

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

DAIANE LUCKMANN BALBINOTTI DE FRANÇA

**RESPOSTA FISIOLÓGICA, ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E
CONSERVAÇÃO DA BANANA 'PRATA' TRATADA COM ETANOL**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2016

DAIANE LUCKMANN BALBINOTTI DE FRANÇA

**RESPOSTA FISIOLÓGICA, ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E
CONSERVAÇÃO DA BANANA 'PRATA' TRATADA COM ETANOL**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Costa Braga

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2016

DAIANE LUCKMANN BALBINOTTI DE FRANÇA

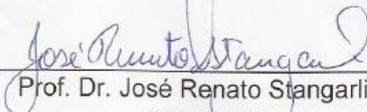
RESPOSTA FISIOLÓGICA, ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E
CONSERVAÇÃO DA BANANA PRATA TRATADA COM ETANOL

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 15 de dezembro de 2016



Prof. Dr. Vander Francisco Guimarães
(Unioeste)



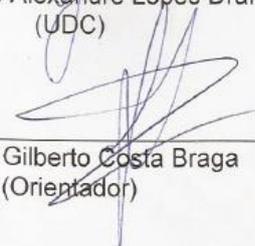
Prof. Dr. José Renato Stangarlin
(Unioeste)



Prof.ª Dr.ª Cláudia de Andrade Moura
(UTFPR)



Prof. Dr. João Alexandre Lopes Dranski
(UDC)



Prof. Dr. Gilberto Costa Braga
(Orientador)

Este trabalho é dedicado a minha família, em especial a minha filha Eduarda, e meu marido Marcelo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela vida.

Ao Prof. Dr. Gilberto Costa Braga pela orientação, pelos ensinamentos, pela sabedoria, compreensão e, acima de tudo, pela confiança que depositou em mim.

Aos Professores do programa de Pós-Graduação em Agronomia, como os quais dividiram seus conhecimentos.

Aos meus pais Lauro e Nilse, pelo amor incondicional, pelo apoio, pelos estímulos e força sempre e, por acreditarem em mim. Pela educação e ensinamentos para vida e por tudo que fizeram por mim. A vocês minha eterna gratidão e amor. Obrigada pai e mãe.

Ao meu companheiro e esposo Marcelo, pela paciência, compreensão, apoio, por acreditar em mim por assumir o papel de mãe nos momentos de ausência. Com amor que lhe agradeço pelo apoio e por tudo, visto que sem vocês nenhuma destas páginas estaria completa.

A minha filha, Eduarda, pela compreensão e pelos meus momentos de ausência, por ser esta pessoinha maravilhosa e ser minha razão de viver. Te amo filha.

Aos meus irmãos Fábio e Greice e (cunhada, cunhado e sobrinhos) pelo apoio, incentivo, são poucas as palavras, mas quero que sabiam que amo todos vocês.

A família do meu esposo pela ajuda nas horas essenciais, pela confiança e apoio.

A minha grande amiga e comadre Mariana Pizzatto, mesmo estando longe sempre me incentivando e apoiando. Obrigado por tudo Mari.

Agradeço as colegas de laboratório Alice Jacob Morais, Jessica Cristina Urbanski Laureth e Cristiane Paulus pelo companheirismo, convivência, risadas, e acima de tudo pela amizade conquistada.

Um agradecimento em especial a Prof. e colega Claudia de Andrade Moura pelos conselhos e por deixar nossos dias mais felizes.

As colegas de Doutorado Edilaine Della Valentina, Dangelia Maria Fernandes e Maria Cristina Copello Rotili pela amizade e companheirismo, pelos árduos dias de estudo.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná (*Campus Marechal Cândido Rondon*) pela disponibilização de toda a infraestrutura.

À CAPES pela concessão da bolsa.

E a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução dessa Tese, meu sincero Obrigado!

**“Somos feitos de carne,
mas temos que viver como se fôssemos de ferro.”**

Sigmund Freud

RESUMO

FRANÇA, Daiane, Luckmann Balbinotti de, Mestre, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Novembro – 2016. **Resposta fisiológica, atividade de enzimas antioxidantes e conservação da Banana 'Prata' tratada com etanol.** Orientador: Gilberto Costa Braga

O etanol tem sido estudado como um inibidor da biossíntese de etileno, o que pode ser de grande benefício para a conservação pós-colheita de frutos. Entretanto, estudos mostraram que alguns frutos climatéricos, como a banana, não mostraram resposta ao etanol. A capacidade da banana em absorver etanol pode ser limitada e interferir na sua ação reguladora do etileno. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tempo de exposição e da dose de etanol sobre a produção de etileno, respiração, enzimas antioxidantes e conservação pós-colheita da banana 'Prata'. Uma primeira amostra de bananas foi exposta ao vapor de etanol (100 μL) por 10,0 horas. Outra amostra de bananas foi exposta a 50, 100 e 150 μL de etanol e depois foi armazenada por 12 dias. A taxa respiratória, produção de etileno, atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), fenilalanina amonialiase (FAL) e polifenoloxidase (PPO), características físico-químicas e degradação, foram avaliadas. A taxa respiratória e a produção de etileno das bananas tratadas com etanol (71,13 $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e 0,009 $\mu\text{g C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente) foram inferiores aos frutos do controle (101,58 $\text{mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e 0,014 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente), mas isso ocorreu apenas com 4 horas de exposição ao etanol, período no qual houve um pico de absorção de etanol no fruto. O etanol causou maior atividade de SOD e CAT e menor atividade da APX da casca das bananas apenas nas duas primeiras horas de exposição, mas isso não esteve relacionado com a produção de etileno ou taxa respiratória. O etanol influenciou mudanças nas atividades de PPO e FAL após o pico de sua máxima absorção pelo fruto (4 horas). Durante o armazenamento, o etanol causou diminuição da produção de etileno dos frutos, mas não houve efeito das doses. O etanol não influenciou a taxa respiratória, a conversão de açúcares, a textura e a perda de massa fresca da banana durante o armazenamento. Este estudo mostrou que o etanol tem efeito sobre o metabolismo do etileno, mas que isso não tem reflexo sobre alguns parâmetros de qualidade da banana 'Prata'. Por outro lado, o etanol foi capaz de atrasar a degradação do fruto, e isso é vantajoso comercialmente.

Palavras-chave: Etileno. Taxa respiratória. Superóxido dismutase. Catalase. Ascorbato peroxidase.

ABSTRACT

FRANÇA, Daiane Luckmann Balbinotti de, Magister Scientiae. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, November – 2016. **Physiological response, antioxidant enzyme activity and conservation of ethanol treated 'Prata' Banana.** Advisor: Gilberto Costa Braga.

Ethanol has been studied as an inhibitor of ethylene biosynthesis, which can be of great benefit for the post-harvest conservation of fruits. However, studies have shown that some climacteric fruits, such as banana, did not respond to ethanol. The ability of the banana to absorb ethanol may be limited and interfere with its ethylene regulatory action. The objective of this work was to evaluate the effect of exposure time and ethanol dose on ethylene production, respiration, antioxidant enzymes and post-harvest preservation of 'Prata' banana. A first sample of bananas was exposed to ethanol vapor (100 μL) for 10.0 hours. Another sample of bananas was exposed to 50, 100 and 150 μL of ethanol and then stored for 12 days. Respiratory rate, ethylene production, activities of the enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), phenylalanine ammoniumase (FAL) and polyphenoloxidase (PPO), physicochemical characteristics and degradation were evaluated. The respiration rate and ethylene production of ethanol treated bananas (71.13 mg CO_2 kg^{-1} h^{-1} and 0.009 μg C_2H_4 kg^{-1} h^{-1} , respectively) were lower than the control fruits (101.58 mg kg^{-1} h^{-1} and 0.014 μg kg^{-1} h^{-1} , respectively), but this occurred only with 4 hours of exposure to ethanol, during which time there was a peak of ethanol uptake in the fruit. Ethanol caused higher SOD and CAT activity and less APX activity of banana bark only in the first two hours of exposure, but this was not related to ethylene production or respiratory rate. Ethanol influenced changes in PPO and FAL activities after the peak of its maximum absorption by the fruit (4 hours). During storage, ethanol caused a decrease in the ethylene production of the fruits, but there was no effect of the doses. Ethanol did not influence the respiratory rate, sugar conversion, texture and loss of fresh banana mass during storage. This study showed that ethanol has an effect on the metabolism of ethylene, but that this has no reflection on some quality parameters of 'Prata' banana. On the other hand, ethanol was able to delay the degradation of the fruit, and this is commercially advantageous.

Keywords: Ethylene. Respiratory rate. Superoxide dismutase. Catalase. Ascorbate peroxidase.

LISTA DE SÍMBOLOS

EROS- Espécies reativas de oxigênio

SOD- Superóxido dismutase

CAT- Catalase

APX- ascorbato peroxidase

GR- Glutathiona redutase

POD – Peroxidase

PPO - Polifenoloxidase

FAL- Fenilalanina amônia-liase

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

OH• - Radical hidroxila

O₂^{•-} - ânion superóxido

ROO•- Radical peroxi

RO• -Radical alcoxi

O₂- oxigênio *singlet*

Fe - Ferro

Cu - Cobre

AsA - Ácido ascórbico

GSH - Glutathiona

PG – Poligalacturonase

ACC - Ácido 1-carboxílico-1-amino ciclopropano

C₂H₄ - Etileno

CO₂ – Gás Carbônico

SAM - S-adenosil-metionina

ATP- Trifosfato de adenosina

ACC – Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico

MACC - Ácido 1-(malonilamino) ciclopropano-1-carboxílico

NMT - N-malonil transferase

HCN- Ácido cianídrico

DNA - Ácido desoxirribonucleico

RNA - Ácido ribonucléico

SOD Mn - Superóxido dimutase dependente de manganês

SOD CuZn - Superóxido dismutase dependente de cobre e zinco

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Rota de biossíntese do etileno e o ciclo Yang. AdoMet, S-adenosil-L-metionina; ACC, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico.7
- Figura 2 –** Integração do sistema antioxidante enzimático. 13
- Figura 3-** Curva de calibração do etanol para o cálculo da concentração no frasco e no fruto.20
- Figura 4 -** Concentrações de etanol no frasco, com e sem banana (a), e na casca e polpa da banana 'Prata' (b). As barras indicam o desvio padrão (n= 4).27
- Figura 5 -** Taxa respiratória (a) e produção de etileno (b) da banana 'Prata' tratadas com vapor de etanol por 10 horas. Barras verticais indicam o desvio padrão (n= 4); * Significativo a $P < 0,05$, ^{ns} - não significativo a $P < 0,05$30
- Figura 6-** Taxa respiratória CO₂ (A) e etileno (B) da banana 'Prata', tratadas com diferentes doses de vapor de etanol, armazenadas em temperatura ambiente. As barras indicam o desvio padrão (n= 5).37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Ações e mecanismos de diversas substancias antioxidantes (adaptado de Barbosa et al., 2010).	10
Tabela 2- Atividade de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) da banana 'Prata' tratada com vapor de etanol.	32
Tabela 3 - Atividade de Polifenoloxidase (PPO) e Fenilalanina amônia-liase (FAL) da banana 'Prata' tratada com vapor de etanol.....	34
Tabela 4 - Perda de massa fresca (%), firmeza (N), sólidos solúveis totais (°Brix), índice de cor e índice de degradação da banana 'Prata', tratadas com diferentes doses de vapor de etanol.....	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	PRODUÇÃO E FISILOGIA PÓS-COLHEITA DE BANANA	4
2.1.1	Metabolismo do Etileno.....	6
2.1.2	Modo de Ação do Etileno	7
2.1.3	Estresse Oxidativo	8
2.1.4	Mecanismo Antioxidante	9
2.2	EFEITOS DO ETANOL COMO FITOREGULADOR	13
2.2.1	Efeito Sobre a Biossíntese do Etileno	13
2.2.2	Efeito na Respiração Celular	14
2.2.3	Efeito Sobre no Sistema Antioxidante.....	15
2.2.4	Efeitos do Etanol nas Atividades de Polifenoloxidase (PPO) e Fenilalanina amônia-liase (FAL).....	16
2.2.5	Efeito Sobre Atributos de Qualidade.....	17
2.2.6	Efeito Sobre Patógenos	17
3	MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1	AMOSTRA DA BANANA	19
3.2	PLANO METODOLÓGICO	19
3.3	ENSAIO DE RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS.....	19
3.3.1	Concentração de Etanol no Frasco e no Fruto	20
3.3.2	Taxa Respiratória e Etileno dos Frutos.....	20
3.3.3	Atividade de Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato Peroxidase (APX).....	21
3.3.3.1	Obtenção do Extrato Bruto para SOD, CAT e APX	21
3.3.3.2	Atividade de SOD	21
3.3.3.3	Atividade de CAT	22
3.3.3.4	Atividade de APX.....	22
3.3.4	Atividade de Polifenoloxidase (PPO) e Fenilalanina amônia-liase (FAL) 22	
3.3.4.1	Obtenção do Extrato Bruto para PPO e FAL	22
3.3.4.2	Atividade de PPO.....	23
3.3.4.3	Atividade de FAL.....	23

3.4	ARMAZENAMENTO E CONSERVAÇÃO DA BANANA 'PRATA'	23
3.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE DOS DADOS	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1	FISIOLOGIA E ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES.....	26
4.1.1.	Respostas Fisiológicas.....	28
4.1.1	Efeitos do Etanol nas Atividades de SOD, CAT, APX.....	31
4.1.2	Efeitos do Etanol nas Atividades de Polifenoloxidase (PPO) e Fenilalanina amônia-liase (FAL).....	34
4.2	FISIOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BANANA 'PRATA' TRATADA COM DOSES DO ETANOL.....	36
5	CONCLUSÕES.....	42
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

A necessidade de atrasar o amadurecimento ou a senescência, e de manter a qualidade pós-colheita de frutas é uma questão importante durante o transporte, armazenamento e comercialização. Técnicas de conservação pós-colheita de frutos, como o uso de baixas temperaturas durante o transporte e armazenamento, combinado com outras técnicas, como atmosfera modificada (CALEGARO, PEZZI, BENDER, 2002; BENDER et al., 2010), biofilmes de recobrimento (CAMPOS, KWIATKOWSKI, CLEMENTE, 2011; BORGES et al., 2013) e fungicidas (ROMANAZZI et al., 2013) tem sido utilizadas. Tais técnicas reduzem o metabolismo respiratório e a produção de etileno, e inibem a degradação microbiológica. Estudos recentes têm mostrado que a aplicação de etanol pode inibir a biossíntese do etileno (ASODA et al., 2009; JIN et al., 2013), e isso pode ser vantajoso como técnica auxiliar de conservação pós-colheita de frutos.

O etileno é um biomarcador importante que interfere no amadurecimento de frutos climatéricos, e a inibição desse fitohormônio pode atrasar o amadurecimento e favorecer a comercialização dos frutos. Estudos mostraram que o vapor de etanol inibiu significativamente a produção de etileno interno em melão (LIU et al., 2012), em brócolis bloqueou a produção de etileno, prolongando a vida útil (SUZUKI et al., 2005; ASODA et al., 2009), bem como em uvas de mesa inibiu a degradação patogênica (ELIF et al., 2012), prolongou a vida útil de cereja (BAI et al., 2011), e prolongou a vida útil de flores de corte (HOSSAIN et al., 2007).

Apesar do etanol apresentar eficiência ao inibir a biossíntese de etileno em órgãos não-climatéricos, como brócolis e melão (ASODA et al., 2009), com efeitos positivos na conservação pós-colheita, efeito similar não foi encontrado em bananas (RITENOUR et al., 1997; BAGNATO et al., 2003). De fato, as respostas fisiológicas e físico-químicas de frutos não-climatéricos tratados com vapor de etanol são muito influenciadas, principalmente, pelo tempo de exposição e por sua concentração. Mas para frutos climatéricos, como a banana, quando submetidos ao vapor de etanol, a relação entre etileno, metabolismo bioquímico e conservação precisa ser mais bem esclarecida.

Asoda et al. (2009) relataram que a aplicação de etanol em brócolis inibe a atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, uma vez que são enzimas

percursoras na produção de etileno. O mesmo foi observado por Jin et al. (2013), que encontraram inibição da biossíntese da ACC (ácido 1-carboxílico-1-amino ciclopropano), e da atividade de ACC oxidase e ACC sintase, conduzindo à inibição da biossíntese de etileno interno em melões tratados com vapor de etanol.

