

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

Ácido abscísico (ABA) e radiação UV-C na maturação pós-colheita de frutos de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.)

Miguel Telesca Coelho

Pelotas, 2022

Miguel Telesca Coelho

Ácido abscísico (ABA) e radiação UV-C na maturação pós-colheita de frutos de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.)

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.

Orientadora: Prof^a. Dra. Vanessa Galli

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C672a Coelho, Miguel Telesca

Ácido abscísico (ABA) e radiação UV-C na maturação pós-colheita de frutos de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) / Miguel Telesca Coelho ; Vanessa Galli, orientadora. — Pelotas, 2022.

85 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Pós-colheita. 2. Estresse abiótico. 3. Amadurecimento. 4. Não-climatérico. 5. *Fragaria x ananassa* Duch. I. Galli, Vanessa, orient. II. Título.

CDD : 634.75

Miguel Telesca Coelho

Ácido abscísico (ABA) e radiação UV-C na maturação pós-colheita de frutos de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.)

Data da Defesa: 01/04/2022

Banca examinadora:

Prof. Dr. César Rombaldi. Doutor em Biologia Celular Molecular Vegetal pela Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse.

Dra. Rosane Lopes Crizel. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof^a. Dra. Ellen Cristina Perin. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

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

Dedico este trabalho ao meu filho, PEDRO KRONING
TELESCA, e aos meus pais, MARIA JOAQUINA
TELESCA COELHO e JOSÉ LUIZ COELHO.

Agradecimentos

Aos meus pais, por todo suporte, carinho, amor, incentivo, motivação em todos os momentos da minha vida. Gratidão eterna.

Ao meu filho, Pedro Kroning Telesca, pelos momentos felizes, por cada sorriso que serviu de motivação para seguir em frente.

Á minha esposa, Eliana Kohler Kroning, pelo apoio incondicional, incentivo em todos os momentos, pelo carinho, amor, companheirismo durante toda caminhada. Muito obrigado.

Á minha família por todo suporte para que fosse possível de realizar o mestrado e

Á minha orientadora, Prof^a Dra. Vanessa Galli, pela dedicação, comprometimento, ensinamentos durante todo esse período, por não medir esforços e sempre estar disponível em ajudar. Muito obrigado pela paciência e pela cordialidade na orientação. Gratidão e admiração eternas.

Ao Prof. Dr. César Rombaldi, pelos ensinamento e incentivo em retornar ao mestrado. Muito obrigado.

Á Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e ao Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de cursar o Mestrado.

Á todos professores do PPGCTA que de alguma forma contribuíram para minha formação.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-Grandense, em especial ao Campus Pelotas – Visconde da Graça, pela oportunidade e incentivo à capacitação dos servidores.

Á todos os professores da área de Alimentos, do Campus Pelotas – Visconde da Graça, pela amizade, apoio e incentivo à capacitação.

Aos meus colegas de laboratório pelo convívio, amizade, apoio, incentivo e por toda ajuda para que fosse possível a realização do meu trabalho.

Aos meus amigos, pela amizade, incentivo e apoio se sempre.

“Os circuitos de consagração social serão tanto mais eficazes, quanto maior a distância social do objeto consagrado.” (Pierre Bourdieu)

Resumo

COELHO, Miguel Telesca. **Ácido abscísico (ABA) e radiação UV-C na maturação pós-colheita de frutos de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.)**. 2022. 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, 2022.

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch.), pseudofruto da família das Rosaceae, é muito apreciado pelas suas características sensoriais, como a coloração vermelho brilhante e sabor, além da presença de compostos antioxidantes. Por ser um fruto não-climatérico, é colhido na plena maturação, porém neste estágio apresenta textura frágil, o que o torna susceptível a danos mecânicos, desenvolvimento de fungos, acarretando diminuição da qualidade e perdas pós-colheita. Uma das alternativas para tentar evitar esses problemas é colher os frutos antes da plena maturação; porém, neste caso, é necessário promover a indução da maturação na pós-colheita. Estudos tem relatado que o fitormônio ácido abscísico (ABA), pode estar envolvido no processo de maturação de frutos de morango e que a utilização de radiação ultravioleta (UV-C) pode retardar a perda da firmeza e aumentar o teor de compostos antioxidantes. Nesse sentido, objetivou-se avaliar o efeito do tratamento pós-colheita com aplicação de radiação UV-C e ABA no acúmulo de compostos relacionados ao processo de amadurecimento em frutos de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) colhidos antes da plena maturação. Os frutos foram colhidos com 75% da superfície vermelha. Foram realizados quatro tratamentos (Controle C – sem tratamento; UV-C; ABA; ABA+UV-C). Os frutos foram tratados com solução de 1 mmol de ABA e com duas doses de 2 kJ m⁻² de radiação UV-C (aplicadas no primeiro e segundo dia) e armazenados por quatro dias, a 20°C e 80% de umidade relativa, e comparados com frutos maturados *in vivo* (ligados à planta). Todos os tratamentos pós-colheita apresentaram evolução da cor, porém nenhum deles atingiu a coloração ou o teor de sólidos solúveis totais ou de compostos fenólicos dos frutos maturados *in vivo*. O armazenamento (controle C) não induziu a síntese de ABA, ABA glicosil ester (ABA-GE), ácido faseico (PA) ou ácido dehidrofaseico (DPA) em comparação com o controle C 75%, e resultou na diminuição da firmeza dos frutos em todos os tratamentos. Os frutos tratados com UV-C e ABA+UV-C apresentaram menor ângulo a*, caracterizando um atraso no acúmulo de antocianinas, porém não houve diferença no teor e no perfil de antocianinas entre os tratamentos. Diferente do esperado, a firmeza não foi afetada nestes tratamentos com UV-C. Apesar disso, os frutos destes tratamentos mantiveram valores similares aos teores de ácido L-ascórbico dos frutos C e maturados *in vivo*, sugerindo que a radiação UV-C atuou na preservação deste composto. O tratamento com ABA resultou em acúmulo maior de ABA, ABA-GE e PA, comparado aos demais tratamentos, sugerindo que esse fitormônio afetou o metabolismo dos frutos, a exemplo dos compostos fenólicos; ABA, ABA-GE e PA foram os responsáveis pela separação dos tratamentos ABA e ABA+UV-C dos demais tratamentos na análise de componentes principais (PCA). O tratamento ABA+UV-C apresentou um comportamento intermediário entre os tratamentos ABA e UVC, sendo agrupado mais próximo ao tratamento com ABA na análise de PCA por ter apresentado maiores teores de ABA, ABA-GE, PA e DPA do que os tratamentos sem aplicação de ABA. Concluiu-se que a maturação pós-colheita de frutos de morango é diferente da maturação *in vivo*; que o acúmulo de ABA e seus derivados nos tratamentos que receberam ABA exógeno

alterou o metabolismo dos frutos, mas não resultou na indução esperada de antocianinas; que a aplicação de UV-C pode ser interessante para manter os níveis de ácido L-ascórbico nos frutos e que a ação combinada de ABA+UV-C resultou em efeitos combinados destes dois tratamentos.

Palavras chave: Pós-colheita. Estresse abiótico. Amadurecimento. Não-climatérico. Fitormônio. *Fragaria x ananassa* Duch.

Abstract

COELHO, Miguel Telesca. **Absciscic acid (ABA) and UV-C radiation on postharvest ripening of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* Duch.)**. 2022. 85f. Dissertation (Master Degree in Food Science and Technology) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.), a pseudofruit of the Rosaceae family, is highly appreciated for its sensory characteristics, such as its bright red color and flavor, in addition to the presence of antioxidant compounds. As it is a non-climacteric fruit, it is harvested at full maturity, but at this stage it has a fragile texture, which makes it susceptible to mechanical damage, fungal development, resulting in decreased quality and post-harvest losses. One of the alternatives to avoid these problems is to harvest the fruits before being fully ripe; however, in this case, it is necessary to promote the induction of post-harvest ripening. Studies have reported that the phytohormone absciscic acid (ABA) may be involved in the ripening process of strawberry fruits and that the use of ultraviolet radiation (UV-C) can delay the loss of firmness and increase the content of antioxidant compounds. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of post-harvest treatment of UV-C and ABA on the accumulation of compounds related to the ripening process in strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* Duch.) harvested before full maturation. The fruits were harvested with 75% red surface. Four treatments were performed (Control C – no treatment; UV-C; ABA; ABA+UV-C). The fruits were treated with 1 mmol ABA solution and two doses of 2 kJ m⁻² of UV-C radiation (applied on the first and second days) and stored for four days at 20°C and 80% relative humidity; and compared with in vivo ripen (plant-attached) fruits. All post-harvest treatments showed color evolution, but none of them reached the color or the total soluble solids or phenolic compounds content of the fruits ripened in vivo. Storage (control C) did not induce the synthesis of ABA, ABA glycosyl ester (ABA-GE), phaseic acid (PA) or dehydrophaseic acid (DPA) compared to control C 75%, and resulted in reduced fruit firmness in all treatments. The fruits treated with UV-C and ABA+UV-C had a lower a* angle, characterizing a delay in the accumulation of anthocyanins, but there was no difference in the content and profile of anthocyanins between treatments. Unlike expected, firmness was not affected in these UV-C treatments. Despite this, the fruits of these treatments showed values similar to the L-ascorbic acid contents of the C 75% and C 100% fruits, suggesting that UV-C radiation toward the preservation of this compound. The treatment with ABA resulted in greater accumulation of ABA, ABA-GE and PA, compared to the other treatments, suggesting that this phytohormone affected the metabolism of the fruits, such as phenolic compounds; ABA, ABA-GE and PA were responsible for separating the ABA and ABA+UV-C treatments from the other treatments in the principal component analysis (PCA). The ABA+UV-C treatment showed an intermediate behavior between the ABA and UVC treatments, being grouped closer to the ABA treatment in the PCA analysis because it presented higher levels of ABA, ABA-GE, PA and DPA than the treatments without ABA application. In conclusion, the postharvest maturation of strawberry fruits is different from the in vivo maturation; the accumulation of ABA and its derivatives in treatments that received exogenous ABA altered fruit metabolism, but did not result in the expected induction of anthocyanins; the application of UV-C may be interesting to maintain the levels of L-ascorbic acid in the fruits; and the combined action of ABA+UV-C resulted in combined effects of these two treatments.

Keywords: Post-harvest. Abiotic stress. Maturation. Non-climacteric. Phytohormone.
Fragaria x ananassa Duch.

Lista de Abreviaturas e Siglas

| | |
|-----------|---|
| 4CL | Enzima p-coumarato ligase |
| AAO | Enzima aldeído oxidase |
| ABA | Ácido Abscísico |
| ABA-GE | Enzima ABA-glicosil éster |
| ABA-GS | Enzima ABA-glicosil éter |
| ABA-GTase | Enzima ABA-glicosiltransferase |
| ANR | Enzima antocianidina redutase |
| ANS | Enzima antocianidina sintase |
| AsA | Ácido L-ascórbico |
| BG | Enzima β -glucosidase |
| BOD | <i>Biochemical Oxygen Demand</i> |
| C4H | Enzima cinamato-4-hidroxilase |
| CHI | Enzima chalcona isomerase |
| CHS | Enzima chalcona sintase |
| CYP707A | Enzima ABA-8-hidroxilase |
| DFR | Enzima dihidroflavonol-4-redutase |
| DPA | ácido dehidrofaseico |
| F3H | Enzima flavonona-3-hidroxilase |
| FAL/PAL | Enzima fenilalanina amônia liase |
| FLS | Enzima flavonol sintase |
| GT | Enzima β -glicosiltransferase |
| HPLC | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>) |
| LAR | Enzima leucoantocianidina redutase |
| MS | Espectrometria de massas (do inglês: <i>mass spectrometry</i>) |
| NCED | Enzima 9-cisepoxicarotenoide dioxigenase |
| NDGA | ácido nordihidroguaiarético |
| NS | Não significativo |
| PA | ácido faseico |
| PCA | Análise de componentes principais (PCA, do inglês <i>Principal Component Analysis</i>) |

| | |
|------------|--|
| PVDF | Fluoreto de polivinilideno |
| SST | Sólidos solúveis totais |
| UFGT | Enzima UDP flavonoide glicosiltransferase |
| UR | Umidade relativa |
| UV-A | Radiação ultravioleta do tipo A |
| UV-B | Radiação ultravioleta do tipo B |
| UV-C | Radiação ultravioleta do tipo C |
| VIP | Variáveis de importância na projeção (VIP, do inglês <i>Variable Importance in Projection</i>) |
| ZEP/AtABA1 | Enzima zeaxantinaepoxidase |

Sumário

| | |
|--|----|
| 1 Introdução | 15 |
| 2 Hipótese | 18 |
| 3 Objetivo geral | 19 |
| 3.1 Objetivos específicos | 19 |
| 4 Revisão Bibliográfica..... | 20 |
| 4.1 O morango (<i>Fragaria x ananassa</i>) | 20 |
| 4.2 Maturação e pós-colheita de morangos | 22 |
| 4.2.1 Processo de maturação dos frutos de morangos..... | 22 |
| 4.2.2 Acúmulo de compostos fenólicos e ác. L-ascórbico no amadurecimento de morango..... | 23 |
| 4.2.3 Compostos fenólicos..... | 24 |
| 4.2.4 Ácido L-ascórbico..... | 26 |
| 4.2.5 Alterações na firmeza da polpa do morango..... | 29 |
| 4.2.6 A pós-colheita de morango | 30 |
| 4.3 Ácido abscísico (ABA) no amadurecimento e pós-colheita de morango..... | 31 |
| 4.4 Luz UV-C no amadurecimento e pós-colheita de morango..... | 36 |
| 5 Material e Métodos..... | 38 |
| 5.1 Material | 38 |
| 5.2 Métodos | 39 |
| 5.2.1 Tratamento com ácido abscísico..... | 39 |
| 5.2.2 Tratamento com UV-C | 40 |
| 5.2.3 Cor, acidez total titulável, pH, sólidos solúveis totais e firmeza de polpa..... | 41 |
| 5.2.4 Compostos fenólicos individuais e antocianinas individuais | 41 |
| 5.2.4.1 Compostos fenólicos individuais | 41 |
| 5.2.4.2 Antocianinas individuais..... | 43 |
| 5.2.5 Ácido L-ascórbico..... | 44 |

| | |
|---|----|
| 5.2.6 Ácido abscísico (ABA), ABA-GE, PA e DPA | 45 |
| 5.3 Análise estatística e quimiometria..... | 45 |
| 6 Resultados | 47 |
| 6.1 Cor, acidez total titulável, pH, sólidos solúveis totais e firmeza de polpa.... | 47 |
| 6.2 Variáveis de qualidade funcional..... | 51 |
| 6.2.1 Compostos fenólicos individuais | 51 |
| 6.2.2 Antocianinas individuais..... | 56 |
| 6.2.3 Ácido L-ascórbico..... | 57 |
| 6.2.4 Ácido abscísico (ABA), ABA-GE, PA e DPA | 57 |
| 6.2.5 Análise estatística e quimiometria..... | 59 |
| 7 Discussão | 62 |
| 8 Considerações finais..... | 71 |
| 9 Referências bibliográficas | 73 |

1 Introdução

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch.), pseudofruto da família das Rosaceae, doravante chamado fruto, é muito apreciado pelas suas características sensoriais, como a coloração vermelho brilhante e sabor, além de atributos funcionais pela presença de compostos com potencial antioxidante (compostos fenólicos, fenilpropanoides e ácido L-ascórbico). O consumo de alimentos com tais compostos traz benefícios à saúde, pois estão associados à prevenção de algumas doenças (YAN, et al., 2019, AFRIN et al., 2016; ARIZA et al., 2016; GIAMPIERI, et al., 2015; GALLI, et al. 2016).

Recentemente, Koller et al. (2019) realizaram uma pesquisa de revisão sobre as tendências dos estudos sobre morango (período de 1960 a 2016), e concluíram que a maior parte das pesquisas, nesse período, preocupou-se com o valor medicinal do morango, seguido por aspectos fisiológicos, perdas pós-colheita e manejo de pragas e doenças.

Por ser um fruto não-climatérico, deve ser colhido maduro; porém, neste estágio de maturação, apresenta textura macia devido a rápida perda de firmeza, o que o torna susceptível a danos mecânicos, desenvolvimento de fungos (principalmente *Botrytis cinerea*) e degradação dos compostos com atividade biológica, ocasionando a diminuição da qualidade e grandes perdas pós-colheita (ERKAN, et al., 2008; CYBULSKA, et al., 2022).

Uma alternativa para tentar prolongar a vida útil, manter a firmeza, diminuir a possibilidade de danos mecânicos e degradação por fungos, seria colher os frutos de morango antes da plena maturação; porém, neste caso, seria necessário promover a indução da maturação pós-colheita. Estudos tem sugerido que o ácido abscísico (ABA), o qual é um fitormônio, está envolvido no processo de amadurecimento e senescência desses frutos (CHAI et al., 2011, JIA et al., 2011, JI et al., 2012, VIGHI et al. 2019). O tratamento com ABA exógeno pode apresentar um papel importante na regulação de compostos fenilpropanoides e ácido L-ascórbico em frutos de morango, acelerando o acúmulo de antocianinas devido sua ação sobre as enzimas envolvidas na rota metabólica destes compostos e promovendo o aumento no teor de ácido L-ascórbico (JIANG e JOYCE 2003; AYUB et al. 2016; CAO et al., 2010; CHEN et al., 2011; CHEN et al., 2016; JIA et al., 2011; LI et al., 2015). Apesar deste conhecimento, a possibilidade de uso do ABA como indutor da maturação pós-colheita de morangos ainda não está esclarecida.

Outra alternativa que tem sido avaliada para diminuir perdas e manter a qualidade dos frutos por mais tempo é a utilização de radiação UV-C. Alguns trabalhos têm relatado que o tratamento com radiação UV-C em morangos (*Fragaria x ananassa* Duch.), na fase pós-colheita, resulta em efeitos benéficos na preservação e promoção da qualidade dos frutos, incluindo aumento da resistência a *Botrytis cinerea* (NIGRO et al., 2000; FORGES, et al., 2018), estimulação da biossíntese de moléculas bioativas, como antocianinas, ácido L-ascórbico e ésteres aromáticos (SEVERO et al., 2015), um atraso no amaciamento da fruta através da redução da degradação da parede celular (POMBO et al., 2009, ARAQUE, et al., 2018, ARAQUE, et al., 2019) e regulação positiva da expressão dos genes biossintéticos de antocianinas (UBI et al., 2006, ZHOU et al., 2007, GUO e WANG, 2010). Por outro lado, estudos têm avaliado o efeito da radiação UV-C em frutos plenamente maduros e evidenciaram que os efeitos são dose-dependentes e variam de acordo com a frequência de aplicação (ERKAN et al., 2008; COTE, et al., 2013; ARAQUE, et al., 2018; ORTIZ, et al., 2019; ARAQUE, et al., 2019). Por exemplo, Araque et al., (2018) estudaram o efeito de aplicações curtas e repetidas (uma aplicação de 4 KJ m⁻²; duas aplicações de 2 KJ m⁻² e cinco aplicações de 0,8 KJ m⁻²) ao longo do período de armazenamento, de morangos com maturação comercial, e observaram que as aplicações em duas e cinco etapas foram mais eficientes do que a aplicação em uma etapa na manutenção da firmeza, redução da deterioração, apresentaram melhores avaliações sensoriais dos consumidores e estenderam a vida pós-colheita dos frutos.

Uma vez que a literatura aponta que a aplicação de radiação UV-C preserva a firmeza e retarda o acúmulo de cor em morangos na pós-colheita; que os estudos com aplicação de radiação UV-C variam os estádios de maturação dos frutos, doses e frequência de aplicação; que a aplicação de ABA pode influenciar na firmeza e induz a biossíntese de antocianinas, que influenciam na cor; e que o potencial de uso de ABA na indução pós-colheita de morango ainda foi pouco explorada, o presente estudo foi realizado. A partir dessas informações, propomos realizar um trabalho baseado no estudo realizado por Li et al., (2014), utilizando a mesma concentração de ABA, porém a solução será pulverizada sobre os frutos de morango com 75% da superfície avermelhada, a dose de radiação UV-C será fracionada em duas doses de 2 KJ m⁻² cada e as condições de armazenamento serão de 4 dias, a 20°C em umidade relativa de 80% e no escuro.

Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do tratamento pós-colheita com aplicação de radiação UV-C e/ou ácido abscísico (ABA) no acúmulo de compostos relacionados ao processo de amadurecimento em frutos de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) colhidos antes da plena maturação.

2 Hipótese

A maturação de morangos, induzida por tratamentos pós-colheita com ABA e/ou UV-C, difere daquela que ocorre naturalmente na planta.

3 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do tratamento pós-colheita com aplicação de radiação UV-C e/ou ácido abscísico (ABA) no acúmulo de compostos relacionados ao processo de amadurecimento em frutos de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) colhidos antes da plena maturação.

3.1 Objetivos específicos

- Realizar a caracterização dos frutos de morango não tratados e tratados com radiação UV-C e/ou ABA quanto à cor, firmeza, acidez titulável, pH e sólidos solúveis totais;
- Quantificar os teores de ácido L-ascórbico, antocianinas individuais, compostos fenólicos individuais e o teor de ABA e seus derivados em frutos de morango não tratados e tratados com radiação UV-C e/ou ABA;
- Comparar o processo de maturação dos frutos tratados pós-colheita com ABA e/ou UV-C com morangos maturados *in vivo*.

4 Revisão bibliográfica

4.1 O Morango (*Fragaria x ananassa*)

O morangueiro, planta herbácea pertencente ao gênero *Fragaria* da família *Rosaceae*, produz um pseudofruto com grande apreciação frente ao consumidor devido à sua coloração vermelha brilhante, odor característico, textura macia e sabor levemente acidificado (ERKAN *et al.*, 2008). O morango é resultante do crescimento do receptáculo de um conjunto de flores fertilizadas, sendo o fruto verdadeiro o aquênio, também conhecido popularmente como semente (MADAIL, *et al.* 2007). Embora se trate de um pseudofruto, doravante será denominado fruto, pela popularização desta expressão.

Há praticamente quatro décadas, a cultura desempenha uma função sócio-econômica de grande importância, tanto pela diversidade de opções de comercialização quanto por sua elevada rentabilidade. De acordo com os últimos dados publicados pela (FAOSTAT 2020) e relatada por Antunes, *et. al.*, 2021, o Brasil ocupa o 17º lugar entre os maiores países produtores de morango, com uma área reportada de 4.500 hectares, com uma produção anual de 165.440 toneladas.

Segundo Antunes *et al.*, (2021), os estados com maior produção de morango são: Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Paraná, seguidos por Espírito Santo, São Paulo, Santa Catarina, Distrito Federal, Bahia e Rio de Janeiro.

As principais regiões produtoras no Rio Grande do Sul se localizam no Vale do Caí, nos municípios de Estrela, Feliz, Bom Princípio, São Sebastião do Caí, Linha Nova, São José do Hortêncio, além de outros, em menor escala, que produzem a fruta basicamente para o consumo fresco. Na região da Serra Gaúcha, a produção concentra-se nos municípios de Farroupilha, Caxias do Sul, Flores da Cunha e Bento Gonçalves, e na região sul do Rio Grande do Sul, nos municípios de Pelotas – principal produtor e processador da fruta –, Turuçu, São Lourenço do Sul e Canguçu (MADAIL, 2016).

