

(S2-P73)

## AMADURECIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE DANO PELO FRIO EM TOMATES 'MONTE CARLO' TRATADOS COM 1-METILCICLOPROPENO

RICARDO FABIANO HETTWER GIEHL<sup>(1,2)</sup>, ANA CRISTINA EISERMANN<sup>(2)</sup>, DANIEL ALEXANDRE NEUWALD<sup>(2,3)</sup>, ARNO BERNARDO HELDWEIN<sup>(2)</sup> y AURI BRACKMANN<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Institut für Pflanzenernährung, Universität Hohenheim, Fruwirthstrasse 20, D-70599 Stuttgart, Alemanha. [hetgiehl@yahoo.com.br](mailto:hetgiehl@yahoo.com.br).

<sup>(2)</sup> Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Fitotecnia, 97105-900 Santa Maria, RS, Brasil. [anna\\_eisermann@yahoo.com.br](mailto:anna_eisermann@yahoo.com.br); [brackman@ccr.ufsm.br](mailto:brackman@ccr.ufsm.br); [heldwein@ccr.ufsm.br](mailto:heldwein@ccr.ufsm.br).

<sup>(3)</sup> Kompetenzzentrum Obstbau Bodensee (KOB), Schuhmacherhof 6, D-88213 Ravensburg, Alemanha. [daneuwald@yahoo.com.br](mailto:daneuwald@yahoo.com.br).

**Palavras chave:** etileno – 1-MCP – qualidade pós-colheita

### RESUMO

O armazenamento de tomates do tipo não longa-vida sob baixas temperaturas tem sido utilizado para incrementar sua vida pós-colheita. No entanto, sob essas condições, ao invés de manter a qualidade, os frutos podem desenvolver sintomas de injúrias causadas pelas baixas temperaturas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inibição da ação do etileno sobre o amadurecimento e o desenvolvimento de injúria pelo frio em tomates 'Monte Carlo' armazenados a 10°C e 5°C. O experimento foi conduzido em esquema bifatorial (3x2), com diferentes temperaturas de armazenamento (20°C, 10°C e 5°C) e a aplicação ou não de 1µl l<sup>-1</sup> de 1-metilciclopropeno (1-MCP), um composto que bloqueia a ação do etileno. Depois de 14 dias de armazenamento, a síntese de etileno e a respiração pós-armazenamento foi maior nos frutos armazenados a 5°C, sendo estimulada pela aplicação de 1-MCP. Nos demais frutos, a aplicação desse composto reduziu tanto a produção de etileno, quanto à respiração. A ocorrência de dano por frio foi estimulada pelo armazenamento a 5°C e levemente intensificada pela inibição da ação do etileno. O tratamento dos frutos a 10°C com 1-MCP prejudicou o desenvolvimento da coloração vermelha, demonstrando que essa temperatura reduz a capacidade dos frutos em superar a inibição promovida pelo 1-MCP. O tratamento com 1-MCP manteve a firmeza da polpa e a acidez titulável dos frutos mantidos a 20°C e 10°C mais elevada, não apresentando efeito sobre essas características a 5°C. Concluiu-se que a qualidade de tomates não longa-vida pode ser mantida por até 14 dias com o armazenamento a 10°C ou com a aplicação de 1-MCP a 20°C. A aplicação desse composto combinado com o armazenamento a 10°C pode prejudicar o amadurecimento pós-armazenamento dos frutos, enquanto que a 5°C estimula levemente o desenvolvimento de sintomas de injúria pelo frio.

