harvest maturity and cool storage life of 'Arctic Snow' nectarines. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.36, n.1, p.93-102, 2005.

McGUIRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.12, 1254-1255, 1992.

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

MENNITI, A.M.; DONATI, I.; GREGORI, R. Responses of 1-MCP application in plums stored under air and controlled atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.39, p.243-246, 2006.

MERTENS, E. et al. Effect of ethylene treatment on the concentration of fructose-2,6-bisphosphate and on the activity of phosphofructokinase 2:fructose-2,6-bisphosphatase in banana. **European Journal of Biochemistry**, v.167, p.579-583, 1987.

MILLAR, A.H.; DAY, D.A. Alternative solutions to radical problems. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v.2, .289-290, 1997.

MIR, N.A. et al. Harvest maturity, storage temperature, and 1-MCP application frequency alter firmness retention and chlorophyll fluorescence of 'Redchief Delicious' apples. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.126, p.618-624, 2001.

MITCHELL, F.G. Influence of cooling and temperature maintenance on the quality of California grown stone fruit. **International Journal of Refrigeration**, v.10, p.77-81, 1987.

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

MOING, A. et al. Role of phosphoenolpyruvate carboxylase in organic acid accumulation. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.108, p.1-10, 2000.

MOON, H.; CALLAHAN, A.N. Developmental regulation of peach ACC oxidase promoter-GUS fusions in transgenic tomato fruits. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.55, n.402, p.1519-1528, 2004.

NAKAJIMA, N. et al. Molecular cloning and sequence of a complementary DNA encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase induced by wounding. **Plant Cell Physiology**, v.31, p.1021-1029, 1990.

NAKANO, R. et al. Ethylene biosynthesis in detached young persimmon fruit is initiated in calyx and modulated by water loss from fruit. **Plant Physiology**, Rockville, v.131, n.1, p.276-286, 2003.

NAKATSUKA, A. et al. Differential expression and internal feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, during development and ripening. **Plant Physiology**, Rockville, v.118, p.1295-1305, 1998.

NAVA, G.A.; BRACKMANN, A. Armazenamento de pêssegos (*Prunus persica* (L.) Batsch), cv. Chiripá, em atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.328-332, 2002.

NAVA, G.A.; BRACKMANN, A. Efeito da remoção de etileno e sistemas de armazenamento sobre a qualidade de pêssegos (*Prunus persica* (L.) Batsch), cv. Chiripá. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7, n.2, p.153-158, 2001.

NICHOLASS, F.J. et al. High-levels of ripening-specific reporter gene-expression directed by tomato fruit polygalacturonase gene-flanking regions. **Plant Molecular Biology**, Amsterdam, v.28, p.423-435, 1995.

O'DONOGHUE, E.M. et al. Influence of avocado (*Persea americana*) Cx-cellulase on the structural features of avocado cellulose. **Planta**, Berlin, v.194, p.573-584, 1994.

OBENLAND, D.M.; CRISOSTO, C.H.; ROSE, J.K.C. Expansin protein levels decline with the development of mealiness in peaches. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.29, n.1, p.11-18, 2003.

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

PALOU, L. Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.24, n.1, p.39-48, 2002.