Segundo Antunes e Peres (2013), as principais cultivares plantadas no Brasil são 'Oso Grande' (50%), 'Camarosa' (30%), 'Albion' (6%) e "Aromas" (4%) e outras cultivares como 'Sweet Charlie', 'Tudla', 'Camino Real', 'Ventana', 'Toyonoka', 'Portola', 'Flórida Festival', 'Flórida Fortuna', 'San Andreas', 'Monterey', 'Diamante', 'Dover' e outras (10%).

Em 2016, Carpenedo e colaboradores realizaram a caracterização sensorial de morangos cultivados na região de Pelotas, levando em consideração os seguintes atributos: aparência (cor, uniformidade da cor, brilho e defeitos), sabor (gosto doce, gosto ácido, sabor característico, sabor estranho), textura (maciez e suculência). Para isso, foram utilizadas as cultivares “Camarosa”, “Diamante”, “Aromas”, “Ventana”, “Albion”, “Camino Real”, “Earlibrite” e “Festival” e puderam concluir que as cultivares “Albion”, seguida de “Ventana” e “Camino Real” foram as que apresentaram frutos de qualidade superior as demais, pois apresentaram maior intensidade de sabor característico e maior doçura em relação as outras cultivares. Além disso, mostraram boas características sensoriais ao serem produzidas na região de Pelotas.

O morango é considerado fonte de vitaminas, minerais e compostos antioxidantes (ERKAN *et al.*, 2008). Os principais compostos presentes no morango com este potencial são o ácido L-ascórbico e os compostos fenilpropanoides, incluindo os ácidos fenólicos (*p*-cumárico e caféico), os flavonoides e as antocianinas (principalmente cianidina e pelargonidina). Os antioxidantes são capazes de inibir e/ou retardar a velocidade de reações oxidativas de diversos substratos, de moléculas simples até polímeros complexos (SOARES, 2002; ROESLER *et al.*, 2007; GIAMPIERI *et al.*, 2012).

Vários trabalhos relatam que uma dieta rica em alimentos que contenham estes compostos traz benefícios para a saúde, como atividade antioxidante, cardioprotetora, anticâncer, anti-inflamatória, antidiabetes, antiobesidade, neuroprotetor e antimicrobiano (AFRIN *et al.* 2016; GIAMPIERI *et al.* 2014; GIAMPIERI *et al.* 2015; GIAMPIERI *et al.* 2017; BATTINO *et al.* 2020). Por isso, o estudo detalhado dos fatores que afetam o metabolismo do morango, bem como o conhecimento dos principais mecanismos moleculares envolvidos, são relevantes para desenvolver estratégias visando induzir o acúmulo e evitar a degradação destes compostos com possíveis benefícios terapêuticos na prevenção das doenças humanas citadas anteriormente (BATTINO *et al.* 2020).

4.2 Maturação e pós-colheita de morango

4.2.1 Processo de maturação dos frutos de morango

O amadurecimento de frutos é geralmente definido como o somatório de alterações no metabolismo do tecido, tornando o fruto atraente para o consumo por organismos que auxiliam na liberação e dispersão de sementes. Além disso, é um fenômeno altamente coordenado, geneticamente programado e irreversível (PRASANNA; PRABHA; THARANA, 2007). Segundo Osorio, et al. (2013), as principais alterações associadas ao amadurecimento incluem a perda da cor verde e aumento de pigmentos não fotossintéticos que variam dependendo da espécie e cultivar, amolecimento através da atividade de enzimas da parede celular, aumento no teor de açúcar, declínio no teor de ácidos orgânicos e produção de compostos voláteis que proporcionam o aroma característico.

A fisiologia do amadurecimento de frutos tem sido categorizada como climatérico ou não-climatérico, baseando-se nas diferenças fisiológicas em seus padrões de amadurecimento. Frutos climatéricos, que incluem tomate, banana, manga, maçã e abacate, apresentam um pico bem caracterizado na produção de etileno e atividade respiratória no início do amadurecimento (SEYMOUR et al. 1993; GIOVANNONI, J. J., 2001; ADAMS-PHILLIPS et al. 2004; ZAHARAH et al. 2011). Por outro lado, frutos não-climatéricos como frutas cítricas, uva e morango, não apresentam o mesmo pico de etileno. Nesses frutos as transformações bioquímicas ocorrem quando o fruto ainda está ligado à planta (SEYMOUR et al. 1993; ADAMS-PHILLIPS et al. 2004; TAIZ et al., 2017). Apesar do morango ser classificado como não-climatérico, já foi demonstrado respostas fisiológicas à ação do etileno (JIANG et al., 2001; CHERVIN et al., 2004; LANNETTA et al., 2006; SEVERO et al., 2015).

No morango, após a fecundação, os óvulos se transformam em aquênios que estimulam o engrossamento do receptáculo, convertendo-se numa superfície comestível que é botanicamente denominada como pseudofruto ou comumente chamado de fruto. Os aquênios aderidos nessa superfície comestível são os verdadeiros frutos e são compostos por uma única semente (SILVA, 2007; SCHWARTZ, 2012).

O morango é muito utilizado como modelo de estudos de frutos não-climatéricos, por apresentar tamanho pequeno, facilidade de propagação, estágio vegetativo curto e desenvolvimento rápido (GIOVANNONI, 2001; PERKINS-VEAZIE,

1995). Além disso, apresenta estádios de amadurecimento bem caracterizados, conforme proposto por Jia et al. (2011). Os principais eventos que têm sido estudados durante o amadurecimento de frutos de morango incluem alterações no acúmulo de compostos, especialmente açúcares, compostos fenólicos, ácido L-ascórbico e compostos voláteis, além de mudanças na firmeza da polpa.

4.2.2 Acúmulo de compostos fenólicos e ácido L-ascórbico durante o amadurecimento do morango

Em plantas, o metabolismo pode ser classificado em primário e especializado. O metabolismo primário consiste em um conjunto de processos metabólicos que desempenham funções essenciais para os vegetais, como fotossíntese, respiração e transporte de solutos, sendo que, as moléculas básicas necessárias para o funcionamento da célula são os açúcares, aminoácidos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Já o metabolismo especializado origina compostos que nem sempre são essenciais para o desenvolvimento da planta; porém, possuem grande importância na resposta à ação de predadores, radiação UV, adversidades climáticas, sendo restritos a uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas (HOPKINS & HUNER, 2004; BOURGAUD *et al.*, 2001; TAIZ; ZEIGER, 2004).

O metabolismo especializado se divide em quatro grandes grupos de compostos (Figura 1), sendo eles: terpenos, compostos nitrogenados, compostos fenólicos e compostos organossulfurados (BERGAMASCHI, 2010). Destes grupos, os mais estudados em morango são os compostos fenólicos.

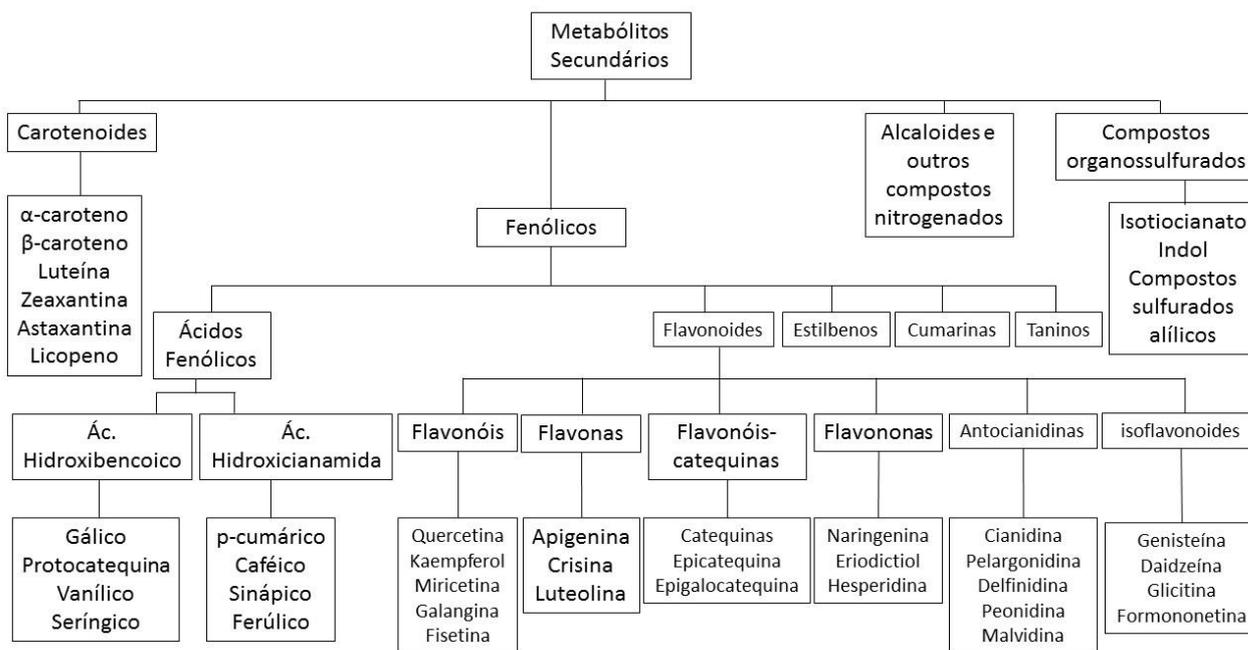


Figura 1. Classificação dos metabólitos secundários.
Fonte: Adaptada de PACHECO, 2015.

4.2.3 Compostos fenólicos

Quimicamente, os compostos fenólicos são substâncias que possuem pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (OH^-) (CASTRO, KLUGE e PERES, 2005). Segundo Volp et al. (2007), os compostos fenólicos são classificados como flavonoides e não flavonoides. Os flavonoides são os pigmentos mais comuns depois da clorofila e dos carotenoides (STALIKAS, 2007) e podem ser divididos em diferentes classes, dentre elas estão flavanóis, flavonóis, flavonas, isoflavonoides, flavononas e antocianinas (COUTINHO *et al.*, 2009).

Em plantas, os compostos fenólicos são sintetizados nas rotas dos fenilpropanoides e flavonoides, a partir da rota do ácido chiquímico e do ácido malônico (Figura 2) (JAAKOLA, 2013; DENG e LU, 2017; D'AMELIA *et al.*, 2018). A fenilalanina amônia liase (FAL/PAL) (Figura 2) é a enzima que catalisa a reação de entrada na rota de fenilpropanoides, seguida de uma série de reações enzimáticas, envolvendo enzimas chave como flavonol sintase (FLS), atuando na formação de flavonoides; antocianidina sintase (ANS), diretamente envolvida na formação de antocianidinas, e UDP flavonóide glicosiltransferase (UFGT), responsável pela glicosilação de antocianinas (ALMEIDA *et al.*, 2007).

As antocianinas, que fazem parte da subclasse dos flavonoides, são um grupo de compostos relevantes, pois são responsáveis pela maioria das cores vermelha, rosa, roxa e azul observadas nos vegetais; atuam na proteção de plantas frente às radiações solares e são consideradas potentes antioxidantes (PERIN, *et al.* 2014; MEYERS, *et al.* 2003; CAPOCASA, *et al.* 2008; PINTO, *et al.* 2008). Em morangos, as antocianinas são particularmente importantes, uma vez que a modificação de coloração 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 estudo realizado por Silva, *et al.* (2007), foram identificadas mais de 25 antocianinas em morangos de cinco cultivares diferentes, sendo a pelargonidina 3-glicosídeo a antocianina predominante, seguido da pelargonidina 3-rutinosídeo e cianidina 3-glicosídeo.

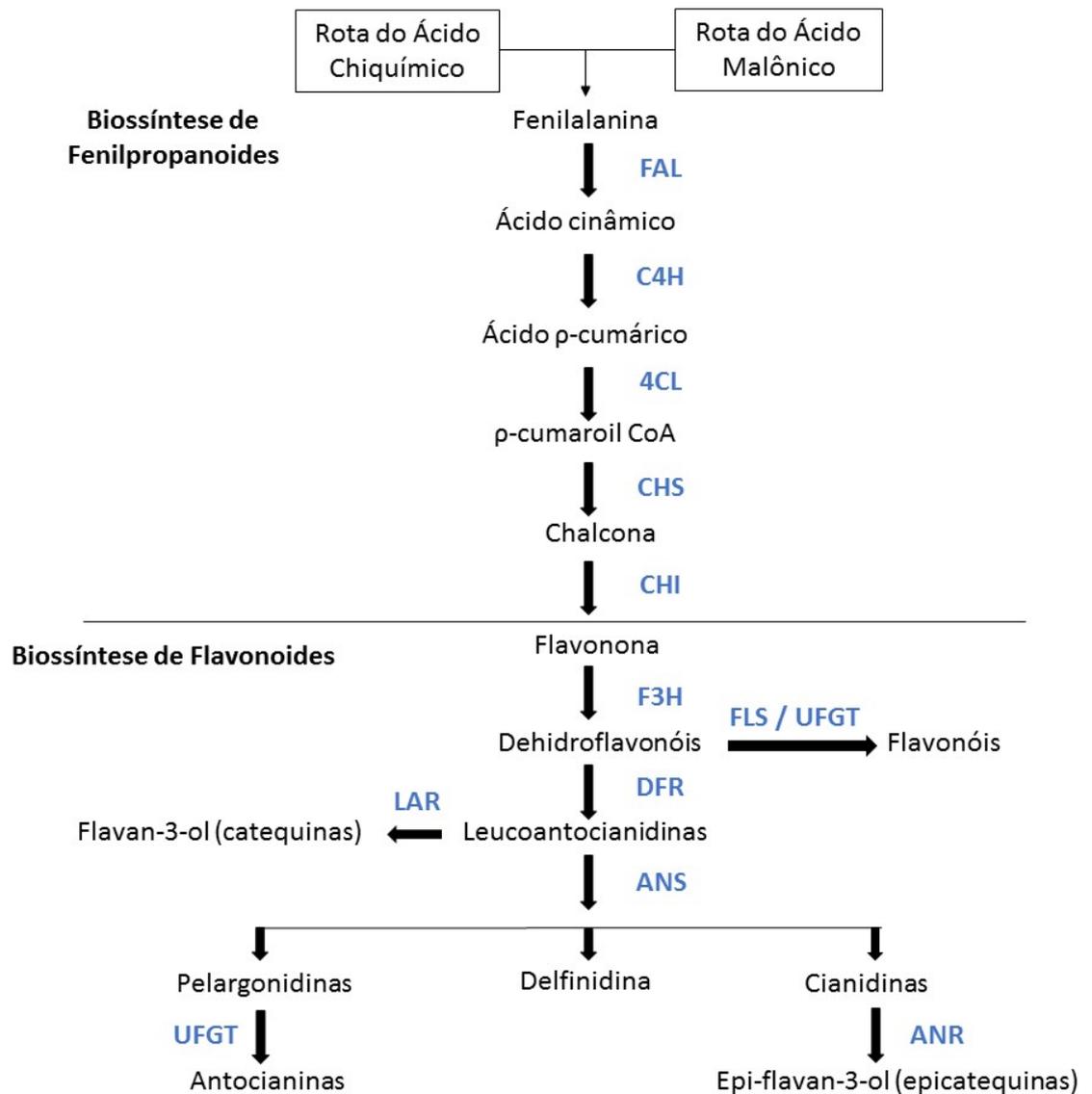


Figura 2 - Via biossintética simplificada de fenilpropanoídeos e flavonóides. Reações enzimáticas são representadas por setas e em azul estão representadas as enzimas **PAL** (fenilalanina amônia liase), **C4H** (cinamato-4-hidroxilase), **4CL** (p-cumarato ligase), **CHS** (chalcona sintase), **CHI** (chalcona isomerase); **F3H** (flavonona-3-hidroxilase), **FLS** (flavonol sintase), **UFGT** (UDP flavonoide glicosiltransferase), **DFR** (dihidroflavonol-4-redutase), **ANS** (antocianidina sintase), **LAR** (leucoantocianidina redutase), **ANR** (antocianidina redutase);
 Fonte: Adaptada de VIGHI *et al.*, (2019).

4.2.4 Ácido L-ascórbico (AsA)

Além dos compostos fenólicos, o ácido L-ascórbico (AsA) é considerado um importante antioxidante em morangos. Atua como coenzima de várias enzimas e regula a divisão e expansão celular (SMIRNOFF, 2000). Além disso, o AsA é conhecido por atuar como um importante antioxidante celular que protege contra danos causados por espécies reativas de oxigênio, geralmente produzidas sob condições de estresse (ATHAR *et al.* 2008).

Segundo Wang et. al (2000), o ácido L-ascórbico possui uma estrutura com seis carbonos e pode ser encontrado em algumas formas isoméricas: ácido L-ascórbico, ácido D-ascórbico, ácido L-*iso*-ascórbico e ácido D-*iso*-ascórbico, sendo o L-ascórbico o isômero mais encontrado naturalmente em frutas, que também é o mais utilizado no organismo para as funções biológicas.

Quatro vias interligadas envolvidas na biossíntese do ácido L-ascórbico (AsA) têm sido estudadas em plantas (Figura 3). Essas vias metabólicas são nomeadas de acordo com as moléculas que atuam como precursoras, em myo-inositol, L-gulose, L-galactose e ácido D-galacturônico. O passo inicial na via da L-galactose (Figura 3), também conhecida como via Smirnoff-Wheeler, que é mais conhecida e caracterizada em plantas e parece ser a via mais utilizada em frutos verdes, envolve a conversão de D-glicose em GDP-D-mannose pela GDP-D-mannose-pirofosforilase. O próximo passo nesta via é a conversão de GDP-D-mannose em GDP-L-galactose, e é catalisada por GDP-D-mannose-3,5-epimerase. A L-galactose é então produzida a partir de GDP-L-galactose por duas enzimas, nomeadamente GDP-L-galactose fosforilase (DOWDLE et al. 2007) e L-galactose fosfatase (LAING et al. 2004a). A oxidação de L-galactose a L-galactono-1,4-lactona, como a penúltima etapa nessa via, é catalisada pela L-galactose desidrogenase (LAING et al. 2004b). A última enzima é a L-galactono-1,4-lactona desidrogenase que catalisa a oxidação de L-galactono-1,4 lactona para L-ascorbato.

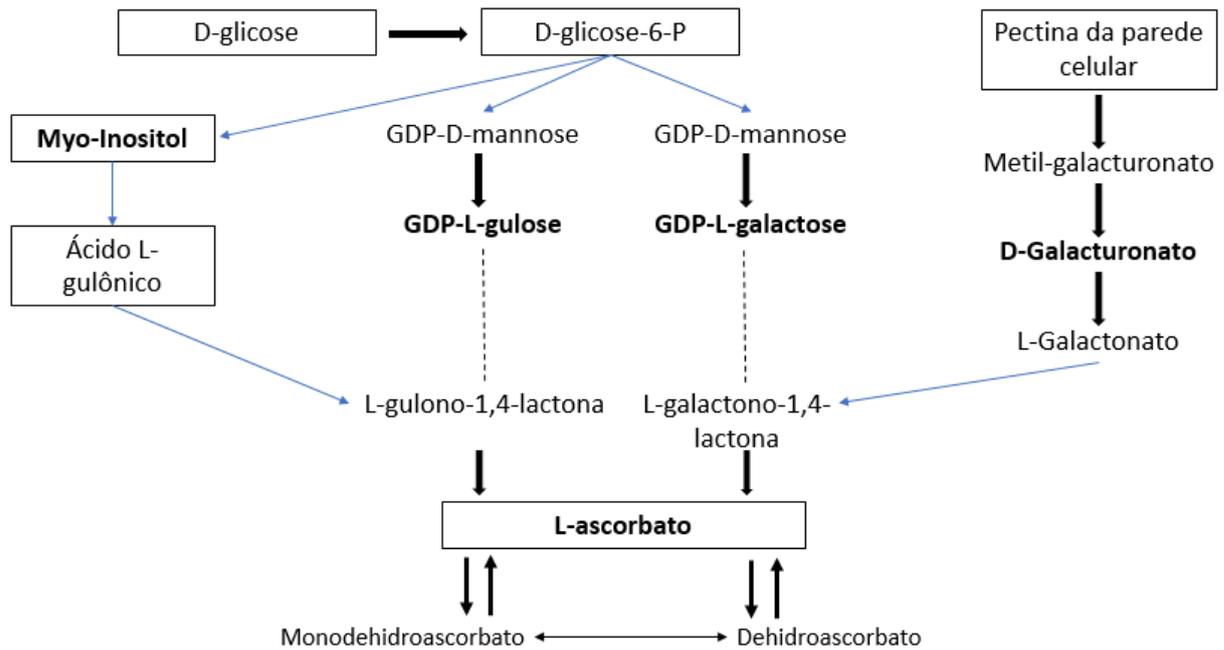


Figura 3 - Vias biossintéticas do ácido L-ascórbico. via Wheeler-Smirnoff, a partir da D-glicose; via a partir da GDP-L-gulose; via a partir do Myo-Inositol e via a partir do ácido D-galacturônico, componente principal das pectinas da parede celular.

Fonte: Adaptado de CRUZ-RUS *et al.* (2011).

Segundo Cruz-Rus *et al.* (2011) a via galacturônica pode ser a mais ativa no fruto de morango maduro. A via galacturônica inicia-se pela quebra da pectina polimérica da parede celular, onde o metil-D-galacturonato produzido durante este processo é primeiro desmetilado em ácido D-galacturônico, o qual é reduzido a ácido L-galactônico pela enzima D-galacturônico ácido redutase. Este é finalmente convertido em L-galactono-1,4-lactona, o substrato da enzima L-galactono-1,4-lactona desidrogenase acima mencionada (AGIUS *et al.* 2003).

Além da biossíntese *de novo* de ácido L-ascórbico, outros processos, como degradação e reciclagem (Figura 3), são determinantes na regulação das concentrações endógenas de AsA em células vegetais. Neste caso, o AsA pode ser transformado em monodehidroascorbato ou dehidroascorbato pelas enzimas ascorbatoperoxidase e ascorbato oxidase, respectivamente. Já a reciclagem é realizada pela redutase de monodehidroascorbato e redutase de dehidroascorbato, que reciclam monodehidroascorbato e dehidroascorbato, respectivamente, para gerar AsA (GALLI, 2018).

Sabe-se que a síntese de antocianinas e AsA aumenta ao longo do processo de amadurecimento do fruto de morango (Figura 4) (AVIGDORI-AVIDOV, 1986; KAFKAS *et al.*, 2007; SIEBENEICHLER *et al.* 2022). Porém, a determinação de quais

são as enzimas chave deste processo, que poderiam ser selecionadas como alvos para programas de melhoramento e para a geração de plantas geneticamente modificadas visando acumular maior conteúdo destes compostos, ainda carece de investigação. Além disso, os mecanismos bioquímicos e moleculares que induzem ao aumento no acúmulo destes compostos ainda não estão completamente elucidados.