Ritenour et al. (1997) observaram que bananas expostas por 6 horas ao vapor de etanol não houve redução na produção de CO₂. Em outro estudo, Bagnato et al., (2003) observaram que bananas tratadas com etanol por infiltração a vácuo não mostraram mudanças significativas dos parâmetros físico-químicos durante o armazenamento. Tem sido relatado que a eficácia do vapor de etanol seja influenciada principalmente por sua concentração (JIN et al., 2013), além de outros fatores, como espécie, cultivar, maturidade, modo de aplicação e tempo de exposição (RITENOUR et al., 1997). Uma vez que a efetividade do etanol em inibir a síntese do etileno seja dependente da dose, ou do tempo de exposição (JIN et al., 2013).

De acordo com Chervin et al. (2003) doses de etanol ideais para o controle eficaz de doenças pós-colheita devem ser inferiores a 5 mL kg⁻¹ para uvas de mesa. Por outro lado, doses mais elevadas podem induzir escurecimento das frutas (DAO; DANTIGNY, 2011) e levar a um dano celular elevado (JIN et al. 2013). Tratamentos com vapor de etanol a 1,0 ou 1,5 mL L⁻¹, durante duas horas e 500 µL L⁻¹ por três horas foram capazes de inibir significativamente a germinação de esporos e o alongamento do tubo germinativo de agentes patogênicos, além de retardar a senescência dos frutos de *Myrica rubra*, uma espécie de morango chinês (WANG et al., 2011).

O nível de dose, tempo de exposição e sensibilidade da espécie vegetal ao etanol são fatores que podem desencadear estresse oxidativo no fruto. Assim, a resposta do órgão vegetal, em nível de dano ou estresse celular oxidativo, pode ser avaliado através da estimativa da atividade de enzimas do sistema antioxidante endógeno. De fato, uma vez que a produção de espécies reativas de oxigênio aumenta sob condições de estresse oxidativo (LI et al., 2016), um dos mecanismos que a célula dispõe para dismutar radicais livres está na ativação de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) e peroxidase (POD) (MITTLER, 2002).

Wang et al. (2015) observaram que nêsperas quando expostas ao vapor de etanol mostraram aumento da atividade da SOD, porém, ocorreu redução na atividade de CAT e APX, contribuindo com maiores níveis de H₂O₂ celular que, segundo os

autores, foram responsáveis por induzir resistência a patógenos. Por outro lado, níveis elevados de H_2O_2 também podem induzir dano oxidativo por peroxidação lipídica de membranas (BLOKHINA et al., 2003). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tempo de exposição e da dose de etanol sobre a produção de etileno, respiração, enzimas antioxidantes e conservação pós-colheita da banana 'Prata'.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUÇÃO E FISIOLOGIA PÓS-COLHEITA DE BANANA

A banana é um fruto climatérico, da família *Musaceae* e gênero *Musa*. É a fruta mais consumida no Brasil e a segunda no mundo, atrás apenas da laranja. Ela ocupa a primeira posição no ranking mundial de produção de frutas, com mais de 106 milhões de toneladas. Deste total, o Brasil responde por 7 milhões de toneladas (6,9%) (IBGE, 2016). A produção de banana no Brasil ocorre de maneira expressiva nos estados de São Paulo, sendo o principal produto, com 1,3 milhões de toneladas, seguindo da Bahia com 1,2 milhões de toneladas, e Minas Gerais que produziu 654,6 toneladas. No estado do Paraná os principais municípios produtores de banana são Paranaguá, Cornélio Procópio, Curitiba, Apucarana, Cascavel e Jacarezinho (SEAB, 2016).

A bananeira, é uma planta de porte médio, tem um pseudocaule vigoroso, de fundo esverdeado, com manchas marrom-escuras e pigmentação intensa. Produz cachos grandes com peso entre 23 a 45 kg, com 8 a 15 buques, tem 12 a 31 frutos por buque e o peso do fruto varia entre 95 e 260 gramas (CERQUEIRA, 2012). Sendo um fruto climatérico, a banana apresenta alta atividade respiratória e produção de etileno durante o amadurecimento, fator responsável por diversas transformações bioquímicas e fisiológicas nesse período. Devido a isso, os frutos são colhidos ainda verdes e sua qualidade alimentícia e comercial são influenciadas pelas condições de armazenamento durante o amadurecimento (CAMPOS et al., 2003).

Durante o período de amadurecimento, entre as principais transformações visíveis sofridas pelo fruto estão as mudanças na coloração da casca de verde para o amarelo, causada pela degradação da clorofila e/ou a síntese de carotenóides (SANAEIFAR et al., 2016). A diminuição da firmeza dos frutos é outra consequência do amadurecimento, nos frutos de banana essa diminuição se deve a alterações na estrutura da parede das células por meio da atividade de enzimas como a poligalacturonase, por exemplo, e devido à degradação do amido e à transformação de substâncias pécticas que representam cerca de 0,5 a 0,7% da polpa do fruto, tornando o amolecimento um processo acelerado (SOLTANI et al., 2011).

Ocorre também durante o amadurecimento o aumento do teor de sólidos totais, pois o amido presente no fruto é hidrolisado em açúcares solúveis, tais como glicose, sacarose e frutose (SANAEIFAR et al., 2016). Na fase madura, a porcentagem de amido é reduzida de 20% até 0,5 a 2,0%. Quando o fruto está verde o teor de sólidos solúveis fica em torno de 27%, tendo pequena diminuição quando a fruta já está muito madura (VIVIANI; LEAL, 2007). A adstringência, representada pela presença de taninos, decresce à medida que o fruto vai amadurecendo, podendo também variar com a época de colheita do fruto (NASCIMENTO JUNIOR et al., 2008). A redução do teor de compostos fenólicos totais de menor peso molecular resulta na redução da adstringência e no aumento da acidez do fruto, bem como na liberação de compostos voláteis responsáveis pelo aroma e pelo sabor, características importantes para o consumo da banana (VIVIANI; LEAL, 2007). Viviane e Leal (2007) relataram que durante o amadurecimento da banana a respiração (taxa de produção de CO₂) aumenta de 20 mg kg⁻¹ h⁻¹ para cerca de 125 mg kg⁻¹ h⁻¹. Esses mesmos autores ressaltaram também que essa fase desencadeia o aumento no teor de açúcares solúveis e ácidos orgânicos, com predominância do ácido málico.

O etileno é um fitohormônio vegetal cujo aumento da biossíntese estimula o processo de amadurecimento do fruto e marca a sua transição entre as fases de crescimento e senescência (SILVA et al., 2006). O aumento da biossíntese de etileno nos frutos catalisa o climatério respiratório, o qual, possivelmente, dá o suporte energético para as rápidas transformações na aparência, no aroma e na textura, tornando os frutos prontos para serem consumidos. Entretanto, independente do padrão climatérico a presença do etileno é indesejável durante o transporte e o armazenamento de frutos, sendo considerado um dos grandes entraves na pós-colheita, pois pode interferir no metabolismo acelerando o processo de senescência (SENHOR et al., 2009).

Dependendo do padrão climatérico o etileno interfere diretamente no metabolismo respiratório. Assim, os frutos podem ser classificados em dois padrões respiratórios: climatéricos ou não-climatéricos. Nos climatéricos, como banana, maçã, pêssegos, caquis, pêras entre outros, ocorre um pico na taxa respiratória, normalmente após um drástico incremento na síntese de etileno, ainda, nos frutos climatéricos ocorrem várias mudanças no desenvolvimento fisiológico podendo ser dividido em maturação fisiológica, amadurecimento e a fase de senescência do fruto. A diferença qualitativa, que distingue os frutos quanto à relação entre a maturação

fisiológica e amadurecimento, é que na maturação fisiológica a qualidade para o consumo ainda não é ideal, sendo o fruto comestível apenas após ter ocorrido o processo amadurecimento. Esses processos são governados principalmente pelo aumento respiratório e pelo aumento na taxa de produção de etileno (PINTO, 2009).

Os frutos não-climatéricos não tem capacidade de continuar o processo de maturação quando destacados da planta mãe, estes frutos produzem baixas quantidades endógenas de etileno, assim, os frutos não-climatéricos apresentam baixas taxas respiratórias durante o processo de amadurecimento (VILAS BOAS, 2002).

2.1.1 Metabolismo do Etileno

O fitohormônio endógeno etileno (C_2H_4) tem um importante papel na regulação do metabolismo respiratório e senescência de frutos. O etileno é como um catalisador, desempenhando papel em acelerar e coordenar a biossíntese de pigmentos e degradação da clorofila em frutas climatéricas e não-climatéricas (LI; GEMMA; IWAHORI, 2002). Por outro lado, o órgão vegetal responde ao estresse com o aumento da biossíntese de etileno, assim como estresses fisiológicos provocado por inundação, resfriamento, moléstias, temperatura ou estresse hídrico (LIMA DE SÁ et al., 2008; TAIZ; ZEIGER, 2004).

O início da rota metabólica do etileno, chamado de ciclo da metionina ou ciclo de Yang, dá-se com a rota de regeneração ou reciclagem do aminoácido metionina. Esse aminoácido é convertido em S-adenosil-metionina (SAM), que é regenerado no ciclo da metionina (Figura 1). A conversão da metionina em SAM requer a enzima SAM sintetase, e, portanto, requer também energia na forma de ATP. A conversão do SAM em ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) é catalisada pela enzima ACC sintase. Na etapa de conversão da SAM em ACC também há a formação da 5-metiladenosina (MTA), que é novamente convertida em metionina por meio de uma via de síntese de metionina modificada. O ACC é oxidado a etileno, CO_2 e ácido cianídrico (HCN) pela ação da enzima ACC oxidase, que requer O_2 e libera pequena quantidade de CO_2 (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005). Alternativamente, ACC pode ser metabolizado a ácido 1-(malonilamino) ciclopropano-1-carboxílico (MACC), pela ação da enzima N-malonil transferase (NMT) (YANG; HOFFMAN, 1984). A ACC sintase é a enzima limitante para a biossíntese do etileno nos tecidos vegetais e, em

conjunto com a ACC oxidase, contribui para a regulação da biossíntese do etileno no amadurecimento de frutos (PINTO, 2009). Portanto, as enzimas ACC sintase e ACC oxidase são consideradas chaves na biossíntese do etileno e suas atividades podem ser reguladas por diversos tratamentos pós-colheita.

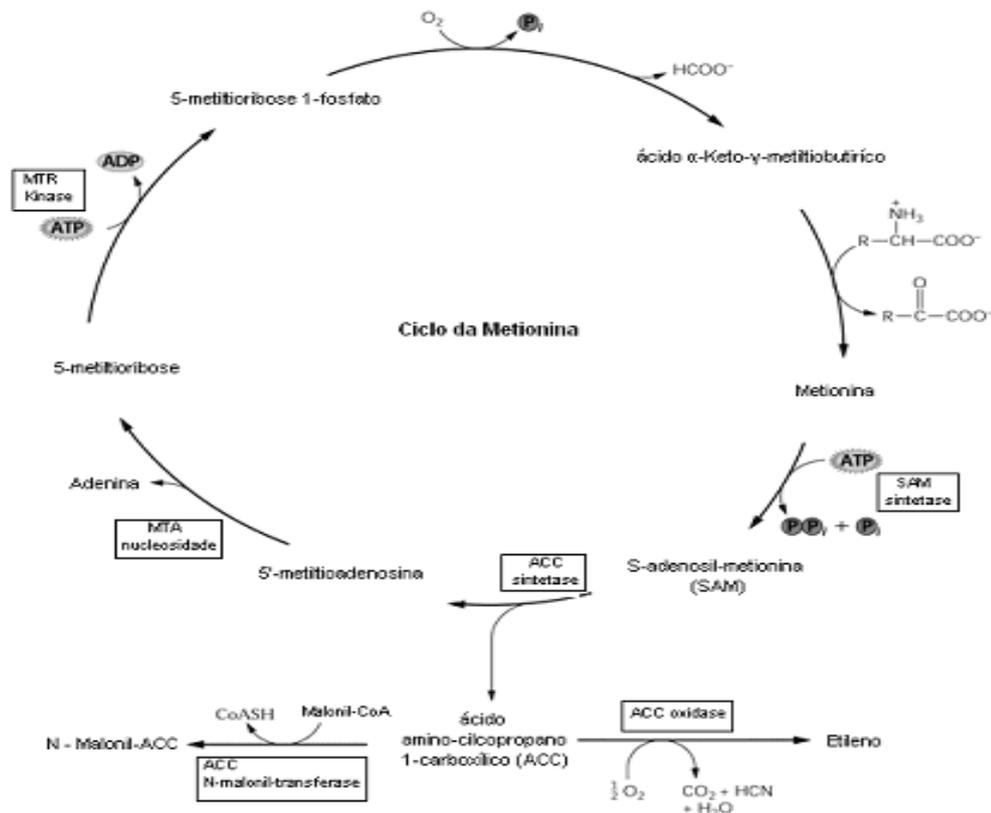


Figura 1- Rota de biossíntese do etileno e o ciclo Yang. AdoMet, S-adenosil-L-metionina; ACC, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico.

Fonte: BLEECKER; KENDE (2000).

2.1.2 Modo de Ação do Etileno

Apesar da ampla faixa de efeitos do etileno no desenvolvimento de órgãos vegetais, supõe-se que as principais etapas de sua ação sejam semelhantes em todos os casos: todas elas envolvem a ligação ao receptor, seguida pela ativação de uma ou mais rotas de transdução de sinal induzindo uma resposta celular (TAIZ; ZEIGER, 1998).

De fato, o etileno é o fitohormônio que induz a expressão de muitas enzimas (SENHOR et al., 2009). Para exercer sua ação o etileno se liga a receptores proteicos

da membrana plasmática (hidroxiprolina), que contém Cu^{2+} ou Zn^{2+} como sítio de ligação, esse complexo etileno-receptor, através de um mensageiro secundário, leva o sinal do etileno até o DNA (núcleo), o que é chamado de transdução do sinal, o núcleo ocorre a produção de RNA mensageiro específico de algumas enzimas, como celulase, poligalacturonase e pectinases, sendo essa fase denominada de transcrição gênica. Em seguida, com o RNA mensageiro no citoplasma, ocorre a fase de tradução do sinal, ou seja, a síntese dessas enzimas no retículo endoplasmático, essas enzimas migram ao Complexo de Golgi, onde são liberadas na parede celular, ocorrendo, em função da ação da enzima específica, a degradação da celulose, da pectina, amolecendo a parede celular e desencadeando processos de maturação e/ou senescência (RODRIGUES; ONO, 2001). Uma das formas de bloquear a ação do etileno é pela utilização de compostos que atuam em seus sítios receptores, presentes nas membranas celulares (TREVISAN, 2012).

Baseado na natureza e quantidade de etileno produzido durante o crescimento e desenvolvimento da planta, incluindo amadurecimento do fruto, acredita-se que dois sistemas regulam a biossíntese do etileno. No sistema I operante tanto em frutos climatéricos como em não-climatéricos, o etileno é produzido em baixos níveis, sendo responsável pela produção de etileno basal e pelo etileno produzido pelos danos físicos em tecidos. O sistema II representa a explosão autocatalítica de produção de etileno acompanhada do processo de amadurecimento dos frutos climatéricos. Essas concepções têm adquirido novos significados com o esclarecimento da regulação bioquímica e molecular da biossíntese de etileno. Nos frutos climatéricos, o início do amadurecimento envolve uma transição do sistema I para o sistema II de biossíntese do etileno (BARRY; LLOP-TOUS; GRIERSON, 2000; YOKOTANI et al., 2009).

2.1.3 Estresse Oxidativo

O termo radical livre é frequentemente usado para designar uma molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados, o que torna essas moléculas altamente reativas e capazes de reagir com qualquer composto que esteja próximo, passando a assumir uma ação oxidante (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). Em sua configuração normal o O_2 é pouco reativo nas células, no entanto, durante os processos metabólicos normais, e como consequência de diversos estresses, o O_2 é

reduzido por univalência através de reações sequenciais que podem ocasionar a formação das espécies reativas de oxigênio (EROS) (CABISCOL et al., 2000), as quais incluem o radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^{\cdot}) (FLORES et al., 2014).