## RIPENING AND DEVELOPMENT OF CHILLING INJURY IN 'MONTE CARLO' TOMATOES TREATED WITH 1-METHYLCYCLOPROPENE

**Key words:** ethylene – 1-MCP – postharvest quality

### ABSTRACT

The cold storage has been a common practice for extending the postharvest life of non-long-life tomatoes. However, instead of maintaining quality, low temperatures may lead tomato fruits to develop chilling injury symptoms. Thus, this work aimed to evaluate the effect of inhibiting the ethylene action on the ripening and development of chilling injury in 'Monte Carlo' tomato fruits stored at 10°C and 5°C. The experiment was a bifactorial (3x2), with different storage temperature (20°C, 10°C and 5°C) and the treatment or not of 1,0 µl l<sup>-1</sup> of 1-methylcyclopropene (1-MCP), a compound that irreversibly blocks the ethylene action. After 14 days of storage, 5°C-stored fruits showed higher ethylene synthesis and respiration. Whereas 1-MCP enhanced this effect at 5°C, it reduced the ethylene production and respiration at 20°C and 10°C. Chilling injury was sharply increased at 5°C and slightly stimulated by inhibiting ethylene action. 1-MCP-treated fruits stored at 10°C showed lower post-storage red color development, suggesting that at this temperature the ability of the fruits in overcoming the inhibition caused by 1-MCP is decreased. 1-MCP reduced flesh firmness and acidity loss in fruits stored at 20°C and 10°C but not at 5°C. Thus, we conclude that the quality of non-long-life tomato fruits can be maintained during 14 days either by storing at 10°C or by applying 1-MCP at 20°C. Whereas the application of 1-MCP associated with the storage at 10°C may damage the ripening of the fruits, at 5°C it increases slightly the development of chilling injury symptoms.

### INTRODUCAO

Tomates são classificados como climatéricos, pois apresentam um pico respiratório concomitante ao aumento na síntese de etileno. Esse processo determina o início do processo de amadurecimento, que resulta em alterações na coloração, aroma, textura e "flavour" e em outros atributos bioquímicos e fisiológicos de vários frutos (Lelièvre et al., 1997). Em função disso, tomates apresentam uma vida pós-colheita curta, o que pode ocasionar perdas significativas durante os processos de transporte e comercialização.

Apesar da frigoconservação ser uma prática comumente utilizada para retardar o amadurecimento de frutos e hortaliças, sob condições inadequadas pode ocorrer a formação de injúrias decorrentes da exposição a baixas temperaturas. A severidade dessas injúrias depende da duração da exposição e da temperatura abaixo do limite aproximado de 12°C (Saltveit, 2001). A injúria por frio resulta em amadurecimento anormal, escurecimento da casca, elevada incidência de podridões e maior permeabilidade das membranas celulares (Morris, 1982; Malacrida et al., 2006). A sensibilidade de tomates às injúrias causadas pelo frio depende tanto do estágio de desenvolvimento e da cultivar, quanto do tempo de exposição a essas temperaturas (Hobson & Grierson, 1993).

As evidências sobre o efeito do etileno sobre o amadurecimento e o desenvolvimento de injúrias pelo frio são controversas. Um incremento na síntese de etileno foi relacionado ao desenvolvimento de tolerância a baixas temperaturas em plântulas de tomateiro (Ciardi et al., 1997) e em frutos cítricos (Lafuente et al., 2001). Por outro lado, tem-se observado que a inibição da síntese e/ou da ação do etileno pode prevenir o desenvolvimento de injúria por frio em melão (Ben-Amor et al., 1999).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inibição da ação do etileno, por meio da aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP), sobre o amadurecimento e o desenvolvimento de injúria pelo frio em tomates 'Monte Carlo' armazenados a 10°C e 5°C.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita (NPP) em conjunto com o Setor de Agroclimatologia, ambos do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Brasil. A cultivar utilizada foi a Monte Carlo, tipo não longa-vida, que produz frutos multiloculares, apreciados pela sua cor e sabor pronunciados. Os frutos foram colhidos quando apresentavam cerca de 10% de cobertura vermelha na casca (Hobson & Grierson, 1993).

Logo após a colheita, os frutos foram selecionados e as amostras formadas e homogeneizadas. As unidades experimentais foram compostas por 10 frutos. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado e em esquema bifatorial (3x2), sendo um dos fatores diferentes temperaturas de armazenamento (20°C, 10°C e 5°C) e o outro a aplicação ou não de 1 µl l<sup>-1</sup> de 1-metilciclopropeno (1-MCP).

A aplicação de 1-MCP foi efetuada na temperatura de armazenamento e durante 24 horas. A quantidade calculada de 1-MCP necessária para atingir as concentrações preestabelecidas foi colocada em recipientes de vidro com 50mL de volume, os quais foram vedados. Adicionou-se água à temperatura ambiente (15mL g<sup>-1</sup> de produto), sendo os recipientes vigorosamente agitados até o desaparecimento completo da turbidez. Os recipientes foram, então, colocados no interior das mini-câmaras com sistema de ventilação fechado. Os frascos foram abertos, liberando-se o 1-MCP, sendo as mini-câmaras imediatamente seladas. Essas condições foram mantidas durante 24 horas, quando a composição gasosa das mini-câmaras foi totalmente eliminada, sendo renovada por ar natural. Como fonte de 1-MCP utilizou-se o produto comercial SmartFresh™ (Rohm & Haas Co.) na formulação pó (0,14% i.a.).