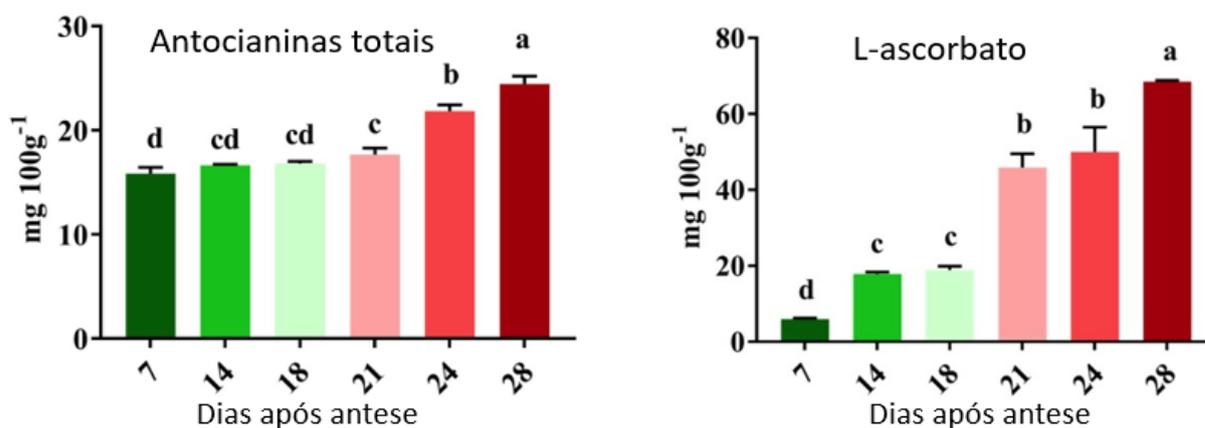


Figura 4 - Alterações no teor de antocianinas e ácido L-ascórbico em diferentes estádios de maturação de frutos de morango.

Fonte: SIEBENEICHLER et al. 2022.

4.2.5 Alterações na firmeza da polpa do morango

Como relatado anteriormente, o processo de amadurecimento de frutos é um processo complexo, geneticamente programado e regulado por processos ambientais como luz, temperatura, e é caracterizado por uma série de mudanças bioquímicas e fisiológicas que ocorrem nos estádios finais do desenvolvimento do fruto. Além disso, esse processo influencia diretamente na qualidade, na vida pós-colheita e na aceitação do consumidor (GIOVANNONI, 2001, 2004; MOYA-LEÓN, 2019).

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 amolecimento, é umas das modificações mais importantes, pois a taxa de amolecimento não apenas determina a vida útil pós-colheita, mas também outros aspectos economicamente importantes, como a frequência da colheita, os procedimentos de manuseio e a distância que a fruta pode ser transportada (GOULAO & OLIVEIRA, 2008).

O amaciamento dos frutos de morangos ocorre intensamente nos estádios finais de desenvolvimento e, 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, expansinas, entre outras (DOTTO et al. 2006; BRUMMELL, 2006; MOYA-LEÓN, 2019; PANIAGUA et al., 2016; POSÉ et al., 2015). Além disso, segundo Moya-Leon (2019), hormônios como ABA e auxinas, e mais precisamente a relação ABA / auxina, têm um papel crucial na coordenação de eventos de amolecimento em frutos de *F. x ananassa* e *F. chiloensis*.

Por isso, atrasar o amolecimento pós-colheita é um grande desafio e, para isso é essencial entender os principais pontos de controle do processo de amadurecimento que influenciam nessa característica.

4.2.6 A pós-colheita de morangos

Após a retirada do fruto da planta inicia o processo de senescência, ou seja, ocorre a diminuição dos processos de síntese de compostos e aumentam os processos catabólicos (de degradação), pois os frutos utilizam a própria reserva de nutrientes para realizar as atividades vitais. Os compostos antioxidantes do morango também são afetados por este período pós-colheita, sendo esse efeito influenciado pela taxa de respiração e pelas condições de armazenamento do fruto (TAIZ et al., 2017; CHITARRA e CHITARRA, 2005). O morango é uma fruta que apresenta elevada taxa respiratória e curta vida pós-colheita.

Após a colheita, os frutos não possuem uma fonte renovável de água para compensar a perda de água pela transpiração, ficando vulneráveis ao estresse por déficit hídrico, sendo este um dos principais responsáveis pela perda de qualidade dos frutos na pós-colheita (NAKANO, et al. 2003; CHEN, et al. 2016). Em trabalho realizado por Chen et al. (2014) foi relatado que a retirada dos frutos da planta acelerou o amadurecimento e o progresso da senescência dos frutos, acompanhado da perda de água. Ainda neste estudo, relataram que os morangos que sofreram déficit hídrico apresentaram maiores níveis de antocianinas, ácido abscísico e etileno.

Além disso, o morango é um fruto perecível e apresenta fragilidade estrutural. Problemas causados por danos mecânicos, feridas e batidas durante a colheita, no transporte e na comercialização, além da perda de firmeza que ocorre naturalmente nestes frutos durante o pós-colheita, deixam a fruta suscetível ao ataque de micro-

organismos, causando perdas nutritivas, qualitativas e econômicas (FLORES CANTILLANO et al., 2003). O principal micro-organismo que provoca esta deterioração é o fungo *Botrytis cinérea* (CHARLES et al., 2008, POMBO et al., 2011).

4.3 Ácido abscísico (ABA) no amadurecimento e pós-colheita de morango

Embora existam muitos estudos mostrando os efeitos na coloração e acúmulo de compostos fenólicos e ácido L-ascórbico em morangos ao longo do amadurecimento e durante a pós-colheita, ainda precisa ser elucidado como estes eventos acontecem, quem são os sinais e os fatores que determinam que ocorram estes efeitos. Neste contexto, muitos estudos têm abordado o ABA como possível sinalizador destes eventos (CHAI et al., 2011, JIA et al., 2011, JI et al., 2012; LI, et al., 2015; AYUB et al. 2016; VIGHI et al. 2019; CRIZEL, et al., 2020; SIEBENEICHLER, et al., 2020).

Os fitormônios são considerados mensageiros químicos, ou seja, são substâncias químicas produzidas pelas células que, em baixas concentrações, promovem a comunicação celular através de interações com proteínas específicas que regulam processos fisiológicos (TAIZ et al. 2017; BIASI, 2002).

Para as frutas climatéricas já se tem um amplo conhecimento dos processos de maturação e que o etileno faz parte do processo (ALEXANDER e GRIERSON, 2002), porém existem hipóteses de que outras vias metabólicas possam estar envolvidas na regulação do amadurecimento de frutos climatéricos (CHERVIN, 2020). No entanto, para frutos não climatéricos o processo ainda não está bem esclarecido, embora estudos tenham sugerido de que o ácido Abscísico (ABA) desempenhe um papel importante na regulação desse processo.

O ácido abscísico (ABA) é um dos fitormônios cuja estrutura é composta por 15 carbonos, e está envolvido em muitos processos fisiológicos (RAGHAVENDRA et al., 2010; GU et al., 2019), especialmente na mediação da resposta das plantas ao estresse (NAKASHIMA e YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2013) e, 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).

O primeiro passo na biossíntese de ABA (Figura 5) é a conversão do carotenóide zeaxantina para trans-violaxantina, catalisada pela enzima zeaxantinaepoxidase (ZEP/AtABA1). Na sequência, a enzima 9-cisepoxicarotenoide dioxigenase (NCED) catalisa a clivagem oxidativa do ácido 9-cis-violaxantina e/ou 9-

cis-neoxantina produzindo o carotenoide xantoxina, reação considerada limitante na biossíntese de ABA. A xantoxina é então exportada para a citosol e convertida em aldeído abscísico pela enzima SDR/AtABA2, sendo posteriormente oxidado a ABA pela enzima aldeído-oxidase (AAO/AO) (SEILER *et al.*, 2011).

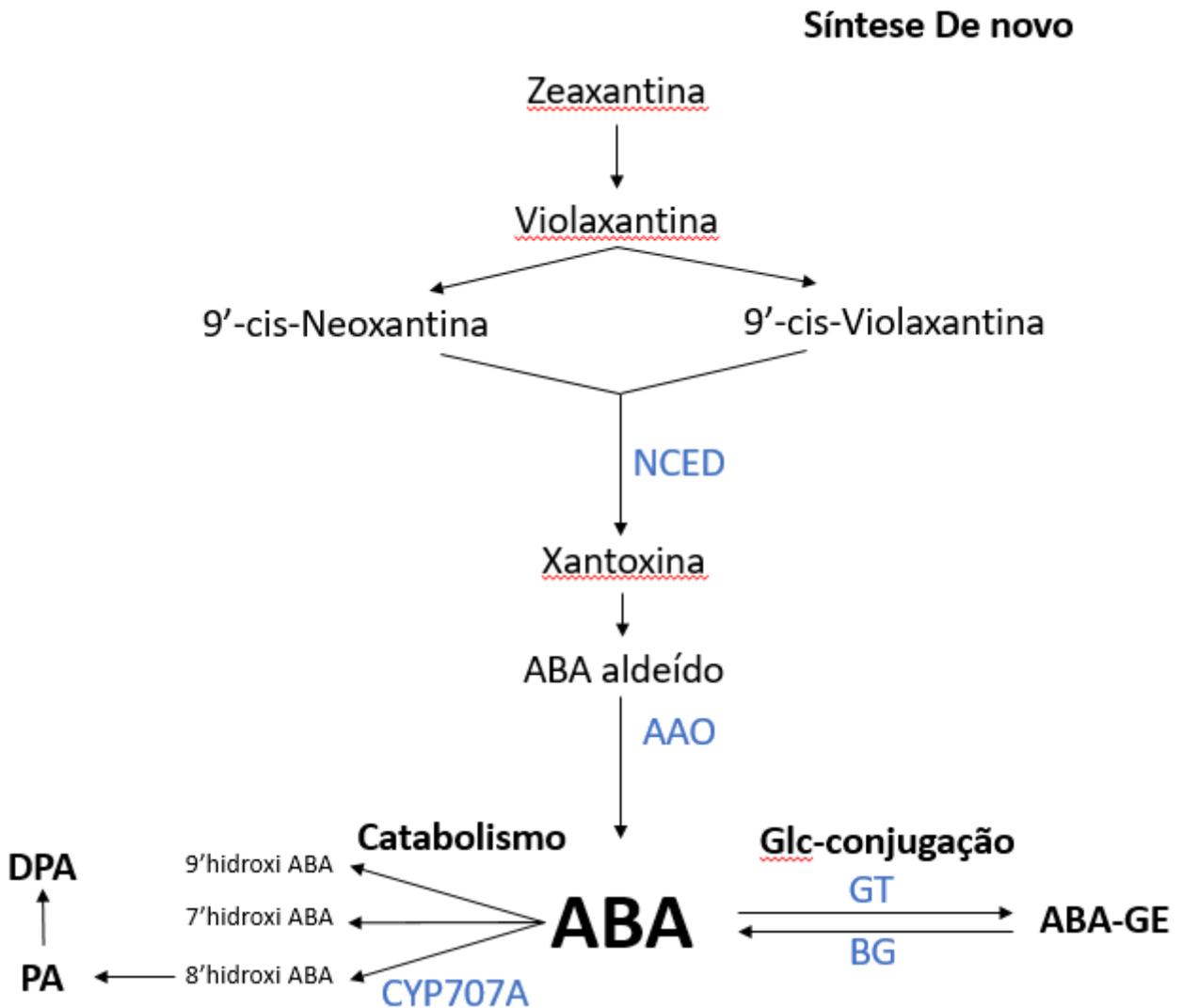


Figura 5 - Via simplificada da biossíntese do ácido abscísico. Em azul estão representadas as enzimas **NCED** (9-cis- epoxicarotenoide dioxigenase), **AAO** (aldeído oxidase), **GT** (β-glicosiltransferase), **BG** (β-glucosidase) e **CYP707A** (ABA-8-hidroxilase), **PA** (ácido faseico), **DPA** (ácido dehidrofaseico), **ABA-GE** (ABA glicosiléster).

Fonte: Adaptado PERIN, *et al.* 2019.

De modo geral, o ABA ativo é rapidamente catabolizado em plantas superiores através de duas rotas principais, a degradação oxidativa, catalisada pela enzima ABA-8-hidroxilase (CYP707A), que forma dois catabólicos relevantes: o ácido faseico (PA) e ácido dehidrofaseico (DPA) ou a inativação por glicosilação, catalisada pela enzima ABA-glicosiltransferase (ABA-GTase), formando ABA-glicosil éster (ABA-GE) ou ABA-glicosil éter (ABA-GS). Esta reação é reversível, sendo a desconjugação catalisada

pela (L-ascorbato peroxidase) a enzima β -glicosidase (BG). Apesar do conhecimento da existência desta via, o envolvimento de *FaBGs* e de *FaCYP707As* no acúmulo de compostos fenilpropanoides e de ácido L-ascórbico em frutos de morango ainda necessita ser elucidado.

Recentemente, Vighi et al. (2019) revisaram a indução da biossíntese de antocianinas pelo ABA. A detecção e sinalização de ABA endógeno ou exógeno ocorre quando ele se liga a proteínas abar-WRKY-ABI5 (SHANG et al., 2010) ou proteínas pyr-PYL-RCAR, que recrutam proteínas fosfatases do tipo PP2C e liberam proteínas quinases dependentes de Ca^{+2} (CDPK) para ativação de uma cascata de fosforilação (CRIZEL et al., 2020b). Essa sinalização também leva à ativação de fatores de transcrição envolvidos na via dos fenilpropanoides, como MYBA, que influenciam a expressão de DFR (dihidroflavonol-4-reductase), ANS (antocianidina sintase) e UFGT (UDP flavonoide glicosiltransferase) (SHEN et al., 2014). Outro fator de transcrição induzido por ABA, que é altamente expresso durante a maturação é o ASR (). Em tomate e morango, o ASR foi relatado como um componente a jusante de uma via de transdução comum para sinais de ABA e sacarose, que regula a expressão da parede celular e genes relacionados ao metabolismo de antocianinas (F3H: flavonona-3-hidroxilase; DFR: dihidroflavonol-4-reductase; CHS: chalcona sintase; CHI: chalcona isomerase e UFGT: UDP flavonoide glicosiltransferase) (JIA et al., 2016).

Foi demonstrado que a aplicação exógena de ABA pode induzir o acúmulo de antocianinas e genes relacionados à biossíntese desses compostos em uva (GAGNE et al., 2011; SANDHU et al., 2011). Em morangos, estudos sugerem que o ABA está associado ao amadurecimento e à senescência (CHAI et al., 2011, JIA et al., 2011, JI et al., 2012, VIGHI et al. 2019), pois o tratamento com ABA exógeno pode apresentar um papel importante na regulação de compostos fenilpropanoides e ácido L-ascórbico em frutos de morango, acelerando o acúmulo de antocianinas devido sua ação sobre as enzimas envolvidas na rota metabólica destas substâncias e promovendo o aumento no teor de ácido L-ascórbico (JIANG e JOYCE 2003; AYUB et al. 2016; CAO et al., 2010; CHEN et al., 2011; CHEN et al., 2016; JIA et al., 2011; LI et al., 2015).

Li et al. (2015) ao avaliar o efeito do ABA e do seu inibidor NDGA (ácido nordihidroguaiarético), no metabolismo do ácido L-ascórbico e de pigmentos durante o período de maturação de frutos de morango ligados à planta, verificaram que os morangos tratados com ABA (1 μ M) apresentaram aumento no teor de antocianinas

e de ácido L-ascórbico, enquanto que os morangos tratados com NDGA (100 μ M) apresentaram menores teores destes compostos (Figura 6).

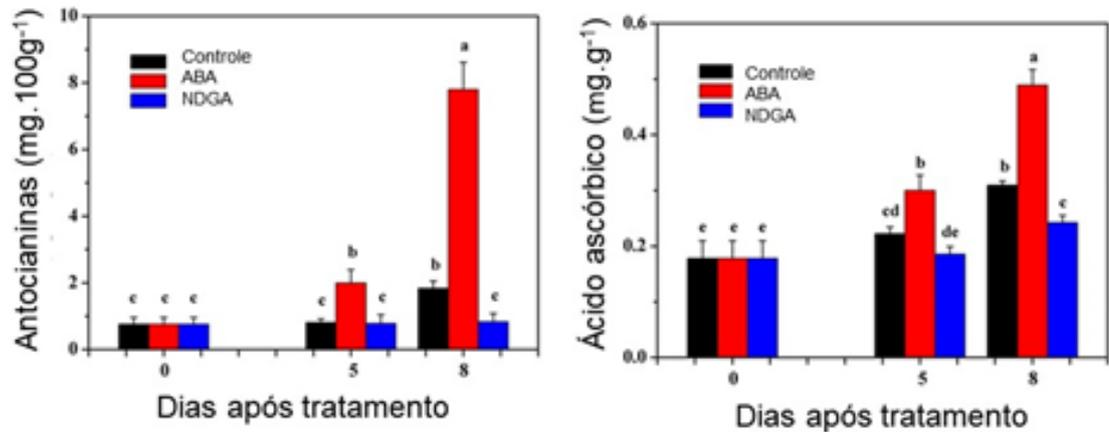


Figura 6 - Efeito da aplicação de ABA e NDGA em frutos (14 dias após antese) ligados à planta mãe. Fonte: Adaptado de Li et al. (2015).

Em trabalho realizado por Ayub et al. (2016) foi demonstrado que o ABA interfere no perfil de compostos fenólicos e açúcares, sugerindo que tenha influência na via de fenilpropanoides em frutos de morango em diferentes estádios de maturação. Li et al. (2014) ao estudarem a aplicação exógena de ABA em frutos de morango na pós-colheita demonstraram que os frutos tratados com ABA exibiram aumento no teor de antocianinas (Figura 7A), perda mais acelerada da firmeza em relação aos outros tratamentos (Figura 7B), e aumento no teor de SST (Figura 7C).

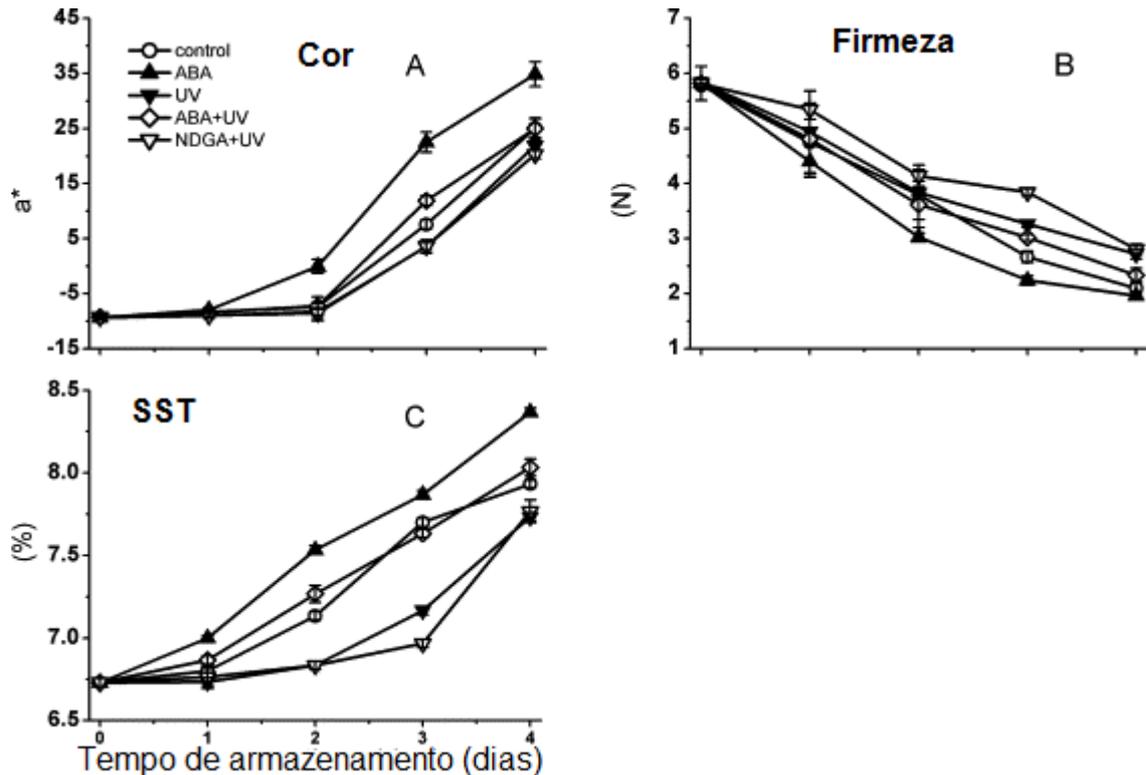


Figura 7 - Efeitos dos tratamentos ABA e UV-C sobre a^* (A), firmeza (B), SST (C).
Fonte: Adaptado de Li et al. (2014).

Segundo (VIGHI et al. 2019) estresses bióticos e abióticos, bem como o amadurecimento dos frutos, estimulam o acúmulo de certos compostos fenilpropanoides. A síntese desses compostos não está correlacionada apenas com o aumento do conteúdo de ABA, mas também está correlacionada com a expressão alterada de genes relacionados à síntese e ao catabolismo do ABA.

Apesar dos resultados dos estudos mencionados sugerirem que a aplicação exógena de ABA em frutos não-climatéricos seja uma alternativa para induzir o processo de maturação, pois atua principalmente no metabolismo de fenilpropanoides, ácido L-ascórbico e na diminuição da firmeza, ainda são necessários mais estudos para elucidar o processo. Recentemente, Siebeneichler, et al. (2020) demonstraram que a aplicação pós-colheita de ABA em morangos imaturos resultou em frutos com composição química e características físicas diferentes dos frutos amadurecidos *in vivo* (aderidos à planta), sugerindo a necessidade de investigar outros aspectos da maturação influenciados pelo ABA.

4.4 Luz UV-C no amadurecimento e pós-colheita de morango

A luz ultravioleta pode ser dividida em três faixas de comprimento de onda: UV-A de 315 a 400 nm, UV-B de 280 a 315 nm e a UV-C de 100 a 280 nm, visto que cada faixa tem potencial energético distinto, podendo induzir diferentes efeitos biológicos nos organismos sobre os quais age (SHAMA, 2007; KOWALSKI, 2009).

O morango apresenta características como alta taxa de respiração e transpiração, baixa resistência mecânica e alta susceptibilidade ao mofo cinzento causado por *Botrytis cinerea* (NERI et al., 2014). Por apresentarem essas características se tornam perecíveis e acarretam perdas nutritivas e econômicas (FLORES CANTILLANO, 2016.)

Têm-se buscado alternativas para diminuir as perdas pós-colheita e a diminuição da utilização de fungicidas no processo de cultivo, sendo que as principais estratégias empregadas incluem melhoramento seletivo e transformação genética, refrigeração, atmosferas modificadas e controladas, aplicação de revestimentos comestíveis, tratamentos com radiação UV e calor (CORDENUNSI et al., 2005, JIMÉNEZ-BERMÚDEZ et al., 2002, WANG e GAO, 2013).

A radiação UV-C é uma alternativa de baixo custo e menos prejudicial ao meio ambiente comparado ao processo de cultivo que utiliza fungicidas para prevenir a deterioração pelo *Botrytis cinerea*, prolongando a vida de prateleira e mantendo a qualidade de frutas e legumes (BAKA et al, 1999; SEVERO et al, 2015; POMBO et al., 2011, VICENTE et al., 2005, URBAN, et al. 2016). Além disso, estudos mostraram que a exposição ao UV-C retardou o amadurecimento (LIU, et al., 1993), a senescência (COSTA, et al., 2006; ALLENDE et al., 2006) e promoveu o acúmulo de antioxidantes (ERKAN et al., 2008).

A exposição ao UV-C já foi testada em diferentes culturas, como o tomate (BU et al., 2013, CHARLES et al., 2008, MAHARAJ et al., 2014, SEVERO et al., 2015, TIECHER et al., 2013), pimenta (VICENTE et al., 2005), pêssego (YANG, CAO, SU, & JIANG, 2014), uva (SHENG, et al., 2018) e morango (ERKAN et al., 2008; POMBO et al., 2009, POMBO et al., 2011; SEVERO et al., 2015; SEVERO et al., 2017; XIE, et al., 2015; OLIVEIRA, 2016; XU, et al., 2019).

