

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

**Indução de maturação pós-colheita de frutos
de morango (*Fragaria* × *ananassa*)**

Tatiane Jéssica Siebeneichler

Pelotas, 2019

Tatiane Jéssica Siebeneichler

**Indução de maturação pós-colheita de frutos
de morango (*Fragaria × ananassa*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dra. Vanessa Galli

Pelotas, 2019

Tatiane Jéssica Siebeneichler

**Indução de maturação pós-colheita de frutos
de morango (*Fragaria × ananassa*)**

Data da Defesa:

Banca examinadora:

Profa. Dra. Adriana Dillenburg Meinhart. Doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas.

Dra. Isabel Lopes Vighi. Doutora em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dra. Vanessa Galli. Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Dra. Vívian Ebeling Viana. Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Dedico este trabalho à minha família.

Agradecimentos

À Universidade Federal de Pelotas e ao Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

À Profa. Dra. Vanessa Galli, minha orientadora, que acompanhou com dedicação e comprometimento o desenvolvimento da pesquisa, mostrando-me os caminhos possíveis. Obrigada pela oportunidade, orientação, apoio, e confiança dada à mim para realização deste trabalho. Deixo aqui a minha gratidão e admiração.

Aos membros da banca da minha dissertação de mestrado pelas valiosas contribuições, críticas e sugestões que certamente elevaram a qualidade do trabalho.

Aos meus pais, Leonice e Astor, pela formação, ensinamentos, incentivo a todas as minhas decisões e pela base sólida, que só uma família pode proporcionar.

À minha irmã e ao meu cunhado, Daiane e Maicon, que mesmo distantes se fizeram presentes, acreditando em mim e me incentivando durante essa trajetória.

A toda minha família, por ter compreendido a minha ausência em vários momentos durante esta trajetória. Esta vitória também é de vocês!

Ao Rudimar Tonini pelo amor, carinho, confiança e apoio. Obrigada por ter ficado ao meu lado durante esta caminhada, por ouvir e dialogar comigo sobre as minhas inquietações e por sempre compreender as horas em que estou ausente.

À minha querida amiga Dulci, por proporcionar um lar aconchegante para as minhas longas horas de estudo e não medir esforços para me ver sempre bem.

Um agradecimento especial à minha querida amiga e colega Rosane, pela valiosa amizade, apoio e preciosos ensinamentos prestados durante a realização desse trabalho... Obrigada por tudo Rosane!

Aos meus colegas e amigos de laboratório pelo convívio, auxílio, troca de ideias e por sempre torcerem por mim.

Por fim, à CAPES pelo apoio financeiro.

Durante esse percurso, sou grata a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão desta investigação. Por isso, muito obrigada!

"A mind that is stretched by a new experience can never go back to its old dimensions." - Oliver Wendell Holmes

"Eu não tenho paredes. Só tenho horizontes" – Mário Quintana

Resumo

SIEBENEICHLER, Tatiane Jéssica. **Indução de maturação pós-colheita de frutos de morango (*Fragaria x ananassa*)**. 2019. 85f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

O morango (*Fragaria x ananassa*) é um fruto que apresenta características sensoriais muito apreciadas pelo consumidor, além de ser rico em compostos antioxidantes, principalmente antocianinas, compostos fenólicos e vitamina C. É um fruto de grande importância comercial. No entanto, um fator limitante é a baixa resistência mecânica, acarretando em perdas importantes no pós-colheita. No atual sistema de produção, os morangos são colhidos no estágio final de maturação. Uma prática realizada em frutas climatéricas é a colheita antes da plena maturação. Nesse sentido objetivou-se avaliar o efeito da aplicação pós-colheita de ácido abscísico (ABA) ou sacarose no acúmulo de compostos relacionados ao processo de amadurecimento de morangos. O trabalho foi dividido em três estudos, o primeiro consistiu na aplicação de três doses de sacarose e manitol (controle osmótico) na indução da maturação, no segundo estudo avaliou-se a aplicação de ABA e do seu inibidor, o ácido nordihidroguaiarético (NDGA), e no terceiro estudo avaliou-se o acúmulo de compostos relacionados ao amadurecimento pós-colheita em comparação ao amadurecimento *in vivo*. O amadurecimento induzido no pós-colheita resultou em frutos com perfil de antocianinas e cor distintos da maturação *in vivo*, maior conteúdo de compostos fenólicos totais e individuais (catequina, ácido hidroxibenzoico e epicatequina) atividade antioxidante, teor de vitamina C nos tratamentos com a menor dose de sacarose e controle, conteúdo reduzido de açúcares, especialmente sacarose, maior firmeza de polpa, além do aumento de compostos marcadores de estresse (ABA-glicosil éster, ácido faseico e ácido dehidrofaseico e prolina). Os frutos que foram submetidos à aplicação de sacarose mostraram maior conteúdo de sólidos solúveis totais, antocianinas, compostos fenólicos, vitamina C, e atividade antioxidante quando comparados ao manitol. Além disso, apresentaram maior conteúdo de açúcares (glicose, frutose e sacarose) e maior porcentagem de frutos vermelhos após três dias de armazenamento, comparado a ambos controles (com água ou com manitol). A aplicação de ABA resultou no aumento do conteúdo de ABA e ABA-glicosil éster nas frutas e induziu um aumento no conteúdo de epicatequina. O seu inibidor resultou em redução no conteúdo de açúcares, sólidos solúveis totais, conteúdo de antocianinas e vitamina C, e, portanto, desacelerando o processo de maturação. Resultados indicam uma aceleração do processo de maturação pós-colheita de frutos de morango utilizando sacarose e atraso devido à aplicação de manitol e NDGA.

Palavras-chave: Amadurecimento. Ácido abscísico. Sacarose. Antocianinas.

Abstract

SIEBENEICHLER, Tatiane Jéssica. **Postharvest ripening induction of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa*)**. 2019. 85f. Dissertation (Master Degree in Food Science and Technology) – Graduate Program in Food Science and Technology, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2019.

Strawberry (*Fragaria x ananassa*) is a pseudo-fruit that has sensory characteristics much appreciated by the consumer, besides being rich in antioxidant compounds, mainly anthocyanins, phenolic compounds and vitamin C. It is a fruit of great commercial importance. However, a limiting factor is the low mechanical strength, leading to significant postharvest losses. In the current production system, strawberries are harvested at the final stage of ripeness. A practice performed on climatic fruits is harvesting before full ripeness. In this sense, the objective of this study was to evaluate the effect of abscisic acid (ABA) or sucrose postharvest application on the accumulation of compounds related to the ripening process of strawberries. The study was divided into three studies, the first consisted of the application of three doses of sucrose and mannitol (osmotic control) in the induction of maturation, the second study evaluated the application of ABA and nordihydroguaiaretic acid (NDGA), and the third study evaluated accumulation of compounds related to postharvest ripening compared to in vivo ripening. Postharvest induced ripening resulted in fruits with anthocyanin profile and color distinct from in vivo ripening, higher content of total and individual phenolic compounds (catechin, hydroxybenzoic acid and epicatechin) antioxidant activity, vitamin C content in the treatments with the lowest sucrose dose and control, reduced sugar content, especially sucrose, higher flesh firmness, and increased stress marker compounds (ABA-glycosyl ester, phaseic acid and dehidrophaseic acid and proline). Fruits that were submitted to sucrose application showed higher content of soluble solids content, anthocyanins, phenolic compounds, vitamin C, and antioxidant activity when compared to mannitol. Moreover, they presented higher sugar content (glucose, fructose and sucrose) and higher percentage of red fruits after three days of storage, compared to both controls (with water or with mannitol). ABA application resulted in increased ABA and ABA-GE content in fruits and induced an increase in epicatechin content. Its inhibitor has resulted in a reduction in sugar content, soluble solids content, anthocyanin content and vitamin C, thus slowing the maturation process. Results indicate an acceleration of the postharvest ripening process of strawberry fruits using sucrose and delay due to the application of mannitol and NDGA.

Keywords: Strawberry. Postharvest. Maturation. Abscisic acid. Sucrose.

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABA	Ácido Abscísico
ABA-GE	ABA-glicosil éster
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i>
CG-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de massas
DPA	Ácido Dehidrofaseico (do inglês: dehidrophaseic acid)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
MS	Espectrometria de massas (do inglês: <i>mass spectrometry</i>)
N	NDGA
NCED	Enzima 9-cis-epóxicarotenóide dioxigenase
NDGA	Ácido nordihidroguaiarético
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (do inglês: <i>National Institute of Standards and Technology</i>)
NS	Não Significativo
PA	Ácido Faseico (do inglês: phaseic acid)
SST	Sólidos Solúveis Totais
UR	Umidade Relativa

Sumário

1 Introdução	12
2 Objetivos	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3 Hipótese	16
4 Revisão Bibliográfica.....	17
4.1 O morango (<i>Fragaria x ananassa</i>)	17
4.2 A pós-colheita de morangos.....	17
4.3 O processo de amadurecimento em morangos.....	19
4.4 A influência do ácido abscísico no amadurecimento de morangos.....	24
4.4 A influência de açúcares no amadurecimento de morangos.....	26
5 Material e Métodos.....	28
5.1 Material	28
5.2 Métodos	28
5.2.1 Experimento pós-colheita.....	28
5.2.2 Métodos analíticos	31
5.2.2.1 Características físicas dos morangos.....	31
5.2.2.2 pH, sólidos solúveis e acidez total.....	31
5.2.2.3 Antocianinas totais	32
5.2.2.4 Compostos fenólicos totais.....	32
5.2.2.5 Atividade antioxidante	33
5.2.3 Análise cromatográfica por HPLC-MS.....	33
5.2.3.1 Compostos fenólicos individuais	33
5.2.3.2 Antocianinas individuais	35
5.2.3.3 Ácido abscísico	36
5.2.3.4 Vitamina C.....	37

5.3.4 Análise cromatográfica por CG-MS	38
5.3.4.1 Açúcares, ácidos orgânicos e aminoácido	38
5.2.5 Análise estatística	39
6 Resultados	40
6.1 Efeito da aplicação pós-colheita de sacarose	40
6.1.1 Parâmetros de qualidade (cor, SST, acidez, firmeza)	40
6.1.2 Parâmetros de qualidade funcional	42
6.1.2.1 Antocianinas individuais	43
6.1.2.2 Compostos fenólicos individuais	45
6.1.2.3 Vitamina C.....	47
6.1.3 Conteúdo de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos	47
6.1.4 Conteúdo de ABA e derivados	50
6.2 Efeito da aplicação pós-colheita de ABA.....	51
6.2.1 Parâmetros de qualidade (cor, SST, acidez, firmeza)	51
6.2.2 Parâmetros de qualidade funcional	53
6.2.2.1 Antocianinas individuais	54
6.2.2.2 Compostos fenólicos individuais	55
6.2.2.3 Vitamina C.....	56
6.2.3 Conteúdo de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos	56
6.2.4 Conteúdo de ABA e seus derivados.....	60
6.3 Maturação pós-colheita e <i>in vivo</i>	60
6.3.2 Parâmetros de qualidade funcional	63
6.3.2.1 Antocianinas individuais	64
6.3.2.2 Compostos fenólicos individuais	67
6.3.2.3 Vitamina C.....	69
6.3.3 Conteúdo de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos	69
6.3.4 ABA e derivados.....	73

7 Discussão.....	75
8 Considerações finais.....	81

1 Introdução

O morango (*Fragaria x ananassa*) é um pseudofruto nativo de regiões de clima temperado, e apresenta características que agradam o consumidor, como a cor vermelho-brilhante intensa, odor típico, textura macia, sabor levemente acidificado, além de ser rico em compostos antioxidantes, principalmente antocianinas, compostos fenólicos e vitamina C (ERKAN et al., 2008; JUNIOR et al., 2012).

Os morangos tem grande importância para o mercado mundial, apresentam elevado valor comercial e sua produção está em constante crescimento. Em 2017, a produção mundial em toneladas chegou a mais de 9 milhões (FAO, 2017). Entretanto, a baixa resistência mecânica é um fator limitante no seu sistema de produção, em especial nas etapas de transporte e comercialização, acarretando em perdas importantes no pós-colheita. Isto porque no atual sistema de produção, os morangos são colhidos no estágio final de maturação; neste caso são altamente perecíveis, por conta da fragilidade celular, da alta taxa respiratória e da suscetibilidade ao crescimento fúngico (BATISTA, 2017; PALHA, 2005).

Uma alternativa amplamente utilizada na maioria dos frutos climatéricos, como o tomate e a banana, é a colheita antes da plena maturação. Nestes frutos ocorre um aumento expressivo na produção de etileno em associação com o aumento das taxas de respiração durante o processo de amadurecimento, sendo que o entendimento das vias de regulação e de sinalização encontra-se bastante consolidado (ALEXANDRE e GRIERSON, 2002; MAINARDI et al., 2006). Entretanto, frutos não climatéricos, como o morango, não desenvolvem a plena maturação se colhidos imaturos; estes não apresentam o mesmo aumento da taxa respiratória, além de não serem responsivos ao etileno durante a maturação (JIA et al., 2011).

O processo de amadurecimento de frutos é complexo, envolve uma série de mudanças fisiológicas e bioquímicas, as quais refletem na qualidade dos frutos, tais como sabor, textura, cor e aroma. Em frutos não climatéricos, o conhecimento acerca deste processo ainda é escasso, sendo que pouco se sabe sobre os mecanismos fisiológicos, celulares e moleculares que o regulam

(PALHA, 2015). Li et al. (2011) mostraram que durante a maturação de frutos, tanto climatéricos quanto não climatéricos, ocorre um aumento do conteúdo de ácido abscísico (ABA). Especificadamente em morango, estudos mostram que a aplicação de ABA de forma exógena, em frutos ainda ligados à planta mãe, acelera significativamente o amadurecimento, principalmente através do incremento de antocianinas; enquanto que o silenciamento do gene associado com a síntese de ABA (*FaNCDE1*) ocasionou retardo no amadurecimento devido à redução no conteúdo de ABA (CHEN et al., 2011; JIA et al., 2011). Através destes estudos é conhecido que o ABA tem uma atuação relevante na indução e condução do processo de maturação, principalmente associado à síntese de pigmentos, sendo este hormônio, portanto, um possível candidato para o desenvolvimento de um processo de controle da maturação em frutos não climatéricos, de forma similar ao ocorrido com o etileno em frutos climatéricos.

Além do ABA, os açúcares podem estar envolvidos no processo de amadurecimento de frutos de morango. Um estudo realizado por JIA et al., (2013) injetando açúcares (glicose, frutose e sacarose) em morangos no estágio verde demonstra que açúcares, em especial a sacarose, atuaria como sinalizadora para ativação da síntese de ABA nos frutos *in vivo*, o qual por sua vez levaria ao aumento de açúcares e antocianinas para promover o amadurecimento. Mais recentemente foi demonstrado que o tratamento pós-colheita com sacarose exógena aumenta os teores de açúcares e antocianinas individuais, em relação ao controle tratado com manitol (LI et al., 2019).

Em tomates também foi visto que a sacarose aplicada de forma exógena regula positivamente a expressão dos genes relacionados à biossíntese de etileno. A sacarose proporcionou o aumento de um gene chave envolvido no sistema auto catalítico de biossíntese do etileno (*ACS2*), bem como aumentou a expressão de genes de receptores de etileno, indicando que este açúcar estimula o amadurecimento de frutos de tomate (LI et al., 2016). É reconhecido que o ABA também está envolvido na regulação da biossíntese e sinalização do etileno durante o amadurecimento dos frutos (MOU et al., 2016).

Estes resultados sugerem que a interação entre açúcares e ABA pode ser um mecanismo central na regulação do amadurecimento de frutos. Embora a indução do amadurecimento dos frutos de morango devido à aplicação de ABA

e sacarose na pré-colheita tenha sido demonstrada, o efeito da aplicação pós-colheita destes compostos ainda carece de maiores investigações.

Conhecendo melhor os fatores que regulam o amadurecimento de frutos e as formas de interferir nesse processo é possível minimizar perdas durante a colheita, transporte e armazenamento.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da aplicação pós-colheita de ABA e sacarose em frutos de morango imaturos no acúmulo de compostos relacionados ao processo de amadurecimento de morangos.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da aplicação pós-colheita de sacarose e manitol em frutos de morango imaturos quanto ao conteúdo de antocianinas, compostos fenólicos, vitamina C, açúcares, ABA, sólidos solúveis totais, além de atividade antioxidante total, textura, perda de massa e acidez titulável.

- Avaliar o efeito da aplicação pós-colheita de ABA e inibidor de ABA em frutos de morango imaturos quanto ao conteúdo de antocianinas, compostos fenólicos, vitamina C, açúcares, ABA, sólidos solúveis totais, além de atividade antioxidante total, textura, perda de massa e acidez titulável.

- Comparar o processo de maturação *in vivo* com a maturação induzida no pós-colheita utilizando ABA ou sacarose.

3 Hipótese

A aplicação exógena de ácido abscísico ou sacarose no pós-colheita proporciona o amadurecimento de morangos.

4 Revisão Bibliográfica

4.1 O morango (*Fragaria x ananassa*)

O morango (*Fragaria x ananassa*) pertence à família das Rosaceae e é definido como um pseudofruto, pois a parte carnosa é o receptáculo; os frutos verdadeiros são os aquênios, arranjados na superfície dos morangos (TAIZ et al., 2017). Essa pequena fruta é originária de regiões de clima temperado. Atualmente ela é amplamente consumida por apresentar atributos atraentes aos consumidores, como a coloração vermelha, odor típico, textura macia e sabor levemente acidificado. Além das características sensoriais, trata-se de uma fruta rica em compostos benéficos à saúde, destacando-se os antioxidantes, como a vitamina C, as antocianinas e os compostos fenólicos (PERKINS-VEAZIE, 1995).

As principais classes de compostos fenólicos presentes em morangos são: flavonóis (kaempferol, quercetina, miricetina), flavanóis (catequina, epicatequina) ácidos hidroxibenzoicos (ácido gálico e elágico), ácido hidroxicinâmico (*p*-cumárico, 5-cafeoilquínico), antocianinas (pelargonidina, cianidina), e taninos hidrolisáveis elagitaninos (KOSAR et al., 2004; AABY et al., 2012, AABY e REMBERG, 2015). Dentre as antocianinas, as mais comumente presentes em morangos são a pelargonidina 3-glicosídeo, atribuindo coloração vermelha viva, e a cianidina 3-glicosídeo, responsável por coloração vermelha escura.

Os morangos tem grande importância para o mercado mundial; a cultura apresenta-se consolidada economicamente nos continentes americano, europeu e asiático (MADAIL et al., 2016). São frutas de elevado valor comercial que, juntamente com a diversidade de opções de comercialização e processamento, são fatores que levam a um constante crescimento em sua produção.

4.2 A pós-colheita de morangos

Apesar da rentabilidade e interesse na produção de morangos, os mesmos são altamente perecíveis, devido à alta taxa respiratória após a colheita, além de ser suscetível à incidência de fungos que acarretam perdas consideráveis, tanto nutritivas e qualitativas, quanto econômicas (CANTILLANO,

2016). Estes pseudofrutos possuem baixa resistência mecânica devido à epiderme delicada, à grande porcentagem de água e ao alto metabolismo respiratório. Se forem colhidos muito maduros, os morangos poderão chegar ao mercado consumidor apresentando podridão; por outro lado, se colhidos imaturos, ainda não terão desenvolvido aroma, além de resultarem em frutas ácidas e adstringentes (ALIASGARIAN et al., 2013; CANTILLANO; ANTUNES, 2016).

Em condições ambiente, a durabilidade é de no máximo três dias. Diversas estratégias com intuito de prolongar a vida pós-colheita têm sido estudadas. Uma prática comum é a aplicação de fungicidas sintéticos em campo, no entanto, tem sido documentado o desenvolvimento de resistência a diversas classes de fungicidas (MYRESIOTIS et al., 2007). Sob atmosferas modificadas a taxa de respiração pode ser reduzida, através da diminuição dos níveis de oxigênio e aumento dos níveis de dióxido de carbono, resultando no retardo dos processos metabólicos de maturação e senescência. Nadas et al., (2003) relataram que morangos armazenados a frio combinado com atmosfera enriquecida com ozônio reduziu a incidência de *Botrytis cinerea*, a perda de peso e o amolecimento dos frutos, mas resultou em frutos menos aromáticos. Segundo Chitarra e Chitarra (1990), é possível prolongar o período de vida pós-colheita em 10 dias, mantendo as frutas em temperatura de 0-5 °C, 10 % O₂ e 15-20 % CO₂.

A composição nutricional e de compostos bioativos também sofrem alterações de acordo com as condições de armazenamento, assim como a cultivar, o estágio de maturação e o tempo de colheita (GIL et al., 1997; OLSSON et al., 2004; TULIPANI et al., 2008). Segundo o estudo de Pincemail et al. (2012), o tempo de colheita afeta o conteúdo de ácido ascórbico, fenólicos e a capacidade antioxidante dos frutos. Shin et al. (2008) mostraram que as concentrações totais de flavonoides, fenólicos e a atividade antioxidante diminuiriam rapidamente em morangos colhidos maduros, armazenados a 10 °C. Por outro lado, frutos colhidos antes da plena maturação (com a ponta branca) apresentaram maiores concentrações desses compostos, que se mantiveram estáveis ao longo do armazenamento. Além disso, em morangos colhidos maduros, o conteúdo de ácido ascórbico diminuiu rapidamente após o 9º dia de

armazenamento a 10 °C, enquanto que em morangos colhidos antes da maturação os níveis foram mantidos (SHIN et al., 2008). De acordo com Wang e Lin (2000), morangos colhidos no estágio verde tiveram baixas concentrações de antocianinas, entretanto as concentrações de fenólicos totais e a atividade antioxidante total aumentaram com o amadurecimento.

Desta forma, compreender melhor o modo como ocorre a regulação e formas de controle do amadurecimento em morangos poderá auxiliar a solucionar problemas relacionados com a produção, colheita, armazenamento e comercialização de frutas. Colher frutos antes da plena maturação é uma estratégia muito utilizada em frutos climatéricos, como a banana e o mamão, os quais são responsivos ao etileno. No estágio verde, os frutos apresentam maior resistência mecânica, facilitando o transporte e a comercialização.

4.3 O processo de amadurecimento em morangos

Os frutos, em seu ciclo de crescimento e desenvolvimento, passam basicamente por três fases: a) crescimento; b) maturação; e c) senescência. A primeira fase, o crescimento, consiste no aumento do número de células, momento no qual ocorre o armazenamento de água, carboidratos e ácidos orgânicos no vacúolo, que serão utilizados em processos bioquímicos durante todo o ciclo vital. Para biossíntese desses compostos orgânicos, é necessário energia e carbono, que são obtidos pelo processo respiratório (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Particularmente em morangos, o crescimento é dependente de auxinas produzidas nos aquênios e a variação das dimensões dos frutos são influenciadas por diversos fatores, entre eles, ambientais, genéticos, nutricionais e fisiológicos (GONÇALVES et al., 2016). De modo geral, quanto menos avançado o estágio de maturação, os frutos apresentam maior tempo de armazenamento pós-colheita; no entanto, a qualidade sensorial é menor. Por outro lado, quanto mais avançado o estágio de maturação, menor o tempo de armazenamento e maior a qualidade sensorial. Durante a maturação ocorrem as mudanças que tornam os frutos mais atraentes para o consumo, incluindo mudança de cor, acúmulo de açúcares, alteração de textura, hidrólise do amido, incremento de aromas e redução de ácidos orgânicos e compostos fenólicos. Ao final da maturação fisiológica os frutos tornam-se menos dependentes do

fornecimento de água e nutrientes pela planta, pois podem utilizar a própria reserva de nutrientes para realizar atividades vitais (TAIZ et al., 2017). Na última fase, de senescência, os processos anabólicos (de síntese) diminuem e aumentam os processos catabólicos (de degradação), sendo esta fase marcada por progressiva perda de integridade das membranas celulares (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Em frutos climatéricos, como o mamão, tomate e banana, o processo de amadurecimento é influenciado pela atividade respiratória celular e conteúdo do fitohormônio etileno. Estes frutos apresentam um pico de produção de etileno e alta atividade respiratória no início do amadurecimento e, quando colhidos antes da plena maturação, seguem o amadurecimento fora da planta (SILVA et al., 2001). Por outro lado, frutos não climatéricos não apresentam o mesmo pico de etileno e não são tão responsivos a este fitohormônio. Nesses frutos as transformações bioquímicas ocorrem quando o fruto ainda está ligado à planta (TAIZ et al., 2017). No sistema atual, os morangos devem ser colhidos no momento mais próximo da sua maturação completa, quando suas características organolépticas se expressem de forma total (CANTILLANO, 2016).

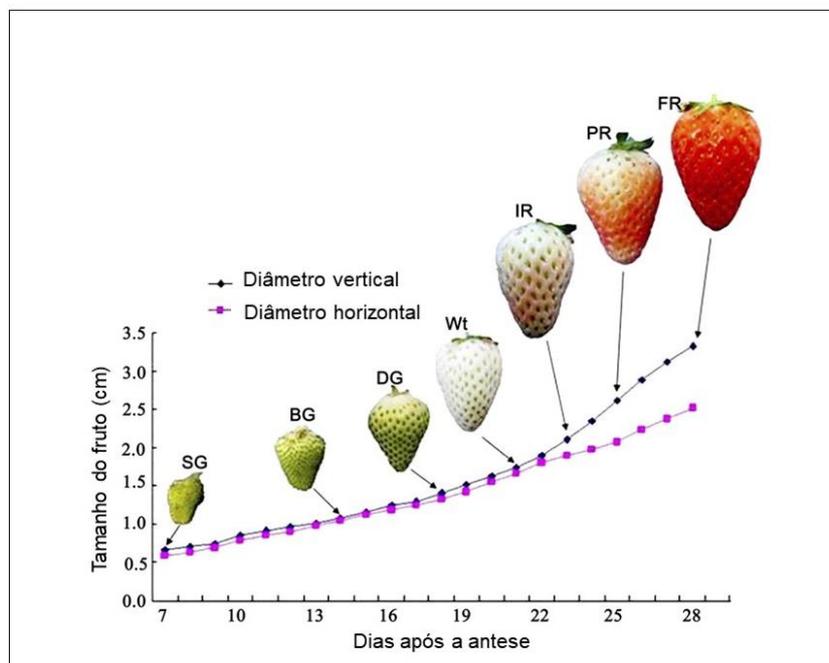


Figura 1 - Estádios de desenvolvimento do fruto de morango. SG: verde pequeno; BG: verde grande; DG: degradação do verde; (Wt) branco; IR: vermelho inicial; PR: vermelho parcial; FR: vermelho completo, aproximadamente 7, 14, 18, 21, 23, 25 e 28 dias após a antese, respectivamente.

Fonte: adaptado de Jia et al., (2011).

O morango é um modelo estabelecido para estudar o amadurecimento de frutos não climatéricos, pois é uma planta de fácil propagação, os frutos são pequenos e desenvolvem-se rapidamente, além de apresentar estádios de amadurecimento bem caracterizados, conforme proposto por Jia et al., (2011) e apresentado na Figura 1.

A modificação de coloração em morangos inicia pela perda do pigmento verde, devido à degradação da clorofila, seguido do desenvolvimento de antocianinas, correspondente aos pigmentos vermelhos, característicos da fruta madura (TAIZ et al., 2017). Em morangos, exceto no morango branco, as antocianinas são os pigmentos predominantes. Essa classe de pigmentos é derivada do aminoácido fenilalanina, e é sintetizada pela rota dos fenilpropanoides e flavonoides (HOLTON, 1995) (Figura 2).

