

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FABIANA CHIAMULERA BORSATTI

**ÁCIDO SALICÍLICO NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE FRUTOS,
HORTALIÇAS FOLHOSAS E FLORES**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2014

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FABIANA CHIAMULERA BORSATTI

**ÁCIDO SALICÍLICO NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE FRUTOS,
HORTALIÇAS FOLHOSAS E FLORES**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2014

FABIANA CHIAMULERA BORSATTI

**ÁCIDO SALICÍLICO NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE FRUTOS,
HORTALIÇAS FOLHOSAS E FLORES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro

PATO BRANCO

2014

B738a Borsatti, Fabiana Chiamulera.

Ácido salicílico na qualidade pós-colheita de frutos, hortaliças folhosas e flores / Fabiana Chiamulera Borsatti . -- 2014.
81 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaró
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2014.

Bibliografia no final de cada capítulo.

1. Senescência. 2. Pós-colheita. 3. Indutor de resistência. 4. Proteínas. I. Mazaró, Sérgio Miguel, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDD (22. ed.) 630



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n.º 096

Ácido salicílico na qualidade pós-colheita de frutos, hortaliças folhosas e flores

por

Fabiana Chiamulera Borsatti

Dissertação apresentada às nove horas do dia vinte e sete de fevereiro de dois mil e quatorze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Indução de resistência, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

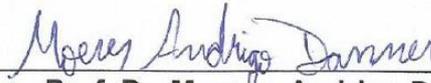
Banca examinadora:



Prof. Dr. Gilmar Franzener
UFFS/Laranjeiras do Sul



Prof. Dr. Américo Wagner Júnior
UTFPR/DV



Prof. Dr. Moeses Andriago Danner
UTFPR/DV



Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro
UTFPR/DV
Orientador

Visto da Coordenação:



Prof. Dr. Idalmir dos Santos
PPGAG

À minha família, por todo o apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelas oportunidades que me são dadas na vida, principalmente por ter conhecido pessoas e lugares interessantes, mas também por ter vivido fases difíceis, que foram matérias-primas de aprendizado.

Agradeço aos meus pais, Cleci e Ildo Borsatti, por terem me dado educação, valores e por me ensinarem a andar. Pessoas que me forneceram condições para me tornar a pessoa que sou e por sempre terem me amparado e apoiado em todos os momentos da minha vida. A vocês que, muitas vezes, renunciaram aos seus sonhos para que eu pudesse realizar o meu, partilho a alegria deste momento.

Às minhas irmãs, Fernanda, que apesar de sua desorganização sempre me ajudou na informática. À Flávia, que sei que em seus raros momentos de folga, posso contar com a sabedoria dela nos meus experimentos. À Ângela, que mesmo reclamando, sempre ajuda a todos em qualquer momento e não se cansa de dar gargalhadas gostosas. À Alice que, apesar de ser uma “adolescente rebelde” eu sei que sempre que precisar dela, ela vai me ajudar e me apoiar.

Ao meu marido Diego por todos esses anos de apoio, compreensão e principalmente, confiança. Por entender meus momentos de ausência e estresse, por sempre ter me auxiliado nos experimentos e feito de tudo para que as coisas acontecessem da forma correta e prática. Por ter me ajudado a realizar alguns dos maiores sonhos de minha vida.

A todos da minha família, tios, tias, avós, primos e cunhados, que de alguma forma contribuíram para a minha formação. Em especial ao tio Hermínio, tia Janete, Anderson, Amanda e Isa, por terem me acolhido várias vezes durante esses dois anos, sempre me incentivando e me apoiando de todas as formas possíveis.

Ao meu orientador, Professor Dr. Sérgio Miguel Mazaro, sem o qual não teria concluído este trabalho, pela paciência, confiança, amizade, alegria e preocupação. Pelas oportunidades e colaborações com críticas e sugestões que muito contribuíram na minha formação.

Aos colegas e amigos, Rita de Cássia, Nean, Adriano, Douglas e Thamiris, por toda ajuda, amizade, alegrias e pelos momentos compartilhados.

Ao pesquisador Anderson Feltrin, por toda confiança e ajuda durante nossos dois anos de trabalho.

Enfim, a todas as pessoas, que de uma forma ou outra colaboraram para a conclusão deste mestrado, meu sincero Obrigado!

“A principal meta da educação é criar homens que sejam capazes de fazer coisas novas, não simplesmente repetir o que outras gerações já fizeram. Homens que sejam criadores, inventores, descobridores. A segunda meta da educação é formar mentes que estejam em condições de criticar, verificar e não aceitar tudo que a elas se propõe.”
(PIAGET, Jean)

RESUMO

BORSATTI, Fabiana C.; Ácido salicílico na qualidade pós-colheita de frutos, hortaliças folhosas e flores. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ácido salicílico (AS) aplicado em pós-colheita de amora-preta, acerola, couve manteiga, espinafre e rosas sobre a conservação e a indução de resistência. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com quatro repetições e os tratamentos foram baseados nas concentrações das soluções com AS 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM. As culturas foram imersas nas soluções com os diferentes tratamentos e após armazenadas a 8°C. Para as frutas (amora-preta e acerola) as avaliações realizadas foram perda de massa da matéria fresca, teores de sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (AT), ácido ascórbico e incidência de podridões. Nos intervalos de 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação dos tratamentos, retirou-se amostras de frutos para determinação de proteínas totais, antocianinas, flavonóides e atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), quitinases e β -1,3-glucanase. Tais análises foram realizadas para todos os tratamentos, com exceção de quitinase e β -1,3-glucanase, sendo estas avaliações feitas somente para frutos tratados com 2,0 mM e a testemunha. Para as hortaliças (couve manteiga e espinafre) as avaliações foram perda de massa da matéria fresca, podridões, teor de vitamina C e clorofilas. Em intervalos de 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação dos tratamentos, determinou-se o teor de proteínas, fenóis totais, atividade da FAL e peroxidases. Para as rosas foram realizadas análises visuais de curvatura do pedúnculo, turgescência e escurecimento de pétalas. Ao final do experimento, avaliaram-se a perda de massa da matéria fresca, e teor de clorofilas nas folhas. Com intervalos de 24 horas, retirou-se uma amostra das pétalas para determinação de proteínas totais e atividade da FAL e peroxidases. Para amoras-pretas houve aumento do teor de proteínas e ativação da β -1,3-glucanase com a aplicação de AS. Os teores de antocianinas e flavonóides e a atividade da FAL, tiveram alterações no decorrer do experimento em função da aplicação de AS. Os tratamentos não foram significativos para perda de massa da matéria fresca, AT, SST, incidência de podridões, ácido ascórbico e atividade de quitinase para essa fruta. Para acerolas, a AT foi maior e os SST foram menores naquelas tratadas com AS. Os tratamentos não foram significativos para perda de massa da matéria fresca e ácido ascórbico de acerola. Houve redução da incidência de podridões em frutos com aplicação de AS, ativação das enzimas quitinases, β -1,3-glucanase e FAL e, aumento nos teores de antocianinas e flavonóides para acerola. Para couve manteiga a aplicação de AS manteve os teores de proteínas e fenóis totais em níveis mais elevados, e interferiu na atividade das peroxidases. Não houve significância para perda de massa da matéria fresca, teor de vitamina C, clorofilas, podridões e atividade de FAL. Para espinafre as maiores concentrações de AS diminuíram a perda de massa da matéria fresca e mantiveram os teores de proteínas mais elevados. Os tratamentos não interferiram no teor de clorofilas, fenóis totais, e atividade da peroxidases e FAL. Houve efeito nos teores de proteína totais, atividade da FAL e peroxidase nas hastes das rosas com a aplicação de solução contendo AS. As rosas tratadas com a maior concentração de AS mantiveram-se com as notas mais elevadas para curvatura de haste, turgescência e escurecimento de pétalas, ou seja, com melhor aspecto visual.

Palavras-chave: Senescência, Pós-colheita; Acerola; Amora-preta; Couve manteiga; Espinafre; Rosas.

ABSTRACT

BORSATTI, Fabiana C.; Salicylic acid in the fruits, leafy vegetables and flowers postharvest quality. 81f. Dissertation (MSc in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Area of Concentration: Plant Production), Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2014.

The aim of this work was to evaluate the salicylic acid (SA) effect applied in the blackberry, acerola, kale, spinach and roses postharvest for the conservation and resistance induction. The experimental design was completely randomized, with four replications and the treatments were based on the solutions concentrations with SA 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mM. The vegetable organs from the cultures were immersed in the solutions with different treatments and after it was stored at 8 °C. For the fruit (blackberry and acerola) the fresh matter weight losses, total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), ascorbic acid and rot incidence were evaluated. During the intervals of 24, 48, 96 and 192 hours after treatment application, fruit samples were separated for total protein, anthocyanins, flavonoids and phenylalanine ammonia lyase (PAL), chitinase and β -1,3-glucanase enzymes activities were determinate. These analyzes were applied for all treatments, with the exception of chitinase and β -1,3-glucanase, which were evaluated only for fruits treated with 2.0 mM concentration and control treatment. For the vegetables (kale and spinach) the fresh mass losses, rot incidence, vitamin C and chlorophyll were evaluated. During the intervals of 24, 48, 96 and 192 hours after treatment application, the total protein, total phenols, phenylalanine ammonia lyase (PAL) and peroxidase enzymes were evaluated. For roses the peduncle curvature, turgescence and petals darkening were visual evaluated. When the experiment time finished, the fresh weight losses and the leaf chlorophyll content were evaluated. During 24 hour intervals, collected a petals sample to determine the total protein and PAL and peroxidase activities. For blackberries there was an increase of protein level and the β -1,3-glucanase activation with the application of SA. The anthocyanins and flavonoids contents and the PAL activity, had changes during the experiment due to the SA application. The treatments were not significant for fresh mass losses, TA, TSS, rot incidence, ascorbic acid and chitinase activities for this fruit. In the acerola, the TA was higher and TSS were lower in the fruit treated with SA. The treatments were not significant for fresh mass losses, of ascorbic acid content. There was a reduction in the fruit rots incidence with application of SA and an activation of chitinase, β -1,3-glucanase and PAL activity enzymes, and it increased anthocyanins and flavonoids contents for acerola. The SA application in the kale kept the protein and total phenol with higher levels and it interfere in the peroxidases activity. There was no significant treatment effect for fresh weight losses, vitamin C, chlorophyll, rot incidence and PAL activity. The highest SA concentrations decreased the fresh weight losses and they kept the higher proteins contents for spinach. The treatments did not affect the chlorophyll content, total phenolics and peroxidase and PAL activities. There wasn't treatment effect about total protein content, PAL and peroxidase activity in the roses stems. The rose treated with the highest SA concentration presented higher grade evaluation for peduncle curvature, turgescence and petals darkening, ie, the best visual aspect.

Keywords: Senescence, Postharvest; Acerola, Blackberry, Kale; Spinach; Roses.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1-** Teor de proteínas de amora-preta avaliada às 0, 24, 48, 96 e 144 horas após a aplicação de cinco concentrações de ácido salicílico. Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.....27
- Figura 2.2-** Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase de amora-preta avaliada as 0, 24, 48, 96 e 144 horas após a aplicação de cinco concentrações de ácido salicílico. Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.....29
- Figura 2.3-** Teor de flavonoides (A) e antocianinas (B) de amora-preta avaliados as 0, 24, 48, 96 e 144 horas após a aplicação de cinco concentrações de ácido salicílico. Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.....30
- Figura 3.1 -** Acidez titulável (A), Sólidos Solúveis Totais (B) e Podridão de frutos (C) em acerolas (*Malpighia emarginata*) tratados com cinco soluções de ácido salicílico (AS) conforme sua concentração. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.....39
- Figura 3.2 -** Atividade da enzima FAL (A) e teor de flavonoides (B) e antocianinas (C) em acerolas (*Malpighia emarginata*) tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS), avaliados as 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação dos tratamentos. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.....41
- Figura 4.1 -** Teor de proteínas (A), atividade da enzima FAL (B), teor de fenóis (C) e peroxidase (D) de folhas de couve manteiga, avaliadas as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação de cinco concentrações de ácido salicílico. Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013..... 52
- Figura 5.1 -** Efeito de diferentes concentrações de ácido salicílico sobre a perda de massa da matéria fresca de ramos de espinafre avaliado aos 8 dias após a aplicação dos tratamentos. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2013.....60
- Figura 5.2 -** Efeito de cinco concentrações de ácido salicílico no teor de proteínas de folhas de espinafre, avaliadas as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação dos tratamentos. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2013.....60
- Figura 6.1-** Perda de massa da matéria fresca de hastes de rosa de acordo com concentração de ácido salicílico após 4 dias de sua aplicação. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2013.....70
- Figura 6.2 -** Teor de proteínas (A), atividade das enzimas FAL (B) e peroxidase (C) de rosas de corte avaliadas as 0, 24, 48 e 96 horas após a aplicação de solução de ácido salicílico em cinco concentrações (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM). Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2013.....72
- Figura 6.3 -** Características qualitativas de curvatura de pedúnculo (A), turgescência (B) e escurecimento de pétalas de rosas (C) ‘Vega’ tratadas com solução contendo cinco concentrações de ácido salicílico. As barras verticais representam o desvio padrão da média. UTFPR, Dois Vizinhos – 2013.....73

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Atividade enzimática da quitinase (UAbs.µg prot.mL⁻¹) e β-1,3 glucanase (UAbs min⁻¹/mg proteína) presentes nos extratos de amora-preta tratadas com duas concentrações de ácido salicílico e avaliada em 4 momentos. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.....28

Tabela 3.1 - Atividade enzimática de quitinase (UAbs.µg prot./mL⁻¹) e β-1,3 glucanase (UAbs min⁻¹/mg proteína) presentes em acerolas tratadas e não tratadas com diferentes concentração de ácido salicílico. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.....42

Tabela 6.1 - Notas de curvatura do pedúnculo, turgescência e escurecimento das pétalas de rosas tratadas com soluções contendo 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM de ácido salicílico. UTFPR, Dois Vizinhos, 2013.....68

LISTA DE SIGLAS

AT	Acidez Titulável
AS	Ácido Salicílico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ACC	Amino-ciclopropano Carboxílico
C	Carbono
B.O.D.	Demanda Bioquímica de Oxigênio
Dr.	Doutor
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAL	Fenilalanina amônia-liase
IBRAFLOR	Instituto Brasileiro de Floricultura
LMRP	Limite Máximo de Resíduo Permitido
ns	Não Significativo
NEPA	Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação
PR	Paraná
PAL	Phenylalanine ammonia-lyase
pH	Potencial Hidrogeniônico
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
Proteínas-RP	Proteínas Relacionadas à patogenicidade
RSA	Resistência Sistêmica Adquirida
HR	Resposta de Hipersensibilidade
SA	Salicylic Acid
SST	Sólidos Solúveis Totais
TA	Titrateable Acidity
TSS	Total Soluble Solids
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetros
US\$	Dólar
g	Gramma
°C	Graus Celsius
L	Litro
meq.100 mL ⁻¹	Miliequivalentes grama por 100 mililitros
mg	Miligramma
mg.100g ⁻¹	Miligramma por 100 grammas
mg.g ⁻¹	Miligramma por grama
mg.ml ⁻¹	Miligramma por Mililitro
mL	Mililitros
mM	Milimol
min	Minutos
N	Normal
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
%	Porcentagem
R\$	Reais
O ₂ ⁻	Superóxido
UAbs.µg prot.mL ⁻¹	Unidade de Absorbância por microgramma de proteína por mililitros
UAbs.min ⁻¹ .mg	Unidade de Absorbância por minuto por miligramma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
REFERÊNCIAS.....	19
2 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E QUALIDADE PÓS COLHEITA DE AMORA- PRETA TRATADA COM ÁCIDO SALICÍLICO	21
2.1 RESUMO.....	21
2.2 ABSTRACT.....	21
2.3 INTRODUÇÃO	22
2.4 MATERIAL E MÉTODOS	23
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
2.6 CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS.....	31
3 O ÁCIDO SALICÍLICO ATUA NA MANUTENÇÃO DA QUALIDADE PÓS- COLHEITA DE ACEROLAS.....	33
3.1 RESUMO.....	33
3.2 ABSTRACT.....	33
3.3 INTRODUÇÃO	34
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	35
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
3.6 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS.....	43
4 EFEITO DA APLICAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO NA PÓS-COLHEITA DE COUVE MANTEIGA.....	46
4.1 RESUMO.....	46
4.2 ABSTRACT.....	46
4.3 INTRODUÇÃO	47
4.4 MATERIAL E MÉTODOS	48
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4.6 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS.....	53
5 ANÁLISE DA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE ESPINAFRE PELA APLICAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO	55
5.1 RESUMO.....	55

5.2 ABSTRACT.....	55
5.3 INTRODUÇÃO	56
5.4 MATERIAL E MÉTODOS	57
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
5.6 CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS.....	61
6 QUALIDADE DE ROSAS DE CORTE COM APLICAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO NA PÓS-COLHEITA.....	64
6.1 RESUMO.....	64
6.2 ABSTRACT.....	64
6.3 INTRODUÇÃO	65
6.4 MATERIAL E MÉTODOS	67
6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
6.6 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS.....	75
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
ANEXOS.....	79

1 INTRODUÇÃO GERAL

A produção agrícola brasileira está cada vez mais dependente dos agrotóxicos e fertilizantes químicos. A lei dos agrotóxicos (BRASIL, 1989) e o decreto que regulamenta a mesma (BRASIL, 2002) definem que essas substâncias são: “os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos”.

Os resultados do monitoramento do último Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA, 2013) mostra que 36% das amostras de 2011 e 29% das amostras de 2012 apresentaram resultados insatisfatórios. De acordo com relatório da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013) existem dois tipos de irregularidades, uma quando a amostra contém agrotóxico acima do Limite Máximo de Resíduo Permitido (LMRP) e outra quando a amostra apresenta resíduos de agrotóxicos não autorizados para o alimento pesquisado. Das amostras insatisfatórias, cerca de 30% se referem à agrotóxicos que estão sendo reavaliados pela ANVISA.

Devido aos dados apresentados, a produção de alimentos considerados saudáveis, livres de agrotóxicos e produtos químicos vem sendo cada vez mais procurada pelos consumidores no decorrer dos anos, o que torna a indução de resistência uma alternativa com potencial para uso nos alimentos. Segundo Stadnik (2000) e Hammerschmidt et al., (2001) a indução de resistência é conceituada como a ativação de um estado de resistência contra doenças, o qual é induzido sistemicamente em plantas pela utilização de agentes externos bióticos ou abióticos, sem qualquer alteração do genoma da planta, ocorrendo de maneira não-específica, por meio da ativação de genes que codificam para diversas respostas de defesa.

O primeiro trabalho que teve análises detalhadas sobre indução de resistência foi de Ross (1961) o qual mostrou através de experimento em laboratório que, plantas de fumo necrosadas pela inoculação das folhas inferiores com o vírus do mosaico do fumo, desenvolvia resistência sistêmica contra vários patógenos, resultando na concepção do termo “resistência sistêmica adquirida (RSA)” (SILVA, 2008).

A RSA se caracteriza pela expressão de genes que codificam diversas respostas de defesa a patógenos nas plantas, tais como as proteínas relacionadas à patogenicidade (proteínas-RP), como quitinases e glucanases; enzimas envolvidas na rota da síntese de fitoalexinas, como

a fenilalanina amônia-liase; acúmulo de lignina em tecidos adjacentes ao local de penetração do microrganismo (DURRANT e DONG, 2004). Os genes envolvidos na RSA estão associados, principalmente, com o acúmulo do ácido salicílico (AS), que é sinalizador para a expressão de de proteínas-RP (GRÜNER et al., 2003; JALALI et al., 2006).

De acordo com Yalpani et al. (1991) a via biossintética do ácido salicílico aparentemente inicia-se com a conversão da fenilalanina para ácido transcinâmico catalisado pela enzima fenilalanina amônia-liase (FAL). A partir dessa conversão, o ácido transcinâmico parece, então, seguir duas vias. Numa delas, ocorre a formação do ácido benzóico que, após a ação da enzima ácido benzóico 2-hidroxilase, se converte em AS. Na outra, o ácido transcinâmico é hidroxilado a ácido 2-cumárico que é, então, oxidado a AS (RYALS et al. 1994; STRACK, 1997). Porém, estudos apontam como via principal de formação do AS aquela cujo intermediário é o ácido benzóico (VERNOOIJ et al., 1994).

O principal papel fisiológico atribuído ao AS na planta é o de funcionar como molécula sinalizadora, induzindo-a a expressar resistência contra o ataque de predadores. Esta função foi sugerida em decorrência do AS se acumular em plantas submetidas a condições adversas, quer seja por ataque patogênico, quer pelo tratamento da planta com elicitores químicos e por sua propriedade de induzir a expressão de genes ligados a várias proteínas-PR (MARTINEZ et al., 2000). Aplicações exógenas de AS induzindo efetivamente a expressão gênica de proteínas envolvidas na indução da resistência sistêmica adquirida levaram à investigação do papel do AS endógeno na resistência a doenças (CHET, 1993). Conforme esta hipótese, o AS pode ser mensageiro que ativa a resistência contra patógenos incluindo a síntese de proteínas-RP (CAMPOS, 2009).

Além disso, o AS é um composto fenólico natural que pode diminuir a síntese de etileno das plantas, retardando os efeitos desse hormônio, pois ele pode reduzir a atividade da ACC oxidase, enzima precursora para sua síntese (ALTVORST e BOVY, 1995). Isso é fator importante, principalmente para plantas muito perecíveis, como por exemplo algumas frutas, hortaliças e flores. Dentre as plantas com pequena vida útil pós-colheita destacam-se as amoras-preta, acerolas, couve manteiga, espinafre e as rosas.

A amoreira preta (*Rubus* sp.) é uma planta rústica que apresenta frutas de alta qualidade nutricional e valor econômico significativo, cujo cultivo vem crescendo nos estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo (ANTUNES et al., 2003). Em associação às demais pequenas frutas (mirtilo, framboesa e morango), a amora-preta possui reais possibilidades de exportação para países do Hemisfério Norte, na entressafra de produção destes. Porém, para isso é preciso

superar obstáculos de produção e de logística de distribuição, uma vez que se trata de uma fruta extremamente sensível e com período de pós-colheita relativamente curto (ANTUNES, 2008).

A aceroleira (*Malpighia emarginata*) pertence à família Malpighiaceae, gênero *Malpighia*, sendo que o consumo de seu fruto está em expansão, principalmente pelo seu elevado teor de ácido ascórbico (Vitamina C), que pode chegar a 5.000 mg.g⁻¹ de polpa (EMBRAPA, 2014). É um fruto climatérico, que apresenta maturação e senescência muito rápidas, o que dificulta o seu manuseio, armazenamento e conservação pós-colheita (ALVES, 1996).