- PALOU, L. et al. Effect of continuous exposure to exogenous ethylene during cold storage on postharvest decay development and quality attributes of stone fruits and table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.27, n.3, p.243-254, 2003.
- PAYTON, S. et al. Ethylene receptor expression is regulated during fruit ripening, flower senescence and abscission. **Plant Molecular Biology**, Amsterdam, v.31, p.1227-1231, 1996.
- PERCY, A.E. et al. Xyloglucan endotransglycosylase activity during fruit development and ripening of apple and kiwifruit. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.96, p.43-50, 1996.
- PERRIN, R.; WILKERSON, C.; KEEGSTRA, K. Golgi enzymes that synthesize plant cell wall polysaccharides: finding and evaluating candidates in the genomic era. **Plant Molecular Biology**, Amsterdam, v.47, p.115-130, 2001.
- PICTON, S. et al. Altered fruit ripening and leaf senescence in tomatoes expressing an antisense ethylene-forming enzyme transgene. **Plant Journal**, v.3, p.469-481, 1993.
- PORAT, R. et al. Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of 'Shamouti' oranges. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.15, p.155-163, 1999.
- PRESCOTT, A.G. A dilemma of dioxygenases (or where biochemistry and molecular biology fail to meet). **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.44, p.849-861, 1993.
- PRESCOTT, A.G.; JOHN, P. Dioxygenases: molecular structure and role in plant metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.47, p.254-271, 1996.
- PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Differences in polygalacturonase composition of clingstone and freestone peaches. **Journal Food Science**, v.43, p.1415-1423, 1978.
- PURVIS, A.C. Effects of short-term CA storage on cell wall polysaccharides during subsequent ripening of peaches. In: INTERNATIONAL CONTROLLED ATMOSPHERE RESEARCH CONFERENCE, 6., 1993, New York. **Proceedings...**, v.1, p.418-424.
- RAMASSAMY, S. et al. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase of apple fruit is periplasmic. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.49, n.329, p.1909-1915, 1998.
- RASORI, A. et al. Characterization of two putative ethylene receptor genes expressed during peach fruit development and abscission. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.53, n.379, p.2333-2339, 2002.
- RAVANEL, S. et al. The specific features of methionine biosynthesis and metabolism in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.95, n.13, p.7805-7812, 1998.
- REDGWELL, R.J. et al. *In vivo* and *in vitro* swelling of cell walls during fruit ripening. **Planta**, Berlin, v.203, p.162-173, 1997.

- REINHARDT, D.; KENDE, H.; BOLLER T. Subcellular localization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase in tomato cells. **Planta**, Berlin, v.195, p.142-146, 1994.
- RETAMALES, J. et al. Preventing cold storage disorders in nectarines. **Journal of Horticultural Science**, v.67, p.619-626, 1992.
- ROCKLIN, A.M. et al. Role of the nonheme Fe(II) center in the biosynthesis of the plant hormone ethylene. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.96, p.7905-7909, 1999.
- RODRIGUEZ, F.I. et al. A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. **Science**, Washington, v.283, p.996-998, 1999.
- ROMBALDI, C.V. et al. Armazenamento de pêssegos (*Prunus persica* L.), cultivar Chiripá, em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.1, p.43-47, 2002.
- ROMBALDI, C.V. et al. Immunocytolocalization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase in tomato and apple fruit. **Planta**, Berlin, v.192, p.453-460, 1994.
- ROSE, J.K.C.; LEE, H.H.; BENNETT, A.B. Expression of a divergent expansin gene is fruit-specific and ripening-regulated. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.94, p.5955-5960, 1997.
- RUPERTI, B. et al. Characterization and expression of two members of the peach 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene family. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.111, p.336-344, 2001.
- RUSHING, J.W.; DINAMARCA, A. Simulated shipment of peaches, plums, and nectarines under controlled atmospheres. In: INTERNATIONAL CONTROLLED ATMOSPHERE RESEARCH CONFERENCE, 6., 1993, New York. **Proceedings...**, v.1, p.202-222.
- SATO, S.; ESASHI, Y. Inactivation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase of etiolated mung bean hypocotyl segments by its substrate, S-adenosyl-L-methionine. **Plant Cell Physiology**, v.27, p.285-291, 1986.
- SCHWARZ, A. Relative humidity in cool stores: measurement, control and influence of discreet factors. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.2, n.368, p.687-692, 1994.
- SILVA, J.A. et al. Characterization of ripening behavior in transgenic melons expressing an antisense 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase gene from apple. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.32, p.263-268, 2004.
- SIRIPHANICH, J.; KADER, A.A. Changes in cytoplasmic and vacuolar pH in harvested lettuce tissue influenced by CO<sub>2</sub>. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.111, p.73-77, 1986.
- SISLER, E.C.; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.100, p.577-582, 1997.