Barbosa et al. (2014), descreveram brevemente os três principais tipos de EROS:

1. O radical superóxido é formado a partir do oxigênio molecular pela adição de um elétron. Sua formação ocorre espontaneamente em quase todas as células aeróbicas, especialmente na membrana mitocondrial, por meio da cadeia respiratória. É um radical pouco reativo e não tem habilidade de penetrar membranas lipídicas, agindo, portanto, apenas no compartimento onde é produzido;
2. O radical hidroxila é considerado o radical livre mais reativo em sistemas biológicos, sendo capaz de causar mais danos do que qualquer outra ROS. É formado a partir do peróxido de hidrogênio, em uma reação catalisada por íons metais (Fe^{2+} ou Cu^+), denominada reação de Fenton e Haber Weiss. Este radical hidroxila também pode iniciar a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados das membranas celulares (lipoperoxidação);
3. Peróxido de hidrogênio não é um radical livre, mas um metabólito do oxigênio extremamente deletério, porque participa como intermediário na reação que produz o radical hidroxila. Tem vida longa e é capaz de atravessar membranas biológicas.

Assim, o estresse oxidativo é causado pelo desequilíbrio entre a produção de ROS, e o aumento da produção desses agentes oxidantes é considerado uma característica do estresse oxidativo (ARORA et al., 2002). EROS são moléculas potencialmente perigosas devido à sua capacidade de causar sérios danos fisiológicos às células e, por isso, a sua produção deve ser controlada. Porém, sua produção não pode ser completamente eliminada, uma vez que estas moléculas possuem a função de sinalização, sendo parte fundamental de um sistema de defesa das plantas contra estresses bióticos e abióticos (BARBOSA et al., 2014).

2.1.4 Mecanismo Antioxidante

A resposta do órgão vegetal, em nível de dano ou estresse celular oxidativo, pode ser mensurado através da estimativa da atividade de enzimas do sistema antioxidante endógeno. De fato, uma vez que a produção de espécies reativas de oxigênio aumenta sob condições de estresse oxidativo (LI et al., 2016), um dos mecanismos que a célula dispõe para dismutar radicais livres está na ativação do sistema antioxidantes, dividido em defesa antioxidante não enzimática e defesa antioxidante enzimática. A glutathione (GSH), a cisteína, as hidroquinonas, manitol, vitaminas C e E, os flavonoides, alcaloides e β -caroteno, são exemplos de defesas não enzimáticas, enquanto as defesas antioxidantes enzimáticas incluem enzimas como a superóxido dismutase, catalase, as peroxidases, e enzimas do ciclo de ascorbatoglutationa, entre outros (Tabela 1) (MITTLER, 2002; BARBOSA et al., 2010; DINAKAR et al., 2012).

Tabela 1- Ações e mecanismos de diversas substâncias antioxidantes (adaptado de Barbosa et al. 2010).

Antioxidante	Ação
Não enzimático	
Vitamina A (β - caroteno)	Proteção contra oxidação de lipídeos e DNA.
Vitamina C (ácido ascórbico)	Inibição das EROS (agente redutor). Estimula o poder antioxidante da vitamina E e do Selênio.
Vitamina E (α -tocoferol)	Proteção contra a peroxidação de ácidos graxos insaturados da membrana celular e das lipoproteínas de baixa densidade. Converte o radical superóxido e H_2O_2 em formas reativas.
Cu, Zn, Mn, Se	Co-fatores das enzimas antioxidantes SOD-Cu/Zn, SOD-Mn e GSH-Pox.
Fotoquímicos (resveratrol, catequinas, quercetinas, ácidos fenólicos e outros)	Proteção contra oxidação de lipídeos e DNA.
Enzimáticos	
SOD	SOD-Cu/Zn (citoplasma), SOD-Mn (mitocôndria). Catalisa a conversão do radical superóxido em peróxido de hidrogênio.
CAT	Catalisa a conversão de H_2O_2 em O_2 e H_2O .
GPx	Catalisa a conversão do H_2O_2 a H_2O .

Entre as principais enzimas de defesa antioxidante pode-se citar:

- A superóxido dismutase (SOD) são metalo-enzimas consideradas a primeira linha de defesa contra as EROS e que catalisam a dismutação de dois radicais $O_2^{\cdot-}$, gerando H_2O_2 e O_2 (BARBOSA et al., 2014). Além disso participa, ativamente na remoção de $O_2^{\cdot-}$, gerado através de diferentes processos do metabolismo celular, tais como o transporte de elétrons na mitocôndria e cloroplastos, citosol e peroxissomos. O produto da dismutação do superóxido pela SOD, o H_2O_2 , deve ser removido a fim de evitar sua conversão em radicais mais reativos, como o OH^{\cdot} (MITTLER, 2002).

- A catalase (CAT) é uma das principais enzimas na eliminação do H_2O_2 gerado durante a fotorrespiração e a β -oxidação dos ácidos graxos. Em plantas são encontradas nos peroxissomos e glioxissomos, citosol e também pode ser encontrada em mitocôndrias. Ela converte duas moléculas de H_2O_2 a H_2O e oxigênio molecular. É uma das enzimas chave envolvidas na remoção de peróxidos tóxicos nas células apenas quando estes estão em concentrações altas, pois apresenta baixa afinidade pelo H_2O_2 (MITTLER, 2002). A CAT pertence à família das oxirredutases, presente universalmente nos organismos que decompõem H_2O_2 em H_2O e O_2 . Como a CAT opera sem agente redutor, ela fornece às plantas uma forma energeticamente eficiente para remoção do H_2O_2 (SHARMA et al., 2012). A atividade da CAT é efetiva, principalmente, em concentrações relativamente altas de H_2O_2 , por isso são consideradas indispensáveis para a desintoxicação de EROS, especialmente em condições de estresse severo (BARBOSA et al., 2014).

- A ascorbato peroxidase (APX) é uma importante enzima do sistema de defesa antioxidante, e é considerada chave no ciclo da glutathiona-ascorbato que reduz o H_2O_2 (quando em baixas concentrações na célula) água, usando ascorbato como doador de elétrons, resultando na formação de deidroascorbato (SHARMA et al., 2012). Suas isoformas podem ser encontradas no citosol, mitocôndrias, peroxissomos, cloroplastos (estroma e ligadas às membranas dos tilacoides) e parede celular (DABROWSKA et al., 2007; De GARA, 2004). A APX exige o ácido ascórbico como redutor. Nos cloroplastos e mitocôndrias a APX atua no ciclo ascorbato-glutathiona, no qual o H_2O_2 formado pela ação da SOD é reduzido pelo ascorbato (MITTLER, 2002). Nos cloroplastos a fotorredução do oxigênio à água pode gerar $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 , que são eliminados pela ação da SOD e da APX, respectivamente (ASADA, 2006).

Deste modo, a SOD age como primeira linha de defesa convertendo o O_2 a H_2O_2 , a APX e a CAT agem, portanto, na eliminação do H_2O_2 . A ação da CAT e das

peroxidases destaca a diferença básica entre as duas principais rotas metabólicas do H_2O_2 nas células. A remoção de H_2O_2 por peroxidases requer uma pequena molécula redutora (ou proteínas como o citocromo c ou tioredoxina) para agir como um co-fator de regeneração e não leva à evolução de O_2 , porque a água é o produto da reação (BHATT; TRIPATHI, 2011).

A geração de ROS faz parte do metabolismo aeróbio normal, mas em diversas situações, a produção dessas espécies é aumentada, seja por fonte endógena ou exógena. Dentre as fontes endógenas pode-se citar: metabolismo aeróbio normal, cadeia respiratória, dentre outras (GEORGIEVA, 2005; SCANDALIOS, 2005). As fontes exógenas envolvem vários fatores ambientais de estresse como: seca, metais pesados, elevadas concentrações de sais, extremos de temperatura, radiação ultravioleta, poluição do ar, herbicidas, estresse físico e mecânico e também estresses bióticos como o ataque de patógenos (MALLICK; MOHN, 2000). O aumento do estresse oxidativo que provavelmente resulta de menor atividade das enzimas é evidentemente necessário para facilitar muitas mudanças metabólicas e físico-químicas associadas com o amadurecimento dos frutos (ROGIERS et al., 1998; MONDAL et al., 2004).

Os mecanismos enzimático e não enzimático possuem a função de reduzir o excesso da produção de EROS em condições normais, e sem eles, as espécies tóxicas de oxigênio podem causar danos, tais como peroxidação lipídica e protéica e oxidação do DNA, podendo levar a célula à morte (BOTTCHEER et al., 2012). As EROS inativam enzimas e causam importantes danos nos componentes celulares como a peroxidação lipídica dos ácidos graxos resultando na formação de alguns produtos como o malondialdeído (HODGES et al., 1999).

A Figura 02 representa um esquema simplificado de representação da indução de moléculas de sinalização e ativação dos mecanismos de defesa enzimático e não enzimático na célula vegetal.

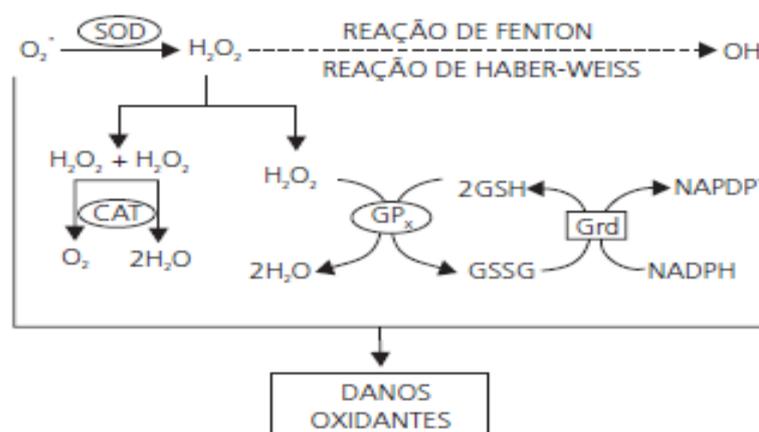


Figura 2 – Integração do sistema antioxidante enzimático.

Fonte: BARBOSA et al., (2010)

2.2 EFEITOS DO ETANOL COMO FITOREGULADOR

Pesis (2005) relatou que o etanol é um composto natural, sendo passível de ser usado em sistemas de conservação de produtos vegetais cultivados de forma orgânica ou agroecológica. O etanol está envolvido na rota de síntese do etileno, no metabolismo respiratório, na produção de aroma e na expressão de algumas proteínas e enzimas, sendo que a regulação da respiração e da síntese de etileno através da aplicação de etanol tem diversos efeitos sobre atributos de qualidade pós-colheita em frutos, hortaliças e flores (PESIS, 2005; ASODA et al., 2009; MORI et al., 2009).

A aplicação pode ser efetuada por meio da volatilização do etanol no interior de embalagens (CHANJIRAKUL et al., 2006; BAI et al., 2004; BURDON et al., 1996; ASODA et al., 2009; MORI et al., 2009), ou por imersão dos frutos em uma solução de etanol (MARGOSAN et al., 1997; LICHTER et al., 2002). De outra forma, Ritenour et al. (1997) e Liu et al. (2012) aplicaram etanol na cavidade seminal do melão com o auxílio de uma seringa.

2.2.1 Efeito Sobre a Biossíntese do Etileno

Em geral, a inibição do metabolismo respiratório pelo etanol está associada à significativa redução da produção de etileno, de tal forma que pudesse inibir a

respiração climatérica. Inicialmente foi proposto que o etanol pudesse inibir a produção de etileno por um mecanismo e o etileno por outro, porém os dois mecanismos seriam dependentes da concentração de etanol (PODD; VAN STADEN, 1998).

Outra hipótese é defendida por Saltveit (1989), que propôs que a inibição da ação do etileno ocorre por meio da permeação do etanol na bicamada lipídica da membrana plasmática. Isto provocaria um pequeno rompimento das membranas e dos receptores de etileno. No entanto, as concentrações necessárias para provocar esse dano deveriam ser bem menores que as concentrações que provocariam extravasamento de íons.

Asoda et al. (2009) propuseram outro sistema de ação do etanol sobre a inibição da produção de etileno, estes mesmos autores relataram que a aplicação de etanol em brócolis inibiu fortemente a produção de etileno e a atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase. O mesmo foi observado por Jin et al. (2013), que encontraram inibição da biossíntese da ACC (ácido 1-carboxílico-1-amino ciclopropano), e da atividade de ACC oxidase e ACC sintase, conduzindo à inibição da biossíntese de etileno interno em melões tratados com vapor de etanol. Os mesmos autores relataram ainda que a dose de 0,5 mL kg⁻¹ foi mais eficaz na biossíntese de etileno do que de 3,0 mL kg⁻¹.

A inibição da biossíntese de etileno interno em melões tratados com vapor de etanol foi por meio de supressão da expressão de genes *CM-ACO1*, *CM-ACO2*, *CM-ACO3* e *CM-ACS1*, *CM-ACS2*, *CM-ACS3* durante o armazenamento (JIN et al., 2013). A aplicação de etanol inibiu a expressão de genes *BO-ACO1*, *BO-ACO2* e *BO-ACS1*, que estão envolvidos na biossíntese de etileno, por conseguinte, a síntese de etileno é inibida por etanol em brócolis (ASODA et al., 2009).

2.2.2 Efeito na Respiração Celular

A aplicação de etanol causa redução da atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, conseqüentemente ocorre inibição drástica da produção de etileno e, conseqüentemente, na respiração (PESIS, 2005; ASODA et al., 2009). Outros estudos mostraram que o etanol foi responsável pela redução na taxa de respiração em uvas (PESIS; MARINANSKY, 1992; ELIF et al., 2012), melão e abacate (RITENOUR et al., 1997), melão (LIU et al., 2012), em floretes de brócolis (ASODA et al., 2009), em

Helianthus tuberosus L. uma espécie de alcachofra (WANG et al., 2014), cerejas (BAI et al., 2011), também pode prolongar a longevidade de flores de corte (HOSSAIN et al., 2007). A aplicação de 0,3 mL de etanol kg⁻¹ mês⁻¹ melhorou a qualidade pós-colheita de maçãs 'Royal Gala', reduzindo a taxa de respiratória (WEBER et al., 2016).

Ritenour et al. (1997) observaram que em melão e abacate a produção de CO₂ foi reduzida pela aplicação de etanol, os mesmos autores relatam que frutos de banana foram expostos por 6 horas ao vapor de etanol na concentração de 6,0 mL/kg de fruto não reduziu a produção de CO₂ nos frutos.

Liu et al., (2012) estudaram dois métodos de aplicação do etanol, infiltração na cavidade seminal, que teve efeito sobre a redução da respiração e manutenção da qualidade, sendo que, nos frutos expostos ao vapor de etanol, a maturação não foi bloqueada. Estes mesmos autores hipotetizaram que, possivelmente, a barreira formada pelas células suberizadas da epiderme dificultaria a difusão do etanol, impedindo sua entrada na polpa do fruto.

2.2.3 Efeito Sobre no Sistema Antioxidante

A senescência em tecidos vegetais está fortemente associada a um excesso de produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), incluindo radicais superóxido e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (HODGES et al., 2004). O ciclo ascorbato-glutationa desempenha um papel crucial no controle de EROS, devido a sua localização diversificada e alta afinidade da ascorbato peroxidase (APX) ao H₂O₂ (MITTLER, 2002). Mori et al. (2009) observaram que a atividade de APX em brócolis tratados com etanol foi constante durante o armazenamento, enquanto que no controle houve diminuição da atividade da enzima, que foi considerado vantajoso, pois manteve os níveis de atividade de eliminação de radicais oxidantes.

Estudos mostraram que o tratamento com vapor de etanol retardou a senescência de brócolis colhidos e manteve as inflorescências verdes (SUZUKI et al., 2004; ASODA et al., 2009), ainda em estudo com brócolis a qualidade pós-colheita foi mantida em função do tratamento temporário com vapor de etanol, uma vez que as atividades da peroxidase (POD), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) durante o armazenamento foram respectivamente, 25,7, 11 e 48% maiores que nas inflorescências não tratadas (HAN et al., 2006). Outros autores encontraram em

brócolis, que o etanol pode regular, além da produção de etileno e respiração (ASODA et al., 2009), também o sistema antioxidante (HAN et al., 2006; MORI et al., 2009).