A couve manteiga (*Brassica oleracea*) é hortaliça arbustiva anual ou bienal, da família Brassicaceae cujo consumo no Brasil tem gradativamente aumentado devido, provavelmente, às novas maneiras de utilização na culinária e às recentes descobertas da ciência quanto às suas propriedades nutracêuticas (NOVO et al., 2010). É uma cultura típica de outono-inverno, se desenvolvendo melhor em temperaturas mais amenas (16 a 22°C), apresentando certa tolerância ao calor podendo, em alguns locais, ser plantada ao longo de todo ano (FILGUEIRA, 2000). Existem diversas cultivares da couve manteiga, sendo classificadas quanto à aparência, cor e textura das folhas (NOVO et al., 2010).

O espinafre (*Tetragonia tetragonioides*) é um vegetal folhoso que contém vitamina A e C, carotenóides, ferro, ácido fólico e magnésio, sendo conhecido por ser benéfico para a saúde humana (REIF et al., 2012). É uma planta que possui perecibilidade muito elevada pós-colheita devido à grande quantidade de água presente em sua composição e por apresentar taxa de respiração muito alta (KADER, 2002).

Dentre as flores mais vendidas no mercado nacional destacam-se as rosas (*Rosas* sp.), que pertence à família Rosaceae, apresentando mais de 200 espécies e diversas variedades, híbridos e cultivares (BARBIERI e STUMPF, 2005). Contudo esta flor apresenta curto período de vida pós-colheita, que é decorrente de diversos fatores pré e pós-colheita, como estágio de desenvolvimento, nutrição e quantidade de carboidratos de reservas (GEERDINK, 2012).

Em geral, percebe-se que frutas, hortaliças ou flores apresentam alta perecibilidade, com curta vida pós-colheita, que pode ser reduzida ainda mais se o manejo não for adequado, já que permite maior ação do etileno e conseqüentemente, essa menor vida de prateleira. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação em pós-colheita de diferentes concentrações de ácido salicílico sobre a manutenção da qualidade e na longevidade da amora-preta, acerola, couve manteiga, espinafre e rosas de corte.

REFERÊNCIAS

- ALTVORST, A.C.; BOVY, A.G.; The role of ethylene in the senescence of carnation flowers: a review. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 16, p. 45-53, Jan. 1995.
- ALVES, R.E.; Características das frutas para exportação. In: GORGATTI NETTO, A.; ARDITO, E.F.G.; GARCIA, E.E. **Acerola para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. p.9-12. (Série Publicações técnicas FRUPEX, 21).
- ANTUNES, L.E.C; In: **Sistema de produção da amoreira preta**, 12. Embrapa Clima Temperado, 2008. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amora/SistemaProducaoAmoreiraPreta/intro.htm>> Acesso em: 04 fev. 2014.
- ANTUNES, L.E.C, FILHO, J. D.; SOUZA, C. M.; Conservação pós-colheita de frutos de amoreira preta. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 413-419, mar. 2003
- ANVISA, **Relatório da Anvisa indica resíduo de agrotóxicos acima do permitido**. Out. 2013. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/menu+-+noticias+anos/2013+noticias/relatorio+da+anvisa+indica+residuo+de+agrotoxico+acima+do+permitido>>. Acesso 05 fev. 2014.
- BARBIERI, R.L.; STUMPF, E.R.T.; Origem, evolução e história das rosas cultivadas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 3, p. 267-271, Jul-Set 2005.
- BRASIL, Decreto n.º 4.074 de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei n.º 7.802/89 (**Lei federal dos agrotóxicos**). Brasília, Diário Oficial da União de 08/01/2002.
- BRASIL, Lei n.º 7.802, de 12 de julho de 1989. "**Lei federal dos agrotóxicos**". Brasília, Diário Oficial da União de 12/07/1989.
- CAMPOS, A. D.; Considerações sobre indução de resistência a patógenos em plantas. **Documentos / Embrapa**. 28 p., Documentos, 264; ISSN 1516-8840. Embrapa Clima Temperado, Pelotas 2009.
- CHET, I. **Biotechnology in plant disease control**. 373p. New York: Wiley-Liss, 1993.
- DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.185-209, 2004.
- EMBRAPA, **Acerola**, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Mandioca e Fruticultura. Disponível em <http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=pesquisa-culturas_pesquisadas-acerola.php&menu=2>. Acesso em 04 fev. 2014.
- FILGUEIRA F.A.R.; **Novo manual de olericultura**. Viçosa: UFV. 420p. 2000.
- GEERDINK, G. M.; **Efeito de tratamentos de pré e pós-colheita na qualidade de rosas de corte**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 2012.
- GRÜNER, R.; STROMPEN, G.; PFITZNER, A.P.; PFITZNER, U.M. Salicylic acid and the hypersensitive response initiate distinct signal transduction pathways in tobacco that converge on the *as-1*-like element of the *PR-1a* promoter. **European Journal of Biochemistry**, v.270, p.4876-4886, 2003.
- HAMMERSCHMIDT, R.; MÉTRAUX, J. P.; VAN LOON, L. C. Inducing resistance: a summary of papers presented at the first international symposium on induced resistance to plant diseases, Carfu, May 2000. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, p. 1-6, 2001.
- JALALI, B.L.; BHARGAVA, S.; KAMBLE, A. Signal transduction and transcriptional regulation of plant defense responses. **Journal of Phytopathology**, v.154, p.65-74, 2006.

KADER, A. A.; Postharvest biology and technology an overview. In KADER A. A. (editor). Postharvest technology of horticultural crops. Third edition University of California, **Agriculture and Natural Resources**, Publication 3311, Oakland, pp. 39-47. 2002.

MARTINEZ, C.; BACCOU, J. -C.; BRESSON, E.; BAISSAC, Y.; DANIEL, J. -F.; JALLOUL, A.; MONTILLET, J. -L.; GEIGER, J. -P.; ASSIGBETSÉ, K.; NICOLE, M. Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race of *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 122, p. 757-766, 2000.

NOVO, M.C.S.S.; PANTANO, A.P.; TRANI, P.; BLAT, S.F.; Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. **Hortic. Bras.** vol.28 no.3 Brasília July/Sept. 2010

PROGRAMA DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS (PARA), **Relatório de Atividades de 2011 e 2012**, Gerência-Geral de Toxicologia. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Brasília, 2013.

REIF C; ARRIGONI E; NEUWEILER R; BAUMGARTNER D; NYSTRÖM L; HURRELL RF. Effect of sulfur and nitrogen fertilization on the content of nutritionally relevant carotenoids in spinach (*Spinacia oleracea*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, in press. DOI: 10.1021/jf301114p. 2012.

ROSS, A.F.; Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. **Virology**, San Diego, v.14, p. 340-358, 1961.

RYALS, J.; UKNES, S.; WARD, E. Systemic acquired resistance. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 104, p. 1109-1112, 1994.

SILVA, R. A.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L.; Defesa contra o ataque de patógenos. **Documentos Embrapa Agrobiologia**, ISSN 1517-8498; 250. 49 p. Seropédica – RJ, 2008.

STADNIK, M. **Indução de resistência a oídios**. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, Campinas. Anais do Congresso Paulista de Fitopatologia, v. 23, p. 176-181. 2000.

STRACK, D. Phenolic metabolism. In: DEY, P. M., HARBORNE, J. B. (Ed.). **Plant Biochemistry**. London: Academic Press, p. 387-416. 1997.

VERNOOIJ, B.; UKNES, S.; WARD, E.; RYALS, J. Salicylic acid as a signal molecule in plant-pathogen interactions. **Current Opinion in Cell Biology**, Danvers, v. 6, p. 275-279, 1994.

YALPANI, N.; SILVERMAN, P.; WILSON, M. A; KLEIER, D. A; RASKIN, I. Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis related proteins in virus-infected tobacco. **Plant cell**, Rockville, v. 3, p. 809-818, 1991.

2 QUALIDADE PÓS COLHEITA DE AMORA-PRETA TRATADA COM ÁCIDO SALICÍLICO

2.1 RESUMO

A amoreira preta é uma espécie que representa uma ótima opção para diversificação de renda em propriedades de agricultura familiar. A aplicação de elicitores está sendo testada para aumentar a conservação de frutas, devido a reduzir as podridões em pós-colheita. O ácido salicílico (AS) é um destes elicitores, o qual tem um extensivo papel de sinalizador em plantas, especialmente na defesa contra patógenos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do elicitor ácido salicílico (AS) aplicado em pós-colheita de amora-preta na conservação e a indução de resistência. Foram colhidas amoras-pretas da cultivar Tupy selecionadas e submetidas ao tratamento com cinco concentrações de AS (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM) e a testemunha (água destilada). Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições de 30 frutos por unidade experimental. Após 144 horas de armazenamento na temperatura de 8 °C, avaliaram-se a perda de massa da matéria fresca, os teores de sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (AT), teor de ácido ascórbico e a incidência de podridões. Nos intervalos de 24, 48, 96 e 144 horas retirou-se amostras de frutos para determinação de proteínas totais, antocianinas, flavonóides e atividades das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), quitinases e β -1,3-glucanase. Houve aumento do teor de proteínas e ativação da β -1,3-glucanase com a aplicação de AS, demonstrando haver indução de resistência nos frutos pela aplicação de AS. Os teores de antocianinas e flavonóides, bem como da atividade da FAL, tiveram alterações no decorrer do experimento em função da aplicação de AS, demonstrando haver ativação da rota dos fenilpropanóides para síntese de metabólitos secundários. Os tratamentos de AS não afetaram a perda de massa da matéria fresca, AT, SST, incidência de podridões, ácido ascórbico e atividade de quitinases.

Palavras-chave: *Rubus* sp.; amoreira preta; perdas pós-colheita; espécie frutífera.

2.2 ABSTRACT

POSTHARVEST QUALITY BLACKBERRY TREATED WITH SALICYLIC ACID

The blackberry tree is a specie considered as good option for diversification income in the family farming. The elicitors application is being tested to enhance the fruit conservation, already that reduce postharvest rots. Salicylic acid (SA) is one of these elicitors, which has an

extensive role flag in plants, particularly in the defense against pathogens. The aim of this study was to evaluate the SA elicitor effect applied in the blackberry postharvest for conservation and resistance induction. It was harvested Tupy blackberry selected and submitted the treatments with four SA concentrations (0.5; 1.0 1.5 and 2.0 mM) and the control treatment (distiller water). The experimental design used was a completely randomized, with four replications of 30 fruits per plot. After 144 hours of storage at 8 °C temperature, the fresh weight losses, total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), ascorbic acid and rot incidence were evaluated. During the intervals of 24, 48, 96 and 192 hours after treatment application, fruit samples were separated for total protein, anthocyanins, flavonoids and phenylalanine ammonia lyase (PAL), chitinase and β -1,3-glucanase enzymes activities were evaluated. There were an increase of protein level and the β -1,3-glucanase activation with the application of SA, what demonstrate that had induction for fruit resistance. The anthocyanins and flavonoids contents and the PAL activity had changes during the experiment due to the SA application, that it demonstrated to have activation of phenylpropanoid route for secondary metabolites synthesis. The SA treatments were not significant for fresh mass losses, TA, TSS, rot incidence, ascorbic acid and chitinase activities.

Keywords: *Rubus* sp.; blackberry; post-harvest losses; fruit species.

2.3 INTRODUÇÃO

A amoreira preta (*Rubus* sp) ainda é uma espécie frutífera pouco cultivada no Brasil, mas apresenta elevado potencial, por ser rústica e produtiva. Além disso, a amora-preta é uma fruta que possui sabor marcante e com propriedades antioxidantes (VIZZOTTO et al., 2012), o que representa em maior potencial para sua comercialização. No Brasil têm-se cinco espécies nativas de amoras-pretas, mas nenhuma ainda foi domesticada. Das cultivares de amoreira preta utilizadas no Brasil todas são resultado de introdução, hibridação e seleção de cultivares dos Estados Unidos que foram utilizadas pelo programa de melhoramento da Embrapa de Pelotas. Dentre estas destaca-se a Tupy, sendo a mais cultivada no Brasil, que foi lançada em 1988, pelo programa brasileiro citado anteriormente (RASEIRA et al., 2008).

Porém, a amora-preta é muito perecível, com rápida perda de qualidade em pós-colheita, sendo, por isso, mais utilizada para transformação em geleias e outros subprodutos. Para reverter essa rápida deterioração seria importante aplicar técnicas que permitam um redução das atividades metabólicas e ação do etileno.

Elicitores são produtos de origem biótica ou abiótica que, quando aplicados em plantas, induzem a expressão de genes que codificam diversas respostas de defesa a patógenos, conduzindo à indução da resistência sistêmica adquirida (RSA). A RSA promove a proteção de tecidos da planta ainda não atacados, tornando-os resistentes à infecção por patógenos. Tais respostas de defesa incluem síntese de proteínas relacionadas à patogenicidade (proteínas-RP), dentre elas as quitinases e glucanases, aumento da atividade de peroxidases, e da enzima fenilalanina amônia-liase, envolvida na rota de síntese de compostos fenólicos e acúmulo de lignina em tecidos adjacentes ao local de penetração do patógeno (DURRANT e DONG, 2004).

O ácido salicílico (AS) é um elicitor que tem um extensivo papel de sinalizador em plantas, especialmente na defesa contra patógenos, sendo transportado via floema para as partes não infectadas da planta, principalmente na forma de metil salicilato e, inclusive, servindo de sinal para plantas vizinhas. Pesquisas com plantas com genes mutados demonstram que o AS regula mecanismos de resistência no local de infecção (resposta de hipersensibilidade - HR) e através da RSA, atuando na expressão de genes responsáveis pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio no apoplasto, tais como superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que causam a morte de células no local da infecção (HR), pela síntese de lignina na parede celular de células vizinhas ao local de infecção e pela síntese de proteínas-RP e compostos fenólicos em locais distantes da infecção (RSA) (GRÜNER et al., 2003; JALALI et al., 2006; VLOT et al., 2009).

A aplicação de ácido salicílico está sendo testada para aumentar a conservação de frutos, pois atuam na ativação de mecanismos de defesa vegetal, como os observados pela aplicação do mesmo em pós-colheita de morangos (LOLAEI et al., 2012; SALARI et al., 2012) e pêssegos (KHADEMI e ERSHADI, 2013).

Entretanto, por mais que se conheçam no meio científico os efeitos do indutor de resistência AS, os trabalhos ainda são inexistentes para amora-preta. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ácido salicílico na conservação pós colheita e na indução de resistência sistêmica adquirida da amora-preta.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

As amoras-pretas da cultivar Tupy foram colhidas em um pomar experimental do setor de fruticultura, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos, e imediatamente transportadas e acondicionadas sob refrigeração no Laboratório de Fitossanidade da instituição citada. As frutas foram separadas quanto ao tamanho, grau de

maturação e ausência de injúrias. Em seguida, foram aplicadas soluções de ácido salicílico, de acordo com seu tratamento, sendo as concentrações de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM e a testemunha (água destilada). As amoras-pretas foram submersas por 1 minutos nos tratamentos e, em seguida, acondicionados em bandejas de isopor com tampa (dimensões de 10 x 10 x 8 cm). Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições de 30 frutos cada.

Após 144 horas de armazenamento em B.O.D., na temperatura de 8 °C, avaliou-se a perda de massa da matéria fresca, os teores de sólidos solúveis totais (SST), de acidez titulável (AT) e de ácido ascórbico, bem como a incidência de podridões. Em intervalos de 24, 48 e 96 e 144 horas retirou-se amostras de frutos para determinação de proteínas totais, antocianinas, flavonoides e atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase, quitinase e β -1,3-glucanase. Tais análises foram realizadas para todos os tratamentos, com exceção de quitinase e β -1,3-glucanase que foram realizados somente para os tratamentos testemunha e na maior concentração (2,0 mM).

A perda de massa da matéria fresca das amoras-pretas foi obtida pela diferença da matéria do dia da instalação do experimento e do valor encontrado na pesagem após 144 horas de armazenamento, expresso em percentual. O teor de SST foi analisado do suco extraído dos frutos, com o auxílio de um refratômetro digital, sendo os valores expressos em °Brix. A AT foi determinada de 10 mL de suco dos frutos diluído em 90 mL de água destilada, seguido por titulação com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 N até atingir pH 8,1, sendo expresso em meq 100 mL⁻¹. A avaliação da incidência de podridões foi realizada por análise visual e expressa em percentual de frutas com sintomas de doenças (micélios aparentes). A análise de ácido ascórbico (vitamina C) foi realizada por volumetria com utilização de iodo padronizado para oxido-redução, segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), em que cada mL de iodo gasto na titulação correspondeu a 8,806 mg de ácido ascórbico.

Para a quantificação das análises bioquímicas de proteína, antocianinas, flavonoides e atividade da enzima fenilalanina amônia-liase foi coletado suco das frutas e armazenado. Para análise de proteínas foi empregado o teste de Bradford (1976), aonde foi retirado 0,3 mL do suco das frutas, colocado em um recipiente e adicionado mais 2,5 mL da solução tampão Fosfato 0,2 Molar pH 7,5, obtendo-se assim o extrato. Este extrato foi colocado em ependorfes devidamente identificados, levados a centrífuga, aonde permaneceram por 10 minutos a 12.000 rpm e a 4 °C. Após retirados da centrífuga foi transferido 40 microlitros do extrato sobrenadante para tubos de ensaio, sendo adicionado mais 460 microlitros de água destilada e 1,0 mL do reagente Bio-Rad diluído 1:4. As soluções foram agitadas, e após, acondicionadas em cubetas

pra ser realizada a leitura a 630 nanômetros em espectrofotômetro, obtendo-se assim, o valor de absorbância.

Para a quantificação de flavonoides e antocianinas utilizou-se a metodologia descrita por Lees e Francis (1972), sendo utilizado 0,3 mL do suco das amoras-pretas diluído em 5,0 mL da solução extratora, formada por etanol 95% mais HCl 1,5 N na proporção de 85:15. Esse extrato foi conservado em tubos de ensaio ao abrigo de luz e a temperatura de 4 °C por 20 horas. Após este período, o extrato foi filtrado com mais 5,0 mL da solução extratora citada acima e deixado em repouso em frascos cobertos com papel alumínio por 2 horas. Depois do repouso foi retirado 0,5 mL da amostra com mais 3,0 mL da solução extratora e acondicionada em tubos de ensaio identificados, que foram agitados, para então proceder a leitura em espectrofotômetro. Para flavonoides a leitura foi feita a 370 nm, e para antocianinas a 535 nm, obtendo-se, assim, os devidos valores de absorbância.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por Kuhn (2007), aonde se utilizou 0,5 mL do suco das frutas com mais 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. Este extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente marcados que foram levados para a centrífuga por 10 minutos, a 4 °C e a 6000 rpm. Após, foi transferido uma alíquota de 200 µL para tubo de ensaio identificado, acrescentando-se mais 3,0 mL do tampão de extração. A solução foi agitada, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5 mL foi transferido para outro tubo de ensaio, com mais 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, esta solução foi agitada para homogeneização. E após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim poder ser feita a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

Para dosagem das atividades de quitinase e β -1,3-glucanase as amostras foram maceradas em 2,0 mL de tampão acetato 100 mM (pH 5,0), com posterior centrifugação (20.000 g por 25 min, a -4 °C). O sobrenadante foi coletado e utilizado para a avaliação da atividade das enzimas. A atividade enzimática da quitinase foi avaliada através da liberação de fragmentos solúveis de “CM-chitin-RBV”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta. Para determinação espectrofotométrica das atividades de β -1,3-glucanase nos extratos foi utilizado como substrato solução de carboximetilcurdlan-remazol azul brilhante (CM-Curdlan-RBB 4 mg.ml⁻¹, Loewe Biochemica GmbH), de acordo com

metodologia desenvolvida por Wirth e Wolf (1992) e com o procedimento descrito por (GUZZO et al. 1996)

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e apresentados usando estatística descritiva (média \pm desvio padrão), teste de Tukey ou análise de regressão, utilizando o programa ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2009).

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as variáveis físico-químicas perda de massa da matéria fresca, acidez titulável, sólidos solúveis totais, incidência de podridões e ácido ascórbico, não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, após 144 horas de armazenamento, apresentando-se as médias de 1,80 %, 10,87 meq.100 mL⁻¹, 9,58 °Brix, 2,66 % e 8,12 mg.100g⁻¹ de ácido ascórbico, respectivamente. A amora-preta é um fruto não climatérico, muito perecível, sendo sua atividade metabólica bastante acelerada em pós-colheita, o que pode ter dificultado as observações do efeito do AS sobre as variáveis físico-químicas, considerando a curta vida pós-colheita da fruta. Também, esta deterioração acelerada das frutas poderia ser restringida se fosse utilizada menor temperatura de armazenamento, a qual foi de 8 °C no presente experimento, temperatura esta que buscou simular a temperatura de exposição (balcões refrigerados) utilizada na grande maioria dos mercados. Porém, Antunes et al. (2003) verificaram que a temperatura de 2 °C proporcionou maior conservação de amoras-pretas das cultivares Comanche e Brazos, até nove dias após a colheita.

Para outros autores, o AS teve efeito de redução da perda de massa da matéria fresca e da incidência de fungos, manutenção da firmeza, maior quantidade de vitamina C, maior AT e teor de SST, redução da respiração e da produção de etileno (que são relacionados a aceleração da deterioração de frutos), não causando efeitos negativos na aparência e no sabor de pêssegos, romãs e morangos, tendo a concentração de 2,0 mM de AS a mais efetiva para manutenção da qualidade destes frutos (AMBORABE et al., 2002; SAYARI et al., 2009; LOLAEI et al., 2012; SALARI et al., 2012; KHADEMI e ERSHADI, 2013).

No presente trabalho, os dados demonstraram que houve aumento no teor de proteínas com a aplicação de AS (Figura 2.1). Após 24 horas da aplicação de AS na concentração de 1,0 mM ocorreu um pico de ativação da síntese de proteínas, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Nos frutos tratados nas concentrações de 1,5 e 2,0 mM de AS ocorreu elevação do teor de proteínas de maneira gradual, atingindo o pico máximo com 96 horas após a aplicação, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Este efeito foi significativo

até 96 horas após a aplicação, pois com 144 horas após a aplicação não havia mais diferença entre os tratamentos (Figura 2.1).