Alguns trabalhos têm relatado que o tratamento com irradiação UV-C em morangos (*Fragaria × ananassa* Duch.), na fase pós-colheita, resultaram em efeitos benéficos na preservação e promoção da qualidade dos frutos, incluindo um atraso no amaciamento da fruta através da redução da degradação da parede celular

(POMBO et al., 2009, ARAQUE, et al., 2018, ARAQUE, et al., 2019); estimulação da biossíntese de moléculas bioativas, como antocianinas, ácido L-ascórbico e ésteres aromáticos (SEVERO et al., 2015); regulação positiva da expressão dos genes biossintéticos de antocianinas (UBI et al., 2006, ZHOU et al., 2007, GUO e WANG, 2010), aumento da resistência a *Botrytis cinerea* (NIGRO et al., 2000; FORGES, et al., 2018).

Além da aplicação de UV-C em diferentes estádios de amadurecimentos, também foram estudadas formas diferentes de aplicação do UV-C em morangos. Araque et al., (2018) estudaram se aplicações curtas e repetidas (uma aplicação de 4 KJ m⁻²; duas aplicações de 2 KJ m⁻² e cinco aplicações de 0,8 KJ m⁻²) ao longo do período de armazenamento, de morangos com maturação comercial, poderiam melhorar a manutenção da qualidade dos frutos em relação aos tratamentos convencionais e observaram que as aplicações de duas e cinco etapas foram mais eficientes do que a aplicação em uma etapa na manutenção da firmeza, redução da deterioração, apresentaram melhores avaliações sensoriais dos consumidores e estenderam a vida pós-colheita dos frutos.

LI et al. (2014) estudaram o efeito do ABA na concentração de 1,0 mM e uma dose de radiação UV-C de 4,1 KJ m⁻², em morangos verdes que foram armazenados por 4 dias a 20°C e umidade relativa de 90% e, relataram que o ABA acelerou o amadurecimento do morango, aumentou os teores de antocianinas e flavonoides, aumentou as atividades das enzimas relacionadas à formação de antocianinas. No entanto, a radiação UV-C mostrou efeitos opostos, exceto para promover as atividades de PAL e 4CL.

Portanto, pelo fato de a radiação UV-C atrasar o processo de maturação, atuar na defesa contra patógenos, prolongar a vida pós-colheita, estimular vias biossintéticas de compostos relacionados à qualidade nutricional de frutos e já ter sido testado em várias culturas, torna-se uma alternativa com grande potencial de uso.

5 Material e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças 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

Frutos de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.), em estágio de desenvolvimento (75% da superfície recoberta com a cor avermelhada – C 75%), da cultivar 'San Andreas', foram adquiridos em uma propriedade rural localizada na cidade de Capão do Leão/RS, nos meses de novembro e dezembro de 2019. Após a colheita, os frutos foram transportados imediatamente para o Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças. Para realização do experimento foram utilizados frutos livres de danos físicos e contaminações fúngicas. O delineamento experimental foi o casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição composta por nove frutos.

Foram realizados os seguintes tratamentos de acordo com a figura 8:

C (75% da superfície recoberta com a cor avermelhada): sem nenhum tratamento

UV-C (75% da superfície recoberta com a cor avermelhada): tratado com 2 aplicações de 2 KJ m⁻²

ABA (75% da superfície recoberta com a cor avermelhada): tratado com solução de 1 mM de ABA

ABA+ UV-C (75% da superfície recoberta com a cor avermelhada): tratado com UV-C (2 aplicações de 2 KJ m⁻²) + ABA (solução de 1 mM)

Após realizar os tratamentos com ABA e UV-C, os frutos foram armazenados em BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) a 20°C e umidade relativa de 80%, por quatro dias.

Além desses tratamentos foram coletados frutos com 100% da superfície recoberta com a cor avermelhada (**C 100%**) e 75% da superfície recoberta com a cor avermelhada (**C 75%**), que não foram submetidos ao tratamento pós-colheita, para servirem de controle de frutos maturados *in vivo*. Nesses frutos foram realizadas as análises físico-químicas e, em seguida, armazenados em ultrafreezer a -80°C.

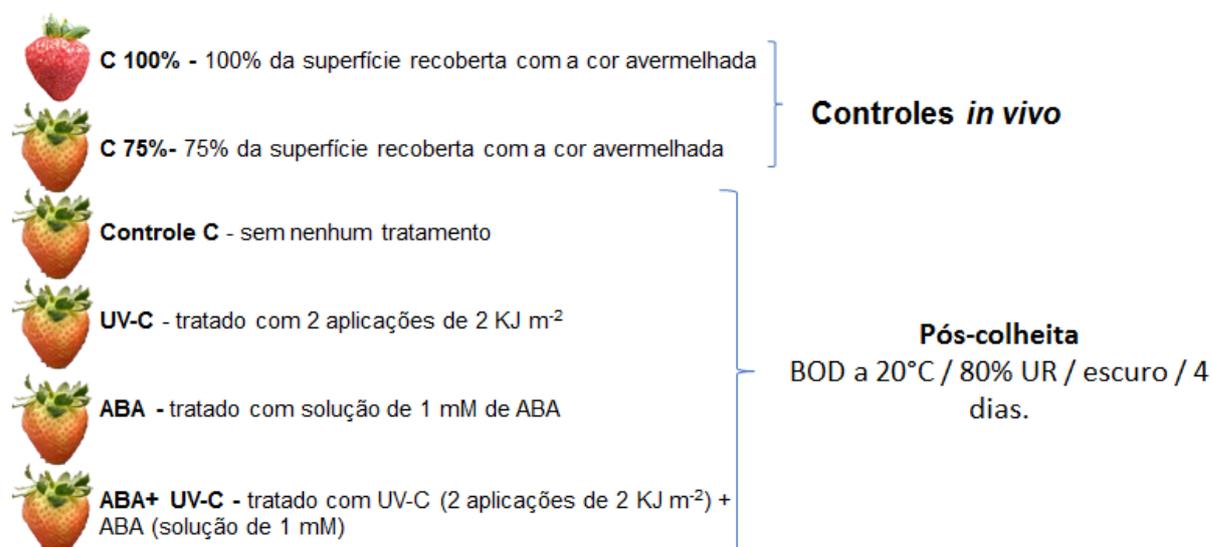


Figura 8 - Representação dos tratamentos realizados no delineamento.
Fonte: Autor.

5.2 Métodos

5.2.1. Tratamento com ácido abscísico (ABA)

Assim que os frutos chegaram ao laboratório foram divididos em duas bandejas identificadas, em frutos que seriam tratados com ABA e os que não seriam tratados com ABA. Para o tratamento dos frutos com ABA foi utilizada a metodologia descrita por (LI et al. 2014) e adaptada. A solução de ABA (Sigma-Aldrich com $\geq 98\%$ HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)), na concentração de 1 mM, foi preparada solubilizando previamente o ABA em 1 mL de metanol absoluto, adicionando-se água destilada contendo 0,5% de Tween 20. Em seguida, a solução ficou 35 min no sonicador para completa dissolução das partículas. Os frutos que não seriam tratados com ABA, foram tratados com uma solução controle, contendo 0,5% de metanol absoluto, água destilada e uma solução 0,5% de Tween 20.

Os frutos foram pulverizados, com borrifador, 30 vezes com a solução de 1 mM ABA que ficou em contato com a superfície durante 5 min. O mesmo procedimento foi realizado no lado oposto dos frutos. Os outros frutos foram pulverizados o mesmo número de vezes, e no mesmo tempo de contato, porém, com a solução controle. Em seguida, todos os frutos foram secos, por aproximadamente 3 horas, em temperatura ambiente. Logo após o período de secagem foram separados nove frutos e acondicionados em bandejas identificadas com os devidos tratamentos, fotografados e realizado o tratamento com UV-C.

5.2.2 Tratamento com UV-C

A metodologia utilizada para a realização do tratamento com UV-C foi a descrita por (SEVERO et al. 2015) e adaptada. As cinco bandejas, sem tampa, de cada tratamento (UV-C e ABA+UV-C) foram colocadas dentro de uma câmara contendo 4 lâmpadas UV-C, a uma distância de 50 cm da fonte de emissão UV-C. Foram realizadas duas aplicações de 2 kJ m^{-2} , uma dose no primeiro dia e outra dose no segundo dia, totalizando 4 KJ m^{-2} de UV-C, medida por um radiômetro digital RS-232. Esta dose hermética foi escolhida de acordo com Araque et al, (2018). Para esta dose, os frutos ficaram expostos ao tratamento com UV-C por um período total de 34 min, sendo virados após 17 min para garantir uma exposição uniforme de toda a superfície do fruto. Após o tratamento com UV-C os frutos foram armazenados em BOD, sem luz, a 20°C e com 80% de umidade relativa por 4 dias.

No quarto dia, as amostras foram retiradas da BOD, para realização das análises. A medida de cor foi realizada em todos os frutos íntegros. Para a determinação da firmeza foram utilizados os frutos íntegros e inteiros. Após a análise da firmeza, os frutos foram cortados em quatro partes e separados para realização das análises de sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez e a outra parte foi liofilizada para as análises de antocianinas e compostos fenólicos individuais, ácido L-ascórbico, ABA e seus derivados.

A linha do tempo do experimento está representada na Figura 9.

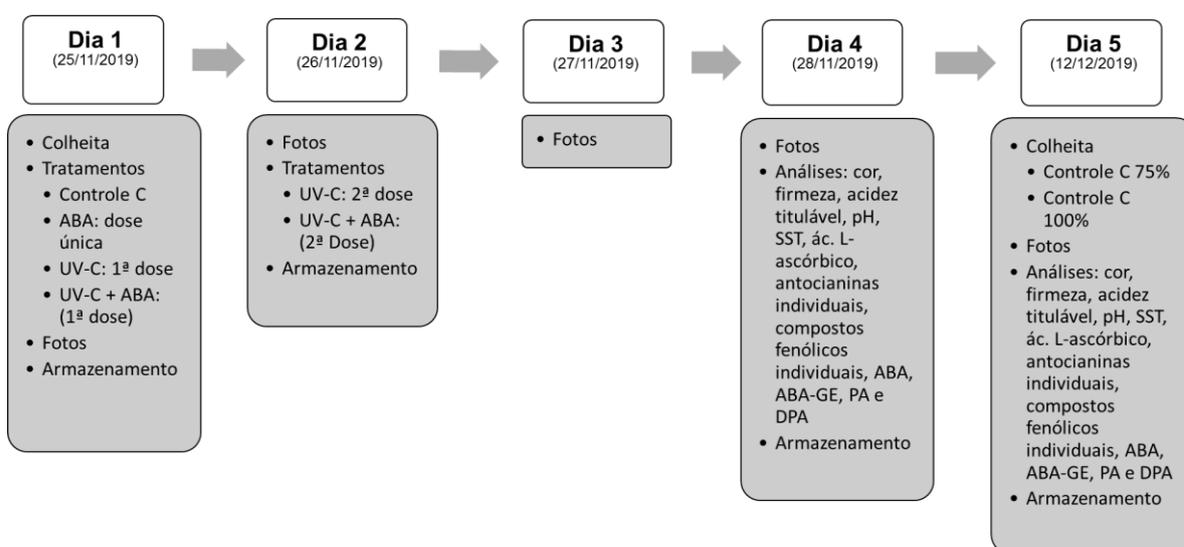


Figura 9 - Linha do tempo do experimento durante o período de armazenamento.

Para os tratamentos C 100% e C 75%, foram realizados os mesmos procedimentos para a realização das análises e armazenamento.

5.2.3 Cor, acidez total titulável, pH, sólidos solúveis totais e firmeza de polpa

A progressão de cor foi monitorada por fotodocumentação durante o período de armazenamento. No último dia de armazenamento, a cor foi determinada com o uso de colorímetro, através do sistema CIE-L*a*b*. Os parâmetros analisados foram L (Luminosidade), a* e b*. Para calcular o ângulo Hue (°Hue), que define a tonalidade de cor, foram utilizados os valores de a* e b* (°Hue= $\tan^{-1} b^*/a^*$). Foram feitas 3 medições em regiões opostas na região equatorial do fruto (OLIVEIRA, 2013).

A acidez total titulável e o pH foram determinados nos frutos macerados com pistilo em almofariz. O pH foi determinado por potenciometria, em pHmetro. 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 (SST) foi determinado de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008), a 20°C, utilizando refratômetro digital e os valores expressos em °Brix.

A firmeza de polpa foi medida utilizando texturômetro, pelo método TPA, calibrado com 5 kg de carga. Cada fruto foi perfurado, em dois locais opostos na região equatorial, com *probe* de 2 mm (diâmetro). A penetração foi de 50% e a velocidade de 1,0 mm s⁻¹. Os resultados foram expressos em Newtons (N) (SEVERO, et al., 2015).

5.2.4 Compostos fenólicos individuais e antocianinas individuais

5.2.4.1 Compostos fenólicos individuais

A determinação dos compostos fenólicos individuais foi realizada de acordo com o método proposto por Antunes et al., 2019 e adaptado.

Para o preparo do extrato foram utilizadas 100 mg de amostra liofilizada, adicionado de 1 mL de metanol (75%) acidificado com 0,1% de ácido fórmico. A solução foi agitada em vortex por 1 min, sonicado em banho ultrassônico por 15 min

e centrifugado a 9.900 x g por 10 min a 4°C. O sobrenadante foi separado em outro tubo e o resíduo foi re-extraído utilizando os mesmos passos anteriores. Após a re-extração os sobrenadantes foram unidos e uma alíquota de 1000 µL dos sobrenadantes combinados foi filtrada em filtro de seringa de PVDF (fluoreto de polivinilideno) (0,22 µM) e transferida para vials para posterior injeção no sistema cromatográfico.

Após o processo de extração foram injetados 10 µL deste extrato em um sistema de cromatografia líquida de ultra-alta performance (UFLC) acoplado a um espectrômetro de massa de alta resolução (quadrupolo-tempo de voo) (UFLC – MS / MS). Para separar os compostos, uma coluna Bidentate C18 (100 x 2,1 mm) foi usada, com água acidificada com ácido fórmico 0,1% (eluente A) e acetonitrila acidificada com ácido fórmico 0,1% (eluente B) como as fases móveis. O fluxo foi de 0,2 mL min⁻¹ e a temperatura da coluna de 40°C. O programa começou em 10% B, aumentou linearmente para 75% B em 10 min e foi mantido por 5 min em 75% B; em seguida, aumentou linearmente para 90% B em 18 min, foi mantido por 3 min em 90% B; retornou a 10% B em 2 min e mantida a 10% B por mais 7 min.

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 3,5 kV, 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 processamento dos dados de MS e MS/MS foi utilizado o software *Data analysis 4.0* (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha), que fornece uma lista de possíveis fórmulas elementares usando a ferramenta Smart Formula (Bruker Compass DataAnalysis). A identificação dos compostos foi realizada pela comparação dos valores de m/z , espectro de massa e padrões de fragmentação obtidos com bancos de dados online (METLIN, KEGG, PubChem, FooDB e ReSpect) com uma janela de precisão de massa de 5 ppm.

A quantificação dos compostos fenólicos catequina, epicatequina, ácido elágico, apigenina, rutina, luteolina, ácido 4-hidroxibenzóico e ácido p-cumárico, foi realizada através de curva de calibração com padrões externos (Sigma-Aldrich) de cada composto. Porém os compostos fenólicos identificados em que os padrões comerciais não estavam disponíveis, seus conteúdos foram estimados usando curvas

analíticas de compostos semelhantes, sendo que a apigenina 4-glicosídeo foi quantificada utilizando a curva do padrão externo da apigenina; a quercetina-3-glicuronídeo, quercetina 3- α -D-galactosídeo, dihidroquercetina 3-ramnosídeo e eriodictiol-7-glicosídeo, foram quantificadas utilizando a curva do padrão externo da quercetina; a luteolina-4'-glicosídeo, luteolina-7-glicuronídeo, luteolina 7-galactosídeo e metilsiringina, foram quantificadas utilizando a curva do padrão externo da luteolina; o ácido elágico 2-ramnosídeo foi quantificado utilizando a curva do padrão externo do ácido elágico; o Kaempferol 3-O-acetil-glicosídeo e o Kaempferol 3-(6-acetilgalactosídeo) foram quantificados utilizando a curva do padrão externo do kaempferol. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$.

5.2.4.2 Antocianinas individuais

A determinação de antocianinas individuais foi realizada de acordo com o método proposto por Antunes et al., 2019 e adaptado.

Para o preparo do extrato foram utilizadas 100 mg de amostra liofilizada, adicionado de 1 mL de metanol (75%) acidificado com 0,1% de ácido fórmico. A solução foi agitada em vortex por 1 min, sonicado em banho ultrassônico por 15 min e centrifugado a $9.900 \times g$ por 10 min a 4°C . O sobrenadante foi separado em outro tubo e o resíduo foi re-extraído utilizando os mesmos passos anteriores. Após a re-extração os sobrenadantes foram unidos e uma alíquota de 1000 μL dos sobrenadantes combinados foi filtrada em filtro de seringa de PVDF (0,22 μM) e transferido para vials para posterior injeção no sistema cromatográfico.

Após o processo de extração foram injetados 10 μL deste extrato em um sistema de cromatografia líquida de ultra-alta performance (UFLC) acoplado a um espectrômetro de massa de alta resolução (quadrupolo-tempo de voo) (UFLC – MS / MS). Para separar os compostos, uma coluna Bidentate C18 (100 \times 2,1 mm) foi usada, com água acidificada com ácido fórmico 0,1% (eluente A) e acetonitrila acidificada com ácido fórmico 0,1% (eluente B) como as fases móveis. O fluxo foi de $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ e a temperatura da coluna era de 40°C . O programa começou em 10% B, aumentou linearmente para 75% B em 10 min e foi mantido por 5 min em 75% B; em seguida, aumentou linearmente para 90% B em 18 min foi mantido por 3 min em 90% B; retornou a 10% B em 2 min e mantida a 10% B por mais 7 min.

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 4,5 kV, gás de secagem em 9,0 L min⁻¹ e temperatura de 200°C, pressão do gás de nebulização (N₂) 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). A identificação dos compostos foi realizada pela comparação dos valores de *m/z*, espectro de massa e padrões de fragmentação obtidos com bancos de dados online (METLIN, KEGG, PubChem, FooDB e ReSpect) com uma janela de precisão de massa de 5 ppm. Para a quantificação das antocianinas individuais, foi utilizada uma curva analítica do padrão de pelargonidina. Os resultados foram expressos em µg g⁻¹.

5.2.5 Ácido L-ascórbico

A extração foi realizada de acordo com Siebeneichler, et al (2020), pesando 50 mg de amostra liofilizada e adicionando 5 mL de solução extratora (água ultrapura acidificada com 4,5% de ácido metafosfórico). Em seguida, a mistura foi agitada em vortex por 1 min, após centrifugado a 7000 x g durante 10 min a 4°C. Após a centrifugação o sobrenadante foi recolhido, diluído 1:4 com a solução extratora, filtrado em filtro de seringa de nylon (0,22 µM) e transferido para vials para posterior injeção.

Foram injetados 10 µL deste extrato em um sistema de cromatografia líquida de ultra-alta performance (UFLC) acoplado a um espectrômetro de massa de alta resolução (quadrupolo-tempo de voo) (UFLC – MS / MS). O comprimento de onda selecionado foi 254 nm. A coluna utilizada foi Hyperclone ODS C18, como fases móveis utilizou-se solução de água ultra pura acidificada com 0,1% de ácido acético (eluente A) e metanol acidificado com 0,1% de ácido acético (eluente B). O volume de injeção foi de 4 µL com eluição isocrática com 1% da fase móvel B, o fluxo foi de 0,2 mL min⁻¹ e a temperatura da coluna de 30°C. O programa de gradiente começou em 30% B e aumentou linearmente para 100% B em 7 min e foi mantido por 2 min em 100% B; retornando a 30% B em 1 min e mantido em 30% B por mais 8 min. Para a curva analítica foi utilizado o ácido L-ascórbico da marca Sigma. As análises foram realizadas em pesos secos. Os resultados foram expressos em mg 100g⁻¹.

5.2.6 Ácido abscísico (ABA), ABA-GE, PA e DPA

A determinação de ABA e seus derivados foi realizada utilizando o método proposto por Perin et. al., (2018). Para o preparo do extrato foram utilizadas 100 mg de amostra liofilizada, adicionado de 1 mL de metanol 80%, agitado em vortex por 1 min e centrifugado a $18.500 \times g$ por 5 min a 4°C . O sobrenadante foi separado em um novo tubo e o resíduo foi re-extraído seguindo os mesmos passos anteriores. Após a re-extração os sobrenadantes foram unidos e filtrados em filtro de seringa de PVDF ($0,22 \mu\text{M}$) e transferido para vials para posterior injeção no sistema cromatográfico.

Foram injetados $10 \mu\text{L}$ de extrato em cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiência (UFLC) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução (tipo quadrupolo-temo de vôo). Para a separação dos compostos foi utilizada uma coluna Hyperclone ODS C18, 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 $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ 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 3,5 kV, gás de secagem em $8,0 \text{ L min}^{-1}$ e temperatura de 180°C , pressão do gás de nebulização de 2 bar, colisão de RF de 300 Vpp, tempo de transferência $120 \mu\text{S}$ e armazenamento pré-pulso de $8 \mu\text{S}$. 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. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$.

5.3 Análise estatística e Quimiometria

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). Para melhor visualização das diferenças entre os tratamentos foi realizada uma análise de componentes principais (PCA, do

inglês *Principal Component Analysis*) e a análise discriminante por quadrados mínimos parciais (PLS-DA, do inglês *Partial Least Squares Discriminant Analysis*) utilizando as seguintes variáveis dependentes: ângulo °Hue, ângulo a*, pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais, firmeza, ácido L-ascórbico, ABA, ABA-GE, PA, DPA, antocianinas individuais, compostos fenólicos individuais. A importância das variáveis na projeção (VIP, do inglês *Variable Importance in Projection*) superior a 1,0 foi escolhida para selecionar os metabólitos discriminantes. Uma transformação de log foi aplicada antes da análise para evitar o efeito de diferentes escalas das variáveis. Essas análises foram realizadas no software MetaboAnalyst 3.0 (www.metaboanalyst.ca – McGill University).

6 Resultados

6.1 Cor, acidez total titulável, pH, sólidos solúveis totais e firmeza de polpa

Como esperado, durante os quatro dias de armazenamento os morangos aumentaram, gradativamente, a coloração avermelhada, devido ao acúmulo de antocianinas (Figura 10). Nos primeiros dois dias, o aumento da coloração não foi acentuado; porém, no terceiro dia, a diferença de coloração entre os morangos armazenados e o controle C 75% era bem evidente, sendo que a maior diferença de coloração foi observada no quarto dia.



Figura 10 - Progressão de cor dos frutos de morango durante o período de quatro dias de armazenamento. **C100%**: 100% da superfície avermelhada; **C75%**: 75% da superfície avermelhada; **Controle C**: 75% da superfície avermelhada (sem tratamento); **UV-C**: 75% da superfície avermelhada (2 aplicações de 2 KJ m^{-2}); **ABA**: 75% da superfície avermelhada (solução de 1 mM); **ABA+UV-C**: 75% da superfície avermelhada (UV-C - 2 aplicações de 2 KJ m^{-2}) + ABA (solução de 1 mM).