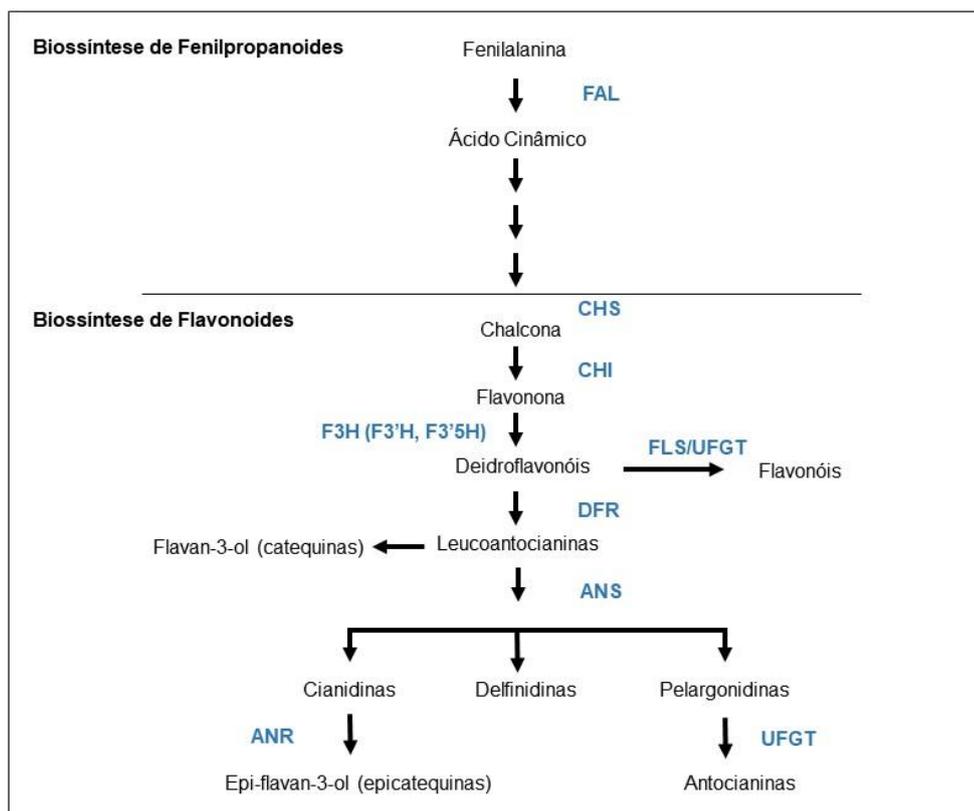


Figura 2 - Rota biossintética simplificada de flavonoides e antocianinas. Reações enzimáticas são representadas por setas. Em azul estão representadas as enzimas FAL (fenilalanina liase), CHS (chalcona sintase), CHI (chalcona isomerase), F3H (flavonona-3-hidroxilase), DFR (dihidroflavonol-4-redutase), ANS (antocianidina sintase), UFGT (UDP-glicose flavonoide glicosiltransferase), FLS (flavonol sintase).

Fonte: Adaptado de Vighi et al. (2019).

Nas plantas, os fenilpropanoides são sintetizados pelo metabolismo secundário, geralmente através da rota do ácido chiquímico. Uma série de enzimas estão envolvidas na biossíntese desses compostos, sendo que algumas são consideradas enzimas chave. A fenilalanina amônio liase (FAL) é a enzima chave para a biossíntese de antocianinas, ela cataliza a primeira reação da rota de fenilpropanoides, convertendo a fenilalanina em 4 coumaroil-CoA, seguida de combinação deste composto com três unidades de malonil-CoA pela enzima chalcona sintase (CHS). Na sequência ocorrem diversas reações envolvendo as enzimas flavonol sintase (FLS), enzima chave na formação de flavonoides, antocianidina sintase (ANS), atuando na formação de antocianidinas, e UDP flavonoide glicosiltransferase (UFGT), responsável pela glicosilação de antocianinas (ALMEIDA et al., 2007) (Figura 2).

Além destes compostos, os morangos são excelentes fontes de ácido ascórbico. Estudos mostraram que este antioxidante aumenta ao longo do desenvolvimento dos frutos (AVIGDORI-AVIDOV, 1986; KAFKAS et al., 2007).

Durante o amadurecimento, ocorrem também modificações na textura dos frutos, incluindo o aumento da síntese de enzimas responsáveis pela degradação coordenada da parede celular, resultando no amolecimento dos frutos. Quanto mais maduros, mais macios e sensíveis eles se tornam (TAIZ et al., 2017). O amaciamento de morangos ocorre intensamente nos estádios finais de desenvolvimento, é caracterizado por uma extensa dissolução da lamela média, reduzindo a interação célula a célula, e moderada solubilização e despolimerização de pectina. O conteúdo de celulose é pequeno e permanece praticamente inalterado. Nesse processo de amolecimento uma série de enzimas estão envolvidas: poligalacturonase, pectina metilesterase, pectato liase, β -galactosidase, α -arabinofuranosidase, entre outras (MOYA-LEÓN, 2019; PANIAGUA et al., 2015; POSE et al., 2015).

Os açúcares têm papel fundamental no sabor de frutas, além de indicar o estágio de maturação. Durante o desenvolvimento do morango, a sacarose é constantemente importada do tecido fotossintético. No receptáculo a sacarose é hidrolisada em glicose e frutose, sendo que esses três açúcares compõem os principais açúcares dos morangos maduros (MANIKEN; SÖDERLING, 1980) (Figura 3).

O acúmulo de múltiplos açúcares e ácidos orgânicos durante o amadurecimento culminam com a emissão volátil máxima. Os compostos voláteis envolvidos na formação do aroma nos morangos são predominantemente os ésteres metílicos e etílicos, e pequenas quantidades de álcoois, cetonas, furanonas, lactonas e aldeídos (FORNEY et al., 2000). Uma variedade de outros compostos influencia no aroma do fruto, atribuindo características específicas de cada cultivar. Além disso, muitos outros fatores influenciam a composição volátil, como a maturação dos frutos e o armazenamento pós-colheita.

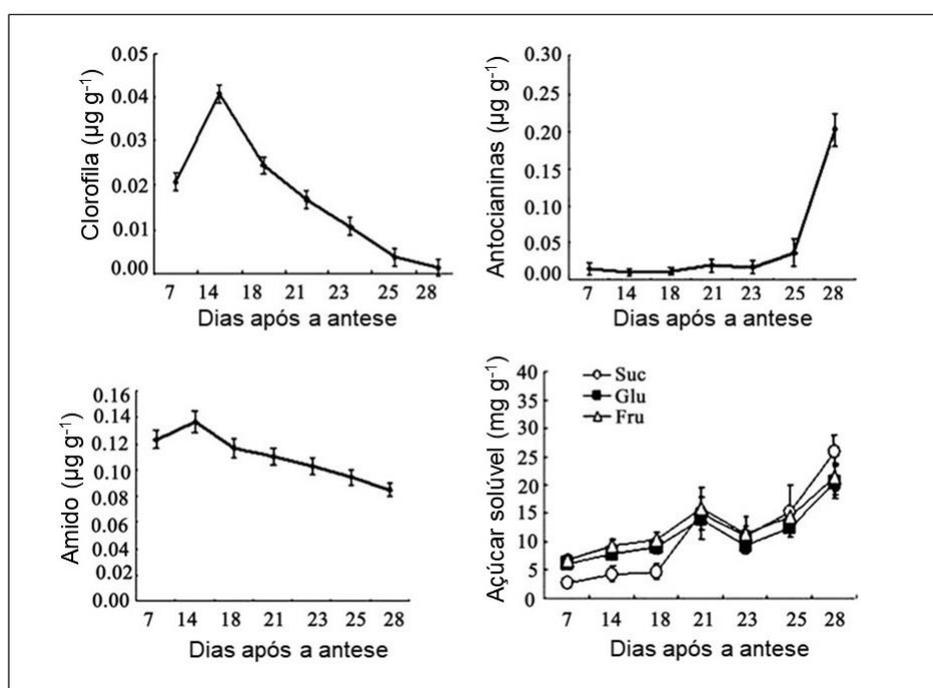


Figura 3 - Alterações no conteúdo de clorofila, antocianinas, amido e açúcares solúveis durante o desenvolvimento de morangos.

Fonte: adaptado de Jia et al. (2011).

Embora os mecanismos moleculares que regulam o amadurecimento de frutos climatéricos sejam bem conhecidos, o mesmo não ocorre para frutos não-climatéricos. Jia et al. (2016) observaram que em morangos, diferente do tomate (fruto climatérico), o etileno não desempenha um papel significativo no processo de amadurecimento. Em contrapartida, o conteúdo de ácido abscísico (ABA) aumenta continuamente em morangos do estágio SG até o FR (estádios referidos na Figura 1).

4.4 A influência do ácido abscísico no amadurecimento de morangos

Os fitohormônios são moduladores de processos celulares, interagem com proteínas específicas, as quais funcionam como receptores. Uma das características dos hormônios é a capacidade de ativar respostas em concentrações extremamente baixas (TAIZ et al., 2017). O ABA é um fitohormônio cuja estrutura é composta por 15 carbonos. É responsável pela regulação do fechamento estomático em condições de estresse hídrico, além de regular respostas a estresse salino e térmico (TAIZ et al., 2017).

A biossíntese do ABA inicia nos plastídios e termina no citosol, sendo que sua formação ocorre pela clivagem de carotenoides e, conforme as necessidades da planta, os níveis são ajustados constantemente através de diferentes vias. A síntese *de novo*, oriunda de carotenoides, envolve a enzima 9-cis-epóxicarotenóide dioxigenase (NCED), reconhecida como enzima chave da biossíntese de ABA (WHEELER et al., 2009). Além desta síntese, o ABA pode ser metabolizado em moléculas inativas por meio de reações de hidroxilação e conjugação. A via de hidroxilação é catalisada pela enzima ABA-8-hidroxilase (CYP707A), formando dois catabólicos mais relevantes: o ácido faseico (PA) e ácido dehidrofaseico (DPA). Na segunda via, a inativação ocorre por glicosilação do ABA pela enzima ABA-glicosiltransferase (ABA-GTase); os resultantes dessa reação são ABA-glicosil éster (ABA-GE) ou ABA-glicosil éter (ABA-GS). Neste último caso o ABA pode ser reativado pela ação da β -glicosidase (BG) (NAMBARA & MARION-POLL, 2005; VIGHI et al., 2019).

O papel do ABA no amadurecimento tem sido investigado através de estudos em vários frutos. Em uvas Cabernet Sauvignon, a pulverização de ABA no campo induziu a síntese de antocianinas, principalmente no início do desenvolvimento, e acelerou o crescimento das bagas (WHEELER et al., 2009), também ativou a expressão de genes relacionados à biossíntese de antocianinas (JEONG, 2004). O efeito positivo na coloração de frutas devido à aplicação de ABA gerou um produto comercial, ProTone®, desenvolvido pela Valent Biosciences Corporation. Este produto contém ABA em sua formulação e foi desenvolvido especificamente para melhorar a cor das bagas de uvas.

Em morangos ligados à planta, a aplicação exógena de ABA (0,5 μM) através de injeção, acelerou o amadurecimento, aumentando o teor de antocianinas, enquanto que em frutos tratados com fluridona (50 μM), um inibidor da biossíntese de ABA, ocorreu a supressão de antocianinas, resultando em frutos brancos (JIA et al., 2011). Chen et al. (2011) observaram que morangos imaturos embebidos em solução com 100 μM de ABA, apresentaram aumento do conteúdo endógeno de ABA e aceleração da maturação dos frutos. A ação do ABA foi confirmada silenciando os transcritos do gene *FaNCED1*, o qual é codificante da enzima chave para a biossíntese de ABA. Esse silenciamento resultou no retardo do amadurecimento, devido à diminuição da síntese do ABA (JIA et al., 2011). De forma similar, foi demonstrado que o ABA influencia o perfil de açúcares e compostos fenólicos, indicando ser um regulador da via de fenilpropanoides, em diferentes estádios de desenvolvimento deste fruto (AYUB et al., 2016).

O efeito do ABA e do seu inibidor, o NDGA (ácido nordihidroguaiarético), no metabolismo de pigmentos e ácido ascórbico durante o desenvolvimento de morangos ligados à planta foi mostrado por Li et al., (2015). Morangos tratados com NDGA (100 μM), via injeção, apresentaram retardo no desenvolvimento, sendo que resultou em frutos com acúmulo de antocianinas 55 % menor comparado ao controle, conteúdo de ácido ascórbico inferior, e menor degradação de clorofila. Por outro lado, os frutos tratados com ABA (1 μM) apresentaram aumento desses compostos (antocianinas e ácido ascórbico), enquanto que a degradação de clorofila foi acelerada (Figura 4).

Além disso, o padrão de expressão de *FaBG3* coincidiu com o acúmulo de ABA durante o amadurecimento dos frutos de morango e também foi demonstrado por silenciamento gênico que *FaBG3* está relacionado ao amadurecimento de frutos e a resistência a doenças (LI et al., 2013a; 2013b). Da mesma forma, o silenciamento gênico de *PacCYP707A2* em cereja resultou na indução do amadurecimento, pois houve um aumento na coloração dos frutos, no teor de antocianinas e no nível de ABA endógeno (LI et al., 2015).

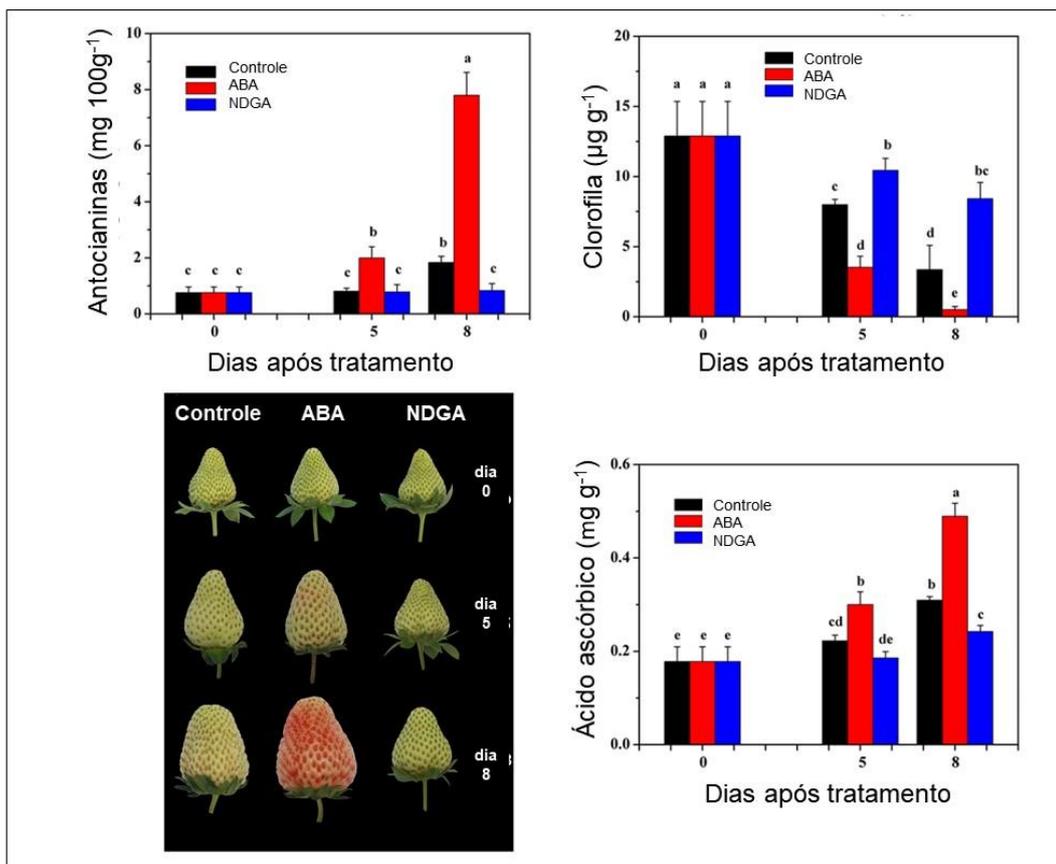


Figura 4 – Efeito da aplicação de ácido abscísico e ácido nordihidroguaiarético em frutos (14 dias após antese) ligados à planta mãe. Dia 0: 14 dias após antese.

Fonte: adaptado de Li et al., (2015).

Portanto, o amadurecimento de frutos não-climatéricos é regulado pelos níveis endógenos de ABA, envolvendo tanto a síntese *de novo*, o catabolismo e as vias de inativação/reactivação. Apesar disso, os mecanismos envolvidos neste processo ainda não estão elucidados e uma compreensão mais ampla dos metabólitos influenciados por este fitohormônio ainda carece de investigação.

4.4 A influência de açúcares no amadurecimento de morangos

Além do ABA, estudos recentes tem mostrado que alguns açúcares parecem exercer papel importante na indução do processo de amadurecimento. Objetivando investigar o efeito dos açúcares no desenvolvimento de morangos, Jia et al. (2011) realizaram um experimento injetando açúcares (50 mM de Glicose, 50 mM Frutose, 50 mM Sacarose) em morangos verdes (16 dias após antese). Frutos tratados com sacarose apresentaram níveis maiores de transcritos do *FaNCED1*, maior teor de ABA e acelerado incremento de cor

vermelha. Estes resultados sugerem que a sacarose atuaria como sinalizadora para ativar a biossíntese de ABA; este por sua vez levaria ao aumento de açúcares e antocianinas, promovendo assim, o amadurecimento.

Zhao et al., (2017) investigaram o papel da enzima sacarose sintetase no amadurecimento de morangos. O silenciamento do gene *FaSS1* (gene da sacarose sintetase) resultou em frutos com menor conteúdo de sacarose e antocianinas, além de aumento da firmeza, indicando significativo atraso no amadurecimento.

Em tomates também foi visto que a sacarose, quando aplicada exogenamente, regula positivamente a expressão dos genes relacionados à biossíntese de etileno. A sacarose proporcionou o aumento de um gene chave envolvido no sistema auto catalítico de biossíntese do etileno (*ACS2*), bem como aumentou a expressão de genes de receptores de etileno, indicando que este açúcar estimula o amadurecimento de frutos de tomate através da mediação de seu próprio metabolismo (LI et al., 2016).

Mais recentemente, a aplicação exógena de sacarose (50 mM) em morangos após a colheita, acelerou o acúmulo de antocianinas derivadas de pelargonidina, ativou a rota de fenilpropanoides e aumentou os teores de açúcares, em comparação com o controle realizado aplicando manitol (LI et al., 2019).

Em uvas, a aplicação de açúcares (16 mM de sacarose e glicose), especialmente sacarose, resultou em frutas com maior conteúdo de antocianinas, aumento do peso seco, promoveram o acúmulo de açúcares, redução de firmeza e aumento de compostos voláteis, resultado semelhante ao obtido pela aplicação do hormônio ABA (100 e 200 μ M) (JIA et al., 2017). Este autor relata ainda que a sacarose reduz o teor do hormônio auxina, que por sua vez é responsável pelo retardo do amadurecimento.

Estes estudos sugerem que além do ABA, os açúcares também desempenham um papel importante na regulação do amadurecimento e a sacarose é uma potencial molécula sinalizadora para induzir o amadurecimento pós-colheita.

5 Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia Celular e Molecular Vegetal e no Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos, do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas (DCTA-FAEM-UFPEL).

5.1 Material

Morangos da espécie *Fragaria × ananassa* Duch. cv. San Andreas foram adquiridos de propriedade rural, na cidade de Pelotas, RS, em janeiro de 2018. Os morangos foram colhidos no estágio branco de desenvolvimento (estádio Wt, de acordo com a Figura 1), momento no qual atingiram o tamanho final, no entanto apresentam maior resistência mecânica e menor perecibilidade quando comparados aos de estágio final de maturação (FR, segundo a Figura 1). Além destes, foram incluídos dois tratamentos, com frutos em estágio Wt (FV) e outro com 16 frutos em estágio FR (fruto maduro - FM). Os morangos foram colhidos e imediatamente transportados para o Laboratório de Biologia Celular e Molecular Vegetal e as análises foram realizadas no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas no Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas.

5.2 Métodos

5.2.1 Experimento pós-colheita

O presente trabalho foi dividido em três estudos. O primeiro estudo, composto por cinco tratamentos com três repetições (16 frutos em cada) de frutos colhidos no estágio Wt, consistiu na avaliação do efeito da aplicação de diferentes doses de sacarose na indução da maturação pós-colheita de morangos (Tabela 1). O segundo estudo avaliou o efeito da aplicação de ABA e seu inibidor, o NDGA, na maturação pós-colheita, sendo composto por três tratamentos com três repetições (16 frutos, em estágio Wt, em cada repetição) (Tabela 2).

O terceiro estudo consistiu na avaliação da maturação pós-colheita, induzida por tratamentos com sacarose e ABA em comparação à maturação usual *in vivo*. Este estudo foi realizado com os tratamentos controle, S1 e M do primeiro estudo, incluindo os tratamentos com ABA e seu inibidor (NDGA) do segundo estudo.

Tabela 1 - Tratamentos do estudo 1

Tratamentos	Concentração
C	Controle - água destilada
S1	50 mM de sacarose
S2	270 mM de sacarose
S3	500 mM de sacarose
M	500 mM de manitol

Fonte: Autor

Tabela 2 – Tratamentos do estudo 2

Tratamentos	Concentração
C	Controle- água destilada
A	100 μ M ABA
N	50 μ M NDGA

Fonte: Autor

Além destes, foram incluídos dois tratamentos cujos frutos foram colhidos e imediatamente armazenados em ultrafreezer e, portanto, não foram submetidos ao armazenamento pós-colheita. Estes tratamentos foram denominados: FV, constituído por frutos colhidos em estágio Wt, dividido em 3 repetições (16 frutos em cada repetição); e FM, constituído por frutos colhidos em estágio FR (plenamente maduros), dividido em 3 repetições (16 frutos em cada repetição) (Tabela 3). Os três estudos totalizaram 432 frutos.

As concentrações de sacarose foram definidas com base na literatura. A concentração mínima foi baseada no estudo realizado por Jia et al., (2013), no qual injetou-se 50 mM em morangos *in vivo* (ligados à planta). A concentração máxima foi definida com base em outro estudo realizado em tomates, nos quais foi injetada (em frutos pós-colheita) uma solução contendo 500 mM de sacarose (LI et al., 2016). O manitol é comumente definido como referência para tratamento com açúcar exógeno, a fim de excluir a influência da pressão

osmótica, portanto foi definido como controle para os tratamentos com sacarose (LI et al., 2016). Como controle negativo da ação do ABA foi utilizado um tratamento com aplicação de NDGA (ácido nordihidroguaiarético), o qual atua na inibição da síntese de ABA, bloqueando a enzima NCED (ZHANG et al., 2009).

Tabela 3 - Tratamentos do estudo 3

Tratamentos	Concentração
C	Controle - água destilada
S1	50 mM de sacarose
M	500 mM de manitol
A	100 μ M ABA
N	50 μ M NDGA
FM	Frutos colhidos maduros
FV	Frutos colhidos verdes

Fonte: Autor

Todas as soluções foram preparadas com água destilada contendo 0,5 % de Tween 20, sendo que o ABA e o NDGA foram previamente solubilizados em 1 mL de metanol absoluto.

Os frutos foram submetidos aos tratamentos por imersão em solução, durante 5 min, secos à temperatura ambiente, e em seguida, acondicionados em embalagens plásticas e armazenadas em câmaras de BOD (EL222/3/LED/RS, ELETROlab®) a 20 °C, umidade relativa de 80 % e ciclo circadiano de 12 h. Após 5 dias de armazenamento as análises foram realizadas. Para a realização das análises os frutos de cada repetição foram divididos da seguinte forma: metade dos frutos foram utilizados para as análises de firmeza, sólidos solúveis totais (SST), firmeza, pH, acidez, antocianinas e compostos fenólicos totais e atividade antioxidante; a outra metade dos frutos foram liofilizados para as análises de antocianinas e compostos fenólicos individuais, vitamina C, ABA e derivados, açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos. A medida de cor foi realizada em todos os frutos.

5.2.2 Métodos analíticos

5.2.2.1 Características físicas dos morangos

Para avaliar a perda de massa nos morangos durante o armazenamento, as embalagens com as frutas foram pesadas diariamente em balança analítica. A porcentagem (%) de perda de massa foi obtida através da fórmula: $(\text{peso final} \times 100) / \text{peso inicial}$.

A análise de textura foi realizada utilizando texturômetro Texture TAXT2 Plus (Stable Micro Systems, Inglaterra), pelo método TPA, calibrado com 5 kg de carga. Os morangos foram perfurados individualmente em dois locais com ponta de agulha 2 mm P/2N. A perfuração foi de 50 % e a velocidade de 1 mm s⁻¹. Os resultados foram expressos em Newton (N).

A progressão de cor foi monitorada por fotodocumentação e contagem diária do número de frutos em diferentes categorias de coloração (90-100 % vermelhos, 50-90 % vermelhos, 10-50 % vermelhos, 0-10 % vermelhos).

Determinou-se a cor no último dia do experimento utilizando colorímetro (CR300, Minolta Chromamater), através do sistema de cor CIELab. Os parâmetros avaliados foram L, a* e b*, nos quais L (luminosidade) varia de preto (0) a branco (100), e os parâmetros a* e b* foram utilizados para calcular o ângulo Hue ($^{\circ}\text{Hue} = \tan^{-1} b^*/a^*$), o qual indica a cor observada.

5.2.2.2 pH, sólidos solúveis e acidez total

O pH e a acidez total titulável foram determinados nos frutos macerados com pistilo em almofariz. O pH foi determinado por potenciometria, em pHmetro (K392014B, Kasvi®). Para avaliação da acidez total titulável, utilizou-se o método volumétrico com NaOH 0,1 N, pesou-se 2 g de amostra e adicionou-se 50 mL de água destilada, agitou-se e observou-se o pH da amostra. Após procedeu-se a titulação da amostra até alcançar pH 8,1. Os resultados foram expressos em mg de ácido cítrico por 100 g de amostra em base úmida (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

O teor de sólidos solúveis (SS) foi determinado de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008), a 20 °C, utilizando refratômetro digital (PR-32α, Atago®) e os valores expressos em °Brix.

5.2.2.3 Antocianinas totais

Para quantificação de antocianinas totais seguiu-se o método de Lee e Francis (1972), onde 30 mL de etanol acidificado a pH 1.0 foram adicionados a 2 g de amostra. A solução foi agitada em vortex durante 1 min, a cada 15 min, por uma hora, sendo então centrifugada (Centrifuge RC5C, Sorvall Instruments), por 15 min a 7.000 g, a 5 °C. O processo foi realizado em tubos de falcon envolvidos com papel alumínio para evitar o contato com a luz. Após a centrifugação, realizou-se a leitura do sobrenadante em espectrofotômetro (6705 UV/Vis., Jenway®) em comprimento de onda de 520 nm. O conteúdo de antocianinas totais foi expresso como equivalentes de Pelargonidina (mg Plg. 100 g⁻¹), de acordo com a equação linear da curva analítica de pelargonidina (em concentrações de 2,60 a 50 µg mL⁻¹). A equação da curva analítica foi $y=0,1111x + 0,0013$, $R^2= 0,9991$ onde "y" é a absorbância e "x" é a concentração como equivalentes de pelargonidina.