Em estudo desenvolvido por Chanjirakul et al. (2006), frutos de framboesa tratados com etanol mostraram maior atividade de SOD do que o controle. Wang et al. (2015) também encontraram aumento da atividade da SOD em nêspera tratada com vapor de etanol e redução na atividade de CAT e APX, e isso, segundo os autores, contribuiu para um maior nível de H₂O₂ durante o armazenamento. De acordo com Resende (2010), a alta atividade de enzimas antioxidantes pode contribuir positivamente para uma maior vida pós-colheita, ou seja, a ativação do sistema antioxidante, como uma resposta ao estresse pós-colheita, pode resultar na melhoria da capacidade antioxidante em frutas.

2.2.4 Efeitos do Etanol nas Atividades de Polifenoloxidase (PPO) e Fenilalanina amônia-liase (FAL)

Espécies reativas de oxigênio atuam na sinalização e ativação da via de síntese dos fenilpropanoides através do estímulo da atividade da FAL, tendo sido mostrado que esta enzima é o ponto chave da regulação desta via. A FAL é responsável pela conversão de fenilalanina em ácido trans-cinâmico, que é um componente-chave nas vias de produção de lignina e de ácido salicílico, considerados componentes importantes do sistema de defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos, (ELSHORA, 2002).

Os compostos fenólicos acumulam-se como consequência do estresse e da produção de EROS, podendo oxidar-se através da ação da PPO, convertendo-os a quinonas (na presença de O₂) que se polimerizam para formação de melaninas (pigmentos escuros), que reduzem a qualidade visual dos frutos (CHARLES et al., 2013). Segundo Botrel et al. (2002), a PPO é encontrada praticamente em todos os tecidos vegetais e sua atividade pode variar em função da espécie, variedade, estágio de maturação, condições de cultivo e mesmo com as práticas de manuseio e armazenamento adotados.

O escurecimento ocorre após danos causados aos tecidos durante os processos de colheita, transporte ou devido a outros estresses fisiológicos causados durante o armazenamento, como desenvolvimento de microrganismos patogênicos que, de maneira geral, levam a desestruturação celular e extravasamento de

compostos fenólicos, que são oxidados por PPOs, levando a formação de pigmentos escuros (VALDERRAMA; MARANGONI; CLEMENTE, 2001; MDLULI, 2005). Wang et al. (2015) observaram que o tratamento com 300 µL/L de vapor de etanol manteve de forma mais elevada a atividade de FAL e PPO em comparação com frutos controle de nêspas.

2.2.5 Efeito Sobre Atributos de Qualidade

Tem sido relatado que o etanol pode influenciar vários atributos de qualidade, como firmeza de polpa, produção de aroma, inibição de danos por frio, desordens fisiológicas e incidência de podridões. Frutos tratados com etanol tiveram a firmeza de polpa mantida em pêssego e nectarina (LURIE; PESIS, 1992), abacate (PESIS et al., 1998; RITENOUR et al., 1997), cereja doce (BAI et al., 2011) e nêspas (WANG et al., 2015). Ainda, Pesis (2005) relatou que o tratamento com etanol pode manter a firmeza de variedades de frutas climatéricas e não climatéricas. Segundo RITENOUR et al. (1997), a aplicação de etanol foi responsável pela redução dessas enzimas em abacate. Do mesmo modo, Weber et al. (2016) relataram que a aplicação de 0,3 mL kg⁻¹ mês⁻¹ de etanol melhorou a qualidade pós-colheita de maçãs 'Royal Gala', mantendo a firmeza dos frutos.

A perda de massa fresca é um dos principais problemas durante o armazenamento, que ocorre em decorrência do metabolismo respiratório e transpiração do fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Bagnato et al. (2003), relataram que a perda de massa da 'Banana Cavendish', tratada com etanol por infiltração a vácuo, foi ligeiramente superior para os frutos do controle. No entanto, Bai et al. (2011) não observaram diferença na perda de massa para frutos de cereja doce tratadas com etanol.

De acordo com LIU et al. (2012), em melões tratados com etanol houve aumento do metabolismo de açúcares, com aumento dos níveis de sacarose depois de quatro dias de armazenagem a 24 °C. Por outro lado, o tratamento com etanol em uvas de mesa 'Globo Red' não mostrou efeito sobre os níveis de açúcares (USTUN et al., 2012).

2.2.6 Efeito Sobre Patógenos

O etanol é considerado um composto que pode ter efeito sobre o atraso da incidência de podridões em vários frutos como pêssegos e uva de mesa (MLIKOTA GABLER; SMILANICK, 2001; KARABULUT et al., 2003; ROMANAZZI et al., 2007). Relatos mostraram que a incidência de podridões foi inibida com a aplicação de etanol em frutos de pêssegos, nectarinas e limões (MARGOSAN et al., 1997). O etanol também inibiu a germinação de esporos de *Botrytis cinerea* em uvas (LICHTER et al., 2002). O tratamento com etanol a 300 µL/L reduziu a incidência de doença e diâmetro da lesão em frutos de nêspers inoculadas com *Colletotrichum acutatum* (WANG et al., 2015).

Em estudo desenvolvido por Tzortzakis (2010), foi mostrado que o tratamento com vapor de etanol reduziu a germinação de esporos do fungo (*Colletotrichum coccodes*) em frutos de tomate. De acordo Bai et al. (2011), o tratamento com etanol reduziu a incidência de podridão parda (*Monilinia fructicola*) em frutos de cereja armazenadas a 20 °C.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRA DA BANANA

Bananas da cultivar 'Prata' foram obtidas no Seasa de Cascavel, PR. Foram selecionados frutos de tamanho homogêneo e sadios. Foram escolhidos aqueles frutos que apresentavam estágio de maturação verde-maduro (predominantemente verde e com traços amarelos). No laboratório os frutos foram lavados com água corrente, e depois foram secos ao ar. Em seguida, as pencas foram fracionadas, com o auxílio de uma faca, em buquês com três frutos cada.

3.2 PLANO METODOLÓGICO

Este estudo foi realizado em duas etapas experimentais. A primeira constou de um ensaio onde se buscou avaliar as respostas fisiológicas e enzimáticas das bananas expostas ao vapor de etanol dentro de um ambiente confinado e curto período. A segunda etapa constou da avaliação da conservação das bananas tratadas com diferentes doses de vapor de etanol.

3.3 ENSAIO DE RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS

Cada buquê de três frutos da cultivar 'Prata' foram acondicionados em frasco hermético de plástico de 1,7 L e expostos ao vapor de etanol (unidade experimental) gerado pela aplicação de 100 µL de etanol absoluto de grau analítico (99,5%, v/v) sobre papel de filtro colocado no fundo do frasco, sem contato com os frutos. Os frutos ficaram expostos ao vapor de etanol por 10 horas, com amostragens nos intervalos de 0,25 (15 minutos), 2, 4, 6, 8 e 10 horas, em temperatura ambiente (média de 24 °C), com quatro unidades experimentais (repetições) para cada tempo, onde se avaliou, conteúdo de etanol no frasco e no fruto, taxa respiratória e etileno, enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). Também foram avaliadas as enzimas polifenoloxidase (PPO) e fenilalanina amônia-liase (FAL).

3.3.1 Concentração de Etanol no Frasco e no Fruto

Os conteúdos de etanol foram determinados conforme descrito por Bai et al. (2003). Na determinação do conteúdo de etanol no frasco, a amostra de 1 mL do *headspace* de cada frasco foi coletada com auxílio de uma seringa *gastight* (Hamilton), que imediatamente foi injetada em cromatógrafo gasoso (Finnigan, 9001) calibrado para as temperaturas da coluna capilar (Restek, RT-QPlot, 30 m; 0,53 mm), injetor (splitless), detector (ionização de chama) e metanador equivalentes a 80, 150, 250 e 350 °C, respectivamente, utilizando-se nitrogênio como gás de arraste.

Para avaliar o conteúdo de etanol no fruto, uma amostra de 9,0 g (polpa ou casca) de cada fruto (em triplicata) foi homogeneizada com 4,5 g de solução saturada de NaCl e 4,5 mL de água destilada. O homogenato foi transferido para um frasco de vidro de 60 mL e selado com um septo de teflon-silicone. Cada amostra contida no frasco foi incubada a 50 °C durante 15 min. Depois de incubado, 1,0 mL do *headspace* do frasco foi coletado com auxílio da seringa *gastight* e injetado no cromatógrafo gasoso nas condições descritas acima. Uma curva de calibração foi preparada (Figura 3), para calcular a concentração de etanol, expressa em mmol L⁻¹.

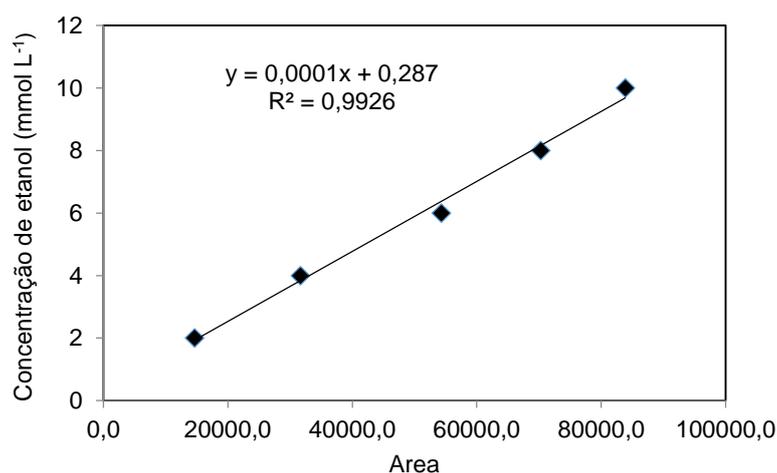


Figura 3- Curva de calibração do etanol para o cálculo da concentração no frasco e no fruto.

3.3.2 Taxa Respiratória e Etileno dos Frutos

Para a determinação da taxa respiratória ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e produção de etileno ($\mu\text{g C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), amostras de 1,0 mL, para CO_2 , e 2,5 mL, para etileno, foram coletadas do *headspace* dos frascos com a seringa *gastight*. As amostras coletadas foram injetadas no cromatógrafo gasoso nas condições descritas acima. Para CO_2 e etileno as amostragens foram nos intervalos de 2, 4, 6, 8 e 10 horas. A expressão dos resultados se deu por comparação das áreas dos picos cromatográficos das amostras e do padrão analítico de CO_2 e etileno. Em relação ao padrão analítico de CO_2 (White Martins-Praxair ONU 1013, com concentração 99,9%) e etileno (White Martins-Praxair ONU 1962, com concentração 99,9%).

3.3.3 Atividade de Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato Peroxidase (APX)

3.3.3.1 Obtenção do Extrato Bruto para SOD, CAT e APX

As amostras foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em tampão fosfato de potássio (Na_2PO_3) 50 mmol L^{-1} , pH 6,8 (proporção de 0,5 g para 4,0 mL de tampão), suplementado com 200 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). O homogeneizado foi levado a centrifuga (MPW-350r) a $1000 \times g$ a 4°C , por 20 minutos e o sobrenadante dividido em alíquotas (1,0 mL), estocado em freezer para posterior quantificação de proteínas e análises enzimáticas.

3.3.3.2 Atividade de SOD

A determinação da atividade da SOD considera a capacidade da enzima em inibir a fotoredução do NBT (Azul de nitrotetrazólio cloreto). A atividade foi determinada pela adição de 50 μL de extrato bruto a uma solução contendo 13 mmol L^{-1} de metionina, 75 mmol L^{-1} de NBT, 100 mmol L^{-1} de EDTA e 2 mmol L^{-1} de riboflavina em tampão fosfato de potássio 50 mM , pH 6,8. A reação foi iniciada pela iluminação dos tubos, em câmara composta por tubos fluorescentes (15 W), a 25°C . Após 5 minutos de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). O composto azul formado (formazana) pela fotoredução do NBT foi determinado pela leitura em espectrofotômetro a 560 nm. Os

tubos considerados branco para a análise receberam os mesmos reagentes, porém são mantidos cobertos com papel alumínio, portanto, abrigados da luz. Uma unidade de atividade (UA) foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotoredução do NBT e expressa como UA mg proteína min⁻¹. A concentração de proteínas foi determinada segundo metodologia de Bradford (1976).

3.3.3.3 Atividade de CAT

A atividade da CAT foi determinada em espectrofotômetro a 240 nm pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio, conforme Peixoto et al. (1999). Para o teste, 50 µL de extrato bruto foram adicionados a 950 µL de tampão fosfato de potássio 50 mmol L⁻¹, pH 7,0 suplementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12,5 mmol L⁻¹. A variação da absorção foi calculada em um intervalo de 60 s, sendo a atividade da enzima calculada utilizando-se um coeficiente de extinção molar $\epsilon = 39,4 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A atividade específica ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$) da CAT, levou em consideração a concentração de proteína solúvel no teste.

3.3.3.4 Atividade de APX

A atividade da APX foi determinada conforme descrito por Gomes-Junior et al. (2006), com modificações. O meio da reação foi composto por 690 µL de tampão fosfato de potássio (80 mmol L⁻¹, pH 7,5), 100 µL de ascorbato (5,0 mmol L⁻¹), 100 µL de EDTA (0,1 mmol L⁻¹), 100 µL de H₂O₂ (0,1 mmol L⁻¹) e 10 µL do extrato enzimático. A atividade foi determinada pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a 30 °C, durante 60 segundos, em espectrofotômetro. Os valores foram expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$. Todas as amostragens foram realizadas em triplicata.

3.3.4 Atividade de Polifenoloxidase (PPO) e Fenilalanina amônia-liase (FAL)

3.3.4.1 Obtenção do Extrato Bruto para PPO e FAL

Obtenção do extrato bruto para as enzimas PPO e FAL seguiu conforme descrito por Viecelli et al. (2010). As amostras de polpa e de casca foram maceradas em nitrogênio líquido com 2,0 mL de solução tampão fosfato de sódio 0,01 mmol L⁻¹ (pH 6,8) (proporção de 0,5 g para 4,0 mL de tampão), suplementado com 200 mg de polivinilpirrolidona (PVPP). Após a maceração foram adicionados mais 2,0 mL da mesma solução e as amostras foram centrifugadas a 5400 x g e 4 °C, durante 20 minutos. Os sobrenadantes foram acondicionados em tubos *Eppendorf* (1,0 mL) e congelados até o momento das análises.

3.3.4.2 Atividade de PPO

Atividade de PPO foi determinada por método espectrofotométrico direto de acordo com NGUYEN (2003), com adaptações. Em 0,1 mL de extrato enzimático adicionou-se 0,9 mL da mistura composta por 50 mL de tampão fosfato de sódio (0,01M, pH 6,8) e 0,110 g de catecol. A reação foi realizada a 30 °C e a leitura das amostras foi feita em espectrofotômetro a 420 nm. Os valores foram expressos em uma unidade de atividade PPO que foi determinada como correspondente à variação de uma unidade de enzima por minuto por grama de proteína (EU min⁻¹ g⁻¹ de proteína).

3.3.4.3 Atividade de FAL

Atividade de FAL foi determinada conforme descrito por Umesha (2006). Um alíquota de 100 µL da preparação enzimática foi acrescida de 400 µL de tampão Tris-HCl (0,025 mmol L⁻¹, pH 8,8) e 500 µL de uma solução de L-fenilalanina 0,05 mmol L⁻¹ (825,9 mg diluído em 100 mL de tampão Tris-HCl 0,025 mmol L⁻¹ (pH 8,8)). A mistura foi incubada a 40 °C durante 2 h. Ao final desse período foi adicionado 60 µL de HCl 5,0 mmol L⁻¹ para cessar a reação, seguido de leitura em espectrofotômetro a 290 nm. A atividade de FAL consistiu da diferença entre as absorbâncias da mistura contendo amostra e do controle. Os resultados foram expressos em µg de ácido trans-cinâmico h⁻¹ g⁻¹ de peso fresco. Todas as amostragens foram realizadas em triplicata.