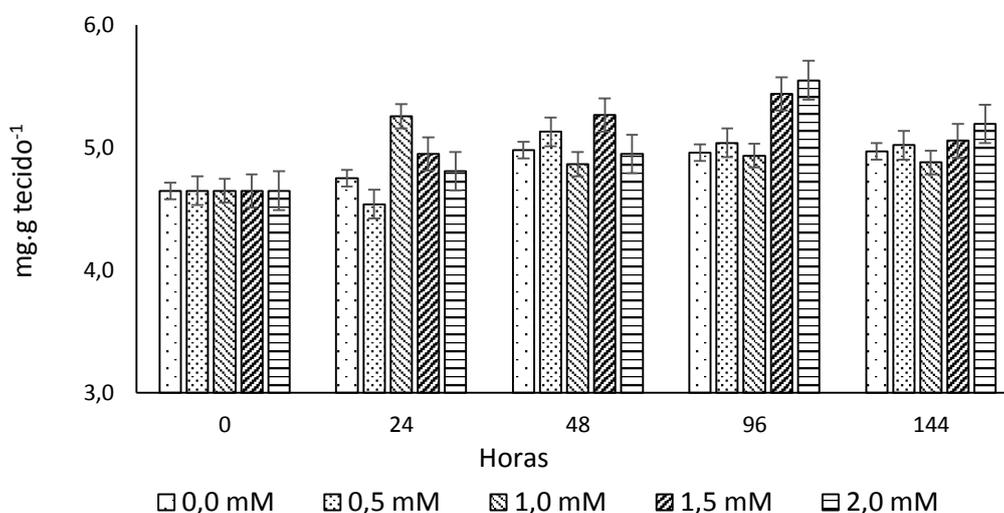


Figura 2.1- Teor de proteínas de amora-preta avaliada às 0, 24, 48, 96 e 144 horas após a aplicação de cinco concentrações de ácido salicílico. Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013

Também, quando avaliou-se a atividade das enzimas quitinase e β -1,3-glucanase, entre a testemunha e a maior concentração (0,0 e 2,0 mM, respectivamente), observou-se que o AS atuou significativamente sobre β -1,3-glucanase, ocorrendo maior ativação da mesma após 96 e 144 horas (Tabela 2.1), já que foi estatisticamente superior a concentração 0,0 mM. Tal resultado demonstrou que existe relação entre a elevação dos níveis de proteínas totais e a atividade da proteína-RP β -1,3-glucanase, que são ativadas quando se aplica o elicitor AS (VLOT et al., 2009). Para a atividade das quitinases não ocorreu diferença entre os tratamentos, demonstrando haver predominância da síntese de β -1,3-glucanase na defesa vegetal (Tabela 2.1). Os principais componentes da parede celular de muitos fungos são os polissacarídeos quitina e β -1,3-glucano, que são substratos para a quitinase e a β -1,3-glucanase, respectivamente (WESSELS e SIETSMA, 1981). Por isso, estas enzimas hidrolíticas são relacionadas à indução da RSA.

Tal resultado, vêm corroborar com o observado por Inocêncio et al. (2009) em planta de feijoeiro infectada por *Sclerotinia sclerotiorum* aonde houve um incremento na atividade de β -1,3-glucanase nas plantas tratadas com AS.

Tabela 2.1 - Atividade enzimática da quitinase (UAbs.µg prot.mL⁻¹) e β-1,3 glucanase (UAbs min⁻¹/mg proteína) presentes nos extratos de amora-preta tratadas com duas concentrações de ácido salicílico e avaliada em 4 momentos. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.

Tratamentos	Avaliações bioquímicas enzimáticas				
	24 horas	48 horas	96 horas	144 horas	Média
Quitinases	UAbs.µg prot.mL ⁻¹				
Testemunha	0,012 ^{ns}	0,014 ^{ns}	0,010 ^{ns}	0,012 ^{ns}	0,011 ^{ns}
AS (2,0 mM)	0,011	0,011	0,012	0,014	0,012
β-1,3 Glucanase	UAbs min ⁻¹ /mg proteína				
Testemunha	0,024aA	0,028aA	0,030bA	0,035bA	0,024aA
AS (2,0 mM)	0,028aB	0,029aB	0,098aA	0,095aA	0,028aB

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ns=não significativo

Observou-se, também, alteração da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) pela aplicação do AS, demonstrando oscilação em seu comportamento no decorrer do armazenamento (Figura 2.2). Em alguns momentos da avaliação verificou-se comportamento de diminuição da atividade em função das concentrações. Fato este, também observado por Picoli et al. (2010), que verificaram redução da atividade da FAL quando aplicaram AS em beterrabas minimamente processadas. Possivelmente, isso tenha ocorrido em função do AS proporcionar queda na taxa respiratória, reduzindo a formação de fosfoenolpiruvato e de eritrose 4-fosfato, precursores da fenilalanina (substrato da FAL), diminuindo com isso a atividade desta enzima (ZHANG et al., 2003; PICOLI et al., 2010). Todavia, em outras espécies ocorreu incremento da atividade da FAL em função das concentrações aplicadas, como observado em uvas (CHEN et al., 2006) e romãs (SAYARI et al., 2009).

Essa oscilação observada na atividade da FAL em todas as concentrações com o passar do tempo de avaliação, pode estar relacionado à interferência de outros fatores ligados ao metabolismo pós-colheita dos frutos que não foram mensurados nesse trabalho, tais como a ação do etileno, respiração, pico climatérico, entre outros.

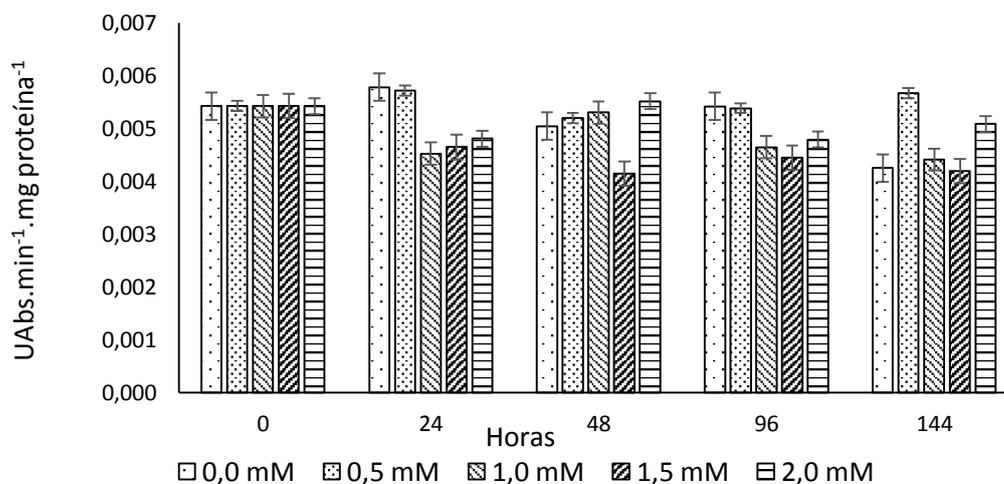


Figura 2.2- Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase de amora-preta avaliada as 0, 24, 48, 96 e 144 horas após a aplicação de cinco concentrações de ácido salicílico. Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.

Quando se aplicou AS nas concentrações de 1,5 e 2,0 mM, os conteúdos de flavonoides foram significativamente menores que na testemunha, até às 96 horas da aplicação dos tratamentos. Entretanto, houve inversão nesta superioridade na avaliação final, ou seja, após 144 horas da aplicação (Figura 2.3). Possivelmente, isso se deve ao fato dos tratamentos terem reduzido o metabolismo das amoras-pretas, retardando a maturação e com isso também a síntese dos flavonoides. Tal comportamento permite associação com a atividade da FAL, pois esta enzima está diretamente envolvida na síntese de compostos fenólicos (NAKAZAWA et al., 2001). Provavelmente, o AS atuou na redução da atividade do metabolismo primário e, consequentemente, no metabolismo secundário, pelo qual há a formação de flavonoides. Como houve a elevação dos níveis dos flavonoides após 96 horas nas concentrações acima de 1,0 mM, é possível afirmar que houve retardo no processo de maturação pela aplicação das maiores concentrações de AS. Em estudo com kiwis, Zhang et al. (2003) verificaram que a aplicação de AS inibiu a síntese de etileno, retardando o pico climatérico e consequentemente, atrasando a senescência.

Os resultados do teor de antocianinas complementaram os observados para flavonoides e sugerem que o AS retardou a maturação dos frutos (Figura 2.3). Contudo, não houve diferença significativa no teor de antocianinas entre a testemunha e a maioria das concentrações de AS

com o passar do tempo de avaliação. Inclusive na última avaliação a testemunha apresentou maior teor de antocianinas em relação aos frutos tratados com AS.

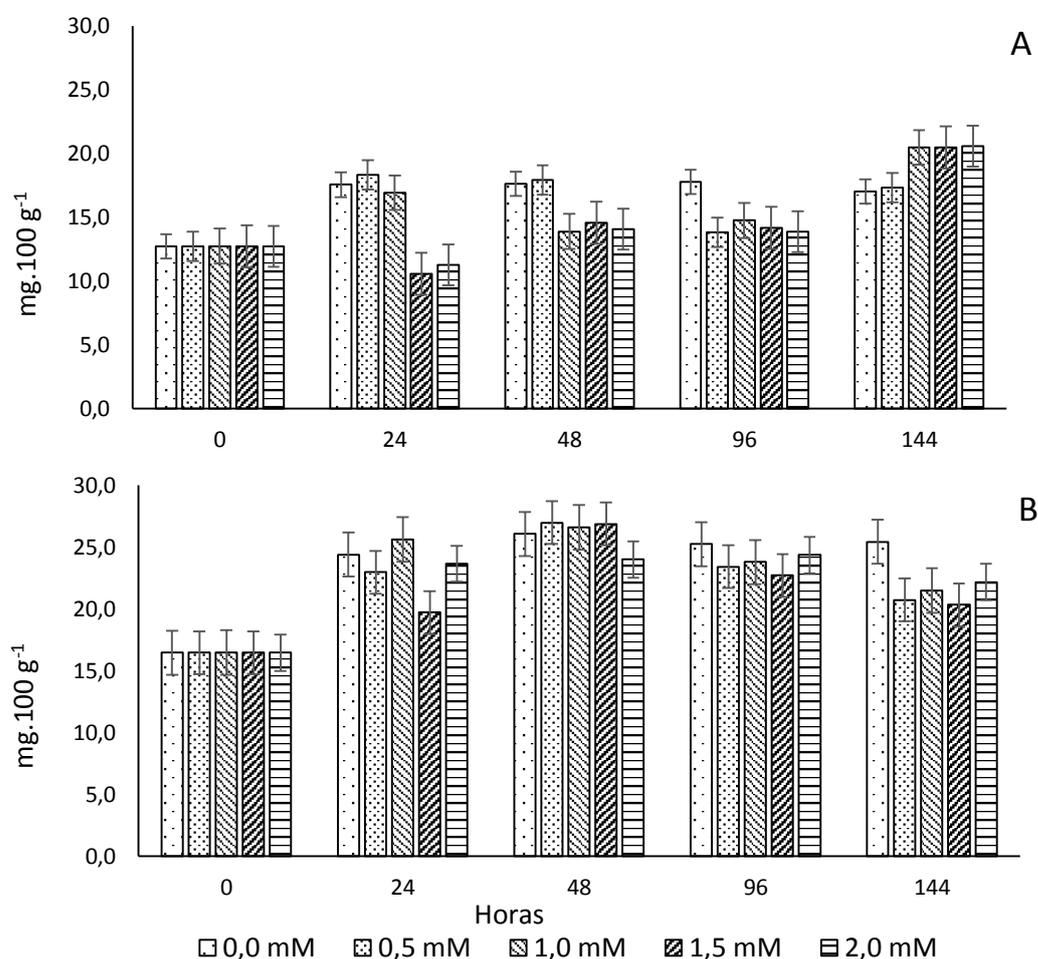


Figura 2.3- Teor de flavonoides (A) e antocianinas (B) de amora-preta avaliados as 0, 24, 48, 96 e 144 horas após a aplicação de cinco concentrações de ácido salicílico. Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.

Quando se fez avaliação conjunta dos dados, observou-se que o AS atua ativando mecanismos de defesa vegetal, pois observou-se alteração nas variáveis bioquímicas como na síntese de proteínas, nas atividades da β -1,3-glucanase, e da FAL e nas sínteses de antocianinas e flavonoides. No entanto, os tratamentos com AS não interferiram diretamente sobre perda de massa da matéria fresca, AT, SST, ácido ascórbico e podridões, o que sugere-se novos experimentos que possibilitem estudar a interação fruto-patógeno na RSA, e que sejam realizadas aplicações pré-colheita, conjugada a aplicação pós-colheita, as quais podem potencializar os efeitos de indução de RSA (CAPDEVILLE et al., 2003), sem que haja prejuízos na qualidade sensorial dos frutos, conforme foi observado.

2.6 CONCLUSÕES

O ácido salicílico aplicado durante a pós colheita de amora-preta ativou as principais rotas metabólicas de defesa (proteínas-RP, β -1,3-glucanase e a rota dos fenilpropanóides, fenilalanina amônia-liase, antocianinas e flavonoides). A aplicação de ácido salicílico não teve influência nas características sensoriais das amoras-pretas em pós-colheita.

REFERÊNCIAS

- AMBORABE, B.E.; LESSARD, P.; CHOLLET, J.F.; ROBLIN, G. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure-activity relationship. **Plant Physiology and Biochemistry**, Poitiers, v.40, p.1051-1060, 2002.
- ANTUNES, L.E.C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C.M. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira preta. **Pesq. agropec. bras.** Brasília, v. 38, n. 3, p. 413-419, 2003.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Athens, v.72, p.248-254, 1976.
- CAPDEVILLE, G.; BEER, S.V.; WATKINS, C.B.; WILSON, C.L.; TEDESCHI, L.O.; AIST, J.R. Pre- and post-harvest harpin treatments of apples induce resistance to blue mold. **Plant Disease**, Brasília, v.87, p.39-44, 2003.
- CHEN, J.Y.; WEN, P.F.; KONG, W.F.; PAN, Q.H.; ZHANA, J.; LIA, J.M.; WAN, S.B. Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. **Postharvest Biology and Technology**, Beijing, v.40, p.64-72, 2006.
- DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Durham, v.42, p.185-209, 2004.
- GRÜNER, R.; STROMPEN, G.; PFITZNER, A.P.; PFITZNER, U.M. Salicylic acid and the hypersensitive response initiate distinct signal transduction pathways in tobacco that converge on the *as-1*-like element of the *PR-1a* promoter. **European Journal of Biochemistry**, Stuttgart, v.270, p.4876-4886, 2003.
- GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.144, p.449-454, 1996.
- INOCÊNCIO, A. P. M.; OLIVEIRA, M. B.; SANTOS, E. M.; NASCIMENTO, L. B.; ALVES, E. B.; SOARES, D. A.; LOBO JR., M.; SILVA, S. P.; **Indução de resistência em planta de feijoeiro infectada por *Sclerotinia sclerotiorum*. 25º Congresso Brasileiro de Microbiologia. ResumoID:2096-1. Porto de Galinhas, Nov. 2009**
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4º ed.; 1º ed. digital. São Paulo, 2008.
- JALALI, B.L.; BHARGAVA, S.; KAMBLE, A. Signal transduction and transcriptional regulation of plant defense responses. **Journal of Phytopathology**, Pune, v.154, p.65-74, 2006.
- KHADEMI, Z.; ERSHADI, A. Postharvest application of salicylic acid improves storability of peach (*Prunus persica* cv. Elberta) fruits. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v.5-6, p.651-655, 2013.
- KUHN, O.J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção.** 2007. 140p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

- LEES, D.H.; FRANCIS, F.J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, Alexandria, v.7, p.83-84, 1972.
- LOLAEI, A.; KAVIANI, B.; REZAEI, M.A.; RAAD, M.K.; MOHAMMADIPOUR, R. Effect of pre- and postharvest treatment of salicylic acid on ripening of fruit and overall quality of strawberry (*Fragaria ananasa* Duch cv. Camarosa) fruit. **Annals of Biological Research**, v.3, n.10, p.4680-4684, 2012.
- NAKAZAWA, A.; NOZUE, M.; YASUDA, H.; TAKEDA, G.; KUBO, H. Expression pattern and gene structure of phenylalanine ammonia-lyase in *Pharbitis nil*. **Journal of Plant Research**, v.114, p.323-328, 2001.
- PICOLI, A.A.; FARIA D.F.; JOMORI, M.L.L.; KLUGE, R.A. Avaliação de biorreguladores no metabolismo secundário de beterrabas inteiras e minimamente processadas. **Bragantia**, v.69, n.4, p.983-988, 2010.
- RASEIRA, M.C.B.; SANTOS, A.M.; BARBIERI, R.L. Classificação botânica, origem e cultivares. In: **Sistema de produção da amoreira preta**, 12. Embrapa Clima Temperado, 2008. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amora/SistemaProducaoAmoreiraPreta/botanica.htm>> Acesso em: 04 nov. 2013.
- SALARI, N.; BAHRAMINEJAD, A.; AFSHARMANESH, G.; KHAJEHPOUR, G. Effect of salicylic acid on post-harvest quantitative and qualitative traits of strawberry cultivars. **Advances in Environmental Biology**, v.7, n.1, p.94-99, 2012.
- SAYARI, M.; BABALAR, M.; KALANTARI, S.; ALIZADEH, H.; ASGARI, M.A. Effect of salicylic acid on chilling resistance and phenylalanine ammonia-lyase activity in pomegranate cultivars Mals Saveh in storage. **Iranian Journal of Horticulture Sciences**, v.40, n.3, p.21-28, 2009.
- SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **World congress on computers in agriculture**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.
- VIZZOTTO, M.; RASEIRA, M.C.B.; PEREIRA, M.C.; FETTER, M.R. Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em diferentes genótipos de amoreira preta (*Rubus* sp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, n.3, p.853-858, 2012.
- VLOT, A.C.; DEMPSEY, D.A.; KLESSIG, D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. **Annual Review of Phytopathology**, v.47, p.177-206, 2009.
- WESSELS, J.G.H.; SIETSMA, J.H. Fungal cell walls: a survey. In: TANNER, W.; FA LOEWUS, F.A. (Eds.). **Encyclopedia of Plant Physiology: Plant Carbohydrates**, v.138. Berlin: Springer, 1981. P.352-394.
- WIRTH, S.J.; WOLF, G.A.; Micro-plate colourimetric assay for endo-acting cellulose, xylanase, chitinase, 1,3- β -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. **Soil Biology and Biochemistry**, v.24, p.511-519, 1992.
- ZHANG, Y.; CHEN, K.; ZHANG, S.; FERGUSON, I. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.28, p.64-74, 2003.

3 QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE ACEROLAS TRATADAS COM ÁCIDO SALICÍLICO

3.1 RESUMO

A acerola é uma fruta com elevado teor de nutrientes, ácido ascórbico e antocianinas, porém possui elevada perecibilidade. Para aumentar a vida de prateleira de frutas e hortaliças, têm sido testados os indutores de resistência que atuam para o bloqueio da síntese de etileno e para o controle de patógenos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ácido salicílico (AS) na conservação pós-colheita de acerolas. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente ao acaso, com quatro repetições de 30 frutos. Os tratamentos consistiram na utilização de solução de AS em cinco concentrações de ácido salicílico (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM). Após 192 horas da aplicação dos tratamentos, avaliaram-se a perda de massa da matéria fresca, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (AT), teor de ácido ascórbico e incidência de podridões. Decorrido 24, 48, 96 e 192 horas da aplicação dos tratamentos com AS determinaram-se os teores de antocianinas e flavonoides e, a atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), quitinases e β -1,3-glucanase. O AS atuou na manutenção da qualidade pós-colheita de acerolas, pois a AT foi maior e o SST menores em acerolas tratadas com AS, o que demonstra um atraso na maturação/senescência dos frutos. A perda de massa da matéria fresca e o teor de ácido ascórbico não diferiram significativamente entre acerolas tratadas e não tratadas com AS. Além disso, houve redução da incidência de podridões em frutos com a aplicação de AS nos frutos, demonstrando o controle de fungos exercido por este indutor de resistência. O AS atuou sobre a ativação das enzimas quitinases, β -1,3-glucanase e FAL e aumentou os teores de antocianinas e flavonoides, demonstrando haver indução de resistência nos frutos proporcionando controle de podridões pelo uso deste indutor.

Palavras-chave: *Malpighia emarginata*, fruticultura, frutos, senescência.

3.2 ABSTRACT

SALICYLIC ACID OPERATES IN MAINTENANCE OF POST-HARVEST QUALITY ACEROLAS

Acerola is a fruit with a high content of nutrients, ascorbic acid and anthocyanins, but has high perishability. It to increase the shelf life of fruits and vegetables, the resistance inducers that act to block the synthesis of ethylene and for the control of pathogens have been tested. The

objective of this study was to evaluate the effect of salicylic acid (SA) in postharvest acerolas conservation. The experiment was conducted at a completely randomized design with four replications of 30 fruits. The treatments consisted of using SA solution at five concentrations of salicylic acid (0.0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mM). After 192 hours of treatment application, we assessed the loss of fresh weight, total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), ascorbic acid and decayed. Elapsed 24, 48, 96 and 192 hours following treatments with SA were determined the levels of anthocyanins and flavonoids and the activity of the enzymes phenylalanine ammonia lyase (PAL), chitinase and β -1,3-glucanase. SA acted in maintaining the postharvest quality acerolas because TA was greater and smaller in the TSS have been treated with the acerola fruit, demonstrating a delay in ripening / fruit senescence. The loss of fresh weight and ascorbic acid content did not differ significantly between treated and untreated acerolas with SA. In addition, there was a reduction in the incidence of fruit rots in the application of AS in fruits, demonstrating the control exercised by the fungi resistance inducer. SA acted on the activation of the enzyme chitinase, β -1,3-glucanase and PAL and increased levels of anthocyanins and flavonoids, which demonstrated induction of resistance to fruit rot control by providing use of this inductor.

Keywords: *Malpighia emarginata*, fruit, fruits, senescence.

3.3 INTRODUÇÃO

A aceroleira (*Malpighia emarginata*) é uma planta rústica que produz frutos com elevado teor de nutrientes, ácido ascórbico (vitamina C) e antocianinas (MUSSEER et al., 2004). Além disso, as acerolas possuem sabor e textura agradáveis ao consumidor, sendo que essas características levam-na a ser um produto de grande aceitação no mercado (CAETANO et al. 2012).

No entanto, a acerola é um fruto muito perecível, que perde suas características desejáveis para o consumo muito rapidamente após sua colheita. O padrão climatérico desta fruta é fator que acelera sua senescência após a colheita e a perda de umidade é muito significativa nos primeiros dias de conservação, o que torna os frutos mais suscetíveis à ocorrência de patógenos (CARVALHO e GROLLI, 1998). Portanto, torna-se importante o estudo de métodos de conservação de acerolas que permitam a extensão de sua vida após a colheita, possibilitando melhores condições para comercialização (CARVALHO e GROLLI, 1998). Nesse sentido, tornam-se importantes métodos alternativos, atóxicos, que permitam a manutenção da qualidade pós-colheita de frutos. Os indutores de resistência são produtos

bióticos ou abióticos, que ativam o processo de resistência de plantas ao ataque de patógenos e, com isso, podem prolongar a vida pós-colheita.