As temperaturas das câmaras de armazenamento foram reguladas por termostatos eletrônicos e monitoradas diariamente por meio de termômetros com 0,1°C de resolução inseridos na polpa de frutos. A umidade relativa do ar no interior das mini-câmaras foi mantida em 94±2% por umidificação.

Após 14 dias de armazenamento, avaliou-se a síntese de etileno, a respiração, o desenvolvimento da coloração da casca e a ocorrência de injúria pelo frio durante quatro dias de amadurecimento a 20°C. No quarto dia, determinou-se também a firmeza da polpa, a acidez titulável e a incidência de podridões. Além disso, a cobertura vermelha dos frutos foi determinada subjetivamente por meio de índices de coloração, onde índice 0= <10% da superfície coberta com coloração vermelha; 1= 11 a 20%; 2= 21 a 40%; 3= 41 a 60%; 4= 61 a 80%; e 5= >80%. Para a determinação do índice de escurecimento da casca, considerou-se: 1= <10% da casca escurecida; 2= 10 a 20%; 3= 21 a 30%; e 4= >30%. O índice de cada amostra foi calculado utilizando-se a seguinte fórmula: Índice da amostra = [Σ(índice) (nº de frutos naquele índice) / nº total de frutos da amostra].

A síntese de etileno foi determinada utilizando-se um cromatógrafo a gás Varian®, modelo CX3400, equipado com um detector FID e uma coluna de aço inox de 1/8" e 0,70cm de comprimento, preenchida com Porapak® N. As temperaturas da câmara de injeção, do detector e da coluna foram programadas em 90°C, 120°C e 240°C, respectivamente. As amostras, compostas de seis frutos cada, foram colocadas em recipientes de vidro com 5L, fechados de forma hermética e acondicionados a 20±1°C durante cerca de 1 hora. Depois de transcorrido esse período, retirou-se duas amostras gasosas de 1mL de cada recipiente, sendo estas injetadas diretamente no cromatógrafo. Os resultados foram expressos em µL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup>

$h^{-1}$ . A respiração foi determinada pela circulação do conteúdo dos recipientes através de um analisador de fluxo contínuo, da marca Agridatalog<sup>®</sup>. Os dados foram expressos em  $mL\ CO_2\ kg^{-1}\ h^{-1}$ . A firmeza da polpa (N) foi determinada utilizando-se um penetrômetro manual com ponteira com 11,0mm de diâmetro, sendo efetuada em dois pontos opostos sobre a região equatorial dos frutos. A acidez titulável foi obtida pela titulação com NaOH 0,1N de uma solução contendo 10mL de suco diluídos em 100mL de água destilada até atingir-se pH 8,1. Os resultados foram expressos em  $meq\ 100mL^{-1}$ .

Os dados foram submetidos à análise da variância, sendo àqueles expressos em porcentagem previamente transformados pela equação  $f(x) = \arcseno(x/100)^{1/2}$ . As médias foram comparadas pelo teste de Duncan ( $P \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 14 dias de armazenamento, os frutos armazenados a 5°C apresentaram  $\square e$ -ex  $\square e$ -exam de etileno, sendo que a inibição da ação do etileno resultou nos  $\square e$ -exam valores de  $\square e$ -exam (Figura 1<sup>a</sup>). A aplicação de 1-MCP, no  $\square e$ -exam, reduziu a  $\square e$ -exam de etileno nos frutos armazenados a 10°C e 20°C (Figura 1<sup>a</sup>). O 1-MCP inibe a  $\square e$ -exam de etileno em tomates durante 8 a 15 dias, dependendo do estágio de maturação (Hoeberichts et al., 2002).  $\square e$ -exam, os resultados do presente trabalho demonstram que os efeitos desse composto sobre a  $\square e$ -exam de etileno são dependentes também da temperatura de armazenamento. Os frutos armazenados a 5°C apresentaram  $\square e$ -ex atividade respiratória, durante a exposição pós-armazenamento a 20°C (Figura 1B). A inibição da ação do etileno estimulou também a atividade respiratória desses frutos (Figura 1B). Como o aumento drástico na  $\square e$ -exam de etileno e na respiração após o armazenamento de frutos sob baixas temperaturas são  $\square e$ -exam típicos de injúria por frio (Morris, 1982; Malacrida et al. 2006), os resultados deste trabalho (Figura 1<sup>a</sup> e B) demonstram que a inibição da ação do etileno estimula ainda mais o desenvolvimento desse processo.