SITRIT, Y.; BENNETT, A.B. 1998. Regulation of tomato fruit polygalacturonase mRNA accumulation by ethylene: a reexamination. **Plant Physiology**, Rockville, v.116, p.1145-1150, 1998.

SMITH, D.L.; GROSS, K.C. A family of at least seven  $\beta$ -galactosidase genes is expressed during tomato fruit development. **Plant Physiology**, Rockville, v.123, p.1173-1183, 2000.

SOLANO, R. et al. Nuclear events in the ethylene signalling: a transcriptional cascade mediated by *ETHYLENE-INSENSITIVE3* and *ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1*. **Genes and Development**, v.12, p.3703-3714, 1998.

SOLOMOS, T. Cyanide-resistant respiration in higher plants. **Annual Review Plant Physiology**, Palo Alto, v.28, p.279-297, 1977.

SPANU, P. et al. Inactivation of stress induced 1-aminocyclopropane carboxylate synthase in vivo differs from substrate-dependent inactivation in vitro. **Plant Physiology**, Rockville, v.93, p.1482-1485, 1990.

STEFFENS, C.A. et al. Escurecimento da polpa e respiração de pêsegos em função das condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Agrocência**, Pelotas, v.12, n.1, p.71-75, 2006.

STEPANOVA, A.N.; ECKER, J.R. Ethylene signaling: from mutants to molecules. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.3, p.353-360, 2000.

STREIF, J.; BANGERTH, F. The effect of differential partial pressures of oxygen and ethylene on the ripening of tomato fruits. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.5, p.227-237, 1976.

TARUN, A.S.; THEOLOGIS, A. Complementation analysis of mutants of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase reveals the enzyme is a dimer with shared active sites. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v.273, p.12509-12514, 1998.

THOMPSON, J.E.; FRY, S.C. Evidence for covalent linkage between xyloglucan and acidic pectins in suspension-cultured rose cells. **Planta**, Berlin, v.211, p.275-286, 2000.

TIEMAN, D.M. et al. The tomato ethylene receptors NR and LeETR4 are negative regulators of ethylene response and exhibit functional compensation within a multigene family. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.97, p.5663-5668, 2000.

TORRIGIANI, P. et al. Pre-harvest polyamine and aminoethoxyvinylglycine (AVG) applications modulate fruit ripening in Stark Red Gold nectarines (*Prunus persica* L. Batsch). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.33, n.3, p.293-308, 2004.

TOURNIER, B. et al. New members of the tomato ERF family show specific expression pattern and diverse DNA-binding capacity to the GCC box element. **FEBS Letters**, v.550, p.149-154, 2003.

TRAINOTTI, L.; ZANIN, D.; CASADORO, G. A cell wall-oriented genomic approach reveals a new and unexpected complexity of the softening in peaches. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.54, n.389, p.1821-1832, 2003.

TUCKER, G.A. Introduction. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993, Cap.1, p.3-43.

VALERO, D. Polyamines, ethylene, and physicochemical changes in low-temperature-stored peach (*Prunus persica* L. Cv. Maycrest). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.45, p.3406-3410, 1997.

VERVERIDIS, P.; JOHN, P. Complete recovery of *in vitro* ethylene-forming enzyme activity. **Phytochemistry**, Oxford, v.30, p.725-727, 1991.

VINCKEN, J.-P. et al. If homogalacturonan were side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. **Plant Physiology**, Rockville, v.132, p.1781-1789, 2003.

VON MOLLENDORFF, L.J. et al. Molecular characteristics of pectic constituents in relation to firmness, extractable juice, and woolliness in nectarines. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.118, p.77-80, 1993.

VON MOLLENDORFF, L.J.; DE VILLIERS, O.T.; JACOBS, G. Effect of time of examination and ripening temperature on the degree of woolliness in nectarines. **Journal of Horticultural Science**, v.64, n.4, p.443-447, 1989.