3.4 ARMAZENAMENTO E CONSERVAÇÃO DA BANANA 'PRATA'

Os buquês contendo três frutos da cultivar 'Prata', acondicionados nos frascos herméticos de 1,7 L, foram tratados com vapor de etanol nas doses de 50, 100 e 150 μL , em cujo tempo de exposição foi de quatro horas. Um grupo controle (não tratado) também considerado. O vapor de etanol foi gerado pela aplicação de etanol absoluto de grau analítico (99,5%, v/v) sobre um papel de filtro, conforme descrito anteriormente. Depois da exposição ao etanol, as bananas foram retiradas dos frascos e acondicionadas em bandejas, para então serem armazenadas em temperatura ambiente. As amostragens foram realizadas em intervalos de 0, 3, 6, 9 e 12 dias. Para o tempo zero as amostragens foram realizadas uma hora após a aplicação do etanol. Cinco repetições foram consideradas para cada tratamento.

Posteriormente, os frutos foram divididos em dois grupos: o primeiro grupo destinado as análises não destrutivas: atividade respiratória (CO_2), produção de etileno, perda de massa fresca, índice de cor e índice de degradação. O segundo grupo foi utilizado nas análises destrutivas de firmeza e sólidos solúveis totais (SST).

Para as determinações da taxa respiratória ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e produção de etileno ($\mu\text{g C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), os frutos, após cada amostragem durante armazenamento, foram acondicionados nos frascos herméticos, por uma hora em temperatura ambiente, para serem retiradas amostras de 1,0 mL para CO_2 , e 2,5 mL para etileno, para serem analisadas no cromatógrafo, conforme descrito no item 3.3.2.

A perda de massa fresca (%) foi determinada por meio de pesagem em balança semi-analítica, considerando-se a massa inicial dos frutos e as massas de cada período de avaliação. O índice de coloração dos frutos foi determinado por meio da utilização da Escala de Loesecke (CASTRICINI et al., 2015). O índice de degradação foi avaliado com auxílio de uma escala diagramática de 0 a 64% desenvolvida por Moraes et al. (2008).

A firmeza da polpa dos frutos foi mensurada utilizando um texturômetro digital de bancada (Brookfield, CT3, USA). Os frutos foram colocados sobre superfície plana e sua firmeza foi medida na região equatorial. Uma haste de aço inoxidável com diâmetro de 8 mm foi utilizada. A velocidade de deslocamento da haste foi ajustada para $1,5 \text{ mm s}^{-1}$, com profundidade de deslocamento de 20 mm, e os resultados expressos em Newton (N). Na determinação de SST ($^\circ\text{Brix}$) foi utilizado um refratômetro digital de bancada (Reichert r^2 mini Digital Handheld Refractometer). Para firmeza, SST, índice de coloração e índice de degradação foram realizadas nove repetições.

3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE DOS DADOS

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias, quando significativas, foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foi utilizado o pacote estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 FISIOLOGIA E ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Um volume de 100 μL de etanol foi aplicado dentro de frascos herméticos, contendo bananas ou não, e os níveis de sua concentração gasosa nos frascos, assim como a concentração no fruto (casca e polpa) foram mensurados durante 10 horas de exposição (Figura 4). Aos 15 min (0,25 h) da aplicação do etanol, a sua concentração no frasco com bananas foi de 10,69 mmol L^{-1} , contra 7,37 mmol L^{-1} no frasco vazio (Figura 4 a). Uma vez que a mesma quantidade de etanol foi aplicada nos frascos, essa maior concentração inicial, encontrada no frasco com bananas aos 15 min de exposição, pode ser explicada pelo fato de que os frutos diminuíram o volume específico do frasco, e isso contribuiu para aumentar a concentração do etanol.

Os frascos vazios mostraram redução na concentração de etanol, alcançando 4,53 mmol L^{-1} com 10 horas de exposição. Porém, com duas horas de exposição ao vapor de etanol, os frascos com bananas mostraram forte redução na sua concentração, alcançando 2,27 mmol L^{-1} , que foi uma redução significativamente maior quando comparado aos frascos vazios no mesmo período. Esses resultados sugerem que as bananas absorveram quantidades significativas de etanol durante o período de exposição, e isso é relevante para o estudo de respostas do fruto à exposição ao etanol. Adicionalmente, os frascos com bananas, a partir de duas horas de exposição ao etanol, mantiveram concentrações significativamente inferiores aos frascos vazios, que variaram de 2,27 a 0,2 mmol L^{-1} , respectivamente entre os períodos de 2 e 10 horas de exposição ao etanol.

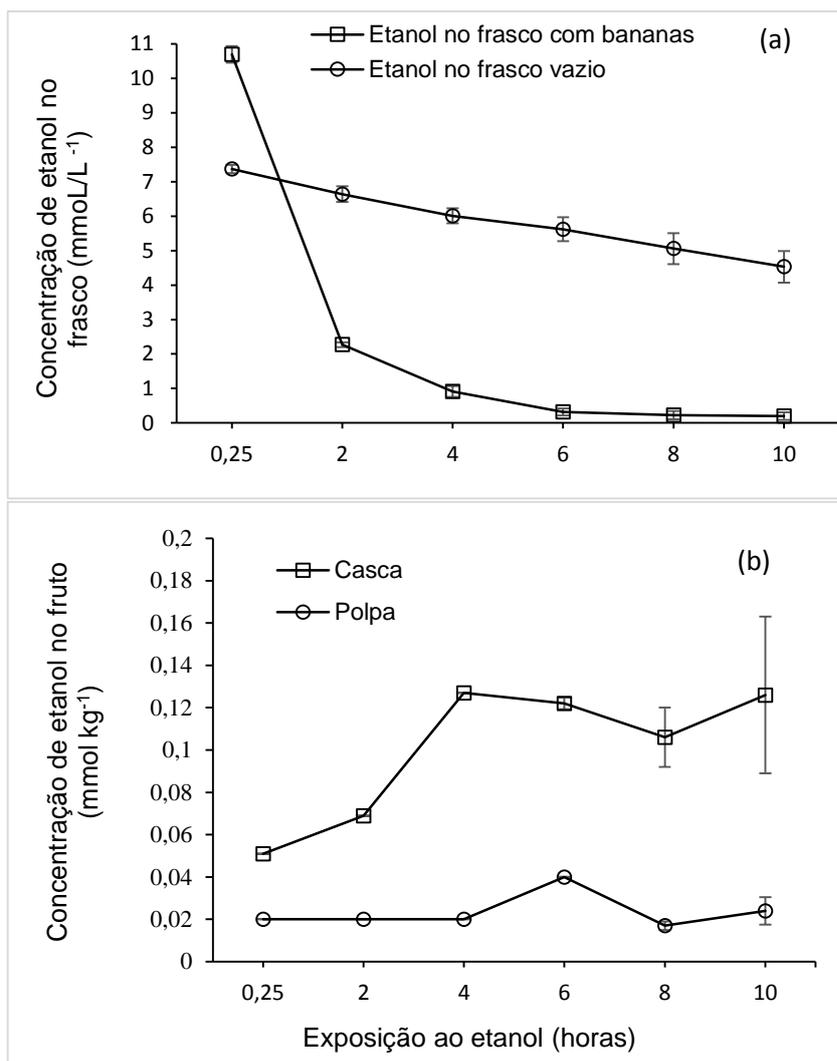


Figura 4 - Concentrações de etanol no frasco, com e sem banana (a), e na casca e polpa da banana 'Prata' (b). As barras indicam o desvio padrão (n= 4).

A casca da banana 'Prata' e 'Maça' acumularam mais etanol do que a polpa durante todo o período de amostragem (Figura 4 b e f). Isto era esperado, uma vez que a casca é a parte do fruto em contato direto com o vapor de etanol. Para a banana 'Prata' um aumento significativo de etanol na casca do fruto ocorreu com quatro horas de exposição, quando um pico máximo (0,127 mmol kg⁻¹) foi atingido. Este súbito aumento na concentração de etanol na casca da banana mostrou correlação linear inversa significativa (-0,6263; $p < 0,05$) com a concentração de etanol no frasco com bananas (Figura 4 a), que exibiu forte diminuição até quatro horas de exposição ao gás, indicando real absorção de etanol pela casca do fruto.

De acordo com Ritenour et al. (1997), barreiras físicas, como por exemplo camadas de células epidérmicas e tecido suberizado (casca), podem reduzir a difusão

do etanol para o interior do fruto, o que, aparentemente, corrobora com os resultados encontrados até aqui. Tratamentos com etanol podem induzir perda de aroma em frutas (PLOTTO et al., 2003), mas por outro lado, a alta acumulação de etanol em tecidos de frutas pode promover acumulação de voláteis aromáticos de ésteres etílicos (UEDA; BAI, 1993). A ação do etanol pode estar relacionada com o seu tempo de exposição no órgão, mas segundo Beaulieu e Salteveit (1997), a resposta do etanol pode variar de acordo com a maturidade do fruto, uma vez que é comum para a fruta madura conter pequenas quantidades de etanol e acetaldeído como parte de seus constituintes de aroma.

Embora pareça que a casca da banana possa ter sido capaz de permitir a difusão de etanol até a polpa do fruto, cujos níveis inferiores de concentração ficaram ao redor de $0,01 \text{ mmol kg}^{-1}$, tais níveis de concentração de etanol da polpa da banana observados podem não estar relacionados à absorção do etanol exógeno aplicado, e sim à pequena quantidade de etanol que, naturalmente, está contida no fruto como parte de seus constituintes de aroma (BEAULIEU; SALTEVEIT, 1997). De fato, a casca pode ter se mostrado como barreira à difusão do etanol até a polpa, como constatado por Bagnato et al. (2003), quando verificaram que o etanol foi incapaz de penetrar no tecido da polpa da banana.

A resistência a barreiras físicas pode ser contornada por injeção de etanol diretamente no fruto, expondo assim à polpa ao vapor de etanol, pois os tecidos da polpa desempenham um papel importante na produção de etileno. Em experimento com melão, para que o etanol tivesse efeito sobre a redução da respiração, a sua aplicação foi efetuada na cavidade seminal do fruto, mas em frutos apenas expostos ao vapor de etanol exógeno, a maturação não foi bloqueada (RITENOUR et al., 1997). Entretanto, em estudo semelhante desenvolvido por Liu et al. (2012), melões tratados com vapor de etanol (exógeno) e com injeção na cavidade do fruto (endógeno), na concentração de 6 mL kg^{-1} de fruto, os autores observaram que não houve alteração entre as formas de aplicação exógena e endógena quanto a maturação dos melões.

4.1.1. Respostas Fisiológicas

A taxa respiratória ($\text{mg de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e a produção de etileno ($\mu\text{g de C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) da banana 'Prata' expostas por 10 horas ao vapor de etanol numa concentração inicial de $10,69 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 4 a), determinadas por cromatografia

gasosa estão apresentados na Figura 5. Efeitos significativos ($p < 0,05$) do etanol sobre a taxa respiratória e a produção de etileno foram encontrados apenas depois de 4 horas de exposição ao gás, quando frutos tratados mostraram produções de CO_2 ($71,13 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e de etileno ($0,009 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) significativamente inferiores aos frutos do controle ($101,58 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e $0,014 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente para CO_2 e etileno). De fato, uma associação positiva entre produção de etileno e taxa respiratória ocorreu no tempo de quatro horas, como resultado do efeito de etanol, foi exibida. Embora tal associação tenha ocorrido apenas com quatro horas de exposição ao etanol, isso era esperado, uma vez que o etileno é um dos principais agentes endógenos que interferem na atividade respiratória (WANG et al., 2014). Estes resultados também se mostraram associados com o pico máximo de absorção de etanol na casca dos frutos, que também aconteceu com 4 horas de exposição (Figura 4 b).

Tem sido relatado que a aplicação exógena de etanol inibe a atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, que são enzimas chave da síntese de etileno (PESIS, 2005; ASODA et al., 2009). Outros estudos mostraram que o etanol foi responsável pela redução na taxa respiratória em uvas (PESIS; MARINANSKY, 1992), melão, abacate (RITENOUR et al., 1997), brócolis (ASODA et al., 2009) e maçãs 'Royal Gala' (WEBER et al., 2016).

Saltveit (1989) propôs que a inibição da ação do etileno ocorre por meio da permeação do etanol na bicamada lipídica da membrana plasmática, provocando rompimento das membranas e dos receptores de etileno. Asoda et al. (2009) propuseram outro sistema de ação do etanol sobre a inibição da produção de etileno, observaram que a aplicação de etanol em brócolis inibiu fortemente a produção de etileno e a atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase. Estes mesmos autores também concluíram que o mecanismo de regulação da biossíntese de etileno pelo qual o etanol atua se dá em nível molecular, com inibição da expressão dos genes *BO-ACO1*, *BO-ACO2* e *BO-ACS1*, que codificam a biossíntese de etileno.

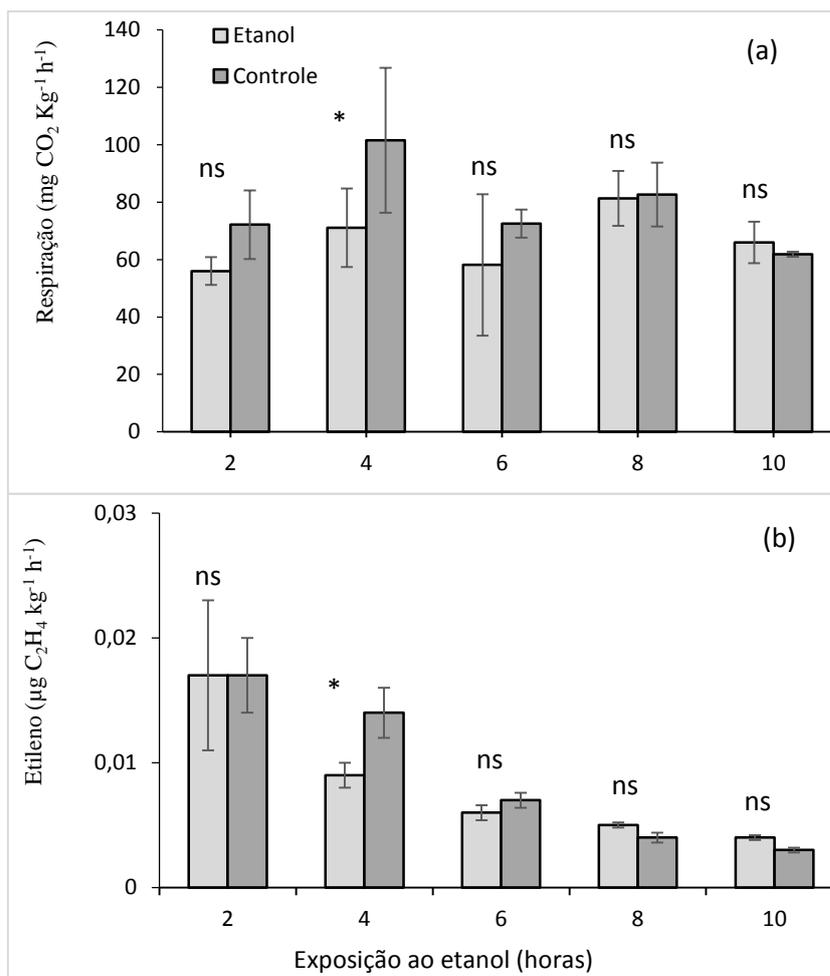


Figura 5 - Taxa respiratória (a) e produção de etileno (b) da banana 'Prata' tratadas com vapor de etanol por 10 horas. Barras verticais indicam o desvio padrão (n= 4); * Significativo a $P < 0,05$, ns - não significativo a $P < 0,05$.

Jin et al. (2013) relataram que o vapor de etanol suprimiu a biossíntese da ACC (ácido 1-carboxílico-1-amino ciclopropano), e reduziu a atividade de ACC oxidase e ACC sintase, conduzindo à inibição da biossíntese de etileno interno em melões tratados com vapor de etanol. Por outro lado, Ritenour et al. (1997) investigaram bananas expostas ao vapor de etanol ($6,0 \text{ mL kg}^{-1}$) por 6 horas, e não encontraram efeito quanto a produção de etileno. Jin et al. (2013) relataram que a efetividade do etanol em inibir a síntese do etileno depende da sua concentração.

Ritenour et al. (1997) observaram o mesmo efeito em frutos de banana (*Musa* AAA, Subgrupo Cavendish), quando expostos por 6 horas ao vapor de etanol na concentração de $6,0 \text{ mL kg}^{-1}$ de fruto. Do mesmo modo, em estudo desenvolvido por Bagnato et al., (2003) esses autores não encontraram efeitos da infiltração a vácuo de etanol em frutos de banana (*Musa acuminata* cv 'Colla Cavendish'. 'Williams').