5.2.2.4 Compostos fenólicos totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado segundo Singleton Rossi (1965) e Swain & Hillis (1959). Para extração foram pesadas 2 g de amostra, as quais foram diluídas em 20 mL de metanol P.A. e agitadas em Ultra-turax (T18, IKA) a 12.000 rpm, durante 1 min. Posteriormente, o extrato foi centrifugado (Centrifuge RC5C, Sorvall Instruments) por 15 min a 6.000 rpm. O sobrenadante foi recolhido para novos tubos falcon e armazenado em freezer a -20 °C. A quantificação foi realizada em tubos falcon de 15 mL. Para a reação, adicionou-se 250 µL do extrato, 4 mL de água destilada, 250 µL de Folin Ciocalteau 0,25 N, agitou-se em vórtex por 10 segundos e deixou-se no escuro durante 3 min para que ocorresse a reação. Após, adicionou-se 500 µL de NaCO₂ e deixou-se por 2 h no escuro. Realizou-se a leitura das amostras em espectrofotômetro (6705 UV/Vis., Jenway®) no comprimento de onda de 725 nm. O conteúdo fenólico foi expresso como equivalentes de ácido gálico (mg

GAE. 100 g⁻¹), de acordo com a equação linear da curva analítica de ácido gálico (em concentrações de 25 a 250 µg mL⁻¹). A equação da curva analítica foi $y=0,0046x + 0,0004$, $R^2= 0,9924$, onde "y" é a absorvância e "x" é a concentração como equivalentes de ácido gálico.

5.2.2.5 Atividade antioxidante

Para determinar o potencial antioxidante seguiu-se o método de Brand-Williams; Cuvelier;& Berset (1995), adaptado utilizando o radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). Preparou-se uma solução estoque de DPPH (24 mg de DPPH em 100 mL de metanol). Preparou-se uma solução de uso, adicionando 10 mL da solução estoque em 45 mL de metanol P.A. A absorvância da solução de uso foi ajustada para $1,100 \pm 0,02$ nm. Para a reação utilizou-se 100 µL do extrato preparado para os compostos fenólicos totais e 3,9 mL da solução de uso. Após, deixou-se reagir por 24 h no escuro. A leitura da absorvância foi realizada no comprimento de onda de 517 nm em espectrofotômetro (6705 UV/Vis., Jenway®). Metanol foi usado como branco. O ensaio foi realizado em triplicata e o cálculo da porcentagem de inibição da captação de radicais livres pelo DPPH seguiu a equação:

$$\% \text{ inibição} = \frac{[(\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}}) \times 100]}{\text{Abs}_{\text{branco}}}$$

5.2.3 Análise cromatográfica por HPLC-MS

5.2.3.1 Compostos fenólicos individuais

A análise de compostos fenólicos foi realizada de acordo com método proposto por Hoffmann et al., (2018).

Preparo dos extratos

Cem miligramas de amostra liofilizada foram extraídas adicionando 1000 µL de metanol (75 %) acidificado com 0,1 % de ácido fórmico. Foi agitado em vortex por 10 segundos, sendo posteriormente sonicado em banho ultrassônico por 15 min e centrifugado a 9.900 x g por 10 min a 25 °C. O sobrenadando foi

recolhido e o resíduo foi re-extraído seguindo os passos anteriores. A uma alíquota de 998 μL dos sobrenadantes combinados foi adicionado 2 μL de reserpina ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$; padrão interno) e filtrados em filtro de seringa de PVDF ($0,22 \mu\text{M}$) e transferido para vials para posterior injeção no sistema cromatográfico.

Instrumentação e condições analíticas

Foram injetados 10 μL do extrato hidroalcoólico em cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiência (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado à espectrômetro de massas de alta resolução (tipo quadrupolo-tempo de vóo) (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Para a separação dos compostos foi utilizada uma coluna LUNA C18 (USA), utilizando solução de água acidificada com 0,1 % de ácido fórmico (eluente A) e acetonitrila acidificada com 0,1 % de ácido fórmico (eluente B), como fase móvel. O fluxo utilizado foi de $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ e a temperatura da coluna de $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Para a separação utilizou-se um gradiente: 2,00 min – 10 % B, 10,00 min – 75 % B, 15,00 min – 75 % B, 18,00 – 90 % B, 21,00 min – 90 % B, 23,00 min – 10 % B.

O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização negativo com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de m/z 50 a 1200. Os parâmetros de capilaridade foram: voltagem do capilar em 3,5kV, gás de secagem em $8,0 \text{ L min}^{-1}$ e temperatura de $180 \text{ }^\circ\text{C}$, pressão do gás de nebulização (N_2) de 2 bar, colisão de RF de 500 Vpp, tempo de transferência 120 ms e armazenamento pré-pulso de 8 μS . O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10mM. Para o processamentos dos dados de MS e MS/MS foi utilizado o software *Data analysis* 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada através de curva de calibração externa com padrões de cada composto. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$.

5.2.3.2 Antocianinas individuais

Preparo dos extratos

Cem miligramas de amostra liofilizada foram extraídos adicionando 1000 μL de metanol (75 %) acidificado com 0,1 % de ácido fórmico, foi agitado em vortex por 10 segundos, após foi sonicado em banho ultrassônico por 15 min e centrifugado a 9.900 x g por 10 min a 25 °C. O sobrenadando foi recolhido e o resíduo foi re-extraído seguindo os passos anteriores. A uma alíquota de 998 μL dos sobrenadantes combinados foi adicionado 2 μL de reserpina (1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$; padrão interno) e filtrados em filtro de seringa de PVDF (0,22 μM) e transferido para vials para posterior injeção.

Instrumentação e condições analíticas

Foram injetados dez microlitros do extrato hidroalcolico em cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiência (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado à espectrômetro de massas de alta resolução (tipo quadrupolo-tempo de voo) (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Para a separação dos compostos foi utilizada uma coluna LUNA C18 (USA), utilizando solução de água acidificada com 0,1 % de ácido fórmico (eluente A) e acetonitrila acidificada com 0,1 % de ácido fórmico (eluente B), como fase móvel. O fluxo utilizado foi de 0,2 mL min^{-1} e a temperatura da coluna de 40 °C. Para a separação utilizou-se um gradiente: 2,00 min – 10 % B, 10,00 min – 75 % B, 15,00 min – 75 % B, 18,00 – 90 % B, 21,00 min – 90 % B, 23,00 min – 10 % B.

O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização positivo, com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de m/z 50 a 1200. Os parâmetros de capilaridade foram: voltagem do capilar em 4,5kV, gás de secagem em 9,0 L min^{-1} e temperatura de 200 °C, pressão do gás de nebulização (N_2) de 2 bar, colisão de RF de 500 Vpp, tempo de transferência 60 ms e armazenamento pré-pulso de 5 μS . O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10 mM. Para o processamentos dos dados de MS e MS/MS foi utilizado o software *Data analysis* 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para a quantificação de antocianinas individuais foi utilizada uma curva analítica de Pelargonidina.

5.2.3.3 Ácido abscísico

Preparo dos extratos

Para extração utilizou-se 100 mg de amostra liofilizada com 1 mL de Metanol (80 %) submetido a vortex durante 1 min. As amostras foram centrifugadas a 18.500 x g por 5 min, e o resíduo foi re-extraído, seguindo as etapas anteriores. O sobrenadante da primeira extração foi unido com o sobrenadante da re-extração e após foi filtrado em filtro de membrana de PVDF (0,22 µM) e transferido para vials (PERIN et al., 2018).

Instrumentação e condições analíticas

Foram injetados 10 µL de extrato em cromatógrafo a líquido de ultra-alta eficiência (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução (tipo quadrupolo-temo de vôo) (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Para a separação dos compostos foi utilizada uma coluna Hyperclone ODS C18 (Phenomenex, CA, USA), utilizando solução de água com 0,1 % de ácido fórmico (eluente A) e acetonitrila acidificada com 0,1 % de ácido fórmico (eluente B), como fase móvel. O fluxo utilizado foi de 0,2 mL min⁻¹ e a temperatura da coluna de 40 °C. Para a separação utilizou-se um gradiente: 0,00 min – 20 %B, 2,00 min 30 % B, 6,00 min – 38 % B, 8,00 min – 50 % B, 10,00 – 70 % B, 12,00 min – 20 % B, e terminando aos 15 min com 20 % de B (PERIN et al., 2018).

O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização negativo, com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de m/z 50 a 1200. Os parâmetros de capilaridade foram: voltagem do capilar em 3,5kV, gás de secagem em 8,0 L min⁻¹ e temperatura de 180 °C, pressão do gás de nebulização de 2 bar, colisão de RF de 300 Vpp, tempo de transferência 120 µs e armazenamento pré-pulso de 8 µs. O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10 mM. Para o processamento dos dados de MS e MS/MS foi utilizado o software *Data analysis* 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para a quantificação de ABA, ABA-GE, PA e DPA foi utilizada uma curva analítica de ABA (PERIN et al., 2018).

5.2.3.4 Vitamina C

Preparo dos extratos

A extração foi realizada adaptando o método proposto por Vinci (1995). Adicionou-se 50 mg de amostra liofilizada em 5 mL de solução extratora (água ultra pura acidificada com 4,5 % de ácido metafosfórico) e agitou-se em vórtex por 1 min. Após foi centrifugado por 10 min, a 10.000 g, a 4°C. Coletou-se o sobrenadante para microtubos de 2 mL, dilui-se a amostra 1:1 com a solução extratora e em seguida as amostras foram filtradas com filtros de membrana de PVDF (0,22 µM) e transferidos para vials. As amostras foram injetadas no cromatografo (Shimatzu).

Condições cromatográficas

Dez microlitros do extrato foram injetados em cromatógrafo a líquido de ultra-alta eficiência (UFLC, Shimadzu, Japão), acoplado à espectrômetro de massas de alta resolução (tipo quadrupolo-tempo de voo) (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Germany). A coluna cromatográfica utilizada foi coluna Hyperclone ODS C18 (Phenomenex, CA, USA), e como fase móvel, solução de água ultra pura com 0,0085 % de ácido fórmico (eluente A) e metanol acidificado com 0,0085 % de ácido fórmico (eluente B). O fluxo utilizado foi de 0,2 mL min⁻¹ e a temperatura da coluna de 30 °C.. Utilizou-se um gradiente: 0,10 min – 30 % B, 5,00 min – 30 % B, 7,00 min – 100 % B, 9,00 min – 100 % B, 10,00 min – 30 % B, e terminando aos 18 min com 30 % de B.

O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização negativo com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de m/z 50 a 1200. Os parâmetros de capilaridade foram: voltagem do capilar em 3,5kV, gás de secagem em 8,0 L min⁻¹ e temperatura de 180 °C, pressão do gás de nebulização (N₂) de 2 bar, colisão de RF de 500 Vpp, tempo de transferência 120 ms e armazenamento pré-pulso de 8 µS. O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10 mM. Para o processamentos dos dados de MS e MS/MS foi utilizado o software *Data analysis 4.0* (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

Para a curva analítica foi utilizado o ácido L-ascórbico da marca Sigma. Os resultados foram expressos em g 100g⁻¹.

5.3.4 Análise cromatográfica por CG-MS

5.3.4.1 Açúcares, ácidos orgânicos e aminoácido

Extração e derivatização

As extrações e derivatizações para as análises de açúcares e aminoácidos foram realizadas seguindo o método proposta por Lisec et al., (2006).

Para a extração, pesou-se 30 mg de amostra liofilizada em tubos de 2 mL e adicionou-se 1.400 µL de metanol grau HPLC pré-resfriado a -20°C. A solução foi homogeneizada em vortex durante 10 s. Posteriormente, agitou-se por 10 min em termomisturador (Thermomixer 5436, Eppendorf®) a 70 °C e 900 rpm. As amostras foram centrifugadas (Centrifuge 5415 D, Eppendorf, Alemanha) por 10 min a 11.000 x g. Após centrifugação, 1 mL do sobrenadante foi transferido para tubos de 15 mL, dessa forma obteve-se o mesmo volume para todas as amostras. Como padrão interno adicionou-se 60 µL de Ribitol (0,2 mg mL⁻¹ em H₂O-ultrapura), 60 µL D-Alanina (2 mg mL⁻¹ em H₂O-ultrapura). Adicionou-se ainda 750 µL de clorofórmio grau HPLC pré-resfriado a -20 °C e 1.500µL de H₂O-ultrapura a 4 °C, seguido de vórtex durante 10 segundos. Após, as amostras foram centrifugadas durante 15 min a 6000 rpm (RC5C, Sorvall Instruments) e o sobrenadante foi transferido para tubos novos de 1,5 mL.

Posteriormente à extração, 150 µL do sobrenadante, que consiste na fração polar - metanol e água da amostra, foi seca à frio aplicando-se nitrogênio gasoso. Na sequência, para a derivatização adicionou-se 40 µL de reagente de metoxiaminação (cloridrato de metoxiamina a 20 mg.mL⁻¹ em piridina) e agitou-se por 2 horas a 37 °C em termomisturador. Transcorridas as 2 horas, adicionou-se 70 µL de MSTFA [N-metil-N-(trimetilsilil) trifluoroacetamida] e agitou-se por 30 min a 37 °C. Para injeção no CG-MS as reações foram transferidas para vials com inserts de 250 µL e injetadas imediatamente (LISEC et al., 2006).

Instrumentação e condições analíticas

Foi injetado 1 µL de amostra a 230 °C em modo split com razão de 1:50, no cromatógrafo Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Japão) com auto-

injetor AOC-20i acoplado a um único sistema de espectrometria de massa quadrupolo. O gás carreador utilizado foi o gás Hélio, com fluxo de 2 mL.min⁻¹ e velocidade linear como modo de controle de fluxo. A coluna capilar utilizada foi Rxi-1MS (30 m x 0,32 mm x 0,25 μm), com o programa de temperatura isotérmico a 80°C por 2 min, seguido por 15 °C por min⁻¹ até 170 °C permanecendo por 3,5 min e aumento de 15 °C min⁻¹ até 320 °C, permanecendo por 5 min nesta condição. O programa de temperatura utilizado foi de 26,5 min.

Para espectrometria de massas, as temperaturas da fonte de íons e interface foram de 250 °C, faixa de massa de 70 m/z a 600 m/z. Os espectros de massas foram processados no software GCMS Postrun Analysis, com integração do Cromatograma de Íons Totais (TIC) obtendo uma matriz com tempo de retenção (TR) e a intensidade de cada composto detectado. A identificação foi realizada através da comparação dos valores das massas e padrão de fragmentação com as informações disponíveis na biblioteca NIST 11. A concentração dos compostos foi calculada através padrão interno.

5.2.5 Análise estatística

Os experimentos foram realizados em delineamento casualizado. Para determinar as significâncias das diferenças realizou-se a análise de variância ANOVA e teste de Tukey a 5% de significância. A análise estatística foi realizada utilizando o programa Statistica 8.0 (Stat Soft. Inc., USA).

6 Resultados

6.1 Efeito da aplicação pós-colheita de sacarose

6.1.1 Parâmetros de qualidade (cor, SST, acidez, firmeza)

Durante os 5 dias de armazenamento os pseudofrutos sofreram incremento de coloração avermelhada, devido ao acúmulo de antocianinas (Figura 5).

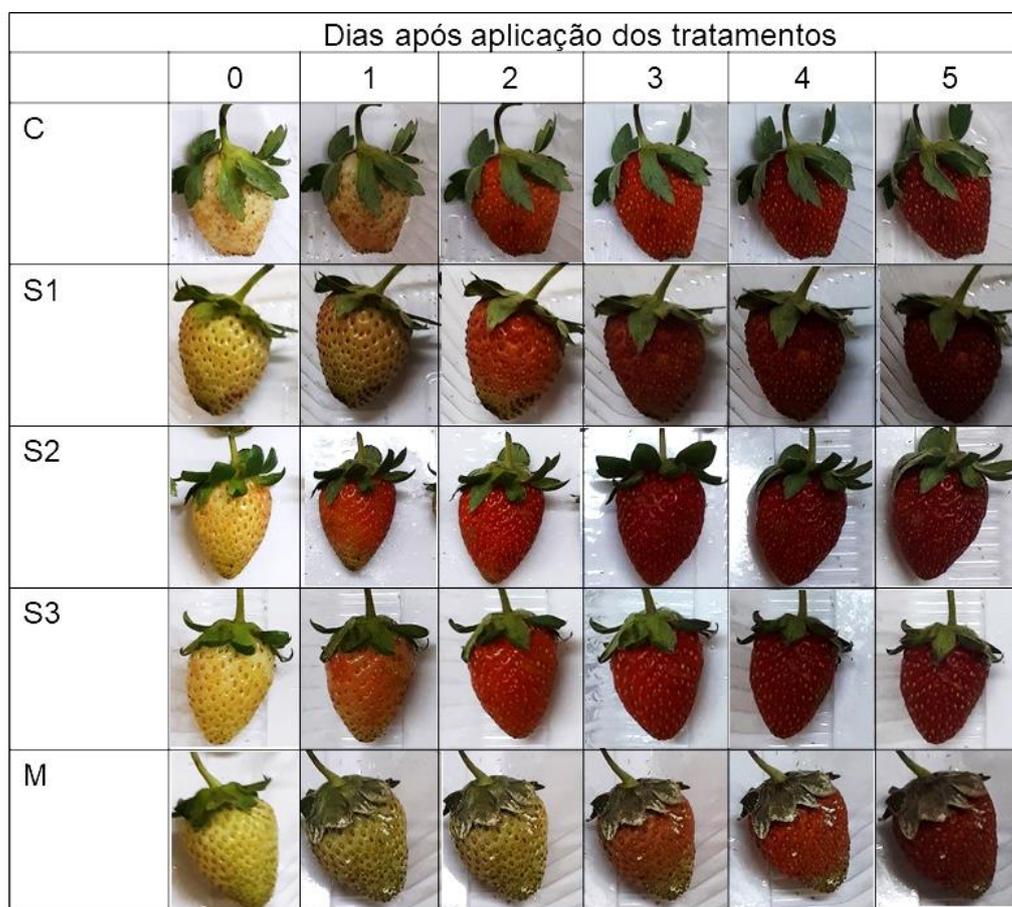


Figura 5 - Mudança na coloração de frutos ao longo do armazenamento, após 1, 2, 3, 4 ou 5 dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de UR, no tratamento pós-colheita com sacarose e manitol. C: controle, S1: 50 mM de sacarose, S2: 270 mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol.

No primeiro dia de armazenamento todos os tratamentos, inclusive o controle, apresentaram frutas com pelo menos 10 % da superfície vermelha, indicando início do processo de maturação. Nos dois primeiros dias, o controle (C) e o S2 apresentaram maior percentual de morangos com sinais de acúmulo de antocianinas (C: 41,7 %; S2: 43,7 %). No entanto, a partir do terceiro dia, os

tratamentos com sacarose, sobretudo o tratamento S3, apresentaram maior percentual de frutos com pelo menos 90 % da superfície vermelha (S1: 69 %; S2: 76,2 %; S3: 83,3 %), indicando que a sacarose pode ter um efeito no incremento de antocianinas após 72h de armazenamento, enquanto que no mesmo período (dia 3) o tratamento M apresentou o menor percentual (30,9 %) de frutos com 90 % ou mais da superfície avermelhada (Figura 6).

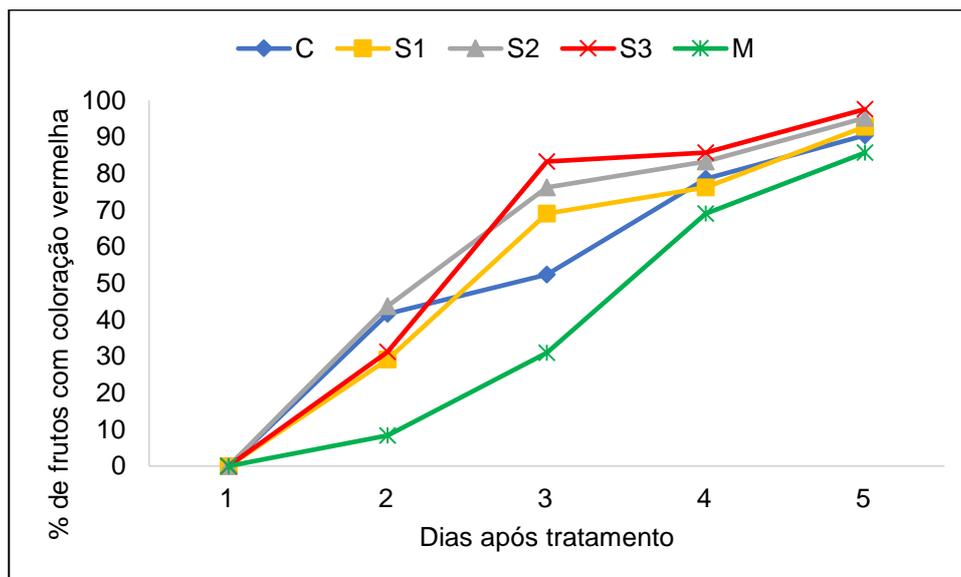


Figura 6 – Porcentagem de frutos apresentando 90 % ou mais da superfície com coloração avermelhada, após 1, 2, 3, 4 ou 5 dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa, no tratamento pós-colheita com sacarose e manitol. C: controle, S1: 50 mM de sacarose, S2: 270 mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol.

O tratamento M apresentou retardo no desenvolvimento de coloração, principalmente nos três primeiros dias. Ao final do experimento, dia 5, o tratamento S3 apresentou maior percentual de frutos vermelhos (97,6 %), seguido do S2 (95,2 %), S1 (92,9 %) e C (90,5 %), já o M apresentou o menor percentual de frutos vermelhos (85,7 %) (Figura 6).

Após cinco dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa, os pseudofrutos do controle e os tratados com sacarose mostraram maior teor de SST (C, 6,5°; S1, 6,4°; S2, 6,4°; S3, 6,4°) do que os tratados com manitol (5,8°). No entanto, nenhum dos tratamentos afetou significativamente a perda de massa, a qual variou de 11,72 a 16,31 %; a firmeza, a qual variou de 2,12 a

2,30 N; a acidez, que variou de 1,15 a 1,61 mg de ácido cítrico.100 g⁻¹; o pH, que variou de 3,22 a 3,60; ou a cor, que variou de 43,86 a 48,87 °Hue (Figura 7).

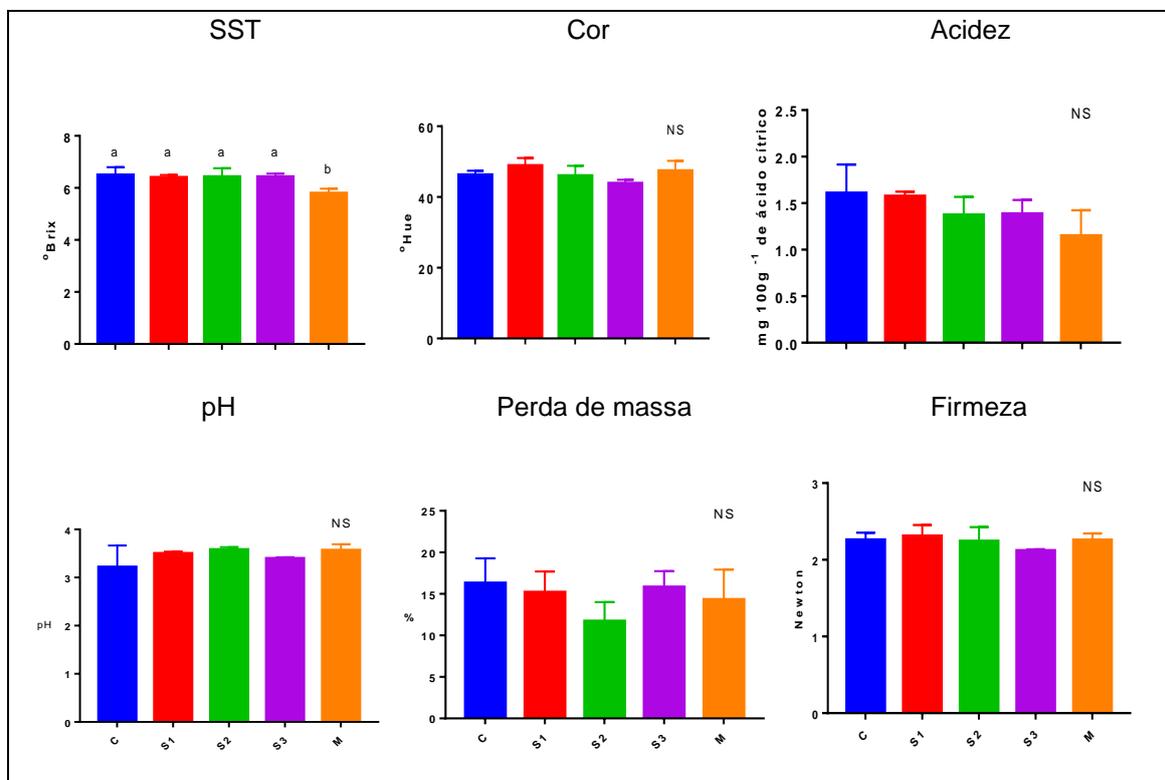


Figura 7 - Atributos de qualidade em morangos submetidos a tratamentos pós-colheita com sacarose e manitol, armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de UR. C: controle, S1: 50 mM de sacarose, S2: 270 mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol. Resultados expressos em média \pm desvio padrão. Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NS: não significativo.

6.1.2 Parâmetros de qualidade funcional

De acordo com a Figura 8, após 5 dias de armazenamento, os pseudofrutos tratados com sacarose e o controle apresentaram maior conteúdo de antocianinas totais (C: 22,43 mg 100 g⁻¹; S1: 22,92 mg 100 g⁻¹; S2: 24,38 mg 100 g⁻¹; S3: 27,28 mg 100 g⁻¹) comparado com o M (16,04 mg 100 g⁻¹). Com relação aos compostos fenólicos totais, os pseudofrutos tratados com manitol (257 mg 100 g⁻¹) apresentaram menor conteúdo comparado com o tratamento S1 (279 mg 100 g⁻¹); os demais tratamentos não diferiram entre si. De forma similar, os pseudofrutos tratados com manitol mostraram menor atividade antioxidante (74,6 % de inibição) em comparação com o tratamento S1 (86,5 %

de inibição) e S2 (83,8 % de inibição); os demais tratamentos não diferiram entre si.

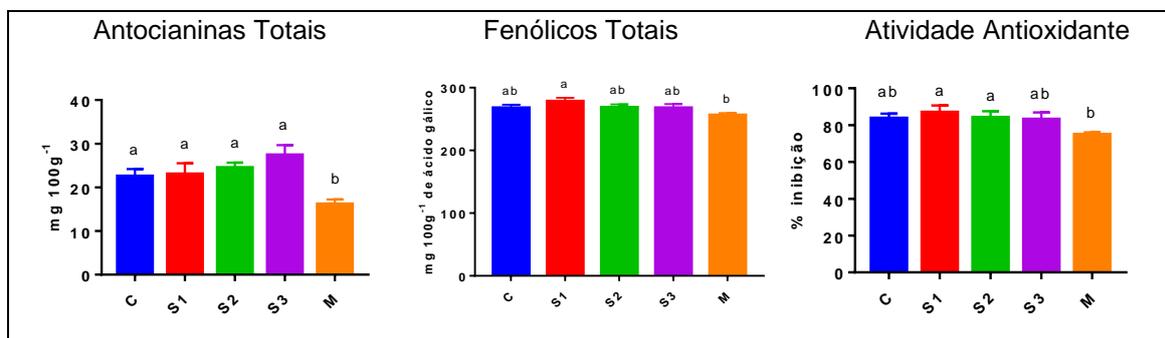


Figura 8 – Atributos de qualidade funcional (antocianinas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante) dos morangos submetidos aos tratamentos pós-colheita com sacarose e manitol, armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de UR. C: controle, S1: 50 mM de sacarose, S2: 270 mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol. Resultados expressos em média \pm desvio padrão. Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

6.1.2.1 Antocianinas individuais

Neste estudo foram identificadas e quantificadas seis antocianinas em morangos 'San Andreas', conforme mostra a Figura 9. A Pelargonidina-3-O-glicosídeo e a Pelargonidina-3-O-rutinosídeo foram as duas antocianinas majoritárias.