Continuação figura 10 - Progressão de cor dos frutos de morango durante o período de quatro dias de armazenamento. **C100%**: 100% da superfície avermelhada; **C75%**: 75% da superfície avermelhada; **Controle C**: 75% da superfície avermelhada (sem tratamento); **UV-C**: 75% da superfície avermelhada (2 aplicações de 2 KJ m⁻²); **ABA**: 75% da superfície avermelhada (solução de 1 mM); **ABA+UV-C**: 75% da superfície avermelhada (UV-C - 2 aplicações de 2 KJ m⁻²) + ABA (solução de 1 mM).

Pôde-se observar, através da medição do ângulo Hue, que houve diferença de cor entre os frutos controle 100% (*in vivo*), controle 75% (*in vivo*) e os tratamentos pós-colheita (controle C, UV-C, ABA, e ABA + UV-C) (Figura 11). Os frutos do controle C 100% apresentaram o menor ângulo Hue ($34,18^\circ$) e, conseqüentemente a maior coloração vermelha, enquanto os frutos do controle C 75% apresentaram o maior ângulo Hue ($62,13^\circ$). Todos os tratamentos pós-colheita diminuíram o ângulo Hue após os 4 dias de armazenamento, porém não atingiram o mesmo nível de coloração dos morangos amadurecidos *in vivo* (C 100%) e não apresentaram diferença estatística entre si.

Já em relação ao parâmetro a^* ($+a^*$: vermelho e $-a^*$: verde), representado na Figura 11, todos os frutos pós-colheita apresentaram maior coloração vermelha, independente do tratamento, em comparação com os frutos do controle C 75% maturados *in vivo*. Porém, dentre esses tratamentos, o controle C e o tratamento com ABA apresentaram maior coloração vermelha e não diferiram entre si; enquanto os frutos tratados com UV-C e ABA+UV-C não diferiram entre si e apresentaram os menores valores dentre os tratamentos pós-colheita, sugerindo que a aplicação de UV-C resulta no atraso do acúmulo de antocianinas.

Em relação a acidez total titulável, houve diferença entre os tratamentos (Figura 11). Os frutos do controle pós-colheita C ($1,28 \text{ mg ácido cítrico} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) e os tratados com UV-C ($1,20 \text{ mg ácido cítrico} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) e ABA ($1,26 \text{ mg ácido cítrico} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) não diferiram entre si e não diferiram dos frutos controle C 75% ($1,24 \text{ mg ácido cítrico} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) maturados *in vivo*. Todos os frutos armazenados apresentaram teor de acidez mais elevado, independente do tratamento, comparados aos frutos do controle C 100% ($1,03 \text{ mg ácido cítrico} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) maturados *in vivo*. Por outro lado, em relação ao pH dos frutos, não houve diferença significativa entre os frutos armazenados, independente do tratamento, comparados aos frutos dos controles C 100% e C 75% maturados *in vivo*.

Observou-se que os frutos do controle C 100% ($7,64^\circ$) mantiveram o mesmo teor de SSTs quando comparado aos frutos do controle C 75% ($6,93^\circ$), indicando que após o estágio de 75% de maturação não há aumento significativo no conteúdo de SSTs. De forma similar, os tratamentos pós-colheita não afetaram o conteúdo de SST, a exceção do tratamento ABA+UV-C que apresentou valores de $^\circ\text{Brix}$ menores do que os frutos do tratamento C 75% (Figura 11).

O armazenamento resultou na diminuição da firmeza de todos os frutos, independente do tratamento, comparados aos frutos do controle C 75% (0,75 N) maturados *in vivo* (Figura 11).

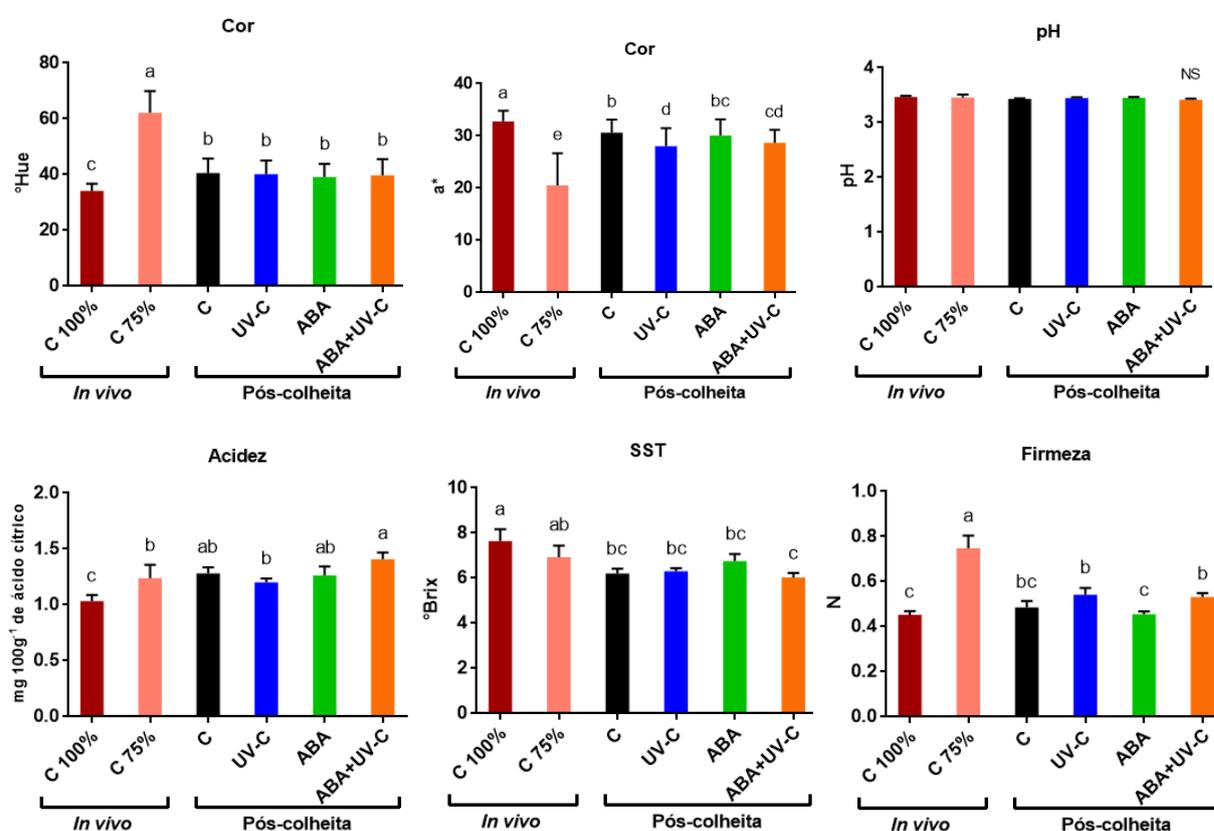


Figura 11 - Atributos de qualidade em morangos submetidos aos tratamentos (C: sem ABA/sem UV-C; UV-C: 2x2 kJ m⁻²; ABA: 1 mM ABA, ABA+UV-C: 1 mM ABA + 2x2 kJ m⁻²) na pós-colheita, armazenados durante quatro dias a 20°C e 80% de umidade relativa e frutos colhidos com maturação *in vivo* (C 100%: frutos colhidos maduros; C 75%: frutos colhidos imaturos). Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). NS: não significativo.

6.2 Variáveis de qualidade funcional

6.2.1 Compostos fenólicos individuais

Neste trabalho, foram identificados e quantificados 20 compostos fenólicos em morangos “San Andreas”, sendo que dentre esses a catequina foi a majoritária, seguida pela apigenina 4-glicosídeo, conforme a Tabela 1.

Em relação as catequinas, todos os frutos armazenados, independentes dos tratamentos, apresentaram diminuição no teor deste composto, comparando com os frutos do controle C 75% (464,81 µg g⁻¹) maturados *in vivo*. Porém, os frutos do controle pós-colheita C (329,08 µg g⁻¹), os tratados com UV-C (338,37 µg g⁻¹) e ABA+UV-C (327,97 µg g⁻¹) apresentaram teor similar ao encontrado nos frutos do

controle C 100% ($319,12 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*. Os frutos tratados com ABA ($381,33 \mu\text{g g}^{-1}$) foram os que apresentaram maior teor de catequina dentre os tratamentos pós-colheita, sugerindo que o ABA possa retardar a degradação deste composto durante o armazenamento.

O armazenamento também provocou a diminuição do teor de epicatequinas, independente dos tratamentos (C: $4,16 \mu\text{g g}^{-1}$; UV-C: $4,11 \mu\text{g g}^{-1}$; ABA: $4,09 \mu\text{g g}^{-1}$; ABA+UV-C: $4,06 \mu\text{g g}^{-1}$), comparados aos frutos do controle C 75% ($7,09 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*; porém, todos os tratamentos pós-colheita alcançaram níveis similares deste composto quando comparados aos frutos do controle C 100% ($4,56 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo* e não apresentaram diferenças significativa entre si. Além disso, o teor de epicatequina no controle C 75% foi 98,48% menor, comparado ao teor de catequina no mesmo tratamento.

Todos os frutos armazenados apresentaram aumento no acúmulo de apigenina 4-glicosídeo, independente dos tratamentos, comparados aos frutos do controle C 75% ($71,28 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*, e não apresentaram diferenças significativas entre si. Além disso, os frutos do controle pós-colheita C ($161,79 \mu\text{g g}^{-1}$), os tratados com UV-C ($162,66 \mu\text{g g}^{-1}$) e ABA+UV-C ($163,31 \mu\text{g g}^{-1}$) apresentaram acúmulo deste composto similar aos frutos do controle C 100% ($174,12 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*. De forma similar, todos os frutos apresentaram aumento no acúmulo de apigenina em relação aos frutos do controle C 75% ($2,52 \mu\text{g g}^{-1}$); porém, não atingiram os mesmos níveis encontrados nos frutos do controle C 100% ($5,56 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*.

Quanto aos teores do grupo das quercetinas, a dihidroquercetina 3-ramnosídeo foi a majoritária, seguida pela quercetina 3-glicuronídeo e quercetina 3-alfa-D-galactosídeo. Em relação à dihidroquercetina 3-ramnosídeo, o armazenamento provocou o acúmulo deste composto, independente dos tratamentos, comparados aos frutos do controle C 75% ($25,35 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo* e, alcançaram níveis similares aos encontrados nos frutos do controle C 100% ($61,29 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*. Os frutos armazenados apresentaram teores similares de quercetina 3-glicuronídeo, quando comparados aos frutos dos controles C 75% ($41,43 \mu\text{g g}^{-1}$) e C 100% ($39,43 \mu\text{g g}^{-1}$), que não diferiram entre si. Porém, os frutos tratados com ABA+UV-C ($46,13 \mu\text{g g}^{-1}$) apresentaram acúmulo maior em relação aos frutos tratados apenas com ABA ($33,10 \mu\text{g g}^{-1}$). Já em relação ao teor de quercetina 3-alfa-D-galactosídeo, não houve diferença significativa entre nenhum dos tratamentos.

Em relação ao grupo das luteolinas, a luteolina 4-glicosídeo foi a majoritária seguida pela luteolina 7-glicuronídeo, luteolina 7-galactosídeo e luteolina. O armazenamento provocou o aumento do acúmulo de luteolina 4-glicosídeo, independente dos tratamentos, comparados aos frutos do controle C 75% ($7,41 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*. Os frutos tratados com ABA+UV-C ($49,50 \mu\text{g g}^{-1}$) e os do controle pós-colheita C ($44,00 \mu\text{g g}^{-1}$), não diferiram entre si, e apresentaram maior acúmulo deste composto comparados aos frutos do controle C 100% ($35,24 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*, enquanto que os frutos tratados com UV-C ($36,34 \mu\text{g g}^{-1}$) e ABA ($29,42 \mu\text{g g}^{-1}$) não diferiram entre si, e apresentaram níveis similares aos frutos do controle C 100%. Os frutos tratados com UV-C ($18,33 \mu\text{g g}^{-1}$) e os do controle pós-colheita C ($18,30 \mu\text{g g}^{-1}$), não diferiram entre si, e apresentaram um acúmulo maior de luteolina 7-glicuronídeo comparados aos demais tratamentos, exceto ABA+UV-C. Todos os frutos armazenados, independente dos tratamentos, apresentaram um acúmulo maior de luteolina 7-galactosídeo comparados aos frutos do controle C 75% ($1,97 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*, sendo que os frutos do controle pós-colheita C ($7,90 \mu\text{g g}^{-1}$) apresentaram níveis superiores deste composto (incremento de 74%) comparado aos frutos do controle C 100% ($4,54 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*. Os frutos do controle pós-colheita C ($1,67 \mu\text{g g}^{-1}$), tratados com UV-C ($1,66 \mu\text{g g}^{-1}$) e tratados com ABA ($1,69 \mu\text{g g}^{-1}$), não diferiram entre si, e acumularam maior teor de luteolina comparados aos frutos do controle C 75% ($1,46 \mu\text{g g}^{-1}$), controle C 100% ($1,46 \mu\text{g g}^{-1}$) e ABA+UV-C ($1,53 \mu\text{g g}^{-1}$).

Houve aumento do teor de eriodictiol 7-glicosídeo e metilsiringina em todos os frutos armazenados, independente dos tratamentos, quando comparados aos frutos do controle C 75% ($6,18 \mu\text{g g}^{-1}$ e $1,89 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) maturados *in vivo*, porém nenhum dos tratamentos pós-colheita alcançaram os níveis deste composto quando comparados aos frutos do controle C 100% ($23,51 \mu\text{g g}^{-1}$ e $19,92 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) maturados *in vivo*.

Foi observado uma diminuição do teor de ácido elágico 2-ramnosídeo e ácido elágico em todos os frutos armazenados, independente dos tratamentos, já que apresentaram valores estatisticamente inferiores aos encontrados nos frutos do controle C 75% e C 100% maturados *in vivo*. Por outro lado, houve acúmulo positivo de rutina nos frutos tratados com ABA+UV-C ($5,72 \mu\text{g g}^{-1}$), pois apresentou um teor maior do que nos frutos dos demais tratamentos.

Pode-se observar que os frutos do controle pós-colheita C ($5,88 \mu\text{g g}^{-1}$) apresentaram um acúmulo positivo (incremento de 13,73%) de ácido 4-hidroxibenzoico comparado aos frutos do controle C 75% ($5,17 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*, enquanto que os demais tratamentos pós-colheita (UV-C: $5,58 \mu\text{g g}^{-1}$; ABA: $5,02 \mu\text{g g}^{-1}$; ABA+UV-C: $5,23 \mu\text{g g}^{-1}$) não diferiram entre si e nem do controle C 75%. Todos os frutos armazenados, independente dos tratamentos, apresentaram níveis maiores de ácido 4-hidroxibenzoico comparados aos frutos do controle C 100% ($3,87 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*.

Em relação ao kaempferol 3-O-acetil-glicosídeo pode-se observar que os frutos do controle pós-colheita C ($2,19 \mu\text{g g}^{-1}$) e os tratados apenas com UV-C ($2,35 \mu\text{g g}^{-1}$), que não diferiram entre si, mantiveram similares os teores deste composto comparados aos frutos do controle C 75% ($2,45 \mu\text{g g}^{-1}$) e C 100% ($2,36 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*, que também não diferiram. Já os frutos tratados com ABA ($1,72 \mu\text{g g}^{-1}$) e ABA+UV-C ($2,01 \mu\text{g g}^{-1}$), não diferiram entre si, e apresentaram uma diminuição no teor de kaempferol 3-O-acetil-glicosídeo comparados aos outros frutos armazenados e, também, aos frutos dos controles C 75% e C 100% maturados *in vivo*. O kaempferol 3-(6-acetilgalactosídeo) teve um acúmulo positivo em função do armazenamento, pois todos os tratamentos pós-colheita (controle pós-colheita C: $0,75 \mu\text{g g}^{-1}$; UV-C: $1,16 \mu\text{g g}^{-1}$; ABA: $0,75 \mu\text{g g}^{-1}$; ABA+UV-C: $0,84 \mu\text{g g}^{-1}$) apresentaram valores maiores comparados aos frutos do controle C 75% ($0,10 \mu\text{g g}^{-1}$) e C 100% ($0,25 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*, porém o tratamento apenas com UV-C foi o que mais se destacou e se observou o maior acúmulo.

O armazenamento manteve os níveis similares de ácido p-cumárico, independente dos tratamentos (controle pós-colheita C: $0,95 \mu\text{g g}^{-1}$; UV-C: $0,99 \mu\text{g g}^{-1}$; ABA: $0,95 \mu\text{g g}^{-1}$; ABA+UV-C: $0,97 \mu\text{g g}^{-1}$), comparados aos frutos do controle C 75% ($0,99 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*; porém, apenas os frutos tratados com UV-C apresentaram o mesmo nível deste composto comparado aos frutos do controle C 100% ($1,05 \mu\text{g g}^{-1}$) maturados *in vivo*.

Tabela 1 – Conteúdo de compostos fenólicos em morangos submetidos à tratamentos pós-colheita (C, UV-C, ABA, ABA+UV-C), após quatro dias de armazenamento a 20°C e 80 % de umidade relativa e frutos com maturação *in vivo* (C 100%, C 75%).

| Composto | Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$) | | | | | | | |
|-------------------------------------|---------------------------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|--|--|
| | C 100% | C 75% | C | UV-C | ABA | ABA+UV-C | | |
| Catequina | 319,12 ± 8,27 c | 464,81 ± 15,49 a | 329,08 ± 36,80 c | 338,37 ± 21,67 bc | 381,33 ± 12,11 b | 327,97 ± 8,04 c | | |
| Epicatequina | 4,56 ± 0,18 b | 7,09 ± 0,43 a | 4,16 ± 0,25 b | 4,11 ± 0,18 b | 4,09 ± 0,15 b | 4,06 ± 0,01 b | | |
| Apigenina 4-glicosídeo | 174,12 ± 7,80 a | 71,28 ± 4,23 c | 161,79 ± 2,08 ab | 162,66 ± 6,12 ab | 159,91 ± 2,47 b | 163,31 ± 0,52 ab | | |
| Apigenina | 5,56 ± 0,32 a | 2,52 ± 0,24 c | 4,03 ± 0,10 b | 4,29 ± 0,16 b | 4,18 ± 0,11 b | 4,09 ± 0,15 b | | |
| Dihidroquercetina 3-ramnosídeo | 61,29 ± 2,77 a | 25,35 ± 1,49 b | 62,47 ± 2,51 a | 63,63 ± 1,92 a | 59,90 ± 1,11 a | 61,66 ± 3,40 a | | |
| Quercetina-3-glicuronídeo | 39,43 ± 5,30 ab | 41,43 ± 4,83 ab | 38,94 ± 4,99 ab | 37,85 ± 5,07 ab | 33,10 ± 2,11 b | 46,13 ± 7,75 a | | |
| Quercetina 3-alfa-D-galactosídeo | 3,33 ± 0,04 ns | 3,46 ± 0,19 | 3,49 ± 0,09 | 3,53 ± 0,03 | 3,46 ± 0,28 | 3,45 ± 0,10 | | |
| Luteolina-4'-glicosídeo | 35,24 ± 3,23 c | 7,41 ± 0,82 d | 44,00 ± 4,31 ab | 36,34 ± 2,10 bc | 29,42 ± 4,00 c | 49,50 ± 6,39 a | | |
| Luteolina-7-glicuronídeo | 14,74 ± 0,54 b | 13,39 ± 1,39 b | 18,30 ± 2,48 a | 18,33 ± 0,23 a | 14,05 ± 0,48 b | 16,03 ± 1,91 ab | | |
| Luteolina 7-galactosídeo | 4,54 ± 0,45 bc | 1,97 ± 0,04 d | 7,90 ± 0,35 a | 4,85 ± 0,41 b | 4,00 ± 0,32 c | 5,15 ± 0,44 b | | |
| Luteolina | 1,46 ± 0,04 b | 1,46 ± 0,04 b | 1,67 ± 0,08 a | 1,66 ± 0,03 a | 1,69 ± 0,06 a | 1,53 ± 0,06 b | | |
| Eriodictiol-7-glicosídeo | 23,51 ± 1,16 a | 6,18 ± 0,41 d | 17,73 ± 0,40 b | 16,71 ± 0,62 bc | 15,79 ± 0,55 c | 15,60 ± 0,50 c | | |
| Metilsiringina | 19,92 ± 1,20 a | 1,89 ± 0,04 d | 11,00 ± 0,73 bc | 9,78 ± 0,63 c | 12,28 ± 0,99 b | 12,21 ± 0,71 b | | |
| Ácido elágico 2-ramnosídeo | 16,71 ± 0,76 ab | 18,15 ± 0,45 a | 15,20 ± 1,17 bc | 12,80 ± 0,13 d | 12,96 ± 0,87 d | 14,81 ± 0,81 c | | |
| Ácido elágico | 10,96 ± 1,56 a | 11,24 ± 0,72 a | 8,11 ± 0,64 b | 8,77 ± 0,69 b | 7,39 ± 0,38 b | 7,88 ± 0,79 b | | |
| Rutina | 4,35 ± 0,11 b | 3,99 ± 0,17 b | 4,62 ± 0,28 b | 4,73 ± 0,25 b | 4,57 ± 0,42 b | 5,72 ± 0,60 a | | |
| Ácido 4-hidroxibenzoico | 3,87 ± 0,08 c | 5,17 ± 0,27 b | 5,88 ± 0,24 a | 5,58 ± 0,29 ab | 5,02 ± 0,22 b | 5,23 ± 0,36 b | | |
| Kaempferol 3-O-acetil-glicosídeo | 2,36 ± 0,04 ab | 2,45 ± 0,15 a | 2,19 ± 0,16 ab | 2,35 ± 0,14 ab | 1,72 ± 0,25 c | 2,01 ± 0,17 bc | | |
| Kaempferol 3-(6-acetilgalactosídeo) | 0,25 ± 0,03 c | 0,10 ± 0,00 c | 0,75 ± 0,12 b | 1,16 ± 0,07 a | 0,75 ± 0,08 b | 0,84 ± 0,05 b | | |
| Ácido p-cumárico | 1,05 ± 0,06 a | 0,99 ± 0,02 ab | 0,95 ± 0,02 b | 0,99 ± 0,01 ab | 0,95 ± 0,04 b | 0,97 ± 0,03 b | | |

Resultados expressos em média ($\mu\text{g g}^{-1}$ massa seca) ± erro padrão. C: controle, UV-C: 2x2 kJ m⁻², ABA: 1 mM de ABA, ABA+UV-C: 1 mM + 2x2 kJ m⁻², C 100%: frutos colhidos maduros, C 75%: frutos colhidos imaturos. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05); ns: não significativo.

6.2.2 Antocianinas individuais

Foram identificadas e quantificadas 3 antocianinas em morangos “San Andreas”, sendo que dentre essas a pelargonidina-3-glicosídeo foi a majoritária seguida pela pelargonidina-3-O-rutinosídeo e delphinidina 3-O-glicosídeo (Figura 12).

A pelargonidina 3-glicosídeo foi acumulada em função do armazenamento de forma independente dos tratamentos, e esse acúmulo foi similar ao nível encontrado nos frutos do controle C 100% maturados *in vivo*. O tratamento C 75% (627,54 $\mu\text{g g}^{-1}$) apresentou o menor teor de pelargonidina-3-glicosídeo em comparação com os demais tratamentos (C 100%: 1983,63 $\mu\text{g g}^{-1}$; C: 1920,57 $\mu\text{g g}^{-1}$; UV-C: 1928,62 $\mu\text{g g}^{-1}$; ABA: 1850,91 $\mu\text{g g}^{-1}$; ABA+UV-C: 1980,22 $\mu\text{g g}^{-1}$), que não diferiram entre si. Já a pelargonidina-3-O-rutinosídeo também aumentou seu conteúdo em função do armazenamento, independente dos tratamentos, porém não alcançou o mesmo nível de acúmulo comparado aos frutos do controle C 100% maturados *in vivo*.