O armazenamento dos frutos a 5°C resultou em  $\square e$ -ex escurecimento da casca, o que foi agravado levemente com a aplicação de 1-MCP (Figura 1C). Essa temperatura deve ter levado a alterações na estrutura e composição das membranas, reduzindo,  $\square e$ -exam, o controle da permeabilidade destas e provocando disfunções metabólicas.  $\square e$ -exam, o escurecimento dos frutos armazenados a 5°C aumentou  $\square e$ -exam durante o período de exposição a 20°C. Esse resultado está ligado, aparentemente, ao rápido incremento da  $\square e$ -exam de etileno e da respiração. Segundo Morris (1982), os  $\square e$ -exam de dano por frio geralmente desenvolvem-se quando os frutos são transferidos para temperaturas mais elevadas. A respiração é  $\square e$ -exam pelo aumento pós-armazenamento de espécies reativas de oxigênio ( $\square e$ -exam et al., 2002; Malacrida et al., 2006), as quais ocasionam, entre outras, a peroxidação lipídica e a conseqüente redução da permeabilidade das membranas (Montillet et al., 2005).

O índice de coloração vermelha da casca, que estima subjetivamente a concentração de carotenóides na casca e relaciona-se ao amadurecimento dos frutos (Malacrida et al., 2006), foi influenciado pelas condições avaliadas (Figura 3). O 1-MCP reduziu o índice de cobertura vermelha, sendo esse efeito mais drástico nos frutos armazenados a 10°C, demonstrando o efeito desse composto sobre o amadurecimento (Figura 3). Resultados semelhantes foram reportados por Hoeberichts et al. (2002). Os frutos armazenados a 5°C apresentaram um desenvolvimento limitado da coloração vermelha, mesmo quando a ação do etileno não foi bloqueada. Baixas temperaturas afetam negativamente os conteúdos de carotenóides, em especial de licopeno, em tomates (Malacrida et al., 2006). A ligação do etileno aos seus receptores  $\square e$ -exam dependentes desse fito-hormônio (Tieman et al., 2000). Dessa forma, considerando a elevada produção de etileno dos frutos armazenados a 5°C

(Figura 1<sup>a</sup>), a inibição da evolução da cor desses frutos (Figura 1D) indica que a ligação do etileno aos receptores e/ou a transdução do sinal são processos afetados sob essa temperatura. Isso indica que a injúria pelo frio resulta na perda de sincronia entre os vários eventos fisiológicos e bioquímicos relacionados ao amadurecimento.

O bloqueio da ação do etileno nos frutos armazenados a 20°C e 10°C mais firmes (Figura 2<sup>a</sup>). Como o etileno estimula a expressão e a ação de várias enzimas hidrolíticas da parede celular, como as poligalacturonases (Sitrit & Bennett, 1998) e as expansinas (Rose et al., 1997), a inibição da sua ação reduziu a degradação das paredes celulares. O uso de 1-MCP não afetou a firmeza da polpa dos frutos armazenados a 5°C (Figura 2<sup>a</sup>). A ação do etileno afetou os níveis de acidez titulável dos frutos armazenados a 20°C e 10°C, sendo que o uso de 1-MCP manteve esses níveis mais elevados (Figura 2B). Tomates tratados com 1-MCP apresentam pequena alteração na acidez titulável (Wills & Ku, 2002). A elevada taxa respiratória pós-armazenamento dos frutos submetidos a 5°C (Figura 1B) resultou em níveis de acidez titulável iguais àqueles dos frutos mantidos durante todo o período a 20°C sem 1-MCP (Figura 2B). A incidência de injúria foi menor nos frutos armazenados a 10°C (Figura 2C). A aplicação de 1-MCP foi muito eficiente na redução da ocorrência de injúria dos frutos armazenados a 20°C. A elevada incidência de injúria nos frutos armazenados a 5°C (Figura 2C), confirma que a injúria pelo frio aumenta a susceptibilidade dos frutos a patógenos (Morris, 1982).