VON MOLLENDORFF, L.J.; JACOBS, G.; DE VILLIERS, O.T. The effects of storage temperatures and fruit size on firmness, extractable juice, woolliness and browning in two nectarine cultivars. **Journal of Horticultural Science**, v.67, p.647-654, 1992.

WANG, K.L.-C.; LI, H.; ECKER, J.R. Ethylene biosynthesis and signaling networks. **The Plant Cell**, Rockville, v. suplem., p.131-151, 2002.

WANG, K.L.-C. et al. Regulation of ethylene gas biosynthesis by the Arabidopsis ETO1 protein. **Nature**, London, v.428, p.945-950, 2004.

WATKINS, C.B. Responses of horticultural commodities to high carbon dioxide as related to modified atmosphere packaging. **HortTechnology**, v.10, p.501-506, 2000.

WATKINS, C.B. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. **Biotechnology Advances**, v.24, p.389-409, 2006.

WHITE, M.F. et al. Expression of apple 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in *Escherichia coli*: kinetic characterization of wild-type and active-site mutant forms. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, Washington, v.91, p.12428-12432, 1994.

WILLATS, W.G.T. et al. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. **Plant Molecular Biology**, v.47, p.9-27, 2001.

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

YU, Y.-B.; ADAMS, D.O.; YANG, S.F. 1-Aminocyclopropene-1-carboxylate synthase, a key enzyme in ethylene biosynthesis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.198, p.280-286, 1979.

ZANUZO, M.R. **Etileno na transcrição de poligalacturonases em melões transformados geneticamente com o clone pAP4 antisense**. 2004. 53p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindústria, Universidade Federal de Pelotas.

ZHAN, D.; JANSSEN, P.; MORT, A.J. Scarcity or complete lack of single rhamnose residues interspersed within the homogalacturonan regions of citrus pectin. **Carbohydrate Research**, v.308, p.373-380, 1998.

ZHOU, D.B. et al. The mRNA for an ETR1 homologue in tomato is constitutively expressed in vegetative and reproductive tissues. **Plant Molecular Biology**, Amsterdam, v.30, p.1331-1338, 1996.

ZHOU, H.-W. et al. Delayed storage and controlled atmosphere storage of nectarines: two strategies to prevent woolliness. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.18, p.133-141, 2000b.

ZHOU, H.-W. et al. The role of ethylene in the prevention of chilling injury in nectarines. **Journal of Plant Physiology**, v.158, p.55-61, 2001.

ZHOU, H.-W.; BEN-ARIE, R.; LURIE, S. Pectin esterase, polygalacturonase and gel formation in peach pectin fractions. **Phytochemistry**, Oxford, v.55, p.191-195, 2000a.

## **APÊNDICES**



APÊNDICE 1: Quadro da análise da variância referente às análises do conteúdo de suco livre, firmeza da polpa, acidez titulável, cor de fundo da epiderme, incidência de podridões e de lanosidade em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 25, 30 e 35 dias a  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2005.

Fonte de variação	G.L. <sup>a/</sup>	Quadrados médios					
		Suco livre (%)			Firmeza da polpa (N)		
		25	30	35	25	30	35
Tratamentos	2	61,389	244,472	945,636	69,629	5,507	97,499
Dias a 20°C	3	2034,976	1393,667	1512,774	6581,851	8388,905	4424,763
Trat. x dias 20°C	6	77,789*	107,112*	59,303*	22,263*	17,430*	166,659*
Média	-	26,46	25,37	21,77	22,03	25,70	17,44
CV (%)	-	11,81	14,45	17,41	12,60	9,94	21,28
Fonte de variação	G.L.	Acidez titulável (meq 100mL <sup>-1</sup> )			Cor de fundo da epiderme (°h)		
		25	30	35	25	30	35
		Tratamentos	2	0,7317	0,1045	0,1213	199,385*
Dias a 20°C	3	6,8010	7,4521	1,1810	927,581*	863,426*	786,029*
Trat. x dias 20°C	6	0,3148*	0,2490*	0,3547*	33,885 <sup>ns</sup>	10,875 <sup>ns</sup>	3,416 <sup>ns</sup>
Média	-	4,11	3,54	3,31	97,35	97,14	95,32
CV (%)	-	6,45	8,06	8,20	5,76	3,16	2,79
Fonte de variação	G.L.	Incidência de podridões (%)			Incidência de lanosidade (%)		
		25	30	35	25	30	35
		Tratamentos	2	0,0162 <sup>ns</sup>	0,0052 <sup>ns</sup>	0,0471 <sup>ns</sup>	0,2411
Dias a 20°C	3	0,6508*	1,4565*	0,8656*	2,5119	2,6957	2,2836
Trat. x dias 20°C	6	0,0114 <sup>ns</sup>	0,0119 <sup>ns</sup>	0,0138 <sup>ns</sup>	0,1017*	0,2470*	0,3684*
Média	-	0,24	0,32	0,31	0,861	1,050	0,958
CV (%)	-	28,84	37,61	41,26	21,15	14,68	21,29

