

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

Luana Ferreira dos Santos

**ARMAZENAMENTO DE MAÇÃ 'GRANNY SMITH' EM ATMOSFERA
CONTROLADA DINÂMICA MONITORADA PELO QUOCIENTE
RESPIRATÓRIO**

Santa Maria, RS
2016

Luana Ferreira dos Santos

**ARMAZENAMENTO DE MAÇÃ ‘GRANNY SMITH’ EM ATMOSFERA
CONTROLADA DINÂMICA MONITORADA PELO QUOCIENTE RESPIRATÓRIO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agronomia**

Orientador: Prof^o Dr^o. Auri Brackmann

Santa Maria, RS
2016

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FERREIRA DOS SANTOS, LUANA
ARMAZENAMENTO DE MAÇÃ 'GRANNY SMITH' EM ATMOSFERA
CONTROLADA DINÂMICA MONITORADA PELO QUOCIENTE
RESPIRATÓRIO / LUANA FERREIRA DOS SANTOS.-2016.
93 f.; 30cm

Orientador: AURI BRACKMANN
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, RS, 2016

1. Armazenamento 2. Quociente respiratório 3.
Escaldadura superficial 4. Etileno 5. Qualidade I.
BRACKMANN, AURI II. Título.

©2016

Todos os direitos autorais reservados a Luana Ferreira dos Santos. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

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

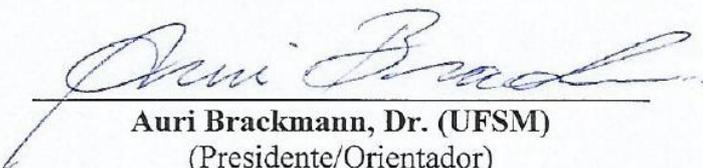
Fone (0xx) 55 8176-5598; Endereço eletrônico: sferreira.luana@gmail.com

Luana Ferreira dos Santos

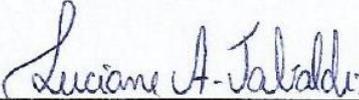
**ARMAZENAMENTO DE MAÇÃ 'GRANNY SMITH' EM ATMOSFERA
CONTROLADA DINÂMICA MONITORADA PELO QUOCIENTE
RESPIRATÓRIO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agronomia**.

Aprovado em 19 de fevereiro de 2016:


Auri Brackmann, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)


Ivan Sestari, Dr. (UFSC)


Luciane Almeri Tabaldi, Dra. (UFSM)

*“Chegamos exatamente onde precisamos chegar, porque a Mão
de Deus sempre guia aquele que segue seu caminho com fé.”*
Autor Desconhecido

DEDICATÓRIA

*“Aos meus pais Maria da Penha e Rodrigo,
por todos os ensinamentos, direcionamentos e força”*

AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu a dádiva da vida e ilumina meu caminho.

Aos meus pais, Penha e Rodrigo por todo amor e compreensão. Que mesmo na distância física, se fizeram incansavelmente presentes todos os dias durante esta caminhada que escolhi seguir. Esses são bases sólidas às quais serão sempre minha fonte de determinação e agradecimento eterno.

À toda minha família, que acredita e apoia os meus ideais.

Às minhas queridas amigas, Mayara, Ana Paula Schünemann, Wennia, Suany, Amanda, Francilene, Myriam e Lillian pelo apoio, carinho e amparo de sempre em todos os momentos desta caminhada, bem como ao meu carismático amigo Leonardo Caires.

Ao Bruno César pelo apoio, carinho, incentivo e partilha de ideias.

Ao professor Dr. Auri Brackmann pela orientação e grande oportunidade de crescimento profissional.

Aos colegas de Pós-graduação Fabio, Rogerio, Elizandra e Erani pela contribuição científica para a realização deste trabalho e pelo grande companheirismo. E a todos os colegas da iniciação científica do Núcleo de Pesquisa em Pós-colheita, pela grandiosa ajuda na condução e realização desta pesquisa.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia pela oportunidade de realizar o mestrado.

RESUMO

ARMAZENAMENTO DE MAÇÃ ‘GRANNY SMITH’ EM ATMOSFERA CONTROLADA DINÂMICA MONITORADA PELO QUOCIENTE RESPIRATÓRIO

AUTORA: Luana Ferreira dos Santos

ORIENTADOR: Auri Brackmann

A forma mais utilizada para o armazenamento de maçãs é a atmosfera controlada (AC), em que é reduzido o nível de O₂, mas este fica muito acima do limite mínimo tolerado pelo fruto. O uso de tecnologias que permitem o monitoramento dos níveis de oxigênio no mínimo tolerado pelos frutos pode auxiliar a manutenção da qualidade e reduzir a incidência de distúrbios fisiológicos e podridões. A atmosfera controlada dinâmica (ACD) é uma destas tecnologias de controle e variação do O₂ ao longo de todo o período de armazenamento de acordo com o metabolismo dos frutos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do armazenamento em atmosfera controlada dinâmica monitorada pelos métodos do quociente respiratório (QR) e da fluorescência de clorofila (FC), bem como a sua interação com a aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP) sobre a manutenção da qualidade e redução de distúrbios fisiológicos, especialmente a escaldadura superficial na maçã ‘Granny Smith’. As condições de armazenamento avaliadas foram: a) AC convencional com 1,0 kPa O₂ mais 1,5 kPa CO₂; b) ACD com quociente respiratório (QR) 1,3; c) ACD-QR 1,5; d) ACD-QR 1,7; e) ACD monitorada pela fluorescência de clorofila (ACD-FC) (HarvestWatch™ DCA). A pressão parcial de CO₂ foi mantida em 1,2 kPa em todos os tratamentos e a temperatura em 1,5 °C. Após nove meses de armazenamento, no momento da saída dos frutos da câmara, foram realizadas avaliações quanto à incidência e severidade de escaldadura superficial, incidência de podridões e frutos sadios. As demais avaliações foram realizadas após um período de sete dias em que os frutos permaneceram expostos à temperatura de 20 °C com o objetivo de simular o período de prateleira. Frutos armazenados sob ACD apresentaram menor produção de etileno e respiração que frutos armazenados em AC convencional, como resultado da menor atividade da enzima ACC oxidase nas maçãs armazenadas em ACD-QR 1,5 e 1,7. O armazenamento de maçãs em ACD-QR 1,5 ou 1,7 favoreceu uma menor incidência de escaldadura superficial. Nestas condições a aplicação de 1-MCP não teve nenhum benefício na redução desse distúrbio, sugerindo que sua aplicação pode ser dispensada, porém é necessária quando os frutos são armazenados em AC convencional e ACD-FC. Nos frutos armazenados em ACD com QR 1,7 ocorreu maior produção de voláteis associados ao metabolismo fermentativo, contudo, não houve prejuízo à qualidade dos frutos. Maçãs armazenadas em ACD-QR 1,7 mantiveram coloração mais verde que frutos armazenados em AC convencional devido à maior concentração de clorofilas totais. A firmeza dos frutos armazenados em ACD-QR foi maior que frutos em AC, independentemente da aplicação de 1-MCP. Sob ACD-FC a aplicação de 1-MCP demonstrou não ser benéfica para a manutenção da qualidade das maçãs ‘Granny Smith’, uma vez que forneceu a maior ocorrência de podridões. O uso de ACD proporcionou um maior número de frutos sadios quando comparado a AC convencional.

Palavras-chave: Quociente respiratório. Escaldadura superficial. Etileno.

ABSTRACT

'GRANNY SMITH' APPLE STORAGE IN DYNAMIC CONTROLLED ATMOSPHERE MONITORED BY RESPIRATORY QUOTIENT

AUTHOR: Luana Ferreira dos Santos
ADVISOR: Auri Brackmann

The most widely way used to store apples is the controlled atmosphere (CA), where the oxygen is reduced, but this is far above the lower oxygen limit (LOL) tolerated by the fruit. The use of technologies that allow the monitoring of oxygen levels at least tolerated by the fruit can help maintain quality and reduce the incidence and of physiological disorders and postharvest diseases. The dynamic controlled atmosphere (DCA) is one of these technologies, which change the O₂ throughout the storage period according to the fruit metabolism. The objective of this study was to evaluate effect of DCA storage monitored by the respiratory quotient (RQ) and chlorophyll fluorescence (CF), as well as their interaction with the application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the physicochemical quality and physiological disorders, especially superficial scald of 'Granny Smith' apple. The following storage conditions were evaluated: a) Conventional CA with 1.5 kPa O₂ plus 1.0 kPa CO₂; b) DCA-RQ 1.3; c) DCA - RQ 1.5; d) DCA - RQ 1.7; e) DCA-CF (HarvestWatch™ DCA). The CO₂ partial pressure was maintained at 1.2 kPa and the temperature at 1.5 °C in all treatments. After 9 months of storage, at the fruits removal from the storage chamber, evaluations were performed for superficial scald incidence and severity, decay and healthy fruits incidence. The other evaluations were performed after a 7 days period of shelf life at 20 °C in. Fruits stored under DCA had lower ethylene production and respiration as compared to fruits stored in conventional CA, because of the lower 1-acid-aminocyclopropane-1-carboxylic enzyme activity by apples stored in DCA-RQ 1.5 and 1.7. The storage of apples in DCA-RQ 1.5 or 1.7 resulted in low superficial scald incidence. Under these conditions the application of 1-MCP had no benefit in reducing this disorder, suggesting that their application may be needless, but it is efficient when the fruits are stored in conventional CA and DCA-CF. In fruits DCA-RQ 1.7 storage occurred most volatile production associated with fermentative metabolism, but without decline of the fruit quality. Apples stored in DCA-RQ 1.7 kept greener color as compared to fruit stored in conventional CA due to the higher concentration of total chlorophyll. The firmness of the fruit stored in DCA-RQ fruit was higher as compared to the ones stored in CA, regardless of the application of 1-MCP. Under DCA-CF, application of 1-MCP has been shown not to be beneficial for maintaining the quality of the 'Granny Smith', as it provided the highest occurrence of decay. The storage in DCA provided higher number of healthy fruits as compared to the ones stored in CA.

Keywords: Respiratory quotient. Superficial scald. Ethylene.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições de atmosferas utilizadas para o armazenamento de maçãs ‘Granny Smith’, Santa Maria, 2014.	39
Tabela 2 - Atividade da enzima ACC oxidase e concentração interna de etileno de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	48
Tabela 3 - Produção de compostos da fermentação de maçãs 'Granny Smith' após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 ° C.	54
Tabela 4 - Incidência e severidade de escaldadura superficial em maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP mais sete dias de exposição a 20 °C.	57
Tabela 5 - Clorofilas totais e carotenoides em maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP.	60
Tabela 6 - Evolução do ângulo °Hue em maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP.	61
Tabela 7 - Ocorrência de “bitter pit” em maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	63
Tabela 8 - Firmeza de polpa de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	64
Tabela 9 - Suculência de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	65
Tabela 10 - Taxa de difusão de gases de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	67
Tabela 11 - Acidez titulável e sólidos solúveis de maçãs 'Granny Smith' após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	69
Tabela 12 - Degenerescência de polpa de maçãs 'Granny Smith' após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	71

Tabela 13 - Incidência de podridão na abertura das câmaras e após nove meses de armazenamento em maçãs 'Granny Smith' armazenadas em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	72
Tabela 14 - Porcentagem de frutos sadios de maçãs 'Granny Smith' após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema da síntese e oxidação do α -farneseno em maçãs.	25
Figura 2 - Níveis de oxigênio, gás carbônico e quociente respiratório durante 9 meses de armazenamento em ACD-QR. ACD-QR 1,3 (a), ACD-QR 1,5 (b), ACD-QR 1,7(c).	42
Figura 3 - Taxa de produção de etileno e taxa respiratória de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.	51
Figura 4 - Correlação de Pearson entre parâmetros físicos, químicos e bioquímicos de maçã ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento mais sete dias de vida de prateleira a 20°C.	75
Figura 5 - Correlação de Pearson entre parâmetros físicos, químicos e bioquímicos de maçã ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento mais sete dias de vida de prateleira a 20°C.	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1-MCP	1-metilciclopropeno
°C	Temperatura em graus Celsius
AAT	Álcool Acetil Transferase
AC	Atmosfera controlada
ACC	Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
ACC oxidase	Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidase
ACC sintase	Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico sintase
ACD	Atmosfera controlada dinâmica
ACD-FC	Atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência de clorofilas
ACD-QR	Atmosfera controlada dinâmica monitorada pelo quociente respiratório
ADH	Álcool desidrogenase
AMV	Ácido mevalônico
ATP	Adenosina trifosfato
C ₂ H ₄	Fórmula molecular do Etileno
C ₄ H ₆	Fórmula molecular do 1-MCP
CIE	Concentração interna de etileno
CO ₂	Dióxido de carbono (gás carbônico)
DMAPP	Dimetilalil difosfato
DPA	Difenilamina
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FDS	Farnesil difosfato sintetase
FID	Flame ionization detector (detector por ionização em chama)
FIRM	Fluorescence Interactive Response Monitor
F _o	Fluorescência inicial mínima após a adaptação ao escuro
FPP	Farnesil difosfato
FS II	Fotossistema II
F _v /F _m	Redução na máxima eficiência fotoquímica quântica do fotossistema II
F _α	Estimativa da fluorescência mínima (F _o)
G	Gramas
GC-FID	Cromatógrafo a gás com detector por ionização em chama
GPP	Geranyl difosfato
HMGR	Hidroximetilglutaril-CoA-redutase
ILOS	Initial Low Oxygen Stress
IPP	Isopentil difosfato
kg	Quilograma
kPa	Kilopascal
LDH	Lactato desidrogenase
LED	Light Emitting Diode
LOL	Limite mínimo de oxigênio (Lowest oxygen limit)
m ³	Metro cúbico
<i>MdACO1</i>	ACC oxidase da maçã
<i>MdACS1</i>	ACC sintase da maçã
meq	Miliequivalente

MHO	6-metil-5-hepteno-2-ona
mL	Mililitro
NAD ⁺	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo oxidado
NTP ₂	Nucleotídeos trifosfatos
PCA	Ponto de compensação anaeróbico
PDC	Piruvato descarboxilase
PDH	Piruvato desidrogenase
PM	Perda de massa
Potencial hidrogeniônico	pH
PQ	Plastoquinona
PSII	Fotossistema II
TCs	Trienóis conjugados
ULO	Ultrabaixo oxigênio (Ultra Low Oxygen)
UR	Umidade relativa
µg	Micrograma
µL L ⁻¹	Microlitro por litro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	15
1.1	HIPÓTESES	17
1.2	OBJETIVOS	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	PERDA DE QUALIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO	18
2.1	Perda da qualidade físico-química	19
2.1.2	Escaldadura superficial	22
2.2	ARMAZENAMENTO DE MAÇÃS	28
2.2.1	Armazenamento refrigerado e atmosfera controlada	28
2.2.2	Armazenamento em atmosfera controlada dinâmica	29
2.2.2.1	<i>Determinação do etanol</i>	29
2.2.2.2	<i>Fluorescência de clorofilas (FC)</i>	30
2.2.2.3	<i>Quociente Respiratório (QR)</i>	33
2.3	APLICAÇÃO DE PRODUTOS PARA CONTROLE DA ESCALDADURA	35
2.3.1	Antioxidantes	35
2.3.2	1-MCP	36
3.	MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1	COLHEITA E SELEÇÃO DOS FRUTOS	38
3.2	INSTALAÇÃO DE AC E MONITORAMENTO DO EXPERIMENTO	39
3.3	INSTALAÇÃO E MONITORAMENTO DA ACD	40
3.4	APLICAÇÃO DE 1-METILCICLOPROPENO	42
3.5	VARIÁVEIS ANALISADAS	43
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.	CONCLUSÕES	77
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil produziu na safra 2014/2015, 1,163 milhão de tonelada de maçã, o que o classifica como 9º maior produtor mundial (KIST et al., 2015; AGAPOMI, 2015). A produção brasileira ocupa 38 mil hectares, sendo que 96% desses pomares estão localizados em Santa Catarina e Rio Grande do Sul (IBGE, 2015). O Rio Grande do Sul na safra 2014/2015, conforme dados da Associação Gaúcha dos Produtores de Maçã (AGAPOMI, 2015), foi responsável por 492,053 t, cultivando uma área total de 14.808 hectares, com uma média de 26 hectares de macieiras por cada produtor.

A cultivar Granny Smith apresenta mercado bastante restrito no Brasil devido ao seu elevado teor de acidez, comparado as outras cultivares, e epiderme verde, quando os consumidores dão preferência a maçãs de epiderme vermelha produzidas no país, como as cultivares Gala e Fuji e suas mutantes. A produção de “Granny Smith” no país é relativamente baixa, não atendendo o consumo nacional, o que é complementado pela importação do Chile e Argentina. No Brasil, a ‘Granny Smith’ é bastante utilizada como polinizadora das cultivares Gala e Fuji, pelo fato da macieira exigir a presença de plantas polinizadoras geneticamente compatíveis para que seja assegurada boa fertilização das flores e frutificação (KVITSCHAL et al., 2013). Por outro lado, na Europa e EUA a cultivar Granny Smith tem grande participação na produção local de maçãs, com produção de aproximadamente 356,000 e 24,000 toneladas, respectivamente, no ano de 2014 (WAPA, 2014; USAPPLE, 2014).

Como existe uma grande produção de maçã no país, abrangendo diversas cultivares, o armazenamento de maçãs sob refrigeração (AR) e em atmosfera controlada (AC) é de extrema importância para garantir o abastecimento ao longo de todo o ano, uma vez que a colheita é concentrada em um curto período (IBGE, 2015; MAPA, 2013). A atmosfera controlada é atualmente a técnica mais utilizada para o armazenamento de maçãs nas maiores regiões produtoras do país. Apesar de dispor dessa infraestrutura para o armazenamento de maçãs, ainda ocorrem muitas perdas durante o armazenamento. As perdas de maçãs armazenadas por sete a nove meses em atmosfera controlada podem variar de 20 a 40% (BRACKMANN et al., 2012; WEBER et al., 2011). Esses valores indicam que mesmo com o uso da melhor combinação de gases em AC, ainda ocorrem muitas perdas durante o período de armazenamento, justificando a busca por novos métodos de armazenamento.

As causas das perdas pós-colheita variam em função do cultivar. A maçã ‘Granny Smith’ apresenta, após longo período de conservação, danos por escaldadura superficial, um distúrbio fisiológico decorrente do frio (WATKINS et al., 1995). Esse distúrbio fisiológico causa manchas marrons ou pretas na epiderme das maçãs, as quais surgem durante ou após o armazenamento (SABBAN-AMIN et al.,

2011; LURIE; WATKINS, 2012). Além do estresse oxidativo no armazenamento refrigerado prolongado, acredita-se que os produtos da oxidação do α -farneseno na casca do fruto, que pode ser espécies reativas de oxigênio (ROS), são uma das principais causas secundárias do desenvolvimento da escaldadura superficial, decorrente do armazenamento longo à baixas temperaturas (ANET, 1972; RAO et al., 1998; ROWAN et al., 2001; WHITAKER, 2004). Sendo assim, mesmo em condições de AC, ocorrem perdas decorrentes da escaldadura durante o armazenamento de maçãs ‘Granny Smith’ e, especialmente, após o armazenamento em AC. Além disso a manutenção da qualidade, nem sempre é atingida pelo armazenamento em AC sem a utilização de uma técnica adicional. Dessa forma, as pesquisas buscam alternativas adicionais viáveis para serem aplicadas em nível comercial para manter a qualidade da fruta por longos períodos. Dentre as técnicas auxiliares no armazenamento em AC está a aplicação de 1-MCP (1- metilciclopropeno) e o uso da atmosfera controlada dinâmica (ACD)

O 1-MCP inibe a ação do etileno reduzindo a sua síntese autocatalítica, (FAN et al., 1999) e, com isso, retarda a maturação e a senescência de maçãs (WATKINS et al., 2000), com a manutenção da firmeza, acidez titulável e os sólidos solúveis (ZANELLA, 2003). Cultivares de maçã como Delicious e Granny Smith mantêm baixa produção de etileno e a alta firmeza da polpa ao longo de períodos prolongados de armazenamento após o tratamento com 1-MCP (FAN et al., 1999; RUPASINGHE et al., 2000; WATKINS et al., 2000; ZANELLA, 2003; MORAN, 2006; MAGAZIN et al., 2010). Além disso, em adição aos seus efeitos sobre o amadurecimento dos frutos, o 1-MCP pode inibir o desenvolvimento da escaldadura superficial, fornecendo uma possível substituição para o antioxidante difenilamina (DPA), cujo uso não é permitido no Brasil e na maioria dos países da Europa. A inibição da produção de etileno pelo 1-MCP suprime a produção de α -farneseno, enquanto a utilização do antioxidante DPA evita a oxidação de α -farneseno, ao invés de sua produção (ALMEIDA, 2006; ARQUIZA et al., 2005; ISIDORO et al., 2006; JUNG; WATKINS, 2008; MOGGIA et al., 2010; WATKINS, 2008).

Além da atmosfera controlada convencional, uma outra forma de armazenamento é atmosfera controlada dinâmica (ACD). A atmosfera controlada dinâmica baseia-se na modificação da pressão parcial de O_2 ao longo do período de armazenamento, conforme a exigência ou tolerância da maçã a baixas pressões de O_2 . Neste sentido, a técnica de ACD necessita de um mecanismo de detecção e monitoramento do estresse do fruto, causado pela respiração anaeróbica. Quando o estresse atingir um ponto crítico, a técnica deve viabilizar a elevação da pressão parcial de O_2 para que novamente diminua a respiração anaeróbica, que, se permanecer alta por muito tempo, poderá induzir a ocorrência de distúrbios fisiológicos. Para isso, são utilizados métodos de detecção do estresse do fruto, como medição do etanol na polpa do fruto ou na câmara de armazenamento (VELTMAN et al., 2003), fluorescência da clorofila (DeEll et al., 1999; PRANGE et al., 2007) e um método com pesquisas em andamento no Brasil: o quociente respiratório (GASSER et al., 2008; WRIGHT et al., 2012; BRACKMANN; WEBER;

BOTH, 2015; WEBER et al., 2015). Associado às técnicas de armazenamento há a possibilidade da aplicação do 1-MCP. Estudos com o uso de ACD associado à aplicação de 1-MCP para a manutenção da qualidade e controle de distúrbios fisiológicos durante o armazenamento de maçãs merecem pesquisas aprofundadas. Vários pesquisadores verificaram uma intensa redução no aparecimento dos sintomas de escaldadura em maçãs ‘Idared’, ‘Maigold’, ‘Elstar’ e ‘Braeburn’ (GASSER et al., 2010), ‘Granny Smith’ (ZANELLA et al., 2005), ‘Cortland’ e ‘Delicious’ (WATKINS, 2008) com o uso de ACD monitorada pelo método da fluorescência de clorofila. Entretanto, ainda não existem estudos avaliando o efeito da ACD monitorada pelo método do QR sobre o controle da escaldadura sem comprometer a manutenção da qualidade de maçãs ‘Granny Smith’ após o armazenamento. Níveis de O₂ tão baixos como aqueles adotados em ACD-QR podem ser eficientes na redução da escaldadura, evitando a oxidação do α -farneseno, dispensando a utilização de produtos químicos como a DPA ou a aplicação de 1-MCP para reduzir este distúrbio.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do armazenamento em atmosfera controlada dinâmica monitorada pelos métodos do quociente respiratório (QR) e da fluorescência de clorofila (FC), bem como a necessidade de aplicação de 1-MCP nestas condições, sobre a manutenção da qualidade de maçã ‘Granny Smith’.

1.1 HIPÓTESES

As hipóteses deste trabalho são:

- (1) A atmosfera controlada dinâmica poderá substituir o uso de 1-metilciclopropeno (1-MCP) em pós-colheita no controle de escaldadura e na manutenção da qualidade de maçãs;
- (2) No armazenamento em atmosfera controlada dinâmica (ACD), o monitoramento do estresse pelo quociente respiratório é mais eficiente que pela fluorescência da clorofila, na manutenção da qualidade de maçãs;
- (3) A atmosfera controlada dinâmica comparada à atmosfera controlada convencional mantém uma melhor qualidade de maçãs ‘Granny Smith’.

1.2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

- (1) Estabelecer o nível do quociente respiratório mais adequado para o armazenamento de maçãs ‘Granny Smith’ em atmosfera controlada dinâmica;
- (2) Avaliar e comparar as técnicas de fluorescência da clorofila e do quociente respiratório sobre a manutenção da qualidade das maçãs ‘Granny Smith’ armazenadas em atmosfera controlada dinâmica;
- (3) Avaliar o método do quociente respiratório (QR) e da fluorescência da clorofila (FC) combinado com 1-MCP na manutenção da qualidade de maçãs ‘Granny Smith’;
- (4) Avaliar e comparar a eficiência da ACD com a da atmosfera controlada convencional associado à aplicação de 1-MCP na conservação das maçãs ‘Granny Smith’;

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PERDA DE QUALIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO

Em 2015, o Brasil produziu 1,163 milhão de toneladas de maçãs em uma área de 38 mil hectares o que, segundo a FAO, coloca o país entre os 12 maiores produtores do mundo (AGAPOMI, 2015; IBGE, 2015). Os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina foram os responsáveis por mais de 96% da produção total de maçãs do país (REETZ et al., 2015). O faturamento do segmento da maçã no Brasil, em 2014, foi na ordem de R\$ 2,1 bilhões com a comercialização da fruta *in natura* no mercado interno (IBGE, 2015). O montante produzido no país não é absorvido pelo mercado de maneira imediata, necessitando de formas de armazenamento que conserve a qualidade das frutas e escalone a oferta de maçãs ao longo do ano.

Comercialmente, a forma mais utilizada para o armazenamento de maçãs é a atmosfera controlada. Essa técnica de armazenagem objetiva um longo período de armazenamento dos frutos por meio da utilização de baixas pressões parciais de oxigênio (O₂) e altas de gás carbônico (CO₂), além do controle, monitoramento e redução da temperatura e umidade relativa (UR) nas câmaras de armazenamento (BRACKMANN et al., 2005), afim de reduzir o metabolismo e prolongar a vida pós-colheita dos frutos. No Brasil é comum estender a prática de armazenamento de maçãs sob AC em até 8 ou 9 meses (BRACKMANN et al., 2013; WEBER et al., 2013). Este longo tempo de armazenamento é devido ao fato de que o Brasil importa comumente pouca maçã durante a entressafra (BOTH et al., 2014).

Os baixos níveis de oxigênio durante o armazenamento reduzem a respiração e síntese de etileno, retardando a maturação dos frutos e, conseqüentemente, a senescência (WRIGHT et al., 2015). A redução da atividade de várias enzimas com atividade oxidase, como a citocromo *c* oxidase, a polifenoloxidase e ácido ascórbico oxidase, em função do baixo O₂, favorece a redução da atividade respiratória dos frutos (KADER, 1986; WRIGHT et al., 2015). O efeito do alto CO₂ na manutenção da qualidade dos frutos durante o armazenamento está relacionado com a redução da respiração e da taxa de produção e ação do etileno, pela inibição das enzimas ACC sintase e ACC oxidase (BUFLER, 1986; RHOTHAN; NICOLAS, 1994; GORNY; KADER, 1997).

Durante o armazenamento de maçãs há uma constante e lenta perda de qualidade. Estas perdas podem ser físico-químicas ou decorrentes da ocorrência de distúrbios fisiológicos ou podridões.

2.1.1 Perda da qualidade físico-química

A taxa respiratória de frutas climatéricas como a maçã, está diretamente relacionada às mudanças que ocorrem no fruto em função do amadurecimento, levando ao estado de senescência (ALEXANDER; GRIERSON, 2002). Com o amadurecimento, vários atributos de qualidade são comprometidos e dentre estes, a textura, coloração e aroma são parâmetros fundamentais e determinantes para atrair o consumidor. Segundo Yang; Hoffman (1984), um aumento na respiração e a biossíntese do etileno são os responsáveis pelas mudanças como alterações no aroma, textura, coloração e *flavour* que ocorrem durante o amadurecimento em maçã. A perda de firmeza de polpa, um evento conhecido do amadurecimento que é muito sensível ao etileno, é caracterizada pelo aumento da atividade de enzimas ligadas à degradação da parede celular, como a celulase, β-galactosidase (RITENOUR et al., 1997; PESIS et al., 1998), bem como a poligalacturonase (LURIE; PESIS, 1992).