Houve diminuição significativa da produção de etileno em relação ao tempo de 10 horas de avaliação (Figura 5 b), e isso, possivelmente, pode ter relação com o acúmulo de CO₂, que em determinadas concentrações também age como regulador da biossíntese de etileno, por meio da inibição da enzima ACC oxidase, regulando a sua produção autocatalítica (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O metabolismo do etileno pode ser tanto influenciado por altas pressões de CO₂, como baixas pressões de O₂, que são capazes de reduzir a síntese de etileno pela inibição da ACC oxidase (ALEXANDER; GRIERSON, 2002), uma vez que o etileno é um metabólito secundário e está relacionado ao metabolismo aeróbico de tecidos vegetais (SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2003).

4.1.1 Efeitos do Etanol nas Atividades de SOD, CAT, APX

As atividades das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX na casca e na polpa da banana 'Prata' foram determinadas para estimar o nível de estresse oxidativo dos frutos como resposta à exposição ao etanol (Tabela 2). Nos períodos iniciais de 0,25 min e 2 horas de exposição das bananas ao vapor de etanol, as atividades de SOD na casca dos frutos ($1,88 \pm 0,19$ e $1,87 \pm 0,29$ UA mg⁻¹ proteína min⁻¹, respectivamente) foram significativamente maiores do que nos frutos do controle ($1,28 \pm 0,18$ e $1,08 \pm 0,09$ UA mg⁻¹ proteína min⁻¹, respectivamente), indicando que o etanol pode ter causado estresse oxidativo na banana neste período, que também foi o período de maior taxa de absorção de etanol no fruto (Figura 4 a). Entretanto, não houve indícios de associação da atividade de SOD com taxa respiratória ou produção de etileno, os quais tiveram seus níveis reduzidos pelo etanol apenas com quatro horas de exposição dos frutos (Figura 5). Elevação do estresse oxidativo tem como consequência direta o aumento dos níveis de radicais reativos, como o superóxido (GILL; TUTEJA, 2010). Neste caso, é esperado um aumento da atividade da SOD, que é a enzima primária do sistema antioxidante responsável pela dismutação do radical superóxido (O₂) em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (CUNHA NETO et al., 2012).

A atividade de CAT da casca dos frutos também aumentou nas primeiras duas horas de exposição ao etanol, o que era esperado, uma vez que é uma enzima induzida pelo aumento dos níveis de peróxidos causado pela ação da SOD. O peróxido de hidrogênio, então, é eliminado tanto pela CAT, que catalisa sua conversão a água e O₂, ou pela APX que utiliza o ácido ascórbico como doador de hidrogênio

(GILL; TUTEJA, 2010; CUNHA NETO et al., 2012). No entanto, o etanol causou redução na atividade da APX nas duas primeiras horas de exposição. Nos períodos seguintes, entre 4 horas e 10 horas de exposição ao etanol, não foram encontradas diferenças significativas da atividade de SOD entre as cascas dos frutos tratados e do controle, mas houve aumentos da atividade da CAT, o que sugere a prevalência de níveis elevados de radicais superóxido na casca dos frutos neste período.

Tabela 2- Atividade de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) da banana 'Prata' tratada com vapor de etanol.

Enzimas antioxidantes		Exposição ao etanol (horas)					
		0,25	2	4	6	8	10
		Casca da Banana					
SOD	Etanol	1,88±0,19	1,87±0,29	1,78±0,06	1,72±0,21	1,46±0,18	1,76±0,04
	Controle	1,28±0,18	1,08±0,09	1,82±0,00	1,63±0,38	1,68±0,24	2,00±0,45
		*	*	ns	ns	ns	ns
CAT	Etanol	5,41±2,05	12,45±1,98	11,91±1,65	11,85±3,66	11,88±2,39	12,31±2,84
	Controle	1,94±0,29	7,18±2,22	12,33±4,88	17,10±1,87	23,65±1,74	28,69±4,58
		*	*	ns	*	*	*
APX	Etanol	3,78±0,60	4,22±1,48	4,13±0,67	5,33±1,35	7,84±0,79	12,52±1,49
	Controle	6,87±1,92	9,92±2,18	5,21±1,95	12,17±1,88	10,44±1,49	5,65±0,44
		*	*	ns	*	*	*
		Polpa da Banana					
SOD	Etanol	0,53±0,13	0,67±0,09	0,70±0,11	0,95±0,07	1,08±0,22	0,77±0,20
	Controle	0,68±0,14	0,68±0,07	0,68±0,22	0,66±0,11	0,61±0,20	0,34±0,13
		ns	ns	ns	ns	*	ns
CAT	Etanol	7,01±2,30	6,51±2,26	9,47±1,99	10,23±1,89	10,96±1,94	15,44±1,66
	Controle	4,98±4,88	5,82±1,05	4,88±1,78	5,39±1,31	8,69±3,64	15,53±2,36
		ns	ns	*	*	ns	ns
APX	Etanol	6,54±1,49	15,12±0,75	5,91±0,88	4,45±0,10	3,53±0,29	2,90±0,43
	Controle	2,67±0,19	3,33±1,12	11,19±1,85	8,97±0,92	3,58±0,75	6,75±0,50
		*	*	*	*	ns	*

* Significativo pelo teste F ($P<0,05$), ns não significativo pelo teste F ($P<0,05$).

SOD- UA mg^{-1} proteína min^{-1} .

CAT e APX- $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ g^{-1} proteína min^{-1} .

Como relatado anteriormente, a CAT é fundamental por sua capacidade de remoção, em nível celular, do excesso de H_2O_2 que é produzido principalmente pela SOD, o que provavelmente deve ter ocorrido nas duas horas iniciais de exposição ao etanol. No entanto, a partir de 4,0 horas, ocorreu o oposto, a atividade de CAT foi maior nos frutos controle. A atividade média da APX foi bem mais baixa do que a da CAT, levando em conta que a atividade de ambas se baseia na capacidade de reduzir o H_2O_2 . A baixa atividade da APX indica que esta não é a principal rota enzimática de eliminação do H_2O_2 produzido pela SOD (CUNHA NETO et al., 2012). Portanto, nas cascas, a CAT se mostra como a maior responsável pela redução do H_2O_2 em H_2O e O_2 .

Se o metabolismo celular normal age de forma eficiente para combater radicais hidroxilas, garantindo um rígido e equilibrado nível de radicais reativos na célula, então, frutos tratados com etanol podem exibir um sistema enzimático antioxidante mais eficiente para prevenir danos às membranas celulares. Isto sugere maiores períodos de conservação pós-colheita, como consequência do atraso na senescência. Chanjirakul et al. (2006) também verificaram maior atividade de SOD em frutos de framboesa tratados com etanol em comparação com o controle, corroborando com este estudo. Do mesmo modo, Han et al. (2006) observaram que o tratamento temporário com vapor de etanol em brócolis manteve a atividade da SOD em 48% maiores que nas inflorescências não tratadas. Wang et al. (2015) também constataram que o vapor de etanol aplicado em nêspera induziu o aumento da atividade da SOD.

As diferenças não significativas da atividade da SOD na polpa dos frutos que foram encontradas entre frutos tratados e o controle (Tabela 2) sugerem que não houve influência do etanol sobre a atividade da SOD na polpa dos frutos, muito provavelmente porque os níveis de etanol na polpa foram muito baixos (Figura 4 b), que foram muito inferiores aos encontrados na casca, exceto para o tempo de 8 horas de exposição, quando os frutos tratados com etanol mostraram atividade de SOD ($1,08 \pm 0,22$ UA mg^{-1} proteína min^{-1}) significativamente maior do que os frutos do controle ($0,61 \pm 0,20$ UA mg^{-1} proteína min^{-1}), e isso pode ter ocorrido como resposta ao aumento da concentração de etanol na polpa após 6 horas de exposição (Figura 4 b). É provável que a casca da banana tenha sido uma barreira à difusão do etanol para a polpa do fruto.

A atividade média da APX na polpa da banana foi mais baixa do que a da CAT, sugerindo, portanto, que na polpa a CAT se mostra também como a maior responsável pela redução do H_2O_2 em H_2O e O_2 . Han et al. (2006) observaram que o tratamento com vapor de etanol manteve a qualidade pós-colheita e as atividades de CAT em brócolis durante o armazenamento, foram respectivamente 11% maiores do que nas inflorescências não tratadas. Em estudo desenvolvido por Mori et al. (2009) foi encontrado que a atividade da APX de brócolis tratados com etanol foi constante durante o armazenamento, enquanto nas inflorescências não tratadas ocorreu diminuição linear. Os resultados obtidos nesse trabalho estão de acordo com outros estudos em resposta ao estresse oxidativo pelo etanol mostrando que a indução do sistema enzimático (SOD, CAT e APX) contrabalanceou o efeito do estresse.

4.1.2 Efeitos do Etanol nas Atividades de Polifenoloxidase (PPO) e Fenilalanina amônia-liase (FAL)

Espécies reativas de oxigênio são moléculas de sinalização que estão associadas com a ativação da via de síntese dos fenilpropanoides através do estímulo da atividade da FAL, que geralmente tem relação positiva com a respiração e etileno. Os compostos fenólicos acumulam-se como consequência do estresse e da produção de radicais reativos, podendo oxidar-se através da ação da PPO, convertendo fenóis em quinonas, que se polimerizam para formar melanina (pigmento escuro), que reduz a qualidade visual de frutos (CHARLES et al., 2013). O etanol pode representar uma fonte de estresse oxidativo na banana, que pode ser avaliado monitorando as atividades de PPO e FAL, as quais foram determinadas e os resultados estão na Tabela 3.

Bananas tratadas com etanol mostraram maior atividade de PPO na casca, quando comparadas com os frutos do controle nos tempos 6,0 e 8,0 horas de exposição, pode ter havido uma resposta oxidativa da casca do fruto a um estresse causado pelo etanol, uma vez que a PPO tem a função de remover peróxidos, pois tem afinidade pelo produto da reação desencadeada pela atividade da SOD. Entretanto, esse resultado não teve associação com a produção de etileno ou taxa respiratória, que sofreram efeito do etanol (redução de seus níveis) apenas com quatro horas de exposição dos frutos (Figura 5).

Tabela 3 - Atividade de Polifenoloxidase (PPO) e Fenilalanina amônia-liase (FAL) da banana 'Prata' tratada com vapor de etanol.

		Exposição ao etanol (horas)					
		0,25	2	4	6	8	10
		Casca da Banana					
PPO	Etanol	158,10±24,63	75,56±11,31	121,20±24,76	160,97±30,72	172,80±36,00	90,42±7,71
	Controle	68,59±12,69	75,54±11,81	116,55±20,46	45,02±6,54	104,85±8,26	132,53±7,69
		*	ns	ns	*	*	*
FAL	Etanol	72,39±3,22	52,42±1,27	74,48±3,17	29,45±1,31	45,73±1,77	83,28±1,43
	Controle	65,15±2,90	63,27±1,54	57,55±2,45	65,83±2,94	80,52±3,13	91,67±1,57
		*	*	*	*	*	*
		Polpa da Banana					
PPO	Etanol	48,01±11,04	37,95±1,51	118,87±25,65	92,48±23,65	54,79±16,99	37,50±4,33
	Controle	61,62±3,68	187,88±0,00	165,85±6,34	193,13±0,42	93,77±0,07	33,99±1,01
		ns	*	*	*	*	ns
FAL	Etanol	53,33±2,91	103,04±2,51	93,10±3,96	171,69±38,64	137,65±38,72	118,91±24,1
	Controle	27,14±1,21	43,54±40,07	76,81±20,29	53,72±14,33	10,55±0,40	19,51±4,82
		ns	*	ns	*	*	*

* Significativo pelo teste F ($P<0,05$), ns não significativo pelo teste F ($P<0,05$).

PPO- (EU min⁻¹ g⁻¹ de proteína).

FAL- ug ácido transcinâmico h⁻¹ g⁻¹ peso fresco da amostra.

Danos teciduais da reação de escurecimento em cada parte da planta dependem do tipo de tecido vegetal. Estudos desenvolvidos por Ortega-Garcia et al., (2008) mostraram que a PPO de folhas é encontrada na epiderme, parênquima e células vasculares, enquanto que no fruto é encontrado principalmente na epiderme (casca). Entretanto, na polpa das bananas ocorreu o inverso, ou seja, predominantemente a atividade da PPO foi significativamente menor na polpa dos frutos tratados com etanol (Tabela 3), sugerindo que houve menor estresse oxidativo na polpa das bananas pela ação do etanol.

A atividade de FAL na casca das bananas tratadas com etanol foi significativamente menor do que nas bananas do controle quanto elas foram expostas por 6,0, 8,0 e 10,0 horas ao etanol (Tabela 3), período no qual os frutos acumularam os níveis mais elevados de etanol na casca (Figura 4 b). Isto sugere que o vapor de etanol foi capaz de reduzir o metabolismo da rota dos fenilpropanoides, pois houve inibição significativa da FAL. Entretanto, a maior atividade da CAT encontrada na casca dos frutos tratados com etanol, entre 6 e 10 horas de exposição (Tabela 2), sugerem também uma maior atividade da FAL, contrariando os resultados na casca, uma vez que uma maior atividade da rota dos fenilpropanoides, para a biossíntese de polifenóis, ocorre através da iniciação de cascatas de fosforilação mediadas por H_2O_2 (NYATHI; BAKER, 2006). Por outro lado, na polpa houve maior atividade de FAL nos frutos tratados com etanol nos mesmos tempos de exposição (entre 6 e 10 horas). De fato, a maior atividade da CAT encontrada na polpa da banana com 4 e 6 horas de exposição ao etanol (Tabela 2) sugere um nível mais elevado de peróxidos no ambiente celular.

Em condições de estresse há indução da ativação do metabolismo dos fenilpropanoides, e os fenólicos são identificados como os compostos que apresentam alta atividade antioxidante em frutos e vegetais, sendo assim considerados como importantes agentes com capacidade antioxidante (Rice-Evans et al. 1997). Em estudo desenvolvido por Wang et al. (2015), foi observado que o tratamento com $300 \mu\text{L L}^{-1}$ de etanol foi capaz de manter mais elevada a atividade de FAL e PPO em nêspas, comparação ao controle. Nyathi e Baker (2006) relatam que o H_2O_2 pode ser responsável pela melhoria da capacidade antioxidante de frutas e ativação da expressão de genes de enzimas, tais como FAL e CHS (chalconasintase), que estão

relacionadas com a síntese e a acumulação de metabolitos secundários com capacidade antioxidante.

4.2 FISIOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BANANA 'PRATA' TRATADA COM DOSES DO ETANOL

As bananas foram tratadas com diferentes doses de vapor de etanol (4 horas de exposição) e depois foram armazenadas à temperatura ambiente. A taxa respiratória ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e a produção de etileno ($\mu\text{g C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) dos frutos foram avaliadas (Figura 6 a e 6 b). Todos os frutos tratados mostraram taxas respiratórias significativamente menores do que o controle apenas no início do armazenamento (uma hora após tratamento com etanol), mas sem efeito das doses de etanol. Entretanto, nos períodos seguintes essa mesma influência do etanol foi encontrada apenas para a dose de 50 μL no 6º dia de armazenamento, quando os frutos tratados mostraram taxa respiratória ($11,64 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) significativamente inferior aos frutos do controle ($14,14 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Figura 5 a). Isto indica que o etanol pode ter causado um efeito temporário, levando os frutos a responderem apenas no início do armazenamento. Outros autores também encontraram resultados semelhantes de redução da taxa respiratória em brócolis (ASODA et al., 2009) e uvas de mesa (ELIF et al., 2012) depois de terem sido expostos ao vapor de etanol. Entretanto, resultados discrepantes foram encontrados por Ritenour et al. (1997), quando trataram bananas com vapor de etanol (6 mL kg^{-1}) por 6 horas, e não observaram redução na produção de CO_2 . Esta discrepância pode estar relacionada com a dose de etanol utilizada, modo de aplicação, duração da aplicação ou maturidade dos frutos.