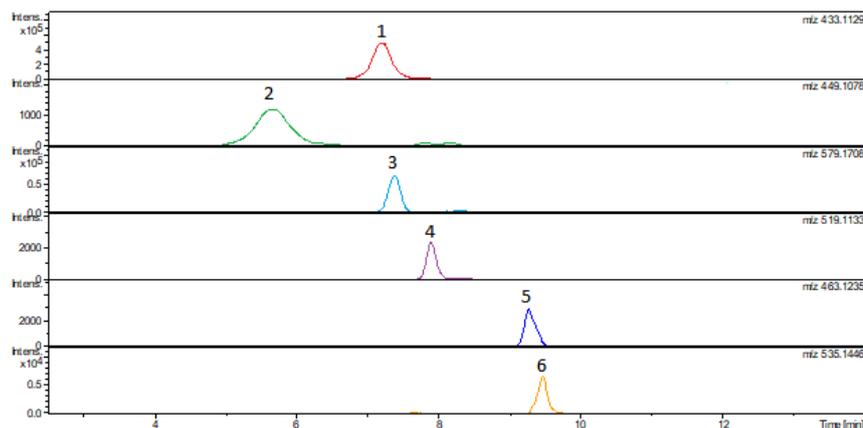


Figura 9 – Cromatograma de antocianinas em morangos 'San Andreas'. 1: pelargonidina-3-O-glicosídeo; 2: cianidina-3-O-glicosídeo; 3: pelargonidina-3-O-rutinosídeo; 4: pelargonidina-3-malonilglicosídeo; 5: peonidina-3-O-monoglicosídeo; 6: malvidina 3-O-(6-O-acetil) glicosídeo.

O tratamento M reduziu significativamente o acúmulo de Pelargonidina-3-O-Glicosídeo, 20,5 % em relação a C, 18,5 % em relação ao S3, 18,4 % comparado com S2 e 14,9 % em relação ao S1, os quais não diferiram entre si.

Para a Pelargonidina-3-O-rutinosídeo não houve diferença significativa entre os tratamentos com sacarose e o controle; no entanto, apresentou maior acúmulo nos morangos controle (161,5 $\mu\text{g g}^{-1}$) e no tratamento S2 (174,2 $\mu\text{g g}^{-1}$) em comparação com o tratamento M (127,5 $\mu\text{g g}^{-1}$). Os tratamentos com sacarose não afetaram o acúmulo de Cianidina-3-O-glicosídeo; no entanto, o tratamento com manitol reduziu o acúmulo desta antocianina (33,6 $\mu\text{g g}^{-1}$) em comparação com o tratamento S1 (36,7 $\mu\text{g g}^{-1}$) e S3 (38,3 $\mu\text{g g}^{-1}$). Para a pelargonidina-3-malonilglicosídeo, o controle apresentou o maior conteúdo (33,8 $\mu\text{g g}^{-1}$), não diferindo do tratamento S2 (32,9 $\mu\text{g g}^{-1}$), já o tratamento M apresentou o menor conteúdo (30,9 $\mu\text{g g}^{-1}$), no entanto não diferiu do S1 (31,6 $\mu\text{g g}^{-1}$) ou S3 (32 $\mu\text{g g}^{-1}$) (Figura 10).

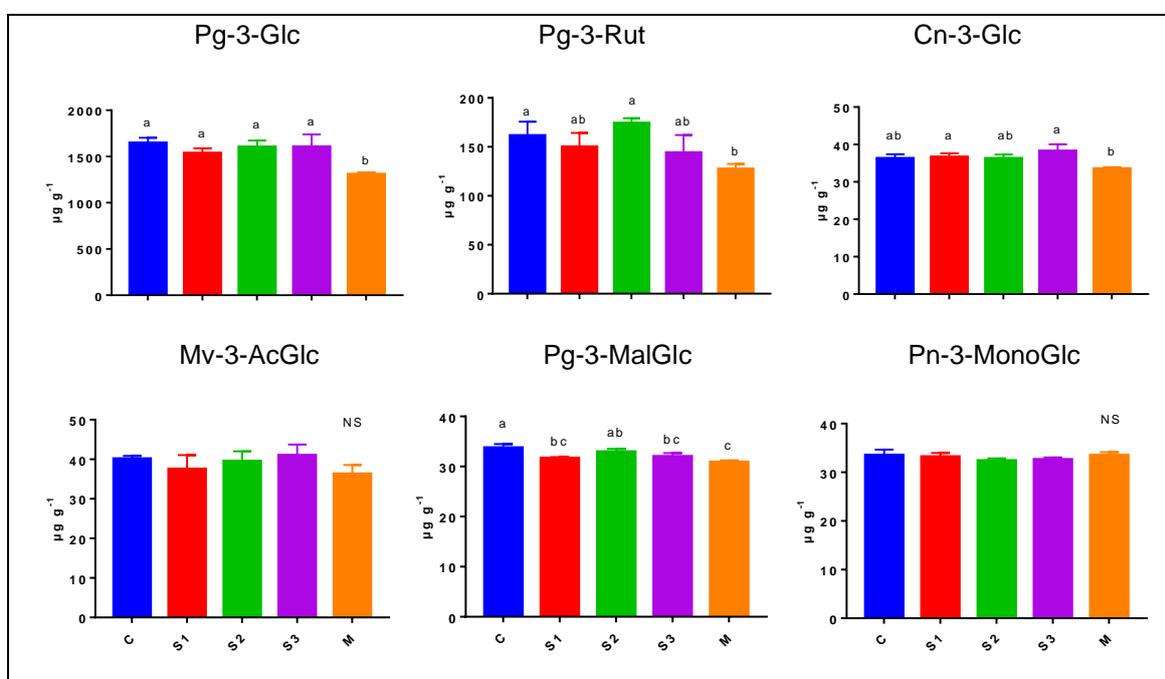


Figura 10 – Conteúdo de antocianinas individuais em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de sacarose e manitol, armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa. Pg-3-Glc: Pelargonidina-3-O-glicosídeo, Pg-3-Rut: Pelargonidina-3-O-rutinosídeo, Cn-3-Glc: Cianidina-3-O-glicosídeo, Mv-3-AcGlc: Malvidina-3-O-acetilglicosídeo, Pg-3-MalGlc: Pelargonidina-3-malonilglicosídeo, Pn-3-MonoGlc: Peonidina-3-O-monoglicosídeo. C: controle, S1: 50 mM de sacarose, S2: 270 mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol. Resultados expressos em média desvio \pm padrão ($\mu\text{g g}^{-1}$ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NS: não significativo.

Conforme mostra a Figura 10, independente do tratamento aplicado nos pseudofrutos, ao final do armazenamento, não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto ao conteúdo de malvidina 3-O-(6-O-acetil) glicosídeo, a qual variou de $34 \mu\text{g g}^{-1}$ a $41 \mu\text{g g}^{-1}$; e peonidina-3-O-monoglicosídeo, que variou de $32,2 \mu\text{g g}^{-1}$ a $33,6 \mu\text{g g}^{-1}$.

6.1.2.2 Compostos fenólicos individuais

Foram identificados e quantificados oito compostos fenólicos, sendo que a catequina e o ácido hidroxibenzoico foram os compostos encontrados em maior abundância. Os frutos controle ($1442,54 \mu\text{g g}^{-1}$) e os frutos que receberam manitol ($1482,23 \mu\text{g g}^{-1}$) apresentaram o maior conteúdo de catequina em comparação com o tratamento S3 ($1135,53 \mu\text{g g}^{-1}$), no entanto não diferiram significativamente dos demais tratamentos com sacarose (S1 e S2). A maior presença de ácido hidroxibenzoico foi encontrada nos frutos tratados com manitol ($244,08 \mu\text{g g}^{-1}$), sendo 50,1 % maior do que o controle. Os tratamentos com sacarose (S1, S2, S3) não diferiram entre si e do controle (Tabela 4).

Em relação à rutina, os tratamentos S2 e M apresentaram maior conteúdo deste composto (S2, $9,53 \mu\text{g g}^{-1}$; M, $9,39 \mu\text{g g}^{-1}$) quando comparados com os frutos controle ($8,84 \mu\text{g g}^{-1}$). Os tratamentos S1 e S3 não diferiram em relação a nenhum dos tratamentos. Os morangos submetidos ao tratamento S1 apresentaram o maior conteúdo de ácido ferúlico ($8,07 \mu\text{g g}^{-1}$), comparado com os submetidos ao tratamento S2 ($7,74 \mu\text{g g}^{-1}$), entretanto nos demais tratamentos o conteúdo de ácido ferúlico não diferiu em relação a nenhum dos tratamentos (Tabela 4).

Conforme a Tabela 4, podemos observar que nenhum dos tratamentos afetou significativamente o conteúdo de ácido elágico, o qual variou de $35,99 \mu\text{g g}^{-1}$ a $49,36 \mu\text{g g}^{-1}$; de epicatequina, que apresentou valores de $18,20 \mu\text{g g}^{-1}$ a $20,74 \mu\text{g g}^{-1}$; de ácido 5-cafeoilquínico, o qual variou de $11,03 \mu\text{g g}^{-1}$ a $11,88 \mu\text{g g}^{-1}$ e kaempferol, que variou de $0,67 \mu\text{g g}^{-1}$ a $0,85 \mu\text{g g}^{-1}$.

Tabela 4 – Conteúdo de compostos fenólicos em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de sacarose e manitol, após cinco dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa.

Composto	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)				
	C	S1	S2	S3	M
Catequina	1442,54 \pm 121,62 a	1390,37 \pm 68,38 ab	1401,5 \pm 057,45 ab	1135,53 \pm 079,23 b	1482,23 \pm 141,52 a
Ácido hidroxibenzoico	122,36 \pm 7,65 b	146,99 \pm 5,85 b	142,33 \pm 09,13 b	121,33 \pm 11,24 b	244,08 \pm 46,08 a
Ácido Elágico	35,99 \pm 3,32 ns	39,62 \pm 8,63	43,53 \pm 05,28	49,36 \pm 7,09	46,15 \pm 10,12
Epicatequina	18,49 \pm 0,96 ns	20,74 \pm 1,14	20,02 \pm 1,25	18,53 \pm 2,41	18,20 \pm 0,69
Ácido 5-cafeoilquínico	11,88 \pm 0,07 ns	11,47 \pm 0,47	11,74 \pm 0,46	11,82 \pm 0,61	11,03 \pm 0,47
Rutina	8,84 \pm 0,18 b	9,12 \pm 0,09 ab	9,53 \pm 0,09 a	9,25 \pm 0,13 ab	9,39 \pm 0,24 a
Ácido Ferúlico	8,07 \pm 0,04 ab	8,15 \pm 0,21 a	7,74 \pm 0,14 b	7,91 \pm 0,13 ab	7,78 \pm 0,16 ab
Kaempferol	0,73 \pm 0,16 ns	0,72 \pm 0,09	0,67 \pm 0,05	0,85 \pm 0,03	0,67 \pm 0,10

Resultados expressos em média ($\mu\text{g g}^{-1}$ massa seca) \pm erro padrão (n=3). C: controle, S1: 50 mM de sacarose, S2: 270 mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), ns: não significativo.

6.1.2.3 Vitamina C

O conteúdo de vitamina C foi menor nos morangos tratados com manitol (64,2 mg 100g⁻¹), comparado aos demais tratamentos (C, 82,9 mg 100g⁻¹; S1, 93,7 mg 100g⁻¹; S2 89,1 mg 100g⁻¹; S3, 86,2 mg 100g⁻¹), os quais não diferiram entre si (Figura 11).

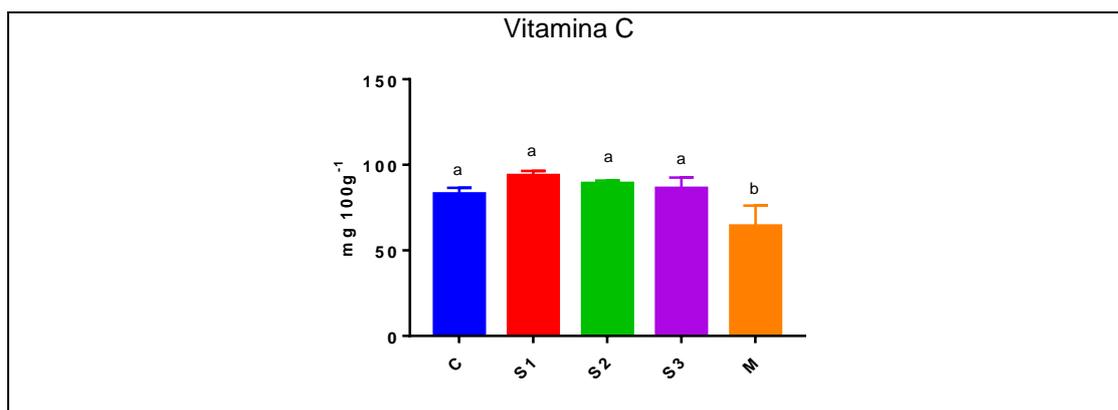


Figura 11 – Conteúdo de vitamina C em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de sacarose e manitol, armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa. C: controle, S1: 50mM de sacarose, S2: 270mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol. Resultados expressos em média \pm desvio padrão (mg 100g⁻¹ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

6.1.3 Conteúdo de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos

O conteúdo de glicose foi significativamente maior nos frutos do tratamento S3 (74,2 mg g⁻¹); sendo este 38,8 % maior do que o C, 30,6 % maior em relação ao S1 e 24,4 % maior do que o tratamento M. No entanto, não diferiu do tratamento S2 (57,5 mg g⁻¹). Quanto à frutose, os tratamentos S2 e S3 apresentaram valores significativamente maiores (S2, 99,1 mg g⁻¹; S3, 107,2 mg g⁻¹) em comparação com o controle (65,5 mg g⁻¹). Já o tratamento com manitol foi significativamente menor (82,9 mg g⁻¹) do que S3. O conteúdo de sacarose não diferiu entre os tratamentos, variando de 7,9 mg g⁻¹ a 12 mg g⁻¹ (Figura 12).

Outros quatro açúcares minoritários foram identificados por cromatografia gasosa, acoplada à espectrometria de massas: xilose, arabinose, inositol, e turanose. Porém, para esses açúcares, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 5).

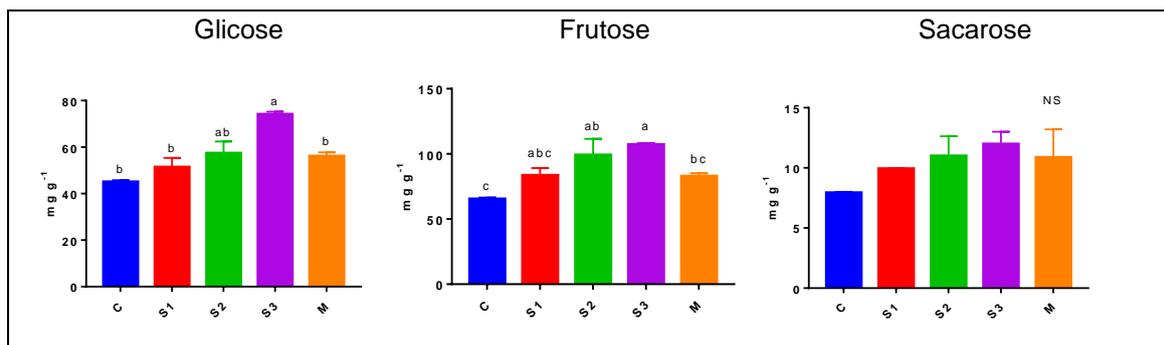


Figura 12 – Conteúdo de açúcares (Glicose, Frutose e Sacarose) em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de sacarose e manitol após cinco dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa. Resultados expressos em média (mg g^{-1} massa seca) \pm desvio padrão. C: controle, S1: 50 mM de sacarose, S2: 270 mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol. Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NS: não significativo.

No morango ‘San Andreas’ foram identificados e quantificados sete ácidos orgânicos: ácido cítrico, ácido succínico, ácido fosfórico, ácido gama-aminobutírico, ácido galacturônico, ácido glucônico, e ácido propanoico. O ácido cítrico é o majoritário nesta cultivar. Apenas o conteúdo de ácido galacturônico diferiu entre os tratamentos, sendo que o controle apresentou maior conteúdo ($0,46 \text{ mg g}^{-1}$) em relação aos tratamentos S3 (47,6 %) e M (51,1 %) (Tabela 5).

Quanto aos aminoácidos, foram identificados seis neste estudo: asparagina, ácido L-aspártico, serina, treonina, ácido glutâmico e prolina. O maior acúmulo de asparagina ocorreu nos frutos do tratamento S1 ($2,6 \text{ mg g}^{-1}$) e o menor acúmulo no tratamento S3 ($1,4 \text{ mg g}^{-1}$), sendo que os tratamentos C ($2,3 \text{ mg g}^{-1}$), M ($1,7 \text{ mg g}^{-1}$) e S2 ($2,2 \text{ mg g}^{-1}$) não diferiram em relação a nenhum dos tratamentos. Quanto ao ácido glutâmico, o tratamento S1 apresentou o menor conteúdo ($0,01 \text{ mg g}^{-1}$), enquanto que no C foi quantificado o maior valor ($0,03 \text{ mg g}^{-1}$); e o tratamento M ($0,02 \text{ mg g}^{-1}$) não diferiu dos tratamentos S1, S2 ($0,03 \text{ mg g}^{-1}$) e S3 ($0,02 \text{ mg g}^{-1}$). Os tratamentos S3 e M apresentaram os maiores valores de prolina (S3, $0,04 \text{ mg g}^{-1}$; M, $0,04 \text{ mg g}^{-1}$), enquanto que o controle e o S2 mostraram os valores mais baixos (C, $0,02 \text{ mg g}^{-1}$; S2, $0,02 \text{ mg g}^{-1}$), e o tratamento S1 ($0,03 \text{ mg g}^{-1}$) não diferiu de nenhum dos tratamentos. O conteúdo dos demais aminoácidos não diferiu entre os tratamentos, sendo que o ácido L-aspártico variou de $0,13 \text{ mg g}^{-1}$ a $0,18 \text{ mg g}^{-1}$, a serina variou de $0,12 \text{ mg g}^{-1}$ a $0,18 \text{ mg g}^{-1}$ e os valores para treonina variaram entre $0,10 \text{ mg g}^{-1}$ e $0,14 \text{ mg g}^{-1}$ (Tabela 5).

Tabela 5 - Conteúdo de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de sacarose e manitol, após cinco dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa.

Nome	S	TR	MM Der.	Concentração (mg g ⁻¹)				
				C	S1	S2	S3	M
Ácidos orgânicos								
Ácido Cítrico	93	12.660	480	53,70 ± 6,25 ns	52,93 ± 1,17	53,25 ± 5,71	52,25 ± 9,08	50,16 ± 4,70
Ácido Succínico	97	6.337	262	4,03 ± 0,24 ns	4,46 ± 0,45	3,96 ± 0,33	4,14 ± 0,44	4,25 ± 0,26
Ácido Fosfórico	95	6.021	314	1,55 ± 0,16 ns	1,66 ± 0,22	1,63 ± 0,17	1,57 ± 0,11	1,59 ± 0,11
Ácido γ-aminobutírico	93	8.431	319	0,76 ± 0,01 ns	0,81 ± 0,13	0,75 ± 0,05	0,95 ± 0,16	0,81 ± 0,06
Ácido Galacturônico	86	14.340	919	0,46 ± 0,02 a	0,34 ± 0,04 ab	0,34 ± 0,06 ab	0,24 ± 0,10 b	0,23 ± 0,08 b
Ácido Glucônico	93	15.113	629	0,04 ± 0,00 ns	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00
Ácido Propanóico	92	6.676	322	0,03 ± 0,00 ns	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Açúcares								
Xilose	94	10.040	467	9,85 ± 0,86 ns	10,09 ± 0,48	10,02 ± 1,23	9,91 ± 0,69	9,47 ± 0,49
Inositol	91	15.239	613	0,56 ± 0,06 ns	0,76 ± 0,10	0,68 ± 0,09	0,64 ± 0,06	0,71 ± 0,02
Arabinose	95	10.289	467	0,34 ± 0,02 ns	0,33 ± 0,03	0,26 ± 0,05	0,25 ± 0,03	0,27 ± 0,03
Turanose	89	17.530	919	0,04 ± 0,00 ns	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00
Aminoácidos								
Asparagina	93	9.882	348	2,31 ± 0,20 ab	2,58 ± 0,13 a	2,21 ± 0,57 ab	1,45 ± 0,17 b	1,71 ± 0,35 ab
Ácido L-aspártico	96	8.329	349	0,13 ± 0,01 ns	0,15 ± 0,03	0,17 ± 0,01	0,18 ± 0,03	0,13 ± 0,01
Serina	97	6.968	321	0,12 ± 0,01 ns	0,18 ± 0,07	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Treonina	96	7.243	335	0,10 ± 0,01 ns	0,14 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,14 ± 0,03	0,12 ± 0,02
Ácido Glutâmico	92	9.334	363	0,03 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 c	0,03 ± 0,00 ab	0,02 ± 0,00 bc	0,02 ± 0,00 bc
Prolina	92	6.270	259	0,02 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 ab	0,02 ± 0,00 b	0,04 ± 0,01 a	0,04 ± 0,00 a

Resultados expressos em média (mg g⁻¹ massa seca) ± erro padrão (n=3). C: controle, S1: 50 mM de sacarose, S2: 270 mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol. S: similaridade com biblioteca de espectro de massas NIST 2011, TR: tempo de retenção, MM Der. : massa molecular derivatizada. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05); ns: não significativo.

6.1.4 Conteúdo de ABA e derivados

Os morangos submetidos à aplicação de manitol mostraram menor conteúdo do fitohormônio ABA ($2,2 \mu\text{g g}^{-1}$), os outros tratamentos não influenciaram o seu conteúdo. Quanto ao teor de ABA-GE, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 13).

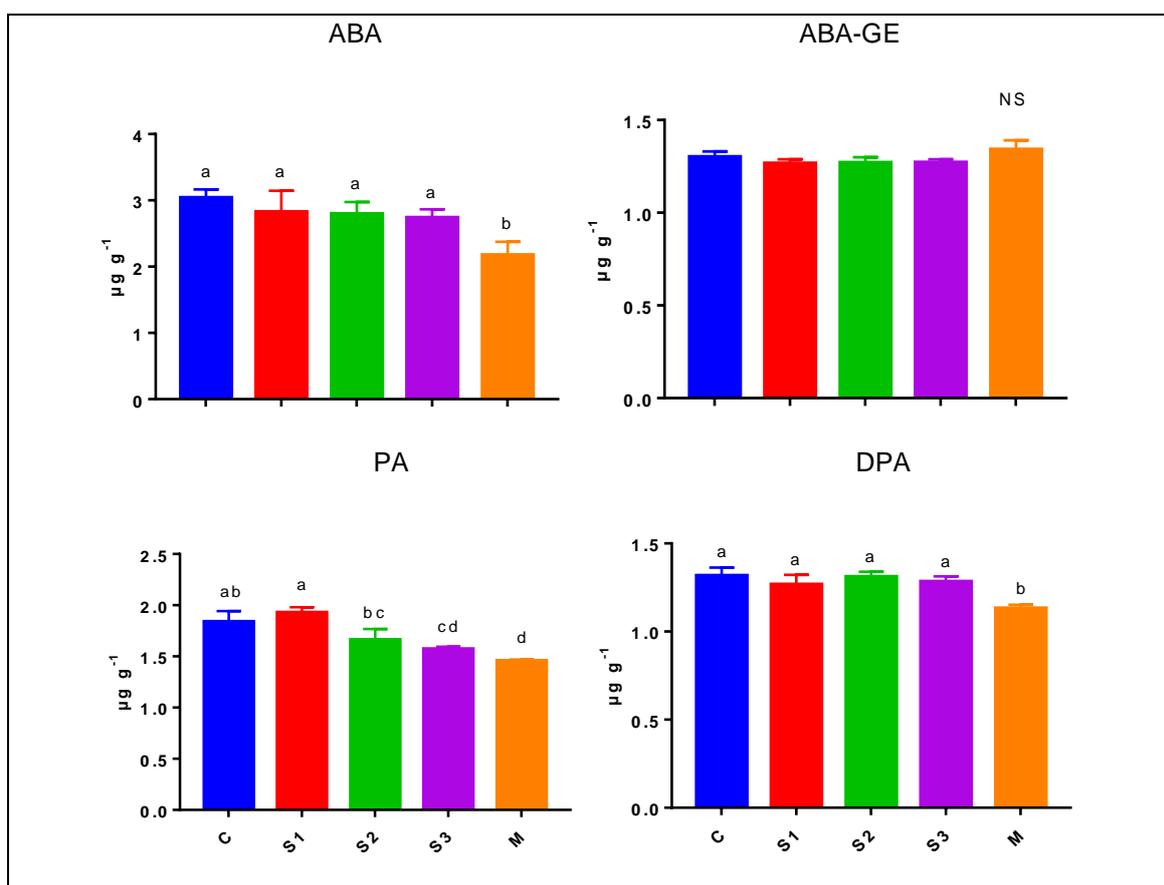


Figura 13 - Conteúdo de ácido abscísico (ABA), ABA-glicosil éster (ABA-GE), ácido faseico (PA) e ácido dehidrofaseico (DPA) em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de sacarose e manitol, armazenados durante cinco dias a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e 80 % de umidade relativa. Resultados expressos em média ($\mu\text{g g}^{-1}$ massa seca). C: controle, S1: 50 mM de sacarose, S2: 270 mM de sacarose, S3: 500 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol. Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NS: não significativo.

Já o conteúdo de PA reduziu com o aumento da concentração das doses de sacarose e manitol, sendo o maior conteúdo encontrado nos frutos que receberam o tratamento S1 ($1,9 \mu\text{g g}^{-1}$) e controle ($1,8 \mu\text{g g}^{-1}$) e os menores valores foram encontrados nos tratamentos S3 ($1,6 \mu\text{g g}^{-1}$) e M ($1,5 \mu\text{g g}^{-1}$). No entanto, o tratamento S3 não apresentou diferença significativa comparado com o tratamento S2. Quanto ao DPA, o tratamento com manitol apresentou o menor

conteúdo ($1,1 \mu\text{g g}^{-1}$), enquanto que os tratamentos com sacarose não diferiram do controle (Figura 13).

6.2 Efeito da aplicação pós-colheita de ABA

6.2.1 Parâmetros de qualidade (cor, SST, acidez, firmeza)

Após armazenamento por um período de cinco dias, os frutos submetidos ao tratamento com ABA (A) e com NDGA (N) apresentaram coloração avermelhada crescente (Figura 14). Nos primeiros dois dias de armazenamento o controle (C) apresentou maior percentual (41,7 %) de frutos com 90 % ou mais da superfície avermelhada, sendo que, os tratamentos A e N apresentaram ambos 27,1 % de frutos com 90 % ou mais da superfície avermelhada (Figura 15).