Além de desencadear a perda de firmeza, o etileno é um gás regulador de inúmeros outros processos ligados ao amadurecimento e senescência, como degradação da clorofila e síntese de carotenoides, síntese de compostos voláteis, transformação de amido em açúcares, aumento da taxa respiratória, dentre outros fatores que são responsáveis por alterar o sabor, aroma e aparência visual do fruto (BANGERTH et al., 2012; NYASORDZI et al., 2013; DeLONG; BOOKER, 2015). Alguns trabalhos relatam que o etileno endógeno pode acelerar a degradação da clorofila na casca de frutas e desempenhar um papel regulador fundamental no amadurecimento de muitas frutas, como banana, maçã, pera, citrus, e tomate (CORNELIUS; JAMES, 2007; BOWER et al., 2003; CHENG et al., 2012).

Devido à sensibilidade dos tecidos à ação do etileno e o desencadeamento de processos que levam à maturação e senescência, podem ocorrer possíveis perdas de qualidade nas maçãs durante o armazenamento (LELIÈVRE et al., 1997). Dependendo da cultivar, a coloração da casca pode mudar do verde para amarelo, como em maçãs ‘Granny Smith’ e ‘Golden Delicious’. A concentração de clorofila em frutos verdes diminui exponencialmente com o tempo, e essa diminuição ocorre mais rapidamente quando as temperaturas são elevadas (NUNES, 2008). A preferência do consumidor é altamente influenciada pela coloração do fruto, porém este parâmetro não é um bom indicativo do amadurecimento ou qualidade. Um constituinte universal de qualidade, independentemente da cultivar, é a firmeza. Os consumidores exigem maçãs brilhosas e crocantes, porém as cultivares de maçãs apresentam diferentes valores de firmeza em função das características individuais da variedade (WATKINS et al., 2004; USDA, 2015). A firmeza de polpa de maçãs ‘Granny Smith’ mais firmes, muitas vezes varia de 80 a 98 N (Newtons), enquanto por exemplo maçãs ‘Golden Delicious’, apresentam firmeza de polpa próximo à 60 N (USDA, 2015). Uma diferença de 6 N foi reportado ser a mínima diferença de firmeza de polpa que pode ser detectada por um indivíduo (HARKER et al., 2002). Assim como a firmeza de polpa, o teor de acidez titulável e conteúdo de sólidos solúveis também dependem da cultivar. Nyasordzi et al. (2013), avaliando os atributos de qualidade em diferentes cultivares de maçãs, observaram maior teor de acidez titulável em maçãs ‘Granny Smith’, seguido da cultivar Pink Lady e Starking, além disso eles também observaram que com relação ao ratio entre sólidos solúveis e acidez titulável (SST), a cultivar Pink Lady registrou maior valor, seguido da cultivar Starking e Granny Smith. Em geral, a qualidade de maçãs consiste em uma mistura de diferentes fatores como aparência visual, textura e *flavour* (incluindo sólidos solúveis, acidez e voláteis), e esses parâmetros são comprometidos se os frutos não forem mantidos em condições adequadas (WATKINS et al., 2004). Estes autores relatam ainda, que como o aroma é uma das características mais apreciadas do fruto, os compostos voláteis desempenham um papel chave na determinação da percepção e aceitabilidade dos produtos pelo consumidor. Assim, sendo um importante parâmetro da qualidade dos frutos, pesquisas sobre aroma vem ganhando cada vez mais atenção nos últimos anos, na tentativa de se comercializar os frutos com maior manutenção das características de qualidade sensorial.

Com relação a outras maçãs, a cultivar Gala apresenta após longo período de conservação, degenerescência de miolo ou da polpa e ocorrência de polpa com aspecto farináceo, acompanhado por rápida perda de firmeza de polpa (BRACKMANN et al., 2003). No caso da cultivar Fuji, os maiores problemas que ocorrem durante o armazenamento estão relacionados com a sua suscetibilidade ao alto CO₂ quando armazenada em condição de AC (ARGENTA et al., 2002), sendo também mais suscetível à ocorrência de podridões pós-colheita que outras cultivares (VALDEBENITO SANHUEZA et al., 2006), além da suscetibilidade à escaldadura superficial (LU et al., 2011). Dessa forma, para regular a oferta do

montante de maçã que é produzida bem como evitar perdas, é necessário o armazenamento desses frutos de maneira que a qualidade seja mantida. Para a manutenção da qualidade, diversas formas de armazenamento são utilizadas com o intuito de conservar as características físicas e físico-químicas das maçãs. Segundo Zanella (2003), as pressões parciais indicadas para a maçã ‘Granny Smith’ variam entre 1,0 kPa a 1,5 kPa de O₂ e CO₂ menor que 2,0 kPa. Utilizando a técnica de AC é possível reduzir a taxa respiratória e produção de etileno dos frutos, conservando assim as características físico-químicas como acidez titulável, coloração da epiderme, sólido solúveis, firmeza de polpa, além de reduzir a ocorrência de distúrbios fisiológicos (BRACKMANN et al., 2012b; WEBER et al., 2013a). Brackmann et al. (2012b), avaliando a variação da temperatura, oxigênio e CO₂ durante o armazenamento em atmosfera controlada de maçãs ‘Royal Gala’, verificaram que o armazenamento na temperatura de 1 °C, na condição de AC com 1,0 kPa de O₂ + 2,0 kPa de CO₂, diminuiu a produção de etileno, respiração e a ocorrência de distúrbios fisiológicos, mostrando ser uma condição satisfatória para o armazenamento desta cultivar durante oito meses.

Como a maçã é perecível, ocorrem perdas significativas em pós-colheita, não só devido à senescência dos frutos, mas também devido à ocorrência de podridões e distúrbios fisiológicos, como degenerescência senescente, escaldadura superficial, polpa farinácea (AMARANTE; STEFFENS; BLUM, 2010; BRACKMANN et al., 2005; LURIE; WATKINS, 2012; BRACKMANN et al., 2014), justificado a necessidade do uso da atmosfera controlada pois, de acordo com Duarte (2010), pequenas perdas durante a pós-colheita da maçã já representam grandes perdas econômicas, em função do alto custo de instalação do pomar, produção, colheita e seleção de frutos. No entanto, mesmo utilizando atmosfera controlada para o armazenamento, observou-se que após longo período de conservação, ocorre rápida perda de firmeza de polpa (WEBER et al., 2013a; WEBER, 2013), causada pela maturação avançada na colheita, altas concentrações de etileno e uso inadequado das concentrações de O₂ e CO₂ nas câmaras de atmosfera controlada, ocorrência de distúrbios fisiológicos (BRACKMANN et al., 2003; PEDRESCHI et al., 2009), além da redução na emissão de compostos voláteis (FELLMANN et al., 2003; BANGERTH et al., 2012). As perdas pós-colheita podem estar relacionadas ao uso de níveis inadequados de O₂ e CO₂ na atmosfera controlada. Dessa forma, armazenar frutos em pressões parciais de O₂ excessivamente baixas ou de CO₂ altas podem induzir a via fermentativa de respiração, levando ao acúmulo de compostos da fermentação como etanol, acetaldeído e acetato de etila, que quando em altas concentrações podem causar *off-flavour* e degenerescência, depreciando a qualidade dos frutos (KE et al., 1993; PESIS et al., 2005; TRAN et al., 2015; WRIGHT et al., 2015).

O armazenamento de maçãs ‘Granny Smith’, por vários meses, sob refrigeração ou atmosfera controlada leva ao desenvolvimento de escaldadura superficial, um distúrbio fisiológico caracterizado pelo

surgimento de manchas marrons ou pretas na epiderme dos frutos, que é um sintoma de dano pelo frio (LURIE; WATKINS, 2012; SABBAN-AMIN et al., 2011; PESIS et al., 2012). A ocorrência desse distúrbio causa importante perda de valor de mercado após o armazenamento, devido principalmente à perda de qualidade visual dos frutos no que diz respeito a coloração verde característica da cultivar Granny Smith, que é afetada pelo surgimento de manchas escuras na epiderme do fruto. Zanella (2003), avaliando o controle da escaldadura superficial e amadurecimento em maçãs ‘Granny Smith’ sob atmosfera controlada na condição de 1,5 kPa O₂ + 1,3 kPa CO₂ verificou manutenção no conteúdo de acidez titulável em comparação com o armazenamento em atmosfera normal. Além disso este autor também observou aumento e manutenção do conteúdo de sólidos solúveis totais durante o armazenamento para os frutos armazenados tanto em atmosfera controlada como em atmosfera normal. Por outro lado maçãs ‘Granny Smith’ armazenadas em atmosfera normal sob temperatura de 0° C apresentaram maior produção de etileno, perda de firmeza e maior concentração de α -farneseno durante o armazenamento ou vida de prateleira a 20 °C (SABBAN-AMIN et al., 2011). Assim, a perda de qualidade durante o armazenamento e comercialização de maçãs ‘Granny Smith’ está relacionada às mudanças nas qualidades físico-químicas do fruto e a ocorrência do distúrbio fisiológico denominado de escaldadura.

2.1.2 Escaldadura superficial

Escaldadura superficial é um distúrbio fisiológico comercialmente importante que ocorre em algumas cultivares de maçãs e peras (WATKINS; BRAMLAGE; CREGOE, 1995; LURIE; WATKINS, 2012), causando perdas de qualidade e econômicas (GUERRA et al., 2012). Esse distúrbio desenvolve-se durante longos períodos de armazenamento sob baixas temperaturas ou quando os frutos são removidos do armazenamento a frio e expostos a temperaturas mais elevadas (WATKINS; BRAMLAGE; CREGOE, 1995; MIR; RUFINO PEREZ; BEAUDRY, 1999). A manifestação do distúrbio é caracterizada pela necrose das primeiras quatro a seis camadas celulares da hipoderme, o que resulta na coloração amarronzada da casca dos frutos durante o armazenamento refrigerado (BAIN; MERCES, 1963; WATKINS; BARDEN; BRAMLAGE, 1993; PESIS et al., 2010; SABBAN-AMIN et al., 2011; LURIE et al., 2012; RIZZOLO et al., 2015), mas que não compromete a polpa do fruto (MOGGIA et al., 2010). Algumas vezes, as células do córtex são afetadas e a fruta torna-se mais suscetível ao ataque de patógenos. Frutos colhidos antes do período ideal também apresentam maior suscetibilidade à ocorrência de escaldadura, porém o distúrbio pode ocorrer também em frutos totalmente maduros (WATKINS; BRAMLAGE; CREGOE, 1995). A sensibilidade do desenvolvimento do

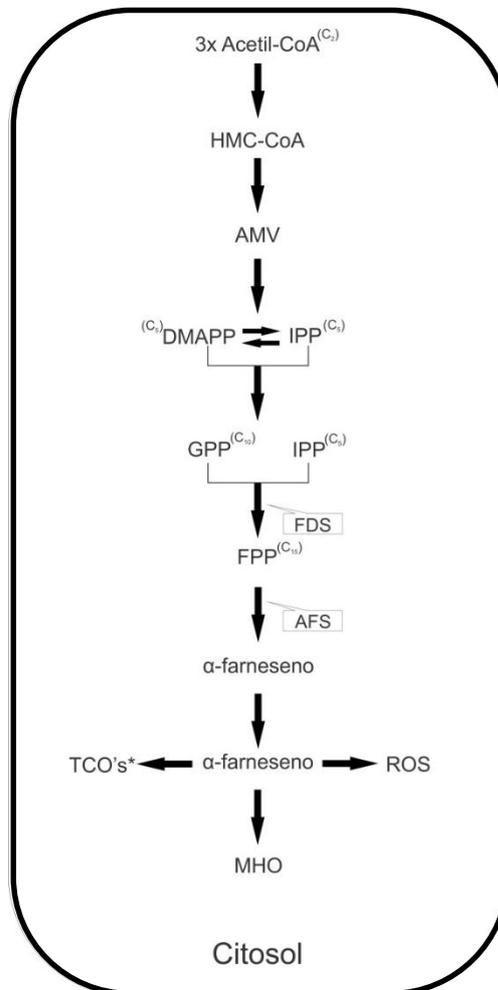
distúrbio dependente da cultivar, estágio de maturação, local de cultivo e condições climáticas (INGLE; D'SOUZA, 1989; GINÉ BORDONABA et al., 2013). Segundo Bramlage; Meir (1990), a ocorrência da escaldadura superficial consiste em duas fases, em que os eventos de indução são separados do desenvolvimento de sintomas, que envolve a degeneração celular, levando a crer que as lesões na epiderme são decorrentes de injúrias pelo frio (WATKINS; BRAMLAGE; CREGOE, 1995; RAISON; ORR, 1990). O desenvolvimento dos sintomas ocorre em temperaturas entre 3,5 °C e 15 °C, porém é mais severo sob temperaturas mais baixas, entre -1,5 °C e 5 °C, sendo a relação tempo-temperatura um importante fator para a expressão dos sintomas de escaldadura superficial (THOMAI et al., 1998).

Mesmo com resultados de várias pesquisas referente a mecanismos físicos, fisiológicos e bioquímicos, a causa da ocorrência deste distúrbio ainda é complexa e contraditória (INGLE; D'SOUZA, 1989; WANG; DILLEY, 1999; LURIE; WATKINS, 2012). Determinadas cultivares são mais propensas ao desenvolvimento da escaldadura, a exemplo 'Granny Smit', 'Law Rom', 'Fuji' e 'Delicious' enquanto 'Empire', 'Gala', 'Braeburn', 'Pink Lady' e 'Golden Delicious' são resistentes (LITTLE; HOLMES, 2000; TSANTILI et al., 2007). A cultivar Granny Smith é muito suscetível à escaldadura superficial, quando armazenada sob refrigeração por vários meses (WATKINS; BARDEN; BRAMLAGE, 1993; WATKINS; BRAMLAGE; CREGOE, 1995). É relatado que nesta cultivar a escaldadura resulta da necrose do tecido cortical hipodérmico, sendo a epiderme afetada apenas em casos severos (BAIN, 1956; BAIN; MERCER, 1963). Além do estresse oxidativo devido ao armazenamento prolongado sob baixas temperaturas e senescência (LURIE, 1998; WANG; DILLEY, 1999; WATKINS; BRAMLAGE; CREGOE, 1995), o acúmulo de voláteis tóxicos na superfície da fruta, como resultado de um processo oxidativo na camada natural de cera que a recobre, também é considerado um fator no desenvolvimento da escaldadura (RAO et al., 1998; WATKINS; NOCK, 2005). Pesquisas mais detalhadas relataram que o surgimento da escaldadura superficial tem sido atribuído à auto-oxidação do composto volátil α -farneseno à trienos conjugados (TCs) altamente reativos nos tecidos epidérmicos (CHEN et al., 1990; GHAHRAMANI; SCOTT, 1998; RAO et al., 1998; MIR; PEREZ; BEAUDRY, 1999; ROWAN et al., 2001; WHITAKER, 2004; PESIS et al., 2010). Os produtos da oxidação altamente reativos reagem com os lipídios e proteínas que alteram a integridade da membrana celular (ABDALLAH et al., 1997), permitindo o contato entre enzimas oxidativas e seus respectivos substratos, causando o escurecimento característico (GOLDING et al., 1998) e, até mesmo, a necrose da célula. Além disso, foi demonstrado que um outro produto da oxidação do α -farneseno, o 6-metil-5-hepteno-2-ona (MHO), está associado com os sintomas de escurecimento (MIR; PEREZ; BEAUDRY, 1999; WHITAKER, 2004; PESIS et al., 2010).

A síntese do α -farneseno (3,7,11-trimetil, 1,3,6,10-dodecatetraeno), um sesquiterpeno acíclico, ocorre pela rota citosólica do ácido mevalônico (3,5-di-hidroxi-3-metilpentanoico) (LANGE et al., 2000; JU; CURRY, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013), conforme esquema na figura 1. A rota biossintética inicia pela condensação de moléculas de acetil-CoA (acetilcoenzima A), levando à acetoacetil-CoA, na qual se condensa com outra molécula de acetil-CoA, originando 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA. Este último composto é reduzido por meio da enzima hidroximetilglutaril-CoA redutase (HMGR) para ácido mevalônico (AMV). Esse intermediário de seis carbonos é, então, pirofosforilado, descarboxilado e desidratado, produzindo isopentenil difosfato (IPP), que é a unidade básica na formação dos terpenos. O isopentenil difosfato e seu isômero, dimetilalil difosfato (DMAPP) são as unidades pentacarbonadas ativas na biossíntese dos terpenos que se unem para formar moléculas maiores. Inicialmente, o IPP e DMAPP reagem e formam o geranyl difosfato (GPP), uma molécula de 10 carbonos. O GPP é condensado com outra molécula de IPP pela enzima farnesil difosfato sintetase (FDS), formando um composto de 15 carbonos, o farnesil difosfato (FPP), precursor de quase todos os sesquiterpenos. O farnesil difosfato é transformado para α -farneseno, pela enzima α -farnesil sintetase (AFS) (ROWAN et al., 1995; TAIZ; ZEIGER, 2013; WHITAKER, 2004). Esse composto volátil, o α -farneseno, acumula-se na camada de cera da epiderme das maçãs e, devido às condições de armazenamento, ocorre sua auto-oxidação à trienóis conjugados, que são altamente reativos, justificando o surgimento das manchas na casca dos frutos. Segundo Rowan et al. (2001), os produtos da oxidação do α -farneseno, incluem trienóis conjugados hidroperóxido, como farnesil hidroperóxido, trienol, endoperóxido, dehydro nerolidol e cumil hidroperóxido, ou radicais livres intermediários ou 6-metil-5-hepteno-2-ona (MHO), caracterizando os reais agentes causais da escaldadura. Foi observado que a auto-oxidação *in vitro* de α -farneseno resultou no isolamento do trienol conjugado e endoperóxido após a redução dos produtos primários de auto-oxidação com borohidreto de sódio (ANET, 1969). Já outras pesquisas também identificaram os produtos da oxidação do α -farneseno de maçãs armazenadas e verificaram o trienol sendo o principal trienol conjugado identificado, em vez do farnesil hidroperóxido (ROWAN et al., 1995; WHITAKER; SOLOMOS; HARRISON, 1997). A decomposição *in vitro* do farnesil hidroperóxido levou à endoperóxido e a 6-metil-hepteno-2-ona (FIELDER; ROWAN; SHERBURN, 1998). Já a oxidação *in vitro* do trienol também levou à 6-metil-hepteno-2-ona (WHITAKER; SAFTNER, 2000). Os processos fisiológicos que conduzem ao desenvolvimento da escaldadura superficial, são complexos e envolvem a maturação, bem como as respostas para o estresse causado pela refrigeração. O papel de MHO no desenvolvimento da escaldadura ainda não é claro. Possivelmente esse composto não pode estar envolvido em tudo, pode ser um produto secundário ou a sua produção no fruto pode ser um indicador de processos oxidativos, incluindo danos causados por radicais livres após a

armazenagem, que refletem no aparecimento de sintomas de escurecimento (WHITAKER; SAFTNER, 2000).

Figura 1 - Esquema da síntese e oxidação do α -farneseno em maçãs.



Acetil-CoA: acetilcoenzima A; HMG-CoA: 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA; AMV: ácido mevalônico; IPP: isopentil difosfato; DMAPP: dimetilalil difosfato; GPP: geranyl difosfato; FPP: farnesil difosfato; FDS: farnesil difosfato sintetase; AFS: α - farnesil sintetase; MHO: 6-metil-5-hepteno-2-ona; ROS: espécies reativas de oxigênio; TCO's*: trienos conjugados.

* farnesil hidroperóxido: trienol; endoperóxido; dehydro nerolidol; cumil hidroperóxido.

Baseado em ROWAN et al., 2001; WHITAKER, 2004; LURIE; WATKINS, 2012; TAIZ; ZEIGER, 2013.

O controle da síntese de α -farneseno não está ainda completamente elucidado, mas parece estar associado com a concentração interna de etileno e sua taxa de produção (LURIE; WATKINS, 2012). Portanto, diferenças na acumulação de α -farneseno entre as cultivares pode ser refletida pelo nível de etileno dos frutos, em vez da associação da suscetibilidade de certa cultivar à escaldadura. As relações

entre os dois fatores não são sempre proporcionais: a cultivar *Granny Smith* tem concentrações internas de etileno (CIE) inferiores e concentrações de α -farneseno mais elevadas, enquanto a cultivar *Crofton*, resistente à escaldadura tem maior CIE e menores concentrações de α -farneseno (GOLDING et al., 2001), além disso esse estudo mostrou que as temperaturas de armazenamento mais altas resultaram em CIE mais elevada, mas as concentrações de α -farneseno ficaram proporcionalmente maior em “*Granny Smith*” do que na cultivar *Crofton*. Alguns trabalhos mostraram que a concentração de α -farneseno aumenta com o etileno climatérico durante o amadurecimento (WATKINS et al., 1993, 1995; JU; CURRY, 2000; PECHOUS et al., 2005), especificando ainda que a taxa de produção de etileno tem sido relacionada como reguladora da síntese de α -farneseno, por regular a expressão do gene hidroximetilglutaril-CoA-redutase (HMGR) e/ou α -farneseno sintase (DU; BRAMALGE, 1994; JU; CURRY, 2000). Jung; Watkins (2008), na tentativa de controlar a escaldadura superficial em maçãs ‘*Granny Smith*’ armazenadas sob temperatura de 0,5 °C, observaram que o menor controle do distúrbio foi associado com o aumento da concentração interna de etileno (CIE). Outros estudos confirmaram uma clara relação entre a produção de etileno ou concentração de etileno interno, com a produção ou acumulação do α -farneseno (WHITAKER; SAFTNER, 2000; TSANTILI et al., 2007). Dessa forma, a presença desse fito-hormônio no ambiente de armazenamento estimula a formação de α -farneseno e sua oxidação (WATKINS et al., 1993). Grandes perdas em cultivares de maçãs suscetíveis foram devido à escaldadura até a descoberta e comercialização dos antioxidantes difenilamina (DPA) e etoxiquina (6-etoxi-2, 2,4-trimetil-1,2-di-hidroquinolina) (JU; CURRY, 2000; ZANELLA, 2003). No entanto, a DPA já não está mais disponível em vários países produtores de maçã, especialmente na Europa. Alternativas à DPA, como o 1-metilciclopropeno (1-MCP), têm sido largamente estudadas e seu uso demonstrou eficiência no controle da escaldadura (WATKINS, 2006; 2007). No entanto, mesmo quando os frutos são tratados com 1-MCP logo após a colheita e sob condições laboratoriais ideais, o controle do amadurecimento e a persistência do controle da escaldadura por 1-MCP pode ser inconsistente para algumas cultivares (RUPASINGHE et al., 2000; WANG; DILLEY, 2000; DeLONG et al., 2004b), além disso a inibição é afetada por fatores como tipo de armazenamento (AC ou AR) e tempo de armazenamento. Ao longo dos anos, muitos métodos foram utilizados para o controle da escaldadura superficial em maçãs, sendo os químicos os mais comuns. No entanto existe alguma resistência dos consumidores em adquirir frutos tratados com DPA ou 1-MCP (PESIS et al., 2007), e assim são necessários estudos de métodos não-químicos.

O armazenamento sob atmosfera controlada (AC) com baixa pressão parcial de oxigênio mostrou-se eficaz no controle da escaldadura superficial (ZANELLA, 2003; DeLONG et al., 2004c). A presença de compostos voláteis como etanol, acetaldeído e acetato de etila produzidos pela fermentação, devido ao baixo oxigênio no armazenamento, pode também ter

benefícios no controle desse distúrbio. A exposição dos frutos ao vapor de etanol exógeno reduziu significativamente a incidência da escaldadura superficial, em alguns casos (SCOTT; YUEN; GJAJRAMANI, 1995; PESIS et al., 2005). Assim, além de reduzir a respiração, síntese de etileno e proporcionar menor taxa de maturação e senescência, o baixo O₂ reduz algumas desordens como a escaldadura superficial. Alguns protocolos de armazenagem, como ULO (*Ultra low oxygen*), ILOS (*Initial low oxygen*) e ACD (atmosfera controlada dinâmica) em que se aplicam níveis muito baixos de oxigênio (geralmente <1%) são utilizados para manutenção da qualidade das maçãs (WANG; DILLEY, 2000; VELTMAN et al., 2003; ZANELLA, 2003; DeLONG et al., 2004a). Pesis et al. (2010) quantificaram o 6-metil-5-hepten-2-ona (MHO-ona), um dos produtos da oxidação do α -farneseno, em maçãs ‘Granny Smith’ pré-tratadas com baixo oxigênio antes do armazenamento refrigerado e constataram redução na ocorrência de escaldadura superficial, provavelmente devido à redução na acumulação de etileno, resultando em menor produção de α -farneseno e seus produtos de oxidação (PESIS et al., 2010; SABBAN AMIN et al., 2011; WANG; DILLEY, 2000). Além disso, também foi constatado que a utilização de estresse inicial com baixos níveis de oxigênio (<1% O₂) durante 10 dias reduziu a ocorrência de escaldadura superficial e essa redução foi correlacionada com a produção de etanol durante o estresse LO2 (< 2 kPa), convertendo MHO-ona em álcool MHO-ol (GHAHRAMANI; SCOTT, 1998). A conversão de MHO-ona em MHO-ol está relacionada com a indução da enzima álcool desidrogenase (ADH) nos tratamentos com baixo O₂, resultando em menor ocorrência de escaldadura nestes frutos (DIXON; HEWETT, 2001; SAQUET; STREIF, 2008). Neste sentido, a relação entre MHO-ona e MHO-ol pode servir como um índice para avaliar a ocorrência da escaldadura superficial. Além do efeito benéfico do controle da escaldadura superficial, o tratamento com estresse inicial com baixo O₂ também proporcionou benefícios a outros parâmetros de qualidade, mantendo firmeza de polpa de maçãs ‘Granny Smith’ (PESIS et al., 2010). A ligação entre baixos níveis de oxigênio e controle da escaldadura superficial nas maçãs é complexa e controversa (WRIGHT et al., 2015). Tratamentos com baixa pressão parcial de oxigênio reduz os níveis de etileno, limitando 1-ácido-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), a atividade de várias enzimas oxidases ou promovendo a produção de compostos voláteis da fermentação que também tem sido associado à redução dos níveis de etileno (BAI et al., 2004; PESIS et al., 2005) e que, conseqüentemente, têm influência no desenvolvimento da escaldadura superficial. Uma outra tecnologia derivada da atmosfera controlada (AC), chamada atmosfera controlada dinâmica (ACD) baseia-se na detecção do mínimo oxigênio tolerado pelos frutos, por meio da emissão da fluorescência da clorofila (CF) permitindo o armazenamento seguro de frutas perto do ponto de compensação anaeróbico (PRANGE et al., 2003; DeLONG et al., 2004a). O uso dessa tecnologia controlou a escaldadura de forma tão eficaz como DPA e 1-MCP em “Granny Smith” (ZANELLA et al., 2005).

No conceito de armazenamento ACD, um novo método de armazenamento está sendo desenvolvido pelo Núcleo de Pesquisa em Pós-colheita da Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil, com base no quociente respiratório dos frutos (ACD-QR). O quociente respiratório (RQ) é a relação entre a produção de CO₂ pelo consumo de O₂ dos frutos durante o armazenamento. Por este método, é possível controlar e manter o O₂ perto do limite mínimo de O₂ tolerado pelo fruto, reduzindo substancialmente o metabolismo e mantendo a qualidade (BRACKMANN; WEBER; BOTH, 2015). Nossa hipótese é que o armazenamento dos frutos sob atmosfera controlada dinâmica, monitorada pelo método do quociente respiratório em que é possível se trabalhar com níveis de O₂ bem abaixo do encontrado na literatura, é possível obter redução da escaldadura superficial, evitando a oxidação do α -farneseno, dispensando a utilização de produtos químicos como a DPA ou a aplicação de 1-MCP.