## CONCLUSÕES

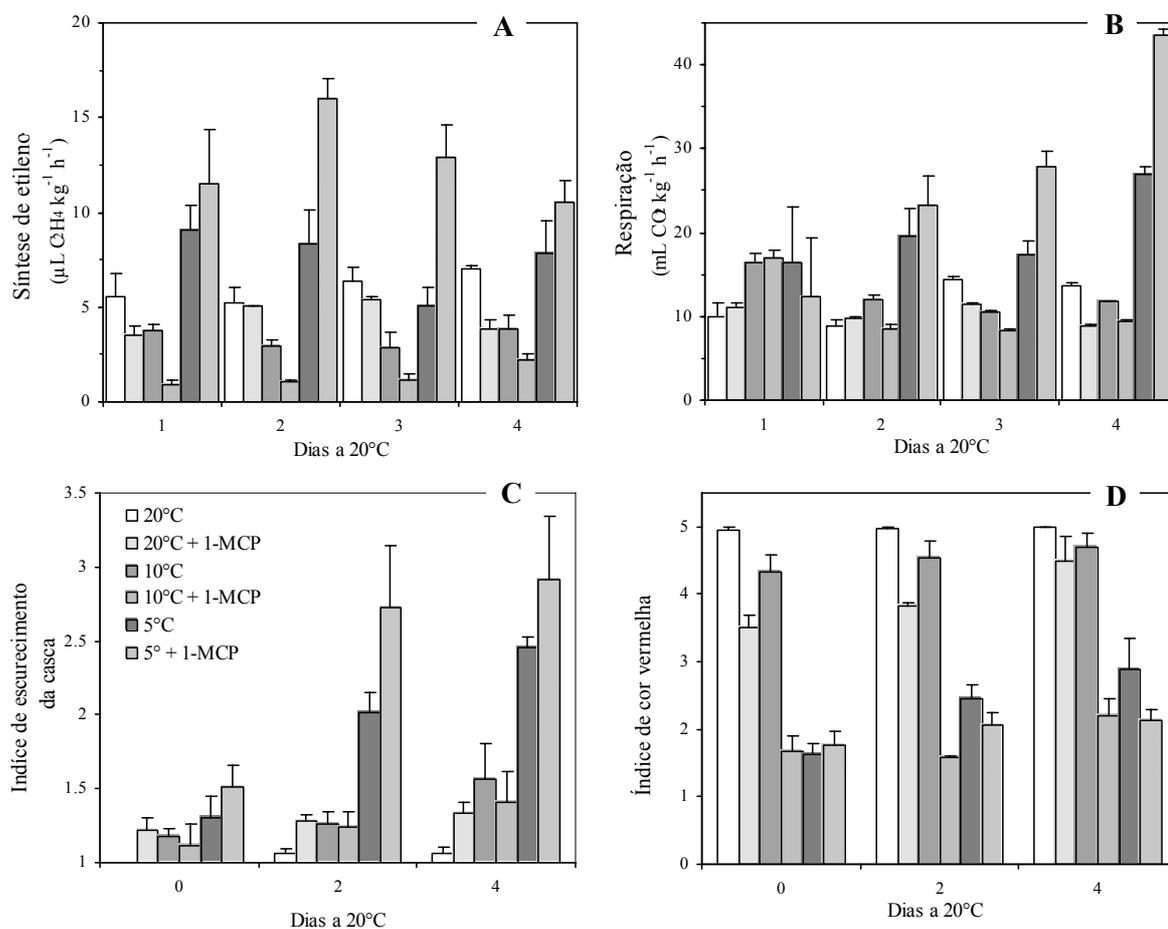
A qualidade de tomates não longa-vida cv. Monte Carlo pode ser mantida por até 14 dias com o armazenamento a 10°C ou com a aplicação de 1-MCP a 20°C. A aplicação desse composto combinado com o armazenamento a 10°C pode retardar o amadurecimento pós-armazenamento dos frutos. Se o armazenamento desses frutos por períodos longos permite superar a forte inibição do amadurecimento provocada pela aplicação de 1-MCP a 10°C precisa ser ainda elucidado. O armazenamento a 5°C aumenta a incidência de injúrias pelo frio, sendo que a inibição da ação do etileno estimula levemente esse processo.