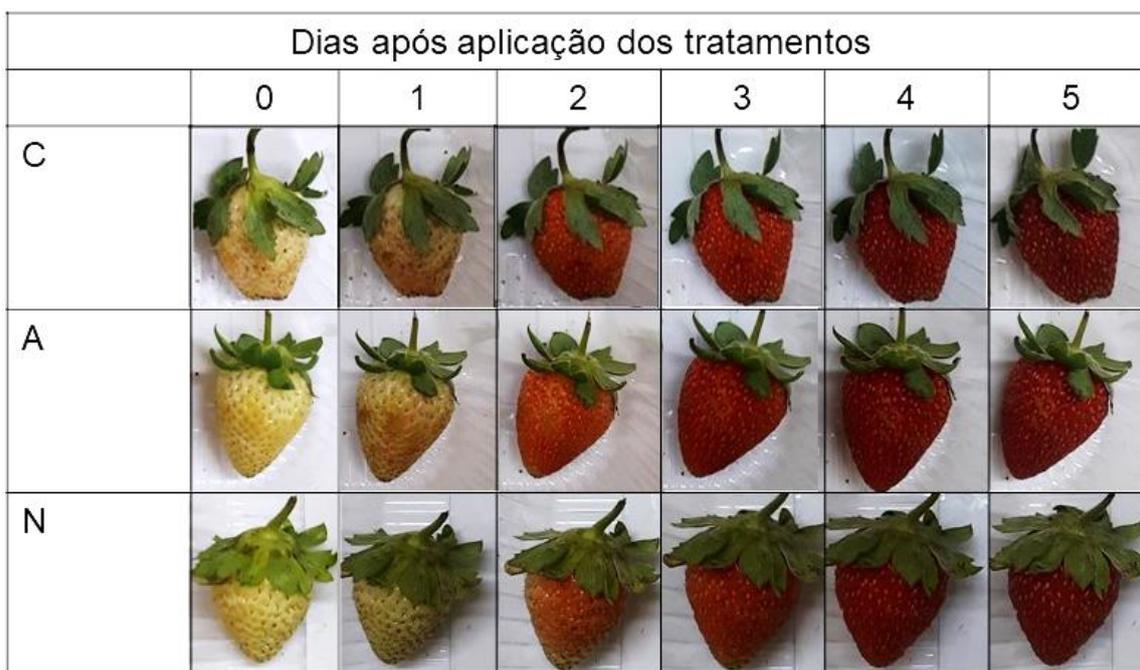


Figura 14 - Mudança da coloração de frutos ao longo do armazenamento, após 1, 2, 3, 4 ou 5 dias de armazenamento a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e 80 % de umidade relativa, no tratamento pós-colheita com ácido abscísico (ABA) e nordihidroguaiarético (NDGA). C: controle, A: $100 \mu\text{M}$ de ABA, N: $50 \mu\text{M}$ de NDGA.

No entanto, a partir do quarto dia, o tratamento com ABA (A), mostrou-se mais eficiente na indução da coloração (85,7 %), ao mesmo tempo em que o tratamento com NDGA (N) apresentou menor percentual de frutos com superfície vermelha (68,3 %). No último dia de armazenamento (dia 5), os tratamentos

apresentaram os seguintes percentuais de frutos com 90 % ou mais da superfície vermelha: C: 90,5 %; A: 97,6 %; N: 95,2 % (Figura 15).

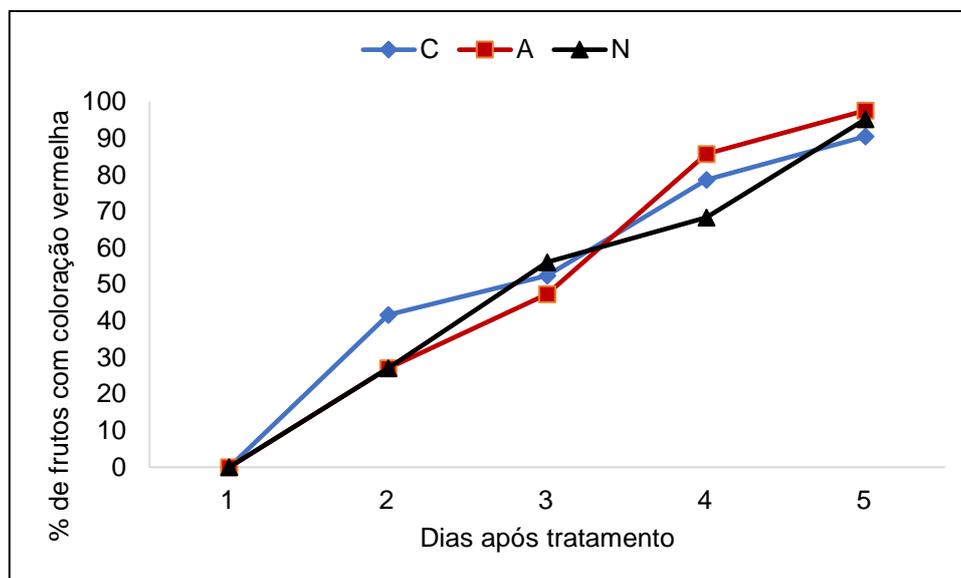


Figura 15 – Porcentagem de frutos apresentando 90 % ou mais da superfície com coloração avermelhada, após 1, 2, 3, 4 ou 5 dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa, no tratamento pós-colheita com ácido abscísico (ABA) e nordihidroguaiarético (NDGA). C: controle, A: 100 μM de ABA, N: 50 μM de NDGA.

Morangos submetidos ao tratamento com NDGA apresentaram menor conteúdo de SST (5,8°), comparado ao controle (6,5°), enquanto que os submetidos ao tratamento com ABA (6,4°) não diferiram do controle ou do tratamento com NDGA. Os outros parâmetros de qualidade (acidez, pH, firmeza, perda de massa e cor) não foram afetados pelos tratamentos com ABA e NDGA (Figura 16). Nenhum dos tratamentos afetou significativamente a perda de massa, a qual variou de 14,69 a 16,31 %; a firmeza, a qual variou de 2,22 a 2,26 N; a acidez, que variou de 1,29 a 1,61 mg de ácido cítrico.100g⁻¹; o pH, que variou de 3,22 a 3,40; ou a cor, que variou de 45,94 a 47,34 °Hue (Figura 16).

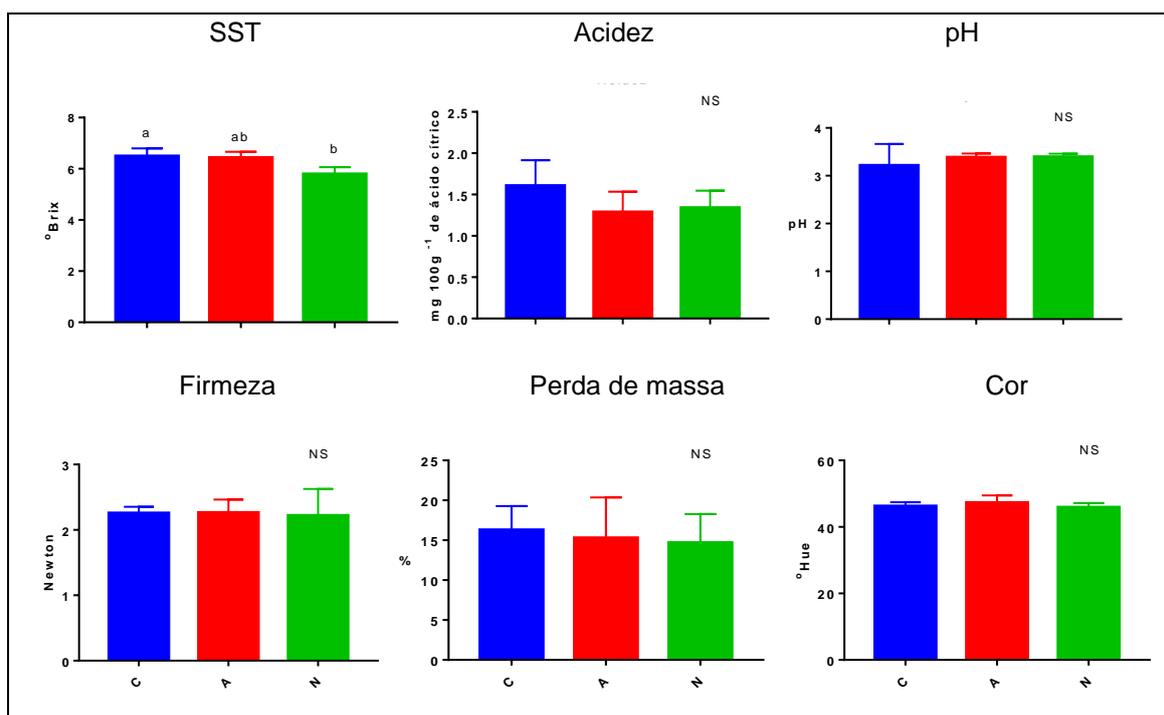


Figura 16 - Atributos de qualidade em morangos submetidos a tratamentos pós-colheita com ácido abscísico (ABA) e nordihidroguaiarético (NDGA), armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa. C: controle, A: 100 µM de ABA, N: 50 µM de NDGA. Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NS: não significativo.

6.2.2 Parâmetros de qualidade funcional

O conteúdo de antocianinas totais foi afetado pela aplicação de NDGA, apresentando conteúdo significativamente menor do que o controle (17,6 %). Por outro lado, a aplicação de ABA não diferiu do controle e do tratado com NDGA. Os tratamentos não influenciaram o conteúdo de compostos fenólicos totais, o qual variou de 268,2 a 280,0 mg 100 g⁻¹ ácido gálico e a atividade antioxidante, que variou o percentual de inibição de 79,8 % a 87,9 % (Figura 17).

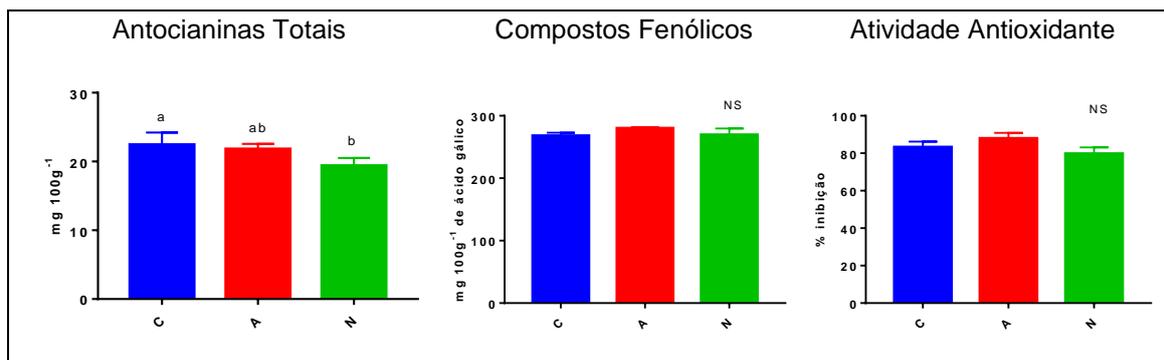


Figura 17 - Atributos de qualidade funcional (antocianinas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante) dos morangos submetidos aos tratamentos pós-colheita com ácido abscísico (ABA) e nordihidroguaiarético (NDGA), armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa. C: controle, A: 100 μM de ABA, N: 50 μM de NDGA. Resultados expressos em médias ± desvio padrão. Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NS: não significativo.

6.2.2.1 Antocianinas individuais

Em todos os tratamentos a antocianina encontrada em maior abundância foi a Pelargonidina-3-O-glicosídeo. Os morangos submetidos à aplicação de NDGA mostraram menor conteúdo ($1219 \mu\text{g g}^{-1}$) dessa antocianina, diferindo significativamente do controle ($1647 \mu\text{g g}^{-1}$). No entanto, os pseudofrutos tratados com ABA ($1441 \mu\text{g g}^{-1}$) não diferiram do controle e do tratamento N. Uma antocianina minoritária, a pelargonidina-3-malonilglicosídeo, apresentou maior conteúdo no controle do que nos tratados com ABA (4,8 %) e NDGA (7,2 %) (Figura 18).

Os tratamentos não afetaram o conteúdo das demais antocianinas, sendo que o conteúdo da pelargonidina-3-rutinosídeo variou de $124,2 \mu\text{g g}^{-1}$ a $161,5 \mu\text{g g}^{-1}$; o conteúdo da cianidina-3-O-glicosídeo variou de $33,6 \mu\text{g g}^{-1}$ a $36,3 \mu\text{g g}^{-1}$; a malvidina 3-O-(6-O-acetil) glicosídeo apresentou valores entre $38,6 \mu\text{g g}^{-1}$ e $43,8 \mu\text{g g}^{-1}$ e a peonidina-3-O-monoglicosídeo variou entre $32,4 \mu\text{g g}^{-1}$ e $33,1 \mu\text{g g}^{-1}$ (Figura 18).

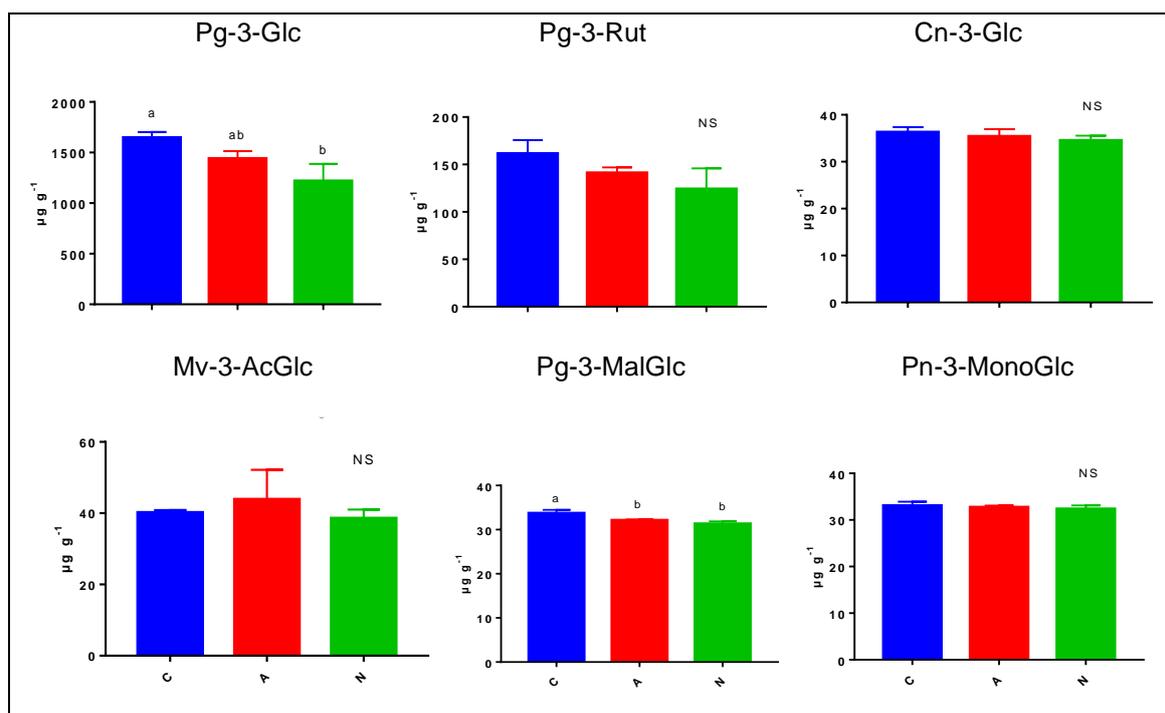


Figura 18 - Conteúdo de antocianinas individuais em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de ácido abscísico (ABA) e nordihidroguaiarético (NDGA), armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa. Pg-3-Glc: Pelargonidina-3-O-glicosídeo, Pg-3-Rut: Pelargonidina-3-O-rutinosídeo, Cn-3-Glc: Cianidina-3-O-glicosídeo, Mv-3-AcGlc: Malvidina-3-O-acetilglicosídeo, Pg-3-MalGlc: Pelargonidina-3-malonilglicosídeo, Pn-3-MonoGlc: Peonidina-3-O-monoglicosídeo. C: controle, A: 100 µM de ABA, N: 50 µM de NDGA. Resultados expressos em média ± desvio padrão (µg g⁻¹ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). NS: não significativo.

6.2.2.2 Compostos fenólicos individuais

O composto fenólico encontrado em maior abundância foi a catequina, seguida do ácido hidroxibenzoico. Entretanto estes compostos não foram afetados pelos tratamentos com ABA e NDGA, assim como o ácido 5-cafeoilquínico, a rutina e o kaempferol. O ácido elágico apresentou maior conteúdo nos morangos tratados com ABA (31,6 %) e NDGA (37,4 %), comparados ao controle. Os frutos submetidos ao tratamento com ABA apresentaram maior conteúdo de epicatequina (21,02 µg g⁻¹) comparado aos demais. Quanto ao ácido ferúlico, os frutos submetidos ao tratamento com ABA apresentaram maior teor (3,2 %) em comparação com os que receberam NDGA, no entanto nenhum dos tratamentos diferiu em relação ao controle (Tabela 6).

Tabela 6 - Conteúdo de compostos fenólicos em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de ABA e NDGA, após cinco dias de armazenamento a 20 °C e 80 % umidade relativa.

Composto	Concentração		
	C	A	N
Catequina	1442,54 ± 121,62 ns	1541,07 ± 70,65	1420,07 ± 156,68
Ácido hidroxibenzoico	122,36 ± 7,65 ns	145,72 ± 18,10	148,58 ± 15,56
Ácido Elágico	34,99 ± 3,32 b	51,19 ± 8,66 a	55,91 ± 2,51 a
Epicatequina	18,49 ± 0,96 b	21,02 ± 0,74 a	18,16 ± 0,71 b
Ácido 5-cafeoilquínico	11,88 ± 0,07 ns	12,71 ± 1,01	11,87 ± 0,31
Rutina	8,84 ± 0,18 ns	8,96 ± 0,28	8,89 ± 0,18
Ácido Ferúlico	8,07 ± 0,04 ab	8,14 ± 0,12 a	7,88 ± 0,08 b
Kaempferol	0,73 ± 0,16 ns	0,75 ± 0,12	0,70 ± 0,06

Resultados expressos em média ($\mu\text{g g}^{-1}$ massa seca) \pm erro padrão (n=3). C: controle, A: 100 μM de ABA, N: 50 μM de NDGA. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$); ns: não significativo.

6.2.2.3 Vitamina C

Morangos submetidos à aplicação pós-colheita de NDGA apresentaram menor conteúdo de vitamina C ($67,5 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$), enquanto que o tratamento com ABA não diferiu do controle, apresentando $79,5 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ e $82,9 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, respectivamente (Figura 19).

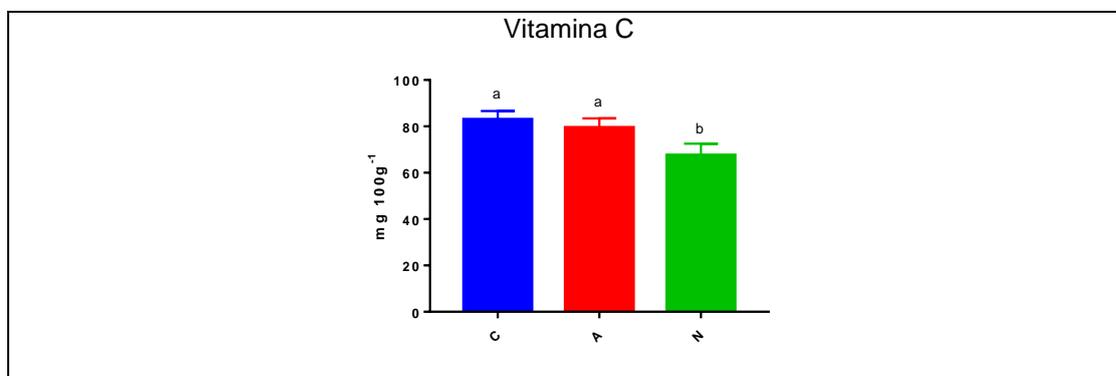


Figura 19 – Conteúdo de vitamina C em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de ácido abscísico (ABA) e nordihidroguaiarético (NDGA), armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa. C: controle, A: 100 μM de ABA, N: 50 μM de NDGA. Resultados expressos em média \pm desvio padrão ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

6.2.3 Conteúdo de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos

Conforme mostra a Figura 20, morangos submetidos ao tratamento pós-colheita com NDGA resultaram em frutos com menor conteúdo de açúcares (glicose, frutose e sacarose), de modo que o tratamento N apresentou frutos com

percentual 25,7 % menor de glicose e ao mesmo tempo 21,7 % menor de frutose e 43 % menor de sacarose, em relação ao controle. Enquanto os frutos que receberam ABA não diferiram do controle.

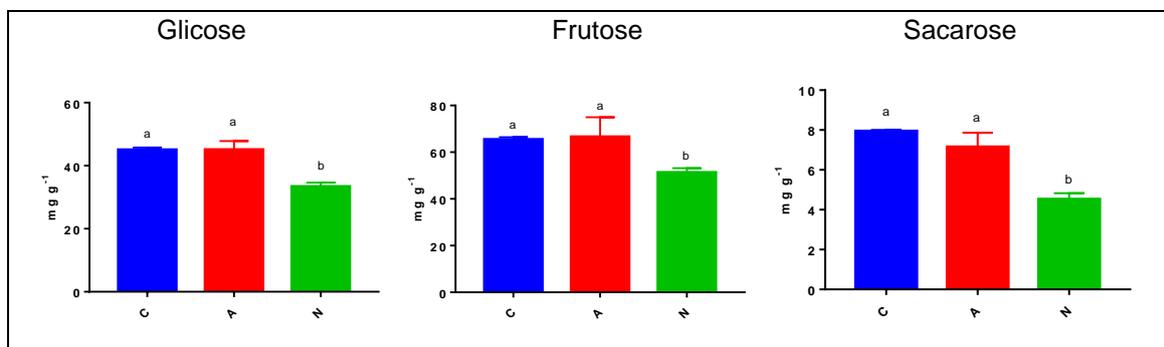


Figura 20 - Conteúdo de açúcares (Glicose, Frutose e Sacarose) em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de ácido abscísico (ABA) e nordihidroguaiarético (NDGA) após cinco dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa. C: controle, A: 100 µM de ABA, N: 50 µM de NDGA. Resultados expressos em média ± desvio padrão (mg g⁻¹ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Os açúcares minoritários (xilose, inositol e arabinose) não diferiram entre os tratamentos e o controle. A turanose não apresentou diferença entre o controle e o tratamento A, no entanto não foi detectado nos frutos submetidos ao tratamento N (Tabela 7).

Quanto aos ácidos orgânicos o ácido succínico foi encontrado em maior abundância nos frutos submetidos ao tratamento N (4,68 mg g⁻¹). Por outro lado o ácido glucónico não foi detectado nos frutos submetidos ao mesmo tratamento. O tratamento A e o controle não diferiram significativamente entre si em relação aos ácidos citados anteriormente. Quanto ao ácido galacturônico, o tratamento com NDGA apresentou o menor conteúdo (0,15 mg g⁻¹), seguido do tratamento com ABA (0,29 mg g⁻¹), sendo que o maior conteúdo foi encontrado nos frutos controle (0,46 mg g⁻¹). Os ácidos cítrico, fosfórico, propanóico e gama-aminobutírico não foram afetados pelos tratamentos (Tabela 7).

O aminoácido predominante, a asparagina, apresentou maior conteúdo nos tratamentos A (47 %) e C (43,9 %), em relação ao tratamento com NDGA. O ácido glutâmico apresentou maior conteúdo no C, seguido do tratamento com aplicação de ABA e o menor conteúdo foi apresentado nos frutos tratados com NDGA. A prolina apresentou maiores teores nos tratamentos A e N, enquanto que o controle apresentou o menor teor deste aminoácido (Tabela 7).

Os aminoácidos ácido L-aspártico, treonina e serina não apresentaram diferença significativa em relação a nenhum dos tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7 – Conteúdo de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de ácido abscísico (ABA) e nordihidroguaiarético (NDGA), após cinco dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa.

Nome	S	TR	MM Derivatizada	Concentração (mg g ⁻¹)		
				C	A	N
Ácidos orgânicos						
Ácido Cítrico	93	12.660	480	53,70 ± 6,25 ns	44,42 ± 3,54	32,60 ± 3,10
Ácido Succínico	97	6.337	262	4,03 ± 0,24 b	3,42 ± 0,59 b	4,68 ± 1,35 a
Ácido Fosfórico	95	6.021	314	1,55 ± 0,16 ns	1,75 ± 0,15	1,39 ± 0,40
Ácido γ-aminobutírico	93	8.431	319	0,76 ± 0,01 ns	0,72 ± 0,08	0,69 ± 0,12
Ácido Galacturônico	86	14.340	919	0,46 ± 0,02 a	0,29 ± 0,04 b	0,15 ± 0,04 c
Ácido Glucônico	93	15.113	629	0,04 ± 0,00 ns	0,05 ± 0,00	-
Ácido Propanóico	92	6.676	322	0,03 ± 0,00 ns	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01
Açúcares						
Xilose	94	10.040	467	9,85 ± 0,86 ns	9,02 ± 1,42	8,12 ± 0,22
Inositol	91	15.239	613	0,56 ± 0,06 ns	0,52 ± 0,06	0,45 ± 0,07
Arabinose	95	10.289	467	0,34 ± 0,02 ns	0,28 ± 0,02	0,36 ± 0,04
Turanose	89	17.530	919	0,04 ± 0,00 ns	0,05 ± 0,01	-
Aminoácidos						
Asparagina	93	9.882	348	2,31 ± 0,20 a	2,75 ± 0,31 a	1,29 ± 0,26 b
Ácido L-aspartico	96	8.329	349	0,13 ± 0,01 ns	0,12 ± 0,02	0,24 ± 0,08
Serina	97	6.968	321	0,12 ± 0,01 ns	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,02
Treonina	96	7.243	335	0,10 ± 0,01 ns	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,02
Ácido Glutâmico	92	9.334	363	0,03 ± 0,00 a	0,02 ± 0,00 b	0,01 ± 0,00 c
Prolina	92	6.270	259	0,02 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 a	0,03 ± 0,00 a

Resultados expressos em média (mg g⁻¹ massa seca) ± erro padrão (n=3). C: controle, A: 100 µM de ABA, N: 50 µM de NDGA. S: similaridade com biblioteca de espectro de massas NIST 2011, TR: tempo de retenção, MM Derivatizada: massa molecular derivatizada. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05); ns: não significativo.

6.2.4 Conteúdo de ABA e seus derivados

Conforme a Figura 21, os morangos submetidos ao tratamento com ABA resultaram em frutos com maior conteúdo de ABA ($4,4 \mu\text{g g}^{-1}$) e ABA-GE ($1,8 \mu\text{g g}^{-1}$), por outro lado os frutos tratados com NDGA não diferiram do controle. O conteúdo de PA e DPA não foi afetado pelos tratamentos com ABA e NDGA, variando de $1,8 \mu\text{g g}^{-1}$ a $2,1 \mu\text{g g}^{-1}$ para PA e de $1,27 \mu\text{g g}^{-1}$ a $1,33 \mu\text{g g}^{-1}$ para DPA.