2.2 ARMAZENAMENTO DE MAÇÃS

2.2.1 Armazenamento refrigerado e atmosfera controlada

O armazenamento refrigerado é o método mais econômico e mais utilizado para manter a qualidade pós-colheita de frutas e hortaliças frescas por regular as taxas dos processos fisiológicos e bioquímicos associados a senescência (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Fatores como redução da temperatura e controle da umidade relativa são importantes para a conservação de frutas *in natura* (EKMAN et al., 2005). Porém, também foi observado que após um período de três meses em atmosfera refrigerada (AR) ocorrem problemas de ordem fisiológica e sanitária que depreciam a qualidade dos frutos (BRACKMANN; CERETTA, 1999).

Atualmente, a maioria das maçãs são armazenadas sob atmosfera controlada (AC) (BRACKMANN et al., 2010; WEBER et al., 2012; WEBER et al., 2013). Neste método de armazenamento, além do controle da temperatura e umidade relativa, os níveis de oxigênio são fixados e mantidos em 1,0 até 1,5 kPa, ao longo do armazenamento, independentemente do metabolismo dos frutos (BRACKMANN et al., 2008). Os níveis de oxigênio, usados durante o armazenamento em AC convencional, ficam muito acima do ponto de compensação anaeróbio (PCA), que é o nível de O₂ onde a produção de CO₂ é mínima (BOERSIG; KADER; ROMANI, 1988). Dessa forma, os frutos não alcançam uma taxa mínima de respiração durante o armazenamento, resultando em maior perda de qualidade. Assim, é importante desenvolver

tecnologias que permitem a redução do oxigênio a um nível mínimo tolerado pelos frutos, a fim de reduzir a respiração e prolongar a vida de armazenamento sem perdas significativas de qualidade.

2.2.2. Armazenamento em atmosfera controlada dinâmica

Derivada da atmosfera controlada convencional (AC), a atmosfera controlada dinâmica (ACD) é uma nova forma de controle e variação do O₂ na câmara de armazenamento ao longo de todo o período de armazenagem, de acordo com o metabolismo do fruto (WRIGHT et al., 2012). Esta forma de armazenamento tem como princípio a redução do nível de oxigênio na atmosfera de armazenamento para o mais próximo possível do limite mínimo de O₂ (LOL- *Lowest oxygen limit*) tolerado pelos frutos (ZANELLA et al., 2005), que ocorre com o início da indução da respiração anaeróbica, diferindo do princípio seguindo na atmosfera controlada convencional, em que os níveis de oxigênio são mantidos estáticos durante todo o armazenamento e estão muito acima desse limite. Em contraste com as condições estáticas utilizadas em AC, a adaptação dinâmica do baixo nível de oxigênio tolerado pelo fruto pode desacelerar as reações oxidativas e a senescência, impedindo o desenvolvimento de desordens fisiológicas como a escaldadura superficial (ZANELLA et al., 2005) e reduzir outras perdas de qualidade (ZANELLA; CAZZANELLI; ROSSI, 2008). O limite mínimo de oxigênio tolerado pelo fruto pode ser definido como o menor nível de oxigênio em que o fruto pode ser armazenado com segurança, sem ocorrer mudanças indesejáveis, tais como descoloração da casca, produção excessiva de compostos voláteis da fermentação, perdas pela excessiva respiração ou ruptura do tecido (WRIGHT et al., 2015). Assim, existem três formas possíveis de acompanhar e monitorar o limite crítico de O₂ durante o armazenamento em ACD, que são pela detecção do nível de etanol na polpa do fruto e/ou na câmara de armazenamento, pelo monitoramento por meio da fluorescência de clorofila (FC) ou determinação do quociente respiratório (QR).

2.2.2.1 Determinação do etanol

A avaliação do nível de estresse em maçãs durante o armazenamento em ACD pode ser feito pela quantificação do nível de etanol, produzido pela respiração anaeróbica das frutas, na atmosfera da câmara de armazenagem ou na própria fruta, retirada periodicamente da câmara.

Um dos métodos é chamado sistema ILOS-PLUS, comercializado pela empresa Marvil® da Itália. Este método baseia-se na aferição de etanol do suco extraído de uma amostra de maçãs armazenadas sob condições extremamente baixas de O_2 ($<0,5$ kPa). Sob esta condição de estresse, o fruto muda seu metabolismo. Assim, quando o operador do sistema detectar a presença de etanol em um valor próximo a $200 \mu\text{L L}^{-1}$ no suco, deve aumentar em $0,2$ kPa a pressão parcial de oxigênio na câmara de armazenamento para que a respiração anaeróbica seja reduzida.

Um segundo método, desenvolvido por Veltman et al. (2003) e baseado na medição do etanol na atmosfera da câmara comercial, é comercializado pela empresa Storex® com a denominação de DCS™ (Storex Gravendeel, The Netherlands). Este sistema consiste em uma câmara menor contendo amostras de maçãs que são colocadas no interior de uma câmara de AC maior, que pode ser isolada de modo que os níveis de etanol produzidos pelas maçãs possam ser mensurados no *headspace* (WRIGHT et al., 2015). De 2011 à 2012, acredita-se que este sistema já foi aplicado comercialmente em aproximadamente 170 câmaras de armazenamento, principalmente na Holanda, onde é usada para armazenar maçãs ‘Elstar’ e ‘Janagold’ (PRANGE et al., 2013).

Schouten et al. (1997) relataram que quando o teor de etanol na fruta ou na câmara de armazenamento estiver alto, a via de respiração anaeróbica está excessivamente ativa, sendo necessário aumentar a concentração de O_2 para que a respiração aeróbica se torne a principal via de respiração dos frutos e assim reduza a concentração de etanol que foi induzida pela respiração anaeróbica.

2.2.2.2 *Fluorescência de clorofilas (FC)*

Com base no princípio da ACD, para poder reduzir o oxigênio a níveis muito baixos ($0,3$ até $0,4$ kPa O_2) é necessário empregar uma técnica para monitorar o limite mínimo de oxigênio tolerado pelos frutos. Uma metodologia passível de ser utilizada para determinar o limite mínimo de oxigênio durante todo o período de armazenamento é a baseada na fluorescência de clorofila (DeEll et al., 1999; PRANGE et al., 2007; WRIGHT et al., 2010; WRIGHT et al., 2012). Desenvolvido pelo Dr. Robert K. Prange, este método foi patenteado como HarvestWatch™ pela Satlantic Inc. do Canadá e comercializado pela empresa Isolcell da

Itália (PRANGE et al., 2007). Nesta metodologia, uma amostra de seis maçãs é colocada em um recipiente plástico (18 cm de largura / 27 cm de comprimento / 25 cm de altura), mantido no escuro e, expostas a uma fonte de luz 4 LED (*Light Emission Diode*), de baixa frequência. Em função do estresse ao baixo oxigênio na câmara de armazenamento e a exposição dos frutos à luz, as clorofilas presentes na epiderme da maçã emitem uma determinada fluorescência. Este recipiente plástico também é equipado por um sensor FIRM (*Fluorescence Interactive Response Monitor*), o qual capta a fluorescência e a transmite para um computador com software desenvolvido para esta função. Na mensuração da fluorescência de clorofila submetida ao estresse pelo baixo oxigênio, o parâmetro quantificado é o $F\alpha$, que é uma estimativa da fluorescência mínima (F_0) da fluorescência de clorofila. Vários parâmetros de clorofila foram usados para correlacionar a atividade fotossintética e desenvolvimentos fisiológicos. O parâmetro “ F_0 ” é o nível de fluorescência inicial, detectado em nanossegundos dependendo da taxa de iluminação e resposta do detector fluorômetro. O parâmetro “ F_m ” é o valor de fluorescência máxima, obtido pela contínua intensidade de luz. O parâmetro “ F_v ” indica a fluorescência variável, e o ratio F_v/F_m é a eficiência fotoquímica do FSII (MIRZAEI; COLGAN; TULLY, 2015). Alguns trabalhos relataram que o parâmetro (F_0) é sensível ao baixo O_2 empregado nas câmaras de armazenamento (PRANGE et al., 2003; WRIGHT et al., 2008; WRIGHT et al., 2010). Para identificar o limite mínimo de oxigênio, o nível de O_2 é lentamente reduzido nas câmaras de armazenamento durante um determinado tempo (horas ou dias), enquanto a fluorescência é medida simultaneamente utilizando intervalos de tempo de varredura para mensuração de tal. Uma vez que o O_2 é reduzido abaixo do limite mínimo de oxigênio, a intensidade da medida de $F\alpha$ sobe rapidamente, apresentando ‘picos’ no gráfico do computador. Por outro lado, quando a pressão parcial de O_2 é elevada para um pouco acima do LOL (ou mais elevado), a intensidade da fluorescência retorna aos níveis estáveis observados antes do estresse, até que seja detectado um novo pico em função do estresse sofrido pelo fruto (PRANGE et al., 2003; DeLONG et al., 2004a; WRIGHT et al., 2008). A partir do estresse detectado, recomenda-se que a pressão parcial de O_2 seja aumentada em 0,2 a 0,3 kPa acima do nível no momento do estresse, mantendo-se este nível durante o armazenamento e sendo monitorado no gráfico a fim de detectar um eventual novo estresse, identificado pelo pico de fluorescência (GASSER et al., 2008; TRAN et al., 2015). O monitoramento do LOL pela fluorescência de clorofila, foi correlacionado com indicadores baseados em alterações respiratórias e metabólicas (GASSER et al., 2008; GASSER et al., 2010; WRIGHT et al., 2011), além de se correlacionar positivamente com a temperatura e atividade metabólica (WRIGHT et al., 2010).

A explicação mais plausível para a mudança da fluorescência de clorofila devido ao baixo O_2 ou alto CO_2 é devido a acidose citoplasmática (PRANGE et al., 2005). Gout et al. (2001) relataram que quando condições de anóxia são impostas, a acidose citoplasmática é correlacionada com a hidrólise de

ATP e outros nucleotídeos trifosfatos (NTPs), que geram ácido fosfórico por meio da reação $ATP + H_2O \rightarrow ADP + H_3PO_4$. Além disso, estes autores também relataram que a perda de H^+ do vacúolo é uma das causas da acidose citoplasmática. Mas essa hipótese levantada não é tão correlacionada como a hidrólise dos NTPs. No mesmo trabalho, estes autores verificaram que retornando a célula para condição normoxia, o pH citoplasmático aumentou e o pH vacuolar e extra celular diminuíram, indicando que o estresse causado pelo baixo O_2 é reversível. De acordo com WRIGHT et al. (2015), o mecanismo fisiológico que liga o metabolismo celular, que ocorre nas mitocôndrias (respiração aeróbica) e no citosol (fermentação), com a fluorescência de clorofila, não tem sido amplamente estudado. No entanto, Wright et al. (2011) sugeriram que a correlação pode refletir em alterações no estado redox dentro da célula. Estes autores levantaram a hipótese que uma diminuição na respiração aeróbica, eventualmente, leva a uma menor energia e perda geral da homeostase e uma acumulação de redutores citosólicos. Este excesso de poder redutor no citosol é devido à inibição da enzima citocromo oxidase. Os redutores (NADH) são depois transportados para o cloroplasto, onde são usados para reduzir o *pool* de plastoquinona (PQ) em um processo chamado “clorofermentação”. Assim, a dissipação fotoquímica do potencial redutor é reduzida aumentando a F_0 (WRIGHT et al., 2011).

Além da relação entre acidose citoplasmática e produção insuficiente de ATP que leva a um aumento de F_0 , outro fator importante relacionado a emissão da fluorescência de clorofila pelo baixo O_2 é o ciclo das xantofilas. As xantofilas são os principais carotenóides envolvidos no processo de dissipação não-fotoquímico, protegendo o aparelho fotossintético contra a super excitação por meio da regulação de distribuição da energia de excitação para o centro de reação do PSII, em um nível aceitável, dependendo da intensidade luminosa e outras condições (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Três carotenoides, chamados xantofilas, estão envolvidos no processo de dissipação da energia nos cloroplastos: violaxantina, anteraxantina e zeaxantina. Em condições de luminosidade alta, a violaxantina é convertida em zeaxantina, via o intermediário anteraxantina, pela enzima violaxantina de-epoxidase (DEMMIG-ADAMS; ADAMS 1996; TAIZ; ZEIGER, 2013). Esta de-epoxidação da violaxantina requer um gradiente de pH através da membrana dos tilacóides (PFÜNDEL; BILGER 1994; MUNEKAGE et al., 2002) e é geralmente associada à elevada intensidade de luz. Além disso, Wright et al. (2011) também relataram que o ciclo das xantofilas opera tanto em condições de intensidade luminosa muito baixa em condições de anóxia (abaixo do LOL) como também em um menor grau de hipóxia (acima ou no LOL). Essa relação pode fornecer uma visão sobre a relação físico-química entre o baixo O_2 , respiração e fluorescência. Dessa forma, um aumento no parâmetro F_0 , pode ser induzido pela baixa pressão parcial de oxigênio, que reduz a atividade da enzima zeaxantina epoxidase do estroma dos cloroplastos, ou também pela demasiada acidificação do lúmen (KRAMER et al., 2004).

Dessa forma, a tecnologia baseada na fluorescência de clorofila tem características muito mais atraentes quando comparada a atmosfera controlada convencional, tais como monitoramento em tempo real, é um método não-químico e não destrutivo, além de ser possível fazer uma medição rápida e frequente (PRANGE et al., 2013). Porém, mesmo diante da eficiência deste método que já é bastante difundido, este apresenta um fator que o descaracteriza dos princípios seguidos da ACD, que varia o oxigênio durante todo o armazenamento conforme o metabolismo do fruto. Nesta forma de armazenamento o nível de oxigênio na câmara é reduzido no início do armazenamento até ocorrer um pico de fluorescência, com posterior aumento da concentração deste gás em 0,2% mantendo este nível fixado até o final do armazenamento. Este fato pode assemelhar-se em parte com o ULO, que utiliza níveis estáticos de O₂ até o fim do armazenamento.

2.2.2.3 Quociente Respiratório (QR)

Um terceiro método de monitoramento do limite mínimo de oxigênio tolerado pelos frutos durante o armazenamento é a medição do quociente respiratório (QR). O quociente respiratório é quantificado pela razão entre a quantidade de CO₂ desprendido, resultante da respiração aeróbica ou anaeróbica, e a de O₂ consumido pelos frutos ($QR = \Delta CO_2 / \Delta O_2$) (BOERSIG; KADER; ROMANI, 1988). Este método de monitoramento foi concebido a partir do ponto de compensação anaeróbico (PCA), que segundo Boersing; Kader; Romani (1988), é a concentração de O₂ em que a produção de CO₂ é mínima e o quociente respiratório é aproximadamente igual a 1,0. Assim, é possível identificar através da medição do QR o momento em que a respiração aeróbica é substituída pela anaeróbica quando a pressão parcial de O₂ é reduzida nas câmaras de armazenamento, ou seja, quando o QR apresenta valores acima de 1,0 (GASSER et al., 2008). Quando o QR é igual a 1,0, significa que para cada molécula de oxigênio consumido há a liberação de uma molécula de CO₂, indicando que está ocorrendo respiração aeróbica, tendo os compostos açucarados como substrato (GOYETTE et al., 2012). Por outro lado, valores maiores que 1,0 são indicativos de que substratos com maior teor de O₂ como ácidos orgânicos estão sendo utilizados na respiração, indicando ainda a mudança da respiração aeróbica para anaeróbica. Assim, nesta condição em que a concentração de O₂ é muito baixa, a liberação de CO₂ pode ser elevada em decorrência do metabolismo fermentativo (GOYETTE et al., 2012) e, muitas vezes, resultado do aumento na glicólise. Dessa forma, a redução da pressão parcial de O₂ abaixo do ponto de compensação anaeróbico (PCA) provoca

um aumento nos produtos da fermentação e no QR (BOERSIG; KADER; ROMANI, 1988). Portanto, o controle do QR irá identificar o momento em que a maçã utiliza a via fermentativa como principal rota respiratória, com produção de compostos da fermentação como o etanol, que pode ser danoso para o tecido da maçã (GASSER et al., 2010). Após a detecção, a pressão parcial de O_2 é aumentada afim de manter o valor do QR previamente estabelecido, mantendo o mínimo de fermentação, sem causar danos aos frutos. Deve-se levar em consideração que o ponto de compensação anaeróbico pode variar nas maçãs produzidas em diferentes anos ou locais de produção e nas diferentes cultivares (GASSER et al., 2010).

O Núcleo de Pesquisa em Pós-colheita da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, vem testando esta metodologia desde o ano de 2010 com o objetivo de detectar o nível de QR mais adequado para diversas cultivares de maçãs de importância nacional e internacional, a exemplo das cultivares: ‘Gala’, ‘Fuji’ e suas mutantes, ‘Braeburn’, ‘Granny Smith’ e ‘Pink Lady’. Desenvolvendo para isso um sistema eletrônico totalmente automatizado e um software que permite monitorar e controlar os níveis de O_2 nas câmaras durante todo o armazenamento.

Dois outros sistemas de ACD estão disponíveis no mercado. O sistema ACRTM (controle dinâmico da respiração) de Van Amerongen CA Technology B. V., na Holanda, determina o menor nível de O_2 possível para o armazenamento, com base nas medições da respiração. Este sistema determina o QR diretamente em toda a câmara comercial e não em uma amostra de maçã. Em 2014, a empresa Storage Control Systems Inc. (Sparta, MI, USA) também disponibilizou o sistema chamado ‘SafepodTM’. Esse sistema consiste de uma minicâmara com amostras representativas de frutos, que é colocada dentro da câmara comercial de AC. Essa minicâmara, que possui analisadores de gases de alta resolução acoplado e sistema de medição de QR automático, pode permanecer aberta para que haja troca de gases com a câmara comercial, como também fechada para a determinação do QR.

O sistema desenvolvido no Brasil, pelo Núcleo de Pesquisa em Pós-colheita da UFSM também é automatizado e faz a medição do QR em uma amostra de maçã, que é temporariamente isolada dentro de uma minicâmara para a determinação do quociente. Após a determinação do QR, a concentração de O_2 é ajustada de acordo com o metabolismo do fruto. A ferramenta desenvolvida no Brasil, pelo Núcleo de Pesquisa em Pós-colheita, da Universidade Federal de Santa Maria, RS está sendo adaptada para uso comercial pela empresa italiana Isolcell[®], que fará a comercialização do equipamento, com a marca ‘RQ Store Fresh’.

Pesquisas realizadas recentemente verificaram que dentre os três métodos de monitoramento do limite mínimo de oxigênio, o da ACD-QR é o mais eficiente, pois permite induzir a fermentação dos frutos em níveis seguros, aumentando a produção de etanol e, conseqüentemente, reduzindo a produção de etileno, e os eventos desencadeados pelo mesmo (JIN et al., 2013). Além disso, Weber et al. (2015)

verificaram melhor qualidade dos frutos armazenados em ACD-QR que aqueles armazenados em atmosfera controlada convencional e Both (2015), observou aumento na produção de aroma em maçãs conservadas neste método de ACD. Bessemans et al. (2016), na tentativa de trabalhar com ACD-QR para manutenção da qualidade de maçãs ‘Granny Smith’ e controle da escaldadura superficial conseguiram, em parte, controlar as pressões parciais de O₂ e CO₂ utilizando esta forma de armazenamento, com o auxílio dos aparelhos automáticos. No entanto, os resultados obtidos neste trabalho não mostraram confiabilidade na técnica utilizada pelos autores, uma vez que foi observado dificuldade na mensuração do QR, devido ao sistema ineficiente de vedação das câmaras, o que pode ser confirmado pelos resultados com níveis de QR elevados e negativos neste trabalho.

2.3 APLICAÇÃO DE PRODUTOS PARA CONTROLE DA ESCALDADURA

2.3.1 Antioxidantes

O controle da escaldadura pode ser feito através da redução da oxidação com uso de produtos químicos. Por muito tempo, os antioxidantes difenilamina (DPA) e etoxiquina foram os métodos utilizados comercialmente para o controle da escaldadura superficial em cultivares de maçãs e peras (CHEN et al., 1990; ZANELLA, 2003). O antioxidante DPA pode reduzir a produção de etileno e acumulação de α -farneseno, porém o principal efeito é inibir a oxidação de α -farneseno e, assim, a acumulação de trienóis conjugados (TCs) (ARQUIZA et al., 2005, RUDELL et al., 2005, ISIDORO; ALMEIDA, 2006; TSANTILI et al., 2007). O controle da escaldadura utilizando o antioxidante DPA pode variar dependendo da cultivar e do tipo de armazenamento (AR ou AC), e é afetado pela concentração do composto e os atrasos entre a colheita e aplicação do tratamento (LITTLE; HOLMES, 2000). A DPA pode ser aplicada no campo como uma pulverização pré-colheita ou como um tratamento pós-colheita (LURIE; WATKINS, 2012). De acordo com as recomendações do rótulo, DPA deve ser aplicada por imersão ou encharcamento dentro dos 7 dias após a colheita para o controle da escaldadura (JUNG; WATKINS, 2008). Purvis; Gegogine (2003) relataram que a DPA, pode também inibir a escaldadura em parte, por diminuição da respiração através da inibição do fluxo de elétrons a caminho da citocromo. Embora a difenilamina tenha sido utilizada para controlar a escaldadura em variedades suscetíveis de maçã, não é igualmente eficaz em pera. A etoxiquina também é um inibidor da

escaldadura, que segue os mesmos mecanismos de ação da DPA. Porém, maiores concentrações de etoxiquina que DPA são necessárias para o controle da escaldadura superficial, pois a etoxiquina tem um menor efeito sobre a acumulação de α -farneseno. A etoxiquina provou ser mais eficaz em peras do que a DPA, e provou ser menos fitotóxica (CHEN et al., 1990). Os limites atuais de resíduos da União Europeia para DPA são 5 mg/Kg para maçãs e 10 mg/Kg para peras. Para etoxiquina o limite é de 0,05 mg/Kg para as maçãs e 3 mg/Kg para peras (CALVO, 2010)

No entanto, devido à elevada toxicidade aos seres humanos, em 2009 a Comissão Europeia recusou formalmente a inclusão da difenilamina e etoxiquina no anexo I da Diretiva 91/414, com um máximo de resíduo de 0,1 ppm em frutas importadas (PRANGE et al., 2015). As maçãs norte americanas apresentam até quatro vezes o limite permitido na Europa. Em uma análise, constatou-se que até 80% dos produtos continham resíduos do composto, com uma média de 0,42 ppm por maçã, sendo o limite europeu quatro vezes menor (CALVO, 2010). A difenilamina em si não é tóxica, mas tem potencial para se decompor em uma família de cancerígenos chamados nitrosaminas (DRZYZGA, 2003).

Diante disso, a busca por produtos químicos seguros e técnicas de armazenamento estão sendo largamente estudadas com o intuito de uma possível substituição à DPA. Assim, alternativas à DPA, como o 1-metilciclopropeno (1-MCP), demonstrou eficiência no controle da escaldadura (WATKINS, 2006; 2007), por inibir a percepção do etileno e, conseqüentemente, a inibição do desenvolvimento da escaldadura (FAN et al., 1999; RUPASINGHE et al., 2000; WATKINS; NOCK; WHITAKER, 2000). O 1-MCP inibe a produção e a ação de etileno e a produção de α -farneseno e, assim, limita o substrato disponível para oxidação à TCs (ARQUIZA et al., 2005, ISIDORO; ALMEIDA, 2006; TSANTILI et al., 2007). Enquanto isso, a utilização de tecnologias baseadas no baixo oxigênio, como a ACD, estão crescendo exponencialmente devido à tendência global de redução de resíduos químicos em frutas. A tecnologia de ACD baseada na fluorescência da clorofila controlou a escaldadura de forma tão eficaz quanto DPA e 1-MCP em maçãs ‘Granny Smith’ (ZANELLA et al., 2005), porém menos eficaz em “Cortland” e “Delicious” (DeLONG; PRANGE; HARRISON, 2007).

2.3.2 1-MCP

O 1- metilciclopropeno (1-MCP), de fórmula molecular C_4H_6 , é um composto volátil que se liga de forma irreversível aos receptores de etileno no fruto, impedindo, desta forma, a ligação do fitohormônio ao receptor e, conseqüentemente, sua ação nos processos de maturação, amadurecimento e senescência

dos frutos (BLANKENSHIP; DOLE, 2003; BRACKMANN et al., 2004; WATKINS, 2006). Apesar de ser um produto de alto custo, o 1-MCP é amplamente utilizado por empresas armazenadoras de frutos e sua eficiência foi comprovada para maçãs armazenadas tanto em ambiente refrigerado, como em AC (ARGENTA et al., 2007; BRACKMANN et al., 2009). Sisler; Serek (1997) reportam que a afinidade do 1-MCP aos receptores de etileno é 10 vezes maior que do próprio fitohormônio.

Sendo comumente utilizado por empresas armazenadoras de maçãs por apresentar grandes benefícios, o 1-MCP tem como principal objetivo prolongar o tempo de armazenamento e vida de prateleira das frutas (WATKINS, 2006). Existem vários trabalhos na literatura reportando os benefícios da aplicação de 1-MCP nos vários parâmetros ligados ao avanço do amadurecimento e, consequentemente, senescência dos frutos (WATKINS, 2006; WATKINS; NOCK, 2012). A inibição da ação do etileno pelo uso do 1-MCP, traz benefícios importantíssimos como redução da respiração, que se em taxas elevadas, desencadeia uma série de eventos ligados ao amadurecimento, reduzindo o período de vida de prateleira do fruto. Assim, a aplicação de 1-MCP proporcionou menor perda de firmeza em maçãs ‘Gala’, ‘Granny Smith’, ‘Golden Delicious’, ‘Braeburn’ (MARIN et al., 2009; MOGGIA et al., 2010; ZANELLA; ROSSI, 2015), menor taxa respiratória e manutenção de ácidos (ARGENTA et al., 2010), além de menor produção de etileno em maçãs ‘Anna’ (LURIE et al., 2002). Outro benefício atribuído ao 1-MCP é a redução do desenvolvimento de distúrbios fisiológicos como a escaldadura superficial (LURIE; WATKINS, 2012; LU et al., 2013). No entanto, além da supressão do α -farneseno, o 1-MCP suprime também compostos voláteis importantes para o aroma dos frutos, o que caracteriza um entrave para a aplicação desse produto. Mattheis; Fan; Argenta, (2005) observaram redução na produção de ésteres e álcoois em maçãs ‘Gala’, bem como também foi observado injúrias externas pelo alto CO₂ em maçãs ‘Empire’ pela aplicação de 1-MCP (FAWBUSH; NOCK; WATKINS, 2008). Além disso a aplicação deste composto também foi relacionado como um dos principais fatores ligados ao desenvolvimento de sintomas de escurecimento da polpa em maçãs ‘Empire’ durante o armazenamento (LEE et al., 2012).

Além do estresse oxidativo no armazenamento refrigerado prolongado ou atmosfera controlada, acredita-se que os produtos da oxidação do composto volátil α -farneseno na casca do fruto, que são caracterizados como várias espécies reativas de oxigênio (ERO), são as principais causas do desenvolvimento da escaldadura superficial (ANET, 1972; RAO et al., 1998; ROWAN et al., 2001; WHITAKER, 2004). Sendo assim, como a produção de compostos voláteis está intimamente relacionada com a produção de etileno, a aplicação de 1-MCP poderia ser uma alternativa para inibir a síntese deste fito-hormônio e assim suprimir a produção de α -farneseno, fornecendo uma possível substituição para o antioxidante difenilamina (DPA), que o uso é proibido em alguns países da Europa. A inibição da produção de etileno pelo 1-MCP suprime a produção de α -farneseno, enquanto a utilização do antioxidante

DPA evita a oxidação de α -farneseno, ao invés de sua produção (ARQUIZA et al., 2005; ISIDORO; ALMEIDA, 2006; JUNG; WATKINS, 2008; MOGGIA et al., 2010; WATKINS, 2008;).