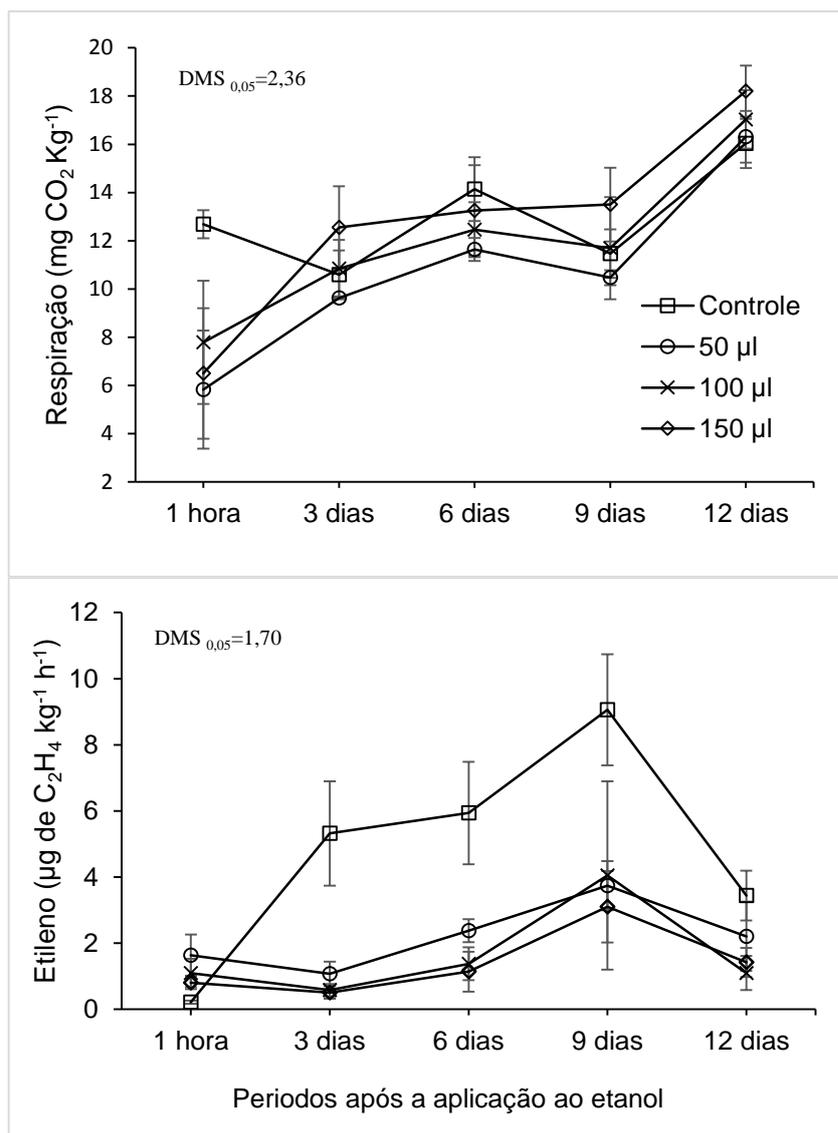


Figura 6- Taxa respiratória CO₂ (A) e etileno (B) da banana 'Prata', tratadas com diferentes doses de vapor de etanol, armazenadas em temperatura ambiente. As barras indicam o desvio padrão (n= 5).

Todos os tratamentos com etanol influenciaram produção de etileno, significativamente inferior ao controle, que aconteceu a partir do terceiro dia de armazenamento (Figura 6 b), sugerindo que houve inibição da biossíntese de etileno nas bananas, muito provavelmente devido à inibição da atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase (PESIS, 2005; ASODA et al., 2009), mas nenhuma associação desse resultado com a taxa respiratória foi observada. Esses resultados corroboram com outros autores, que observaram efeito do vapor de etanol na inibição da biossíntese de etileno e retenção da qualidade durante o armazenamento de brócolis (SUSUKI et al., 2004; ASODA et al., 2009). Por outro lado, os resultados mostram também que não houve efeito das doses de etanol, ou seja, todos foram igualmente

efetivos, exceto com 12 dias de armazenamento, quando os frutos tratados com 100 e 150 μL exibiram produção de etileno (1,10 e 1,42 μg de C_2H_4 kg^{-1} h^{-1} , respectivamente) significativamente ($p < 0,05$) menor do que os frutos do controle (3,44 μg de C_2H_4 kg^{-1} h^{-1}) (Figura 6 b). O mesmo foi observado por Jin et al., (2013), que também encontraram inibição da biossíntese da ACC e redução das atividades de ACC oxidase e ACC sintase, conduzindo à inibição da biossíntese de etileno em melões tratados com vapor de etanol. Os mesmos autores relatam que a dose de 0,5 mL kg^{-1} foi mais eficaz na retenção da qualidade durante o armazenamento de melões do que a dose de 3 mL kg^{-1} .

Os tratamentos com etanol não influenciaram a perda de massa das bananas ao longo do tempo de armazenamento (Tabela 4). Apesar de ter mostrado efeitos inibitórios sobre a biossíntese de etileno, isso não refletiu em mudanças metabólicas que influenciasse uma diminuição da perda de massa fresca dos frutos durante o armazenamento. Uma vez que a respiração não foi influenciada pelos tratamentos com etanol (Figura 6 a), os processos metabólicos do amadurecimento que, entre outros resultados, levaram ao aumento do teor de umidade dos frutos, que ocorreu independente dos tratamentos aplicados, e isso pode explicar a falta de efeito do etanol na perda de massa fresca. A influência dos processos metabólicos e da diferença de pressão de vapor entre o fruto e o ar ambiente, apresenta consequências que são as perdas de umidade, de aparência e de qualidade textural, além de seu efeito sobre a fisiologia dos tecidos vegetais que, em alguns casos, antecipa a maturação e a senescência dos frutos (CARVALHO; LIMA, 2002).

Corroborando com este estudo, Bai et al. (2011) não observaram diferença na perda de massa para frutos de cereja doce (*Prunus avium*) tratados com etanol. Entretanto, em estudo desenvolvido por Bagnato et al. (2003), com 'Banana Cavendish' tratadas por infiltração a vácuo de etanol, relataram que a perda de massa foi ligeiramente superior para os frutos não tratados.

Tabela 4 - Perda de massa fresca (%), firmeza (N), sólidos solúveis totais (°Brix), índice de cor e índice de degradação da banana 'Prata', tratadas com diferentes doses de vapor de etanol.

Variáveis Físico-químicas	Armazenamento (Dias)					
	0 (1 hora)	3	6	9	12	
Perda de massa (%)	Controle	-	6,23±0,44 a	10,18±0,62 a	18,60±0,69 a	21,57±0,69 a
	50µl	-	6,73±1,47 a	10,65±1,54 a	19,35±1,75 a	22,36±3,58 a
	100 µl	-	6,71±0,26 a	10,97±0,50 a	19,85±0,93 a	23,21±1,28 a
	150 µl	-	6,04±0,59 a	9,83±1,07 a	18,37±1,99 a	21,63±2,20 a
Firmeza (N)	Controle	64,72±2,02 a	50,94±2,19 a	45,89±3,79 a	41,56±3,34 a	30,22±6,69 b
	50µl	65,06±1,76 a	53,72±5,76 a	50,44±3,02 a	44,72±4,51 a	40,78±4,52 a
	100 µl	65,06±1,76 a	51,89±4,76 a	49,22±3,39 a	48,56±8,32 a	44,11±5,71 a
	150 µl	65,11±1,76 a	54,22±6,19 a	50,10±8,62 a	44,56±2,73 a	41,73±6,48 a
Sólidos solúveis totais (°Brix)	Controle	11,67±0,71 a	12,89±1,54 a	19,56±1,01 a	19,78±0,83 a	18,89±0,93 ab
	50µl	11,89±0,78 a	14,22±2,11 a	18,22±1,39 a	18,11±1,17 b	18,67±1,00 ab
	100 µl	11,89±0,60 a	14,22±1,56 a	18,67±1,32 a	17,89±0,78 b	18,11±1,54 b
	150 µl	12,00±0,71 a	13,78±1,72 a	18,78±1,48 a	21,11±1,05 a	19,56±0,73 a
Índice de coloração*	Controle	2,00 a	5,00 a	6,00 a	7,00 a	7,00 a
	50µl	2,00 a	4,00 a	5,00 a	6,00 a	7,00 a
	100 µl	2,00 a	4,00 a	5,00 a	6,00 a	7,00 a
	150 µl	2,00 a	4,00 a	5,00 a	6,00 a	7,00 a
	<i>P</i>	>0,999	0,264	0,156	0,156	>0,999
Índice de degradação*	Controle	1,00 a	4,00 a	8,00 a	16,00 a	32,00 a
	50µl	1,00 a	4,00 a	4,00 a	9,33 a	32,00 a
	100 µl	1,00 a	4,00 a	4,00 a	8,00 a	26,70 a
	150 µl	1,00 a	4,00 a	4,00 a	8,00 a	26,70 a
	<i>P</i>	>0,999	>0,999	0,159	0,216	0,078

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

* Medianas seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade. Em que: P (probabilidade de significância).

Índice de coloração utilizado a Escala de Von Loesecke, com adaptações: 1- Totalmente verde; 2- Verde com traços amarelos; 3- Mais verde do que amarelo; 4- Mais amarelo do que verde; 5- Amarelo com ponta verde; 6- Totalmente amarelo; 7- Totalmente amarelo com áreas marrons, de acordo com (Castricini et al. 2015).

Índice de degradação: 0,5- (2 manchas escuras pequenas); 1- (2 manchas escuras médias); 2- (2 manchas escuras grandes); 4- (4 manchas escuras médias); 8 (4 manchas escuras grandes); 16 (6 manchas escuras médias); 32 (6 manchas escuras grandes); 64 (75% com manchas escuras), de acordo com Moraes et al. (2008).

Efeito significativo do etanol sobre a firmeza dos frutos foi encontrado apenas com 12 dias de armazenamento, quando os frutos tratados mostraram firmeza inferior aos frutos do controle (Tabela 4), mas não foram observados efeitos das doses de etanol. Algum efeito mais evidente do etanol sobre a firmeza da banana era esperado, uma vez que os tratamentos mostraram inibição da síntese do etileno nos frutos (Figura 6 b). Entretanto, por esse resultado, é mais provável inferir que não houve efeito do etanol sobre a firmeza, pois nos períodos anteriores foram encontradas apenas diferenças não significativas. Mudanças na firmeza da polpa de frutos estão normalmente relacionadas com a ação do etileno e com a taxa respiratória, pois o

etileno induz síntese e atividade de enzimas ligadas a degradação de paredes celulares, como poligalacturonase, pectinametilesterase, β -galactosidase (PRASANNA; PRABHA; THARANATHAN, 2007; PAYASI et al., 2009), as quais contribuem para a diminuição da firmeza da polpa de frutos. Pesis (2005) relatou que o tratamento com etanol pode manter a firmeza de variedades de frutos climatéricos e não-climatéricos. Outros autores encontraram retenção da firmeza dos frutos tratados com etanol em pêssigo e nectarina (LURIE; PESIS, 1992), abacate (PESIS et al., 1998; RITENOUR et al., 1997) e cereja doce (BAI et al., 2011).

Os tratamentos com vapor de etanol não influenciaram os teores de sólidos solúveis nos tempos 0, 3 e 6 dias de armazenamento (Tabela 4), entretanto, no 9º dia os teores de sólidos solúveis dos frutos tratados com as doses de 50 e 100 μ L ($18,11 \pm 1,17$ e $17,89 \pm 0,78$ °Brix, respectivamente) foram significativamente inferiores ao controle ($19,78 \pm 0,83$ °Brix), mas é provável que essas diferenças tenham sido influenciadas por variabilidade amostral, já que não foram encontradas diferenças significativas entre essas doses e o controle para a taxa respiratória e produção de etileno (Figura 6 a e 6 b). Esses resultados mostram que o etanol, provavelmente, não tenha interferido no metabolismo de açúcares da banana, que teve aumentos, durante o armazenamento, da ordem de 64%, e isso era esperado em decorrência da hidrólise do amido em glicose e frutose (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O aumento do teor de sólidos solúveis, juntamente com a mudança de cor da casca, são alterações de ordem fisiológica marcantes deste fruto (HOFFMANN SARDA et al., 2016).

No 3º, 6º e 9º dias de armazenamento, os frutos tratados mostraram índices de coloração da casca inferiores ao controle, mas não diferiram significativamente ($p < 0,05$) do tratamento controle (Tabela 4), sugerindo uma possível associação desse resultado com o etileno, mas não diretamente com a taxa respiratória, que não foi influenciada pelo etanol (Figura 6). Entretanto, a literatura mostra que as variações na coloração da casca da banana, ocorridas durante o amadurecimento dos frutos, tem uma relação direta com o metabolismo respiratório (PRILL et al., 2012), mas esses resultados indicam que o etileno pode ser um fator preponderante na indução de rotas metabólicas relacionadas ao desverdecimento da casca da banana. Segundo Silva et al. (2006), durante o amadurecimento de bananas, a degradação da coloração verde é intensa, ficando visível a preexistência dos pigmentos carotenoides, de coloração

amarelada a alaranjada. Ainda, de acordo com os resultados, há indícios de que não houve efeito das doses de etanol na cor da casca das bananas.

A aplicação do vapor de etanol não influenciou o índice de degradação dos frutos nos tempos 0 e 3 dias de armazenamento (Tabela 4), mas a partir do 6º dia os frutos tratados mostraram índices mais baixos do que nos frutos do controle, ou seja, no 6º, 9º e 12º dias os frutos tratados com as doses de 50, 100 e 150 µL mostraram índices de degradação inferiores aos frutos controles, mas não diferiram significativamente ($p < 0,05$) do tratamento controle (Tabela 4). Autores relataram que o etanol é considerado um composto que pode ter efeito sobre o retardamento da incidência de podridões em vários frutos como pêssegos e uva de mesa (KARABULUT et al., 2003; ROMANAZZI et al., 2007), e por ser um composto natural e seguro, pode ser usado em frutas no período pós-colheita (PESIS, 2005).

Analisando-se, em conjunto, os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se observar que o vapor de etanol demonstrou potencial de utilização na conservação da banana 'Prata'. Para pesquisas posteriores, indica-se o estudo das enzimas precursoras do etileno ACC sintase e ACC oxidase e expressão dos genes *BO-ACO1*, *BO-ACO2* e *BO-ACS1*, que codificam a biossíntese de etileno.

5 CONCLUSÕES

O etanol diminuiu a produção de etileno e a taxa respiratória da banana 'Prata', mas isso aconteceu apenas com quatro horas de exposição do fruto ao etanol, que coincidiu com o pico de sua máxima absorção.

O tratamento com etanol induziu aumentos da atividade de SOD e CAT da casca dos frutos nas duas primeiras horas de exposição ao gás, mas causou redução da APX.

Durante o armazenamento, o etanol inibiu a produção de etileno da banana, mas não houve efeito das doses. O etanol influenciou mudanças na coloração e reduziu os índices de degradação do fruto. Este estudo mostrou que o etanol foi capaz de inibir a produção de etileno e pode proporcionar atraso na senescência, com consequente aumento da conservação da banana 'Prata'.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, L., GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 377, p. 2039–2055, 2002.
- ARORA, A.; SAIRAM, R.K.; SRIVASTAVA, G.C. Oxidative stress and antioxidant system in plants. **Current Science**, v. 82, n. 10, p. 1227-1238, 2002.
- ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiology**, v.141, n. 2, p. 391-396, 2006.
- ASODA, T. et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, n. 2, p. 216-220, 2009.
- BAI, J. et al. Ethanol vapor and saprophytic yeast treatments reduce decay and maintain quality of intact and fresh-cut sweet cherries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, n. 2, p. 204–212, 2011.
- BAI, J., HAGENMAIER, R. D., BALDWIN, E. A. Coating selection for ‘Delicious’ and other apples. **Postharvest Biology and Technology**. v. 28, n. 3, p. 381-390, 2003.
- BAI, J. et al. Effect of pretreatment of intact ‘Gala’ apple with ethanol vapor, heat, or 1-methylcyclopropene on quality and shelf life of fresh-cut slices. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.129, n. 4, p. 583-593, 2004.
- BAGNATO, N. et al. Effect of ethanol vacuum infiltration on the ripening of ‘Cavendish bananas’ cv. Williams. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, n. 3, p. 337-340, 2003.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.
- BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, p.453–460, 2014.
- BARRY, C. S.; LLOP-TOUS, M. I.; GRIERSON, D. The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during the transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato. **Plant Physiology**, v. 123, n. 3, p. 979-986, 2000.
- BEAULIEU, J. C., SALTVEIT, M.E. Inhibition or promotion of tomato fruit ripening by acetaldehyde and ethanol is concentration-dependent and varies with initial fruit maturity. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v. 122, n. 3, p. 392-398, 1997.