Das 3 antocianinas identificadas e quantificadas, a delphinidina-3-O-glicosídeo foi a que apresentou o menor acúmulo, sendo que os tratamentos com UV-C (2,41 $\mu\text{g g}^{-1}$) e ABA (2,45 $\mu\text{g g}^{-1}$) resultaram em menores teores dessa antocianina, comparado ao controle C 75% (2,79 $\mu\text{g g}^{-1}$); no entanto, todos os frutos armazenados, independente dos tratamentos, apresentaram um acúmulo similar comparados aos frutos do controle C 100% maturados *in vivo*.

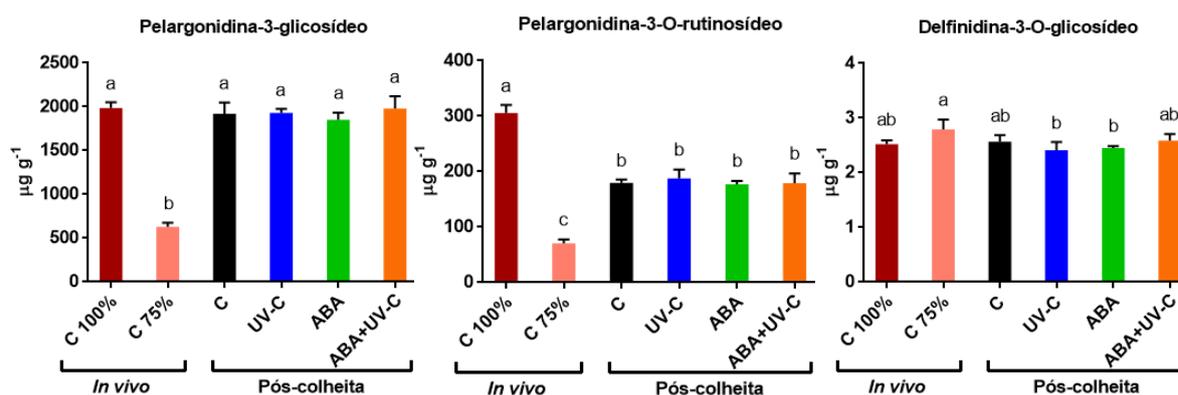


Figura 12 - Conteúdo de antocianinas individuais em morangos submetidos aos tratamentos (C: sem ABA/sem UV-C; UV-C: $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$; ABA: 1 mM de ABA; ABA+UV-C: 1 mM + $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$) na pós-colheita, armazenados durante quatro dias a 20 °C e 80% de umidade relativa e frutos colhidos com maturação *in vivo* (C 100%: frutos colhidos maduros; C 75%: frutos colhidos imaturos). 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 ($p \leq 0,05$).

6.2.3. Ácido L-ascórbico

O armazenamento resultou no efeito negativo no acúmulo de ácido L-ascórbico, visto que os frutos do controle pós-colheita C (4,57 mg 100g⁻¹) apresentaram valor inferior estatisticamente aos frutos do controle C 75% (6,09 mg 100g⁻¹) maturados *in vivo* (Figura 13). Porém, o efeito foi recuperado nos frutos tratados com UV-C (6,72 mg 100g⁻¹) e ABA+UV-C (7,47 mg 100g⁻¹), que não diferiram estatisticamente dos frutos controle C 100% (5,87 mg 100g⁻¹) maturados *in vivo*, sugerindo que a aplicação de radiação UV-C colaborou para manutenção dos níveis de ácido L-ascórbico durante o armazenamento.

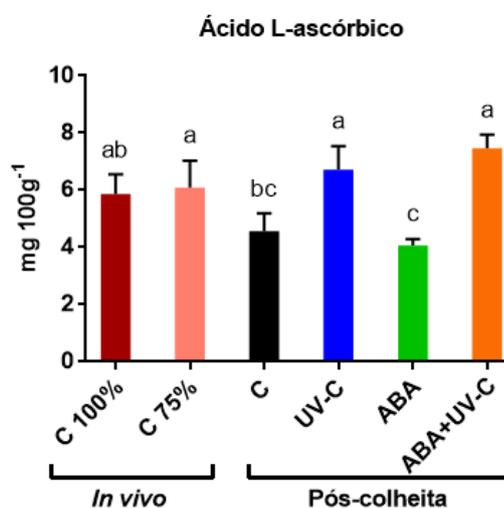


Figura 13 - Teor de ácido L-ascórbico em morangos submetidos aos tratamentos (C: sem ABA/sem UV-C; UV-C: 2x2 kJ m⁻²; ABA: 1 mM de ABA, ABA+UV-C: 1 mM + 2x2 kJ m⁻²) na pós-colheita, armazenados durante quatro dias a 20°C e 80% de umidade relativa e frutos colhidos com maturação *in vivo* (C 100%: frutos colhidos maduros; C 75%: frutos colhidos imaturos). Resultados expressos em média ± desvio padrão (mg 100g⁻¹ massa seca). Letras iguais no mesmo gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

6.2.4 Ácido abscísico (ABA), ABA-GE, PA e DPA

O armazenamento não induziu o acúmulo de ABA, uma vez que não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos C 75% (2,04 µg g⁻¹) e C (5,94 µg g⁻¹), os quais também não diferiram dos frutos maturados *in vivo* (C 100%: 2,64 µg g⁻¹) (Figura 14). Porém, os frutos que foram tratados com ABA, ou ABA+UV-C apresentaram maior acúmulo deste fitormônio, sendo que o maior teor de ABA foi encontrado nos frutos tratados apenas com ABA (39,71 µg g⁻¹), seguido do tratamento com ABA+UV-C (19,00 µg g⁻¹). De forma similar, em relação ao ABA-GE, o tratamento com ABA (21,25 µg g⁻¹) foi o que apresentou maior teor, seguido do tratamento ABA+UV-C (14,48 µg g⁻¹). Os demais tratamentos não diferiram entre si.

O tratamento com ABA apresentou o maior teor de PA, comparado aos demais tratamentos. O controle *in vivo* C 100% e aos tratamentos pós-colheita C e UV-C apresentaram os menores teores e não diferiram entre si; enquanto que, os frutos tratados com ABA+UV-C não diferiram do controle C 75% *in vivo*.

Quanto ao DPA, os frutos tratados com ABA apresentaram maior teor ($2,24 \mu\text{g g}^{-1}$) comparado aos tratados com UV-C ($1,61 \mu\text{g g}^{-1}$), que apresentou o menor valor e, aos controles C 75% ($1,92 \mu\text{g g}^{-1}$) e C 100% ($2,10 \mu\text{g g}^{-1}$), que não diferiram entre si.

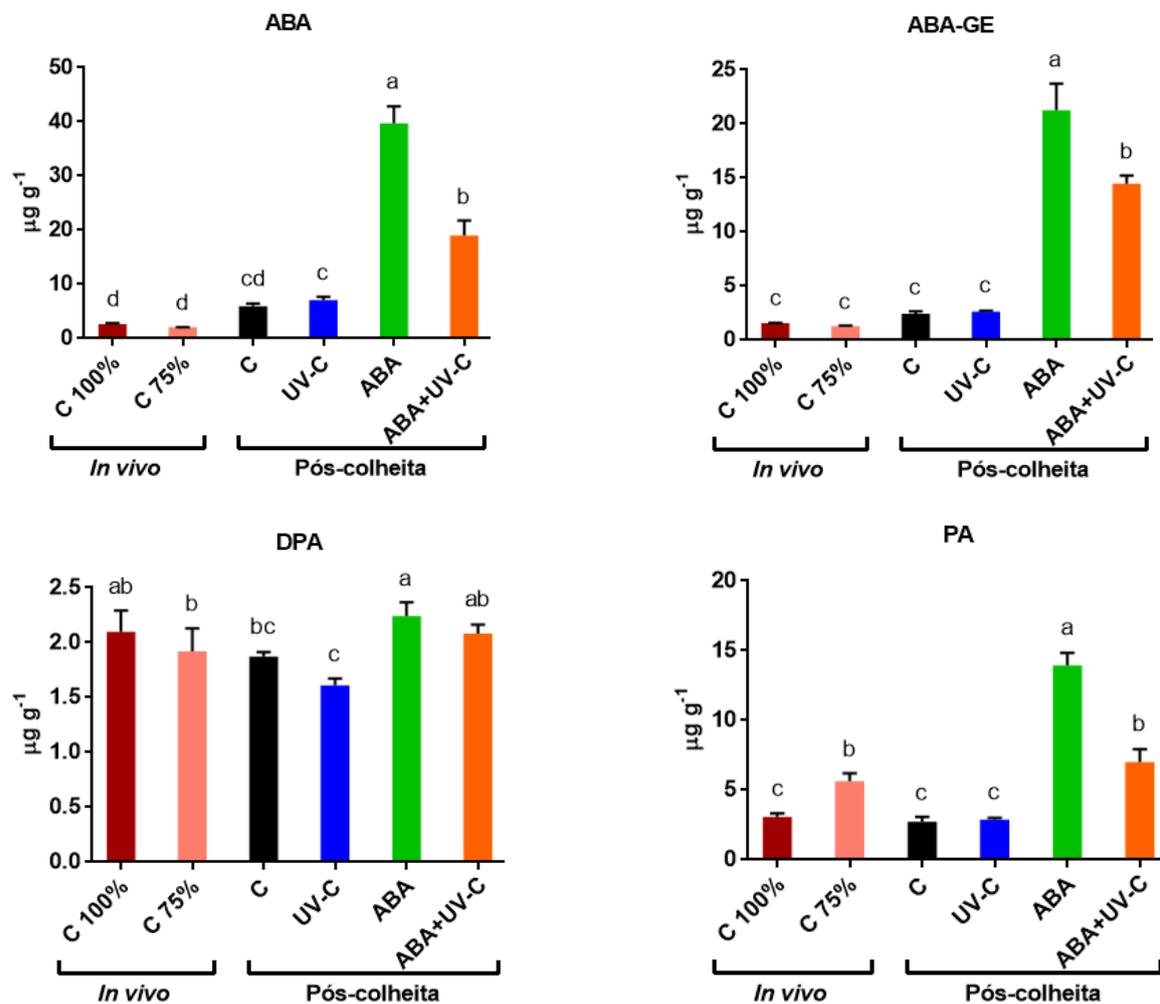


Figura 14 - Teor de ácido abscísico (ABA), ABA-glicosil éster (ABA-GE), ácido faseico (PA) e ácido dehidrofaseico (DPA) em morangos submetidos aos tratamentos (C: sem ABA/sem UV-C; UV-C: $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$; ABA: 1 mM de ABA; ABA+UV-C: 1 mM + $2 \times 2 \text{ kJ m}^{-2}$) na pós-colheita, armazenados durante quatro dias a 20°C e 80% de umidade relativa e frutos colhidos com maturação *in vivo* (C 100%: frutos colhidos maduros; C 75%: frutos colhidos imaturos) 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 ($p \leq 0,05$);

6.2.5 Análise estatística e quimiometria

Para avaliar a variação dos diferentes tratamentos pós-colheita no morango foi realizada a análise de componentes principais (PCA) levando em consideração todas as variáveis dependentes medidas (ângulo °Hue, ângulo a*, pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais, firmeza, ácido L-ascórbico, ABA, ABA-GE, PA, DPA, antocianinas individuais, compostos fenólicos individuais).

A partir da análise de PCA foi possível perceber que houve separação entre os tratamentos (Figura 15A) e, que o componente principal 1 (PC1) foi responsável por 62,5% da variação total, enquanto o componente principal 2 (PC2) foi responsável por 27%, totalizando 89,5%.

Na Figura 15A é possível perceber a separação em 3 grupos, onde os morangos C 75% *in vivo* apresentaram a maior diferenciação entre os demais tratamentos seguidos pelos morangos tratados com ABA e ABA+UV-C, que não diferiram entre si. Já os morangos do controle C e tratados com UV-C não apresentaram diferenças entre si, porém se diferenciaram dos demais.

A partir da análise *biplot* (derivada do PCA) foram obtidas as variáveis que mais contribuíram para dispersão entre os controles *in vivo* e os tratamentos pós-colheita dos morangos (Figura 15B). As principais variáveis foram identificadas como ABA-GE, ABA, PA, kaempferol 3-(6-acetilgalactosídeo), luteolina 4-glicosídeo e metilsiringina.

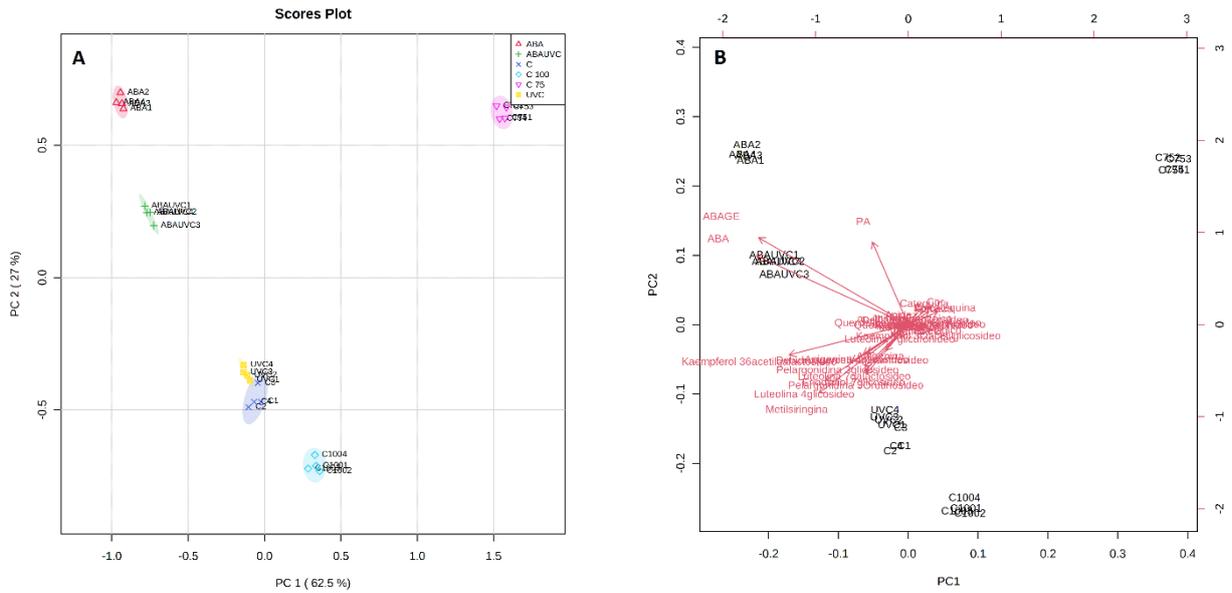


Figura 15 - Resultado da análise de componentes principais (PCA) para morangos *in vivo* e tratados pós-colheita. (A) *Score plot* e (B) *loading plot*.

Para comprovar a separação entre os tratamentos e determinar quais compostos contribuíram para essa separação também foi aplicada a análise de PLS-DA. O modelo apresentou boa predição e regressão, com valores de R² (0,98) e Q² (0,95). O R² indica qualidade do ajuste e Q² indica a qualidade da previsão. A discriminação entre os tratamentos foi confirmada pela análise de PLS-DA (Figura 16A), onde também se observou a formação de 3 grupos. Da mesma forma que no PCA observou-se um distanciamento do tratamento C 75% e a aproximação do controle C 100% com o controle C pós-armazenamento e UV-C. A discriminação dos tratamentos com aplicação de ABA também foi observada.

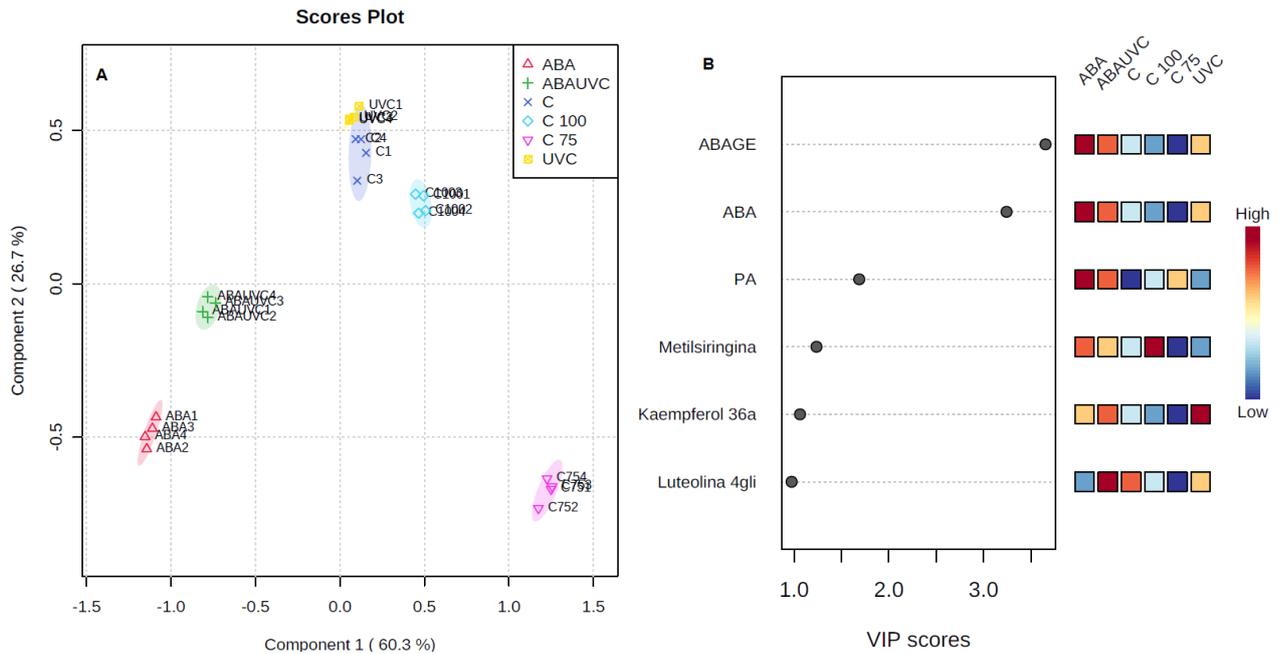


Figura 16 - Score plot da análise de componentes principais (A) e projeção de importância das variáveis (VIP scores derivados do PLS-DA) para os frutos *in vivo* e para os armazenados (B).

A partir da análise de PLS-DA, baseado na projeção de importância das variáveis (VIP score), foi possível identificar os compostos que influenciaram para separação dos tratamentos, considerando que quanto maior os valores de VIP score, maior a contribuição na discriminação dos grupos. Em geral, valores de VIP score superiores a um são utilizados para seleção das variáveis (NOPPAMAS AKARACHANTACHOTE, SEREE CHADCHAM, 2014). A Figura 16B apresenta os compostos e a sua influência para separação dos tratamentos *in vivo* e pós-colheita.

A variável ABA-GE apresentou um valor de VIP score superior a 3,5 e foi o principal composto responsável pela separação dos tratamentos, seguida pela variável ABA (VIP score de aproximadamente 3,25). A menor concentração de ABA-GE e ABA no tratamento C 75% contribuiu para dispersão do mesmo em relação aos demais tratamentos. Por outro lado, as variáveis ABA-GE, ABA e PA apresentaram VIP score próximo de 3,5; 3,25 e 1,75, respectivamente e a maior concentração destes compostos foi observada nos tratamentos com ABA e ABA+UV-C.

A metilsiringina, kaempferol 3-(6-acetilgalactosídeo) e a luteolina 4-glicosídeo contribuíram para dispersão do tratamento C 75%, pois apresentaram a menor concentração neste tratamento.

7 Discussão

O processo de amadurecimento do morango é complexo e geneticamente programado, e envolve alterações no metabolismo que refletem na qualidade final dos frutos, incluindo o acúmulo de antocianinas, degradação da clorofila, quebra da parede celular, biossíntese de açúcares e voláteis (KNEE et al. 1977; MISZCZAC et al. 1995; ORNELAS-PAZ et al. 2013; CHEN et al. 2014). Por serem frutos não-climatéricos, no sistema atual de produção os morangos são colhidos no estágio completamente maduro. Conforme demonstrado no presente estudo, neste estágio os frutos apresentam coloração vermelho brilhante, com menor ângulo Hue e maior a^* do que frutos com 75% da superfície vermelha (C 75%). Além disso, apresentam menor acidez, menor teor de catequinas e epicatequinas, e menor firmeza; níveis similares de pH, SST e ácido L-ascórbico; e maior teor de antocianinas (pelargonidina 3-glicosídeo e pelargonidina 3-O-rutinosídeo) e da maioria dos compostos fenólicos avaliados, comparados aos frutos C 75%. Essas características tornam o fruto atrativo aos consumidores, pois apresentam sabor doce, aromático e com textura macia (FORNEY et al., 2000; MANIKEN, SÖDERLING, 1980; MOYA-LEÓN, 2019). Porém, essas mesmas características o tornam altamente perecíveis. A baixa resistência mecânica devido à fragilidade celular, susceptibilidade ao crescimento fúngico e alta taxa respiratória, acarretam em perdas importantes no pós-colheita (FLORES CANTILLANO, 2016; BATISTA, 2017; PALHA, 2005; JIA et al., 2011; TAIZ et al., 2017).

Uma alternativa para minimizar esses problemas seria colher o fruto antes da plena maturação. Siebeneichler et al. (2020), compararam o processo de amadurecimento *in vivo* com o amadurecimento pós-colheita de frutos de morango, e relataram que frutos colhidos no estágio branco, apresentaram maior firmeza; níveis similares de pH e ácido L-ascórbico; e perfil diferente de antocianinas e de compostos fenólicos, comparado aos frutos maduros. De forma similar, em trabalho realizado por Severo, et al. (2011) os frutos com 75% da superfície vermelha apresentaram maior firmeza e menor teor de antocianinas quando comparados com frutos com 100% da superfície vermelha. Esses resultados corroboram com os resultados encontrados em nosso estudo, que indicam que a cor, a textura e a composição química de frutos com 75% da superfície vermelha diferem das observadas em frutos completamente maturados na planta, sendo necessário induzir o processo de maturação no período pós-colheita.