Além da redução da taxa respiratória, a aplicação de 1-MCP inibe o aumento da produção de etileno e a expressão de genes ligados a enzimas da biossíntese do etileno: ACC sintase (*MdACSI*) e ACC oxidase (*MdACO1*) (WAKASA et al., 2006; TATSUKI et al., 2007), bem como genes relacionados à degradação de enzimas da parede celular *MdPG1* e receptores de etileno: *MdERS1* e *MdERS2* (TATSUKI et al., 2007), que são parâmetros altamente ligados aos amolecimento da polpa de frutas. No entanto, a aplicação deste composto, associado à utilização da atmosfera controlada dinâmica (ACD) para o retardo da maturação e controle de distúrbios fisiológicos durante o armazenamento, ainda é pouco estudado no armazenamento com o monitoramento do limite mínimo de oxigênio por meio da ACD-QR, porém há na literatura trabalhos associando o 1-MCP à ACD pelo método da fluorescência de clorofilas (ACD-FC) (ZANELLA; ROSSI, 2015). Porém, Weber et al. (2015) observaram baixa produção de etileno durante a vida de prateleira de frutos quando armazenados apenas em ACD-QR, sem a necessidade de aplicação de 1-MCP. Isso demonstra a necessidade de se estudar mais a eficácia deste composto associando à tecnologia de ACD-QR.

Neste sentido o uso da ACD, que é considerada uma tecnologia livre de produtos químicos pode ser uma alternativa estratégica para a não utilização do composto 1-MCP, sendo ainda uma alternativa de uso para frutas produzidas organicamente (GASSERA; ARX, 2015). A ACD baseia-se na redução da pressão parcial de oxigênio até o limite mínimo tolerado pelo fruto. Assim, com a menor disponibilidade de oxigênio para as frutas a síntese de etileno será reduzida, bem como a respiração (SABBAN-AMIN et al., 2011) e, conseqüentemente, as frutas terão uma maior vida de prateleira.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLHEITA E SELEÇÃO DOS FRUTOS

O experimento foi realizado no ano de 2014 com maçã ‘Granny Smith’ oriundas de um pomar comercial localizado no município de Vacaria, RS. Os frutos foram colhidos manualmente, sendo descartados aqueles com danos mecânicos ou causados por insetos ou fungos, sendo devidamente acomodados em caixas plásticas e transportados para o Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita (NPP) da Universidade Federal de Santa Maria, RS para a instalação do experimento.

Antes do armazenamento foi realizada uma nova seleção dos frutos e a homogeneização das amostras experimentais, retirando os frutos que apresentaram algum tipo de dano decorrente do transporte e aqueles de tamanhos pequenos (peso de cada fruto, em média 250g). A colheita foi realizada no dia 14 de abril de 2014, quando os frutos apresentavam as seguintes características de maturação: firmeza de polpa de 75,7 Newtons, índice iodo-amido 5,63 (escala de 1-10), acidez de 10,3 meq 100mL⁻¹, sólidos solúveis de 12,38 °Brix, atividade da enzima ACC oxidase 2,64 nL C₂H₄ g⁻¹ h⁻¹, produção de etileno de 0,02 µL C₂H₄ Kg⁻¹ h⁻¹, respiração de 2,57 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

Tabela 1 - Condições das atmosferas utilizadas para o armazenamento de maçãs ‘Granny Smith’, Santa Maria, 2014.

Tratamento	Condição de O ₂ + CO ₂ kPa	Aplicação de 1-MCP
1	AC*- Convencional 1,0 + 1,5	Não
2	ACD - QR 1,3 + 1,2	Não
3	ACD - QR 1,5 + 1,2	Não
4	ACD - QR 1,7 + 1,2	Não
5	ACD - FC + 1,2	Não
6	AC - Convencional 1,0 + 1,5	Sim
7	ACD - QR 1,3 + 1,2	Sim
8	ACD - QR 1,5 + 1,2	Sim
9	ACD - QR 1,7 + 1,2	Sim
10	ACD - FC + 1,2	Sim

*AC (Atmosfera controlada); ACD (atmosfera controlada dinâmica); QR (Quociente respiratório); FC (Fluorescência de clorofila).

3.2 INSTALAÇÃO DE AC E MONITORAMENTO DO EXPERIMENTO

Após a homogeneização, as unidades experimentais foram constituídas de 20 frutos cada, com quatro repetições por tratamento, totalizando 80 frutos. As amostras experimentais foram acondicionadas em diferentes minicâmaras experimentais com volume de 0,18 m³ hermeticamente vedadas, de acordo

com as condições dos gases previamente definidas para cada tratamento e acondicionadas em uma câmara frigorífica na temperatura de $1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$).

A temperatura foi mantida em $5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante os cinco primeiros dias e, após, reduzida gradativamente durante uma semana até a temperatura estabelecida para o armazenamento ($1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Da mesma forma a pressão parcial de O_2 foi reduzida até $5,0\text{ kPa}$ no início do armazenamento, por meio da varredura da minicâmara de armazenagem com nitrogênio. A partir desse momento houve uma redução gradativa do O_2 , durante uma semana, proporcionada pela respiração dos frutos, até atingir a concentração pré-estabelecida.

Quando o O_2 estava em um nível abaixo do estipulado, foi injetado ar atmosférico no interior das minicâmaras. Não foi injetado CO_2 nas minicâmaras no início do experimento, sendo que a concentração deste gás foi obtida naturalmente, em função da respiração dos frutos, sendo iniciada a absorção do mesmo quando atingir o nível desejado ($1,5\text{ kPa}$ para AC convencional e $1,2\text{ kPa}$ para ACD) com auxílio de um absorvedor contendo cal hidratada. O monitoramento e a correção destes gases foram realizados diariamente por meio de um sistema de controle automático (Valis[®], Lajeado, RS, Brasil), equipado com um analisador de gases da Siemens[®], modelo Ultramat 23.

A temperatura foi monitorada por meio de termostatos eletrônicos e acompanhada diariamente por meio de termômetros com bulbo de mercúrio com precisão de $0,1^{\circ}\text{C}$, inseridos na polpa de frutos, com oscilação admitida de $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. A umidade relativa no interior das minicâmaras foi mantida em $94\% \pm 1$ por meio da inserção de uma bandeja contendo cloreto de cálcio, permitindo a absorção de parte da umidade do ar. O monitoramento da umidade foi realizado semanalmente por meio de um psicrômetro instalado no interior das minicâmaras.

3.3 INSTALAÇÃO E MONITORAMENTO DA ACD

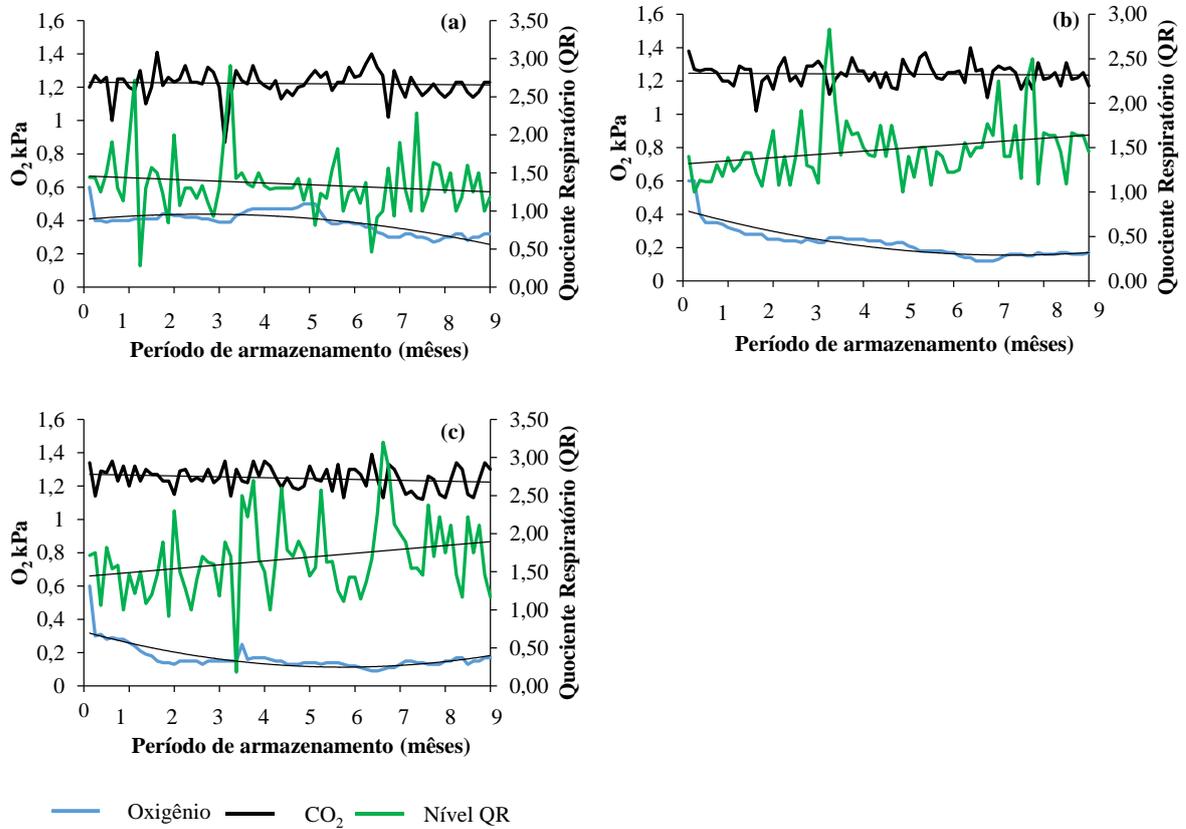
No armazenamento em ACD pelo método da fluorescência de clorofila, os frutos foram colocados em minicâmaras experimentais de $0,18\text{ m}^3$. O sistema de armazenamento de ACD HarvestWatchTM seguiu as recomendações do Prange et al. (2007). Neste sistema, uma amostra representativa de seis maçãs foram colocadas em um kit de monitoramento, produzido pela empresa Satlantic, do Canadá. Este kit é formado por um recipiente plástico perfurado, e possui um sensor de fluorescência de clorofilas - FIRM (*Fluorescence Interactive Response Monitor*) que permanece no escuro, em que é aplicado uma luz de LED (*Light Emitting Diode*) de baixa frequência no fruto. Esse sensor é direcionado para a parte superior do recipiente com o objetivo de captar a resposta emitida pela clorofila presente na epiderme do fruto, na forma de fluorescência, quando estes estão sob estresse por exposição a baixas pressões parciais de O_2 .

Durante os cinco primeiros dias de armazenamento a pressão parcial de O₂ foi mantida em 5,0 kPa e, deste dia em diante, houve uma redução gradativa da pressão parcial do O₂ devido ao consumo deste gás pela respiração dos frutos, até atingir a pressão parcial pré-estabelecida. A pressão parcial de CO₂ foi obtida naturalmente, em função do processo respiratório dos frutos e absorvido, por meio de um absorvedor contendo cal hidratada (Ca(OH)₂), quando a concentração deste gás estava em excesso.

Nas instalações da ACD pelo método da fluorescência de clorofila, um kit contendo as seis maçãs foi colocado dentro da minicâmara de AC, a qual foi posteriormente fechada para a ativação do sistema de monitoramento da fluorescência de clorofila. Com a ativação do sistema, a pressão parcial de O₂ foi reduzida gradativamente até que houvesse a emissão da fluorescência de clorofila, a qual é captada pelo sensor e transmitida para um software analítico, num computador fora da câmara, que gera um gráfico. A partir do registro do primeiro pico de fluorescência de clorofila no gráfico, a pressão parcial de O₂ foi aumentada em 0,2 kPa como fator de segurança, conforme recomendação da pesquisa (PRANGE et al., 2007). Desta forma, ao longo do armazenamento a concentração deste gás foi mantida em 0,4 kPa. A pressão parcial de CO₂ foi mantida em 1,2 kPa durante todo o período de armazenamento. O monitoramento da fluorescência de clorofila foi realizado a cada hora durante todo o experimento e a correção e monitoramento dos gases tanto para AC quanto para ACD (O₂/CO₂) realizado por um sistema de controle automático (Valis[®], Lajeado, RS, Brasil), equipado por meio de um analisador de gases da Siemens[®], modelo Ultramat 23, feito a cada 5 horas.

A determinação do quociente respiratório (QR) foi realizado duas vezes por semana durante os nove meses de armazenamento. Foram medidas as pressões parciais de O₂ e CO₂ logo após o fechamento das minicâmaras para a obtenção do quociente respiratório. Após um período de 13 horas, os níveis dos gases foram novamente mensurados para o cálculo do QR. Este cálculo foi realizado por meio da razão da produção de CO₂ pelo consumo de O₂. A partir deste cálculo, quando o QR estava acima do valor pré-estabelecido a pressão parcial de O₂ era aumentada com o objetivo de reduzir a fermentação e, quando estava abaixo, foi reduzido para aumentar o nível de fermentação e, assim, pela variação da pressão parcial do O₂, foi possível manter o QR nos valores pré-estabelecido em cada tratamento. A pressão parcial de CO₂ permaneceu constante durante todo o período de armazenamento, ficando em 1,2 kPa. Durante o armazenamento os tratamentos com QR 1,3; QR 1,5 e QR 1,7 apresentaram pressões parciais médias de O₂ de 0,39, 0,23 e 0,17 kPa respectivamente, todos com 1,2 kPa de CO₂, conforme pode ser visto na figura 2.

Figura 2 - Níveis de oxigênio, gás carbônico e quociente respiratório durante 9 meses de armazenamento em ACD-QR. ACD-QR 1,3 (a), ACD-QR 1,5 (b), ACD-QR 1,7(c).



3.4 APLICAÇÃO DE 1-METILCICLOPROPENO

Para a aplicação de 1-MCP utilizou-se o produto SmartFresh[®], na concentração de 625 nL L⁻¹, a qual foi calculada em função do volume da minicâmara onde foram armazenados os frutos. O produto foi aplicado no quinto dia após a colheita, quando os frutos estavam expostos à temperatura de 5 °C. O produto SmartFresh[®] na sua formulação pó, foi solubilizado em 20 mL de água destilada, em um recipiente de vidro hermeticamente fechado com um septo de borracha e agitado. Em seguida a solução foi transferida para uma placa de petri, dentro de uma minicâmara onde estavam armazenados os frutos, a qual foi imediatamente fechada. Os frutos ficaram expostos ao produto por um intervalo de 24 horas a 5 °C, e logo após, o ar da minicâmara foi renovado com o auxílio de uma bomba de sucção durante uma hora com o objetivo de retirar algum resíduo do produto de dentro da câmara frigorífica, para não

contaminar tratamentos sem aplicação de 1-MCP. Na sequência, as unidades experimentais com aplicação de 1-MCP foram armazenadas juntamente com aquelas unidades experimentais sem aplicação de 1-MCP.

3.5 VARIÁVEIS ANALISADAS

Após nove meses de armazenamento, no momento da saída dos frutos da câmara, foram realizadas avaliações quanto à incidência e severidade de escaldadura superficial, incidência de podridões e frutos sadios. As demais avaliações foram realizadas após um período de sete dias em que os frutos permaneceram expostos à temperatura de 20 °C com o objetivo de simular o período de prateleira.

a) Atividade da ACC oxidase: foram retiradas algumas amostras de epiderme da região equatorial dos frutos de cada unidade experimental, que totalizaram 3 g. Posteriormente, estas foram imediatamente incubadas numa solução contendo 0,1mM de ACC (Ácido aminociclopropano-1-carboxílico) 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 50 mL nas quais foi adicionado 1 mL de CO₂. Depois de 30 minutos, a concentração de etileno presente nas seringas foi determinada. A atividade da enzima foi expressa pela quantidade de etileno produzido, determinada com um cromatógrafo a gás, marca Varian® modelo Star 3400CX (Varian, Palo Alto, CA, USA), equipado com detector de ionização por chama (FID) e coluna Porapak N80/100. Os dados foram expressos em nL C₂H₄ g⁻¹h⁻¹.

b) Produção de etileno: foi determinado no mesmo cromatógrafo utilizado para avaliar a atividade da ACC oxidase. Foram utilizados aproximadamente 1200g de frutos, colocados em um recipiente de 5 L de volume, que ficaram fechados por aproximadamente 1 hora antes da determinação. Em seguida, duas alíquotas de 1 mL foram retiradas do recipiente e injetadas no cromatógrafo, sendo a síntese de etileno expressa em µL C₂H₄ kg⁻¹h⁻¹.

c) Concentração interna de etileno (CIE): foi determinado a partir do ar extraído do espaço interno das maçãs. Para isso, utilizou-se um dissecador conectado a uma bomba de vácuo sendo admitida a pressão de sucção de 565 mm Hg. Para a determinação foram utilizadas amostras da região equatorial de dez maçãs, as quais foram colocadas em um funil invertido dentro da água do dissecador. O funil invertido, com um septo de borracha na sua extremidade mais fina, permitiu que o ar removido do interior dos frutos ficasse acumulado neste funil. Amostras deste ar (1 mL) foram injetadas em um cromatografo a gás modelo Varian® Star CX

3400, (Varian, Palo Alto, CA, USA), equipado com um detector de ionização por chama (FID) e uma coluna de aço de 2,0 m Porapak N80/100. A temperatura da coluna, do injetor e do detector foram 90, 140 e 200 °C, respectivamente. Os resultados foram expressos em $\mu\text{L L}^{-1}$.

d) Respiração: foi determinada pela quantificação da produção de CO_2 . O ar do mesmo recipiente utilizado para a determinação do etileno foi circulado através de um analisador de CO_2 , marca Schelle®. A respiração foi expressa em $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

e) Etanol, acetaldeído e acetato de etila: Após o armazenamento durante 9 meses, nas condições previamente estabelecidas, os frutos foram mantidos a 20 °C durante 7 dias para simular o período de prateleira. Assim, os compostos da fermentação foram determinados de uma amostra da porção equatorial das maçãs que foram centrifugados para a obtenção do suco. Em seguida, 10 mL deste suco foi acondicionado em frascos ‘vial’ de 20 mL. No momento da determinação dos compostos, o suco foi exposto ao banho-maria a 70°C durante 30 minutos para proporcionar a evaporação dos compostos da fermentação para o *headspace* do frasco. Em seguida, uma amostra de 0,1 mL do ar do *headspace* foi injetado em um cromatógrafo a gás da marca Dani®, modelo Master GC que possui coluna capilar de 60 m de comprimento (DN-WAX Dani®). A temperatura do injetor, do forno e do detector foram 140, 60 e 250°C, respectivamente. Os resultados foram expressos em $\mu\text{L L}^{-1}$.

f) Incidência de escaldadura superficial: foi determinada conforme metodologia proposta por LU et al. (2011), por meio da quantificação dos frutos com sintomas do distúrbio, sendo os resultados expressos em porcentagem dos frutos com escaldadura.

g) Severidade de escaldadura superficial: foi determinada conforme metodologia proposta por LU et al. (2011), com algumas modificações. A avaliação da casca foi realizada visualmente utilizando níveis, os quais caracterizam o percentual da área de superfície do fruto afetada, onde: nenhum = 0; 1 - 10% da superfície afetada = 1; 11 - 33% da superfície afetada = 2; 34 - 66% da superfície afetada = 3 e 67 - 100% da superfície afetada = 4. A severidade foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de escaldadura} = \sum_0^4 \frac{(\text{nível}) \times (\text{frutos neste nível})}{\text{n}^\circ \text{ total de frutos}}$$

h) Concentração de clorofilas e carotenoides totais: foram avaliadas de acordo com o método descrito por Lichtenthaler (1987). Dessa forma, as clorofilas e carotenoides foram extraídos a partir da casca de maçã ‘Granny Smith’ com uma solução de acetona a 80% (v/v).

A leitura da absorção foi obtida com um espectrofotômetro (Femto, 700 plus, SP, Brasil) em 470, 647 e 663 nm. As expressões a seguir foram utilizadas para a sua quantificação:

$$(1) \quad \text{Clorofilas totais} = 7,15 \quad (663\text{nmAbsorbância}) + 18,71 \quad (647\text{nmAbsorbância})$$

$$(2) \quad \text{Clorofila 'a'} = 12,25 \quad (663\text{nmAbsorbância}) - 2,79 \quad (647\text{nmAbsorbância})$$

$$(3) \quad \text{Clorofila 'b'} = 21,50 \quad (647\text{nmAbsorbância}) - 5,10 \quad (663\text{nmAbsorbância})$$

$$(4) \quad \text{Carotenóides totais} = [1000 \quad (470\text{nmAbsorbância}) - 1,82 \quad \text{Chl 'a'} - 85,02 \quad \text{Chl 'b'}] / 198.$$

i) Coloração da epiderme: foi avaliada com um colorímetro eletrônico, marca Minolta na escala de cor CIE $L^*c^*h^*$, onde o L^* representa a claridade, o c^* (croma) indica a variação da cor a partir da origem (varia de 0 a 60) e h^* (ângulo hue) indica a variação do ângulo da cor (varia de 0 a 360°, onde 0° = vermelho; 90° = amarelo, 180° = verde; e 270° = azul). Quanto menor o h^* (de 180° para mais próximo de 90°) mais amarelos são os frutos.

j) Bitter pit: foi determinado pela contagem dos frutos que apresentaram lesões do tipo “bitter pit”, sendo os resultados expressos em percentual de frutos com lesões deste distúrbio. Essas lesões são caracterizadas por uma discreta mancha na polpa, de coloração escura, que se torna desidratada com o tempo, criando assim pequenas depressões na epiderme do fruto. As manchas podem ocorrer predominantemente na região próximo ao córtex do fruto ou em casos mais severos essas manchas podem ocorrer em maior quantidade levando a uma maior área afetada (FERGUSON; WATKINS, 1989).

k) Firmeza de polpa: foi determinada por meio da inserção de um penetrômetro da marca Effegi com ponteira de 11mm de diâmetro na região equatorial dos frutos, em dois lados opostos após a retirada da epiderme. Os dados foram expressos em Newton (N).

l) Suculência: foi determinada através da prensagem de 20g de polpa de maçã durante um minuto. A amostra foi submetida ao peso de 1,5 t, numa prensa pneumática, desenvolvida para este fim, no NPP/UFES (LUNARDI et al., 2004). A quantidade de suco foi obtida pela diferença do peso inicial da amostra de polpa e o peso final (após a prensagem). A suculência foi expressa em porcentagem, que representa gramas de suco por 100 gramas de polpa;

m) Difusão de gases: foi determinada por meio da quantificação da difusão do CO_2 em uma fatia de polpa com 0,5 cm de espessura e 2,17 cm de diâmetro, retirada longitudinalmente na região equatorial do fruto, a qual foi colocada em um aparelho que contém duas câmaras, as quais são separadas e vedadas pela amostra de polpa, adaptado da metodologia de Schotsmans et al. (2003). Em uma das câmaras foi injetado CO_2 na concentração de 20,0

kPa e, após o período de uma hora, o CO₂ que difundiu pela polpa e se acumulou na outra câmara, foi quantificado com um cromatógrafo a gás, marca Dani, modelo Master GC, equipado com coluna capilar CarboxenTM 1006 Plot. O resultado foi expresso em mL CO₂ m⁻² s⁻¹.

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

o) Sólido solúveis (SS): foi obtido por refratometria, com correção da temperatura, a partir do suco extraído de cada amostra de 20 frutos. Os resultados foram expressos em °Brix.

p) Degenerescência de polpa: foi determinada por meio de cortes na região transversal dos frutos, fazendo a contagem daqueles que apresentavam regiões escurecidas e com aspecto umedecido da polpa, determinando assim a proporção de frutos afetados com sintomas do distúrbio;

q) Ocorrência de podridões: foram avaliados pela quantificação dos frutos que apresentaram lesões com diâmetro superior a 5mm ou características de ataque de patógenos, sendo os resultados expressos em porcentagem de frutos podres.

r) Frutos sadios: foi determinado pela contagem de frutos que não apresentavam nenhum dos distúrbios acima avaliados, sendo os resultados expressos em porcentagem.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, no esquema bifatorial. O fator A refere-se às condições de atmosfera controlada (AC convencional e ACD) e o fator B à aplicação do composto 1-MCP (com e sem aplicação). Cada tratamento foi constituído de quatro repetições, contendo 20 frutos. Antes da análise de variância (ANOVA), os dados foram submetidos aos testes de normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias dos tratamentos pela técnica Box-Cox, utilizando o programa estatístico Action. As variáveis que não apresentaram normalidade dos erros foram transformadas pela fórmula $\text{arc.sen} \sqrt{(x+0,5)/100}$, e as variáveis cujos erros se apresentaram heterocedásticos foram transformados pela fórmula $\log_{10}(x + 1,0)$, antes de serem submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Para a análise dos dados foram utilizados os programas Microsoft Office Excel e o programa estatístico Sisvar da Universidade Federal de Lavras (FERREIRA, 2000).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A redução da atividade da enzima ACC oxidase é um fator limitante para a produção de etileno e conseqüente amadurecimento dos frutos, uma vez que esta enzima é precursora imediata do etileno. Houve interação significativa entre as condições de armazenamento e aplicação de 1-MCP na avaliação da atividade da enzima ACC oxidase (Tabela 2). A aplicação de 1-MCP reduziu substancialmente a atividade da ACC oxidase em todas as condições de armazenamento. Outros estudos também observaram menor atividade desta enzima em frutos que receberam aplicação de 1-MCP (BRACKMANN et al., 2012a; BRACKMANN et al., 2013; THEWES et al., 2015b). Outros autores observaram que a menor atividade da enzima ACC oxidase para os frutos que receberam aplicação de 1-MCP, possivelmente pode ter relação com a baixa expressão do gene *MdACO1*, que foi reduzido pela aplicação de 1-MCP (WAKASA et al., 2006; TATSUKI et al., 2007). Analisando os frutos sem aplicação de 1-MCP verifica-se que aqueles armazenados em AC convencional apresentaram maior atividade da enzima, visto que a maior concentração de oxigênio foi utilizada nesta condição de armazenamento e a enzima ACC oxidase é altamente dependente da presença de O₂ para sua conversão do ACC a etileno (YANG; HOFFMAN, 1984; DeLONG; BOOKER, 2015). Os frutos armazenados em ACD-QR 1,5 e ACD-QR 1,7 apresentaram menor atividade desta enzima. Este resultado deve estar relacionado com a baixíssima concentração de oxigênio na câmara, mas também pode estar relacionado com a maior produção de etanol e acetaldeído observado nestas condições de armazenamento (Tabela 3). O nível de oxigênio reduzido nas câmaras de armazenamento reduz o metabolismo oxidativo, ativa as vias fermentativas, o que induz a produção de etanol (IMAHORI et al., 2013). Assim, o amadurecimento pode ser retardado pela produção induzida de etanol ou sua aplicação (ASODA et al., 2009), especialmente por diminuir a atividade da ACC-oxidase e produção de etileno (PESIS et al., 2005; PESIS et al., 2010; LIU et al., 2012).