De acordo com Yalpani et al. (1991) a via biossintética do ácido salicílico aparentemente inicia-se com a conversão da fenilalanina para ácido transcinâmico catalisado pela enzima fenilalanina amônia-liase (FAL). A partir dessa conversão, o ácido transcinâmico parece, então, seguir duas vias. Numa delas, ocorre a formação do ácido benzóico que, após a ação da enzima ácido benzóico 2-hidroxilase, se converte em AS. Na outra, o ácido transcinâmico é hidroxilado a ácido 2-cumárico que é, então, oxidado a AS (RYALS et al., 1994; STRACK, 1997). Porém, estudos apontam como via principal de formação do AS aquela cujo intermediário é o ácido benzóico (VERNOOIJ et al., 1994)

Segundo Campos (2009), o ácido salicílico trata-se de um mensageiro que ativa a resistência contra patógenos incluindo a síntese de proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP). Muitas Proteínas-RP possuem tanto atividade antifúngica como atividade antibacteriana *in vitro* como, por exemplo, quitinases e glucanases. A degradação de polissacarídeos estruturais da parede celular de fungos ou alterações na sua arquitetura, promovidas por estas enzimas, podem prejudicar o desenvolvimento do microrganismo, impedindo seu crescimento (ZAREIE et al., 2002). Além disso, proteínas-RP possuem ação indireta (a indução de resistência), prevenindo a penetração de patógenos, por ação oxidativa de componentes da parede celular vegetal por meio de peroxidases, ou envolvimento na transdução de sinais durante a interação patógeno-hospedeiro (STANGARLIN et al., 2011).

O AS apresentou efeito de indução de resistência e manutenção da qualidade pós-colheita de maracujás (WEBER et al., 2012), morangos (LOLAEI et al., 2012; SALARI et al., 2012) e pêssegos (KHADEMI e ERSHADI, 2013), por exemplo. Porém, na conservação pós-colheita de acerolas as pesquisas são inexistentes, o que poderá ser um alternativa de interesse para manutenção da qualidade dos frutos na pós-colheita.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do indutor de resistência ácido salicílico na conservação pós-colheita de acerolas.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

As acerolas foram colhidas em um pomar orgânico no município de Dois Vizinhos, Paraná, e transportadas ao Laboratório de Fitopatologia, onde passaram por seleção, uniformização, e pesagem das amostras. Em seguida, os frutos foram submersos por 5 minutos em solução de ácido salicílico de acordo com sua concentração 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM. Os

frutos foram acondicionados em bandejas de plástico com tampa (dimensões de 10 x 10 x 8 cm). Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições de 30.

Após 192 horas de armazenamento em B.O.D. a 8 °C, avaliou-se a perda de massa da matéria fresca, teor de sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (AT), incidência de podridões e teor de ácido ascórbico dos frutos. Além disso, após 24, 48, 96 e 192 horas da aplicação da solução com ou sem ácido salicílico, foi realizada maceração de alguns frutos e após, eles passaram por uma peneira, para retirar o suco para determinação de antocianinas, flavonoides e atividades das enzimas fenilalanina amônia-liase, quitinase e β -1,3-glucanase. Tais análises foram realizadas para todos os tratamentos, com exceção de quitinase e β -1,3-glucanase, que foram realizados somente para frutos sem aplicação de AS (testemunha) e com aplicação da concentração de 2,0 mM de AS.

A perda de massa da matéria fresca dos frutos foi obtida pela diferença da matéria fresca das amostras no dia da instalação do experimento com valor encontrado nas pesagens no final do experimento, expresso em percentual. A avaliação de podridões foi realizada de maneira visual, observando os sintomas característicos de ataque de patógenos. O teor de SST foi analisado do suco extraído dos frutos, com o auxílio de um refratômetro digital. Os valores foram expressos em °Brix. A AT foi determinada de 10 mL de suco dos frutos diluído em 100 mL de água destilada, seguido por titulação com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 N até atingir pH 8,1, sendo expresso em meq 100 mL⁻¹. A análise de ácido ascórbico foi realizada por volumetria com utilização de iodo padronizado para oxido-redução, segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), em que cada mL de iodo gasto na titulação correspondeu a 8,806 mg de ácido ascórbico.

Para a quantificação de flavonoides e antocianinas utilizou-se a metodologia descrita por Lees e Francis (1972), sendo utilizado 0,3 mL do suco das amoras-pretas diluído em 5,0 mL da solução extratora, formada por etanol 95% mais HCl 1,5 N na proporção de 85:15. Esse extrato foi conservado em tubos de ensaio ao abrigo de luz e a temperatura de 4 °C por 20 horas. Após este período, o extrato foi filtrado com mais 5,0 mL da solução extratora citada acima e deixado em repouso em frascos cobertos com papel alumínio por 2 horas. Depois do repouso foi retirado 0,5 mL da amostra com mais 3,0 mL da solução extratora e acondicionada em tubos de ensaio identificados, que foram agitados, para então proceder a leitura em espectrofotômetro. Para flavonoides a leitura foi feita a 370 nm, e para antocianinas a 535 nm, obtendo-se, assim, os devidos valores de absorbância.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por Kuhn (2007), aonde se utilizou 0,5 mL do suco das frutas com mais 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. Este extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente marcados que foram levados para a centrífuga por 10 minutos, a 4 °C e a 6000 rpm. Após, foi transferido uma alíquota de 200 µL para tubo de ensaio identificado, acrescentando-se mais 3,0 mL do tampão de extração. A solução foi agitada, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5 mL foi transferido para outro tubo de ensaio, com mais 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, esta solução foi agitada para homogeneização. E após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim poder ser feita a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

Para dosagem das atividades de quitinase e β -1,3-glucanase as amostras foram maceradas em 2,0 mL de tampão acetato 100 mM (pH 5,0), com posterior centrifugação (20.000 g por 25 min, a -4 °C). O sobrenadante foi coletado e utilizado para a avaliação da atividade das enzimas. A atividade enzimática da quitinase foi avaliada através da liberação de fragmentos solúveis de “CM-chitin-RBV”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta. Para determinação espectrofotométrica das atividades de β -1,3-glucanase nos extratos foi utilizado como substrato solução de carboximetilcurdlan-remazol azul brilhante (CM-Curdlan-RBB 4 mg.ml⁻¹, Loewe Biochemica GmbH), de acordo com metodologia desenvolvida por Wirth e Wolf (1992) e com o procedimento descrito por (GUZZO et al. 1996)

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e apresentados usando estatística descritiva (média \pm desvio padrão), teste de Tukey ou análise de regressão, utilizando o programa ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2009).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados demonstraram que os tratamentos com AS propiciaram maior manutenção acidez titulável de acerolas em relação à testemunha, sendo a equação que melhor representou foi linear crescente com o aumento da concentração. (Figura 3.1A). A perda da acidez está relacionada ao processo natural de maturação dos frutos, pois ocorre uma utilização dos ácidos orgânicos, como substrato no processo respiratório via ciclo de Krebs. Nesse sentido, a

manutenção em valores mais elevados é um parâmetro importante para preservação da qualidade dos frutos. O teor de sólidos solúveis totais (SST) em acerolas com a aplicação de AS apresentaram valores inferiores em relação a testemunha (Figura 3.1B). Isto sugere que a testemunha atingiu maior grau de maturação no momento das avaliações em relação aos frutos tratados com AS. Esse acréscimo é atribuído principalmente a hidrólise de amido, gerando açúcares solúveis, que ocorre durante o processo de maturação, visto que a acerola é uma fruta climatérica, com elevada velocidade de respiração (ALVES et al. 1995). Outra hipótese é a de que o ácido salicílico tenha a capacidade de evitar os efeitos relativos ao etileno, sendo usado para retardar a maturação de frutas e a senescência de hortaliças e flores (BLANKENSHIP e DOLE, 2003). Segundo Jun et al. (1999), a produção de etileno pode ser reduzida com a aplicação de ácido salicílico, que inibe a ACC oxidase, a enzima formadora do etileno.

Observou-se que o percentual de perda de massa da matéria fresca e a evolução do teor de ácido ascórbico ocorreram dentro de padrões já observados para acerolas durante sua pós-colheita (MACIEL et al, 2008; FREITAS et al., 2006). Não ocorreram diferenças significativas destas duas variáveis em frutos tratados com AS em relação à testemunha, sendo o valor médio de 1,81% de perda de massa da matéria fresca e 813 mg 100g⁻¹ de ácido ascórbico, respectivamente, após 196 horas de armazenamento. Conforme Brackmann et al. (2007) a perda de massa da matéria fresca em frutos é causada principalmente pela perda de água do fruto através dos processos de transpiração e respiração e, essa perda não implica somente na perda de massa da matéria fresca comercializável, mas também na perda de qualidade do produto.

A aplicação de AS demonstrou eficiência no controle de podridões pós-colheita de acerolas (Figura 3.1C). Supõe-se que o AS ativou rotas de defesas vegetais, já que é amplamente conhecida sua ação como sinalizador de diversas rotas envolvidas na Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) (FERNANDES et al., 2009).

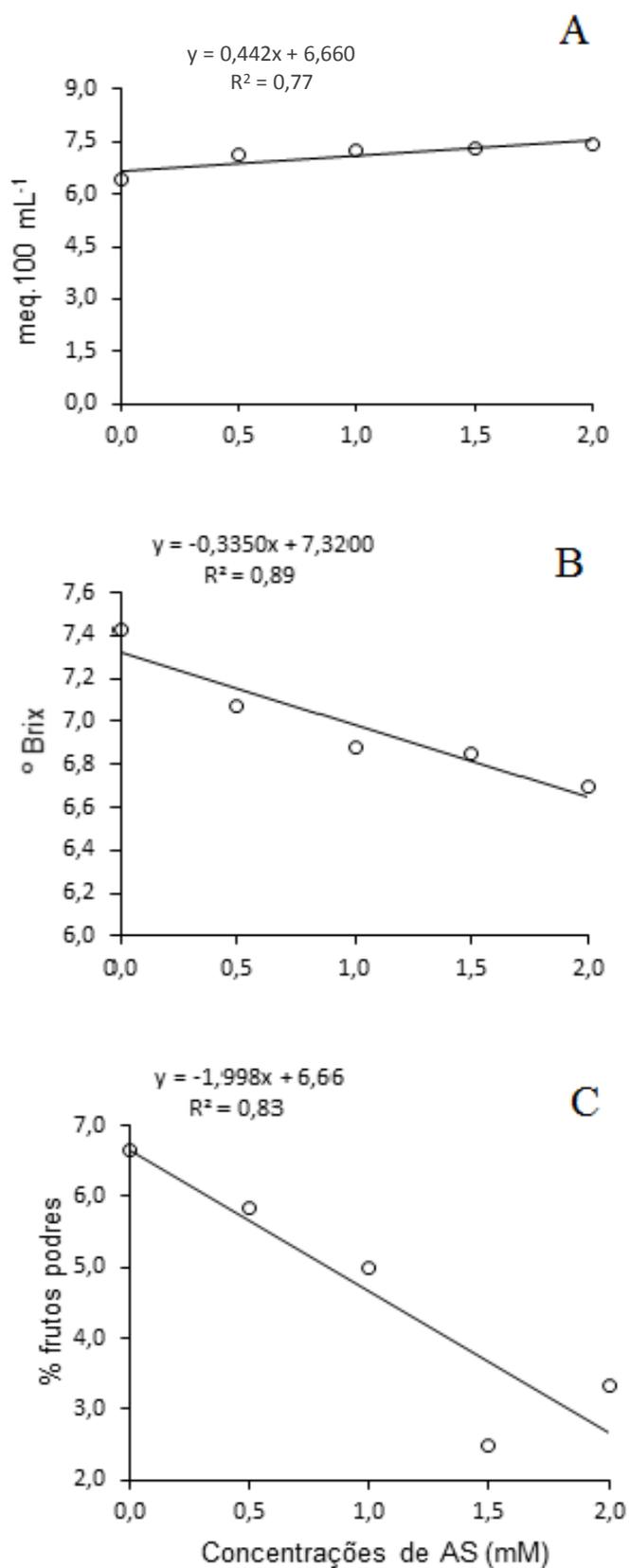


Figura 3.1 - Acidez titulável (A), Sólidos Solúveis Totais (B) e Podridão de frutos (C) em acerolas (*Malpighia emarginata*) tratados com cinco soluções de ácido salicílico (AS) conforme sua concentração. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.

Para outros autores, o AS teve efeito de redução na perda de massa da matéria fresca, na incidência de podridões, manutenção da firmeza, maior quantidade de vitamina C, maior AT e teor de SST e não causou efeitos negativos na aparência e no sabor de pêssegos, romãs, e morangos. A concentração de 2,0 mM de AS foi a mais efetiva na manutenção da qualidade destes frutos (AMBORABE et al., 2002; SAYARI et al., 2009; LOLAEI et al., 2012; SALARI et al., 2012; KHADEMI e ERSHADI, 2013). Além disso, em kiwis, a aplicação de AS inibiu a síntese de etileno, retardando o pico climatérico e atrasando a senescência (ZHANG et al., 2003).

O AS demonstrou atuar na atividade da enzima fenilalina amônia-liase (FAL), enzima essa considerada chave entre o metabolismo primário e secundário, e precursora da rota do ácido chiquímico (Figura 3.2A). Esses resultados corroboram com outros autores, os quais também demonstraram aumento da atividade da FAL após aplicação de AS em uvas (CHEN et al., 2006) e romãs (SAYARI et al., 2009).

Os dados demonstraram que a atividade da enzima FAL na testemunha e na menor concentração de AS (0,5 mM), decresceu em função do tempo. Já para os tratamentos com a concentração de 1,0 mM houve redução na atividade desta enzima até 96 horas, e posterior ativação enzimática em função do tratamento. Mas os resultados mais efetivos da ação do AS sobre a atividade da FAL ocorreu nas concentrações mais elevadas (1,5 e 2,0 mM). Nesse caso, ficou evidente, que após 48 horas, ocorreu a ativação da FAL, sendo que esse tempo, entre a aplicação dos tratamentos e a resposta vegetal, é variável em função do indutor utilizado e da espécie vegetal. Alguns trabalhos demonstram ação similar, como o estudo desenvolvido por Campos et al. (2003), que observaram ação da FAL após 3 dias da aplicação de AS em feijoeiro.

A ativação da FAL em acerola sugere o incremento de compostos fenólicos, já que a principal rota de síntese dos mesmos é a rota do ácido chiquímico. Nesse sentido, os resultados observados nesse trabalho, com os compostos fenólicos flavonoides e antocianinas confirmam o incremento dos mesmos pela aplicação de AS. Para flavonoides e antocianinas, quando se aplicou AS, nas concentrações acima de 1,0 mM, os valores diferiram dos demais tratamentos, atingindo os valores máximos com 96 horas após o tratamento (Figuras 3.2B e 3.2C). Esses dados corroboram com os encontrados por Coltro (2012), que também observou um efeito benéfico nas concentrações de antocianinas em morangos tratados com AS associado ao choque térmico, comparado aos tratamentos sem aplicação do indutor. Tais resultados, demonstram estar diretamente relacionados com a atividade da FAL. Nesse sentido, os dados sugeriram que após 48 horas da aplicação do AS ocorreu ativação da rota dos fenilpropanóides, e com 96

horas, como produto de tal ativação, o incremento dos flavonoides (Figura 3.2B) e antocianinas (Figura 3.2C).

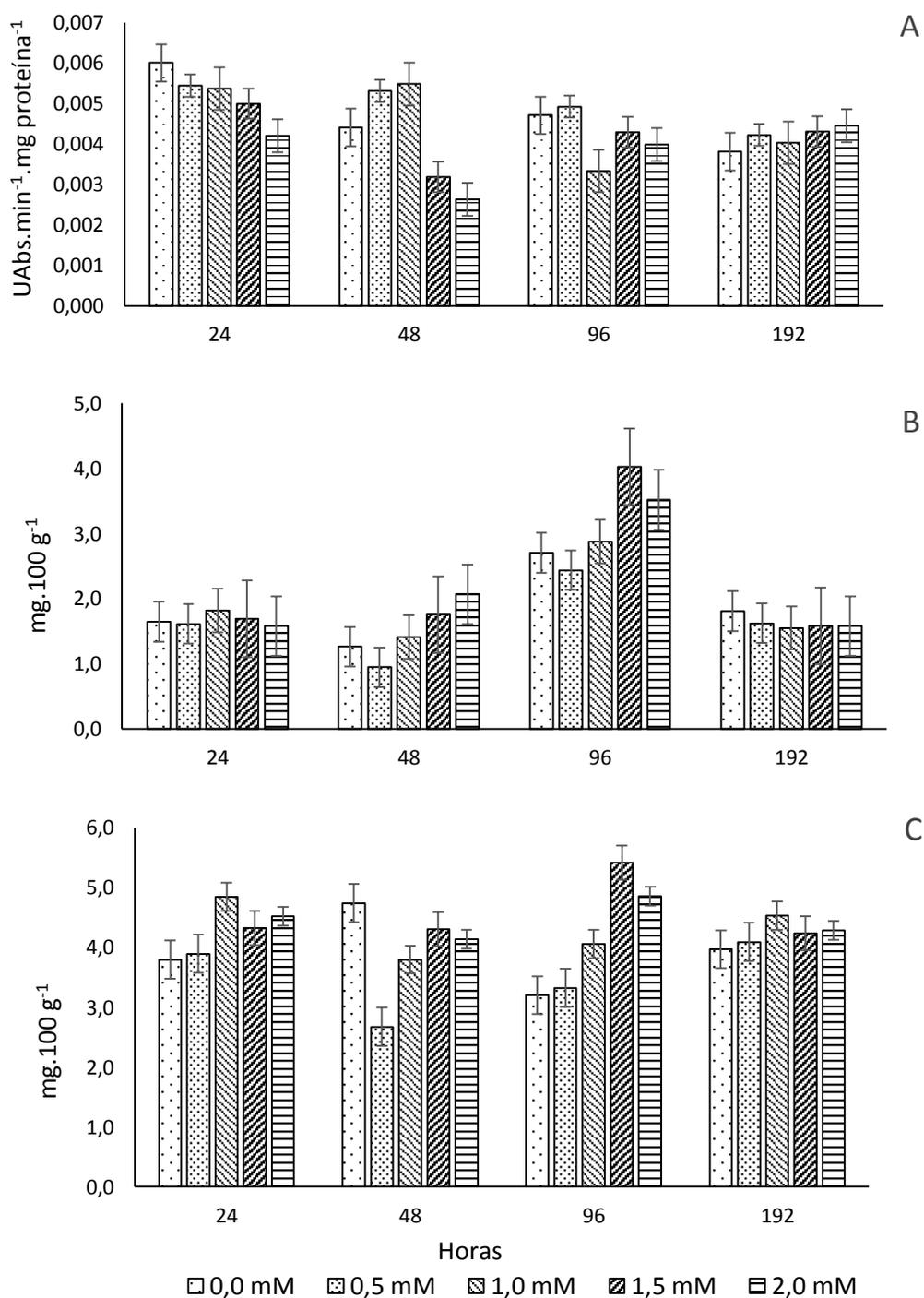


Figura 3.2 – Atividade da enzima FAL (A) e teor de flavonoides (B) e antocianinas (C) em acerolas (*Malpighia emarginata*) tratadas com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS), avaliados as 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação dos tratamentos. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.

As análises das proteínas-RP quitinases e β -1,3-glucanase, avaliadas em acerolas tratadas com a maior concentração de AS (2,0 mM) e na testemunha, demonstraram que o mesmo atuou na ativação destas duas enzimas após 48 e 96 horas, respectivamente (Tabela 3.1). A ativação da síntese de quitinases e glucanases quando se aplica o eliciador AS verificadas por muitos autores é demonstrada no artigo de revisão de Vlot et al. (2009). Yao e Tian (2005) observaram que a aplicação pré-colheita de AS a 2,0 mM reduziu significativamente o diâmetro de lesões causadas por *Monilinia fructicola* em cerejas, constatando que houve aumento nas atividades de β -1,3-glucanase, FAL e peroxidase. Narusaka et al. (1999) também observaram a ativação de β -1,3-glucanas, quitinase e peroxidase em plantas de pepino tratadas com AS.

Tabela 3.1 - Atividade enzimática de quitinase (UAbs. μ g prot./mL⁻¹) e β -1,3 glucanase (UAbs min⁻¹/mg proteína) presentes em acerolas tratadas e não tratadas com diferentes concentração de ácido salicílico. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013

Quitinases					
	24 horas	48 horas	96horas	192horas	Média
Testemunha	0,06aA	0,07bA	0,08bA	0,08bA	0,073
AS (2,0 mM)	0,07aB	0,30aA	0,38aA	0,32aA	0,268
β-1,3 glucanase					
Testemunha	0,08aA	0,11aA	0,10bA	0,012bA	0,103
AS (2,0 mM)	0,08aB	0,11aB	0,32aA	0,29aA	0,200

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Considerando-se o processo de defesa vegetal, em uma avaliação conjunta dos resultados deste experimento, observou-se que o AS atuou na redução de podridões e na ativação da rota dos fenilpropanóides através da FAL e das proteínas-RP quitinase e β -1,3-glucanase, demonstrando-se sua ação na ativação da Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) em acerolas. A RSA é caracterizada pela manifestação ou produção de um sinal liberado a partir do sítio de infecção que provoca a necrose e a translocação deste sinal para outras partes da planta, induzindo reações de defesa que protegerão a planta contra infecções e colonizações posteriores (SILVA et al., 2008). Além disso, o AS proporcionou atraso na maturação e senescência das acerolas, uma vez que atuou positivamente sobre a manutenção dos teores de AT e SST (Figura 3.1A e 3.1B). Isto possivelmente foi resultado do efeito do AS sobre a redução da atividade respiratória e síntese do etileno.

3.6 CONCLUSÕES

A aplicação de AS possibilitou a manutenção da qualidade pós-colheita de acerolas, atrasando a maturação e senescência e, reduzindo a incidência de podridões. O AS atuou na

indução de resistência em acerolas durante pós-colheita, ativando as enzimas quitinases, β -1,3-glucanase e FAL e, aumentando os teores de antocianinas e flavonoides.

REFERÊNCIAS

ALVES, R.E.; CHITARRA, A.B.; CHITARRA, M.I.F. Postharvest physiology of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruits: Maturation changes, respiratory activity and refrigerated storage at ambient and modified atmospheres. **Acta Horticulturae**, v.370, p.223-229, 1995.

AMBORABE, B.E.; LESSARD, P.; CHOLLET, J.F.; ROBLIN, G. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypalata*: structure-activity relationship. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.40, p.1051-1060, 2002.

BLANKENSHIP SM; DOLE JM. 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. **Postharvest Biology and Technology** 28: 1-25.

BRACKMANN, A. et al. Indução da perda de massa da matéria fresca e a ocorrência de distúrbios fisiológicos em maçãs 'Royal Gala' durante o armazenamento em atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.32, n.2, p.87-92, 2007.