Estudos tem demonstrado que o morango, quando colhido antes da plena maturação, tem a capacidade de desenvolver uma maturação pós-colheita diferente da que ocorre em frutos que maturam na planta, devido a capacidade de desenvolver coloração avermelhada resultante do aumento do teor de antocianinas durante o período pós-colheita (CHEN et al., 2016; SIEBENEICHLER, et al., 2020). De fato, em nosso estudo, os frutos imaturos quando submetidos ao armazenamento pós-colheita (Figuras 11 e 12) apresentaram um incremento de coloração vermelha, evidenciada pelo aumento nos valores de a^* , diminuição do ângulo Hue, e aumento no teor de antocianinas (pelargonidina-3-glicosídeo e pelargonidina-3-O-rutinosídeo), além de perda de firmeza. De forma similar, em estudo realizado por Severo et al. (2015), em que estudaram a aplicação pós-colheita de radiação UV-C em frutos de morangos com 75% da superfície vermelha, observaram que os frutos controle (sem aplicação de UV-C), após quatro dias de armazenamento, apresentaram menor firmeza, maior teor de ácido L-ascórbico e teores de compostos fenólicos diferenciados quando comparados aos frutos no dia zero. Em conjunto, estes estudos indicam uma indução do processo de maturação durante o período pós-colheita. Porém, esta maturação é claramente distinta da observada *in vivo* (C 100%), uma vez que não atingiu os mesmos níveis de acidez e SST destes frutos. Além disso, o perfil de compostos fenólicos foi distinto, apresentando redução no teor de eriodictiol 7-glicosídeo, metilsiringina, ácido elágico, apigenina e ácido p-cumárico; e aumento no teor de ácido hidroxibenzóico, kaempferol 3-(6-acetilgalactosídeo), luteolina, luteolina 4-glicosídeo, luteolina 7-galactosídeo, luteolina 7-glicuronídeo, quando comparados aos frutos maturados *in vivo* (C 100%). A diminuição no teor de SST pode ser explicada, segundo Chen et al., (2014), pelo consumo dos açúcares devido ao aumento da taxa respiratória dos frutos após serem retirados da planta. Em suma, estes resultados indicam que, de fato, os frutos controle C (pós-colheita) amadurecem, porém, a maturação é diferente dos frutos que amadurecem na planta (C 100%). Esta comparação entre frutos maturados *in vivo* e no pós-colheita é de extrema relevância para que se possam adotar medidas para indução de uma maturação mais próxima a que ocorre nos frutos ligados à planta. Apesar disso, a literatura acerca desta comparação é escassa.

Recentemente, Siebeneichler et al., (2020) verificaram que morangos colhidos imaturos são capazes de sintetizar compostos determinantes para o amadurecimento de morangos, tais como antocianinas e ácido L-ascórbico; no entanto, esse

amadurecimento pós-colheita parece estar mais relacionado com uma resposta a déficit hídrico que os frutos sofrem após retirada da planta, por meio de uma via dependente de ABA. Isso foi demonstrado por Chen et al. (2016), através de um experimento realizado acoplando morangos a frascos com água, solução com ABA ou sem água; os frutos submetidos à condição de ausência de água tiveram aumento da síntese de antocianinas e conseqüentemente de cor vermelha. Perin et al. (2019) também relatou que frutos de morango oriundos de plantas que foram tratadas com restrição hídrica, apresentaram maior teor de antocianinas do que frutos de plantas sem restrição hídrica, por uma via dependente de ABA.

O papel do ABA no processo de maturação de frutos não-climatéricos vem sendo estudado intensamente nos últimos anos. Em morangos foi demonstrado que a aplicação de ABA proporciona o aumento no teor de antocianinas, ácido L-ascórbico, SST, diminuição da firmeza, além de influenciar no perfil de açúcares e compostos fenólicos em diferentes estádios de desenvolvimento (JIA et al., 2011, CHEN et al., 2011; LI et al., 2014; LI et al., 2015; CHEN et al., 2016; AYUB et al., 2016, SIEBENEICHLER et al., 2020). Porém, muitos destes estudos avaliaram o efeito da aplicação de ABA em frutos ligados à planta. A possibilidade de aplicação de ABA como indutor da maturação pós-colheita de frutos de morango imaturos ainda não está esclarecida. No presente estudo, a aplicação pós-colheita de ABA em frutos com 75% de maturação resultou em aumento esperado no teor de ABA, com conseqüente aumento no teor de ABA glicosilado (ABA-GE) e de seus catabólitos (PA e DPA). Apesar disso, apresentou características físicas e químicas semelhantes aos frutos armazenados que não receberam este tratamento (C), à exceção do perfil de compostos fenólicos, pois apresentaram maior teor de catequina e menor teor de ácido hidroxibenzóico, ácido elágico 2-ramnosídeo, kaempferol 3-O-acetil-glicosídeo, luteolina 4-glicosídeo, luteolina 7-galactosídeo, luteolina 7-glicuronídeo e eriodictiol 7-glicosídeo. Portanto, a aplicação de ABA afetou o metabolismo dos frutos, e isso foi demonstrado pela análise de PCA, onde os frutos que foram tratados com ABA ficaram em um grupo completamente separado dos demais tratamentos (Figura 15A), sendo que os principais compostos responsáveis por essa separação foram o ABA-GE, ABA e PA (Figura 16B). Corroborando com estes resultados, Siebeneichler et al. (2020) relataram que frutos de morango colhidos no estágio branco, tratados com ABA (1 μ M), armazenados a 20°C e 80% de UR, por cinco dias, também apresentaram aumento no teor de ABA, ABA-GE, e não apresentaram diferença na cor, SST,

firmeza, ácido L-ascórbico e pH, comparado aos frutos controle. Portanto, estes resultados diferem dos observados por CHEN et al., 2011; LI et al., 2014 CHEN et al., 2016), possivelmente por terem utilizado estádios de maturação dos frutos, concentração da solução de ABA, forma de aplicação e tempo em contato com o ABA diferentes.

Considerando que um dos principais problemas do pós-colheita de morangos é a fragilidade de polpa, além dos estudos abordando a indução de maturação pós-colheita, alguns estudos tem avaliado o efeito da radiação UV-C em morangos, incluindo sua utilização durante a pré-colheita (XIE et al., 2015; XIE et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; SEVERO, et al., 2017; FORGES, et al., 2018; XU, et al., 2019), e durante a pós-colheita, em morangos colhidos antes da maturação comercial (NIGRO, et al., 2000; POMBO, et al., 2009; POMBO, et al., 2011; LI, et al., 2014; SEVERO, et al., 2015) e, em morangos com maturação comercial (ERKAN, et al., 2008; COTE, et al., 2013; ARAQUE, et al., 2018, ARAQUE, et al., 2019). Estes estudos indicam que o tratamento com UV-C pós-colheita ativa mecanismos de defesa das frutas, induz o acúmulo de compostos antioxidantes, dentre eles o ácido L-ascórbico, metabólitos como carotenoides e antocianinas (CHARLES, et al., 2008; ERKAN, et al., 2008; SEVERO, et al., 2015); além disso, modula processos associados ao amadurecimento, como o atraso do amolecimento (PAN, et al., 2004; STEVENS, et al., 2004) e atraso da senescência (COSTA, et al., 2006; ALLENDE et al., 2006), conseqüentemente aumentando a vida pós-colheita (ARAQUE, et al., 2018). Porém, estes efeitos são dose-dependentes. Por exemplo, Erkan et al. (2008) relataram que houve aumento no teor de antocianinas durante o período de armazenamento de frutos de morango 100% maduros, porém dosagens de 0,43 e 2,15 KJ m⁻² apresentaram poucos efeitos sobre o acúmulo de antocianinas e, a dose de 4,3 KJ m⁻² reduziu notavelmente o acúmulo de antocianinas no morango. Além disso, frutos tratados com UV-C apresentaram aumento da capacidade antioxidante, do teor de compostos fenólicos e redução no apodrecimento. De forma similar, Cote et al., (2013), estudaram a influência de diferentes intensidades (3 W m⁻² e 33 W m⁻²) de radiação UV-C (4,0 KJ m⁻²), no pós-colheita em frutos de morango com 100% da superfície vermelha e relataram que os frutos que foram expostos a maior intensidade apresentaram retardo no amadurecimento, evidenciado por menor desenvolvimento de cor, menor acúmulo de antocianinas, menor amolecimento, e não ocasionando alteração dos níveis de SST, acidez titulável e antioxidantes solúveis em etanol. Além

disso, os resultados mostraram que, além da dose aplicada, a intensidade da radiação é o principal fator da eficácia dos tratamentos com UV-C, pois para uma determinada dose de radiação, o aumento da intensidade pode aumentar a qualidade da fruta e, reduzir significativamente o tempo de tratamento. Além disso, Araque et al., (2018) estudaram o efeito de aplicações curtas e repetidas (uma aplicação de 4 KJ m⁻²; duas aplicações de 2 KJ m⁻² e cinco aplicações de 0,8 KJ m⁻²), em morangos colhidos na maturação comercial, ao longo do período de armazenamento e observaram que as aplicações de duas e cinco etapas foram mais eficientes do que a aplicação em uma etapa na manutenção da firmeza, redução da deterioração, apresentaram melhores avaliações sensoriais dos consumidores e estenderam a vida pós-colheita dos frutos de morango.

Dessa forma, no presente estudo, os efeitos da radiação UV-C observados em frutos de morango 100% maduros foram investigados em frutos colhidos antes da plena maturação (75% da superfície vermelha). Diferente do relatado na literatura para frutos plenamente maturados, os frutos imaturos que receberam o tratamento com UV-C não apresentaram diferença estatística dos que não receberam este tratamento (Controle C), quanto à variável firmeza. Na verdade, através da análise de PCA (Figura 15A), observa-se que os frutos tratados com UV-C foram agrupados muito próximos aos frutos do controle (C). Apesar disso, foi possível observar que os frutos que receberam aplicação de UV-C e ABA + UV-C apresentaram maior firmeza dos que receberam apenas ABA e dos frutos controle C 100%. Pombo et al. (2009) reportaram que o tratamento com UV-C foi capaz de retardar o amolecimento de morangos, devido à expressão reduzida de um conjunto de genes de enzimas como expansinas, poligalacturonase e pectina metilesterase, que estão envolvidos na desmontagem da parede celular. Severo et al., (2011; 2015) também relataram a preservação da firmeza de frutos de morangos tratados com UV-C, devido ao menor acúmulo de transcritos dos genes da enzima pectatoliase, pectina metilesterase, poligalacturonase e β -galactosidase. Araque et al., (2018 e 2019) observaram que as irradiações com UV-C em duas ou múltiplas etapas foram mais eficientes na manutenção da firmeza de frutos de morangos e que as enzimas poligalacturonase, pectina metilesterase e β -glucanases foram inibidas transitoriamente. Além disso, Charles et al., (2008) relatou a possibilidade de que a manutenção da firmeza esteja relacionada com a indução de compostos fenólicos, lignificação e suberização da parede celular em resposta à exposição aos raios UV-C. Portanto, em nosso estudo,

a manutenção da firmeza nos tratamentos UV-C e ABA+UV-C pode estar relacionada à inibição ou menor acúmulo de transcritos das enzimas que estão envolvidas no processo de degradação da parede celular. Por outro lado, a aplicação de ABA parece desempenhar um papel contrário na firmeza dos morangos, pois em estudo realizado por Li et al., (2014), a aplicação exógena de ABA acelerou o amolecimento da polpa, o que também se constatou em nosso estudo (Figura 11).

Além da firmeza, outras variáveis foram afetadas em frutos imaturos que receberam UV-C. Apesar dos frutos tratados apresentarem os mesmos teores de pelargonidina 3-glicosídeo e delphinidina 3-O-glicosídeo, comparado aos frutos não tratados (C), o valor de a^* foi menor, caracterizando um atraso no aparecimento da cor. Em estudo realizado por Li et al. (2014), relataram que a aplicação de UV-C na dose de $4,1 \text{ kJ m}^{-2}$ em morangos no estágio verde suprimiu o acúmulo de antocianinas e que este fato pode ser atribuído à inibição das atividades das enzimas 4CL e DFR, pela radiação UV-C, o que corrobora com o estudo realizado por Pan et al. (2004) que também relataram o atraso no acúmulo de antocianinas em morangos com 75% e 50% da superfície avermelhada, tratados com doses de radiação UV-C de $4,1 \text{ kJ m}^{-2}$. Por outro lado, Severo et al., (2015), relataram aumento no conteúdo total de antocianinas e retenção da firmeza dos frutos com 75% da superfície vermelha tratados com uma dose de $4,35 \text{ kJ m}^{-2}$ de UV-C em relação ao controle (frutos com 75% da superfície avermelhada) e observaram que o aumento das antocianinas estava relacionado ao aumento do acúmulo de transcritos de PAL, uma das primeiras enzimas envolvidas na biossíntese de antocianinas e ANS que atua nas fases finais da rota, convertendo as leucoantocianidinas em antocianidinas. Portanto, sugere-se que os efeitos da irradiação UV-C nas antocianinas dependem da dosagem, intensidade e do tipo de cultivo (PERKINS-VEAZIE et al. 2008; COTE, et al., 2013).

Além disso, os frutos tratados com UV-C apresentaram maior acidez titulável (Figura 11), maior teor de ácido L-ascórbico (Figura 13), menores teores de ácido elágico 2-ramnosídeo e luteolina 7-galactosídeo (Tabela 1), quando comparados aos frutos não tratados. Segundo Agius et al., (2003) e Crus-Rus et al., (2011), a degradação da pectina da parede celular no processo de amadurecimento de frutos de morango influencia a síntese de ácido L-ascórbico pela liberação de ácidos galacturônicos, um precursor do ácido L-ascórbico. No presente estudo, os morangos tratados com UV-C e ABA+UV-C mantiveram valores similares aos teores de ácido L-ascórbico nos frutos C 75% e C 100% (controles *in vivo*), mesmo após o período de

armazenamento, sugerindo que a radiação UV-C atuou na preservação do ácido L-ascórbico. Corroborando com este resultado, Araque et al., (2018), relataram que não houve alterações significativas no teor de ácido L-ascórbico de frutos de morango plenamente maturados, que foram irradiados com UV-C durante o armazenamento. Em outro estudo realizado por Severo et al., (2015) observaram que morangos tratados com radiação UV-C aumentaram os níveis de ácido L-ascórbico após o quarto dia de armazenamento e que esse aumento também estava correlacionado ao aumento de transcritos de L-galactose desidrogenase e L-galactono-1,4-lactona desidrogenase, enquanto que nos frutos não tratados com UV-C o teor de ácido L-ascórbico diminuiu a partir do segundo dia de armazenamento. Essa diminuição pode ocorrer pelo fato do ácido L-ascórbico ser um composto antioxidante e estar envolvido em processos de senescência como a respiração e biodegradação de moléculas (PÉREZ, et al., 1999); além disso, os estresses bióticos e abióticos podem interferir na biossíntese desse composto (CORDENUNSI et al., 2005).

Uma vez que a literatura aponta que a aplicação de radiação UV-C preserva a firmeza e retarda o acúmulo de cor em morangos na pós-colheita, e que a aplicação de ABA tem pouca influência na firmeza e induz a biossíntese de antocianinas, que influenciam na cor, a combinação destes tratamentos foi avaliada neste estudo. Conforme observado na (Figura 15A), o tratamento ABA+UV-C apresentou um comportamento intermediário entre os tratamentos ABA e UVC. Este tratamento diferiu do tratamento UV-C por apresentar maiores teores de ABA, ABA-GE, PA e DPA, luteolina-4'-glicosídeo, metilsiringina, ácido elágico 2-ramnosídeo, rutina, maior acidez e menor teor de luteolina (Figura 17). Essas diferenças contribuíram para que esses tratamentos ficassem em grupos distintos na análise de PCA (Figura 15A).

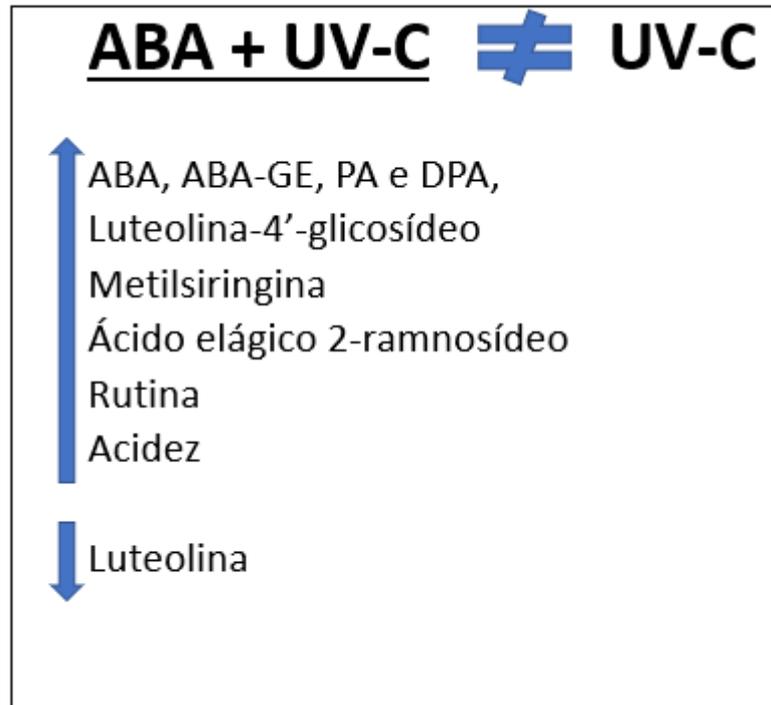


Figura 17 – Diferenças entre o tratamento combinado de ABA+UV-C e UV-C.

Por outro lado, o tratamento ABA+UV-C diferiu do tratamento ABA (Figura 18) apenas por apresentar maior firmeza, maior teor de ácido L-ascórbico, quercetina-3-glicuronídeo, luteolina-4'-glicosídeo, ácido elágico 2-ramnosídeo, luteolina-7-galactosídeo, rutina, menor teor de ABA, ABA-GE, PA, catequina e luteolina. Desta forma, os efeitos do tratamento com a combinação de ABA+UV-C se aproximam dos efeitos ocasionados pelo tratamento apenas com ABA e isso fica evidente na análise de PCA (Figura 15A), onde ambos os tratamentos se aproximam, especialmente devido suas similaridades na indução de ABA e seus derivados.



Figura 18 - Diferenças entre o tratamento combinado de ABA+UV-C e ABA.

8 Considerações finais

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, foi possível concluir que os frutos de morango colhidos antes da plena maturação (75% da superfície recoberta com a cor avermelhada) e armazenados por quatro dias em condições controladas, apresentaram uma maturação diferente de frutos de morango maturados na planta, principalmente em relação ao teor de acidez total titulável, SST, ABA e seus derivados, cor, teor de antocianinas e compostos fenólicos.

Apesar dos estudos relatarem que a aplicação exógena de ABA induz a coloração e o aumento do teor de antocianinas nos frutos de morango, no presente estudo, os frutos de morango submetidos apenas ao tratamento com ABA não diferiram dos demais tratamentos pós-colheita nestas variáveis. Porém, há relatos na literatura de que o estresse hídrico pode provocar o acúmulo de compostos responsáveis pela coloração, como as antocianinas, o que pode dificultar a interpretação do agente indutor destes compostos durante a pós-colheita, se seria o ABA aplicado de forma exógena ou a desidratação dos frutos. Além disso, a indução de antocianinas pode ser dependente da dose e da técnica utilizada na aplicação de ABA, bem como, da cultivar de morango utilizada. Ainda que o ABA não tenha tido o efeito relatado na literatura, quando avaliamos a análise multivariada de PCA e VIP score, nota-se que houve a formação de três grupos distintos e que os principais compostos responsáveis pela separação foram o ABA, ABA-GE e PA, indicando que os frutos responderam à aplicação exógena deste fitormônio.

Os frutos tratados com UV-C e ABA+UV-C foram os que apresentaram maiores teores de ácido L-ascórbico, sugerindo que a aplicação desta radiação pode resultar em aumento da qualidade dos frutos de morango, possivelmente por apresentar uma ação estressora capaz de induzir a produção de compostos antioxidantes, ou por reduzir a degradação destes. Apesar disso, contrário ao esperado, os tratamentos com UV-C não resultaram em maior firmeza dos frutos. Desta forma, mais estudos são necessários para o entendimento do efeito da radiação UV-C nestes frutos. Parâmetros como condições de armazenamento (temperatura, umidade relativa e tempo), dose, intensidade, distância de aplicação e estágio de maturação deverão ser considerados e testados, visando a manutenção da firmeza e aumento da qualidade funcional do morango.

Já em relação à aplicação de ABA exógeno pode-se considerar diferentes concentrações, formas de aplicação e estágio de maturação. Além disso, estudos

moleculares podem ser relevantes para o melhor entendimento das vias metabólicas envolvidas no processo de maturação.

9 Referências Bibliográficas

AABY, K.; EKEBERG, D.; SKREDE, G. Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.55, n.11, p.4395-4406, 2007.

ADAMS-PHILLIPS, Lori; BARRY, Cornelius; GIOVANNONI, Jim. Signal transduction systems regulating fruit ripening. **Trends in plant science**, v. 9, n. 7, p. 331-338, 2004.

AFRIN, S., GASPARRINI, M., FORBES-HERNANDEZ, T. Y., REBOREDO-RODRIGUEZ, P., MEZZETTI, B., VARELA-LÓPEZ, A., GIAMPIERI, F., & BATTINO, M. Promising Health Benefits of the Strawberry: A Focus on Clinical Studies. **Journal of agricultural and food chemistry**, 64(22), 4435–4449, 2016.

AGIUS, F. GONZÁLEZ-LAMOTHE, R. CABALLERO, J. L., MUÑOZ-BLANCO, J., BOTELLA, M. A., VALPUESTA, V. Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a D-galacturonic acid reductase. **Nat Biotechnol** 21: 177–181, 2003.

AKARACHANTACHOTE, N.; CHADCHAM, S.; SAITHANU, K. Cutoff threshold of variable importance in projection for variable selection. **International Journal of Pure and Applied Mathematics**, v. 94, n. 3, p. 307–322, 2014.

ALLENDE, Ana, et al. "Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed 'Red Oak Leaf' lettuce." **Food microbiology** 23.3 (2006): 241-249.

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.

ALEXANDER, Lucille; GRIERSON, Don. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of experimental botany**, v. 53, n. 377, p. 2039-2055, 2002.

ANTUNES, Luis Eduardo Corrêa; PERES, Natalia A. Strawberry Production in Brazil and South America. **International Journal of Fruit Science**, v. 13, n. 1-2, p. 156-161, 2013.

ANTUNES, L. E. C.; REISSER JUNIOR, C.; BONOW, S. Morango: produção aumenta ano a ano. **Embrapa Clima Temperado-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2021.

ANTUNES, A. C., ACUNHA, T. D. S., PERIN, E. C., ROMBALDI, C. V., GALLI, V., & CHAVES, F. C. Untargeted metabolomics of strawberry (*Fragaria x ananassa*

'Camarosa') fruit from plants grown under osmotic stress conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99 (15), 6973-6980, 2019.

ARAQUE, Leidy C. Ortiz et al. Cyclic low dose UV-C treatments retain strawberry fruit quality more effectively than conventional pre-storage single high fluence applications. *LWT - Food Science and Technology*, [s. l.], v. 92, n. September 2017, p. 304–311, 2018.

ARAQUE, Leidy Carolina Ortiz et al. Role of UV-C irradiation scheme on cell wall disassembly and surface mechanical properties in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v. 150, p. 122-128, 2019.

ARIZA, María Teresa, et al. "Strawberry achenes are an important source of bioactive compounds for human health." *International Journal of Molecular Sciences* 17.7 (2016): 1103.

ATHAR, H.; KHAN, A.; ASHRAF, M. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environ Exp Bot.* vol.63: 224–231, 2008.

AVIGDORI-AVIDOV H. **Strawberry**. Handbook of fruit set and development, CRC Press, Boca Raton, S. P. Ed. Monselise, p. 419-448, 1986.

AYUB, Ricardo A. et al. 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, 2016.

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.

BATTINO, Maurizio et al. The roles of strawberry and honey phytochemicals on human health: a possible clue on the molecular mechanisms involved in the prevention of oxidative stress and inflammation. *Phytomedicine*, p. 153170, 2020.

BERGAMASCHI, K. B. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". São Paulo.