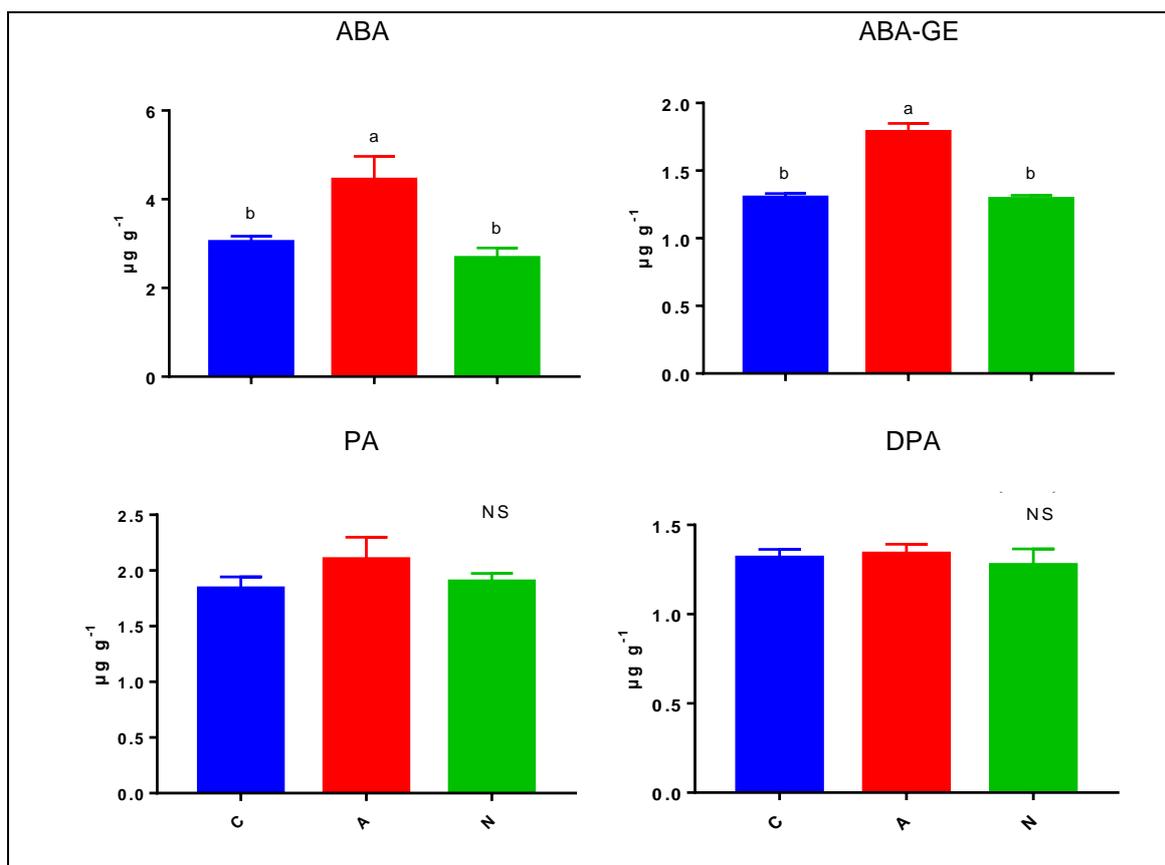


Figura 21 - Conteúdo de ácido abscísico (ABA), ABA-glicosil éster (ABA-GE), ácido faseico (PA) e ácido dehidrofaseico (DPA) em morangos submetidos à aplicação pós-colheita de ácido abscísico (ABA) e nordihidroguaiarético (NDGA), armazenados durante cinco dias a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e 80 % de umidade relativa. C: controle, A: $100 \mu\text{M}$ de ABA, N: $50 \mu\text{M}$ de NDGA. Resultados expressos em média ($\mu\text{g g}^{-1}$ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NS: não significativo

6.3 Maturação pós-colheita e *in vivo*

Nesta seção serão abordados os resultados obtidos com frutos submetidos à indução de maturação pós-colheita e com frutos que sofreram maturação *in vivo* (frutos colhidos maduros e imaturos). O tratamento S1, foi

definido entre os tratamentos com sacarose devido o conteúdo de antocianinas similar.

6.3.1 Parâmetros de qualidade (cor, SST, acidez, firmeza)

Morangos com maturação *in vivo* apresentaram maior teor de SST (FM: 7,1°), em comparação com frutos verdes sem tratamento pós-colheita (FV: 5,9°), ou com frutos verdes submetidos aos tratamentos pós-colheita com M (5,8°) ou N (5,8°); no entanto, não diferiram dos frutos submetidos aos tratamentos pós-colheita com sacarose (S1: 6,4°), ABA (A: 6,4°) ou controle (C: 6,5°) (Figura 22).

A maturação *in vivo* resultou em frutos menos ácidos (1,0 mg de ácido cítrico.100g⁻¹), do que frutos controle submetidos à maturação pós-colheita (1,6 mg de ácido cítrico.100g⁻¹). Os demais tratamentos (S1, M, A, N, FV) não diferiram significativamente dos frutos FM ou C. Quanto à firmeza dos frutos, os morangos verdes (FV) apresentaram maior firmeza de polpa (5,5 Newtons) e os morangos com maturação *in vivo* apresentaram menor firmeza (1,3 Newton). Já os frutos submetidos à maturação pós-colheita apresentaram firmeza menor em comparação aos frutos verdes não submetidos à pós-colheita; no entanto, permaneceram mais firmes do que os com maturação *in vivo*, sendo que esses tratamentos apresentaram firmeza entre 2,2 e 2,3 Newtons (Figura 22).

A cor dos frutos avaliada através do ângulo Hue apresentou diferença entre os frutos verdes (FV), frutos submetidos à maturação pós-colheita, e frutos com maturação *in vivo*. De modo que os frutos FV apresentaram o maior ângulo Hue (68,8 °), frutos FM apresentaram o menor ângulo Hue (28,0°), enquanto que os frutos submetidos à maturação pós-colheita não diferiram entre si quanto a cor, a qual variou de 46,3 a 48,9 °Hue (Figura 22).

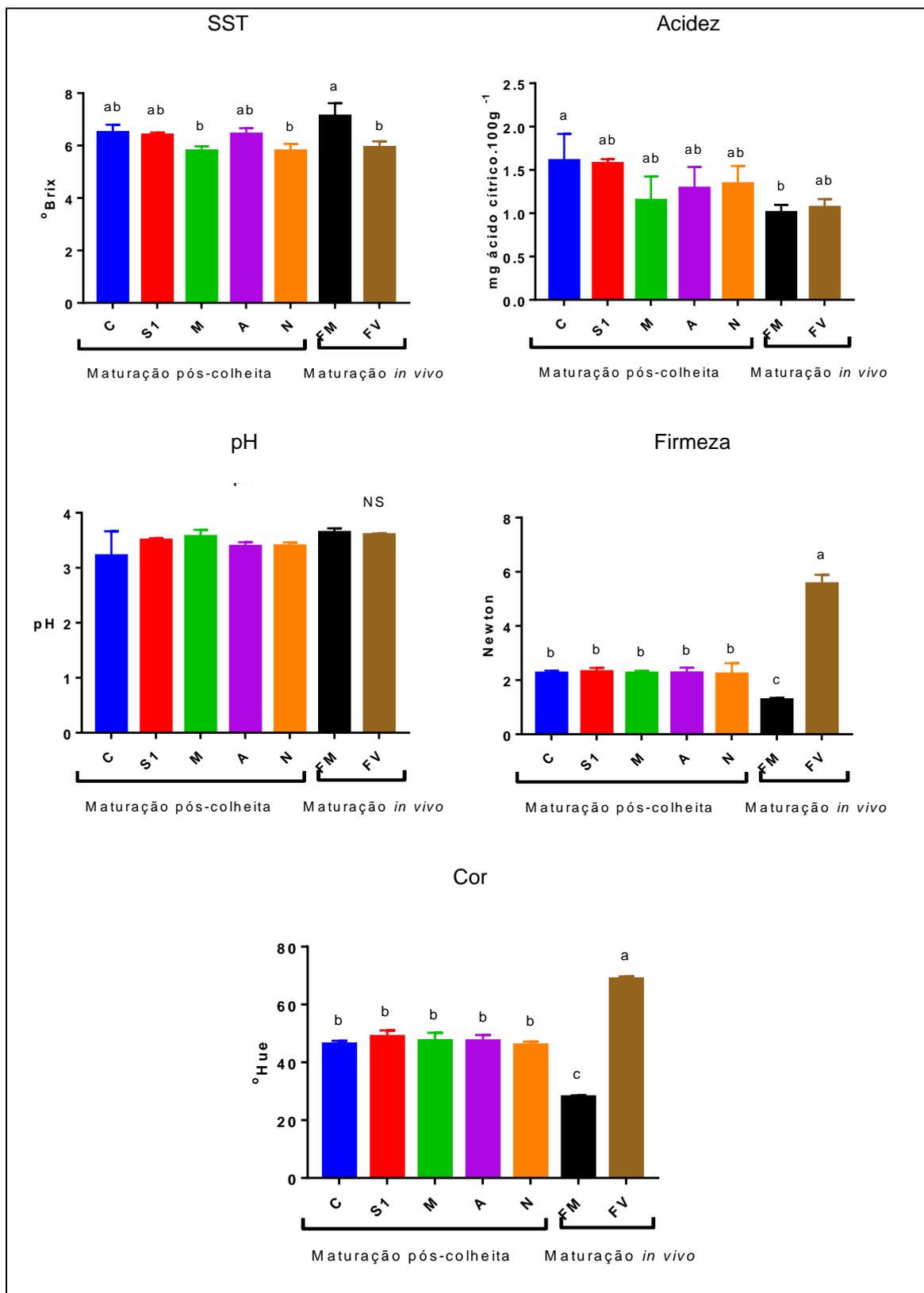


Figura 22 - Atributos de qualidade em morangos submetidos aos tratamentos (C: controle, S1: 50 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol, A: 100 μ M de ABA, N: 50 μ M de NDGA) na pós-colheita, armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa e frutos colhidos com maturação *in vivo* (FM: frutos colhidos maduros, FV: frutos verdes). Resultados expressos em média \pm desvio padrão. Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NS: não significativo.

6.3.2 Parâmetros de qualidade funcional

Morangos submetidos ao tratamento com sacarose (S1) apresentaram maior teor de antocianinas totais ($22,9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) em relação aos frutos que receberam manitol ($16,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), N ($18,5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) ou FM ($18,9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), no entanto não diferiram significativamente do controle ($22,4 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) ou A ($22,1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). Em frutos imaturos (FV) não foram detectadas antocianinas totais.

Frutos que amadureceram *in vivo* apresentaram menor quantidade de compostos fenólicos totais ($172,2 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de ácido gálico) e, conseqüentemente menor atividade antioxidante ($55,4 \%$), já os frutos submetidos aos tratamentos pós-colheita S1 e A apresentaram maior quantidade de compostos fenólicos totais (S1: $278,7$, A: $280,0 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de ácido gálico) e maior atividade antioxidante (S1: $86,5 \%$, A: $87,9 \%$), embora não tenham diferido significativamente dos tratamentos N, C ou FV (Figura 23).

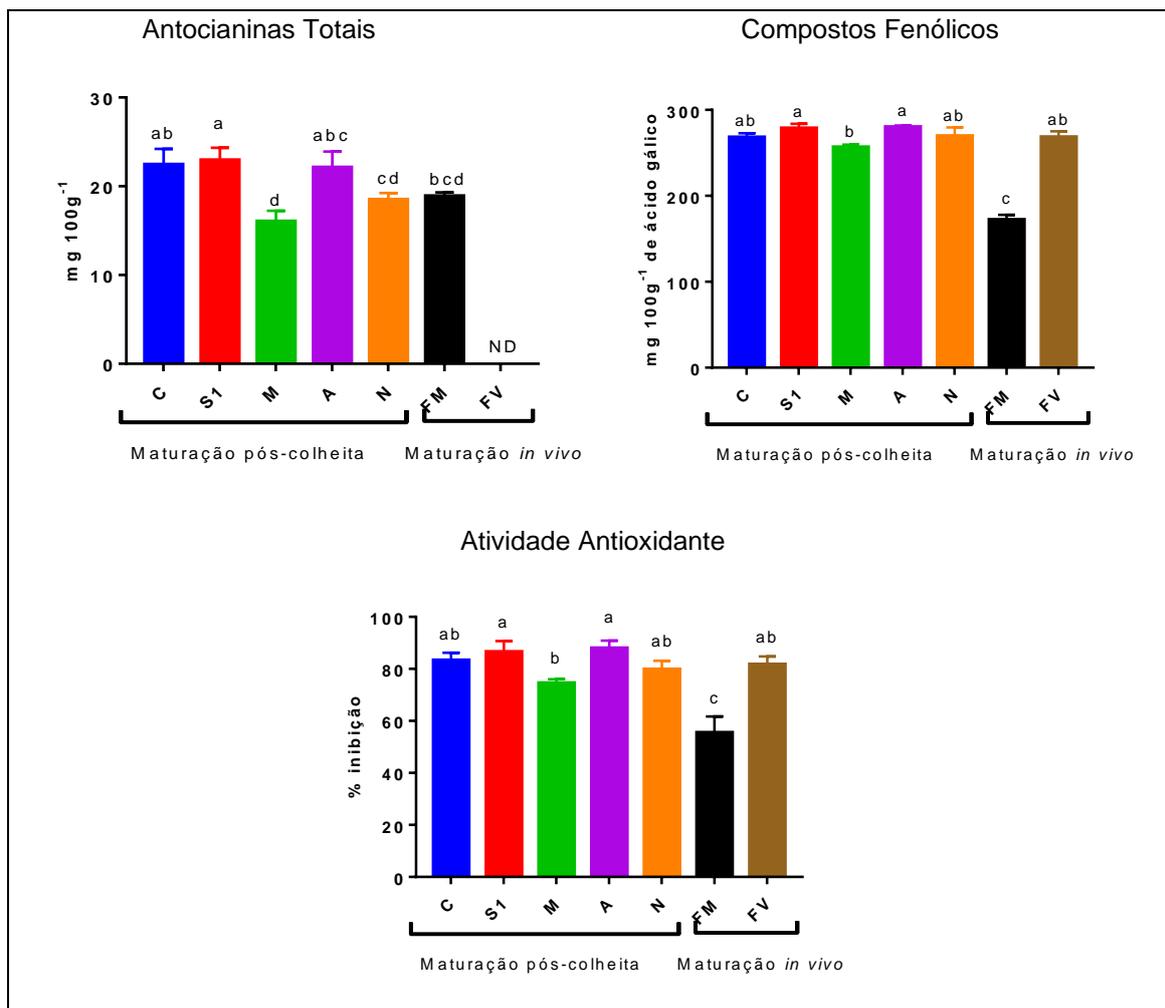


Figura 23 - Atributos de qualidade funcional (antocianinas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante) em morangos submetidos aos tratamentos (C: controle, S1: 50 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol, A: 100 μ M de ABA, N: 50 μ M de NDGA) na pós-colheita, armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa e frutos colhidos com maturação *in vivo* (FM: frutos colhidos maduros, FV: frutos verdes). Resultados expressos em média \pm desvio padrão. Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ND: não detectado.

6.3.2.1 Antocianinas individuais

A antocianina majoritária, a pelargonidina-3-O-glicosídeo, apresentou maior teor nos frutos controle (1647,5 μ g g⁻¹), no entanto não diferiu dos frutos S1 (1537,5 μ g g⁻¹). Frutos com maturação *in vivo* apresentaram menor teor dessa antocianina (1284 μ g g⁻¹) quando comparados ao C ou S1, no entanto não diferiram dos tratamentos M, A, N (M: 1309 μ g g⁻¹; A: 1441 μ g g⁻¹; N: 1219 μ g g⁻¹). Morangos tratados com ABA não diferiram em relação a nenhum dos tratamentos. O menor teor para pelargonidina-3-O-glicosídeo foi encontrado em

frutos verdes (FV), sendo que nesses frutos somente esta antocianina e a malvidina 3-O-(6-O-acetil) glicosídeo foram detectadas, ambas apresentando baixo conteúdo ($30 \mu\text{g g}^{-1}$ e $31 \mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente). Ainda referente a malvidina 3-O-(6-O-acetil) glicosídeo, o tratamento com ABA apresentou o maior teor ($43,8 \mu\text{g g}^{-1}$), entretanto não diferiu significativamente dos tratamentos C, S1, M e N (Figura 24).

Em relação a pelargonidina-3-O-rutinosídeo, o tratamento com NDGA resultou em menor teor dessa antocianina (23 %), comparado ao controle. Os tratamentos S1, M, A, FM não diferiram significativamente em relação a nenhum dos tratamentos, sendo que os valores variaram entre $127,5$ e $155,3 \mu\text{g g}^{-1}$ (Figura 24).

Frutos com maturação *in vivo* apresentaram maior teor de peonidina-3-O-monoglicosídeo ($40 \mu\text{g g}^{-1}$), enquanto que os frutos colhidos no estágio Wt e submetidos a indução de maturação pós-colheita (C, S1, M, A, N) apresentaram teores menores e não diferiram entre si. Nos frutos FV esta antocianina não foi detectada. A cianidina-3-O-glicosídeo apresentou maior conteúdo em frutos que amadureceram *in vivo* ($41 \mu\text{g g}^{-1}$), sendo que o tratamento M apresentou o menor conteúdo para essa antocianina ($33,6 \mu\text{g g}^{-1}$), no entanto não diferiu do C ($36,3 \mu\text{g g}^{-1}$) ou dos tratamentos A ($35,4 \mu\text{g g}^{-1}$) ou N ($34,6 \mu\text{g g}^{-1}$). Os tratamentos C, S1, A e N não diferiram entre si. Quanto a pelargonidina-3-malonilglicosídeo, os tratamentos S1, M e N apresentaram menor teor (S1: $31,6 \mu\text{g g}^{-1}$; M: $30,9 \mu\text{g g}^{-1}$; N: $31,3 \mu\text{g g}^{-1}$), comparado ao C ($33,8 \mu\text{g g}^{-1}$) ou FM ($34 \mu\text{g g}^{-1}$), sendo que o C não diferiu do A ($33,8 \mu\text{g g}^{-1}$) ou do FM (Figura 24).

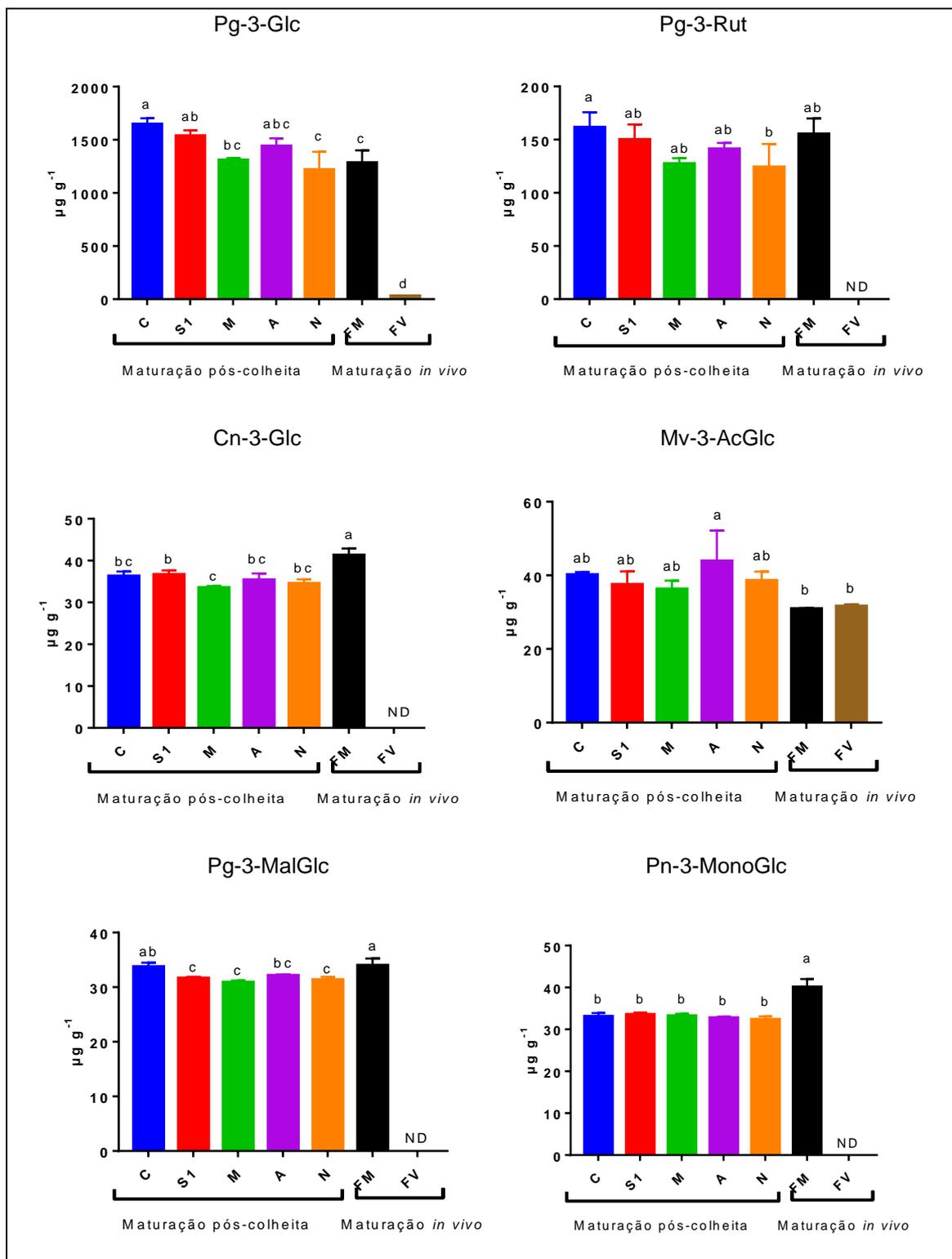


Figura 24 - Conteúdo de antocianinas individuais em morangos submetidos aos tratamentos (C: controle, S1: 50 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol, A: 100 µM de ABA, N: 50 µM de NDGA) na pós-colheita, armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa e frutos colhidos com maturação *in vivo* (FM: frutos colhidos maduros, FV: frutos verdes). Pg-3-Glc: Pelargonidina-3-O-glicosídeo, Pg-3-Rut: Pelargonidina-3-O-rutinosídeo, Cn-3-Glc: Cianidina-3-O-glicosídeo, Mv-3-AcGlc: Malvidina-3-O-acetilglicosídeo, Pg-3-MalGlc: Pelargonidina-3-malonilglicosídeo, Pn-3-MonoGlc: Peonidina-3-O-monoglicosídeo. Resultados expressos em média ± desvio padrão (µg g⁻¹ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05). ND: não detectado.

6.3.2.2 Compostos fenólicos individuais

Frutos verdes apresentam maior teor de catequina e epicatequina comparado aos frutos com maturação *in vivo* (57 % e 46 %, respectivamente) ou com os frutos submetidos a maturação pós-colheita (C: 29 %, 24 %; S1: 32 %, 15 %; M: 28 %, 25 %; A: 25 %, 14 %; N: 31 %, 25 %). O tratamento M apresentou o maior teor de ácido hidroxibenzoico ($244,08 \mu\text{g g}^{-1}$), já o menor conteúdo foi encontrado no frutos FM ($78,82 \mu\text{g g}^{-1}$), no entanto não diferiu do C ($122,36 \mu\text{g g}^{-1}$) ou do FV ($94,22 \mu\text{g g}^{-1}$). Os tratamentos S1 ($146,99 \mu\text{g g}^{-1}$), A ($145,72 \mu\text{g g}^{-1}$), N ($148,58 \mu\text{g g}^{-1}$), C ($122,36 \mu\text{g g}^{-1}$) e FV não diferiram entre si (Tabela 8).

Quanto ao conteúdo de ácido elágico, o tratamento N apresentou o maior conteúdo ($55,91 \mu\text{g g}^{-1}$), no entanto não diferiu do tratamento S1, M ou A. Os menores teores para este composto foram encontrados nos frutos *in vivo* (FV: $25,55 \mu\text{g g}^{-1}$; FM: $27,83 \mu\text{g g}^{-1}$), entretanto não foi significativamente diferente do C ou do tratamento S1. Frutos com maturação *in vivo* apresentaram maior teor de rutina ($9,45 \mu\text{g g}^{-1}$), sendo que não diferiu significativamente dos tratamentos S1, M ou A. Os frutos verdes e o C apresentaram os menores conteúdos de rutina (FV: $8,80 \mu\text{g g}^{-1}$; C: $8,84 \mu\text{g g}^{-1}$), no entanto não diferiu dos tratamentos S1, A ou N (Tabela 8).

O conteúdo de ácido 5-cafeoilquínico e ácido ferúlico não diferiram significativamente entre nenhum dos tratamentos. Os frutos verdes (FV) apresentaram o menor conteúdo de Kaempferol ($0,37 \mu\text{g g}^{-1}$), não diferindo significativamente dos frutos com maturação *in vivo*. Os demais tratamentos (C, S1, M, A, N) não diferiram significativamente entre si e dos frutos maturados *in vivo* (Tabela 8).

Tabela 8 – Conteúdo de compostos fenólicos em morangos submetidos à tratamentos pós-colheita (C,S1, M, A, N), após cinco dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa e frutos com maturação *in vivo* (FM, FV).

Composto	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)							
	C	S1	M	A	N	FM	FV	
Catequina	1442,5 ± 121,6 b	1390,4 ± 68,4 b	1482,2 ± 141,5 b	1541,1 ± 70,6 b	1420,1 ± 156,7 b	888,27 ± 65,95 c	2047,1 ± 95,64 a	
Ác.								
Hidroxibenzoico	122,36 ± 7,65 bc	146,99 ± 5,85 b	244,08 ± 46,08 a	145,72 ± 18,10 b	148,58 ± 15,56 b	78,82 ± 7,88 c	94,22 ± 3,57 bc	
Ác. Elágico	34,99 ± 3,32 bc	39,62 ± 8,63 abc	46,15 ± 10,12 ab	51,19 ± 8,66 ab	55,91 ± 2,51 a	27,83 ± 1,16 c	25,55 ± 5,06 c	
Epicatequina	18,49 ± 0,96 b	20,74 ± 1,14 b	18,20 ± 0,69 b	21,02 ± 0,74 b	18,16 ± 0,71 b	13,20 ± 1,31 c	24,39 ± 1,85 a	
Ác. 5- cafeoilquínico	11,88 ± 0,07 ns	11,47 ± 0,47	11,03 ± 0,47	12,71 ± 1,01	11,87 ± 0,31	9,62 ± 0,65	10,32 ± 0,45	
Rutina	8,84 ± 0,18 c	9,12 ± 0,09 abc	9,39 ± 0,24 ab	8,96 ± 0,28 abc	8,89 ± 0,18 bc	9,45 ± 0,36 a	8,80 ± 0,04 c	
Ác. Ferúlico	8,07 ± 0,04 ns	8,15 ± 0,21	7,78 ± 0,16	8,14 ± 0,12	7,88 ± 0,08	7,85 ± 0,18	7,88 ± 0,16	
Kaempferol	0,73 ± 0,16 a	0,72 ± 0,09 a	0,67 ± 0,10 a	0,75 ± 0,12 a	0,70 ± 0,06 a	0,60 ± 0,03 ab	0,37 ± 0,02 b	

Resultados expressos em média ($\mu\text{g g}^{-1}$ massa seca) ± erro padrão (n=3). C: controle, S1: 50 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol, A: 100 μM de ABA, N: 50 μM de NDGA, FM: frutos colhidos maduros, FV: frutos colhidos imaturos. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$); ns: não significativo.