CAETANO, P. K.; DAIUTO, É. R.; VIEITES, R. L.; Características físico – químicas e sensorial de geleia elaborada com polpa e suco de acerola. **Braz. J. Food Technol.** Vol. 15. nº 3. Campinas July / Sept. 2012. Epub June 26, 2012.

CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P.; J. B.; OSÓRIO, V. A.; Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Braz. Plant Physiol.** Campinas, vol.15, n.3, pp. 129-134. ISSN 1677-0420; 2003.

CAMPOS, A. D.; Considerações sobre indução de resistência a patógenos em plantas. **Documentos / Embrapa**. 28 p., Documentos, 264; ISSN 1516-8840. Embrapa Clima Temperado, Pelotas 2009.

CARVALHO, R. I. N.; GROLLI, P. R.; Patógenos na frigoconservação de acerolas (*Malpighia glabra* L.) **Rev. Bras. de Agrociência**, v.4, no 1, 31-34, Jan.-Abr., 1998.

CHEN, J.Y.; WEN, P.F.; KONG, W.F.; PAN, Q.H.; ZHANA, J.; LIA, J.M.; WAN, S.B. Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. **Postharvest Biology and Technology**, v.40, p.64-72, 2006.

COLTRO, S.; **Efeito do tratamento térmico e do ácido salicílico na atividade de polifenoloxidase, peroxidase e fenilalanina amônia-liase, nas características físico – químicas e na incidência de patógenos em morangos durante o armazenamento.** Dissertação de mestrado. 55p. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon, 2012.

FERNANDES, C.F.; VIEIRA JR., J. R.; SILVA, D. S. G.; REIS, N. D.; ANTUNES JR., H.; Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos. **Documentos / Embrapa**, 0103-9865; 133. 14p. Porto Velho, Rondônia, 2009.

FREITAS, C.A.S. de; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R.W. de; SOUSA, H. M. de; Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. **Rev. Bras. Agrociência**, v. 12, n.4, p.395-400, out-dez, Pelotas, 2006.

GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.144, p.449-454, 1996.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4º ed.; 1º ed. digital. São Paulo, 2008.

JUN PG; NISHIMURA N; KUBO Y; NAKAMURA R; INABA A. 1999. Biosynthesis of trace-ethylene in some fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science** 61: 199-204.

KHADEMI, Z.; ERSHADI, A. Postharvest application of salicylic acid improves storability of peach (*Prunus persica* cv. Elberta) fruits. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v.5-6, p.651-655, 2013.

LEES, D.H.; FRANCIS, F.J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, Alexandria, v.7, p.83-84, 1972.

LOLAEI, A.; KAVIANI, B.; REZAEI, M.A.; RAAD, M.K.; MOHAMMADIPOUR, R. Effect of pre- and postharvest treatment of salicylic acid on ripening of fruit and overall quality of strawberry (*Fragaria ananasa* Duch cv. Camarosa) fruit. **Annals of Biological Research**, v.3, n.10, p.4680-4684, 2012.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. Piracicaba, 2007, 140p. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

MACIEL, M. I. S.; SILVA, W. S.; SOUZA, K. A; MELO, E. A.; LIMA, V. A. G.; PEDROSA, E. M. R.; Modificações pós-colheita em frutos de 16 genótipos de aceroleira armazenados sob refrigeração. **Rev. Bras. de Ciências Agrárias**, vol. 3, Núm. 2, abril-junho, pp. 157-163, Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2008.

MUSSER, R. S. et al. Características físico-químicas de acerola do banco ativo de germoplasma em Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 556-561, 2004.

NARUSAKA, Y.; NARUSAKA. M.; HORIO, T.; ISHII, H.; Comparison of local and systemic induction of acquired disease resistance in cucumber plants treated with benzothiadiazoles or salicylic acid. **Plant and Cell Physiology**, v. 40, n. 4, p.388-395. Oxford, 1999.

RYALS, J.; UKNES, S.; WARD, E. Systemic acquired resistance. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 104, p. 1109-1112, 1994.

SALARI, N.; BAHRAMINEJAD, A.; AFSHARMANESH, G.; KHAJEHPOUR, G. Effect of salicylic acid on post-harvest quantitative and qualitative traits of strawberry cultivars. **Advances in Environmental Biology**, v.7, n.1, p.94-99, 2012.

SAYARI, M.; BABALAR, M.; KALANTARI, S.; ALIZADEH, H.; ASGARI. M.A. Effect of salicylic acid on chilling resistance and phenylalanine ammonia lyase activity in pomegranate cultivars Mals Saveh in storage. **Iranian Journal of Horticultural Sciences**, v.40, n.3, p.21-28, 2009.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V.; Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **World congress on computers in agriculture**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA, R. A. da; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L.; Defesa contra o ataque de patógenos. **Documentos Embrapa Agrobiologia**, ISSN 1517-8498; 250. 49 p. Seropédica – RJ, 2008.

STRACK, D. Phenolic metabolism. In: DEY, P. M., HARBORNE, J. B. (Ed.). **Plant Biochemistry**. London: Academic Press, p. 387-416. 1997.

STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. A Defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**. vol 10, nº 1, p. 18-46. 2011.

VERNOOIJ, B.; UKNES, S.; WARD, E.; RYALS, J. Salicylic acid as a signal molecule in plant-pathogen interactions. **Current Opinion in Cell Biology**, Danvers, v. 6, p. 275-279, 1994a.

VLOT, A.C.; DEMPSEY, D.A.; KLESSIG, D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. **Annual Review of Phytopathology**, v.47, p.177-206, 2009.

WEBER, D.; JONES, E.; BESKOW, T. G.; BARBOSA, M. M.; SAAVEDRA, J.; FACHINELLO, J. C.; Ácido salicílico e refrigeração na conservação de maracujás. **Rev. Iber. Tecnología Postcosecha** Vol 13(2):123-129, 2012.

WIRTH, S.J.; WOLF, G.A.; Micro-plate colourimetric assay for endo-acting cellulose, xylanase, chitinase, 1,3- β -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. **Soil Biology and Biochemistry**, v.24, p.511-519, 1992.

YALPANI, N.; SILVERMAN, P.; WILSON, M. A; KLEIER, D. A; RASKIN, I. Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis related proteins in virus-infected tobacco. **Plant cell**, Rockville, v. 3, p. 809-818, 1991.

YAO, H.; TIAN, S.; Effects of pre and postharvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.35, p. 253-262, 2005.

ZAREIE, R.; MELANSON, D. L.; MURPHY, P. J. Isolation of fungal cell wall degrading proteins from barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves infected with *Rhynchosporium secalis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 15, n. 10, p. 1031-1039, 2002.

ZHANG, Y.; CHEN, K.; ZHANG, S.; FERGUSON, I. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.28, p.64-74, 2003.

4 APLICAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO NA PÓS-COLHEITA DE FOLHAS DE COUVE MANTEIGA

4.1 RESUMO

Considerando à escassez de trabalhos relacionados a pós-colheita de couve manteiga e a inexistência de avaliação com indutores de resistência na espécie, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito do ácido salicílico na pós-colheita de couve manteiga sobre as variáveis físico-químicas e bioquímicas. O experimento foi conduzido na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos. Foram utilizados cinco tratamentos em delineamento inteiramente ao acaso. Os tratamentos consistiram no uso de solução com quatro concentrações de ácido salicílico (0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM) e a testemunha (água destilada), em quatro repetições de oito folhas. Após a colheita, seleção e padronização das amostras, as bases das folhas de couve manteiga foram imersas nas soluções com os diferentes tratamentos, durante dez minutos. As folhas foram mantidas em incubadora B.O.D., durante 192 horas, à temperatura de 8°C. As variáveis utilizadas para avaliação do experimento foram a perda de massa da matéria fresca, podridões, teor de vitamina C, clorofilas, fenóis totais, proteínas totais e atividade das enzimas peroxidases e fenilalanina amônia-liase (FAL). A aplicação de AS manteve os teores de proteínas e fenóis totais em níveis mais elevados, bem como interferiu na atividade das peroxidases. Os tratamentos não apresentaram efeito sobre a perda de massa da matéria fresca, o teor de vitamina C, clorofilas, podridões e atividade de FAL.

Palavras chaves: *Brassica oleracea*; folhosas; hortaliças; senescência.

4.2 ABSTRACT

SALICYLIC ACID APPLICATION IN POST- HARVEST LEAVES OF KALE

Considering the scarcity of related post-harvest kale and the lack of evaluation with resistance inducers in kind work aimed to evaluate the present work the effect of salicylic acid in postharvest kale on the physico-chemical and biochemical variables. The experiment was conducted at the Federal Technological University of Paraná - Campus Dois Vizinhos. Five treatments were used in a completely randomized design. Treatments consisted in the use solution with four concentrations of salicylic acid (0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mM) and control (distilled water), four replicates of eight leaves. After harvesting, selection and standardization of samples, the bases of the leaves of kale were immersed in solutions with different treatments

for ten minutes. The leaves were kept in BOD incubator for 192 hours at a temperature of 8 °C. The variables used for evaluation of the experiment were the loss of fresh weight, rot, vitamin C, chlorophyll, total phenolics, total protein and activity of oxidative enzymes and phenylalanine ammonia-lyase (PAL). The application of SA kept the protein and total phenol at higher levels, as well as interfere with the activity of peroxidases. The treatments had no effect on the loss of fresh weight, the content of vitamin C, chlorophyll, decay and PAL activity.

Keywords: *Brassica oleracea*; hardwoods; vegetables; senescence.

4.3 INTRODUÇÃO

A couve manteiga (*Brassica oleracea*) pertence à Família das Brassicaceas, sendo uma planta herbácea de porte ereto, com caule sublenhoso, emite folhas continuamente (VIEIRA, 2006), distribuídas ao redor do caule, em forma de roseta e apresentam limbo bem desenvolvido, arredondado, com pecíolo longo e nervuras bem destacadas. No Brasil, raramente produz pendão floral, apresenta certa tolerância ao calor, permanecendo produtiva durante vários meses (BEZERRA et al., 2005). É uma hortaliça cuja folha é a parte comestível, sendo rica em vitamina A e C e muito apreciada na culinária, apresentando preferência quando encontra-se recém colhidas, verdes e sem sinais de desidratação e podridões (FILGUEIRA, 2003)

No entanto, devido ao alto metabolismo, suas folhas possuem elevada perecibilidade, causando conseqüente curto período pós-colheita. Com isso, torna-se necessária a busca por produtos que possam propiciar aumento da vida pós-colheita dessa espécie, sendo que indutores de resistência estão relacionados a ativação de mecanismos de defesa vegetal, e podem atuar sobre a preservação da qualidade pós-colheita.

Nesse sentido, o ácido salicílico pode ser um produto alternativo para manutenção da qualidade pós-colheita de folhas de couve manteiga. Devido a sua ação antagônica ao etileno, este pode prolongar a vida pós-colheita, pela inibição dos efeitos deletérios deste hormônio (IMRAN, 2007). Além disso, o ácido salicílico quando aplicado de forma exógena, é capaz de induzir a produção de proteínas relacionadas a patogênese (proteínas-RP), protegendo as plantas contra o ataque de patógenos (SPLETZER e ENYEDI, 1999).

Considerando-se à escassez de trabalhos relacionados a pós-colheita de couve manteiga e a inexistência da avaliação de indutores de resistência nesta folhosa, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito do ácido salicílico na conservação pós-colheita de folhas de couve manteiga.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, Paraná. As folhas de couve manteiga foram colhidas em uma horta com sistema de cultivo agroecológico no município de Dois Vizinhos. Em seguida, as folhas foram transportadas ao Laboratório de Fitopatologia para seleção, uniformização e pesagem das amostras. Posteriormente, nas folhas foram aplicados os tratamentos com AS, diferindo pela concentração utilizada na solução, sendo estas de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM e a testemunha (água destilada). A porção basal das folhas, foram submetidas aos tratamentos, por imersão, por 10 minutos, seguido por seu acondicionamento em sacos de polietileno transparente (15 micras) com a parte superior aberta, e armazenadas em B.O.D. com uma temperatura de 8 °C. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições de 8 folhas por parcela.

Após 192 horas de armazenamento avaliou-se a perda de massa da matéria fresca, o teor de clorofila, vitamina C e podridões nas folhas. Também durante o decorrer do experimento, em intervalos de 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação dos tratamentos com AS, retirou-se uma amostra das folhas para realização das análises bioquímicas de proteínas, fenóis totais, e a atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase e peroxidases.

A perda de massa da matéria fresca foi obtida pela diferença da matéria fresca nas amostras no dia da instalação do experimento e do valor encontrado nas pesagens no final do experimento, expresso em percentual. A avaliação de podridões foi realizada de maneira visual, observando-se os sintomas característico do ataque de patógenos. Para a determinação do teor de clorofilas utilizou-se o clorofilômetro ClorofiLOG® modelo CFL 1030, determinando clorofila “a”, “b” e total. O teor do vitamina C foi avaliado pelo método de Tillmans (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Para dosagem de proteínas foi empregado o teste de Bradford (1976) aonde foi retirado uma amostra das folhas de cada unidade experimental, colocado em um recipiente de porcelana e macerado com solução tampão Fosfato 0,2 Molar pH 7,5, obtendo-se assim o extrato. Este extrato foi colocado em ependorfes devidamente identificados, levados a centrífuga, aonde permaneceram por 10 minutos a 12.000 rpm e a 4 °C. Após retirados da centrífuga foram transferidos 40 microlitros do extrato sobrenadante para tubos de ensaio, sendo adicionado mais 460 microlitros de água destilada e 1,0 mL do reagente Bio-Rad. As soluções foram agitadas, e após, acondicionadas em cubetas pra ser realizada a leitura a 630 nanômetros em espectrofotômetro, obtendo-se assim, o valor de absorbância.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por Kuhn (2007), aonde se utilizou uma amostra das folhas de cada unidade experimental, colocado em um recipiente de porcelana e macerado com mais 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. Este extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente marcados que foram levados para a centrífuga por 10 minutos, a 4 °C e a 6000 rpm. Após, foi transferido uma alíquota de 200 µL para tubo de ensaio identificado, acrescentando-se mais 3,0 mL do tampão de extração. A solução foi agitada, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5 mL foi transferido para outro tubo de ensaio, com mais 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, esta solução foi agitada para homogeneização. E após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim poder ser feita a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

Para a quantificação de fenóis totais foi utilizado o método adaptado de Bieleski e Turner (1966) e Jennings (1991), retirando-se uma amostra das folhas de cada unidade experimental, colocado em um recipiente de porcelana e macerado com mais 3,0 mL da solução MCA (metanol, clorofórmio e água (6,0/2,5/1,5)). Este extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente identificados que foram levados para a centrífuga por 20 minutos, a 20 °C e a 6000 rpm. Após centrifugação, foi retirado 2,0 mL do sobrenadante e colocado em tubos de ensaios identificados, juntamente com 1,0 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água destilada, sendo essa solução, posteriormente, agitada. Em seguida, foi retirado 0,5 ml da parte superior do sobrenadante, colocada em outro tubo de ensaio juntamente com 0,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente de Folin – Cocalteau diluído 1:10. Após 15 minutos, foi adicionado 5,0 mL do reagente alcalino composto por carbonato de sódio a 2% em solução de hidróxido de sódio 0,1 N. Novamente esta solução foi agitada e após 50 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 760 nm para obtenção dos valores de absorbância.

A extração e determinação da atividade enzimática de peroxidase foram realizadas pelo método preconizado por Matsuno e Uritani (1972), aonde foi retirada uma amostra das folhas de cada unidade experimental, colocada em um recipiente de porcelana que encontrava-se refrigerado, pois esta análise deve-se processar a temperatura inferior a 4 °C. As amostras foram maceradas com 3,0 ml tampão fostato 0,05 M (pH 7) com mais 0,005g polivinilpirrolidona. O extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente identificados que foram levados para a centrífuga por 20 minutos, a 4 °C e a 5000 rpm. Após centrifugação, foi retirado 2,0 mL do sobrenadante e colocado em tubos de ensaios identificados, aonde encontrava-se o preparado

de 3,0 mL do tampão citrato (pH 5,0) mais 0,5 ml água oxigenada a 3 % e mais 0,5 ml guaiacol 0,5 %. A solução foi agitada e colocada por 15 minutos em banho-maria 30°C e após 10 minutos em gelo para pararem as reações. Finalmente foi adicionado 0,5 mL de bisulfito de sódio, agitado e feita a leitura a 450 nm em espectrofotômetro, obtendo-se assim os valores de absorbância.

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), apresentados usando estatística descritiva (média \pm desvio padrão) e análise de regressão, utilizando o programa ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2009).

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente experimento demonstraram que a aplicação do ácido salicílico não interferiu na redução da perda de massa da matéria fresca, no teor de vitamina C, clorofilas e na incidência de podridões. A perda de massa da matéria fresca é causada principalmente pela perda de água das folhas, através dos processos de transpiração e respiração. Apesar de não ter ocorrido efeito significativo dos tratamentos sobre a perda de massa da matéria fresca, esta ocorreu dentro da normalidade, cujo valor médio foi de 4,681%. A perda de massa da matéria fresca em folhosas também pode ser observada pelo aspecto de murchamento, não observado em nenhum dos tratamentos. Da mesma forma WEBER et al. (2012) não encontrou diferença na perda de massa da matéria fresca de frutos de maracujazeiro tratados com ácido salicílico. O teor de vitamina C nas folhas de couve manteiga variou de 96 a 132 mg.100 g⁻¹ de tecido, valor este considerado dentro do observado e citado na literatura (NEPA/UNICAMP, 2006).

Quanto ao teor de clorofilas não ocorreu diferenças significativa pela aplicação dos tratamentos com AS, sendo o valor médio para clorofila a de 36,88 mg.g⁻¹, clorofila b de 6,14 mg.g⁻¹ e total de 43,02 mg.g⁻¹. Clorofila é um parâmetro importante, pois os níveis de clorofila a e b, estão diretamente relacionado a coloração verde. Caso os tratamentos tivessem interferido na degradação deste pigmento, ocorreria predominância do amarelo, o que não é uma característica desejável para comercialização das folhas de couve. Não foram observadas sintomas de podridões nesse estudo, o que pode estar relacionado ao manejo dado durante o cultivo.

O uso do AS interferiu sobre os teores de proteínas totais em todos os tratamentos (Figura 4.1A), sendo já observado 24 horas após a aplicação do mesmo. Possivelmente isso seja em decorrência da maior atividade metabólica ocorrida pelo estresse do destaque das folhas da

planta mãe. Após esse período, observou-se que nos tratamentos testemunha e na menor concentração (0,0 e 0,5 mM) houve estabilização ou decréscimo dos níveis proteicos. Já para as demais concentrações, ocorreu o inverso, ou seja, acréscimo dos níveis de proteínas, atingindo seu teor máximo as 96 horas após aplicação do AS. Essas alterações, possivelmente, estão relacionadas à síntese de proteínas-RP, como quitinases e β -1,3-glucanases. A aplicação exógena de ácido salicílico nas mais diferentes espécies de plantas induz a expressão de genes de Proteínas-RP, não apenas no local de aplicação, mas também de forma sistêmica, sugerindo que o AS atue como sinalizador na resistência sistêmica adquirida (SAR), que é uma forma de resistência induzida para aumentar a defesa das plantas contra subseqüentes infecções e ataques de fitopatógenos (KESSMANN et al., 1994). Todavia, após 96 horas pode-se observar que para todos os tratamentos de AS, os níveis de proteínas diminuíram. Supõe-se que esteja ligado ao fato das folhas de couve manteiga estarem em processo de senescência e com isso, entrarem em condição natural de degradação das proteínas.

Na Figura 4.1B é possível verificar que a atividade da enzima FAL apresentou um comportamento oscilante no decorrer do experimento em todas as soluções de AS usadas. No entanto, não ocorreu diferenças significativas entre os mesmos. Possivelmente isso deve-se a possibilidade de que a ativação da FAL tenha ocorrido em momento diferente das avaliações, ou seja, em intervalos não observados nesse experimento, sendo que no momento das avaliações já estava em níveis similares a testemunha. Para isso, sugere-se novos estudos que contemplem a avaliação da atividade da enzima FAL no decorrer do experimento, com intervalos de 12 a 24 horas, bem como a inserção de análises envolvendo enzimas quitinases e β -1,3-glucanases.

Apesar de não ter sido evidenciada a atividade da FAL, os tratamentos com AS induziram a produção de compostos fenólicos, os quais podem ser observados nas avaliações de fenóis totais (Figura 4.1C). Em todas as avaliações e para todas as concentrações estudadas, os fenóis totais mantiveram-se em valores mais elevados em relação a testemunha. Isso demonstra, que a rota para compostos fenólicos foi ativada pelos tratamentos, sendo observado o acréscimo dos mesmos após 24 horas e com maior destaque na avaliação realizada com 72 horas após a aplicação dos indutores.

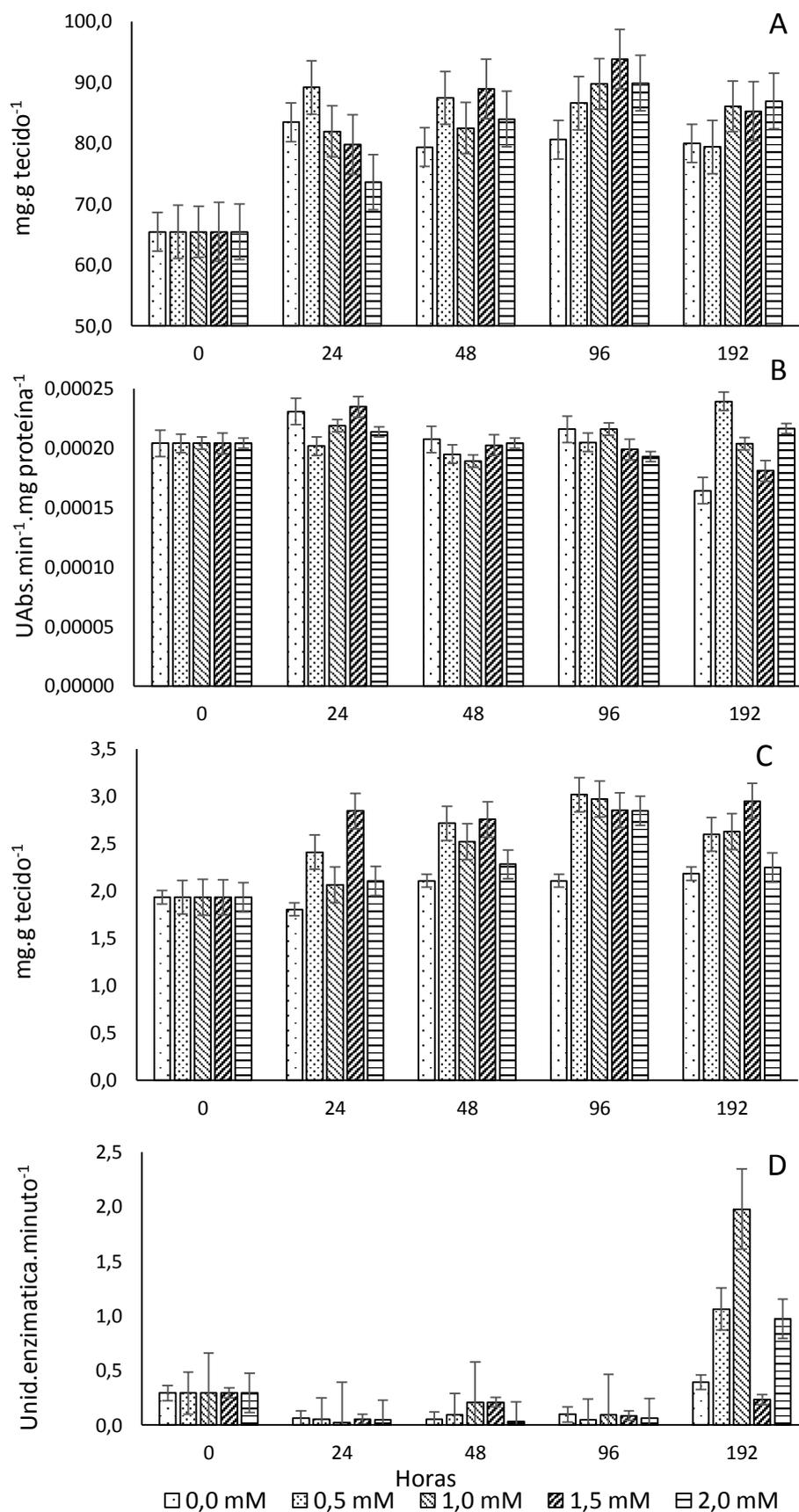


Figura 4.1 – Teor de proteínas (A), atividade da enzima FAL (B), teor de fenóis (C) e peroxidase (D) de folhas de couve manteiga, avaliadas as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação de cinco concentrações de ácido salicílico. Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2013.