BHATT, I.; TRIPATHI, B. N. Plant peroxiredoxins: catalytic mechanisms, functional significance and future perspectives. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 850 – 859, 2011.

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**, v.72, n. 1, p. 248–254, 1976.

BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; ZAMBIAZI, R. C.; NOGUEIRA, D.; PINTO, E. M.; PAIVA, F. F. Conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e óleo essencial de sálvia. **Biosci. J.**, v. 29, n. 5, p. 1071-1083, 2013.

BOTTCHER, A. et al. Antioxidative responses of cell suspension cultures of two *Coffea arabica* varieties to low aluminum levels at pH 5.8. **Hoehnea**, v. 39, n. 1, p. 01–10, 2012.

BOTREL, N. et al. Efeito da "mancha-chocolate" nas características físico-químicas e químicas de frutos de abacaxizeiro-'Pérola'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 77-81, 2002.

BURDON, J. et al. Acetaldehyde inhibition of ethylene biosynthesis in mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 8, n. 2, p.153-161, 1996.

BLOKHINA, O., VIROLAINEN, E., FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v. 91, n. 1, p.179-194, 2003.

BLEECKER, A. B.; KENDE, H. Ethylene: A Gaseous Signal Molecule in Plants. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 16, n. 1, p. 1–18, 2000.

BENDER, R. J.; PEZZI, E.; LEÃO, M. L.; CASALI, M. E. Armazenagem de morangos cv. Camarosa e cv. Verão em atmosfera Modificada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 285-292, 2010.

CABISCOL, E.; TAMARIT, J.; ROS, J. Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species. **International Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 3-8, 2000.

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

CAMPOS, R. P; KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. Post-harvest conservation of organic strawberries coated with cassava starch and chitosan. **Revista Ceres**, v.58, n.5, p. 554-560, 2011.

CAMPOS, R. P.; VALENTE, J. P.; PEREIRA, W. E. Conservação pós-colheita de banana cv. nanicão climatizada e comercializada em Cuiabá - MT e região. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p.172–174, 2003.

CARVALHO, A.V., LIMA, L.C.O. Qualidade de kiwis minimamente processados e submetidos a tratamento com ácido ascórbico, ácido cítrico e cloreto de cálcio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 679-685, 2002.

CASTRICINI, A. et al. Caracterização pós-colheita e sensorial de genótipos de bananeiras tipo prata. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p. 27–37, 2015.

CASTRO, P. R.C.; KLUGE, R. A.; PERES, L.E.P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 2005. 650 p.

CERQUEIRA, T. S. **Fisiologia, bioquímica e conservação de bananas e goiabas sob altas concentrações de O₂ combinadas com CO₂ e N₂O**. 2012. 128 p. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, 2012.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras, UFLA, 2005, p. 338-345.

CHANJIRAKUL, K. et al. Effect of natural volatile compounds on antioxidant capacity and antioxidant enzymes in raspberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 40, n. 2, p.106–115, 2006.

CHARLES, F. et al. Pulsed light treatment as new method to maintain physical and nutritional quality of fresh-cut mangoes. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.18, n. 1, p. 190–195, 2013.

CHERVIN, C. et al. Ethanol vapours to complement or suppress sulfite fumigation of table grapes. **Acta Horticulturae**, v. 628, n. 1, p. 779–784, 2003.

CUNHA NETO, J. et al. Caracterização agronômica e potencial antioxidante de frutos de clones de aceroleira. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p.713-721, 2012.

DAO, T., DANTIGNY, P. Control of food spoilage fungi by ethanol. **Food Control**, v. 22, n. 3, p.360–368, 2011.

De GARA, L. Class III peroxidases and ascorbate metabolism in plants. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, n.1-2, p.195-205, 2004.

DINAKAR, C. et al. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v.182, n. 1, p. 29-41, 2012.

DABROWSKA, G. et al. Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 49, n. 1, p. 7-17, 2007.

ELIF, C. et al. Modified atmosphere packaging and ethanol vapor to control decay of 'Red Globe' table grapes during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 63, n. 1, p. 98–106, 2012.

EL-SHORA, H. M. Properties of phenylalanine ammonia-lyase from marrow cotyledons. **Plant Science**, v. 162, n. 1, p. 1-7, 2002.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência & Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FLORES, A. V. et al. Atividade enzimática durante a germinação de sementes de *Melanoxylon brauna* Schott sob diferentes temperaturas. **Cerne**, v. 20, n. 3, p. 401-408, 2014.

GEORGIEVA, N. V. Oxidative stress as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems – a review. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2005.

GIANNOPOLITIS, C.N., RIES, S.K. Superóxido dismutases. I. occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GILL, S. S., TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GOMES-JUNIOR, R.A. et al. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, v.65, n. 8, p.1330-1337, 2006.

GONZALEZ-AGUILAR, G. A. et al. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 10, p. 475–482, 2010.

HALLWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231- 255, 2004.

HAN, J. et al. Physiology and quality responses of fresh-cut broccoli florets pretreated with ethanol vapor. **Journal of Food Science**, v.71, n.5, p.385-389, 2006.

HODGES, D. M. et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, v. 207, n. 4, p. 604- 611, 1999.

HODGES, M.D. et al. Oxidative stress: importance for postharvest quality. **Hortscience**, v. 39, n. 5, p. 924-929, 2004.

HOFFMANN SARDÁ, F. A. et al. Identification of carbohydrate parameters in commercial unripe banana flour. **Food Research International**. v. 81, n.1, p. 203-209, 2016.

HOSSAIN, S. A. B. M.; BOYCE, A. N.; OSMAN, N. Postharvest quality, vase life and photosynthetic yield (*Chlorophyll fluorescence*) of bougainvillea flower by applying ethanol. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v.1, n.4, p. 733–740, 2007.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema. IBGE disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 16 de outubro de 2016.

JIN, Y. Z. et al. Ethanol vapor treatment maintains postharvest storage quality and inhibits internal ethylene biosynthesis during storage of oriental sweet melons. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, n.1, p. 372-380, 2013.

KARABULUT, O. A. et al. Near-harvest applications of *Metschnikowia fructicola*, ethanol, and sodium bicarbonate to control postharvest diseases of grape in central California. **Plant Diseases**, v.87, n. 11, p. 1384-1389, 2003.

LICHTER, A. et al. Ethanol controls postharvest decay of table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, n. 3, p.301–308, 2002.

LI, Y. et al. Changes of reactive oxygen species and scavenging enzymes of persimmon fruit treated with CO₂ deastringency and the effect of hydroxyl radicals on breakdown of cell wall polysaccharides in vitro. **Scientia Horticulturae**, v.199, n. 1, p. 81–87, 2016.

LI, Z.; GEMMA, H.; IWAHORI, S. Stimulation of ‘Fuji’ apple skin color by ethephon and phosphorus-calcium mixed compounds in relation to flavonoid synthesis. **Scientia Horticulturae**, v. 94, n.1-2, p. 193-199, 2002.

LIU, W.W. et al. Ethanol treatment inhibits internal ethylene concentrations and enhances ethyl ester production during storage of oriental sweet melons (*Cucumis melo* var. makuwa Makino). **Postharvest Biology and Technology**, v.67, n.1, p.75–83, 2012.

LIMA SÁ, C. R. et al. Métodos de controle do etileno na qualidade e conservação pós-colheita de frutas. **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 36, 2008.

LURIE, S.; PESIS, E. Effect of acetaldehyde and anaerobiosis as postharvest treatments on the quality of peaches and nectarines. **Postharvest Biology and Technology**, v. 1, n. 4, p.317–326, 1992.

MARGOSAN, D. A. et al. Combination of hot water and ethanol to control postharvest decay of peaches and nectarines. **Plant Disease**, v. 81, n. 12, p. 1405- 1409, 1997.

MALLICK, N.; MOHN, F.H. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n. 2, p. 183-193, 2000.

MDLULI, K.M. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase and peroxidase from marula fruit (*Sclerocarya birrea* subsp. Caffra). **Food Chemistry**, v.92, n.1, p.311-323, 2005.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 407-410, 2002.

MLIKOTA GABLER, F., SMILANICK, J. L. Postharvest control of table grape gray mold on detached berries with carbonate and bicarbonate salts and disinfectants. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 52, n.1, p.12–20, 2001.

MONDAL, K. et al. Antioxidant systems in ripening tomato fruits. **Biologia Plantarum**, v. 48, n. 1, p. 49-53, 2004.

MORAES, W.S., ZAMBOLIM, L., LIMA, J.D. Quimioterapia de banana 'Prata anã' no controle de podridões em pós-colheita. **Arquivos Instituto Biológico**, v. 75, n. 1, p. 79-84, 2008.

MORI, T. et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on the ascorbate-glutathione cycle in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, n.1, p.134-136, 2009.

NASCIMENTO JUNIOR, B. B. et al. Diferenças entre bananas de cultivares Prata e Nanicão ao longo do amadurecimento: características físico-químicas e compostos voláteis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.3, p.649–658, 2008.

NGUYEN, T. Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, n. 2, p. 187–193, 2003.

NYATHI, Y., BAKER, A. Plant peroxisomes as a source of signalling molecules. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1793, n. 12, p. 1478-1495, 2006.

ORTEGA-GARCÍA, F. S. et al. Polyphenol oxidase and its relationship with oleuropein concentration in fruits and leaves of olive (*Olea europaea*) cv. Picual trees during fruit ripening. **Tree Physiology**, v. 28, n. 1, p. 45-54, 2008.

PAYASI, A. et al. Biochemistry of fruit softening: an overview. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.15, n. 2, p. 103-113, 2009.

PESIS, E. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v.37, n.1, p.1–19, 2005.

PESIS, E.; MARINANSKY, R. Carbon dioxide and ethylene production in response to acetaldehyde and ethanol treatments in grapes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.117, n.1, p.110-113, 1992.

PESIS, E., FAIMAN, D., DORI, S. Postharvest effects of acetaldehyde vapour on ripening-related enzyme activity in avocado fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 13, n. 3, p. 245–253, 1998.

PEIXOTO, H.P.P. et al. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 1, p. 137-43, 1999.

PINTO, J. A. V. **Amadurecimento de caqui 'fuyu' em função da exposição ao frio, atmosfera controlada e 1-mcp.** 2009. 79p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

PLOTTO, A. et al. Effect of pretreatment of intact 'Kent' and 'Tommy Atkins' mangoes with ethanol vapor, heat or 1-methylcyclopropene on quality and shelf life of fresh-cut slices. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 116, n. 1, p. 394–400, 2003.

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

PRILL, M. A. S. et al. Atmosfera modificada e controle de etileno para bananas 'Prata-Anã' cultivadas na Amazônia Setentrional Brasileira. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 990-1003, 2012.

RESENDE, E. C. O. **Enzimas antioxidantes em frutos com diferentes padrões de amadurecimento.** 2010. 67 p., Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical). Instituto Agrônomo, 2010.

PODD, L. A., VAN STADEN, J. Is acetaldehyde the causal agent in the retardation of carnation flower senescence by ethanol. **Plant Growth Regulation**, v.26, n. 3, p.183-189, 1998.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biol. Med.** v. 20, n.7, p. 933-956, 1997.

RITENOUR, M. A. et al. Ethanol effects on the ripening of climacteric fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 12, n.1, p.35-42, 1997.

RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Grandes culturas: café. **Revista cultivar Grandes Culturas**, v.30, p.32-34, 2001.

ROMANAZZI, G.; KARABULUT, O. A.; SMILANICK, J. L. Combination of chitosan and ethanol to control postharvest gray mold of table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, n.1, p. 134-140, 2007.

ROMANAZZI, G.; FELIZIANI, E., SANTINI, M.; LANDI, L. Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 75, p.24–27, 2013.

ROGIERS, S. Y.; KUMAR, G. N. M.; KNOWLES, N. R. Maturation and ripening of fruit of *Amelanchier alnifolia* Nutt. are accompanied by increasing oxidative stress. **Annals of Botany**, v. 81, n. 2, p. 203-211, 1998.

SALTVEIT, M.E. Effect of alcohols and their interaction with ethylene on the ripening of epidermal pericarp discs of tomato fruit. **Plant Physiology**, v.90, n. 1, p. 167-174, 1989.

SANAEIFAR, A., BAKHSHIPOUR, A., DE LA GUARDIA, M. Prediction of banana quality indices from color features using support vector regression. **Talanta**, v.148, n.1, p.54–61, 2016.

SEAB, Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento <http://www.agricultura.pr.gov.br/>: Acesso em 16/10/2016.

SENHOR, R. F. et al. Controle através de bloqueadores de etileno. **Revista Verde**, v.4, n.2, p. 15- 22, 2009.

SCANDALIOS, J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v.2012, n.1, p.1-26, 2012.

SILVA, C. S. et al. Amadurecimento da banana-prata climatizada em diferentes dias após a colheita. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.1, p.103–111, 2006.

SOLIVA-FORTUNY, R. C.; MARTÍN-BELLOSO, O., 2003. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v.14, 341–353, 2003.

SOLTANI, M., ALIMARDANI, R., OMID, M. Evaluating banana ripening status from measuring dielectric properties. **Journal of Food Engineering**, v.105, n.4, p.625–631, 2011.

SUZUKI, Y.; UJI, T.; TERAJ, H. Inhibition of senescence in broccoli florets with ethanol vapor from alcohol powder. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31, n. 2, p.177–182, 2004.

SUZUKI, Y. et al. Ultrastructural evidence for the inhibition of chloroplast-to-chromoplast conversion in broccoli floret sepals by ethanol vapor. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, n. 3, p. 237–243, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3ed. ARTMED, Porto Alegre, p.719, 2004.

TREVISAN, M. J. **Efeito da aplicação de 1-metilciclopropeno e etileno na fisiologia e no amadurecimento de mamões “Golden”**. 2012. 116 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola superior de agricultura ‘Luis de Queiroz’, Piracicaba, 2012.

TZORTZAKIS, N. G. Ethanol, vinegar and Origanum vulgare oil vapour suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v.142, n.1, p.14–18, 2010.

UEDA, Y., BAI, J. Effect of short term exposure of elevated CO₂ on flesh firmness and ester production of strawberry. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**. v. 62, n. 1, p. 457–464, 1993.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, v. 34, n.1, p. 68-71, 2006.

USTUN, U. et al. Effects of modified atmosphere packaging and ethanol vapor treatment on the chemical composition of 'Red Globe' table grapes during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.68, n. 1, p.8-15, 2012.

VALDERRAMA, P.; MARANGONI, F.; CLEMENTE, E. Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em maçã (*Mallus comunis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.3, p.321-325, 2001.

VIECELLI, C. A. et al. Indução de resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.1, p. 73-80, 2010.

VILAS BOAS, E. V. B. **Frutos climatéricos e não climatéricos: implicações na pós-colheita**. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 2, 2002, Lavras, Anais... Lavras: UFLA, 2002b. p. 9-23.

VIVIANI, L.; LEAL, P. M. Qualidade pós-colheita de banana prata anã armazenada sob diferentes condições. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 465-470, 2007.

YANG, S. F.; HOFFMAN, N.E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 35, n. 1, p. 155-189, 1984.

YOKOTANI, N. et al. Ripening-associated ethylene biosynthesis in tomato fruit is autocatalytically and developmentally regulated. **Journal of Experimental Botany**, v.60, n. 12, p. 3433-3442, 2009.

WANG, Q.; NIE, X.; CANTWELL, M. Hot water and ethanol treatments can effectively inhibit the discoloration of fresh-cut sunchoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. **Postharvest Biology and Technology**, v. 94, n. 1, p. 49–57, 2014.

WANG, K. et al. Effect of ethanol treatment on disease resistance against anthracnose rot in postharvest loquat fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 188, n. 4, p. 115–121, 2015.

WANG, K.T. et al. Improved control of postharvest decay in Chinese bayberries by a combination treatment of ethanol vapor with hot air. **Food Control**, v. 22, n. 1, p. 82–87, 2011.

WEBER, A. et al. Ethanol reduces ripening of 'Royal Gala' apples stored in controlled atmosphere. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 88, n. 1, p. 403-410, 2016.