## BIBLIOGRAFÍA

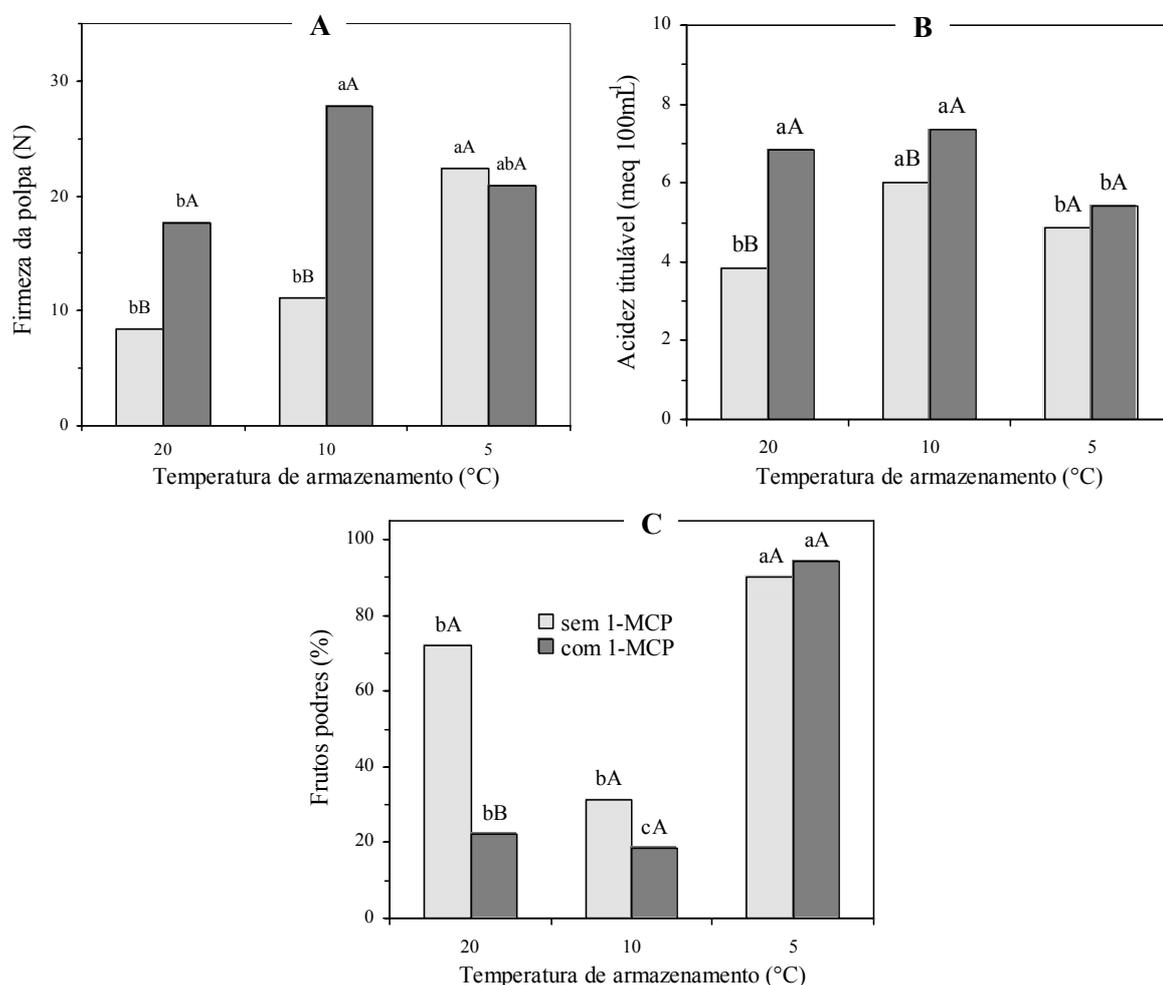
- Ben-Amor, M.; Flores, B.; Latsché, A.; Bouzayen, M.; Pech, J.C.; Romojaro, F. 1999. Inhibition of ethylene biosynthesis by antisense ACC oxidase RNA prevents chilling injury in Charentais cantaloupe melons. *Plant, Cell and Environment*. 22: 1579-1586.
- Ciardi, J.A.; Deikman, J.; Orzolek, M.D. 1997. Increased ethylene synthesis enhances chilling tolerance in tomato. *Physiologia Plantarum*. 101(2): 333-340.
- Hobson, G.; Grierson, D. 1993. Tomato. P. 405-442. In: Seymour, G.; Taylor, J.; Tucker, G. (eds.). *Biochemistry of fruit ripening*. Chapman and Hall, London. 454pp.
- Hoeberichts, F.; van der Plas, L.H.W.; Woltering, E.J. 2002. Ethylene perception is required for the expression of tomato ripening-related genes and associated physiological changes even at advanced stages of ripening. *Postharvest Biology and Technology*. 26: 125-133.
- Jimenez, A.; Creissen, G.; Kular, G.; Firmin, J.; Robinson, S.; Verhoeyen, M.; Mullineaux, P. 2002. Changes in oxidative processes and components of the oxidative system during tomato fruit ripening. *Planta*. 214: 751-758.
- Lafuente, M.T.; Zacarias, L.; Martínez-Téllez, M.A.; Sanchez-Ballesta, M.T.; Dupille, E. 2001. Phenylalanine ammonia-lyase as related to ethylene in the development of