Nunes et al. (2008) encontraram resultados semelhantes trabalhando com diferentes concentrações de AS na cultura da planta medicinal *Hypericum polyanthemum*, sendo que os resultados demonstraram que plantas tratadas com AS aumentaram significativamente a produção de compostos fenólicos nas diferentes partes analisadas.

Da mesma forma que a FAL, a atividade das peroxidases teve pequenas alterações até 96 horas após a aplicação do AS, sem ocorrer diferenças estatísticas entre os tratamentos (Figura 4.1D). Após as 96 horas, ocorreu grande atividades em todos os tratamentos, de forma destacável para as concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0 mM. Supõe-se que a partir desse momento, as folhas estejam iniciando o processo de senescência, o que reforça a hipótese levantada anteriormente para proteínas, pelo fato das mesmas estarem sendo degradadas na condição de senescência e com isso uma consequente elevação das peroxidases, as quais estão ligadas aos danos celulares. Tais resultados fortalecem a necessidade de estudo mais detalhado em relação a atividade da FAL e das peroxidases, pois estas enzimas atuam nas principais rotas de formação de fenóis, os quais foram estimulados pelos tratamentos com AS.

4.6 CONCLUSÕES

A aplicação de AS interfere nos teores de proteínas de folhas de couve manteiga mantendo os níveis mais elevados após 48 horas da aplicação dos tratamentos. Da mesma forma os fenóis totais apresentam valores mais elevados em função dos tratamentos durante todo o período de armazenamento. Também, a atividade das peroxidases possui interferência após 96 horas da aplicação dos tratamentos. As variáveis perda de massa da matéria fresca, teor de vitamina C, clorofilas e podridões não tiveram interferência pela aplicação dos tratamentos, mas permaneceram em níveis de normalidade para a cultura.

REFERÊNCIAS

BEZERRA, A. P. L.; VIEIRA, A. V.; VASCONCELOS, A. A.; ANDRADE, A. P. S.; INNECCO, R.; MATTOS, S. H. Desempenho de plântulas de couve (*Brassica oleracea* var. *Acephala*) tratadas com cera de carnaúba hidrolisada. **Horticultura Brasileira**, v. 23. p. 395, 2005.

BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A.; Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**. Orlando, v. 17, p. 278-293, 1966.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.72, p.248-254, 1976.

FILGUEIRA, F. A. R.; **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2003, 402 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: v. 1, Métodos Químicos e Físicos para Análises de Alimentos. 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 394-395.

IMRAN, H.; ZHANG, Y.; DU, G.; WANG, G.; ZHANG, J. Effect of Salicylic Acid (SA) on delaying fruit senescence of Huang Kum pear. **Frontiers of Agriculture in China**, v. 1, n. 4, p. 456-459. 2007.

KESSMANN, H.; STAUB, T.; HOFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J.; (1994) Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. **Annual Rev Phytopathol** 32:439-459.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. Piracicaba, 2007, 140p. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

JENNINGS, A. C.; The determination of dihydroxy phenolic compounds in extracts of plant tissues. **Analytical Biochemistry**. Orlando, v. 118, p. 396-398, 1991.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Tokio, v.23, p.1091-1101, 1972.

NEPA/UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos – **TACO**. Versão 2. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco>>. Acesso em: 04 Novembro 2013.

NUNES, J. M.; PINHATTI, A. V.; POSER, G. L. V.; RECH, S. B.; Influência da elicitação com ácido salicílico na produção de compostos fenólicos em plantas aclimatizadas de *hypericum polyanthemum klotzsch ex reichardt*. Salão de Iniciação Científica (20: 2008 out. 20-24: Porto Alegre, RS). **Livro de resumos**. Porto Alegre: UFRGS, 2008.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V.; Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **World congress on computers in agriculture**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SPLETZER, M. E.; ENYEDI, A. J. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, p. 722 – 727, 1999.

VIEIRA, R. S. I. R. **Sistema de informação rural**. Associação de agricultores da madeira portugal, 2006. Disponível em: [http:// w.sirmadeira.org/epages/sir.sf/pt_pt/](http://w.sirmadeira.org/epages/sir.sf/pt_pt/). Acessado em Outubro de 2013.

WEBER, D.; JONES, E.; BESKOW, T. G.; BARBOSA, M. M.; SAAVEDRA, J.; FACHINELLO, J. C.; Ácido salicílico e refrigeração na conservação de maracujás. **Rev. Iber. Tecnología Postcosecha** Vol 13(2):123-129. Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México, 2012.

5 QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE ESPINAFRE PELA APLICAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO

5.1 RESUMO

O espinafre é uma hortaliça folhosa de alto valor nutricional que possui grande aceitação na culinária. No entanto, quando utilizado em forma de saladas sua preferência ocorre por produtos frescos, sem aspecto de desidratação, sendo este um dos fatores críticos da cultura durante sua pós-colheita. Nesse sentido, o ácido salicílico é um produto que vêm sendo avaliado durante a pós-colheita, pois tem ação antagonista ao etileno, fazendo com que haja potencial para manutenção da qualidade de hortaliças. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito do ácido salicílico na pós-colheita de ramos de espinafre. O experimento foi conduzido no ano de 2013, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos. Foram utilizados cinco tratamentos em delineamento inteiramente ao acaso, sendo que estes consistiram na aplicação de solução de ácido salicílico em quatro concentrações (0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM) e testemunha (água destilada), com quatro repetições de 10 ramos. Após a colheita, seleção e padronização das amostras, as bases dos ramos foram imersas nas soluções com os diferentes tratamentos, durante dez minutos. Os ramos foram mantidos em incubadora B.O.D., durante 196 horas, à temperatura de 8°C. As variáveis utilizadas para avaliação do experimento foram perda de massa da matéria fresca, teores de clorofilas, fenóis totais, proteínas totais e atividade das enzimas peroxidases e fenilalanina amônia-liase (FAL). A aplicação de ácido salicílico apresentou potencial na conservação pós-colheita de espinafres, demonstrando ação na diminuição da perda de massa da matéria fresca e na manutenção dos teores de proteínas em valores mais elevados. Os tratamentos não interferiram nas demais variáveis (teor de clorofilas, fenóis totais, e atividade das enzimas peroxidases e fenilalanina amônia-liase).

Palavras-chave: *Tetragonia tetragonioides*; Conservação; Hortaliça; Senescência.

5.2 ABSTRACT

POST- HARVEST QUALITY OF APPLICATION FOR SPINACH SALICYLIC ACID

Spinach is a leafy green vegetable of high nutritional value has a wide acceptance in cooking. However, when used in salads as a fresh product preferably occurs without dehydrating aspect, this being one of the critical factors in the culture during their postharvest. In this sense, salicylic acid is a product that is being evaluated during the post-harvest, it has

antagonistic to ethylene action, so that there is potential for maintaining the quality of vegetables. This study aimed to evaluate the effect of salicylic acid in postharvest branches spinach. The experiment was conducted in 2013, the Federal Technological University of Paraná - Campus Dois Vizinhos. Five treatments were used in a completely randomized design, and these consisted of applying salicylic acid solution at four concentrations (0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mM) and control (distilled water), with four replications of 10 branches. After harvesting, selection and standardization of samples, the bases of the branches were immersed in solutions with different treatments for ten minutes. The branches were kept in BOD incubator for 196 hours at a temperature of 8 °C. The variables used to evaluate the experiment were loss of fresh weight, chlorophyll contents, total phenolics, total protein and activity of oxidative enzymes and phenylalanine ammonia-lyase (PAL). The application of salicylic acid has shown potential for post-harvest conservation of spinach, showing a decrease in the share of loss of fresh weight and maintaining the protein at higher values. The treatments did not affect the other variables (chlorophyll content, total phenols, and activity of oxidative enzymes phenylalanine ammonia lyase).

Keywords: *Tetragonia tetragonioides*; Conservation; Vegetable; Senescence.

5.3 INTRODUÇÃO

O espinafre (*Tetragonia tetragonioides*), também conhecido como espinafre de Nova Zelândia, é uma planta herbácea pertencente à família botânica Aizoaceae, sendo uma hortaliça folhosa cultivada em climas quentes e consumida em diversos países do Hemisfério Sul, no qual inclui-se o Brasil. (AZEVEDO, 2012).

O consumo de espinafre possui restrições quanto a palatabilidade, principalmente por crianças, pois possui sabor ligeiramente amargo e alcalino, devido aos compostos dimetilsulfito, metanotiol, metional e 2-acetil-1-pirrolina (BELITZ e GROSCH, 1987). Também um dos fatores que limitam seu consumo é sua alta perecibilidade em pós-colheita, devido seu elevado metabolismo respiratório (KADER, 2002), causando desidratação e amarelecimento. A cor verde de espinafres é devido a presença de clorofila, que são pigmentos verdes comuns em todas as células fotossintéticas. Por sua estrutura química ser instável, são facilmente degradadas, resultando em produtos de decomposição que modificam a percepção e qualidade dos alimentos (STREIT et al., 2005).

Normalmente, para manutenção da qualidade das hortaliças, é usado armazenamento sob refrigeração, que é um modo de estender a vida pós-colheita, além de contribuir para a

diminuição da perda de água, das alterações enzimáticas e da atividade microbiana (BRECHT et al., 2003). Outra forma é a utilização de atmosfera modificada e controlada que são técnicas que contribuem para manutenção de qualidade de diversos frutos e hortaliças (CALEGARO et al., 2002; MANTILLA et al., 2010).

O ácido salicílico é um indutor de resistência que tem demonstrado resultados de interesse no armazenamento de frutos e flores (FINGER, 2004; POOLE et al., 1998; YAO & TIAN, 2005). Esse produto é um regulador de crescimento vegetal, envolvido na resistência sistêmica a patógenos (TAIZ e ZEIGER, 2004), devido ao seu acúmulo nos tecidos vegetais (PASCHOLATI, 2011), e na biossíntese e ação do etileno (RASKIN, 1992).

Foram observados estudos para cultura do espinafre, com a utilização do indutor Ácibenzolar-S-Metil (BTH), para controle de ferrugem branca causada por *Albugo occidentalis* (LESKOVAR e KOLENDA, 2002), no entanto, não foram identificados trabalhos que relatem a utilização de indutores de resistência, bem como do ácido salicílico, na conservação pós-colheita de ramos de espinafre. Nesse sentido, o presente estudo objetivou avaliar o efeito do ácido salicílico na conservação pós-colheita e na indução de resistência em ramos de espinafre.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, Paraná.

Os ramos de espinafre (*Tetragonia tetragonoides*) foram colhidos em uma horta orgânica no município de Dois Vizinhos – PR, selecionadas, uniformizados e arranjados em maços de 10 ramos de 30 cm cada, no qual constitui-se a unidade experimental.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram de imersão na base dos ramos de espinafre durante 10 minutos em quatro diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) sendo 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM e a testemunha (água destilada). As folhas receberam os tratamentos, através de difusão de seiva, com apenas a base do material vegetal imersa na solução. Em seguida, as folhas foram colocadas em embalagens plásticas e armazenadas em incubadora do tipo B.O.D. a 8°C.

Após 192 horas de armazenamento avaliou-se a perda de massa da matéria fresca e o teor de clorofila das folhas. Em intervalos de 24, 48 e 96 e 192 horas retirou-se amostras de folhas para determinação de proteínas totais, fenóis totais, e atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase e peroxidases.

A perda de massa da matéria fresca foi obtida pela diferença da massa da matéria fresca nas amostras do dia da instalação do experimento e do valor encontrado nas pesagens no final do mesmo, expresso em percentual. Para avaliar o teor de clorofilas a, b e total das folhas foi utilizado um clorofilômetro digital da marca Falker clorofiLOG.

Para dosagem de proteínas foi empregado o teste de Bradford (1976) aonde foi retirado amostras das folhas de cada unidade experimental, colocado em um recipiente de porcelana e macerado com mais 2,5 mL da solução tampão Fosfato 0,2 Molar pH 7,5, obtendo-se assim o extrato. Este extrato foi colocado em ependorfes devidamente identificados, levados a centrífuga, aonde permaneceram por 10 minutos a 12.000 rpm e a 4 °C. Após retirados da centrífuga foram transferidos 40 microlitros do extrato sobrenadante para tubos de ensaio, sendo adicionado mais 460 microlitros de água destilada e 1,0 mL do reagente Bio-Rad. As soluções foram agitadas, e após, acondicionadas em cubetas pra ser realizada a leitura a 630 nanômetros em espectrofotômetro, obtendo-se assim, o valor de absorbância.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por Kuhn (2007), aonde se utilizou amostras das folhas de cada unidade experimental, colocado em um recipiente de porcelana e macerado com mais 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. Este extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente marcados que foram levados para a centrífuga por 10 minutos, a 4 °C e a 6000 rpm. Após, foi transferido uma alíquota de 200 µL para tubo de ensaio identificado, acrescentando-se mais 3,0 mL do tampão de extração. A solução foi agitada, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5 mL foi transferido para outro tubo de ensaio, com mais 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, esta solução foi agitada para homogeneização. E após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim poder ser feita a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

Para a quantificação de fenóis totais foi utilizado o método adaptado de Bieleski e Turner (1966) e Jennings (1991), retirando-se uma amostra das folhas de cada unidade experimental, colocado em um recipiente de porcelana e macerado com mais 3,0 mL da solução MCA (metanol, clorofórmio e água (6,0/2,5/1,5)). Este extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente identificados que foram levados para a centrífuga por 20 minutos, a 20 °C e a 6000 rpm. Após centrifugação, foi retirado 2,0 mL do sobrenadante e colocado em tubos de ensaios identificados, juntamente com 1,0 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água destilada, sendo essa solução, posteriormente, agitada. Em seguida, foi retirado 0,5 ml da parte superior

do sobrenadante, colocada em outro tubo de ensaio juntamente com 0,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente de Folin – Cocalteau diluído 1:10. Após 15 minutos, foi adicionado 5,0 mL do reagente alcalino composto por carbonato de sódio a 2% em solução de hidróxido de sódio 0,1 N. Novamente esta solução foi agitada e após 50 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 760 nm para obtenção dos valores de absorbância.

A extração e determinação da atividade enzimática de peroxidase foram realizadas pelo método preconizado por Matsuno e Uritani (1972), aonde foi retirada uma amostra 0,40 g das folhas de cada unidade experimental, colocada em um recipiente de porcelana que encontrava-se refrigerado, pois esta análise deve-se processar a temperatura inferior a 4 °C. As amostras foram maceradas com 3,0 ml tampão fostato 0,05 M (pH 7) com mais 0,005g polivinilpirrolidona. O extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente identificados que foram levados para a centrífuga por 20 minutos, a 4 °C e a 5000 rpm. Após centrifugação, foi retirado 2,0 mL do sobrenadante e colocado em tubos de ensaios identificados, aonde encontrava-se o preparado de 3,0 mL do tampão citrato (pH 5,0) mais 0,5 ml água oxigenada a 3 % e mais 0,5 ml guaiacol 0,5 %. A solução foi agitada e colocada por 15 minutos em banho-maria 30°C e após 10 minutos em gelo para pararem as reações. Finalmente foi adicionado 0,5 mL de bisulfito de sódio, agitado e feita a leitura a 450 nm em espectrofotômetro, obtendo-se assim os valores de absorbância.

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), apresentados usando estatística descritiva (média \pm desvio padrão) e análise de regressão, sendo adotado um nível de 5% de significância, utilizando o programa ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2009).

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicaram que as soluções de ácido salicílico aplicadas tiveram efeito sobre a perda de massa da matéria fresca dos ramos de espinafre, sendo que quanto maior as concentrações aplicadas, menor o percentual de perda desta (Figura 5.1). O efeito do AS na redução da perda de massa da matéria fresca possivelmente esteja relacionado à diminuição da atividade metabólica dos ramos como inibição de enzimas dos ciclos metabólicos como observado por Bhaskara-reddy et al. (1998). Também pode ter ocorrido a inibição da síntese de etileno pela aplicação de AS fato comprovado por Leslie e Romani (1986), os quais afirmam que o AS atua inibindo o ácido 1-amino-ciclopropano carboxílico (ACC), o qual é precursor imediato na síntese do etileno.

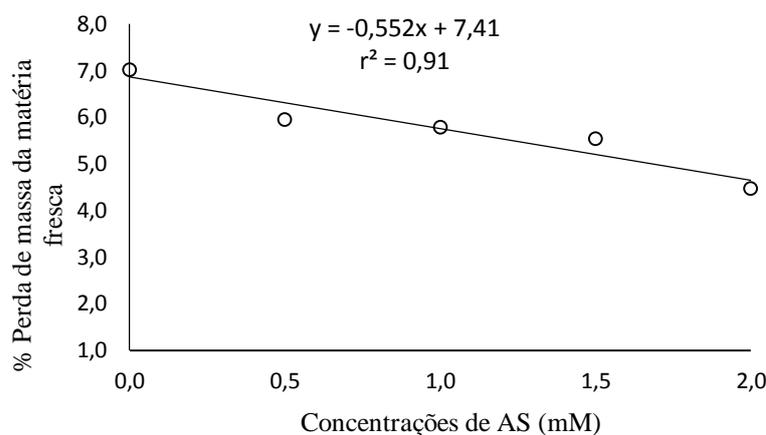


Figura 5.1 – Efeito de diferentes concentrações de ácido salicílico sobre a perda de massa da matéria fresca de ramos de espinafre avaliado as 192 horas após a aplicação dos tratamentos. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2013.

Também os tratamentos com soluções de AS interferiram nos níveis de proteínas totais, sendo que estes mantiveram-se com valores mais elevados em relação a testemunha (Figura 5.2). Tal fato torna-se interessante, considerando o fator nutricional, o que indica que o AS atuou no metabolismo primário das plantas, mantendo uma maior integridade proteica. Ainda uma hipótese a ser considerada é que a alteração dos níveis de proteínas esteja relacionado ao processo de indução de resistência, com a ativação de proteínas-RP como quitinases e glucanases, na qual vem sendo relatada a sua expressão pelo uso de AS em processos de indução de resistência em plantas (CAMPOS et al, 2009; NARUSAKA et al., 1999).

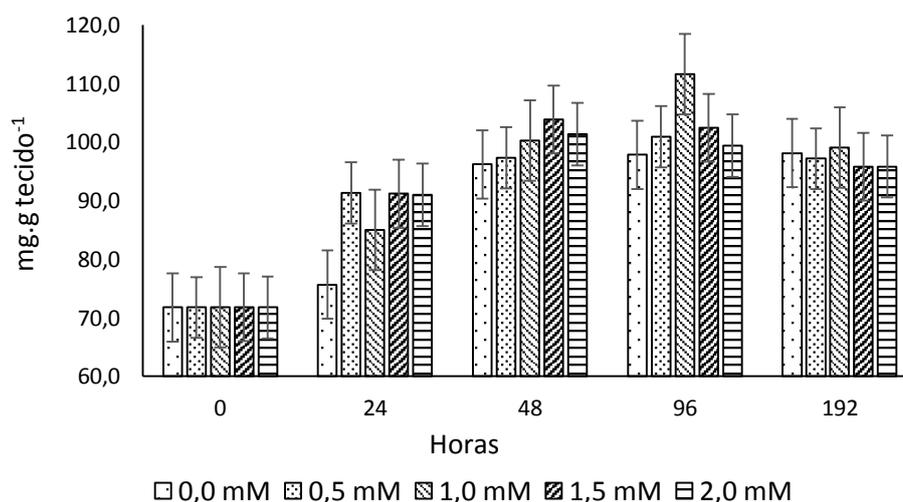


Figura 5.2 – Efeito de cinco concentrações de ácido salicílico no teor de proteínas de folhas de espinafre, avaliadas as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação dos tratamentos. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2013.

Os tratamentos não interferiram significativamente os teores de clorofilas, fenóis totais, atividade das enzimas FAL e peroxidases. Os teores de clorofila permaneceram com médias de clorofila “a” de 42,39 mg.g⁻¹, clorofila “b” de 11,37 mg.g⁻¹ e clorofila total de 53,88 mg.g⁻¹.

Observou-se que entre os tratamentos não ocorreram diferenças visuais na coloração dos ramos, fato associado aos teores de clorofilas não terem apresentado diferenças estatísticas. Para o teor de fenóis totais a média de todos os tratamentos foi de 0,769 mg.g.tecido⁻¹, não havendo diferença significativa entre os mesmos. A concentração de compostos fenólicos está correlacionada com a atividade antioxidante, e pode ser utilizada para o acompanhamento de perda de qualidade do produto na fase pós colheita (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Supõe-se que, como não houve resposta diferenciada estatisticamente para FAL, os fenóis totais também não foram afetados. A FAL atua na biossíntese e na regulação da síntese de compostos fenólicos (GERASIMOVA et al., 2005). A média da atividade da enzima FAL para este experimento foi de 0,00018 UAbs/min.mg⁻¹proteína, não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

A média encontradas para peroxidase para todos os tratamentos avaliados foi de 4,112 Unid.enzimática.minuto⁻¹. A enzima peroxidase têm afinidade por substratos envolvidos na lignificação da parede celular e, além disso, seus produtos têm atividade microbiana direta na presença de peróxidos de hidrogênio (STICHER et al., 1997, o que torna-se importante na presença de sua atividade.