6.3.2.3 Vitamina C

Morangos submetidos à aplicação pós-colheita de S1 apresentaram maior conteúdo de vitamina C ($93,7 \mu\text{g g}^{-1}$), comparado ao tratamento com M (31,5 %), N (27,9 %) e aos frutos imaturos (29,2 %) e maduros (29,3 %). Já os tratamentos com A e o controle não diferiram do S1. O tratamento com ABA (79,5 mg 100g-1) não diferiu de nenhum dos tratamentos (Figura 25).

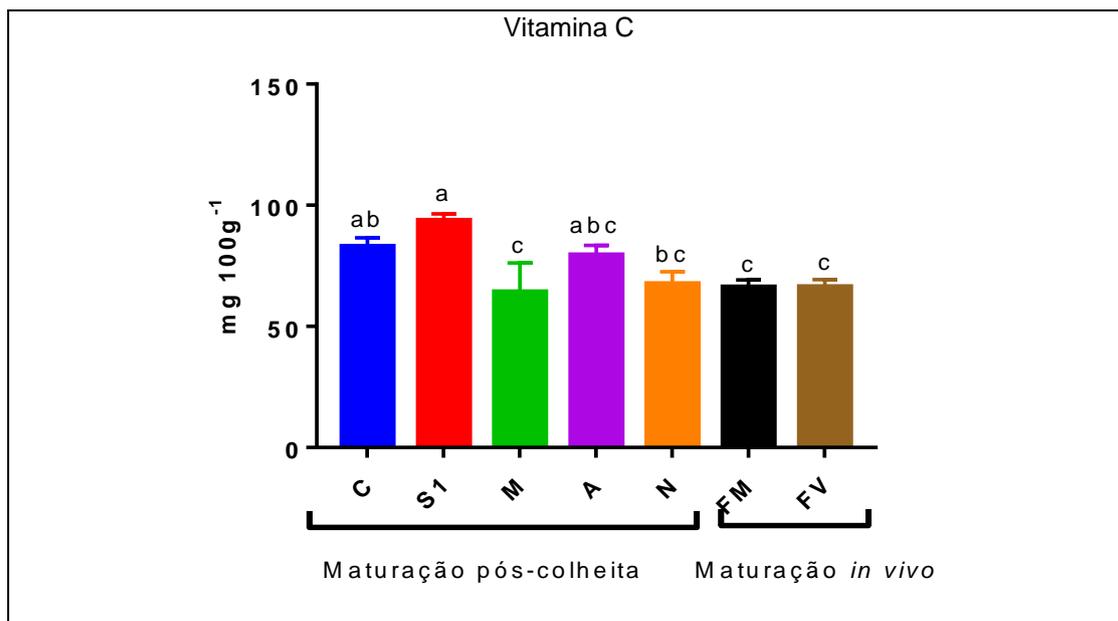


Figura 25 - Conteúdo de vitamina C em morangos submetidos aos tratamentos (C: controle, S1: 50 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol, A: 100 μM de ABA, N: 50 μM de NDGA) na pós-colheita, armazenados durante cinco dias a 20 °C e umidade relativa de 80 % e frutos colhidos com maturação *in vivo* (FM: frutos colhidos maduros, FV: frutos verdes). Resultados expressos em média \pm desvio padrão (mg 100g⁻¹ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

6.3.3 Conteúdo de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos

O conteúdo de glicose foi significativamente maior nos tratamentos S1 ($51,4 \text{ mg g}^{-1}$), M ($56,2 \text{ mg g}^{-1}$) e FM ($50,8 \text{ mg g}^{-1}$), no entanto não diferiu do C ($45,1 \text{ mg g}^{-1}$) ou A ($45,1 \text{ mg g}^{-1}$). Os menores conteúdos foram encontrados em frutos FV ($35,7 \text{ mg g}^{-1}$) e N ($33,4 \text{ mg g}^{-1}$), não diferindo do C ou A (Figura 26).

Quanto à frutose, os frutos com maturação *in vivo* (FM) apresentaram o maior conteúdo ($97,4 \text{ mg g}^{-1}$), porém não diferiu significativamente do tratamento S1 ($83,5 \text{ mg g}^{-1}$). Já no tratamento N foi encontrado o menor conteúdo ($51,4 \text{ mg g}^{-1}$), o qual não diferiu significativamente do C ($65,5 \text{ mg g}^{-1}$) ou FV (55 mg g^{-1}). O A ($66,6 \text{ mg g}^{-1}$) não diferiu significativamente do C ou do FV (Figura 26).

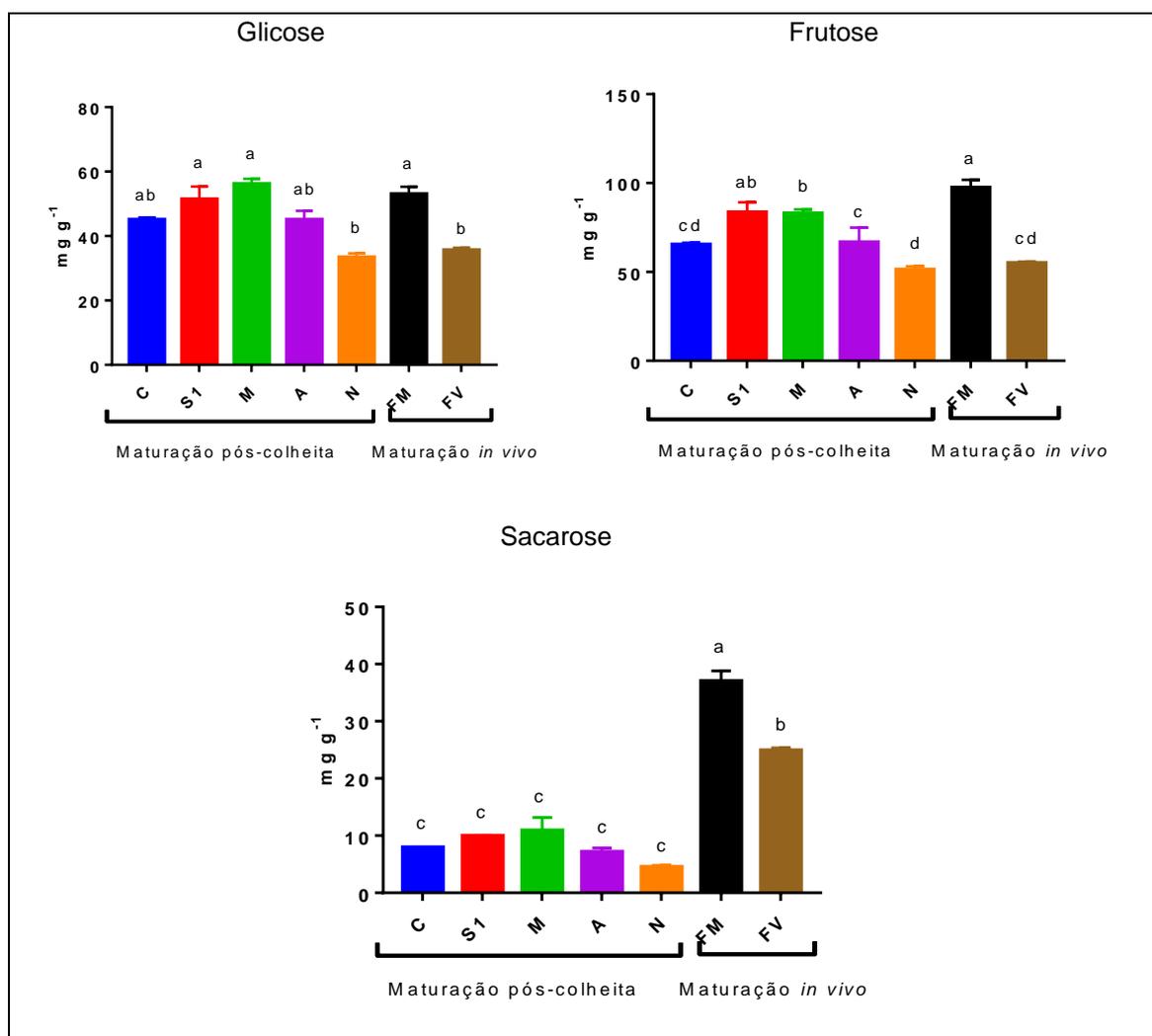


Figura 26 - Conteúdo de açúcares (glicose, frutose e sacarose) em morangos submetidos aos tratamentos (C: controle, S1: 50 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol, A: 100 μ M de ABA, N: 50 μ M de NDGA) na pós-colheita, armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80 % de umidade relativa e frutos colhidos com maturação in vivo (FM: frutos colhidos maduros, FV: frutos imaturos) . Resultados expressos em média \pm desvio padrão (mg g⁻¹ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O maior conteúdo de sacarose foi determinado em frutos FM (37 mg g⁻¹), enquanto que frutos imaturos (FV) apresentaram conteúdo 32,8 % menor. Já os morangos amadurecidos na pós-colheita apresentaram conteúdo significativamente menor em relação ao FM ou FV, sendo que para esses tratamentos (C, S1, M, A, N) variou de 4,5 a 10,9 mg g⁻¹ (Figura 26).

De acordo com a Tabela 9, os frutos que foram submetidos à maturação pós-colheita (C, S1, M, A, N) apresentaram maior conteúdo de xilose em comparação aos frutos com maturação *in vivo* (FM e FV). Quanto aos açúcares minoritários, o inositol apresentou maior conteúdo nos frutos amadurecidos *in vivo* (1,22 mg g⁻¹), seguido do tratamento S1 (0,76 mg g⁻¹), o qual não diferiu do

tratamento M ou C. O menor teor encontrado para esse açúcar foi no tratamento N ($0,45 \text{ mg g}^{-1}$), no entanto este não diferiu do C, A ou do FV. A arabinose, apresentou maior teor no tratamento N ($0,36 \text{ mg g}^{-1}$), não sendo significativamente diferente do C, S1 ou A, enquanto que nos tratamentos FM e FV detectou-se os menores teores (FV: $0,04$; FM: $0,12 \text{ mg g}^{-1}$). A turanose foi detectada no C, S1, M e A, sendo que estes não diferiram entre si (Tabela 9).

O ácido majoritário, o ácido cítrico, apresentou maior teor nos tratamentos pós-colheita S1 e C, no entanto não diferiu do M ou A. Por outro lado, os frutos que não foram tratados pós-colheita (FM, FV) apresentaram os menores teores de ácido cítrico, juntamente com o tratamento N. Frutos colhidos imaturos (FV) sem tratamento pós-colheita apresentaram maior teor de ácido succínico, seguido pelos frutos FM, enquanto que os frutos que foram submetidos ao tratamento pós-colheita durante cinco dias, apresentaram teores menores e não diferiram entre si (Tabela 9).

Os tratamentos S1, M, A e C apresentaram teores maiores de ácido fosfórico, no entanto não diferiram do N e FM, sendo que o menor conteúdo foi encontrado em frutos imaturos (FV). Quanto ao ácido γ -aminobutírico pode-se observar na tabela 9, que os tratamentos pós-colheita (C, S1, M, A, N) apresentaram maior conteúdo, enquanto que os frutos com maturação *in vivo* (FM, FV) apresentam conteúdo menor. Já o ácido galacturônico teve maior conteúdo nos frutos C, porém não diferiu do S1, A ou FM. Para este ácido, o menor teor foi encontrado no tratamento N, o qual não difere do M, A ou FV. Os ácidos glucônico e propanoico não diferiram em relação a nenhum dos tratamentos (Tabela 9).

Tabela 9 – Conteúdo de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos em frutos submetidos a tratamentos pós-colheita (C, S1, M, A, N), após cinco dias de armazenamento a 20 °C e 80 % de umidade relativa e frutos com maturação *in vivo* (FM, FV).

Nome	Concentração (mg g ⁻¹)						
	C	S1	M	A	N	FM	FV
Ácidos orgânicos							
Ácido Cítrico	53,70 ± 6,25 a	52,93 ± 1,17 a	50,16 ± 4,70 ab	44,42 ± 3,54 ab	32,60 ± 3,1 b	32,40 ± 4,42 b	31,53 ± 1,17 b
Ácido Succínico	4,03 ± 0,24 c	4,46 ± 0,45 c	4,25 ± 0,26 c	3,42 ± 0,59 c	4,68 ± 1,35 c	11,84 ± 1,09 b	16,62 ± 1,17 a
Ácido Fosfórico	1,55 ± 0,16 a	1,66 ± 0,22 a	1,59 ± 0,11 a	1,75 ± 0,15 a	1,39 ± 0,40 ab	1,23 ± 0,03 ab	0,79 ± 0,10 b
Ácido γ-aminobutírico	0,70 ± 0,01 a	0,81 ± 0,13 a	0,81 ± 0,06 a	0,72 ± 0,08 a	0,69 ± 0,12 a	0,28 ± 0,04 b	0,30 ± 0,02 b
Ácido Galacturônico	0,46 ± 0,02 a	0,34 ± 0,04 ab	0,23 ± 0,08 bc	0,29 ± 0,04 abc	0,15 ± 0,04 c	0,35 ± 0,02 ab	0,25 ± 0,01 bc
Ácido Glucônico	0,04 ± 0,00 ns	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	-	-	0,03 ± 0,00
Ácido Propanóico	0,03 ± 0,00 ns	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,023 ± 0,00	0,04 ± 0,00
Açúcares							
Xilose	9,85 ± 0,86 a	10,09 ± 0,48 a	9,47 ± 0,49 a	9,02 ± 1,42 a	8,12 ± 0,22 a	3,40 ± 0,55 b	1,56 ± 0,18 b
Inositol	0,56 ± 0,06 bcd	0,76 ± 0,10 b	0,71 ± 0,02 bc	0,52 ± 0,06 cd	0,45 ± 0,07 d	1,22 ± 0,11 a	0,51 ± 0,04 cd
Arabinose	0,34 ± 0,02 ab	0,33 ± 0,03 ab	0,27 ± 0,03 b	0,28 ± 0,02 ab	0,36 ± 0,04 a	0,12 ± 0,00 c	0,04 ± 0,00 c
Turanose	0,04 ± 0,00 ns	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,01	-	-	-
Aminoácidos							
Asparagina	2,31 ± 0,20 ab	2,58 ± 0,13 ab	1,71 ± 0,35 bc	2,75 ± 0,31 a	1,29 ± 0,26 cd	0,62 ± 0,00 d	2,37 ± 0,29 ab
Ácido L-aspártico	0,13 ± 0,01 b	0,15 ± 0,03 b	0,13 ± 0,01 b	0,12 ± 0,02 b	0,24 ± 0,08 ab	0,19 ± 0,01 b	0,34 ± 0,04 a
Serina	0,12 ± 0,01 ns	0,18 ± 0,07	0,15 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,20 ± 0,08	0,11 ± 0,02
Treonina	0,10 ± 0,01 ns	0,14 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,02
Ácido Glutâmico	0,03 ± 0,00 b	0,01 ± 0,00 b	0,02 ± 0,00 b	0,02 ± 0,00 b	0,01 ± 0,00 b	0,06 ± 0,04 b	0,19 ± 0,03 a
Prolina	0,02 ± 0,00 c	0,03 ± 0,00 b	0,04 ± 0,00 a	0,03 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00 d

Resultados expressos em média (mg g⁻¹ massa seca) ± erro padrão (n=3). C: controle, S1: 50 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol, A: 100 µM de ABA, N: 50 µM de NDGA, FM: frutos colhidos maduros, FV: frutos verdes. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05); ns: não significativo.

Para os aminoácidos, os maiores teores de asparagina foram encontrados em frutos submetidos ao tratamento com ABA ($2,75 \text{ mg g}^{-1}$), entretanto não diferiu do C, S1 ou FV. O menor conteúdo deste aminoácido foi encontrado em frutos com maturação *in vivo*, sendo que este não foi significativamente diferente do tratamento N. Quanto ao ácido L-aspártico, frutos imaturos (FV) foram os que apresentaram maior teor ($0,34 \text{ mg g}^{-1}$), no entanto não diferiu do tratamento N ($0,24 \text{ mg g}^{-1}$), este por sua vez não diferiu dos demais tratamentos (C, S1, M, A, FM). Os aminoácidos serina e treonina não diferiam em relação a nenhum dos tratamentos (Tabela 9).

6.3.4 ABA e derivados

O maior conteúdo de ABA foi encontrado nos frutos tratados com ABA ($4,4 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$), enquanto que o manitol apresentou o menor conteúdo ($2,2 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$) comparado ao C (28,4 %) ou A (51 %), não diferindo significativamente dos demais tratamentos (S1, N, FM, FV). Em relação ao ABA-GE, o tratamento A apresentou maior teor ($1,8 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$), os tratamentos pós-colheita C, S1, M e N, não apresentaram diferença significativa entre si, já os frutos com maturação *in vivo* apresentaram o menor conteúdo de ABA-GE ($1,1 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$) (Figura 27).

O tratamento A apresentou o maior conteúdo de PA ($2,1 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$), no entanto não diferiu dos tratamentos C, S1 ou N. O menor conteúdo foi encontrado no tratamento M ($1,5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$), já os frutos com maturação *in vivo* não diferiram dos tratamentos C, S1, M, N (Figura 27).

Quanto ao DPA, os tratamentos pós-colheita (C: $1,3 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$; S1: $1,3 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$; A: $1,3 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$; N: $1,3 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$), exceto o tratamento M, apresentaram maior conteúdo quando comparado a maturação *in vivo* (FM), sendo que FM apresentou teor de $1 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$. Em frutos imaturos, não foram detectados ABA-GE, PA e DPA (Figura 27).

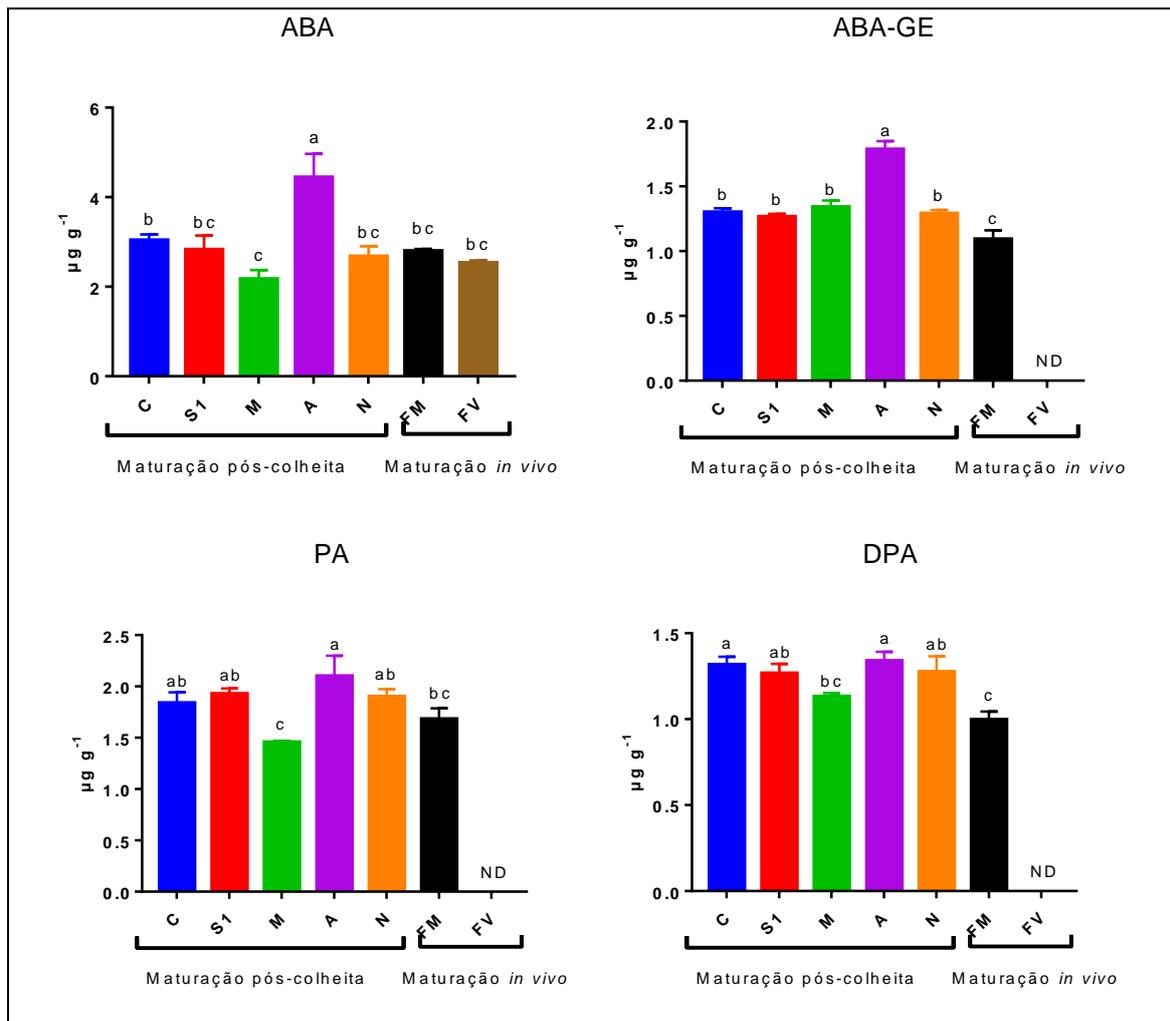


Figura 27 - Conteúdo de ácido abscísico (ABA), ABA-glicosil éster (ABA-GE), ácido faseico (PA) e ácido dehidrofaseico (DPA) em morangos submetidos aos tratamentos (C: controle, S1: 50 mM de sacarose, M: 500 mM de manitol, A: 100 μM de ABA, N: 50 μM de NDGA) na pós-colheita, armazenados durante cinco dias a 20 °C e 80% de umidade relativa e frutos colhidos com maturação *in vivo* (FM: frutos colhidos maduros, FV: frutos verdes). Resultados expressos em média \pm desvio padrão ($\mu\text{g g}^{-1}$ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$); ND: não detectado.

7 Discussão

Frutos climatéricos são capazes de maturar mesmo após colhidos, por apresentarem aumento na taxa respiratória e aumento da concentração de etileno. Por outro lado, frutos não climatéricos, a exemplo do morango, devem ser colhidos maduros, pois não apresentam maturação normal após colhidos (JIA et al., 2011; SILVA et al., 2001; TAIZ et al., 2017). Por serem colhidos maduros, embora apresentem menor conteúdo de compostos fenólicos totais (35,8 %) e, portanto, menor atividade antioxidante (32,1 %) (Figura 23) e igual teor de vitamina C (66 mg 100g⁻¹) (Figura 25), comparado ao fruto verde (FV), apresentam coloração vermelho brilhante, alta concentração de antocianinas (14,3 mg 100g⁻¹), menor firmeza (77,1 %), maior teor de SST (16,7 %) (Figura 22) e açúcares (glicose, frutose, sacarose e inositol) (Figura 26, Tabela 9). Juntos esses compostos tornam este fruto doce, com aroma característico, que juntamente com a textura macia, resultante da quebra dos compostos da parede celular, tornam esse fruto muito desejável ao consumidor (FORNEY et al., 2000; MANIKEN, SÖDERLING, 1980; MOYA-LEÓN, 2019).

Apesar disso, essas mesmas características levam essa fruta a ser altamente perecível. A textura macia e o alto conteúdo de água tornam a fruta suscetível a lesões mecânicas e físicas, facilitando a penetração de micro-organismos (BATISTA, 2017; PALHA, 2005). Uma alternativa seria colher esse fruto no estágio wt (branco), onde o fruto adquire seu tamanho máximo, mas os processos associados ao incremento no acúmulo de açúcar, e à perda de firmeza ainda não foram ativados, e, portanto são menos perecíveis. No entanto, como a cor é um aspecto relevante ao consumidor, a mesma necessitaria ser induzida durante o pós-colheita (Figura 1).

Estudos prévios mostram que o morango é capaz de desenvolver uma maturação não usual quando colhido nesse estágio branco, uma vez que é capaz de desenvolver coloração avermelhada, reflexo do aumento no conteúdo de antocianinas, durante a pós-colheita (CHEN et al., 2016). De fato, no presente estudo podemos observar que a maturação pós-colheita leva ao incremento de cor vermelha na fruta (Figura 6 e 15), devido ao aumento das antocianinas (Figura 8). No entanto, em frutos com maturação pós-colheita o perfil de antocianinas é diferente daquele observado em frutos com maturação *in vivo*,

priorizando pela pelargonidina-3-O-glicosídeo e malvidina 3-O-(6-O-acetil) glicosídeo ao invés de peonidina-3-O-monoglicosídeo e cianidina-3-O-glicosídeo, como observado na Figura 24. Além disso, frutos maturados pós-colheita apresentam maior conteúdo de compostos fenólicos totais (especialmente devido ao maior conteúdo de catequina, ácido hidroxibenzóico e epicatequina) (Tabela 8), maior atividade antioxidante, maior teor de vitamina C nos tratamentos C e S1 (Figura 25), conteúdo reduzido de açúcares, especialmente sacarose (Figura 26), maior firmeza de polpa, menor teor de SST nos tratamentos M e N (Figura 22) e maior acidez no controle (especialmente de ácido cítrico), quando comparado a frutos amadurecidos *in vivo*. Além disso, ao avaliar a cor dos frutos observa-se diferença entre maturação pós-colheita e *in vivo*, morangos maturados *in vivo* apresentaram valores de ângulo Hue mais próximos a 0° (28°), indicando coloração mais próxima de vermelho (Figura 22). Estes resultados indicam que a maturação pós-colheita de morango é uma maturação não usual (Figura 28).

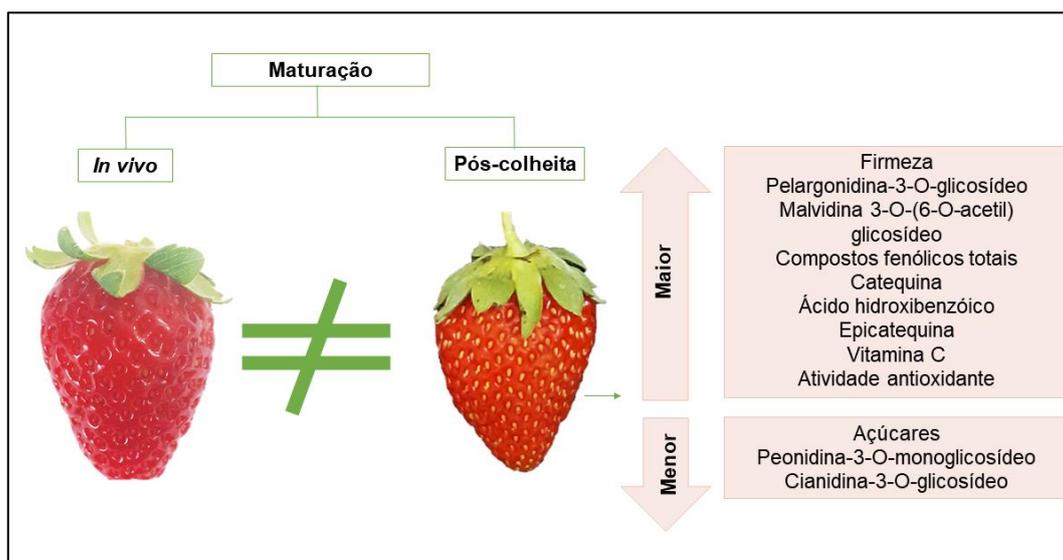


Figura 28 – Principais diferenças observadas na maturação pós-colheita de morangos em comparação a maturação *in vivo*.