- chilling symptoms during cold storage of citrus fruits. *Journal Agriculture Food Chemistry* 49: 6020-6025.
- Lelièvre, J.M.; Latché, A.; Jones, B.; Bouzayen, M.; Pech, J.-C. 1997. Ethylene and fruit ripening. *Physiologia Plantarum*. 101: 727-739.
- Malacrida, C.; Valle, E.M.; Boggio, S.B. 2006. Postharvest chilling induces oxidative stress response in the dwarf tomato cultivar Micro-Tom. *Physiologia Plantarum*. 127(1): 10-18.
- Montillet, J.-L.; Chamnongpol, S.; Rustérucchi, C.; Dat, J.; Van de Cotte, B.; Lee, J.-P.; Battesti, C.; Inzé, D.; Van Breusegem, F.; Triantaphylidés, C. 2005. Fatty acid hydroperoxides and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the execution of hypersensitive cell death in tobacco leaves. *Plant Physiology*. 138: 1516–1526.
- Morris, L.L. 1982. Chilling injury of horticultural crop: an overview. *HortScience*. 17: 161–162.
- Rose, J.K.C.; Lee, H.H.; Bennett, A.B. 1997. Expression of a divergent expansin gene is fruit-specific and ripening-regulated. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 94: 5955-5960.
- Saltveit, M.K. 2001. Chilling injury is reduced in cucumber and rice seedlings and in tomato pericarp discs by heat-shocks applied after chilling. *Postharvest Biology and Technology*. 21: 169-177.
- Sitrit, Y.; Bennett, A.B. 1998. Regulation of tomato fruit polygalacturonase Mrna accumulation by ethylene: a *in vivo* examination. *Plant Physiology*. 116: 1145-1150.
- Tieman, D.M.; Taylor, M.G.; Ciardi, J.A; Klee, H.J. 2000. The tomato ethylene receptors NR and LeETR4 are negative regulators of ethylene response and exhibit functional compensation within a multigene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 97: 5663-5668.
- Wills, R.B.H., Ku, V.V.V. 2002. Use of 1-MCP to extend the time to ripen of green tomatoes and postharvest life of ripe tomatoes. *Postharvest Biol. Technol.* 26: 85-90.

## TABELAS E FIGURAS



**Figura 1.** Efeito do 1-MCP e da temperatura sobre a síntese de etileno (A), respiração (B), escurecimento da casca (C) e evolução da cor vermelha em tomates cv. Monte Carlo após 14 dias de armazenamento. Santa Maria, RS, Brasil. Os resultados demonstram a média de quatro repetições  $\pm$  D.P.



**Figura 2.** Efeito do 1-MCP e da temperatura sobre a firmeza da polpa (A), acidez titulável (B) e incidência de podridões (C) em tomates cv. Monte Carlo após 14 dias de armazenamento e mais quatro dias de vida de prateleira a 20°C. Santa Maria, RS, Brasil. Letras minúsculas representam a comparação entre as médias das temperaturas de armazenamento e letras maiúsculas a comparação entre a aplicação ou não de 1-MCP, para uma mesma temperatura, pelo teste de Duncan ( $P \leq 0,05$ ).