Tabela 2 - Atividade da enzima ACC oxidase e concentração interna de etileno de maçãs 'Granny Smith' após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1- MCP	Com 1-MCP	Média
	ACC oxidase (nL C ₂ H ₄ g ⁻¹ h ⁻¹) - 7 dias a 20 °C		
AC Convenc. 1,0+1,5**	299,8 ± 20,70 Aa*	10,3 ± 2,13 Ba	155,1
ACD- QR 1,3 + 1,2	208,5 ± 16,65 Ab	12,1 ± 2,11 Ba	110,3
ACD- QR 1,5 + 1,2	157,3 ± 15,83 Ac	5,68 ± 3,10 Ba	81,5
ACD- QR 1,7 + 1,2	165,6 ± 19,54 Ac	3,08 ± 1,24 Ba	84,4
ACD- FC + 1,2	217,6 ± 23,43 Ab	5,81 ± 0,24 Ba	111,7
Média	209,8	7,38	-
Concentração interna de etileno-7 dias a 20 °C (µL C₂H₄ L⁻¹)			
AC Convenc. 1,0+1,5	134,8 ± 56,24	1,31 ± 0,36	68,1a
ACD- QR 1,3 + 1,2	110,4 ± 21,27	0,95 ± 0,28	55,7 ^a
ACD- QR 1,5 + 1,2	100,1 ± 21,21	0,88 ± 0,38	50,5 ^a
ACD- QR 1,7 + 1,2	95,1 ± 12,29	0,60 ± 0,04	47,9 ^a
ACD- FC + 1,2	116,6 ± 30,93	1,34 ± 0,35	58,9 ^a
Média	111,4A	1,02B	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

ACC oxidase na colheita: 2,64 nL C₂H₄ g⁻¹ h⁻¹

A concentração interna de etileno (CIE) não apresentou diferença significativa entre as condições de armazenamento, entretanto, a aplicação de 1-MCP reduziu substancialmente a CIE em todas as condições de armazenamento (Tabela 2). Possivelmente, a menor CIE nos frutos tratados com 1-MCP deve-se à menor atividade da enzima ACC oxidase (Tabela 2), uma vez que esta enzima catalisa a última etapa da biossíntese de etileno (YANG; HOFFMANN, 1984) e, além disso, foi observada uma correlação de Pearson positiva para estes dois parâmetros (Figura 5). Este resultado está consistente com outros estudos que encontraram

maior CIE em maçãs ‘Delicious’ e ‘Gala’ não tratadas com 1-MCP e perda atributos de qualidade, como firmeza de polpa (WATKINS; NOCK, 2005).

Um das principais formas de reduzir as perdas pós-colheita e prolongar o tempo de armazenamento é agir sobre a produção e ação do etileno (STEFFENS et al., 2006; WATKINS, 2006; SALAS et al., 2011). Na avaliação da produção de etileno do presente estudo, houve interação significativa entre as condições de armazenamento e aplicação de 1-MCP na abertura das câmaras e aos 7 dias de vida de prateleira (Figura 3a). Os frutos armazenados em AC convencional sem aplicação de 1-MCP apresentaram maior produção de etileno, diferindo das demais condições de armazenamento. Esta alta produção de etileno pode ser associada à maior atividade da enzima ACC oxidase, observada em AC convencional, visto que as duas variáveis apresentaram correlação positiva (Figura 4). Thewes et al. (2015a) também encontraram maior produção de etileno em maçãs ‘Royal Gala’ e ‘Galaxy’, armazenadas em AC em comparação com ACD-FC e ultra baixo de oxigênio. Da mesma forma que Weber et al. (2015), comparando AC, ACD-FC e ACD-QR, também encontraram menor produção de etileno nos frutos armazenados em ACD comparado a AC. Yang; Hoffman (1984) relataram que altas pressões parciais de oxigênio utilizadas no armazenamento, como as em atmosfera controlada convencional, proporcionam maior atividade da enzima ACC oxidase, uma vez que essa enzima necessita de O₂ para conversão de ACC (Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) a etileno. Portanto, de acordo com a análise de correlação a maior produção de etileno está relacionada a maior atividade da enzima ACC oxidase (Figura 4).

A aplicação de 1-MCP apenas foi eficiente na redução da produção de etileno nos frutos armazenados em AC convencional e em ACD-RQ 1,7, na análise da saída da câmara. Sabban-Amin et al. (2011) observaram que o 1-MCP suprimiu completamente a expressão do gene *MDACS* em maçãs ‘Granny Smith’, levando a produção de etileno a quase zero para esta cultivar. Em relação aos frutos que receberam aplicação de 1-MCP não houve diferença entre os tratamentos, porém observa-se baixa produção de etileno em todas as condições.

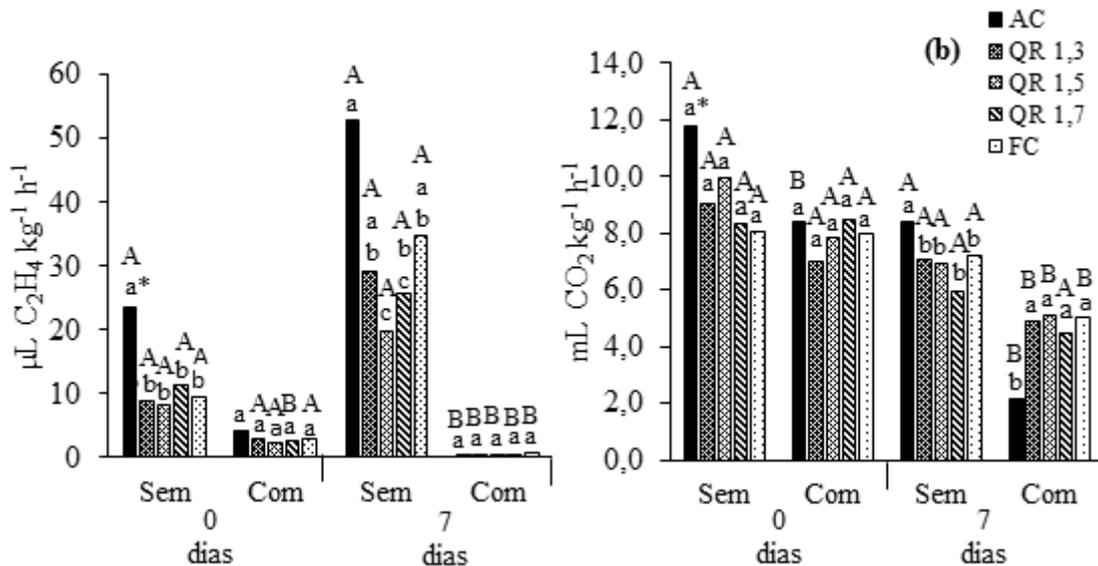
Avaliando a produção de etileno aos 7 dias de vida de prateleira a 20°C, observa-se que quando houve aplicação de 1-MCP, a taxa de produção de etileno não variou estatisticamente entre as condições de armazenamento testadas, enquanto que sem aplicação de 1-MCP, a produção de etileno variou, sendo maior nos frutos armazenados em AC e ACD-FC. O tratamento ACD-QR 1,5 apresentou menor produção de etileno, quando não foi aplicado 1-MCP, aos 7 dias de vida de prateleira. Possivelmente a baixa concentração de oxigênio (0,23 kPa O₂) mantida durante o armazenamento propiciou menor produção de etileno para esta condição. Baixas pressões parciais de oxigênio induzem a produção de etanol e acetaldeído,

que em pequenas concentrações também podem interferir na síntese de etileno e reduzir a produção deste fito-hormônio (PESIS et al., 2005; PESIS et al., 2010; JIN et al., 2013). Outro fato a ser observado é que aos 7 dias em 20 °C a produção de etileno sempre foi menor quando foi aplicado 1-MCP, mesmo nas condições de ACD-QR, diferente de outros resultados obtidos por Both (2015), em que a aplicação de 1-MCP não trouxe benefícios no armazenamento de maçãs ‘Fuji Kiku’ em ACD-QR. Porém para maçãs ‘Royal Gala’, Weber (2013) verificou benefícios na qualidade dos frutos associando a aplicação de 1-MCP com ACD-QR.

Na avaliação da taxa respiratória, observou-se interação significativa entre ACD e aplicação de 1-MCP (Figura 3b). Na abertura das câmaras, o efeito benéfico do 1-MCP só foi observado nos frutos armazenados em AC convencional, reduzindo a respiração dos frutos armazenados nesta condição. Não foi observada diferença estatística na taxa respiratória entre as condições de armazenamento, para os frutos tratados e não tratados com 1-MCP. No entanto, Weber et al. (2015) observaram redução na taxa de respiração nos frutos armazenados na condição de ACD-QR, demonstrando que essa tecnologia é mais eficiente que AC convencional. Aos 7 dias de vida de prateleira, o 1-MCP suprimiu a taxa respiratória em todas as condições de armazenamento, exceto nos frutos armazenados em ACD-QR 1,7, demonstrando que a aplicação deste composto não é necessária quando se utiliza esta condição de armazenamento. Analisando os frutos sem aplicação de 1-MCP, verifica-se que maçãs armazenadas em AC convencional apresentaram maior taxa respiratória em comparação com os métodos de ACD-QR e ACD-FC, demonstrando que quanto mais baixo o nível de oxigênio utilizado durante o armazenamento, menor a taxa de respiração. Wright et al. (2015) também observaram redução na respiração de frutas quando armazenadas em ACD, devido à baixa pressão parcial de oxigênio utilizada durante o armazenamento. Com relação à aplicação de 1-MCP, verifica-se que frutos armazenados em AC convencional apresentaram respiração estatisticamente menor, diferindo dos demais tratamentos.

Normalmente, a taxa de respiração está relacionada com a taxa de produção de etileno, especialmente quando o nível de oxigênio nas câmaras de armazenamento é muito alto. Se a taxa respiratória é baixa, todo metabolismo é reduzido e a qualidade dos frutos é mantida (THOMPSON, 2010). Assim, corroborando com este autor foi encontrada correlação positiva para essas duas variáveis (Figura 4). Weber et al. (2015) testando diferentes níveis de QR em maçãs ‘Royal Gala’ observaram menor taxa respiratória nos frutos armazenados sob ACD-QR 2,0 quando comparados com AC convencional, porém também foi observado que utilizando níveis de QR mais elevados para esta cultivar, não houve redução na taxa respiratória das maçãs armazenadas em QR em relação a AC convencional.

Figura 3 - Taxa de produção de etileno e taxa respiratória de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.



* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

**AC com 1.0 kPa O_2 /1.5 kPa CO_2 ; ACD com 1.2 kPa de CO_2 .

Produção de etileno na colheita: $0,02 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Taxa respiratória na colheita: $2,57 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

O armazenamento de frutos em pressões parciais excessivamente baixas de oxigênio pode causar respiração anaeróbica com produção de compostos como acetaldeído, etanol e acetato de etila (PESIS et al., 1998; PESIS, 2005; SAQUET; STREIF, 2008), que influenciam no aroma e são capazes de retardar e inibir a produção de etileno, interferindo diretamente na manutenção da qualidade dos frutos. No presente estudo, houve interação significativa para a produção de acetaldeído (Tabela 3). Frutos tratados com 1-MCP e armazenados sob ACD-QR 1,3, ACD-QR 1,5 e ACD-QR 1,7 apresentaram menor produção de acetaldeído em comparação a frutos não tratados com 1-MCP. Lee et al. (2012) também observaram efeito benéfico do 1-MCP na redução de metabólitos da fermentação como acetaldeído e etanol em frutos armazenados em atmosfera controlada. Analisando os frutos não tratados com 1-MCP, observou-se diferenças entre as condições de armazenamento. Frutos armazenados em ACD-

QR 1,5 e ACD-QR 1,7 apresentaram maior produção de acetaldeído. Provavelmente isto ocorreu devido à baixa pressão parcial de oxigênio mantida nestas condições durante o armazenamento (Figura 2b e c), que proporcionou maior respiração anaeróbica e, conseqüentemente, maior produção de acetaldeído. Alguns trabalhos relatam o efeito maléfico do acetaldeído às células, causando escurecimento nos tecidos (PESIS et al., 1998; LEE et al., 2012), mas não apontam em que quantidade esse composto pode ser danoso. Por outro lado, Pesis et al. (2005) relatam que o acetaldeído é mais efetivo na inibição do etileno, do que qualquer outro composto da fermentação, podendo assim favorecer positivamente a manutenção da qualidade dos frutos. Com relação à aplicação de 1-MCP, os frutos armazenados em AC convencional e ACD-QR 1,3 apresentaram menor produção de acetaldeído, diferindo estatisticamente apenas da ACD-QR 1,7 e sendo estatisticamente semelhante à ACD-QR 1,5 e ACD-FC.

De maneira similar à produção de acetaldeído, observou-se interação significativa para a produção de etanol (Tabela 3). Frutos tratados com 1-MCP e armazenados sob ACD-QR 1,5 apresentaram menor concentração de etanol, enquanto que frutos armazenados em ACD-QR 1,7, produziram mais etanol e a aplicação do 1-MCP não teve efeito na produção desse composto. Analisando os frutos sem aplicação de 1-MCP, observa-se diferenças entre as condições de armazenamento. Similarmente à produção de acetaldeído, maçãs armazenadas em ACD-QR 1,5 e ACD-QR 1,7 apresentaram maior concentração de etanol, devido à baixa disponibilidade de oxigênio para essas condições de armazenamento (Figura 2b e c). A produção de etanol aumentou concomitantemente à produção de acetaldeído, sendo observado correlação positiva para essas duas variáveis (Figura 5). Este fato ocorreu devido à indução da atividade da enzima álcool desidrogenase (ADH) que converte acetaldeído a etanol usando NADH gerado na glicólise a partir da acumulação de piruvato (KE; MATEOS; KADER, 1993; KE et al., 1994; SAQUET; STREIF, 2008; LEE et al., 2012). Frutos armazenados em ACD-FC apresentaram concentração de etanol similar àqueles armazenados em AC convencional e ACD-QR 1,3.

Concentrações de oxigênio extremamente baixas durante o armazenamento levam à diminuição do pH citoplasmático, ativando as enzimas piruvato descarboxilase (PDC) e álcool desidrogenase (ADH), promovendo a acumulação de etanol e aumentando a emissão de ésteres etílicos, principalmente o acetato de etila catalizado pela enzima álcool acetiltransferase (AAT) (KE et al., 1994; LARA, 2010). Analisando a produção de acetato de etila no presente estudo, não foi observado diferença significativa para a aplicação de 1-MCP, apenas entre as condições de armazenamento. Alguns trabalhos relataram que o uso do 1-MCP suprime a produção de

compostos voláteis, como o acetato de etila, importante composto responsável pelo aroma da maçã (RUPASINGHE et al. 2000; KONDO et al., 2005; MOYA- LEON et al., 2007). Porém neste trabalho a aplicação do 1-MCP não apresentou efeito na produção desse composto. Da mesma forma o etanol, precursor do acetato de etila, teve maior produção nos frutos armazenados sob ACD-QR 1,5 e ACD-QR 1,7, porém estes armazenados em ACD-QR 1,5 foram estatisticamente iguais à AC, ACD-QR 1,3 e ACD-FC. Em baixos níveis ou em curta duração, a fermentação geralmente não é um problema e pode ser um benefício comercial (WRIGHT et al., 2015), porém concentrações de acetato de etila, acetaldeído e etanol em excesso pode resultar no desenvolvimento de *off-flavours* e odor (KE et al., 1994; WRIGHT et al., 2015).

Tabela 3 - Produção de compostos da fermentação de maçãs 'Granny Smith' após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 ° C.

Tratamento	Sem 1 -MCP	Com 1-MCP	Média
	Acetaldeído ($\mu\text{L L}^{-1}$)		
AC Convenc. 1,0+1,5**	44,3 \pm 2,0 Ac*	13,9 \pm 2,27 Ab	29,12
ACD- QR 1,3 + 1,2	109,2 \pm 5,26 Abc	40,3 \pm 2,92 Bb	74,8
ACD- QR 1,5 + 1,2	200,0 \pm 12,32 Ab	96,4 \pm 3,85 Bab	148,2
ACD- QR 1,7 + 1,2	348,4 \pm 9,72 Aa	169,8 \pm 12,01 Ba	259,1
ACD- FC + 1,2	123,8 \pm 10,81 Abc	92,9 \pm 8,71 Aab	108,3
Média	165,18	82,6	-
	Etanol ($\mu\text{L L}^{-1}$)		
AC Convenc. 1,0+1,5	37,4 \pm 1,69 Ac	40,5 \pm 1,83 Ab	38,9
ACD- QR 1,3 + 1,2	99,6 \pm 6,60 Ac	93,7 \pm 2,56 Ab	96,6
ACD- QR 1,5 + 1,2	1115,1 \pm 40,31 Ab	208,7 \pm 7,92 Bb	661,9
ACD- QR 1,7 + 1,2	1861,5 \pm 63,54 Aa	2181,3 \pm 101,47Aa	2021,4
ACD- FC + 1,2	196,2 \pm 2,48 Ac	131,7 \pm 1,41 Ab	164,0
Média	661,95	531,2	-
	Acetato de etila ($\mu\text{L L}^{-1}$)		
AC Convenc. 1,0+1,5	0,62 \pm 0,03	0,26 \pm 0,06	0,44b
ACD- QR 1,3 + 1,2	0,85 \pm 0,16	0,05 \pm 0,01	0,45b
ACD- QR 1,5 + 1,2	6,59 \pm 0,89	4,95 \pm 1,17	5,77b
ACD- QR 1,7 + 1,2	32,1 \pm 1,77	28,8 \pm 3,89	30,5 ^a
ACD- FC + 1,2	1,73 \pm 0,30	1,45 \pm 0,13	1,59b
Média	8,27A	7,11A	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

Escaldadura superficial é um distúrbio fisiológico importante comercialmente que ocorre em maçãs e peras durante o armazenamento (ISIDORO; ALMEIDA, 2006; GUERRA et al., 2012), ocasionando perdas de qualidade e econômicas. Na maçã 'Granny Smith' é o principal determinante da perda da qualidade comercial. Após nove meses de armazenamento na temperatura de 1,5 °C mais 7 dias de vida de prateleira a 20 °C houve interação significativa entre ACD e aplicação de 1-MCP para os parâmetros incidência e severidade de escaldadura superficial (Tabela 4). Analisando os frutos sem aplicação de 1-MCP, verifica-se que aqueles armazenados em AC convencional apresentaram maior incidência e severidade de escaldadura.

Os frutos armazenados em ACD-QR 1,5 não apresentaram incidência desse distúrbio, demonstrando que o armazenamento nessa condição é eficaz na redução da escaldadura. Verifica-se ainda que o armazenamento em ACD-QR 1,5 é mais eficiente na redução da escaldadura superficial comparado a ACD-FC. Além disso, quando as maçãs foram armazenadas em ACD-QR 1,5 e QR 1,7 a aplicação de 1-MCP não trouxe nenhum benefício na redução desse distúrbio, sugerindo que sua aplicação pode ser dispensada. Porém é necessária quando os frutos são armazenados em AC e ACD-FC. O efeito do baixo nível de oxigênio sob o controle da escaldadura é claramente visível nos tratamentos ACD-QR 1,5 e ACD-QR 1,7, visto que a maior disponibilidade de oxigênio para os frutos armazenados em AC e ACD-FC levou à maior oxidação de α -farneseno e incidência do distúrbio. A ação do baixo oxigênio provavelmente está associado com a redução dos processos oxidativos do α -farneseno (RAO et al., 1998; ZANELLA, 2003) e redução na produção de etileno. Esse baixo nível de O_2 é aparentemente o fator responsável pelo controle da escaldadura, ao reduzir o metabolismo de α -farneseno (CHEN et al., 1993). Outras pesquisas com a cultivar em estudo e maçãs ‘Cortland’ e ‘Delicious’ observaram a necessidade de aplicação do 1-MCP para o controle da escaldadura superficial em maçãs armazenadas em AR (LU et al., 2013; FARNETI et al., 2015).

As concentrações de oxigênio utilizadas durante o armazenamento podem explicar a incidência de escaldadura observada. Durante o armazenamento a média da concentração de oxigênio nos tratamentos AC, ACD-QR 1,3, ACD-QR 1,5, ACD-QR 1,7 e ACD-FC foram respectivamente 1,0 kPa O_2 , 0,39 kPa O_2 , 0,23 kPa O_2 , 0,17 kPa O_2 e 0,40 kPa O_2 (Figura 2). As concentrações extremamente baixas de oxigênio utilizadas nas condições de ACD-QR 1,5 e QR-1,7, possivelmente proporcionaram um início do processo fermentativo, com uma maior produção de etanol e acetaldeído nestes tratamentos. A produção desses compostos, desempenha um papel na inibição da produção de etileno em várias frutas (PESIS, 2005; PESIS et al., 2010). Portanto, uma vez que a produção de compostos voláteis tem uma correlação positiva com a produção de etileno (LURIE et al., 2002; BANGERTH et al., 2012; DEFILIPPI et al., 2005), uma elevada produção deste fito-hormônio pode interferir diretamente na produção do composto α -farneseno. A taxa de produção de etileno tem sido relacionada como reguladora da síntese de α -farneseno, por regular a expressão do gene que codifica hidroximetilglutaril-CoA-redutase (HMGR) e/ou a α -farneseno sintase (DU; BRAMLAGE, 1994; JU; CURRY, 2000) e este fato pode explicar, em parte, porque o 1-MCP tem sido utilizado com sucesso para controlar a escaldadura superficial em alguns casos (ZANELLA, 2003; LURIE et al., 2005; MAGAZIN et al., 2010; MOGGIA et al., 2010; ZANELLA; STÜRZ,

2013). No presente estudo, observou-se correlação positiva entre CIE (concentração interna de etileno) e incidência/severidade do distúrbio (Figura 4), ou seja, quanto maior a CIE, maior a incidência de escaldadura superficial.

Trabalhos anteriores observaram aumento no nível de etanol endógeno com a utilização de pré-tratamentos com baixa concentração de oxigênio seguido de armazenamento em AC, o qual reduziu a produção de etileno que contribuiu para a diminuição do desenvolvimento da escaldadura (SCOTT; YUEN; GJAJRAMANI, 1995; GHARAMANI; SCOTT, 1998; PESIS et al., 2007, 2010; SABBAN-AMIN et al., 2011; RIZZOLO et al., 2015), corroborando com os resultados deste trabalho. Essa redução na produção de etileno é resultado do efeito do etanol na atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase (ASODA et al., 2009; WEBER, 2010; JIN et al., 2013). Neste sentido, há baixa produção de etanol em maçãs quando o nível de oxigênio inicial está abaixo do ponto de compensação anaeróbico (PCA) e, esta mínima quantidade é incapaz de desenvolver a escaldadura (WANG; DILLEY, 2000).

Por outro lado, muitos estudos têm demonstrado que o inibidor da ação do etileno, 1-MCP, pode inibir o desenvolvimento de escaldadura em maçãs, confirmando que o etileno é um importante indutor do desenvolvimento da escaldadura e síntese de α -farneseno (FAN; MATTHEIS, 1999; RUPASINGHE et al., 2000; PECHOUS; WHITAKER, 2004; GAPPER et al., 2006; SABBAN-AMIN et al., 2011). Porém, nos resultados deste trabalho, a aplicação do 1-MCP não apresentou nenhum benefício na redução deste distúrbio, podendo a aplicação ser dispensada quando os frutos são armazenados em ACD-QR 1,5 e QR 1,7. Portanto, um fato economicamente importante para o controle deste distúrbio no presente trabalho é que mesmo sem aplicação de 1-MCP, a incidência da escaldadura superficial reduziu de 81,3% em AC convencional para zero com a utilização de ACD-QR 1,5. Estes resultados demonstram que o uso da ACD pelo método do quociente respiratório (WEBER et al., 2015; BRACKMANN; WEBER; BOTH, 2015) pode controlar a escaldadura superficial, por meio do manuseio e redução das pressões parciais de O_2 durante o armazenamento, inibindo a síntese de etileno e α -farneseno de maneira similar ao uso do 1-MCP, prevenindo, assim, a formação de α -farneseno e sua oxidação que leva à manifestação do distúrbio. Watkins (2008) mostrou que ACD-FC foi especialmente efetiva na redução do desenvolvimento de escaldadura em maçãs ‘Cortland’ e ‘Delicious’.

Tabela 4 - Incidência e severidade de escaldadura superficial em maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1- MCP	Com 1-MCP	Média
	Incidência da escaldadura superficial (%) - 7 dias a 20°C		
AC- Convenc. 1,0+1,5**	81,3 ± 6,29 Aa*	1,25 ± 2,50 Ba	41,25
ACD- QR 1,3 + 1,2	12,1 ± 14,16 Ab	0,00 ± 0,00 Ba	6,04
ACD- QR 1,5 + 1,2	0,00 ± 0,00 Ac	2,57 ± 2,96 Aa	1,28
ACD- QR 1,7 + 1,2	5,14 ± 0,28 Abc	3,75 ± 4,78 Aa	4,44
ACD- FC + 1,2	8,88 ± 2,60 Ab	2,50 ± 5,00 Ba	5,69
Média	21,5	2,01	-
	Severidade da escaldadura superficial (0 - 4)^I - 7 dias a 20°C		
AC- Convenc.1,0+1,5	1,34 ± 0,170 Aa	0,01 ± 0,02 Ba	0,68
ACD- QR 1,3 + 1,2	0,16 ± 0,246 Ab	0,00 ± 0,00 Ba	0,08
ACD- QR 1,5 + 1,2	0,00 ± 0,00 Ac	0,03 ± 0,03 Aa	0,01
ACD- QR 1,7 + 1,2	0,03 ± 0,03 Abc	0,04 ± 0,04 Aa	0,03
ACD- FC + 1,2	0,09 ± 0,04 Ab	0,03 ± 0,05 Ba	0,04
Média	0,32	0,02	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

^I Severidade da escaldadura (Índice)^I

Escala para avaliação do índice: nenhum = 0; 1 - 10% = 1; 11 - 33% = 2; 34 - 66% = 3 e 67 - 100% = 4.

Clorofilas e carotenóides são compostos lipofílicos que são sintetizados e acumulados em organelas especializadas (cloroplastos e cromoplastos) dentro das células das plantas (DELGADO-PELAYO et al., 2014). A degradação desses pigmentos está altamente correlacionada com a mudança da coloração na casca dos frutos (CHAROENCHONGSUK et al., 2015). Neste sentido, na avaliação do conteúdo de clorofilas totais e carotenóides na cultivar de maçã em estudo foi verificada interação significativa entre as condições de armazenamento e aplicação de 1-MCP (Tabela 5). A condição de ACD-QR 1,7 sem aplicação de 1-MCP retardou a degradação da clorofila, proporcionando maior concentração desse pigmento nos frutos armazenados nesta condição, após nove meses de armazenamento, não diferindo dos frutos armazenados sob ACD-QR 1,5, indicando que a menor concentração de oxigênio nesses

tratamentos proporcionou menor degradação da clorofila. A rota de degradação das clorofilas segue vários passos, e um deles é a abertura da estrutura de porfirina por uma enzima oxigenase (dependente de oxigênio), formando um tetrapirrol de cadeia aberta (TAIZ; ZEIGER, 2013). Assim, a menor disponibilidade de oxigênio para esta enzima reduz a quebra das clorofilas. Uma outra possível explicação está relacionada ao efeito do etileno no catabolismo da clorofila. A menor produção de etileno decorrente da menor concentração de oxigênio nestes tratamentos está correlacionada com a maior concentração de clorofilas, uma vez que é possível observar uma correlação negativa para esses parâmetros (Figura 4). Estes resultados podem indicar que o aumento de etileno endógeno pode atuar como um sinal para estimular o catabolismo da clorofila na casca do fruto (CHAROENCHONGSUK et al., 2015). No entanto, a concentração de clorofilas totais reduziu nos frutos armazenados na condição de AC convencional e ACD-FC devido à maior concentração de oxigênio, causando maior oxidação das clorofilas. A menor concentração desse pigmento foi verificada nos frutos armazenados em ACD-QR 1,3, não diferindo estatisticamente da condição de AC e ACD-FC. Os frutos tratados com 1-MCP e armazenados na condição de AC convencional, ACD-QR 1,3 e ACD-FC, mantiveram a coloração da casca verde. Em contraste, os frutos nestas condições e não tratados com 1-MCP tiveram menor conteúdo de clorofilas totais. Em ACD-QR 1,5 e 1,7 não há diferença entre aplicação e não aplicação de 1-MCP, demonstrando que não é necessário a aplicação do produto para essas condições, enquanto nos demais tratamentos a aplicação do composto traz um benefício. O 1-MCP retarda a degradação da clorofila, pois esta ocorre pela ação das clorofilases, cuja síntese é exclusivamente dependente do etileno. Este processo pode causar perda de valor de mercado especialmente no caso de maçãs ‘Granny Smith’ (ZANELLA, 2003; WATKINS, 2006).