De acordo com Chen et al., (2016), o aumento da coloração vermelha nessa maturação pós-colheita se deve a um déficit hídrico gerado pela retirada do fruto da planta. Este autor realizou um experimento onde frutos foram colhidos com pedúnculo e estes pedúnculos foram acoplados a um frasco contendo água, água com ABA ou nenhuma solução. Após 4 dias, observaram que os frutos mantidos sem solução aumentaram a coloração vermelha e o conteúdo de

antocianinas, comparados com os que foram mantidos em água. Os frutos que foram mantidos na solução com ABA também amadurecem, porém menos, indicando redução do efeito do déficit hídrico, uma vez que está bem consolidado o conhecimento de que este fitohormônio apresenta papel na resposta a este estresse. Corroborando com esses dados, no presente estudo, além do aumento de coloração vermelha, e do conteúdo de antocianinas e vitamina C nos frutos maturados após a colheita, houve também aumento de ABA-GE, PA e DPA (Figura 27), além de aumento de prolina (Tabela 8), que são considerados marcadores de estresse, quando comparado aos frutos maturados *in vivo*.

Interessantemente, esta maturação não usual é afetada pela aplicação pós-colheita de ABA. A aplicação deste fitohormônio resulta no aumento do conteúdo de ABA e ABA-GE nas frutas (Figura 21), mas o aumento do conteúdo destes compostos não acarreta em alteração de cor, ou no conteúdo total de antocianinas, que permanecem similares ao controle durante os cinco dias de armazenamento (Figura 17). Apesar disso, resulta no aumento do conteúdo de prolina, sugerindo que os frutos estejam respondendo a um efeito estressor. Além disso, induziu um aumento no conteúdo de epicatequina (Tabela 6). Perin et al., (2019) mostraram aumento do conteúdo de ABA e de compostos fenólicos em morangos sob estresse hídrico, especificadamente a epicatequina apresentou aumento de 15 %, sugerindo que este composto esteja envolvido na resposta ao ABA.

Por outro lado, a aplicação do inibidor de ABA (NDGA), apesar de não ter afetado significativamente o conteúdo total de ABA nas células (Figura 21), resulta em redução no conteúdo de açúcares (Figura 20), que possivelmente refletiu na redução dos sólidos solúveis totais (Figura 16), e também leva a uma redução no conteúdo de antocianinas totais (especialmente devido à redução de Pg-3-Glc e Pg-3-MalGlc), vitamina C (Figuras 18 e 19), menor conteúdo de ácido galacturônico (Tabela 7), o qual está relacionado com a solubilização e despolimerização de pectina (MOYA-LEÓN, 2019) e, portanto, desacelerando o processo de maturação. Resultados similares foram observados por Li et al. (2015) que relataram aumento de antocianinas e vitamina C em frutos de morango que foram injetados com uma solução de ABA e redução dos mesmos compostos em frutos que foram injetados com NDGA, na pré-colheita. Da mesma forma, Jia et al. (2013) ao aplicarem NDGA em frutos de morango na

pré-colheita observaram redução no conteúdo de ABA e conseqüente redução no conteúdo de sacarose e antocianinas. Além disso, observaram inibição da expressão da maioria dos genes associados ao processo de amadurecimento (*FaPG1*, *FaCHS*, *FaPAL*), os quais foram induzidos pela aplicação de sacarose, sugerindo, portanto, uma ação sinérgica entre ABA e sacarose. Desta forma, o presente estudo reforça a atuação do ABA na indução de antocianinas por uma via dependente de sacarose.

Uma vez que o aumento de antocianinas parece ser dependente de açúcares, alguns estudos tem buscado analisar o efeito da aplicação direta destes nos morangos. Jia et al. (2013) observaram que a injeção de 50 mM de sacarose em frutos *in vivo* no estágio verde grande, acelera o amadurecimento de morangos, mostrado pelo aumento do conteúdo de antocianinas, sendo que, após oito dias os frutos tratados com sacarose apresentaram coloração totalmente vermelha, enquanto que os frutos que receberam a mesma concentração de manitol, ainda estavam brancos. Mais recentemente, Li et al. (2019) verificaram que morangos submetidos a uma solução de 50 mM de sacarose apresentam maiores teores de glicose (13,8 %) e frutose (23,1 %), retardam a redução do teor de sacarose nos frutos e resultam em frutos com maior acúmulo de pelargonidina-3-O-glicosídeo, pelargonidina-3-O-rutinosídeo, pelargonidina 3-malonilglicosídeo e pelargonidina 3-metilmalonoglicosídeo, comparado aos frutos tratados com manitol.

De fato, no presente estudo, os frutos que foram submetidos à aplicação de sacarose mostraram maior conteúdo de açúcares (glicose e frutose em S3) SST, antocianinas (total e individuais), compostos fenólicos, vitamina C, e atividade antioxidante quando comparados ao manitol. Conforme a Figura 5, podemos observar que ao longo dos dias de armazenamento os tratamentos com sacarose aparentemente aceleraram o incremento de coloração, o qual foi mais evidente no terceiro dia (S3>S2>S1>C>M), sendo este efeito mais pronunciado do que o observado quando da aplicação de ABA (Figura 15). No entanto, ao avaliar a coloração no quinto dia de armazenamento não foram observadas diferenças significativas neste parâmetro entre os tratamentos avaliados (Figura 16 e 17). Efeito similar foi mostrado no estudo de Li et al., (2019), onde frutos tratados com sacarose (50 mM) apresentaram maior conteúdo de cianidinas (cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-malonilglicosídeo) no

segundo dia, porém no quarto dia não houve diferença significativa em relação aos frutos que receberam manitol. Mostrando que a aplicação de sacarose pode ter um efeito de acelerar o acúmulo de antocianinas, incrementando a cor durante os primeiros dias de armazenamento.

Além disso, parece que o efeito da sacarose em induzir estes compostos é dependente de ABA, PA e DPA, que também foram maiores nos tratamentos com sacarose comparados com o manitol (Figura 13). Comportamento similar foi observado por Jia et al., (2011), ao injetar manitol em morangos ainda ligados à planta mãe, o conteúdo de ABA resultou menor em comparação com os frutos que receberam a mesma dose de sacarose e conseqüentemente os frutos tratados com manitol permaneceram brancos, enquanto que os tratados com sacarose já estavam vermelhos. No presente estudo, houve também maior porcentagem de frutos maduros quando da aplicação de sacarose, comparado ao manitol, especialmente após três dias de armazenamento (Figura 5). Estes resultados indicam uma aceleração do processo de maturação pós-colheita de frutos de morango utilizando sacarose.

Quando comparados aos frutos tratados com água (controle), é possível observar uma maior progressão de cor aos 3 dias pós-armazenamento nos frutos que receberam sacarose, embora este efeito tenha sido menor do que o comparado ao tratamento com manitol (Figura 5). Além disso, os frutos que receberam sacarose apresentaram maior conteúdo de açúcares (glicose, frutose e sacarose), comparado a ambos controles (com água ou com manitol) (Figura 12), indicando que de fato houve efeito da aplicação desse açúcar. Porém, mostraram igual conteúdo de antocianinas (Figura 8) e grau Hue (Figura 7) similar ao de frutos que receberam apenas água, sendo que apenas o conteúdo de PA foi reduzido, sem modificação no conteúdo de ABA após cinco dias de armazenamento (Figura 13). Estes resultados indicam que o efeito da sacarose no processo de maturação ocorre apenas nos primeiros dias, não sendo mais evidenciado após cinco dias de armazenamento.

Além disso, estes resultados sugerem que o manitol resulta em inibição deste processo, sendo considerado, portanto, um regulador negativo. A aplicação de manitol resultou na redução do conteúdo de antocianinas, vitamina C e atividade antioxidante (Figuras 8, 10 e 11), o que parece ter sido dependente da redução de ABA, PA e DPA (Figura 12), ademais resultou em menor conteúdo

de ácido galacturônico nos morangos (Tabela 5). Resultados, portanto, muito semelhantes ao da aplicação de NDGA. Interessantemente esse efeito surtiu na redução dos SST nos frutos que receberam manitol e NDGA (Figuras 7 e 16). Uma vez que os frutos não foram mantidos nessas soluções, apenas foram embebidos por cinco minutos e secados antes de serem armazenados, é possível que todos tenham respondido ao déficit hídrico ocasionado pela retirada da planta-mãe, porém, o tratamento com manitol ou S3 tenha afetado a osmolaridade celular, tornando a relação H_2O/SST maior e, por consequência, reduzido o efeito de déficit hídrico, desacelerando a maturação pós-colheita. Neste contexto, cabe ressaltar que o tratamento com manitol foi o que apresentou maiores teores de prolina nos frutos (Tabela 9).

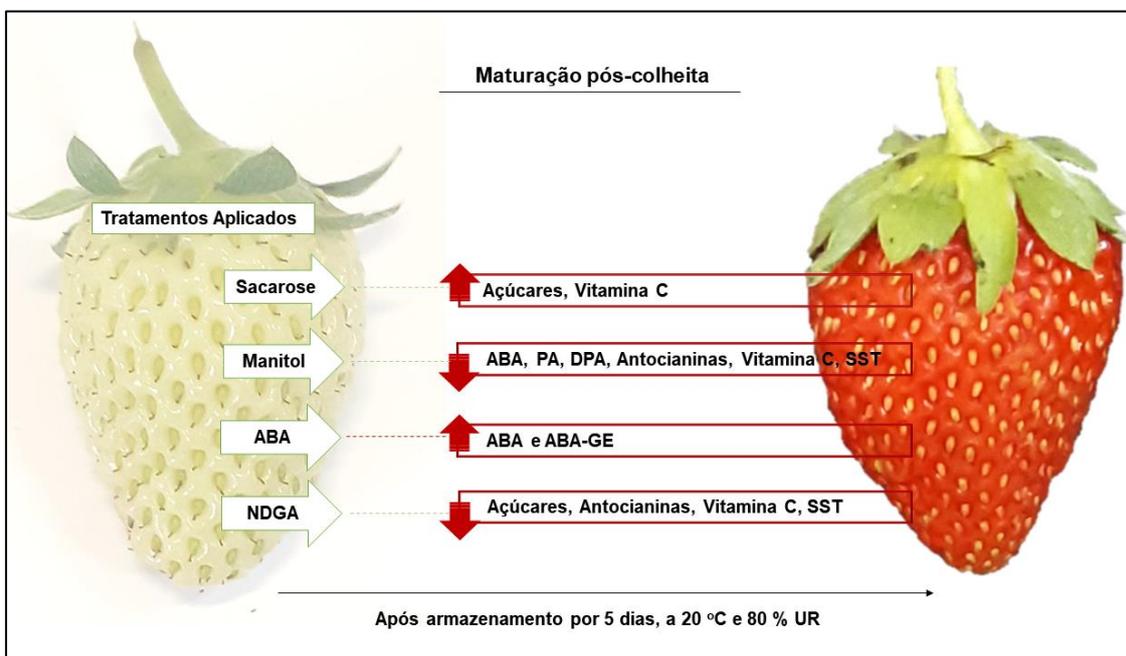


Figura 29 – Principais efeitos observados em morangos armazenados durante 5 dias a 20 °C e 80% de umidade relativa (UR), após a aplicação dos tratamentos com sacarose (S1, S2 e S3), manitol (M), ABA (ácido abscísico) ou NDGA (nordihidroguaiarético). ABA: ácido abscísico; ABA-GE: ABA-glicosil éster; PA: ácido faseico; DPA: ácido dehidrofaseico; SST: conteúdo de sólidos solúveis totais.

8 Considerações finais

Os resultados obtidos nesse estudo mostraram que frutos de morango retirados da planta no estágio branco e armazenados durante cinco dias sob condições controladas apresentaram maturação atípica, com perfil de antocianinas, aminoácidos e conteúdo de açúcares distinto da maturação *in vivo*.

A aplicação pós-colheita de manitol e NDGA atrasou a maturação. Esse atraso da maturação dos frutos tratados com manitol parece ser dependente de redução de ABA, PA, DPA, uma vez que esse tratamento resultou em frutos com menor acúmulo de antocianinas e vitamina C. Além disso, a aplicação de NDGA resultou em frutos com menor conteúdo de antocianinas, vitamina C, açúcares e SST.

A aplicação pós-colheita de sacarose aumentou os teores de açúcares (glicose e frutose), enquanto que morangos tratados com ABA, resultaram em frutos com maior acúmulo de fitormônio ABA e de sua forma glicosilada (ABA-GE).

Os frutos submetidos aos tratamentos pós-colheita, especialmente os tratados com sacarose, apresentaram maior número de frutos vermelhos aos 3 dias de armazenamento, indicando um efeito de aceleração do amadurecimento. Aos 5 dias, frutos tratados com ABA e sacarose não apresentaram teor de antocianinas e cor superior ao controle, aparentemente, o controle apresentou efeito similar pois todos os tratamentos estavam sob estresse hídrico, o qual induz o acúmulo desses compostos. Os precedentes da literatura reforçam esta conclusão. Mais estudos sobre os mecanismos moleculares e as vias de sinalização que levam ao acúmulo de antocianina induzida pela sacarose durante esse amadurecimento pós-colheita são necessários.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, 53, p.2039–2055, 2002.
- AABY, K.; MAZUR, S.; NES, A.; SKREDE, G. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: composition in 27 cultivars and changes during ripening. **Food Chemistry**, 132, p. 86–97, 2012.
- AABY, K., & REMBERG, S. F. Strawberry Phenolics and Impact of Ripening. **Processing and Impact on Active Components in Food**, p. 157-164, Elsevier, 2015.
- ALMEIDA, J.R.M.; D'AMICO, E.; PREUSS, A.; CARBONE, F.; DE VOS, C.H. R.; DEIML, B.; MOURGUES, F.; PERROTTA, G.; FISCHER, T.C.; BOVY, A.G.; MARTENS, S.; ROSATI, C. Characterization of major enzymes and genes involved in flavonoid and proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.465, p.61–71, 2007.
- AVIGDORI-AVIDOV H. **Strawberry**. Handbook of fruit set and development, CRC Press, Boca Raton, S. P. Ed. Monselise, p. 419-448, 1986.
- AYUB, R. A.; BOSETTO, L.; GALVÃO, C. W.; ETTO, R. M.; INABA, J. LOPES, P. Z. Abscisic acid involvement on expression of related gene and phytochemicals during ripening in strawberry fruit *Fragaria x ananassa* cv. Camino Real. **Scientia Horticulturae**. v. 203, p. 178-184, May 2016.
- BASSON, C. E.; GROENEWALD, J. H.; KOSSMANN, J.; CRONJÉ, C. BAUER, R. Sugar and acid-related quality attributes and enzyme activities in strawberry fruits: Invertase is the main sucrose hydrolysing enzyme. **Food Chemistry**. v. 121, n. 4, p. 1156-1162, Augst. 2010.
- BATISTA, F. B. **Estudo da Influência das doses de radiação UV-C nas propriedades físico-químicas e sensorial instrumental de morango**. Dissertação (mestrado)- Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 77p. 2017.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. .; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.
- CANTILLANO, R. F. F. Manuseio pós-colheita. In: ANTUNES, L. E. C.; JÚNIOR, C. R.; SCHWENGBER, J. E. **Morangueiro**. Brasília, DF: Embrapa, 2016, p. 509-533.

DE VOS, R. C.; MOCO, S.; LOMMEN, A.; KEURENTJES, J. J.; BINO, R. J.; HALL, R. D. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Nature protocols**, v. 2, n. 4, p. 778–791, 2007.

CHEN, J. LIU, D.J.; JIANG, Y.; ZHAO, M.; SHAN, W.; KUANG, J.; LU, W. Molecular characterization of a strawberry FaASR Gene in relation to fruit ripening. **Plos One**, 6, p.24649, 2011.

CHEN, J. ; MAO, L.; MI, H.; LU, W.; YING, T.; LUO, Z Involvement of abscisic acid in postharvest water-deficit stress associated with the accumulation of anthocyanins in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v. 111, p. 99-105, January, 2016.

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

ERKAN, M.; WANG, M. Y.; WANG, C. Y. (2008). Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 48, p.163-171.

FAO. **FAOSTAT**: production: crops, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Acesso em: 18 maio 2019.
FORNEY, C. F. KALT, W. JORDAN, A. The composition of strawberry aroma is influenced by cultivar, maturity, and storage. **Hort Science**, v.35, p.1022-1026, 2000.

FORNEY, C. F.; KALT, W.; JORDAN, A. The composition of strawberry aroma is influenced by cultivar, maturity, and storage. **Hort Science**, v.35, p.1022-1026, 2000.

GIL, M.I. ; HOLCROFT, D.; KANDER, A. A. Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 45, p.62-1667, 1997.

GONÇALVES, M. A.; PICOLOTTO, L.; COCCO, C.; VIGNOLO, G. K.; ANTUNES, L. E. C Crescimento e Desenvolvimento. In: ANTUNES, L. E. C.; JÚNIOR, C. R.; SCHWENGBER, J. E. **Morangueiro**. Brasília, DF: Embrapa, 2016, p. 56-58.

HOFFMANN, J. F.; CRIZEL, R. L.; MADRUGA, N. A. de; BARBIERI, R. L.; ROMBALDI, C. V.; CHAVES, F. C Flavan-3-ol, flavanone, flavone, flavonol, phenolic acid, and stilbene contents of four *Butia* species (Arecaceae). **Frutas** v. 73, p. 125-137, mar/abr 2018.

HOLTON, T. A.; CORNISH, E.C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. **Plant Cell**, v.7, p. 1071-1083, 1995.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de**

Alimentos. 4^a Ed., 1^a Ed. Digital. São Paulo, 2008.

JEONG S.T.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KOBAYASHI, S.; ESAKA, M. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. **Plant Science.** v.167, p. 247–252, 2004.

JIA, H.F.; CHAI, Y.M.; LI, C.L.; LU, D.; LUO, J.J.; QIN, L.; SHEN, Y.Y. Abscisic acid plays an important role in the regulation of strawberry fruit ripening. **Plant Physiology.** 157, p.188–199, 2011.

JIA, H.; WANG, W.; SUN, M.; LI, B.; HAN, Y.; ZHAO, Y.; LI, X.; DING, N.; LI, C.; JI, W.; JIA, W. Sucrose functions as a signal involved in the regulation of strawberry fruit development and ripening. **New Phytologist,** 198, p.453–465, 2013.

JIA, H., XIE, Z., WANG, C., SHANGGUAN, L., QIAN, N., CUI, M., LIU, Z., TING ZHENG, T., WANG, M., FANG, J. Abscisic acid, sucrose, and auxin coordinately regulate berry ripening process of the Fujiminori grape. **Funct Integr Genomics,** 2017.

KAFKAS, E.; KOSAR, M.; PAYDAS, S.; KAFKAS, S.; BASER, K. H. C.; Quality characteristics of strawberry genotypes at different maturation stages. **Food Chemistry.** v.100, 3, p. 12229-1236, 2007.

LEE, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in wanberries. **Hotscience,** v.7, n.1, p. 83-84, 1972.

LI, D.; LI, L. LUO, Z. MOU, W.; MAO, L. YING, T Comparative Transcriptome Analysis Reveals the Influence of Abscisic Acid on the Metabolism of Pigments, Ascorbic Acid and Folic Acid during Strawberry Fruit Ripening. **Plos One.** Jun. 2015.

LI, D. H.; ZHANG, X.; XU, Y.; LI, L.; AGHDAM, M. S. LUO, Z. Effect of exogenous sucrose on anthocyanin synthesis in postharvest strawberry fruit. **Food Chemistry.** Volume 289, 15. Pages 112-120, 2019.

LI, Q.; JI, K.; SUN, Y.; LUO, H.; WANG, H.; LENG, P. The role of FaBG3 in fruit ripening and *B. cinerea* fungal infection of strawberry. **The Plant Journal.** V. 76, 1. p. 24-35, 2013.

LISEC, J.; SCHAUER, N.; KOPKA, J.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A.R. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. **Nature Protocols.** v.1, p. 387- 396, 2006.

MADAIL, J. C. M. Panorama econômico. In: ANTUNES, L. E. C.; JÚNIOR, C. R.; SCHWENGBER, J. E. **Morangueiro.** Brasília, DF: Embrapa, 2016, p. 17-32.
MANIKEN, K.K.; SÖDERLING, E. A quantitative study of mannitol, sorbitol, xylitol and xylose in wild berries and commercial fruits. *Journal of Food Science,* v.45, p.367-371, 1980.

MANIKEN, K. K.; SÖDERLING, E. A quantitative study of mannitol, sorbitol, xilitol and xylose in wild berries and commercial fruits. **Journal of Food Science**, v.45, p.367-371, 1980.

MAINARDI, J. A.; PURGATTO, E.; VIEIRA JUNIOR, A.; BASTOS, W. A.; CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O.; LAJOLO, F. M. The effects of ethylene and 1-MCP on gene expression and activity profile of alpha-1,4-glucan-phosphorylase during banana ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, p.7294-7299, 2006.

MYRESIOTIS, C.K.; KARAOGLANIDIS, G.S.; TZAVELLAKLONARI, K. Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, hydroxyanilide, benzimidazole, and dicarboximide fungicides. **Plant Disease**, v.91, n.4, p. 407–13, 2007.

MOYA-LEÓN, M. A.; MATTUS-ARAYA, E.; HERRERA, R. Molecular Events Occurring During Softening of Strawberry Fruit. **Frontiers in Plant Science**. 10, 615, 2019.

MOU, W.; LI, D.; BU, J.; JIANG, Y.; KHAN, Z. U.; LUO, Z.; MAO, L.; YING, T. Comprehensive Analyzis of ABA Effects on Ethylene Biosynthesis and |Signaling during Tomato Fruit Rpening. **Plos One**. v.11, 4, 2016.

Nadas A , Olmo M , García JM . Growth of *Botrytis cinerea* and strawberry quality in ozone-enriched atmospheres. **Journal of Food Science**. v. 68, p.1798–1802, 2003.

NAMBARA, E.; AND MARION-POLL, A. Abscisic acid biosynthesis and catabolism. **Annual Review of Plant Biology**. v.56, p. 165–185, 2005.

KOSAR M.; KAFKAS E.; PAYDAS S.; BASER K.H.C. Phenolic composition of trawberry genotypes at different maturation stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, p.1586–1589, 2004.

OLSSON, M.E.; EKVALL, J.; GUSTAVSSON, K.E., NILSSON, J., PILLAI, D., SJO-HOLM, I.; et al. Antioxidants, low molecular weight carbohydrates, and totalantioxidant capacity in strawberries (*Fragaria ananassa*): Effects of cultivar, ripening, and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.52, p. 2490-98, 2004.

PALHA, M. G., et al. 2005. **Manual do Morangueiro**. 2005. Edição PO AGRO DE&D n.º 193: Tecnologias de produção integrada no morangueiro visando a expansão da cultura e a reconquista do mercado. Lisboa. p.107, 2005.

PANIAGUA, C.; BLANCO-PORTALES, R.; BARCELÓ-MUÑOZ, M.; GARCÍA-GAGO, J.; WALDRON, K. W.; QUESADA, M. A.; MUÑOZ-BLANCO, J. MERCADO, J. A. Antisense down-regulation of the strawberry β -galactosidase gene *Fa β Gal4* increases cell wall galactose levels and reduces fruit softening. **Journal of Experimental Botany**. v. 67, 3, p.619-631, Frb. 2016.

PINCEMAIL, J.; KEVERS, C.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J.O.; Dommes. Cultivars, culture conditions and harvest time influence phenolic and ascorbic acid contents and antioxidant capacity of strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Journal Food Science**. v. 77, 2012

PERIN, E. C.; CRIZEL, R. L.; GALLI, V.; MESSIAS, R. S.; ROMBALDI, C. V.; CHAVES, F. C. Extraction and Quantification of Abscisic Acid and Derivatives in Strawberry by LC-MS. **Food Analytical Methods**. v.11, p. 2547-2552, 2018.

PERIN, E. C.; MESSIAS, R. da S.; BOROWSKI, J. M.; CRIZEL, R. L.; SCHOTT, I. B.; CARVALHO, I. R.; ROMBALDI, C. V.; GALLI, V. ABA-dependent salt and drought stress improve strawberry fruit quality. **Food Chemistry**. v. 271, p. 516-526, 15 Jan. 2019.

PERKINS-VEAZIE P. Growth and ripening of strawberry fruit. **Horticultural Reviews**. 17, p. 267–297, 1995.

POSE, S.; KIRBY, A. R.; PANIAGUA, C.; WALDRON, K. W.; MORRIS, V. J.; QUESADA, M. A.; MERCADO, J. A. The nanostructura characterization of strawberry pectins in pectate lyase or polygalacturonase silenced fruits elucidates their role in softening. **Carbohydrate Polymers**. v. 132, 5, p.134-145, nov 2015.

RUS, E. C.; AMAYA, I.; SEVILHA, J. F. S.; BOTELLA, M. A.; VALPUESTA, V. Regulation of L-ascorbic acid content in strawberry fruits. **Journal of Experimental Botany**. v. 62, n. 12, p. 4191-4201, 11 May, 2011.

SILVA, F. L. da; BAILÓN, M. T. E.; ALONSO, J. J. P.; GONZALO, J. C. R.; BUELGA, C. S. Anhocyanin piments in strawberry. **Food Science and Technology**. V. 40, n. 2, 374-382, March, 2007.

SILVA, M.G.; LIMA, J.A.P.; STHEL, M.S.; MARIN, E.; GATTS, C.E.N.; CARDOSO, S.L.; CAMPOSTRINI E.M.G.; CAMPOS, A.C.; MASSUNAGA, M.S.O.; VARGAST, H. Ethylene and CO₂ emission rates in tropical fruits investigated by infrared absorption techniques. **Analytical Sciences**. v. 17 (Special), 2001.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J.A.JR., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituent of *Prunus domestica* L.- The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

TAIZ, L; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. Ed Porto alegre: Artmed, 2017.

VIGHI, I. L.; CRIZEL, R. L.; PERIN, E. C.; ROMBALDI, C. V.; GALLI, V. Crosstalk During Fruit Ripening and Stress Response Among Abscisic Acid, Calcium-Dependent Protein Kinase and Phenylpropanoid. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v.38, p. 99-116, 2019.

VINCI, G.; ROT, F.; MELE, G. Ascorbic acid in fruits: a liquid chromatographic investigation. **Food Chemistry**, 53, P. 211-214, 1995.

WHEELER, S.; LOVEYS, B.; FORD, C.; DAVIES, C. The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of *Vitis vinifera* L. berry ripening by abscisic acid. **Australian Journal of Grape and Wine Research**. v. 15, p. 195–204, 2009.

SHIN, Y.; RYU, J.; LIU, R. H.; NOCK, J. F.; WATKINS, C. B. Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v. 49, 2, 201-209, 2008.

ZHANG, M.; LENG, P.; ZHANG, G.; LI, X. Cloning and functional analysis of 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) genes encoding a key enzyme during abscisic acid biosynthesis from peach and grape fruits. **Journal of Plant Physiology**. v.166, 12, 2009.

ZHAO, C.; HUA, L. N.; LIU, X. F.; LI, Y. Z.; SHEN, Y. Y.; GUO, J. X. Sucrose synthase *FaSS1* plays an important role in the regulation of strawberry fruit ripening. **Plant Growth Regulation** v. 81, n. 1, p. 175-181, January, 2017.