BIASI, L.A. Reguladores de crescimento vegetal. In: Wachowicz, C.M.; Carvalho, R.I.N. (eds.). **Fisiologia Vegetal: Produção e Pós-colheita**. Curitiba: Editora Champagnat, p.63-94, 2002.

BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, v.161, p.839-851, 2001.

BU, Jianwen et al. Postharvest UV-C irradiation inhibits the production of ethylene and the activity of cell wall-degrading enzymes during softening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v. 86, p. 337-345, 2013.

BUSTIN, S. A.; BENES, V.; GARSON J. A.; HELLEMANS, J.; HUGGETT, J.; KUBISTA, M.; MUELLER, R.; NOLAN, T.; PFAFFL, M. W.; SHIPLEY, G. L.; VANDESOMPELE, J.; WITTEWER, C.T. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical Chemistry** 55: 611–22, 2009.

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.

BRUMMELL, David A. Cell wall disassembly in ripening fruit. **Functional Plant Biology**, v. 33, n. 2, p. 103-119, 2006.

CAO, Shifeng *et al.* Effect of BTH on anthocyanin content and activities of related enzymes in strawberry after harvest. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 9, p. 5801-5805, 2010.

CAPOCASA, F.; SCALZO, J.; MEZZETTI, B.; MAURIZIO BATTINO, M. Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: The role of genotype. **Food Chemistry**, v. 111, p. 872–878, 2008.

CARPENEDO, Silvia; ANTUNES, Luis Eduardo Corrêa; TREPTOW, Rosa. Caracterização sensorial de morangos cultivados na região de Pelotas. **Horticultura Brasileira**. V.34: 565-570, 2016.

CASTRO, Paulo Roberto Camargo; KLUGE, Ricardo A.; PERES, Lázaro, E. P. **Manual de Fisiologia Vegetal: Teoria e Prática**. Piracicaba: Ed. Agronômica Ceres, 2005. 650p.

CHAI, Ye-mao *et al.* FaPYR1 is involved in strawberry fruit ripening. **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 14, p. 5079-5089, 2011.

CHARLES, M.T.; TANO, K.; ASSELIN, A.; ARUL, J. Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit. V. Constitutive defense enzymes and inducible pathogenesis-related proteins. **Postharvest Biology and Technology**, 51, pp. 414-424, 2008.

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. **PlosOne**, n.6, p.24649, 2011.

CHEN, J. X.; MAO, L. C.; MI, H. B.; ZHAO, Y. Y.; YING, T. J.; LUO, Z. S. Detachment-accelerated ripening and senescence of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Akihime) fruit and the regulation role of multiple phytohormones. **Acta Physiol Plant** 36:2441–2451, 2014.

CHEN, Jingxin *et al.* 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, 2016.

CHERVIN, C.; EL-KEREAMY, A.; ROUSTAN, J-P; LATCHE, A.; LAMON, J.; BOUZAYEN, M. (2004). Ethylene seems required for the berry development and ripening in grape, a non-climacteric fruit. *Plant Science*. 167. p.1301–1305.

CHERVIN, Christian. Should Starch Metabolism Be a Key Point of the Climacteric vs. Non-climacteric Fruit Definition?. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1931, 2020.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 783p.

CORDENUNSI, B. R.; GENOVESE, M. I; NASCIMENTO, J. R. O.; HASSIMOTTO, N. M. A.; SANTOS, R. J.; LAJOLO, F. M. Effect of temperature on the chemical composition and antioxidant activity on three strawberry cultivars. **Food Chemistry**, v. 91, p. 113 – 121, 2005.

COSTA, Lorenza, et al. "UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets." **Postharvest Biology and Technology**. 204-210, 2006.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonóides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual Química**, Rio de Janeiro, v. 1, n.3, p. 241-256, 2009.

CRECENTE-CAMPO, J., NUNES-DAMACENO, M., ROMERO-RODRIGUEZ, M.A., VAZQUEZ-ODERIZ, M.L. Color, anthocyanin pigment, ascorbic acid and total phenolic compound determination in organic versus conventional strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Selva). **J. Food Compos. Anal.** 28, 23–30. 2012.

CRIZEL, R. L., PERIN, E. C., SIEBENEICHLER, T. J., BOROWSKI, J. M., MESSIAS, R. S., ROMBALDI, C. V., GALLI, V. Abscisic acid and stress induced by salt: Effect on the phenylpropanoid, L-ascorbic acid and abscisic acid metabolism of strawberry fruits. **Plant Physiol Biochem**. 2020.

CRUZ-RUS, E.; AMAYA, I.; SANCHEZ-SEVILLA, J. F.; 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, 2011.

CYBULSKA, Justyna, et al. "Changes of pectin structure and microbial community composition in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch.) during cold storage." **Food Chemistry**, 2022.

D'AMELIA, V.; AVERSANO, R.; Chiaiese, P.; and CARPUTO, D. The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. **Phytochem. Rev.** 17: 611–625, 2018.

DENG, Y., and LU, S. Biosynthesis and regulation of phenylpropanoids in plants. **Crit. Rev. Plant Sci.** 36: 257–290, 2017.

DOTTO, Marcela C.; MARTÍNEZ, Gustavo A.; CIVELLO, Pedro M. Expression of expansin genes in strawberry varieties with contrasting fruit firmness. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 44, n. 5-6, p. 301-307, 2006.

DOWDLE, J.; ISHIKAWA, T.; GATZEK, S.; ROLINSKI, S.; SMIRNOFF, N. Two genes in *Arabidopsis thaliana* encoding GDP-L-galactose phosphorylase are required for ascorbate biosynthesis and seedling viability. **Plant J** 52: 673–689, 2007.

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

FAO. **FAOSTAT**: production: crops, 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em: 17 de abril de 2022.

FORGES, M. et al. Impact of UV-C radiation on the sensitivity of three strawberry plant cultivars (*Fragaria x ananassa*) against *Botrytis cinerea*. **Scientia horticulturae**, v. 240, p. 603-613, 2018.

FLORES CANTILLANO, R. F.; BENDER, J. R.; LUCHSINGER, L. L. Fisiologia e manejo pós-colheita. In: FLORES CANTILLANO, R. F. **Morango pós-colheita**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 14-24. (Frutas do Brasil, 42).

FLORES-CANTILLANO, RF; CASTAÑEDA, LMF.; TREPTOW, RO; SCHUNEMANN, APP. 2008. Qualidade físico-química e sensorial de cultivares de morango durante o armazenamento refrigerado Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 29p.

FLORES CANTILLANO, R.F. Manuseio pós-colheita. **Morangueiro**, Embrapa, Brasília (2016), pp. 509-533.

FRAGA, C. G.; GALLEANO, M.; VERSTRAETEN, S. V.; OTEIZA, P. I. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. **Molecular Aspects of Medicine**, p.435-445, 2010.

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.

GAGNÉ, Séverine et al. ABA initiates anthocyanin production in grape cell cultures. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 30, n. 1, p. 1-10, 2011.

GALLI, V; BOROWSKI, J. M; PERIN, E. C; MESSIAS, R.S.; LABONDE, J.; PEREIRA, I. S.; SILVA, S. D. A.; ROMBALDI, C. V. Validation of reference genes for accurate normalization of gene expression for real time-quantitative PCR in strawberry fruits using different cultivars and osmotic stresses. **Gene (Amsterdam)**, v. 554, p. 205, 2014.

GALLI, V. et al. Transcriptome analysis of strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit under osmotic stresses and identification of genes related to ascorbic acid pathway. **Physiologia Plantarum**. V. 164, 2018.

GIAMPIERI, F.; TULIPANI, S.; ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; QUILES, J. L.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. **Nutrition**. v, 28. p. 9-19, 2012.

GIAMPIERI, Francesca; ALVAREZ-SUAREZ, José M.; BATTINO, Maurizio. Strawberry and human health: Effects beyond antioxidant activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 18, p. 3867-3876, 2014.

GIAMPIERI, Francesca et al. Strawberry as a health promoter: an evidence based review. **Food & Function**, v. 6, n. 5, p. 1386-1398, 2015.

GIAMPIERI, Francesca et al. The healthy effects of strawberry bioactive compounds on molecular pathways related to chronic diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1398, n. 1, p. 62-71, 2017.

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.

GIOVANNONI, J. J. Molecular regulation of fruit ripening. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, v. 52, p. 725-749, 2001.

GIOVANNONI, James J. Genetic regulation of fruit development and ripening. **The plant cell**, v. 16, n. suppl 1, p. S170-S180, 2004.

GOULAO, Luis F.; OLIVEIRA, Cristina M. Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 1, p. 4-25, 2008.

GU, Tingting et al. Transcriptome and hormone analyses provide insights into hormonal regulation in strawberry ripening. **Planta**, p. 1-18, 2019.

GUO, Jia; WANG, Myeong-Hyeon. Ultraviolet A-specific induction of anthocyanin biosynthesis and PAL expression in tomato (*Solanum lycopersicum L.*). **Plant growth regulation**, v. 62, n. 1, p. 1-8, 2010.

HOPKINS, W. G.; HUNER, N. P. A. **Introduction to Plant Physiology**. 3^o ed. United States of America, p.493-513, 2004.

IANNETTA, P. P. M.; LAARHOVEN, L. J.; MEDINA-ESCOBAR, N., JAMES, E. K.; MCMANUS, M. T.; DAVIE, H. V.; HARREN, F. J. M. Ethylene and carbon dioxide production by developing strawberries show a correlative pattern that is indicative of ripening climacteric fruit. *Physiologia Plantarum*. 127. p. 247–259, 2006.

JAAKOLA, L. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. **Trends Plant Sci**. 18: 477–483, 2013.

Jl, Kai et al. Non-climacteric ripening in strawberry fruit is linked to ABA, FaNCED2 and FaCYP707A1. **Functional Plant Biology**, v. 39, n. 4, p. 351-357, 2012.

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**, v.198, p.453–465, 2011.

JIA, Hai-Feng, et al. Abscisic acid plays an important role in the regulation of strawberry fruit ripening. *Plant physiology*. 188-199, 2011.

JIA, Haifeng et al. Abscisic acid and sucrose regulate tomato and strawberry fruit ripening through the abscisic acid-stress-ripening transcription factor. *Plant biotechnology journal*, v. 14, n. 10, p. 2045-2065, 2016.

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

JIANG, Yueming; JOYCE, Daryl C. ABA effects on ethylene production, PAL activity, anthocyanin and phenolic contents of strawberry fruit. *Plant Growth Regulation*, v. 39, n. 2, p. 171-174, 2003.

JIMÉNEZ-BERMÚDEZ, S.; REDONDO-NEVADO, J.; MUÑOZ-BLANCO, J.; CABALLERO, J. L.; LÓPEZ-ARANDA, J. M.; VALPUESTA, V.; PLIEGO-ALFARO, F.; QUESADA, M. A; MERCADO, J. A. Manipulation of strawberry fruit softening by antisense expression of a pectate lyase gene. *Plant Physiology*, v. 128, p. 751 – 759, 2002.

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.

KNEE, M.; SARGENT, J. A.; OSBORNE, D. J. Cell-wall metabolism in metabolism in developing strawberry fruits. *J Exp Bot* 28:377–396, 1977.

KOLLE, S. R., SHANKARAPPA, T. H., RAHIMI, B. A., & SATISH, M. V. Review of Trends in Strawberry Research from 1960 to 2016. *Journal of Agricultural & Food Information*. 2019. 20(1), 25-38.

KOWALSKI, W. Ultraviolet Germicidal Irradiation Handbook. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2009.

LAINING, W. A.; BULLEY, S.; WRIGHT, M.; COONEY, J.; JENSEN, D.; BARRACLOUGH, D.; MACRAE, E. A highly specific L-galactose–1-phosphate phosphatase on the path to ascorbate biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci* 101: 16976–1698, 2004a.

LAINING, W. A.; FREARSON, N.; BULLEY, S.; MACRAE, E. Kiwifruit L-galactose dehydrogenase; molecular biochemical and physiological aspects of the enzyme. *Funct Plant Biol* 31: 1015–1025, 2004b.

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*, 10(6), 2015.

LI, D., LUO, Z., MOU, W., WANG, Y., YING, T., and MAO, L. ABA and UV-C effects on quality, antioxidant capacity and anthocyanin contents of strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.). **Postharvest Biol. Tec.** 90, 56–62, 2014.

LIU, J., et al. Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes." **Journal of food protection.** 868-873, 1993.

MADAIL, J.C.M., ANTUNES, L. E., BELARMINO, L.C., SILVA, B. A., GARDIN, J.A., Avaliação Econômica dos Sistemas de Produção de Morango: Convencional, Integrado e Orgânico (**Comunicado Técnico, 181**). Pelotas, 2007.

MADAIL, J. C. M. Panorama econômico. In: ANTUNES, Luis Eduardo Correa; JÚNIOR, Carlos Reisser; Schwengber, José Ernani. (Editores técnicos). **Morangueiro**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 589 p.

MAHARAJ, Rohanie; ARUL, Joseph; NADEAU, Paul. UV-C irradiation effects on levels of enzymic and non-enzymic phytochemicals in tomato. **Innovative food science & emerging technologies**, v. 21, p. 99-106, 2014.

MESSIAS, R. S; GALLI, V.; SILVA, S. D. A.; SCHIRMER, M. A.; ROMBALDI, C. V. Micronutrient and functional compounds biofortification of maize grains. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2013.

MEYERS, K. J.; WATKINS, C. B.; PRITTS, M. P.; LIU, R. H. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 6887-6892, 2003.

MISZCZAK, A, FORNEY, C. F., PRANGE, R. K. Development of aroma volatiles and color during postharvest ripening of 'Kent' strawberries. **J Am Soc Hortic Sci** 120:650–655, 1995.

MOYA-LEÓN, Maria Alejandra; MATTUS-ARAYA, Elena; HERRERA, Raul. Molecular events occurring during softening of strawberry fruit. **Frontiers in plant science**, 2019, 10.

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

NAKASHIMA, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. ABA signaling in stress-response and seed development. *Plant Cell Rep.*, 32 (2013), pp. 959-970

NIGRO, F. et al. Effect of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry. **Journal of Plant Pathology**, p. 29-37, 2000.

NERI, F., CAPPELLIN, L., SPADONI, A., ALARCON, A.A., APREA, E., ROMANO, A., GASPERI, F., BIASIOLI, F. (2014). Role of strawberry volatile organic compounds in the development of *Botrytis cinerea* infection. **Plant Pathology**, 64. p. 709–717.

OLIVEIRA, I. R.; **Radiação UV-C durante o cultivo de morangueiros (Fragaria x ananassa Duch.) cv. Camarosa, altera o metabolismo e a qualidade dos frutos.**

Orientador: César Valmor Rombaldi. 2013. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia em Alimentos) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

OLIVEIRA, Isadora Rubin et al. Preharvest UV-C radiation influences physiological, biochemical, and transcriptional changes in strawberry cv. Camarosa. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 108, p. 391-399, 2016.

OLIVEIRA, R. P.; NINO, A. F. P.; SCIVITTARO, W. B. Mudanças certificadas de morangueiro: maior produção e melhor qualidade da fruta. **A Lavoura**, v. 108, n. 655, 2005.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. Desempenho produtivo de mudas nacionais e importadas de morangueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 520-522, 2006.

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

ORNELAS-PAZ, J.; YAHIA, E. M.; RAMÍREZ-BUSTAMANTE, N.; PÉREZ-MARTÍNEZ, J. D.; ESCALANTE-MINAKATA, M. P.; IBARRA-JUNQUERA, V.; ACOSTA-MUÑIZ, C.; GUERRERO-PRIETO, V.; OCHOA-REYES, E. Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. *Albion*) at six stages of ripening. **Food Chem** 138:372–381, 2013.

OSORIO, Sonia; SCOSSA, Federico; FERNIE, Alisdair. Molecular regulation of fruit ripening. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 198, 2013.

PACHECO, Simone Muniz. **Frutos da família Myrtaceae: Caracterização físico-química e potencial inibitório da atividade das enzimas digestivas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

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

PAN, Jerónimo et al. Combined use of UV-C irradiation and heat treatment to improve postharvest life of strawberry fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 14, p. 1831-1838, 2004.

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.

PÉREZ, A. G.; SANZ, C.; OLIAS, R.; RÍOS, J. J.; OLÍAS, J. M. Evolution of strawberry

alcohol acyltransferase activity during fruit development and storage. **Journal Agriculture Food and Chemistry**, v. 44, p. 3286 – 3290, 1996.

PERIN, E. C. **Nutrição e aporte hídrico: alterações bioquímico-fisiológicas e moleculares em morangos cv. Camarosa**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

PERIN, E. C., CRIZEL, R. L., GALLI, V., MESSIAS, R. da S., ROMBALDI, C. V., & CHAVES, F. C. Extraction and quantification of abscisic acid and derivatives in strawberry by LC-MS. **Food Analytical Methods**, 11, 2547–2552, 2018.

PERIN, E. C. et al. ABA-dependent salt and drought stress improve strawberry fruit quality. **Food Chemistry**. v. 271, p. 516-526, 2019.

PERKINS-VEAZIE, P. M. (1995). Growth and ripening of strawberry fruit Horticultural Reviews 17 267 297.

PERKINS-VEAZIE, P., COLLINS, J.K., HOWARD, L. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. **Postharvest Biol. Technol.** 47,280–285, 2008.

PINTO, M. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry*, v. 107, p. 1629–1635, 2008.

POMBO, M.A; ROSLI, H.G; MARTÍNEZA, G. A.; CIVELLO P. M. UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*, Duch.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 59 p. 94–102, 2011.

POMBO, Marina A. et al. UV-C irradiation delays strawberry fruit softening and modifies the expression of genes involved in cell wall degradation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, n. 2, p. 141-148, 2009.

PONCE-VALADEZ M., FELLMAN S. M., GIOVANNONI J., GAN S.-S., WATKINS C. B. Differential fruit gene expression in two strawberry cultivars in response to elevated CO₂ during storage revealed by a heterologous fruit microarray approach. **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, n. 2, p. 131-140, 2009.

POSÉ, S.; KIRBY, A. R.; PANIAGUA, C.; WALDRON, K. W.; MORRIS, V. J.; QUESADA, M. A.; MERCADO, J. A. The nanostructure 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.

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

RAGHAVENDRA, A. S., GONUGUNTA, V.K., CHRISTMANN, A., GRILL, E. ABA perception and signaling. **Trends Plant Sci.**, pp. 395-401, 2010.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signalling Behavior**. Austin – USA, v.6, n.11, p. 1720-1731, 2011.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade Antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p.53-60, 2007.

SANDHU, Amandeep K. et al. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) skins. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 982-988, 2011.

SCHWARZ, K. Adubação potássica na produtividade e qualidade do morangueiro cv. Camarosa. Dissertação – Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2012.

STEVENS, C. et al. The effects of low-dose ultraviolet light-C treatment on polygalacturonase activity, delay ripening and *Rhizopus* soft rot development of tomatoes. **Crop protection**, v. 23, n. 6, p. 551-554, 2004.

SEILER, C., HARSHAVARDHAN, V. T., RAJESH, K., REDDY, P. S., STRICKERT, M., ROLLETSCHEK, H. et al. ABA biosynthesis and degradation contributing to ABA homeostasis during barley seed development under control and terminal drought-stress conditions. **Journal of Experimental Botany**, 62(8), 2615–2632, 2011.

SEVERO, Joseana et al. Gene transcript accumulation associated with physiological and chemical changes during developmental stages of strawberry cv. Camarosa. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 995-1000, 2011.

SEVERO, Joseana et al. Postharvest UV-C treatment increases bioactive, ester volatile compounds and a putative allergenic protein in strawberry. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 685–692, 2015.

SEVERO, Joseana et al. Preharvest UV-C radiation impacts strawberry metabolite content and volatile organic compound production. **LWT-Food Science and Technology**, v. 85, p. 390-393, 2017.

SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. eds. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993.

SIEBENEICHLER, Tatiane Jéssica et al. The postharvest ripening of strawberry fruits induced by abscisic acid and sucrose differs from their in vivo ripening. **Food chemistry**, v. 317, p. 126407, 2020.

SIEBENEICHLER, T. J., CRIZEL, R. L., REISSER, P. L., PERIN, E. C., DA SILVA MESSIAS, R., ROMBALDI, C. V., & GALLI, V. Changes in the abscisic acid, phenylpropanoids and ascorbic acid metabolism during strawberry fruit growth and ripening. **Journal of Food Composition and Analysis**, 104398, 2022.

SILVA, P.A. (2007). Qualidade de morangos cultivados na região de Lavras, MG, armazenados em temperatura ambiente. Dissertação – Programa de Pós-graduação em agronomia, Universidade Federal de Lavras.

SOARES, S.E. Phenolic acids as antioxidants. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.15, p. 71-81, 2002.

SHAMA, G. Process challenges in applying low doses of ultraviolet light to fresh produce for eliciting beneficial hormetic responses. *Postharvest Biology and Technology*, v. 44, n. 1, p. 1–8, 2007.

SHENG, Kangliang et al. Comparison of postharvest UV-B and UV-C treatments on table grape: Changes in phenolic compounds and their transcription of biosynthetic genes during storage. **Postharvest biology and technology**, v. 138, p. 74-81, 2018.

SMIRNOFF, N.; WHEELER, G. L. Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function. **Crit Rev Plant Sci**. vol.19: 267–290, 2000.

STALIKAS, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**, v. 30, p. 3268-3295, 2007.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

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

TIECHER, Aline et al. UV-C effect on ethylene, polyamines and the regulation of tomato fruit ripening. **Postharvest biology and technology**, v. 86, p. 230-239, 2013.

TULIPANI, S., et al. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. **J Agric Food Chem**. 696-704. 2008.

UBI, Benjamin Ewa et al. Expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in apple skin: effect of UV-B and temperature. **Plant Science**, v. 170, n. 3, p. 571-578, 2006.

URBAN, Laurent et al. Understanding the physiological effects of UV-C light and exploiting its agronomic potential before and after harvest. **Plant physiology and biochemistry**, v. 105, p. 1-11, 2016.

VICENTE, Ariel R. et al. UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, n. 1, p. 69-78, 2005.

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**, v. 53, p. 211–214, 1995.

VOLP, A. et al. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. v. 23, n. 2, p. 141 – 149, 2007.

WANG, Y.; MACKENZIE, B.; TSUKAGUCHI, H.; WEREMOWICZ, S.; MORTON, C. C.; HEDIGER, M. A.; Human Vitamin C (l-Ascorbic Acid) Transporter SVCT1. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 267, 488 – 494, 2000.

WANG, Shio Y.; GAO, Haiyan. Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). **LWT-Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 71-79, 2013.

XIE, Zhichun et al. Effects of preharvest ultraviolet-C irradiation on fruit phytochemical profiles and antioxidant capacity in three strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 14, p. 2996-3002, 2015.

XU, Yanqun et al. Preharvest UV-C treatment affected postharvest senescence and phytochemicals alternation of strawberry fruit with the possible involvement of abscisic acid regulation. **Food chemistry**, p. 125138, 2019.

YAN, Jiawei, et al. "The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage." **Postharvest Biology and Technology** 147, 2019.

YANG, Zhenfeng et al. Respiratory activity and mitochondrial membrane associated with fruit senescence in postharvest peaches in response to UV-C treatment. **Food chemistry**, v. 161, p. 16-21, 2014.

ZHOU, Bo et al. Ultraviolet A-specific induction of anthocyanin biosynthesis in the swollen hypocotyls of turnip (*Brassica rapa*). **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 7, p. 1771-1781, 2007.