A degradação da clorofila é um componente chave na mudança da composição de pigmentos que ocorre normalmente nos frutos (DELGADO-VARGAS et al., 2000). Na avaliação do conteúdo de carotenoides verificou-se que os frutos não tratados com 1-MCP e armazenados na condição de AC convencional apresentaram maior degradação da clorofila e, maior conteúdo de carotenóides, diferindo estatisticamente das demais condições de armazenamento (Tabela 5). O conteúdo de carotenoides dos frutos armazenados em ACD-QR 1,3, diferiu estatisticamente daqueles armazenados em ACD-FC, porém foi igual estaticamente ao encontrado nos frutos armazenados em ACD-QR 1,7 e ACD-QR 1,5. A aplicação de 1-MCP teve pouco efeito no conteúdo de carotenoides, demonstrando eficiência apenas nos frutos armazenados na condição de AC convencional. Não foi observada diferença entre as condições de armazenamento nos frutos tratados com 1-MCP.

Longos períodos de armazenamento em baixas temperaturas leva ao surgimento de manchas escuras na casca dos frutos caracterizando os sintomas da escaldadura superficial. Essas manchas escuras podem ser relacionadas não só à oxidação do sesquiterpeno α -farneseno como também à oxidação da clorofila na casca da maçã que leva ao surgimento de outros compostos que, quimicamente, podem ser identificados como carotenoides devido a sua coloração. Em função disso, foi possível observar uma correlação positiva entre a incidência e severidade da escaldadura com o surgimento dos carotenoides (Figura 5). Além disso, como o etileno induz a degradação da clorofila (DELGADO et al., 2014), uma correlação positiva foi verificada entre a CIE e a concentração de carotenoides (Figura 4).

O surgimento dos carotenoides na casca da maçã 'Granny Smith' pode representar perdas comerciais, uma vez que a cor característica desta cultivar é o verde intenso. Porém, atualmente os pigmentos clorofilianos são de grande importância comercial, podendo ser utilizados tanto como pigmentos quanto como antioxidantes. Os carotenoides presente em frutas e vegetais apresentam importante papel devido à atividade da vitamina A, além de apresentar considerável capacidade antioxidante (SKIBSTED, 2012; STEPHENSEN, 2013), porém a presença desses pigmentos na cultivar em estudo danifica a aparência visual dos frutos.

Um fato importante a ser considerado é que existe na literatura relatos sobre a interferência do 1-MCP no retardo da degradação de pigmentos como a clorofila (WATKINS, 2006; GÓMEZ-LOBATO et al., 2012; CHENG et al., 2012), porém não existem relatos sobre a degradação da clorofila e o surgimento de outros pigmentos em função do armazenamento em pressões parciais extremamente baixas de oxigênio como as utilizadas neste trabalho.

Tabela 5 - Clorofilas totais e carotenoides em maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP.

Tratamento	Sem 1-MCP		Com 1-MCP	
	Clorofilas Totais - ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Média	
AC- Convenc. 1,0+1,5**	304,61 \pm 24,17 Bbc*	443,65 \pm 37,33 Aa	374,13a	
ACD- QR 1,3 + 1,2	274,19 \pm 22,84 Bc	426,08 \pm 82,55 Aab	350,13a	
ACD- QR 1,5 + 1,2	366,97 \pm 20,93 Aab	347,33 \pm 69,13 Ab	357,15a	
ACD- QR 1,7 + 1,2	416,59 \pm 45,10 Aa	368,60 \pm 38,76 Aab	392,59a	
ACD- FC + 1,2	295,01 \pm 24,64 Bbc	404,37 \pm 24,35 Aab	349,69a	
Média	331,47	398,00	-	
	Carotenoides - ($\mu\text{g g}^{-1}$)			
AC- Convenc. 1,0+1,5	262,13 \pm 4,45 Aa	111,19 \pm 13,37 Ba	186,66a	
ACD- QR 1,3 + 1,2	139,34 \pm 81,70 Ab	126,56 \pm 11,48 Aa	132,95b	
ACD- QR 1,5 + 1,2	94,78 \pm 4,86 Abc	100,04 \pm 11,96 Aa	97,41b	
ACD- QR 1,7 + 1,2	129,61 \pm 15,17 Abc	109,64 \pm 10,17 Aa	119,62b	
ACD- FC + 1,2	79,11 \pm 4,33 Ac	117,84 \pm 4,61Aa	98,47b	
Média	140,99	113,05	-	

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

A aparência dos frutos é um fator primordial na decisão da compra do produto, caracterizado pelo tamanho, forma, cor e ausência de defeito, sendo inicialmente a cor um atributo importante na decisão de compra do consumidor. Em relação ao ângulo hue, os frutos armazenados na condição de ACD-QR 1,7 sem 1-MCP mantiveram a coloração mais verde, característica desta cultivar, diferindo estatisticamente apenas dos frutos armazenados em ACD-QR 1,3, na avaliação realizada logo após a abertura das minicâmaras (Tabela 6). A reduzida produção de etileno e respiração nos frutos armazenados sob ACD-QR 1,7 é, provavelmente, uma razão para a maior manutenção da coloração verde na casca dos frutos. Isso pode ser observado na correlação de *Pearson* negativa entre essas variáveis (Figura 4). A condição de ACD-QR1,7 proporcionou coloração mais verde da casca, indicando menor degradação da clorofila, uma vez que o teor de clorofila tem uma alta correlação com a coloração instrumental medida nos frutos armazenados nesta condição (Tabela 5). Contudo, a condição de ACD-QR 1,7 não diferiu significativamente de AC convencional, ACD-QR 1,5 e

ACD-FC. Frutos armazenados em ACD-QR 1,3 apresentaram menor conteúdo de clorofilas e consequentemente menor mensuração do °hue.

O efeito da aplicação do 1-MCP só foi observado nos frutos armazenados em ACD-QR 1,3, onde foi verificado maior degradação da cor verde nos frutos não tratados com 1-MCP, verificado pela mensuração do °hue. Analisando os frutos não tratados com 1-MCP, verifica-se que não houve diferença significativa entre as condições de armazenamento. Após sete dias de exposição dos frutos a 20 °C, não foi observada diferença significativa na evolução do ângulo hue entre as condições de armazenamento, nem na aplicação de 1-MCP.

Tabela 6 - Evolução do ângulo °Hue em maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP.

Tratamento	Sem 1-MCP	Com 1-MCP	Média
	°Hue saída		
AC- Convenc. 1,0+1,5**	119,74 ± 0,329 Aab*	120,25 ± 0,05 Aa	119,99
ACD- QR 1,3 + 1,2	116,95 ± 3,27 Bb	121,61 ± 1,75 Aa	119,28
ACD- QR 1,5 + 1,2	119,95 ± 0,19 Aab	120,22 ± 0,39 Aa	120,08
ACD- QR 1,7 + 1,2	121,22 ± 1,52 Aa	120,21 ± 0,59 Aa	120,71
ACD- FC + 1,2	119,74 ± 0,38 Aab	120,58 ± 0,67 Aa	120,16
Média	119,52	120,57	-
	°Hue - 6 dias a 20°C		
AC- Convenc. 1,0+1,5	116,01 ± 0,83 Aa	118,30 ± 3,99 Aa	117,15
ACD- QR 1,3 + 1,2	115,63 ± 1,11 Aa	118,78 ± 0,21 Aa	117,20
ACD- QR 1,5 + 1,2	117,21 ± 0,15 Aa	119,88 ± 1,77 Aa	118,54
ACD- QR 1,7 + 1,2	117,15 ± 0,34 Aa	118,34 ± 0,85 Aa	117,74
ACD- FC + 1,2	115,80 ± 3,63Aa	118,80 ± 0,24 Aa	117,30
Média	116,36	118,82	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

O “bitter pit” (BP) é outro distúrbio fisiológico importante que se desenvolve após a colheita ou durante o armazenamento de maçãs. Embora baixos níveis de cálcio no fruto tenham sido correlacionados com maior probabilidade de incidência de BP, muitos relatos mostraram que o conteúdo de cálcio no fruto não é um indicador confiável de desenvolvimento e prevenção

desse distúrbio (FERGUSON; WATKINS; 1989; LÖTZE; THERON, 2007) pelo fato de existir interferência de altos teores de outros minerais (AMARANTE et al., 2006). Maçãs ‘Granny Smith’, além de serem altamente suscetíveis à escaldadura, também são consideradas suscetíveis ao “bitter pit” (PESIS et al., 2010). Na avaliação de “bitter pit”, foi observada interação significativa entre ACD e aplicação de 1-MCP (Tabela 7). Frutos tratados com 1-MCP não apresentaram diferença significativa entre as condições de armazenamento utilizadas. A aplicação de 1-MCP seguido do armazenamento em ACD-QR 1,5 controlou totalmente a incidência do “bitter pit”. Em alguns casos o 1-MCP é eficiente em controlar a incidência de alguns distúrbios como a escaldadura em maçãs ‘Granny Smith’ (SABBAN-AMIN et al., 2011; LU et al., 2013; FARNETI et al., 2015), porém outros trabalhos encontraram resultados contrários para o controle do “bitter pit” (PESIS et al., 2010; GAGO et al., 2015), os quais observaram aumento da incidência desse distúrbio com a aplicação do composto, demonstrando que a produção de etileno não é a causa do “bitter pit”. Kupferman (2008) mostrou que em maçãs ‘Gala’ a aplicação de 1-MCP, 14 dias após a colheita, induziu a desestruturação das lenticelas, caracterizando um sintoma parecido com o “bitter pit”, e foi relacionada com os níveis mais baixos de Ca no tecido da casca. Porém em outros trabalhos foi sugerido que o desenvolvimento do BP é dependente não só da baixa concentração de Ca, mas também do particionamento anormal de cálcio na parede celular (PESIS et al., 2010).

Analisando os frutos sem aplicação de 1-MCP verifica-se que aqueles armazenados em ACD-QR 1,5 apresentaram maior incidência de “bitter pit”, diferido apenas dos frutos armazenados em ACD-FC que não apresentaram nenhuma incidência do distúrbio. Entretanto, mesmo nas condições com maior incidência desse distúrbio os valores são bastante baixos, ficando todos abaixo de 8,0%, indicando que foi realizado um bom manejo de campo para contornar este problema.

Tabela 7 - Ocorrência de “bitter pit” em maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1 – MCP	Com 1-MCP	Média
	Bitter pit (%) saída da câmara		
AC- Convenc. 1,0+1,5**	1,25 ± 2,50 Aab*	1,32 ± 2,63 Aa	1,28
ACD- QR 1,3 + 1,2	2,50 ± 5,00 Aab	2,50 ± 2,88 Aa	2,50
ACD- QR 1,5 + 1,2	7,70 ± 2,97 Aa	0,00 ± 0,00 Ba	3,85
ACD- QR 1,7 + 1,2	7,50 ± 5,00 Aab	2,50 ± 5,00 Aa	5,00
ACD- FC + 1,2	0,00 ± 0,00 Ab	2,44 ± 2,82 Aa	1,22
Média	3,79	1,75	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de probabilidade.

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

Além da aparência externa, um parâmetro importante na qualidade para o consumidor de maçã é a firmeza de polpa. No caso da maçã ‘Granny Smith’ prefere-se um fruto firme e sem escaldadura. No presente trabalho, não houve interação entre os fatores: forma de armazenamento e aplicação de 1-MCP (Tabela 8).

A aplicação de 1-MCP influenciou na manutenção da firmeza dos frutos. Maçãs ‘Granny Smith’ armazenadas em AC convencional seguido da aplicação de 1-MCP apresentaram maior firmeza, com 5,90 N a mais quando comparadas as maçãs não tratadas com 1-MCP. Os benefícios da aplicação de 1-MCP sobre a manutenção da firmeza de polpa em maçãs já são bastante conhecidos (BLANKENSHIP; DOLE et al., 2003; SABBAN-AMIN et al., 2011; LU et al., 2013; BIZJAK et al., 2012; ZANELLA; ROSSI et al., 2015; THEWES et al., 2015b), porém os efeitos da associação deste composto com ACD-QR estão sendo recentemente estudados. Weber (2013) verificou que a aplicação de 1-MCP associada ao armazenamento em ACD- QR 1,5 não apresentou efeito sobre a firmeza de polpa se comparado aos tratamentos sem aplicação do composto. Observando as médias dos tratamentos, verifica-se que os frutos armazenados em ACD-QR 1,5 e 1,7 apresentaram maior firmeza enquanto aqueles armazenados sob AC convencional apresentaram firmeza reduzida mas não diferindo da ACD-FC e ACD-QR 1,3. Estes resultados indicam que independente de com ou sem 1-MCP, o uso da ACD-QR mantém maior firmeza que os frutos armazenados em AC convencional.

BRACKMANN; WEBER; BOTH (2015) encontraram firmeza de polpa mais elevada em maçãs ‘Galaxy’ armazenadas em ACD-QR 1,5 em comparação com ACD-FC e AC, enquanto Zanella; Rossi (2015), verificaram que a firmeza de polpa de maçãs ‘Golden Delicious’ foi mantida mais elevada com o uso de ACD-FC comparada a AC. No presente estudo, analisando as médias dos tratamentos, verifica-se que o uso da ACD-QR proporcionou maior firmeza de polpa comparado a AC e ACD-FC.

Tabela 8 - Firmeza de polpa de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1-MCP	Com 1-MCP	Média
	Firmeza de polpa (N)		
AC - Convenc.1,0+1,5**	66,9 ± 1,21*	72,8 ± 0,40	69,85b
ACD- QR 1,3 + 1,2	72,5 ± 1,45	72,8 ± 2,02	72,65ab
ACD- QR 1,5 + 1,2	72,7 ± 1,41	74,4 ± 2,86	73,55a
ACD- QR 1,7 + 1,2	72,7 ± 1,76	74,8 ± 3,69	73,75a
ACD- FC + 1,2	70,2 ± 0,86	72,4 ± 1,77	71,30ab
Média	71,7 B	74,9 A	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

Firmeza de polpa no momento da colheita: 75,7.

Após nove meses de armazenamento, é desejável que as maçãs ainda estejam suculentas e firmes, mantendo essas características durante o período de prateleira que se segue. No presente estudo não foi verificada diferença entre as condições de armazenamento, apenas para a aplicação do 1-MCP. Verificou-se que o uso do 1-MCP não é necessário quando os frutos foram armazenados sob as condições de ACD-QR 1,3, ACD-QR 1,7 e ACD-FC para obter frutos com maior suculência, pois inclusive foi menor com aplicação desse produto (Tabela 9). Segundo Weber et al. (2010), a aplicação de 1-MCP em maçãs ‘Royal Gala’ resultou em menor incidência de polpa farinácea, ou seja, o 1-MCP manteve o fruto suculento sem textura seca, porém para esta cultivar o comportamento foi diferente nas condições já mencionadas.

Segundo Plocharski; Konopacka (1999), a suculência depende provavelmente da preservação da estrutura original das substâncias pécicas, ou seja, da integralidade das cadeias de uronídeos que compõem a pectina. Quando a força de ligação que mantém unida uma célula à outra é menor que a força que mantém a integridade da parede celular de células individuais, ocorre a separação das células e estas células intactas dão a sensação de textura farinácea (BOTH et al., 2014), e pouco suco (HARKER; HARLLETT, 1992). Isto ocorre porque as moléculas de protopectina (pectina insolúvel) são transformadas em pectinas solúveis na lamela média, diminuindo a força de coesão entre as células (PRASANNA; PRABHA; THARANATHAN, 2007). Porém, com o amadurecimento dos frutos, a pectina presente na parede celular e lamela média começa a ser solubilizada e o fruto perde firmeza (BEN-ARIE et al., 1979). Contudo, a cultivar Granny Smith não apresentou ocorrência de polpa farinácea, portanto é justificável que não haja diferença entre a suculência entre as condições de armazenamento.

Tabela 9 - Suculência de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1-MCP	Com 1-MCP	Média
	Suculência (%)		
AC- Convenc. 1,0+1,5**	75,4 ± 1,82 Aa*	74,1 ± 2,39 Aa	74,7
ACD- QR 1,3 + 1,2	74,1 ± 2,94 Aa	70,7 ± 1,04 Ba	72,4
ACD- QR 1,5 + 1,2	73,5 ± 0,91 Aa	70,7 ± 1,74 Aa	72,1
ACD- QR 1,7 + 1,2	75,0 ± 2,29 Aa	70,9 ± 2,97 Ba	73,0
ACD- FC + 1,2	74,5 ± 3,55 Aa	70,6 ± 1,93 Ba	72,5
Média	74,5	71,4	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

A troca de gases entre o fruto e a atmosfera da câmara é um fator limitante para a manutenção dos processos vitais da célula, como a respiração. Na avaliação da taxa de difusão de gases, não houve interação entre os fatores: formas de armazenamento e aplicação de 1-MCP

(Tabela 10). Porém, de maneira geral, observando as médias dos tratamentos, os frutos armazenados em ACD-FC apresentaram maior taxa de difusão de gases enquanto aqueles armazenados sob ACD-QR 1,3 apresentaram taxa de difusão reduzida mas não diferindo da ACD-QR 1,5 e ACD-QR 1,7. Maçãs armazenadas em ACD-QR 1,3 apresentaram menor taxa de difusão de gases quando comparadas à AC. Possivelmente a maior taxa de difusão de gases para os frutos armazenados em ACD-FC é devido à maior integridade e estabilidade celular que resulta em maior difusão através dos espaços celulares. A difusão de gases é dependente do período de colheita, cultivar, região de cultivo do fruto e período de armazenamento (SCHOTSMANS et al., 2006; HO et al., 2004). Em maçãs ‘Brookfield’, Brackmann et al. (2014) encontraram menor taxa de difusão de gases nos frutos armazenados em AC convencional, correlacionando este fato com a incidência de polpa farinácea para esta cultivar. Para a cultivar em estudo, em AC convencional foi observado maior difusão de gases em relação aos frutos armazenados nas condições de ACD-QR. Geralmente a difusão é menor quando a maturação está mais avançada, (SCHOTSMAN et al., 2004) e isso comumente acontece em frutos armazenados em condições de atmosfera controlada convencional (BRACKMANN et al., 2014). No entanto, o presente trabalho apresentou dados contraditórios para a cultivar em estudo.

Com relação à aplicação de 1-MCP, a difusão de gases foi reduzida em todas as condições de armazenamento, contradizendo com o encontrado por Brackmann et al. (2014), em maçãs ‘Brookfield’. As cultivares Fuji, Ariane bem como a cultivar em estudo, Granny Smith, são maçãs conhecidas por manterem-se firmes durante o armazenamento (WINISDORFFER et al., 2015). A cultivar Granny Smith possui células densas (USDA, 2015), com pequenos espaços celulares (VICENTE, 1989) assim, possivelmente, a troca de ar no interior do fruto é reduzida. A redução na difusão de gases em maçãs ‘Granny Smith’ em função da aplicação do 1-MCP é um fato contraditório ao encontrado na literatura em outras cultivares (BRACKMANN et al., 2014). Além disso, na literatura não foi encontrada informação em relação a este comportamento inédito na difusão de gases para esta cultivar.

Tabela 10 - Taxa de difusão de gases de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1-MCP	Com 1-MCP	Média
	Taxa de difusão de gases (mL CO ₂ m ⁻² s ⁻¹) - 7 dias a 20°C		
AC- Convenc. 1,0 + 1,5**	1,78 ± 0,04*	1,41 ± 0,17	1,59b
ACD- QR 1,3 + 1,2	1,47 ± 0,61	0,86 ± 0,10	1,17c
ACD- QR 1,5 + 1,2	1,96 ± 0,43	0,95 ± 0,14	1,46bc
ACD- QR 1,7 + 1,2	1,52 ± 0,24	1,18 ± 0,56	1,35bc
ACD- FC + 1,2	2,24 ± 0,33	1,93 ± 0,15	2,09a
Média	1,793A	1,27B	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂

Após nove meses de armazenamento foi observada uma redução no conteúdo de ácidos nas maçãs ‘Granny Smith’ para todas as condições de armazenagem e ainda mediante aplicação de 1-MCP, visto que no momento da colheita foi encontrado acidez titulável de 10,3 meq 100 mL⁻¹. Mesmo com essa redução, não foi observado diferença estatística entre as condições de armazenamento para o parâmetro acidez titulável (Tabela 11). A aplicação de 1-MCP influenciou a acidez titulável apenas para os frutos armazenados em AC convencional, auxiliando na manutenção da acidez, enquanto que em ACD não houve diferença entre frutos tratados ou não com 1-MCP. Isso demonstra o efeito benéfico do 1-MCP apenas no armazenamento em AC convencional, em que retarda a degradação de ácidos orgânicos, mantendo maior acidez titulável (ZANELLA, 2003; ZANELLA et al., 2005).

A eficiência do 1-MCP depende de fatores como cultivar (LU et al., 2013). Assim, maior manutenção de acidez mediante aplicação de 1-MCP foi observada em maçãs ‘Granny Smith’, ‘Cortland’, ‘Delicious’ e ‘Gala’ (MARIN et al., 2009; PESIS et al. 2010; LU et al., 2013), corroborando com os resultados deste trabalho. Weber et al. (2015) e BRACKMANN; WEBER; BOTH (2015), encontraram maior acidez armazenando maçãs apenas na condição de ACD-QR, sem a necessidade de aplicação de 1-MCP. No presente trabalho apesar de a ACD-QR não ter sido eficiente em manter maior a acidez em relação à AC convencional, mesmo assim, não há necessidade da aplicação de 1-MCP quando se utiliza ACD, pois não houve diferença

significativa entre os frutos com ou sem aplicação de 1-MCP, apenas diferiu no armazenamento em AC convencional.

Além da firmeza e acidez titulável, os sólidos solúveis desempenham papel importante na definição da qualidade para os consumidores de maçã (HARKER et al., 2008). Com relação ao teor de sólidos solúveis em maçãs ‘Granny Smith’, não foi observada diferença significativa entre as condições de armazenamento e aplicação de 1-MCP (Tabela 11).

A acidez titulável pode ser mantida por 1-MCP (FAN; MATTHEIS, 2001), mas a influência de 1-MCP sobre o teor de sólidos solúveis, no entanto, é pequena (DELL et al., 2002) e isto é possível observar na cultivar em estudo. No entanto, existem na literatura relatos de que a concentração de sólido solúveis de frutos tratados com 1-MCP pode ser maior do que aqueles não tratados (ZANELLA, 2003; BAI et al., 2005; WATKINS, 2006; PRE-AYMARD; WEKSLER; LURIE, 2003). Foi observado comportamento diferente em kiwi ‘Qinmei’, tomate e maçãs ‘Empire’ (LEE et al., 2012; PAUL; PANDEY, 2013; DENG et al., 2015;). Além disso, a eficiência do 1-MCP varia conforme a cultivar de maçã e as condições experimentais utilizadas. Watkins et al. (2000) observaram que maçãs ‘McIntosh’ e ‘Law Rome’ tratadas com 1-MCP apresentaram menor teor de sólidos solúveis.

É importante ressaltar que no momento da colheita foi encontrado um teor de 12,38 °Brix e que, de maneira geral, durante o armazenamento, houve um acréscimo no teor de açúcares nestes frutos, tanto para aqueles tratados e não tratados com 1-MCP. Possivelmente, isso aconteceu devido à perda de firmeza que é geralmente associada à desestruturação da lamela média e parede celular primária (BRUMMEL; HARPSTER, 2001; GOULAO; OLIVEIRA, 2008), que são compostos de microfibrilas de celulose rígidas em conjunto com hemicelulose e pectina, com diferentes níveis estruturais (CAFFAL; MOHNEN, 2009). Como a celulose possui uma estrutura básica de resíduos de D-glicose com ligações β -(1 \rightarrow 4) (TAIZ; ZEIGER, 2013), a degradação desse polissacarídeo, com a conseqüente quebra de suas ligações, provocou um acúmulo de açúcares, levando a um teor de sólidos solúveis mais elevado no fruto. Uma outra explicação é a relacionada à degradação de amido, que na colheita estava com índice de 5,63 (escala de 1-10) sendo degradado durante o armazenamento, aumentando o teor de sólidos solúveis. É bem verdade que boa parte destes açúcares são consumidos pelo processo respiratório, mas como não houve grande redução na respiração, não foi verificada diferença entre as condições de armazenamento nos sólidos solúveis, significando que todos os tratamentos foram eficientes.

Tabela 11 - Acidez titulável e sólidos solúveis de maçãs 'Granny Smith' após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1- MCP	Com 1-MCP	Média
	Acidez titulável (meq 100mL⁻¹)		
AC- Convenc. 1,0+1,5**	7,12 ± 0,27 Ba*	8,69 ± 0,54 Aa	7,90
ACD- QR 1,3 + 1,2	7,64 ± 0,45 Aa	8,13 ± 0,36 Aa	7,88
ACD- QR 1,5 + 1,2	7,79 ± 0,53 Aa	7,81 ± 0,72 Aa	7,80
ACD- QR 1,7 + 1,2	7,12 ± 0,18 Aa	8,04 ± 0,52 Aa	7,58
ACD- FC + 1,2	7,39 ± 0,19Aa	7,92 ± 0,13 Aa	7,65
Média	7,410	8,12	-
	Sólido solúveis (°Brix)		
AC- Convenc. 1,0+1,5	12,9 ± 0,25	13,2 ± 0,20	13,1a
ACD- QR 1,3 + 1,2	13,3 ± 0,34	13,4 ± 0,36	13,4a
ACD- QR 1,5 + 1,2	13,3 ± 0,31	13,7 ± 0,32	13,5a
ACD- QR 1,7 + 1,2	13,0 ± 0,06	13,4 ± 0,34	13,2a
ACD- FC + 1,2	13,7 ± 0,78	13,4 ± 0,44	13,6a
Média	13,2A	13,4A	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

Acidez titulável na colheita: 10,3 meq 100mL⁻¹

Sólido solúveis na colheita: 12,38 °Brix

A degenerescência de polpa é um distúrbio fisiológico associado à elevada concentração de CO₂ interno e deficiência de difusão de gases. Segundo Streif et al. (2003), vários fatores pós-colheita afetam a ocorrência de degenerescência de polpa em maçãs, como data de colheita, intervalo da colheita até o armazenamento, pressões parciais de CO₂ e O₂, bem como tempo e temperatura de armazenamento. Esses fatores, em conjunto ou sozinhos, podem causar manchas escurecidas na polpa do fruto resultando na ocorrência do distúrbio. Na avaliação da ocorrência de degenerescência de polpa não foi observada diferença estatística entre as diferentes condições de armazenamento, tanto sem, como com aplicação de 1-MCP (Tabela 12). Verificou-se que frutos armazenados em AC, ACD-QR 1,3, e ACD-FC, quando tratados com 1-MCP, apresentaram menor incidência de degenerescência de polpa, demonstrando a eficiência já conhecida do 1-MCP em inibir a produção de etileno e, conseqüentemente, reduzir

a incidência desse distúrbio (DeLONG et al., 2004a; WATKINS, 2006). Por outro lado, quando os frutos foram armazenados em ACD-QR 1,5 ou 1,7, a aplicação de 1-MCP não teve efeito na redução da degenerescência, evidenciando que nestas condições não seria necessária a aplicação do produto. Existe uma associação entre a produção de etileno e a ocorrência de degenerescência, uma vez que foi observada correlação positiva entre CIE, produção de etileno e taxa de respiração com a incidência de degenerescência de polpa no presente trabalho (Figura 4). Em maçãs 'Royal Gala', Thewes et al. (2015b) também encontraram relação entre taxa de produção de etileno e respiração com a incidência de degenerescência de polpa.

Uma explicação para ocorrência desse distúrbio pode ser relacionada à provável respiração anaeróbica em frutos submetidos à baixas pressões parciais de oxigênio como neste trabalho, com produção de etanol e acetaldeído. Além disso, alguns trabalhos relataram a existência de um desequilíbrio entre os processos redutivos e oxidativos que podem causar um colapso energético e perda da integridade da membrana, resultando em colapso na polpa (FRANCK et al., 2007; FAN et al., 2011). Porém, mesmo sem apresentar diferença estatística, observa-se em números absolutos que os frutos armazenados em ACD-QR 1,5 e 1,7 apresentaram menor incidência desse distúrbio, demonstrando que mesmo armazenados em baixas pressões parciais de oxigênio esses frutos apresentaram menos degenerescência que aqueles armazenados em AC e ACD-FC, indicando que nestas condições a respiração anaeróbica, que ocorre está dentro de um nível adequado, não causa distúrbios e ainda mantém melhor a maioria dos atributos de qualidade dos frutos. Weber et al. (2015) encontraram em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em ACD-QR 2,0 e ACD-QR 4,0 menor degenerescência de polpa do que naquelas armazenadas em AC convencional, no entanto, maçãs armazenadas em ACD-FC não diferiram daquelas armazenadas em AC.