<sup>a/</sup> G.L.: graus de liberdade; não significativo (<sup>ns</sup>) ou significativo (\*) pelo teste de F em nível de 5% de probabilidade de erro.

APÊNDICE 2: Quadro da análise da variância referente à atividade da ACC oxidase ( $\text{nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), incidência de lanosidade (%), firmeza da polpa (N), conteúdo de suco livre (%), acidez titulável ( $\text{meq } 100\text{mL}^{-1}$ ), sólidos solúveis totais ( $^\circ\text{Brix}$ ), cor de fundo da epiderme ( $^\circ \text{h}$ ), incidência de podridões (%) e de avermelhamento da polpa (%) em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 40 dias a  $-0,5^\circ\text{C}$  e mais seis dias a  $20^\circ\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2006.

Fonte de variação	G.L. <sup>a/</sup>	Quadrados médios		
		Atividade da ACC oxidase	Incidência lanosidade	Firmeza da polpa <sup>b/</sup>
Tratamentos	2	2552,0152	0,3528	50,7499
Dias a $20^\circ\text{C}$	2	1434,1464	0,4399	7863,8909
Trat. x dias $20^\circ\text{C}$	4	691,5596*	0,2597*	31,9147*
Média	-	35,87	0,68	29,18
CV (%)	-	19,62	27,88	6,83

Fonte de variação	G.L.	Suco livre	Acidez titulável	Sólidos solúveis totais
Tratamentos	2	145,2844	0,1063	0,0775
Dias a $20^\circ\text{C}$	3	1189,6522	0,1844	0,6006
Trat. x dias $20^\circ\text{C}$	6	264,4395*	0,1872*	0,7325*
Média	-	30,20	4,11	13,13
CV (%)	-	13,24	4,48	2,46

Fonte de variação	G.L.	Cor de fundo da epiderme	Incidência de podridões <sup>c/</sup>	Incidência de avermelhamento <sup>c/</sup>
Tratamentos	2	274,7721	0,0197 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>
Dias a $20^\circ\text{C}$	3	711,5263	-	-
Trat. x dias $20^\circ\text{C}$	6	35,5636*	-	-
Média	-	96,53	0,33	0,00
CV (%)	-	2,48	38,39	0,00

<sup>a/</sup> G.L.: graus de liberdade; <sup>b/</sup> para firmeza da polpa: GL de Dias a  $20^\circ\text{C}$  = 3; <sup>c/</sup> Incidência de podridões e de avermelhamento da polpa avaliado apenas após seis dias a  $20^\circ\text{C}$ ; não significativo (<sup>ns</sup>) ou significativo (\*) pelo teste de F em nível de 5% de probabilidade de erro.

APÊNDICE 3: Quadro da análise da variância referente à firmeza da polpa (N), conteúdo de suco livre (%), incidência de lanosidade (%), acidez titulável (meq 100mL<sup>-1</sup>), cor de fundo da epiderme (° h), sólidos solúveis totais (°Brix) e incidência de podridões (%) em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 35 dias a -0,5°C e mais seis dias a 20°C. Santa Maria, RS. 2005.