5.6 CONCLUSÃO

A aplicação de ácido salicílico apresentou potencial para conservação pós-colheita de espinafres, demonstrando ação na diminuição da perda de massa da matéria fresca e no aumento dos teores de proteínas, melhorando as questões nutricionais.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, H.O.; BARBOSA, M.O.; MARQUES, A.E.; PEREIRA, T.H.A.; MAGALHÃES JR., M.J.; TESSAROLLO, N.G.; GAMES, P.D.; BARROS, E.G.; MOREIRA, R.S.; GUIMARÃES, F.C.M.; ABDELNOOR, R.V.; PEREIRA, P.R.G.; PEREIRA, M.C.B.; Enzimas marcadoras de indução de resistência diferencialmente reguladas em soja resistente e suscetível à ferrugem-asiática-da-soja. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.47, n.2, p.163-172, fev. 2012.

AZEVEDO, F.L.A.A de; **Valor nutricional, capacidade antioxidante e utilização de folhas de espinafre (*Tetragonia tetragonoides*) em pó como ingrediente de pão de forma.** Tese de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. João Pessoa – PB. 2012.

BHASKARA-REDDY, B.M.V.; AIT BARKA, E.; CASTAIGNE, F.; ARUL, J. Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. **Biocontrol Science Technology**, New York, v.8, p.33-43, 1998.

BELITZ H-D, GROSCH W.; **Food Chemistry**. 3ªed. p. 774-91. Berlin Heidelberg New York: Springer; 1987.

BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A.; Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**. Orlando, v. 17, p. 278-293, 1966.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.72, p.248-254, 1976.

BRECHT JK; CHAU KV; FONSECA SC; OLIVEIRA FAR; SILVA FM; NUNES MCN; BENDER RJ. 1990. Maintaining optimal atmosphere conditions for fruits and vegetables throughout the postharvest handling chain. **Postharvest Biology and Technology**. 27, n.1:87-101, 2003.

CALEGARO, J. M.; PEZZI, E.; BENDER, R. J.; Utilização de atmosfera modificada na conservação de morangos em pós-colheita. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1049-1055, ago. 2002.

CAMPOS, Â. D.; HAMPE, M.M.V.H; FERREIRA, A.G; ANTUNES, I.F; CASTRO, L.A.S.; Indução de resistência sistêmica à antracnose em feijoeiro-comum pela raça delta avirulenta de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Pesq. agropec. bras.** vol.44 no.1 Brasília Jan. 2009

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

FINGER, F.L.; CARNEIRO, T. F.; BARBOSA, J. G.; Senescência pós-colheita de inflorescências de esporinha (*Consolida ajacis*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**.vol. 39 nº 6. Brasília, Junho. 2004.

GERASIMOVA, N.G.; PRIDVOROVA, S.M.; OZERETSKOVSKAYA, O.L. Role of L-phenylalanine ammonia-lyase in the induced resistance and susceptibility of potato plants. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.41, p.103-105, 2005.

JENNINGS, A. C.; The determination of dihydroxy phenolic compounds in extracts of plant tissues. **Analytical Biochemistry**. Orlando, v. 118, p. 396-398, 1991.

KADER, A. A.; Postharvest biology and technology an overview. In KADER A. A. (editor). Postharvest technology of horticultural crops. Third edition University of California, **Agriculture and Natural Resources**, Publication 3311, Oakland, pp. 39-47. 2002.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. Piracicaba, 2007, 140p. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

LESKOVAR, D. I., KOLENDA, K. Strobirulin + acibenzolar-S-methyl controls white rust without inducing leaf chlorosis in spinach. **Ann. Appl. Biol.** 140:171-175, 2002.

LESLIE, C.A.; ROMANI, R.J.; Salicylic acid: a new inhibitor of ethylene biosynthesis. **Plant Cell Reports**, v. 5, p. 144-146, 1986.

MANTILLA, S.P.S; MANO, S.B; VITAL, H.C.; FRANCO, R.M.; Atmosfera modificada na conservação de alimentos. **Rev. Acad., Ciênc. Agrar. Ambient**. Curitiba, v. 8, n. 4, p. 437-448, out./dez. 2010.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Tokio, v.23, p.1091-1101, 1972.

NARUSAKA, Y.; NARUSAKA. M.; HORIO, T.; ISHII, H.; Comparison of local and systemic induction of acquired disease resistance in cucumber plants treated with benzothiadiazoles or salicylic acid. **Plant and Cell Physiology**, v. 40, n. 4, p.388-395. Oxford, 1999.

POOLE, P.R.; McLEOD, L.C.; WHITMORE, K.J.; WHITAKER, G. Periharvest control of *Botrytis cinerea* rot in stored kiwifruit. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.464, p.71-76, 1998.

RASKIN, I. Role of salicylic acid in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.43, p.439-463, 1992.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V.; Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **World congress on computers in agriculture**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J.P.; Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, 35: 235-270. 1997.

STREIT NM; CANTERLE LP; do CANTO MW; HECKTHEUER L.H.H. As clorofilas. **Ciência Rural**, 35, n.3:748-755. 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, p.310-335. 2004.

YAO, H.; TIAN, S.; Effects of pre and postharvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.35, p. 253-262, 2005.

6 QUALIDADE DE ROSAS DE CORTE COM APLICAÇÃO PÓS-COLHEITA DE ÁCIDO SALICÍLICO

6.1 RESUMO

O prolongamento da longevidade das flores de corte através de procedimentos adequados de pós-colheita, além de manter a qualidade do produto, aumenta seu valor comercial. Pensando nisso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de ácido salicílico sobre a manutenção da qualidade e da longevidade de rosas de corte. Hastes de rosas da cultivar Vega foram padronizadas em 40 cm de comprimento e acondicionadas em recipiente contendo solução de ácido salicílico nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM e a testemunha (água destilada). A unidade experimental foi composta por 8 hastes florais que foram armazenadas em B.O.D. a 8 °C durante o experimento. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. No decorrer do experimento foram realizadas análises visuais, por meio de critério de notas de curvatura do pedúnculo, turgescência e escurecimento de pétalas. Ao final do experimento, avaliou-se a perda de massa da matéria fresca, e teor de clorofilas nas folhas. Com intervalos de 24 horas, retirou-se uma amostra padronizada das pétalas para realização das análises bioquímicas de proteínas e a atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase e peroxidases. Os tratamentos com AS tiveram efeito sobre a perda de massa da matéria fresca das rosas de corte, sendo que quanto maior as concentrações aplicadas, menor foi o percentual de perda de massa da matéria fresca. Houve efeito nos teores de proteína totais, atividade das enzimas FAL e peroxidase de rosas com a aplicação das concentrações crescentes de AS. As rosas tratadas com a maior concentração de AS mantiveram-se com as notas mais elevadas para curvatura de haste, turgescência e escurecimento de pétalas.

Palavras-chave: *Rosa* sp.; flor; haste floral; senescência; etileno.

6.2 ABSTRACT

QUALITY OF CUT ROSES WITH POST- HARVEST APPLICATION SALICYLIC ACID

The postharvest longevity cut flowers using adequate methods technical, it can to maintain the product quality and it increase its commercial value. Then, the aim of this study was to evaluate the salicylic acid effect on the quality maintenance and time life postharvest of cut roses. Vega variety stems roses cultivar were separated with length 40 cm and it placed in

a recipient with salicylic acid solution at 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mM concentrations. The experimental unit consisted of 5 stems flower, that it were stored in BOD with temperature control of 8 °C. The experimental design was a completely randomized with four replications. For roses the peduncle curvature, turgescence and petals darkening were visual evaluated during the experiment. When the experiment time finished, the fresh weight losses and the leaf chlorophyll content were evaluated. During 24 hour intervals, collected a petals sample to determine the total protein, PAL and peroxidase activities. The SA treatments had effect in the fresh weight losses, it being that higher concentration present lower loss percentage fresh weight. There were effect about total protein content, PAL and peroxidase activity in the roses stems applied increasing SA concentrations. The rose treated with the highest SA concentration presented higher grade evaluation for peduncle curvature, turgescence and petals darkening.

Keywords: *Rosa sp.*; flower; flowering stem; senescence; ethylene.

6.3 INTRODUÇÃO

O mercado de flores e plantas ornamentais encontra-se em plena fase de expansão, sendo considerado um dos setores mais promissores da economia dentro do agronegócio. No ano de 2013, o setor de floricultura movimentou nacionalmente, em torno de, US\$ 5,2 bilhões, com aumento de 13% em relação a 2012 (IBRAFLOR, 2014).

Dentre estas flores, têm-se as rosas que apresentam-se como uma das principais espécies comercializadas. Entretanto, quando comercializadas como flores de corte, apresentam vida útil limitada; pois se deterioram rapidamente, assim como ocorre também com frutas e hortaliças, por causa de processos fisiológicos degradativos que ocorrem mais intensamente após sua colheita (HARDENBURG et al., 1988).

O prolongamento da longevidade das flores de corte através de procedimentos adequados durante a pós-colheita, além de manter por maior período a qualidade do produto, aumenta seu valor comercial (CASTRO; CORTEZ, 2000).

Neste sentido, tem-se buscado alternativas para o aumento da vida pós-colheita das flores de corte, como o uso de atmosfera modificada e pela adoção de soluções de manutenção. Estas soluções, também conhecidas como soluções de vaso, normalmente, contém substâncias utilizadas isoladamente ou em conjunto, que contribuem para retardar senescência de flor cortada.

Entre estas, vem sendo utilizado o ácido salicílico (AS), que é um composto natural que atua na redução dos danos causados pelo etileno na senescência das plantas (GEERDINK,

2012), agindo como molécula sinalizadora endógena. Ele desempenha papel fundamental do desenvolvimento vegetal incluindo termogênese, fotossíntese, transpiração absorção e transporte de íons, glicólise, respiração e condutância estomática. (DEMPSEY et al., 1999; VLOT et al., 2009). Este é um composto fenólico natural que pode, também, diminuir a produção de etileno das plantas, retardando os efeitos desse hormônio, pois está relacionado com a redução da atividade da ACC oxidase, participante da rota metabólica de produção de etileno (ALTVORST e BOVY, 1995), evitando a rápida senescência.

Segundo Hammerschmidt e Kuc (1995), o AS é sintetizado na via dos fenilpropanóides, tendo o ácido benzoico como precursor. Esse indutor, quando aplicado de forma exógena, induz a produção do metil-salicilato, que é o seu precursor (RESENDE et al., 2003), aumentando a síntese do próprio AS nos tecidos vegetais, e também da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase e a produção de proteínas relacionadas a patogênese (proteínas-RP) (SPLETZER e ENYEDI, 1999), como também na inibição da biossíntese e ação do etileno (RASKIN, 1992).

Esses processos metabólicos que o AS desencadeia nas plantas pode ser chamado de indução de resistência, que segundo Stadnik (2000) é a ativação do estado de resistência contra doenças induzido sistemicamente em plantas por indutor externo biótico ou abiótico, ocorrendo de maneira não específica, sem alteração no genoma da planta.

No processo evolutivo, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa que somente são ativados em resposta a infecção por patógenos ou por tratamento com determinado(s) composto(s) químico(s), natural ou sintético, denominado elicitores ou indutores (CAVALCANTI et al., 2005). Esse processo de ativação do mecanismo de defesa é chamado de resistência sistêmica adquirida (RSA), sendo também caracterizada pela manifestação ou produção de sinal liberado a partir do sítio de infecção que provoca necrose e translocação deste sinal para outras partes da planta, induzindo à reações de defesa que protegerão a planta contra futuras agressões (SILVA et al., 2008). Os principais mecanismos de defesa envolvidos na RSA são a lignificação da parede celular, produção de fitoalexinas e de proteínas relacionadas com a patogênese (STICHER et al., 1997).

Segundo Leon-Kloosterziel et al. (2005) existem diversas enzimas relacionadas a resistência induzida, destacando-se as peroxidases, polifenoloxidasas, fenilalanina amônia-liase, β -1,3-glucanases e quitinases. Quando a planta é levada ao estado de indução, a atividade dessas enzimas ou, pelo menos de algumas delas, tende a aumentar em relação às atividades em tecidos de plantas não expostos eliciadores (BETTIOL e MORANDI, 2009).

O efeito protetor observado nas plantas depende das condições de luz, temperatura, das concentrações do indutor e do inoculo e, do intervalo de tempo entre o tratamento inicial com

os indutores de resistência e a inoculação subsequente com o patógeno (MADAMANCHI; KUC, 1991).

De acordo com Hammerschmidt (1999), a primeira etapa da resposta da planta ao indutor é o reconhecimento deste pela planta. Em resposta ao reconhecimento, as plantas sofrem alterações que culminam com a geração de sinal primário, que pode ser translocado na planta ou produzir outros sinais que serão também translocados, ou ainda, levados a produção de substâncias de defesa, como as proteínas-RP e as fitoalexinas (STICHER et al., 1997). Além disso, podem também aumentar a atividade de enzimas que têm papel importante na síntese de compostos de defesa como as peroxidases (MORAN e CIPPOLLINI, 1999) e fenilalanina amônia-liase (STEVENS et al., 1999).

Diversos trabalhos relataram a ação do AS no aumento de vida de prateleira de frutos (ROSSAROLLA, 2012; CAMPOS et al., 2004; ZHANG, 2003), e na preservação de flores (ZAMANI et al., 2011; SHAKIB et al., 2012), com atenção especial para as rosas (GEERDINK, 2012). No entanto, trabalhos que busquem avaliar o efeito das concentrações de ácido salicílico aplicadas, em condição similar de armazenamento que ocorre nas floricultura (frigoconservação e preservação em condição de vaso até o momento da comercialização), ainda são inexistentes. Todavia, são de grande interesse para manutenção da qualidade de rosas na pós-colheita.

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de ácido salicílico sobre a manutenção da qualidade e da longevidade de rosas de corte.

6.4 MATERIAL E MÉTODOS

Hastes contendo rosas (*Rosa sp.*) da cultivar Vega provenientes da produção comercial do município de Holambra/SP foram embaladas, armazenadas e transportadas em condições de refrigeração até o Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, aonde foram selecionadas. Na seleção efetuou-se descarte das que continham danos mecânicos ou injúrias.

As hastes foram padronizadas em 40 cm de comprimento, com um botão floral fechado, e então acondicionadas, de forma aleatória, em recipiente com capacidade de 1,0 L contendo solução de ácido salicílico nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM e para testemunha utilizou-se apenas água destilada. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições e 8 hastes florais por unidade experimental.

As hastes foram armazenadas em B.O.D. a 8°C, permanecendo nestas condições até o final do experimento.

Durante 10 dias após a instalação do experimento foram realizadas análises visuais, por meio de critério de notas de curvatura do pedúnculo, turgescência e escurecimento das pétalas (Tabela 6.1), conforme metodologia feita por Geerdink (2012).

Tabela 6.1 – Notas de curvatura do pedúnculo, turgescência e escurecimento das pétalas de rosas tratadas com soluções contendo 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM de ácido salicílico. UTFPR, Dois Vizinhos, 2013.

Nota	Curvatura do pedúnculo	Turgescência de pétalas	Escurecimento de pétalas
3	Haste reta	Túrgida	Sem escurecimento
2	Até 45°	Levemente murcha	Levemente escurecida
1	Maior que 90°	Murcha	Escuras

Fonte: Geerdink (2013).

Durante 96 horas avaliaram-se a perda de massa da matéria fresca e o teor de clorofilas nas folhas. Além disso, com intervalos de 24 horas, retirou-se amostra padronizada das pétalas para realização das análises bioquímicas de proteínas totais e, das atividades das enzimas fenilalanina amônia-liase e peroxidases.

A perda de massa da matéria fresca das flores foi obtida pela diferença da matéria fresca nas amostras do dia da instalação do experimento e do valor encontrado nas avaliações ocorridas no final do experimento, expresso em percentual. Para a determinação do teor de clorofilas utilizou-se o clorofilômetro ClorofiLOG[®] modelo CFL 1030, determinando clorofila “a”, “b” e total.

Para as análises bioquímicas de teor de proteínas totais, e atividade das enzimas FAL e peroxidase foram retirados discos padronizados das pétalas, para posterior avaliação.

A quantificação do teor de proteínas totais foi realizada pelo teste de Bradford (1976), sendo colocado em um recipiente de porcelana os discos das pétalas e macerado com mais 2,5 mL da solução tampão Fosfato 0,2 Molar pH 7,5, obtendo-se assim o extrato. Este extrato foi colocado em ependorfes devidamente identificados, levados a centrífuga, aonde permaneceram por 10 minutos a 12.000 rpm e a 4 °C. Após retirados da centrífuga foram transferidos 40 microlitros do extrato sobrenadante para tubos de ensaio, sendo adicionado mais 460 microlitros de água destilada e 1,0 mL do reagente Bio-Rad diluído 1:4. As soluções foram agitadas, e após, acondicionadas em cubetas pra ser realizada a leitura a 630 nanômetros em espectrofotômetro, obtendo-se assim, o valor de absorbância.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por Kuhn (2007), aonde utilizou-se a amostra retirada das pétalas, colocado-a em recipiente de porcelana e macerando-a com 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. Este extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente marcados que foram

levados para a centrífuga por 10 minutos, a 4 °C e a 6000 rpm. Após, foi transferido uma alíquota de 200 µL para tubo de ensaio identificado, acrescentando-se mais 3,0 mL do tampão de extração. A solução foi agitada, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5 mL foi transferido para outro tubo de ensaio, com mais 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, esta solução foi agitada para homogeneização. E após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim poder ser feita a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

A extração e determinação da atividade enzimática de peroxidase foram realizadas pelo método preconizado por Matsuno e Uritani (1972), aonde foi a amostra das pétalas foi colocada em um recipiente de porcelana que encontrava-se refrigerado, pois esta análise deve-se processar a temperatura inferior a 4 °C. As amostras foram maceradas com 3,0 ml tampão fostato 0,05 M (pH 7) com mais 0,005g polivinilpirrolidona. O extrato foi acondicionado em tubos ependorfe devidamente identificados que foram levados para a centrífuga por 20 minutos, a 4 °C e a 5000 rpm. Após centrifugação, foi retirado 2,0 mL do sobrenadante e colocado em tubos de ensaios identificados, aonde encontrava-se o preparado de 3,0 mL do tampão citrato (pH 5,0) mais 0,5 ml água oxigenada a 3 % e mais 0,5 ml guaiacol 0,5 %. A solução foi agitada e colocada por 15 minutos em banho-maria 30°C e após 10 minutos em gelo para pararem as reações. Finalmente foi adicionado 0,5 mL de bisulfito de sódio, agitado e feita a leitura a 450 nm em espectrofotômetro, obtendo-se assim os valores de absorbância.

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), sendo estes apresentados por meio da estatística descritiva (média \pm desvio padrão) e análise de regressão, adotando-se nível de 5% de significância, através do programa ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2009).

6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de ácido salicílico não interferiu significativamente sobre o teor de clorofila das folhas das hastes das rosas apresentando os valor médios para clorofila *a* de 41,29 mg g⁻¹, clorofila *b* 12,53 mg g⁻¹ e de total 53,82 mg g⁻¹.

A avaliação do teor de clorofilas nas folhas das hastes das rosas é importante para qualidade visual pós-colheita das mesmas, considerando que com a perda da clorofila ocorre a predominância da coloração amarelada, fato não desejável para o mercado. Além disso, as clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais (ELBE, 2000), cuja função é absorver

energia luminosa para posterior conversão em energia química, processo importante para manutenção das hastes durante seu período pós-colheita. Com isso, verificou-se que em todos os tratamentos, a mesma manteve-se em níveis que permitiram manter sua coloração característica, o que é um fator importante na manutenção da qualidade visual necessária para sua comercialização.

Por outro lado, os tratamentos com AS tiveram efeito sobre a perda da massa de matéria fresca das hastes de rosas, cujo comportamento apresentou-se de maneira desejável pela utilização de AS, ou seja, ocorreu um decréscimo da perda de massa com o aumento da concentração do AS (Figura 6.1). O mesmo resultado foi encontrado por Geerdink (2012) ao trabalhar com AS e outros indutores de resistência em hastes de rosas de corte.

Bem como, considerando que o AS atua como antagonista ao etileno (CIA et al., 2007), possivelmente ocorreu uma redução do metabolismo primário, como atividade respiratória e transpiração e conseqüentemente diminuição da perda de água. O que resultou na redução da perda de massa as rosas pela aplicação do AS.

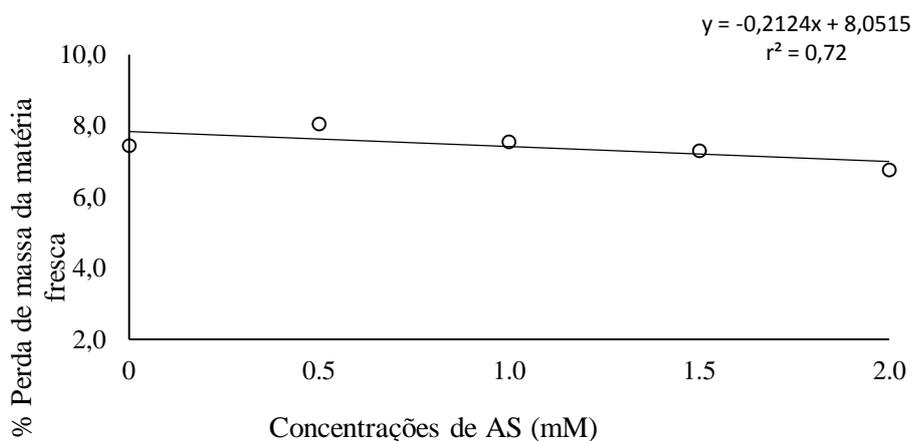


Figura 6.1- Perda de massa da matéria fresca de hastes de rosa de acordo com concentração de ácido salicílico após 4 dias de sua aplicação. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2013.

Os resultados demonstraram que houve variação nas médias dos tratamentos sobre os teores de proteína totais nas hastes de rosas (Figura 6.2A), exceção apenas para testemunha cujo comportamento apresentou-se estável até o final do experimento (96 horas). Nas amostras que receberam as menores concentrações de AS (0,5 e 1,0 mM) houve aumento nos níveis de proteínas totais nas primeiras 24 horas, seguido por seu decréscimo no decorrer do tempo. Já nas duas maiores concentrações de AS, os picos nos teores proteicos surgiram com 48 horas, mantendo-se mais elevados que os demais tratamentos até o final do experimento (Figura 6.2A).

Supõe-se que a elevação nos teores de proteínas com a aplicação de AS, esteja relacionado com a ativação das proteínas-RP, cuja importância está envolvida no processo de defesa vegetal. Esses dados corroboram com a afirmação de Spletzer e Enyedi (1999), no qual descreveram que quando o AS foi aplicado de forma exógena é capaz de induzir o aumento da síntese do próprio AS, assim como de proteínas-RP, permitindo com que haja proteção as plantas contra o ataque de patógenos, aumentando, nesse caso, a vida de prateleira de rosas de corte.