Tabela 12 - Degenerescência de polpa de maçãs 'Granny Smith' após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1-MCP	Com 1-MCP	Média
	Degenerescência de polpa (%) - 7 dias a 20°C		
AC- Convenc. 1,0+1,5**	11,3 ± 6,29 Aa*	3,75 ± 4,78 Ba	7,50
ACD- QR 1,3 + 1,2	13,8 ± 4,78 Aa	2,57 ± 2,96 Ba	8,16
ACD- QR 1,5 + 1,2	5,07 ± 4,08 Aa	1,32 ± 2,63 Aa	3,19
ACD- QR 1,7 + 1,2	5,00 ± 4,08 Aa	5,00 ± 5,77 Aa	5,00
ACD- FC + 1,2	11,3 ± 4,78 Aa	2,44 ± 2,82 Ba	6,85
Média	9,263	3,01	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

Com relação à incidência de podridão, após nove meses de armazenamento foi verificada diferença entre as condições de armazenamento nos frutos tratados com 1-MCP (Tabela 13). O 1-MCP inibiu totalmente a incidência de podridão nos frutos armazenados em ACD-QR 1,5, sendo que nas demais condições de armazenamento não houve diferença entre frutos tratados e não tratados. Nos frutos não tratados com 1-MCP não foi verificada diferença entre as condições de armazenamento. No entanto, após sete dias de exposição dos frutos a 20 °C, na condição de ACD-QR 1,5 foi observada maior incidência de podridão, diferindo estatisticamente dos frutos armazenados em ACD-FC que apresentaram menor porcentagem de frutos podres, quando não foi utilizado 1-MCP. Porém, os frutos armazenados em ACD-FC não diferiram estatisticamente das condições de AC convencional, ACD-QR 1,3 e ACD-QR 1,7. Ceretta et al. (2010) e Weber et al. (2011) também encontraram maior porcentagem de podridões quando utilizaram nível de O₂ abaixo de 0,8 kPa em maçãs 'Gala' e 'Royal Gala' respectivamente.

Comparando os frutos com e sem 1-MCP armazenados em ACD-FC verifica-se que a aplicação do 1-MCP aumentou significativamente a incidência de podridão nos frutos armazenados nessa condição. Com relação a este aumento de podridão, é relatado que o 1-MCP pode inibir uma resposta metabólica benéfica ou estimular uma característica indesejável,

possivelmente, relativa a um mecanismo de defesa natural (KU WILLS, 1999). Brackmann et al. (2012a) também encontraram maior incidência de podridão com a aplicação de 1-MCP em maçãs 'Fuji' armazenadas em ultrabaixo oxigênio. Both, (2015) avaliando ocorrência de podridão em maçãs 'Fuji Kiku' também verificou maior incidência de podridão quando os frutos foram tratados com 1-MCP e armazenados sob ACD-QR.

Tabela 13 - Incidência de podridão na abertura das câmaras e após nove meses de armazenamento em maçãs 'Granny Smith' armazenadas em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1-MCP	Com 1-MCP	Média
	Podridão (%) - saída da câmara		
AC- Convenc. 1,0+1,5**	3,75 ± 4,78 Aa*	1,32 ± 2,63 Aab	2,53
ACD- QR 1,3 + 1,2	3,75 ± 4,78 Aa	7,70 ± 2,97 Aa	5,72
ACD- QR 1,5 + 1,2	5,13 ± 0,15 Aa	0,00 ± 0,00 Bb	2,57
ACD- QR 1,7 + 1,2	1,25 ± 2,50 Aa	2,50 ± 2,88 Aab	1,88
ACD- FC + 1,2	1,32 ± 2,63 Aa	4,95 ± 3,89 Aab	3,13
Média	3,04	3,29	-
	Podridão (%) - 7 dias a 20°C		
AC- Convenc. 1,0+1,5	8,75 ± 4,787 Aab	10,3 ± 8,60 Aab	9,51
ACD- QR 1,3 + 1,2	7,50 ± 6,45 Aab	12,8 ± 6,46 Aab	10,1
ACD- QR 1,5 + 1,2	19,2 ± 8,49 Aa	6,45 ± 2,72 Bb	12,8
ACD- QR 1,7 + 1,2	7,50 ± 5,00 Aab	8,75 ± 6,29 Aab	8,13
ACD- FC + 1,2	3,82 ± 2,54 Bb	24,1 ± 4,03 Aa	13,95
Média	9,36	12,5	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂.

Em relação ao percentual de frutos sadios foi verificada interação significativa entre ACD e aplicação de 1-MCP (Tabela 14). Analisando os frutos não tratados com 1-MCP verifica-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os frutos tratados com 1-MCP e armazenados na condição de ACD-QR 1,5 apresentaram 100% de frutos sadios na

análise realizada na abertura das minicâmaras, porém não diferindo estatisticamente dos frutos armazenados em AC convencional, ACD-QR 1,7 e ACD-FC. Após nove meses de armazenamento mais sete dias a 20 °C, analisando os frutos sem aplicação de 1-MCP, observa-se que aqueles armazenados nas condições de ACD-QR e ACD-FC apresentaram maior porcentagem de frutos sadios quando comparados a AC convencional. BRACKMANN; WEBER; BOTH (2015), verificaram maior porcentagem de frutos sadios armazenando maçãs 'Galaxy' sob ACD-QR 1,5, em relação à AC convencional. Igualmente ao momento da abertura das câmaras, os frutos armazenados em ACD-QR 1,5 apresentaram maior porcentagem de frutos sadios com a aplicação do 1-MCP, na análise aos 7 dias. Analisando os frutos tratados com 1-MCP, verifica-se diferenças entre as condições de armazenamento. Os frutos armazenados em ACD-QR 1,5 apresentaram maior porcentagem de frutos sadios, diferindo estatisticamente da condição de ACD-FC e sendo estatisticamente semelhante às condições de AC, ACD-QR 1,3 e 1,7.

Em geral os frutos armazenados sob as condições de ACD-QR apresentaram maior porcentagem de frutos sadios em relação à AC convencional. O 1-MCP também teve pouco efeito na porcentagem de frutos sadios, mostrando benefício apenas na condição de ACD- QR 1,5, que apresentou maior redução na incidência de podridão quando foi aplicado este produto. Possivelmente, a redução do metabolismo dos frutos armazenados em ACD evidenciado pela menor atividade da enzima ACC oxidase e concentração de etileno interno, assim como menor produção de etileno e respiração, influenciaram na maior porcentagem de frutos saudáveis. No presente trabalho, uma correlação negativa foi encontrada para esses parâmetros (Figura 4). Weber et al. (2015) também encontraram maior porcentagem de frutos sadios armazenando maçãs 'Royal Gala' nas condições de ACD, que utilizam baixos níveis de oxigênio, em relação à AC convencional. Ainda é possível constatar que o estresse inicial por baixo O₂ causado no armazenamento em ACD-FC associado à aplicação de 1-MCP pode ter aumentado a suscetibilidade dos frutos ao ataque de fungos patogênicos, que aumentaram a ocorrência de podridões e diminuíram a porcentagem de frutos sadios nesta combinação de fatores.

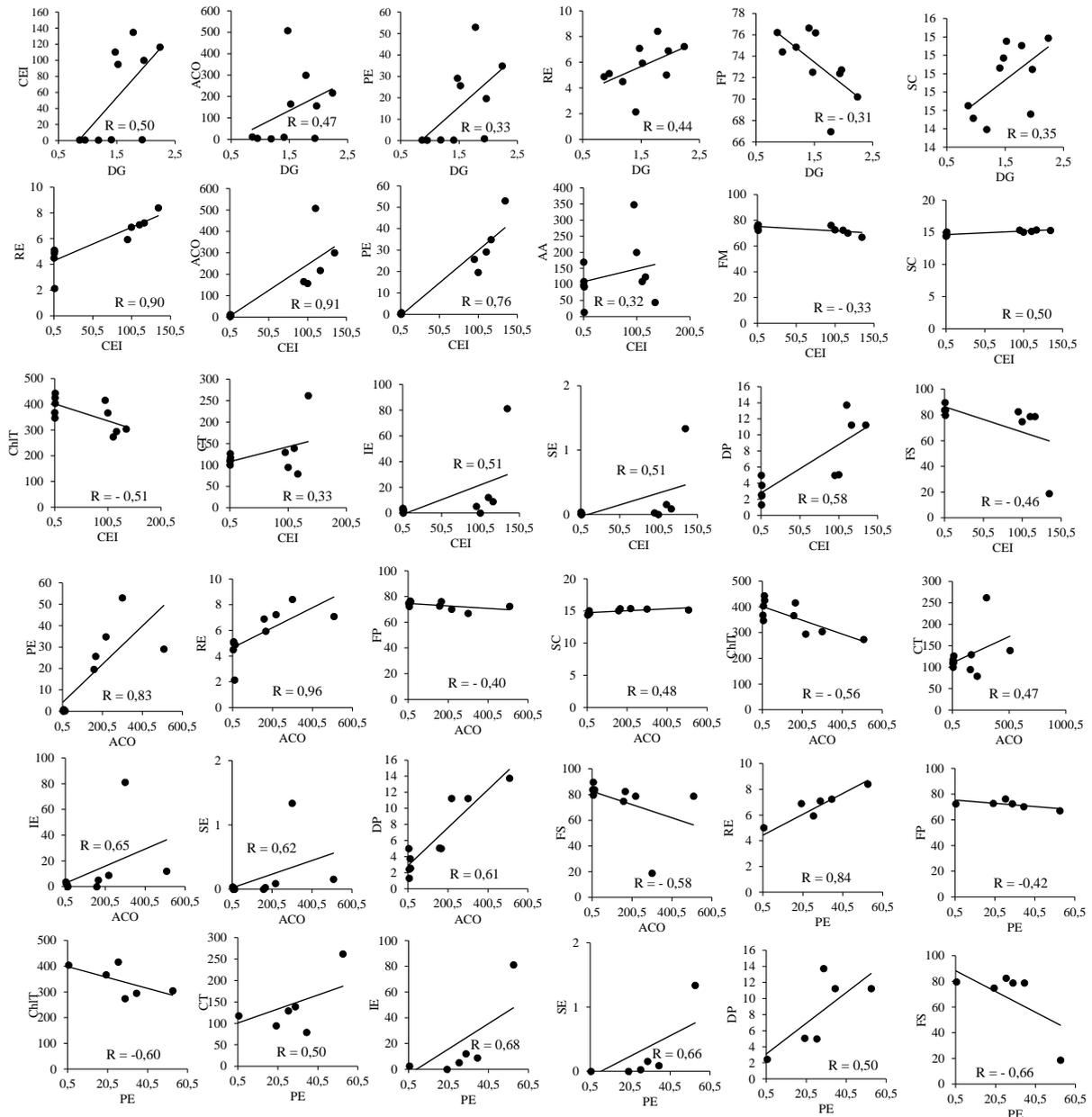
Tabela 14 - Porcentagem de frutos sadios de maçãs ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento em atmosfera controlada (AC) ou em diferentes condições de atmosfera controlada dinâmica (ACD), com ou sem aplicação de 1-MCP, mais sete dias de exposição a 20 °C.

Tratamento	Sem 1-MCP	Com 1-MCP	Média
	Frutos sadios - saída da câmara (%)		
AC - Convenc. 1,0+1,5**	96,3 ± 4,78 Aa*	97,5 ± 2,88 Aab	96,9
ACD- QR 1,3 + 1,2	96,3 ± 4,78 Aa	92,4 ± 3,04 Ab	94,3
ACD- QR 1,5 + 1,2	94,9 ± 0,13 Ba	100,0 ± 0,00 Aa	97,5
ACD- QR 1,7 + 1,2	98,8 ± 2,50 Aa	97,5 ± 2,88 Aab	98,1
ACD- FC + 1,2	98,8 ± 2,50 Aa	95,1 ± 3,891 Aab	96,9
Média	97,0	96,5	-
	Frutos sadios - 7 dias a 20 °C (%)		
AC - Convenc. 1,0+1,5	18,8 ± 6,29 Bb	83,8 ± 7,50 Aab	51,3
ACD- QR 1,3 + 1,2	78,8 ± 13,15 Aa	83,6 ± 2,39 Aab	81,2
ACD- QR 1,5 + 1,2	74,8 ± 8,84 Ba	89,6 ± 7,56 Aa	82,2
ACD- QR 1,7 + 1,2	82,5 ± 6,45 Aa	83,8 ± 7,50 Aab	83,1
ACD- FC + 1,2	78,8 ± 4,78 Aa	68,9 ± 8,83 Ab	73,8
Média	66,7	81,9	-

* Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e em maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**AC com 1.0 kPa O₂/1.5 kPa CO₂; ACD com 1.2 kPa de CO₂

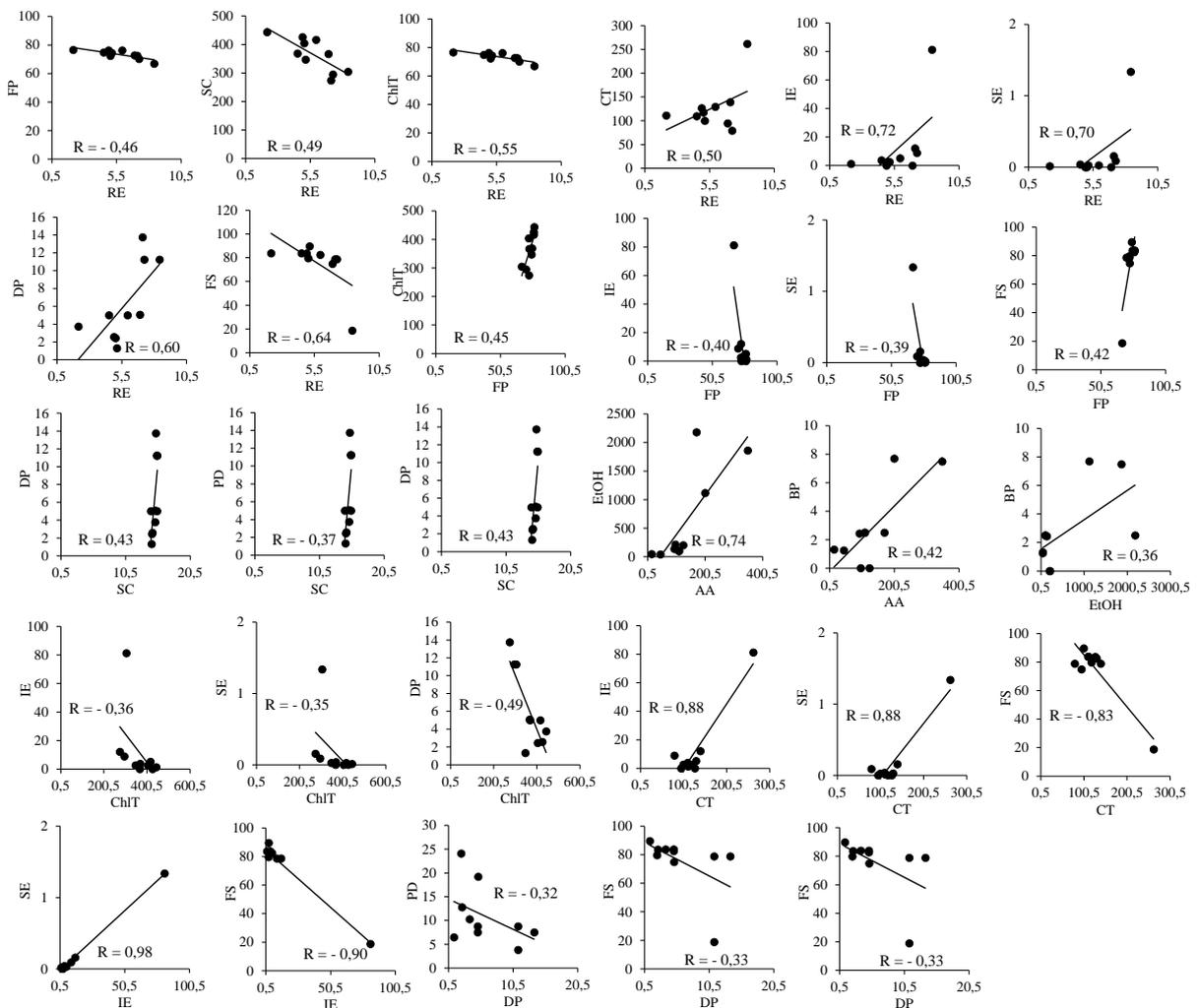
Figura 4 - Correlação de Pearson entre parâmetros físicos, químicos e bioquímicos de maçã ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento mais sete dias de prateleira a 20°C.



DG: Difusão de gases; CIE: concentração interna de etileno; ACO: atividade da ACC oxidase; PE: produção de etileno; RE: respiração; FP: firmeza de polpa; SC: suculência; AA: acetaldeído; EtOH: etanol; ChlT: clorofila; CT: carotenoides; IE: incidência de escaldadura; SE: severidade de escaldadura; DP: degenerescência de polpa; PD: podridão; BP: “bitter pit”; FS: frutos saudáveis.

Fonte: (FERREIRA, 2016).

Figura 5 - Correlação de Pearson entre parâmetros físicos, químicos e bioquímicos de maçã ‘Granny Smith’ após nove meses de armazenamento mais sete dias de prateleira a 20°C.



DG: Difusão de gases; CIE: concentração interna de etileno; ACO: atividade da ACC oxidase; PE: produção de etileno; RE: respiração; FP: firmeza de polpa; SC: suculência; AA: acetaldeído; EtOH: etanol; ChIT: clorofila; CT: carotenoides; IE: incidência de escaldadura; SE: severidade de escaldadura; DP: degenerescência de polpa; PD: podridão; BP: “bitter pit”; FS: frutos saudáveis.

Fonte: (FERREIRA,2016).

5. CONCLUSÕES

O armazenamento de maçãs ‘Granny Smith’ em ACD-QR 1,5 ou 1,7 torna dispensável o uso do 1-MCP no controle da escaldadura superficial, enquanto que no armazenamento em AC convencional é necessária a aplicação deste produto para reduzir este distúrbio.

A nova tecnologia de ACD monitorada pelo método do quociente respiratório mantém melhor qualidade dos frutos do que a utilização de ACD monitorada pelo método de fluorescência da clorofila devido a menor atividade da enzima ACC oxidase, baixa produção de etileno, além de manter os frutos com coloração mais verde que é característica da cultivar Granny Smith.

A atmosfera controlada dinâmica monitorada através do quociente respiratório mantém os frutos com melhor qualidade que aqueles armazenados em atmosfera controlada convencional, devido a maior firmeza, menor incidência de escaldadura, além de apresentar maior teor de clorofila, caracterizando assim frutos mais verdes.

ACD-QR 1,7 sem 1-MCP causa maior acúmulo de acetaldeído, de etanol e acetato de etila na polpa dos frutos, porém os frutos não apresentaram danos como resultado da acumulação desses compostos, sendo observada boa manutenção da qualidade dos frutos armazenados nesta condição.

De modo geral a condição QR 1,5 manteve melhor qualidade dos frutos.

A aplicação de 1-MCP não é benéfica no armazenamento em ACD-FC, por ocasionar maior podridão.

O armazenamento em ACD proporcionou maior número de frutos sadios que o armazenamento em AC convencional.

O armazenamento em ACD-QR é uma alternativa viável para a produção orgânica, que não permite o uso do 1-MCP.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, A.Y. et al. Inhibition of superficial scald in apples by wounding: changes in lipids and phenolics. **Postharvest Biology and Technology**, v.12, p. 203-212, 1997.
- AGAPOMI, **Associação Gaúcha dos Produtores de Maçã**, Disponível: www.agapomi.com.br. Acesso em: 12 out. 2015.
- ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p. 2039-2055, 2002.
- AMARANTE, C. V. T.; STEFFENS, C. A.; BLUM, L. E. B. Coloração do fruto, distúrbios fisiológicos e doenças em maçãs ‘Gala’ e ‘Fuji’ pulverizadas com aminoetoxivinilglicina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 9-18, 2010.
- ANET, E.F.L. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IX. Effect of maturity and ventilation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 23, p. 763-769, 1972.
- ANET, E.F.L.J. Autoxidation of α -farnesene. **Australian Journal of Chemistry**, v, 22, p. 2403-2410, 1969.
- ARGENTA, L. C.; FAN, X.; MATTHEIS, J. P. Responses of ‘Golden Delicious’ apples to 1-MCP applied in air or water. **HortScience**, v. 42, p. 1651-1655, 2007.
- ARGENTA, L.; FAN, X.; MATTHIES, J. Impact of watercore on gas permeance and incidence of internal disorders in ‘Fuji’ apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p. 113-122, 2002.
- ARGENTA, L.C.; MATTHEIS, J.P.; FAN, X. Interactive effects of CA storage, 1-methylcyclopropene and methyl jasmonate on quality of apple fruit. **Acta Horticulturae**, v. 857, p. 259-266, 2010.
- ARQUIZA, J. et al. 1-Methylcyclopropene interactions with diphenylamine on diphenylamine degradation, α -farnesene and conjugated trienol concentrations, and polyphenol oxidase and peroxidase activities in apple fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 7565-7570, 2005.
- ASODA, T. et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, p. 216-220, 2009.
- BAI, J.; PLOTTO, A.; SPOTTS, R.; RATTANAPANONE, N. Ethanol vapor and saprophytic yeast treatments reduce decay and maintain quality of intact and fresh-cut sweet cherries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, p. 204-212, 2011.
- BAI, J.H. et al. Effect of pretreatment of intact ‘Gala’ apple with ethanol vapor, heat, or 1-methylcyclopropene on quality and shelf life of fresh-cut slices. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.129, p. 583-593, 2004.
- BAIN, J.M. A histological study of the development of superficial scald in Granny Smith apples. **J. Hort. Sci**, v. 31, p. 234-238, 1956.

BAIN, J.M.; MERCER, F.J. The submicroscopic cytology of superficial scald, a physiological disease of apples. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 16, p. 442-449, 1963.

BANGERTH, F. et al. Physiological impacts of fruit ripening and storage conditions on aroma volatile formation in apple and strawberry fruit: a review. **Hortscience**, v.47, p. 4-10, 2012.

BEN-ARIE, R.; KISLEV, N.; FRENKEL, C. Ultrastructural changes in the cell walls of ripening apple and pear fruit. **Plant Physiology**, v. 64, p. 197-202, 1979.

BERTOLINI, P. et al. Effect of controlled atmosphere storage on the physiological disorders and quality of 'Conference' pears. **Italian Journal of Food Science**, v. 4, p.303-312, 1997.

BESSEMANS et al. A novel type of dynamic controlled atmosphere storage based on the respiratory quotient (RQ-DCA). **Postharvest Biology and Technology**, v.115, p. 91-102, 2016.

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

BOERSIG, M.R.; KADER, A.A.; ROMANI, R.J. Aerobic-anaerobic respiratory transition in pear fruit and cultured pear fruit cells. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.113, p. 869-873, 1988.

BOTH, V. **Atmosfera controlada dinâmica monitorada pelo quociente respiratório: efeito do manejo do etileno, temperatura e níveis de CO₂ A sobre compostos voláteis e conservação de maçãs**. 2015. 170 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 2015.

BOTH, V. et al. Estresse inicial por baixo oxigênio seguido do armazenamento em atmosfera controlada de maçãs 'Royal Gala'. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, p. 708-718, 2014.

BOWER, J.H., BIASI, W.V., MITCHAM, E.J. Effect of ethylene in the storage environment on quality of 'Bartlett pears'. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p.371-379, 2003.

BRAMLAGE, W. J.; S. MEIR. Chilling injury of crops of temperate origin, p. 37-49. In: C.Y. Wang (ed.). **Chilling injury of horticultural crops**. CRC Press, Boca Raton, Fla. 1990.

BRACKMANN, A.; CERETTA, M. Efeito da redução nos níveis de etileno e da umidade relativa no armazenamento de maçã 'Gala' em atmosfera controlada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 2169-2174, 1999.

BRACKMANN, A.; STEFFENS, C. A.; NEUWALD, D. A.; SESTARI, I. Armazenamento de maçã 'Gala' em atmosfera controlada com remoção de etileno. **Ciência Rural**, v. 33, p. 647-650, 2003.

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

BRACKMANN, A. et al. Consequência da umidade relativa durante o armazenamento refrigerado e em atmosfera controlada na qualidade da maçã “Gala”¹. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1197-1200, 2005.

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

BRACKMANN, A. et al. Armazenamento em atmosfera controlada de maçãs mutantes da cultivar Gala. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 34, p. 136-143, 2009.

BRACKMANN, A. et al. Aplicação de 1 - metilciclopropeno e absorção de etileno em maçã da cultivar 'Royal Gala' colhida tardiamente. **Ciência Rural**, v.40, p. 2074- 2080, 2010.

BRACKMANN, A. et al. O. Aplicação de 1-metilciclopropeno, estresse inicial com baixo oxigênio e armazenamento em ultrabaixo oxigênio na qualidade de maçã ‘Fuji’. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1386-1391, 2012a.

BRACKMANN, A. et al. Variação da temperatura, oxigênio e CO₂ durante o armazenamento em atmosfera controlada de maçãs “Royal Gala”. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 2247-2256, 2012b.

BRACKMANN, A. et al. Dynamic controlled atmosphere (DCA) monitored by respiration quotient and chlorophyll fluorescence for apple storage. In: **XI International Controlled & Modified Atmosphere Research Conference**, 2013, Trani.

BRACKMANN, A. et al. Effect of growth regulators on ‘Brookfield’ apple gas diffusion and metabolism under controlled atmosphere storage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 323-329, 2014.

BRACKMANN, A.; WEBER, A.; BOTH, V. CO₂ partial pressure for respiratory quotient and HarvestWatch dynamic controlled atmosphere for ‘Galaxy’ apples storage. **Acta Horticulturae**, v, 1079, p. 435-440, 2015.

BRUMMELL, D.A.; HARPSTER, M.H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. **Plant Molecular Biology**, 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**, v.80, p.539-543, 1986.

CAFFALL, K.H.; MOHNEN, D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. **Carbohydrate Research**, v. 344, p. 1879-1900, 2009.

CALVO, G. Antioxidant use in apple and pear storage part 1 - regulatory situation. Washington State University. Washington, DC, 2010. Disponível em: < <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/pages/Home>>. Acesso em: 29 dez. 2015.

CERETTA, M. et al. Tolerância da maçã Gala a pressões parciais extremas de O₂ e CO₂ durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.35, p.60-69, 2010.