Fonte de variação	G.L. <sup>a/</sup>	Quadrados médios		
		Firmeza da polpa	Suco livre	Incidência lanosidade
Tratamentos	3	1,278	239,422	1,035
Dias a 20°C	3	5620,431	1778,153	3,270
Trat. x dias 20°C	9	92,2297*	51,383*	0,232*
Média	-	15,87	20,12	1,02
CV (%)	-	26,95	22,39	21,62
Fonte de variação	G.L.	Acidez titulável	Cor de fundo da epiderme	SST
Tratamentos	3	0,3427	50,827*	0,5144 <sup>ns</sup>
Dias a 20°C	3	4,9801	1177,136*	4,0481*
Trat. x dias 20°C	9	0,7124*	16,926 <sup>ns</sup>	0,4761 <sup>ns</sup>
Média	-	3,25	93,97	13,34
CV (%)	-	8,57	3,42	3,55
Fonte de variação	G.L.	Incidência de podridões		
Tratamentos	3	0,0244 <sup>ns</sup>		
Dias a 20°C	-	-		
Trat. x dias 20°C	-	-		
Média	-	0,66		
CV (%)	-	24,47		

<sup>a/</sup> G.L.: graus de liberdade; não significativo (<sup>ns</sup>) ou significativo (\*) pelo teste de F em nível de 5% de probabilidade de erro.

APÊNDICE 4: Quadro da análise da variância referente à atividade da ACC oxidase ( $\text{nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), incidência de lanosidade (%), firmeza da polpa (N), conteúdo de suco livre (%), acidez titulável ( $\text{meq } 100\text{mL}^{-1}$ ), sólidos solúveis totais ( $^\circ\text{Brix}$ ), cor de fundo da epiderme ( $^\circ \text{h}$ ), incidência de podridões (%) e de avermelhamento da polpa (%) em pêssegos ‘Chiripá’ armazenados durante 40 dias a  $-0,5^\circ\text{C}$  e mais seis dias a  $20^\circ\text{C}$ . Santa Maria, RS. 2006.

Fonte de variação	G.L. <sup>a/</sup>	Quadrados médios		
		Atividade da ACC oxidase	Incidência lanosidade	Firmeza da polpa <sup>b/</sup>
Tratamentos	3	1779,794	0,5533	64,980
Dias a $20^\circ\text{C}$	2	5539,207	0,0706	11270,426
Trat. x dias $20^\circ\text{C}$	6	335,654*	0,2244*	104,334*
Média	-	44,29	0,78	34,00
CV (%)	-	21,49	21,41	9,86

Fonte de variação	G.L.	Suco livre	Acidez titulável	SST
Tratamentos	3	125,638	1,5398	1,275 <sup>ns</sup>
Dias a $20^\circ\text{C}$	3	1061,463	0,6124	1,679 <sup>ns</sup>
Trat. x dias $20^\circ\text{C}$	9	286,883*	0,6952*	0,568 <sup>ns</sup>
Média	-	29,71	4,39	13,03
CV (%)	-	12,55	4,34	3,62

Fonte de variação	G.L.	Cor de fundo da epiderme	Incidência de podridões <sup>c/</sup>	Incidência de avermelhamento <sup>c/</sup>
Tratamentos	3	549,403	0,0316 <sup>ns</sup>	0,6831*
Dias a $20^\circ\text{C}$	3	1044,219	-	-
Trat. x dias $20^\circ\text{C}$	9	66,211*	-	-
Média	-	96,14	0,22	0,36
CV (%)	-	2,74	82,22	18,99

<sup>a/</sup> G.L.: graus de liberdade; <sup>b/</sup> para firmeza da polpa: GL de Dias a  $20^\circ\text{C}$  = 3; <sup>c/</sup> Incidência de podridões e de avermelhamento da polpa avaliado apenas após seis dias a  $20^\circ\text{C}$ ; não significativo (<sup>ns</sup>) ou significativo (\*) pelo teste de F em nível de 5% de probabilidade de erro.