Analisando os dados foi possível observar que as hastes de rosas tratadas com a maior concentração de AS (2,0 mM) obtiveram maior ativação da enzima FAL (Figura 6.2B), cujo pico de atividade foi nas 48 horas após a aplicação dos tratamentos, com as médias mantendo-se maiores em comparação as demais concentrações utilizadas, até o final do experimento.

Campos et al. (2003) ao avaliarem o comportamento das enzimas chalcona sintase e fenilalanina amônia-liase observaram acréscimos na atividade destas, tanto no tratamento com ácido salicílico quanto com uso de fungo indutor, se comparado com ao tratamento controle. As alterações significativas nas atividades destas enzimas surgiram depois de três dias de exposição aos tratamentos indutivos com ácido salicílico e com fungo em comparação ao controle, cujo tratamento não foi induzido. Chen et al. (2006) também observaram que em uvas tratadas com AS tiveram ativação da enzima FAL, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho.

Para a atividade da peroxidase (Figura 6.2C) os tratamentos envolvendo a concentração 0 (testemunha) e a maior concentração de AS (2,0 mM) apresentaram os menores valores em relação as concentrações (0,5; 1,0 e 1,5 mM), que apresentaram os valores mais elevados. Essa variação em seu comportamento em função das concentrações de AS deve ser mais avaliada, considerando que a enzima peroxidase está diretamente ligada à lignificação dos tecidos, a qual polimeriza lignina a partir da oxidação de hidroxilas de grupos fenólicos (PASCHOLATI e LEITE (1995); CASTRO et al. 2005), o que torna importante para defesa e sustentação da planta.

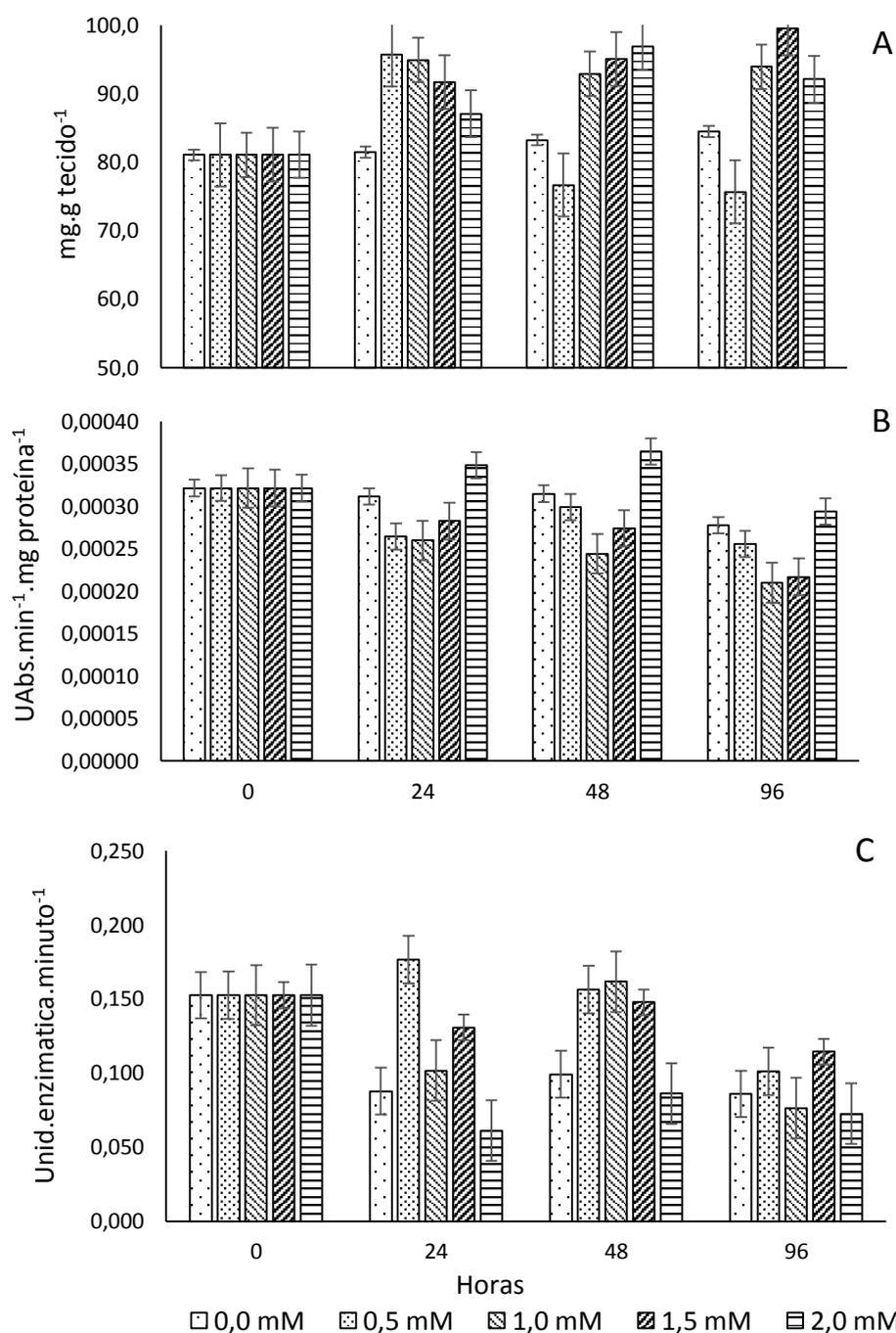


Figura 6.2 – Teor de proteínas (A), atividade das enzimas FAL (B) e peroxidase (C) de rosas de corte avaliadas as 0, 24, 48 e 96 horas após a aplicação de solução de ácido salicílico em cinco concentrações (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM). Barras verticais indicam o desvio-padrão. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2013.

Na Figura 6.3, é possível verificar que as pétalas de rosas tratadas com maior concentração de AS (2,0 mM), mantiveram-se sempre com as notas mais elevadas para curvatura de haste, turgescência e escurecimento de pétalas, mantendo assim, a qualidade das flores ao longo do período de avaliação. Isso veio a corroborar com os resultados encontrados por Geerdink (2012), que trabalhou com aplicação de AS em rosas de corte.

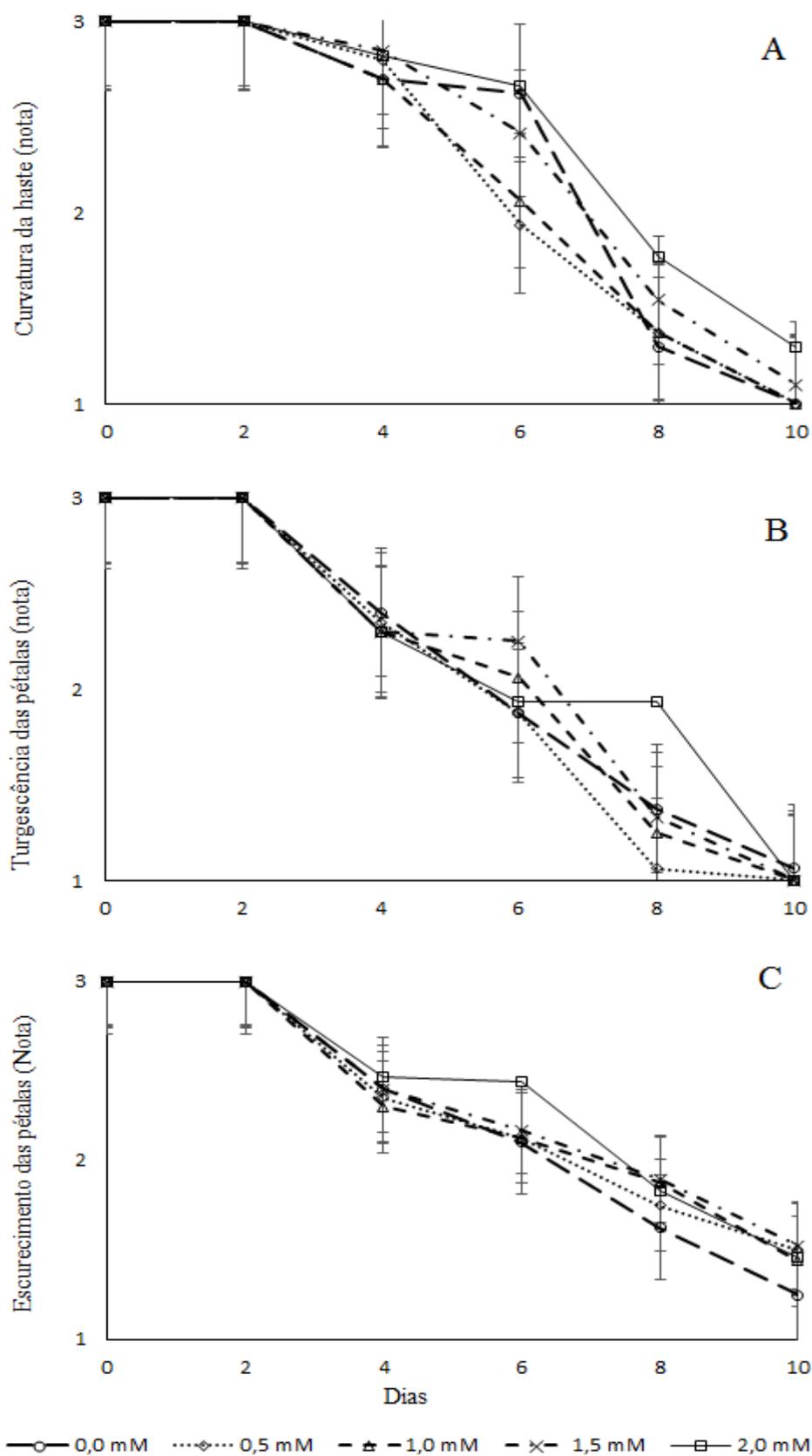


Figura 6.3 – Características qualitativas de curvatura de pedúnculo (A), turgescência (B) e escurecimento de pétalas de rosas (C) ‘Vega’ tratadas com solução contendo cinco concentrações de ácido salicílico. As barras verticais representam o desvio padrão da média. UTFPR, Dois Vizinhos – 2013.

Para curvatura da haste (Figura 6.3A), as concentrações de 1,5 e 2,0 mM, mantiveram as flores com nota 2, ou seja, grau de curvatura maior que 45° até, aproximadamente, 7 dias após a aplicação dos tratamentos, diferente dos demais tratamentos que obtiveram notas menores nesse mesmo período. Para turgescência e escurecimento de pétalas (Figura 6.3B e 6.3C), os resultados foram semelhantes ao obtido com a curvatura da haste, apresentando pétalas de rosas mais túrgidas e menos escurecidas até os 7 e 9 dias após a aplicação dos tratamentos, respectivamente.

Essas características qualitativas encontradas no presente trabalho, provavelmente estão ligadas a menor perda de massa da matéria fresca (Figura 6.1), já que as hastes tratadas com as maiores concentrações de AS foram as que obtiveram a menor perda em relação às demais durante o experimento. Supõe-se que as que se mantiveram por mais tempo túrgidas apresentaram menor curvatura da haste e escurecimento de pétalas, já que segundo Cortes et al. (2011), trabalhando com hastes de rosas 'Grand Gala', afirmam que altos níveis de hidratação dos tecidos são, em geral, associados ao aumento da vida em vaso das flores de corte.

Isso vem a corroborar com Geerdink (2012) que afirmou que essas características qualitativas estão ligadas ao balanço hídrico das hastes florais, pois ele é parte importante para manutenção das estruturas celulares e conseqüentemente da aparência visual, uma vez que pétalas túrgidas ficam com maior luminosidade, e portanto mais atrativas.

Considerando o efeito dos tratamentos com AS possivelmente a manutenção da qualidade das rosas, nos parâmetros curvatura da haste, turgescência e escurecimento da pétalas, deu-se pela inibição do metabolismo pós-colheita, seja respiratório ou de síntese de etileno. Como o AS é antagônico ao etileno (RASKIN, 1992), é provável que tenha ocorrido uma inibição da biossíntese e ação do etileno o que permitiu rosas de melhor qualidade quando tratadas com AS.

6.6 CONCLUSÕES

Os tratamentos com AS propiciam melhor qualidade de rosas de corte em pós-colheita, com redução da perda de massa, curvatura de haste, turgescência e escurecimento de pétalas, estando diretamente relacionado com o aumento das concentrações do AS;

A aplicação de AS interfere nos parâmetros bioquímicos das pétalas de rosas de proteína totais, atividade das enzimas FAL e peroxidase, e não interfere no teor de clorofilas das folhas.

REFERÊNCIAS

- ALTVORST, A.C.; BOVY, A.G.; The role of ethylene in the senescence of carnation flowers: a review. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 16, p. 45-53, Jan. 1995.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B; Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. 341p. **Embrapa Meio Ambiente**. Jaguariúna – SP. 2009.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.72, p.248-254, 1976.
- CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P.; SILVA, J. B.; OSÓRIO, V. A.; Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Braz. Plant Physiol.** Campinas,, vol.15, n.3, pp. 129-134. ISSN 1677-0420; 2003.
- CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P.; OSÓRIO, V. A.; AUGUSTIN, E.; Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesq. agropec. bras.** Brasília, v.39, n.7, p.637-643, jul. 2004.
- CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A.; PERES, L.E.P.; **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. 650p. Piracicaba: Ceres, 2005.
- CASTRO, S. G. F. de; CORTEZ, L. A. B.; Avaliação da qualidade de flores cortadas de chuva-de-ouro após armazenamento em câmara fria a baixa temperatura. **Encontro de Energia no Meio Rural**, 3, 2000, Campinas. Proceedings online. Disponível em: <http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=MSC000000022000000100012&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: Dezembro de 2013.
- CAVALCANTI, L.S.; PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOALATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ. 263 p. 2005.
- CHEN, J.Y.; WEN, P.F.; KONG, W.F.; PAN, Q.H.; ZHANA, J.; LIA, J.M.; WAN, S.B. Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. **Postharvest Biology and Technology**, v.40, p.64-72, 2006.
- CORTES, M.H.; FRIAS, A.A.; MORENO, S.G.; PIÑA, M.M.; GUZMÁN, G.H.D.L.C.; SANDOVAL, S.G.; The effects of calcium on postharvest water status and vase life of *Rosa hybrida* cv. 'Grand Gala'. **International Journal of Agriculture and Biology**, v.13, n.2, p.233-238, 2011.
- DEMPSEY, D.A.; SHAH, J.; KLESSIG, D.F.; Salicylic acid and disease resistance in plants. **Critical Reviews in Plants Sciences**, London, v. 18, n. 4, p. 547 – 575, 1999.
- DURIGAN, B. M. F.; **Fisiologia e conservação pós-colheita de flores cortadas de gérbera**. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2009.
- ELBE, J. H. von; olorantes. In: FENNEMA, O. W. (Ed.). *Química de los alimentos*, 2 ed. P. 782-799. Zaragoza: Wisconsin, 2000.
- GEERDINK, G. M.; **Efeito de tratamentos de pré e pós-colheita na qualidade de rosas de corte**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2012.
- HAMMERSCHMIDT, R.; KUĆ, J. **Induced Resistance to Disease in Plants**. Dordrecht: Kluwer Academic. 182 p. 1995.

HAMMERSCHMIDT, R. Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens? **Physiology and Molecular Plant Pathology**, v.55, p.77-84, 1999.

HARDENBURG, R.E.; WATADA, A.E.; WANG, C.Y.; **Almacenamiento comercial de frutas, legumes y existencias de floristerias y viveros**. Costa Rica: IICA, P.91-121. 1988.

IBRAFLOR, **Instituto Brasileiro de floricultura**, Disponível em <<http://www.ibraflor.com>>. Acesso em 05 fev. 2014.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. Piracicaba, 2007, 140p. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

LEON-KLOSTERZIEL, K.M.; VERHAGEN, B.W.M.; KEURENTJES, J.J.B.; VANOELT, J.A.; REP, M.; VAN LOON, L.C.; PIETERSE, C.M.J.; Colonization of the Arabidopsis rhizosphere by fluorescent *Pseudomonas* spp. Activates a root-specific, ethylene-responsive PR-5 gene in the vascular bundle. **Plant Molecular Biology**, 57: 731-748. 2005.

MADAMANCHI N.R.; KUC, J.; **Induced systemic resistance in plants**. In: The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals (G. Cole and H. Hoch, Eds) Plenum Press, 347-362, New York, 1991.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Tokio, v.23, p.1091-1101, 1972.

MORAN, P. J.; CIPOLLINI, D. F.; Effect of wind-induced mechanical stress on soluble peroxidase activity and resistance to pest in cucumber. **Journal of Phytopathology**, v. 147, p. 313-316, 1999.

PASCHOLATI SF, LEITE B.; Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO A, KIMATI H, AMORIN L (Eds.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo SP. Agronômica Ceres. vol. 1, pp. 417-453, 1995.

RASKIN, I. Role of salicylic acid in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 43, p. 439-463, 1992.

RAVEN, J.A. The transport and function of silicon in plants. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v.58, n.1, p.179-207, 1983

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M.; Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de planta a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**. v.28; n.2; 2003.

ROSSAROLLA, M. D.; TOMAZETTI, T. C.; COPATTI, A. S.; MONTEIRO, A. M.; RIGHI, P. S.; AGUILA, J. S.; Estudo da aplicação de ácido salicílico na pré-colheita em laranja 'Salustiana'. In: **XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura**, p. 1737-1740. Bento Gonçalves, RS, 2012.

SHAKIB, M. F.; NADERIB, R.; BOOJAR, M.M.A.; Effect of Salicylic acid application on morphological, physiological and biochemical characteristics of *Cyclamen persicum* Miller. **Annals of Biological Research**, 2012.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V.; Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **World congress on computers in agriculture**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA, R. A.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L.; Defesa contra o ataque de patógenos. **Documentos Embrapa Agrobiologia**, ISSN 1517-8498; 250. 49 p. Seropédica – RJ, 2008.

SPLETZER, M. E.; ENYEDI, A. J. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, p. 722 – 727, 1999.

STADNIK, M. **Indução de resistência a oídios**. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, Campinas. Anais do Congresso Paulista de Fitopatologia, v. 23, p. 176-181. 2000.

STEVENS, C.; KHAN, V.A.; LU, Y.; WILSON, C. L.; ADEYEYE, O.; PUSEY, L.P.; TANG, A. Y. A.; Induced resistance of sweetpotato to *Fusarium root rot* by UV-C. **Crop Protection**, v.18, p. 463-470. 1999.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; METRAX, J.P.; Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 235-270, 1997.

VLOT, A.C.; DEMPSEY, D.A.; KLESSIG, D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. **Annual Review of Phytopathology**, v.47, p.177-206, 2009.

ZAMANI, S.; KAZEMI, M.; ARAN, M.; Postharvest Life of Cut Rose Flowers as Affected by Salicylic Acid and Glutamin. **World Applied Sciences Journal** 12 (9): 1621-1624, 2011

ZHANG, Y.; CHEN, K.; ZHANG, S.; FERGUSON, I. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.28, p.64-74, 2003.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização do ácido salicílico em pós-colheita em fruteiras como acerola e amora-preta, das olerícolas couve-manteiga e espinafre e das flores de rosas demonstrou possuir ação nos processos metabólicos, com atuação sobre as características físico-químicas, bioquímicas e na indução de resistência. Nesse sentido algumas considerações merecem serem apresentadas:

A aplicação do AS em nenhuma das espécies estudadas provocou danos fitotóxicos visual ou alterou negativamente as características físico-químicas;

A resposta da aplicação do AS possui especificidades para as espécies, respondendo de forma diferenciada quanto as concentrações, alterações físico-químicas, bioquímicas e ativação das rotas metabólicas envolvidas;

De modo geral, os resultados demonstraram que a aplicação de AS, para todas as espécies avaliadas, proporcionou resultados melhores em relação a não utilização do mesmo. Para a acerola ocorreu aumento da acidez titulável em valores mais elevados, a manutenção dos SST, e a redução de podridões pós colheita. Para a amora-preta, alterou-se positivamente os níveis de proteínas totais, e demonstrou ativar rotas de defesa vegetal. Para couve manteiga a aplicação de AS manteve os teores de proteínas e fenóis totais em níveis mais elevados que as folhas sem tratamento, e interferiu na atividade das peroxidases. Para espinafre as maiores concentrações de AS diminuíram a perda de massa da matéria fresca e mantiveram os teores de proteínas mais elevados. Houve efeito nos teores de proteína totais, atividade da FAL e peroxidase de rosas com a aplicação de AS. As rosas tratadas com a maior concentração de AS mantiveram-se com as notas mais elevadas para curvatura de haste, turgescência e escurecimento de pétalas, mantendo a qualidade visual até, aproximadamente, 8 dias após a aplicação dos tratamentos.

Na acerola e na amora-preta, aonde realizou-se a atividade enzimática de proteína-RP quitinases e β -1,3-glucanase comprovou-se que o AS possui ação na indução de resistência. Sugere-se que outros trabalhos de pesquisa devam dar continuidade, considerando diferentes temperaturas de armazenamento, e estádios de maturação. Também análises complementares de níveis de produção de etileno e respiração são fundamentais para entendimento da ação do AS em pós-colheita. É importante considerar a inoculação de patógenos específicos para as espécies e observar a resposta quanto a indução de resistência.

ANEXOS



Foto 1 – Bandeja de isopor com amoras



Foto 2 - Bandeja de plástico com acerola



Foto 3 - Maços de folhas de couve manteiga



Foto 4 - Ramos de espinafre nas soluções



Foto 5 - Hastes de rosas na solução com AS



Foto 6 - Medição de clorofilas em folhas de espinafre

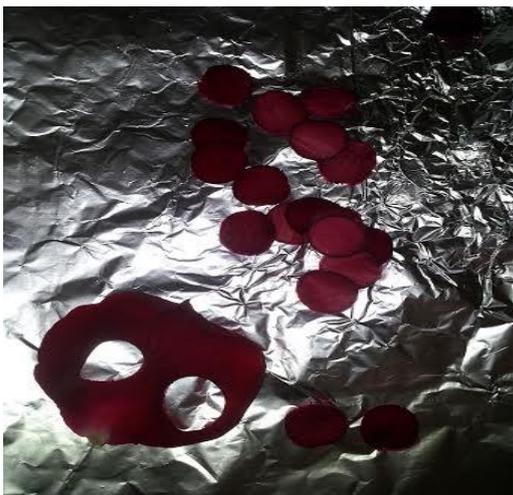


Foto 7 – Amostras de pétalas de rosas



Foto 8 – Suco de acerola



Foto 9 – Análises bioquímicas de rosas



Foto 10 – Ependorfes identificados com as amostras



Foto 11 – Maceração das amostras



Foto 12 – Discos padronizados