- CHAROENCHONGSUK, N. et al. Comparison of the expression of chlorophyll-degradation-related genes during ripening between stay-green and yellow-pear cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 181, p. 89-94, 2015.
- CHEN, P.M. et al., Control of superficial scald on D'Anjou pears by ethoxyquin—effect of ethoxyquin concentration, time and method of application, and a combined effect with controlled-atmosphere storage. **Journal of Food Science**, v. 55, p. 167-170, 1990.
- CHEN, P.M.; VARGA, R.J.; XIAO, Y.Q. Inhibition of α -farnesene biosynthesis and its oxidation in the peel tissue of 'd'Anjou' pears by low-O₂/elevated CO₂ atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, v. 3, p. 215-223, 1993.
- CHIN, J.H.; GOLDSTEIN, D.B. Membrane-disordering action of ethanol. Variation with membrane cholesterol content and depth of the spin label probe. **Molecular Pharmacology**, v. 19, p. 425-431, 1981.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita da frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 785p, 2005.
- CORNELIUS, S.B.; JAMES, J.G. Ethylene and Fruit Ripening. **Published Journal of Plant Growth Regulation**, v. 26, p. 143-159, 2007.
- DeEll, J.R. et al. Applications of chlorophyll fluorescence techniques in post-harvest physiology. **Horticultural Reviews**, v. 23, p. 69-107, 1999.
- DeEll, J.R. et al. Influence of temperature and duration of 1-Methylcyclopropene (1-MCP) treatment on apple quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, p. 349-353, 2002.
- DEFILIPPI, B.G.; KADER, A.A.; DANDEKAR, A.M. Apple aroma: Alcohol Acyltransferase, a rate limiting step for ester biosynthesis, is regulated by ethylene. **Plant Science**, v. 168, p. 1199-1210, 2005.
- DELGADO-PELAYO, R.; GALLARDO-GUERRERO, L.; HORNERO-MÉNDEZ, D. Chlorophyll and carotenoid pigments in the peel and flesh of commercial apple fruit varieties. **Food Research International**, v. 65, p. 272-281, 2014.
- DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A.R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - characteristics, biosynthesis, processing and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, p. 173-289, 2000.
- DeLONG, J.M. et al. A new technology that determines low-oxygen thresholds in controlled-atmosphere-stored apples. **HortTechnol**, v. 14, p.262-266, 2004a.
- DeLONG, J.M.; PRANGE, R.K.; HARRISON, P. A. The influence of 1-methylcyclopropene on Cortland and McIntosh apple quality following long-term storage. **Hort Science**, v. 39, p. 1062-1065, 2004b.
- DeLONG, J.M.; PRANGE, R.K.; HARRISON, P. A. The influence of pre-storage delayed cooling on quality and disorder incidence in 'Honeycrisp' apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, p. 175-180, 2004c.

DeLONG, J.M.; PRANGE, R.K.; HARRISON, P.A. Chlorophyll fluorescence-based low- O₂ CA storage of organic ‘Cortland’ and ‘Delicious’ apples. **Acta Horticulturae**, v, 737, p. 31-37, 2007.

DeLONG, A.; BOOKER, M.A. Producing the Ethylene Signal: Regulation and Diversification of Ethylene Biosynthetic Enzymes. **Plant Physiology**, v. 169, p. 42-50, 2015.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W. III. The role of the xantho - phyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. **Trends Plant Sci**, v. 1, p.21-26, 1996.

DIXON, J.; HEWETT, E.W. Exposure to hypoxia conditions alters volatile concentrations of apple cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 22-29, 2001.

DRZYZGA, O. Diphenylamine and derivatives in the environment: a review. **Chemosphere**, v. 53, p. 809-818, 2003.

DU, Z.; BRAMLAGE, W.J. Roles of ethylene in the development of superficial scald in ‘Cortland’ apples. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 119, p. 516-523, 1994.

DUARTE, J. H. S. Alternativas para a redução de custos nos pomares de macieiras - estratégias de sobrevivência na cultura. **Agapomi**, v. 196, p. 5, set. 2010.

EKMAN, J.H.; GOLDING, J.B.; McGLASSON, W.B. Innovation in cold storage technologies. **Stewart Postharvest Review**, v. 1, p. 1-14, 2005.

FAN, L.; SONG, J.; FORNEY, C.F.; JORDAN, M.A. Fruit maturity affects the response of apples to heat stress. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, p. 35-42, 2011.

FAN, X.; MATTHEIS, J.P. 1-Methylcyclopropene and storage temperature influence responses of ‘Gala’ apple fruit to gamma irradiation. **Postharvest Biology and Technology**. v. 23, p. 143-151, 2001.

FAN, X.T.; MATTHEIS, J.P.; BLANKENSHIP, S.M. Development of apple superficial scald, soft scald, core flush, and greasiness is reduced by MCP. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 3063-3068, 1999.

FARNETI et al. Detection of α -farnesene and 6-methyl-5-hepten-2-one involved in the development of apple superficial scald by ptr-tof-ms. **Acta Horticulturae**, v. 1079, p. 365-372, 2015.

FAWBUSH, F.; NOCK, J. F.; WATKINS, C. B. External carbon dioxide injury and 1-methylcyclopropene (1-MCP) in the “Empire” apple. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 92-98, 2008.

FELLMANN, J.K. et al. Relationship of harvest maturity to flavor regeneration after CA storage of ‘Delicious’ apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, p. 39-51, 2003.

FERGUSON, I.B.; WATKINS, C.B. Bitter pit in apple fruit. **Horticultural Review**, v. 11, p. 289-355, 1989.

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

FIELDER, S.; ROWAN, D. D.; SHERBURN, M. S. Synthesis of polyene sesquiterpene hydroperoxides by regio- and stereoselective transposition reactions. **Tetrahedron**, p. 12907-12922, 1998.

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

GAGO, et al. Effect of harvest date and 1-MCP (SmartFresh™) treatment on 'Golden Delicious' apple cold storage physiological disorders. **Postharvest Biology and Technology**, v. 110, p. 77-85, 2015.

GASSER, F. et al. Control of the critical oxygen level during dynamic CA storage of apples by monitoring respiration as well as chlorophyll fluorescence. **Acta Horticulturae**, v.796, p. 69-76, 2008.

GASSER, F. et al. Dynamic CA storage of apples: monitoring of the critical oxygen concentration and adjustment of optimum conditions during oxygen reduction. **Acta Horticulturae**, v. 796, p.69-76, 2010.

GASSERA, F.; VON ARX, K. Dynamic CA Storage of Organic Apple Cultivars, **Acta Horticulturae**, v. 1071, p. 527-532, 2015.

GHAHRAMANI, F.; SCOTT, K.J. The action of ethanol in controlling superficial scald of apples. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 49, p. 199-205, 1998.

GINÉ BORDONABA, J. et al. Dynamic changes in conjugated trienols during storage may be employed to predict superficial scald in 'Granny Smith' apples. **LWT-Food Science and Technology**, v.54, p.535-541, 2013.

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**, v. 14, p. 87-98, 1998.

GOLDING, J.B.; MCGLASSON, W.B.; WYLLIE, S.G. Relationship between production of ethylene and α -farnesene in apples, and how it is influenced by the timing of diphenylamine treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v.21, 225-233, 2001.

GÓMEZ-LOBATO, M. et al. Effect of 1-MCP on the expression of chlorophyll degrading genes during senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 144, p. 208-211. 2012.

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

GOULAO, L. F.; COSGROVE, D. J.; OLIVEIRA, C. M. Cloning, characterisation and expression analyses of cDNA clones encoding cell wall-modifying enzymes isolated from ripe apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 37-51, 2008.

GOUT, E. et al. Origin of the cytoplasmic pH changes during anaerobic stress in higher plant cells. Carbon-13 and phosphorous-31 nuclear magnetic resonance studies. **Plant Physiology**, v.125, p.912-925, 2001.

GOYETTE, B. et al. Hyperbaric Treatment on Respiration Rate and Respiratory Quotient of Tomato. **Food Bioprocess Technology**, v.5, p.3066-3074, 2012.

GUERRA, R. et al. A possibility for non-invasive diagnosis of superficial scald in 'Rocha' pear based on chlorophyll 'a' fluorescence, colorimetry, and the relation between α -farnesene and conjugated trienols. **Scientia Horticulturae**, v.134, p.127-138, 2012.

HARKER, F. R.; HALLETT, I. C. Physiological changes associated with development of mealiness of apple fruit during storage. **HortScience**, v. 27, p. 1291–1294, 1992.

HARKER, F. R. et al. Sensory interpretation of instrumental measurements 1: texture of apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.24, p.225-239, 2002.

HARKER, F.R. et al. Eating quality standards for apples based on consumer preferences. **Postharvest Biology and Technology**, v.50: p. 70-78, 2008.

HO, Q. T. et al. A permeation-diffusion-reaction model of gas transport in cellular tissue of apple. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1131-1140, 2004.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA: **Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**, 2015.

INGLE, I.; D'SOUZA, M.C. Physiology and control of superficial scald of apples: a review. **HortScience**, v. 24, p. 28-31, 1989.

ISIDORO, N.; ALMEIDA, D.P.F. α -Farnesene, conjugated trienols, and superficial scald in 'Rocha' pear as affected by 1- methylcyclopropene and diphenylamine. **Postharvest Biology and Technology**, v.42, p.49-56, 2006.

JIN, Y.Z. et al. Ethanol vapor treatment maintains postharvest storage quality and inhibits ethylene biosynthesis during storage of oriental sweet melons. **Postharvest Biology and Technology**, v.86, p.372-380, 2013.

JU, Z.G.; CURRY, E.A. Evidence that α -farnesene biosynthesis during fruit ripening is mediated by ethylene regulated gene expression in apples. **Postharvest Biology and Technology**, v.19, p. 9-16, 2000.

JUNG, S.K., WATKINS, C.B. Superficial scald control after delayed treatment of apple fruit with diphenylamine (DPA) and 1-methylcyclopropene (1-MCP). **Postharvest Biology and Technology**, v.50, p. 45-52, 2008.

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

KE, D.; MATEOS, M.; KADER, A.A. Regulation of fermentative metabolism in fruits and vegetables by controlled atmospheres. **Proceedings from the Sixth International Controlled Atmosphere Research Conference**, NRAES-71, Cornell University, Ithaca, NY p. 63-77. 1993.

KE, D.; YAHIA, E.; MATEOS, M.; KADER, A.A. Ethanol fermentation of 'Bartlett' pears as influenced by ripening stage and atmospheric composition. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 119, p. 976-982, 1994.

KIST, B.B. et al. **Anuário brasileiro da maçã**. Santa Cruz do Sul, Ed. Gazeta Santa Cruz, 2015 72 p. 2015.

KRAMER, D.M.; AVENSON, T.J.; EDWARDS, G.E. Dynamic flexibility in the light reactions of photosynthesis governed by both electron and proton transfer reactions. **Trends in Plant Science**, v.9, p.349-357, 2004.

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

KUPFERMAN, E. Research progress report on lenticel breakdown in Gala apples, 2008 crop. Postharvest Information Network, Washington State University - **Tree Fruit Research and Extension Center**, 2009.

KVITSCHAL, M.V. et al. Identificação de polinizadores para a cultivar de macieira Daiane. **Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal**, v. 35, p. 009-014, 2013.

LANGE, B.M. et al. Isoprenoid biosynthesis: the evolution of two ancient and distinct pathways across genomes. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 97, 13172-13177, 2000.

LEE, J. et al. Metabolic changes in 1-methylcyclopropene (1-MCP) - treated "Empire" apple fruit during storage. **Metabolomics**, v. 8, p. 742-753, 2012.

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

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymology**, v.14, p.350-385, 1987.

LITTLE, C.R.; HOLMES, R.J. In: Faragher, J.D. (Ed.), **Storage Technology for Apples and Pears: A Guide to Production**, Postharvest Treatment and Storage of Pome Fruit in Australia. 528p. 2000.

LU, X. et al. Effects of repeated 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatments on ripening and superficial scald of “Cortland” and “Delicious” apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 78, p. 48-54, 2013.

LU, X. et al. Possible mechanisms of warming effects for amelioration of superficial scald development on ‘Fuji’ apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, p. 43-49, 2011.

LUNARDI, R. et al. Suculência e solubilização de pectinas em maçãs ‘Gala’ submetidas a diferentes tempos de resfriamento e aplicação de 1-MCP, **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 871-877, 2004.

LURIE, S. et al. Effect of 1-methylcyclopropene on volatile emission and aroma in cv. Anna apples. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, p. 4251-4256, 2002.

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

LURIE, S.; WATKINS, C. B. Superficial scald, its etiology and control. **Postharvest Biology and Technology**, v. 65, p. 44-60, 2012.

LURIE, S. Postharvest heat treatments. **Postharvest Biology and Technology**, v.14, p.257-269, 1998.

MAGAZIN, N. et al. Fruit quality of Granny Smith apples picked at different harvest times and treated with 1-MCP. **Fruits**, v. 65, p. 191-197, 2010.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE POLÍTICA AGRÍCOLA: **Cenário da cadeia produtiva da maçã**. Informativo: nº54 ano 6. v. 54, 2013.

MARIN, A.B. et al. Measuring consumer response to “Gala” apples treated with 1-methylcyclopropene (1-MCP). **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, p. 73-79, 2009.

MATTHEIS, J. P.; FAN, X. T.; ARGENTA, L. C. Interactive responses of ‘Gala’ apple fruit volatile production to controlled atmosphere storage and chemical inhibition of ethylene action. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4510-4516, 2005.

MIR, N.; PEREZ, R.; BEAUDRY, R.M. A poststorage burst of 6-methyl- 5-hepten-2-one (MHO) may be related to superficial scald development in ‘Cortland’ apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 124, p. 173-176, 1999.

MOGGIA, C. et al. Effect of DPA [Diphenylamine] and 1-MCP [1-methylcyclopropene] on chemical compounds related to superficial scald of ‘Granny Smith apples’. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 69, p. 383-390, 2010.

MORAN, R.E. Maintaining fruit firmness of ‘McIntosh’ and ‘Cortland’ apples with aminoethoxyvinylglycine and 1-methylcyclopropene during storage. **HortTechnology**, v. 16, p. 513-516, 2006.

- MOYA-LEON, M.A. et al. Development of aroma compounds and sensory quality of 'Royal Gala' apples during storage. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 82, p. 403-413, 2007.
- MUNEKAGE, Y. et al. PGR5 is involved in cyclic electron flow around photosystem I and is essential for photoprotection in *Arabidopsis*. **Cell**, v. 110, p. 361-371, 2002.
- NUNES, M. C. N. **Color atlas of postharvest quality of fruits and vegetables**. Wiley-Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 2008. 463 p.
- NYASORDZI et al. Utilizing the I_{AD} index to determine internal quality attributes of apples at harvest and after storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.77, p. 80-86, 2013.
- OLIVAS, G.I. Volatile production by 'Golden Delicious' apples is affected by preharvest application of aminoethoxyvinylglycine. **Scientia Horticulturae**, v.130, p.436-444, 2011.
- PECHOUS, S.W.; WATKINS, C.B.; WHITAKER, B.D. Expression of α -farnesene synthase gene AFS1 in relation to levels of α -farnesene and conjugated trienols in peel tissue of scald-susceptible 'Law Rome' and scald-resistant 'Idared' apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.35, p.125-132, 2005.
- PECHOUS, S.W.; WHITAKER B.D. Cloning and functional expression of an (E, E) - α -farnesene synthase cDNA from peel tissue of apple fruit. **Planta**, v.219, p. 84-94, 2004.
- PEDRESCHI, R. et al. Metabolic profiling of 'Conference' pears under low oxygen stress. **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, p. 123-130, 2009.
- PESIS E. et al. A simple pretreatment with low O₂ to alleviate superficial scald in 'Granny Smith' apples. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p.1836-1844, 2007.
- PESIS et al. Superficial Scald Symptoms in 'Granny Smith' Apples Associated with Reactive Oxygen Species (ROS) Accumulation. **Proc. Fla. State Hort. Soc**, v. 125, p. 276-279. 2012.
- PESIS, E. et al. Short anaerobiosis period prior to cold storage alleviates bitter pit and superficial scald in Granny Smith apples. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 2114-2123, 2010.
- PESIS, E. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, p. 1-19, 2005.
- PESIS, E.; FAIMAN, D.; DORI, S. Postharvest effects of acetaldehyde vapour on ripening-related enzyme activity in avocado fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.13, p. 245-253, 1998.
- PFÜNDEL E.; BILGER, W. Regulation and possible function of the violaxanthin cycle. **Photosynthesis Research**, v. 42, p. 89-109, 1994.

PINTO, J.A.V. **Manejo da umidade relativa do ar durante o armazenamento e sua relação com o amadurecimento e distúrbios fisiológicos em frutas**. 2012. 94 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

PLOCHARSKI, W. J.; KONOPACKA, D. The relation between mechanical and sensory parameters of apples and pears. **Acta Horticulturae**, v. 43, p. 309-317, 1999.

PRANGE, R.K. et al. A review on the successful adoption of dynamic controlled-atmosphere (DCA) storage as a replacement for diphenylamine (DPA), the chemical used for control of superficial scald in apples and pears. **Acta Horticulturae**, v. 1071, p. 389-396, 2015.

PRANGE, R.K. et al. History, current situation and future prospects for dynamic controlled atmosphere (DCA) storage of fruits and vegetables, using chlorophyll fluorescence. **Acta Horticulturae**, v.1012, p. 905-916, 2013.

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

PRANGE, R.K. et al. Method and apparatus for monitoring a condition in chlorophyll containing matter. U.S. Patent, n.WO/2002/006795. 2007.

PRANGE, R.K.; DeLONG, J.M.; HARRISON, P.A. Oxygen concentration affects chlorophyll fluorescence in chlorophyll-containing fruit and vegetables. **J. Amer. Soc. Hort. Sci**, v.128, p. 603-607, 2003.

PRE-AYMARD, C; WEKSLER, A; LURIE; S. Responses of ‘Anna’, a rapidly ripening summer apple, to 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27 p. 163-170, 2003.

PURVIS, A.C.; GEGOGINE, J.W. Diphenylamine inhibits respiration of green bell peppers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 128, p. 924-929, 2003.

RAISON, J.K.; ORR, G.R. Proposals for a better understanding of the molecular basis of chilling injury, p. 145-164. In: C.Y. Wang (cd.). **Chilling injury of horticultural crops**. CRC Press, Boca Raton, Fla. 1990.

RAO, M.V. et al. Active oxygen species metabolism in ‘White Angel’ × ‘Rome Beauty’ apple selections resistant and susceptible to superficial scald **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.123, p. 299-304, 1998.

REETZ, E. R. et al. **Anuário Brasileiro da Fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2015. 104p. 2014.

RHOTHAN, C.; NICOLAS, J. High CO₂ levels reduce ethylene production in kiwifruits. **Physiologia Plantarum**, v. 92, p. 1-8, 1994.

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

RIZZOLO, A. et al. α -Farnesene, Conjugated Trienols, Fermentative Metabolites and Superficial Scald in “Conference” Pears as Affected by 1-Methylcyclopropene, Initial Low Oxygen Stress and Controlled Atmosphere Storage, p. 429-436, 2015.

ROWAN, D.D. et al. Conjugated triene oxidation products of α -farnesene induce symptoms of superficial scald on stored apples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2780-2787, 2001.

ROWAN, D.D. et al. Identification of conjugated triene oxidation products of α -farnesene in apple skin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p. 2040-2045, 1995.

RUDELL, D.R.; MATTHEIS, J.P.; FELLMAN, J.K. Relationship of superficial scald development and α -farnesene oxidation to reactions of diphenylamine and diphenylamine derivatives in cv. Granny Smith apple peel. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 8382-8389, 2005.

RUPASINGHE, H.P.V. et al. Inhibitory effect of 1- MCP on ripening and superficial scald development in ‘McIntosh’ and ‘Delicious’ apples. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 75, p.271-276, 2000.

SABBAN-AMIN, R. et al. Low oxygen and 1-MCP pretreatments delay superficial scald development by reducing reactive oxygen species (ROS) accumulation in stored “Granny Smith” apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, p. 295-304, 2011.

SALAS, N.A. et al. Volatile production by ‘Golden Delicious’ apples is affected by preharvest application of aminoethoxyvinylglycine. **Scientia Horticulturae**, v. 130, p. 436-444, 2011.

SAQUET, A. A.; STREIF J. Fermentative metabolism in ‘Jonagold’ apples under controlled atmosphere storage. **European Journal of Horticultural Science**, v.73, p.43-46, 2008.

SCHOTSMANS, W. et al. Simultaneous measurement of oxygen and carbon dioxide diffusivity in pear fruit tissue. **Postharvest Biology and Technology**, v. 29, p.155-166, 2003.

SCHOTSMANS, W. et al. The relationship between gas transport properties and the histology plant materials, **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 15, p. 4215-4224, 2006.

SCHOUTEN, S.O.P. et al. Improvement of quality of ‘Elstar’ apples by dynamic control of ULO conditions. Proc. 7th CA Res. Conf., **Postharvest Horticulture Series**, v. 16 p.71-78, 1997.

SCOTT, K.J.; WILLS, R.B.H.; MCBAILEY, W. The action of phorone and other compounds in controlling superficial scald of apples. **Scientia Horticulturae**, v. 13, p. 9-14, 1980.

SCOTT, K.J.; YUEN, C.M.C.; GJAJRAMANI, F. Ethanol vapour - a new anti-scald treatment for apple. **Postharvest Biology and Technology**, v.6, p.201-208, 1995.

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

- SKIBSTED, L. H. Carotenoids in antioxidant networks colorants or radical scavengers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 2409-2417, 2012.
- STEFFENS, C.A. et al. Maturação da maçã 'Gala' com a aplicação pré-colheita de aminoetoxivinilglicina e ethephon. **Ciência Rural**, v. 36, p. 434-440, 2006.
- STEPHENSEN, C.B. Provitamin A carotenoids and immune function. In S. A. Tanumihardjo (Ed.), **Carotenoids and Human Health**. p. 261-270. Humana Press. 2013.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 782p.
- TATSUKI, M.; ENDO, A.; OHKAWA, H. Influence of time from harvest to 1-MCP treatment on apple fruit quality and expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors. **Postharvest Biology and Technology**, v. 43, p. 28-35, 2007.
- THEWES, F.R. et al. Dynamic controlled atmosphere and ultralow oxygen storage on 'Gala' mutants quality. **Food Chemistry**, v. 188, p. 62-70, 2015a.
- THEWES, F.R., et al. 1-methylcyclopropene effects on volatile profile and quality of 'Royal Gala' apples produced in Southern Brazil and stored in controlled atmosphere. **Ciência Rural**, v. 45, p. 2259-2266, 2015b.
- THOMAI, T. et al. Effects of low preharvest temperature on scald susceptibility and biochemical changes in "Granny Smith" apple peel. **Scientia Horticulturae**, v. 76, p. 1-15, 1998.
- THOMPSON, A.K. **Controlled Atmosphere Storage of Fruits and Vegetables**. 2ed. CAB International, Wallingford, UK. 2010.
- TRAN, D.T. et al. Monitoring of extreme low oxygen control atmosphere storage of 'Greenstar' apples using chlorophyll fluorescence. **Scientia Horticulturae**, v.184, p.18-22, 2015.
- TSANTILI, E. et al. Ethylene and α - farnesene metabolism in green and red skin of three apple cultivars in response to 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 5267-5276, 2007.
- USDA. Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. **Apple - USDA**. Disponível em: <<http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/apple.pdf>>. Acesso em: 21 dez. 2015.
- USApple. The Production and Utilization Analysis for the 2014 U.S. Apple Association Apple Crop Outlook and Marketing Conference is published by the U.S. **Apple Association (USApple)**.Disponível em:<<https://ciderconferencedotcom.files.wordpress.com/2015/01/2014-usapple-production-utilization-analysis.pdf>>. Acesso em: 29 dez. 2015.
- VELTMAN, R.H.; VERSCHOOR, J.A.; RUIJSCH Van DUGTEREN, J.H. Dynamic control system (DCS) for apples (*Malus domestica* Borkh. cv. 'Elstar'): optimal quality through storage based on products response. **Postharvest Biology and Technology**, v.27, p.79-86, 2003.
- VICENTE, J. F. Relação entre a densidade e rigidez de carne de maçã. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v, 47, p. 443-462, 1989.

WAKASA, Y. et al. Low expression of an endopolygalacturonase gene in apple fruit with long-term storage potential. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, p.193-198, 2006.

WANG, Z.Y.; DILLEY, D.R. Control of superficial scald of apples by low-oxygen atmospheres. **HortScience**, v. 34, p. 1145-1151, 1999.

WANG, Z.; DILLEY, D.R. Initial low oxygen stress controls superficial scald of apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 18, p. 201-213, 2000.

WATKINS, C. B. The effect of 1-MCP on the development of physiological storage disorders in horticultural crops. **Stewart Postharvest Review**, v. 2, p. 1-6, 2007.

WATKINS, C.B. Dynamic Controlled Atmosphere Storage - A New Technology for the New York Storage Industry? **New York Fruit Quarterly**, v.16, p. 1-32, 2008.

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

WATKINS, C.B.; BARDEN, C.L.; BRAMLAGE, W.J. Relationships among α -farnesene, conjugated trienes and ethylene production with superficial scald development of apples. **Acta Horticulturae**, v. 343, p. 155-160, 1993.

WATKINS, C.B.; BRAMLAGE, W. J.; CREGOE, B. A. Superficial Scald of “Granny Smith” Apples is Expressed as a Typical Chilling Injury. **Journal of American Society of Horticultural Science**, v. 120, p. 88-94, 1995.

WATKINS, C.B.; NOCK, J.F. Effects of delays between harvest and 1- methylcyclopropene treatment, and temperature during treatment, on ripening of air-stored and controlled-atmosphere-stored apples. **HortScience**, v, 40, p. 2096 - 2101, 2005.

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

WATKINS, C.B.; NOCK, J.F. Rapid 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment and delayed controlled atmosphere storage of apples. **Postharvest Biology and Technology**, v.69, p. 24-31, 2012.

WAPA. **The World Apple and Pear Association**. 2014. Disponível em: < <http://www.wapa-association.org/asp/index.asp>>. Acesso em: 29 dez. 2015.

WEBER, A. **Aplicação de produtos da fermentação e ultrabaixo oxigênio para conservação de maçãs ‘Royal Gala’**. 2010. 89 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

WEBER, A. et al. ‘Royal Gala’ apple quality stored under ultralow oxygen concentration and low temperature conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 46, p. 1597-1602, 2011.

WEBER, A. et al. Relative humidity and its interaction with the storage temperature of ‘Gala’ apples and mutants. **Ciência Rural**, v. 42, p. 2159-2165, 2012.

WEBER, A. **Quociente respiratório: inovação tecnológica para o armazenamento de maçãs em atmosfera controlada dinâmica**. Santa Maria, RS: UFSM, 2013. 147p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

WEBER, A. et al. Atmosfera controlada para o armazenamento da maçã ‘Maxi Gala’. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 294-301, 2013.

WEBER, A. et al. Respiratory quotient: innovative method for monitoring ‘Royal Gala’ apple storage in a dynamic controlled atmosphere. **Scientia Agricola**, v.72, p. 28-33, 2015.

WHITAKER, B.D. Oxidative stress and superficial scald of apple fruit. **HortScience**, v. 39, p. 933-937, 2004.

WHITAKER, B.D.; SAFTNER, R.A. Temperature-dependent autoxidation of conjugated trienols from apple peel yields 6-methyl-5-hepten-2-one, a volatile implicated in induction of scald. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p. 2040-2043, 2000.

WHITAKER, B.D.; SOLOMOS, T.; HARRISON, D.J. Quantification of α -farnesene and its conjugated trienol oxidation products from apple peel by C-18-HPLC with UV detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.760-765, 1997.

WRIGHT, A. H. et al. The trend toward lower oxygen levels during apple (*Malus domestica* Borkh) storage - A review. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 90, p. 1-13, 2015.

WRIGHT, A.H. et al. A new minimum fluorescence parameter, as generated using pulse frequency modulation (PFM), compared with pulse amplitude modulation (PAM): Fa versus Fo. **Photosynth Res**, v. 97, p. 205-214, 2008.

WRIGHT, A.H. et al. Dynamic controlled atmosphere (DCA): Does fluorescence reflect physiology in storage? **Postharvest Biology and Technology**, v. 64, p. 19-30, 2012.

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

WRIGHT, A.H. et al. The interrelationship between the lower oxygen limit, chlorophyll fluorescence and the xanthophyll cycle in plants. **Photosynthesis Resesarch**, v.107, p.223-235, 2011.

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

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

ZANELLA, A.; CAZZANELLI, P.; ROSSI, O. Dynamic controlled atmosphere (DCA) storage by the means of chlorophyll fluorescence response for firmness retention in apple. **Acta Horticulturae**, v, 796, p. 77-82, 2008.

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

ZANELLA, A.; ROSSI, O. Post-harvest retention of apple fruit firmness by 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment or dynamic CA storage with chlorophyll fluorescence (DCA-CF). **European Journal of Horticultural Science**, v. 80, n. 1, p. 11-17, 2015.

ZANELLA, A.; STÜRZ, S. Replacing DPA post-harvest treatment by strategical application of novel storage technologies controls scald in 1/10th of EU's apples producing area. **Acta Horticulturae**, v.1012, p.419-426, 2013.