

RESPIRAÇÃO MITOCONDRIAL E MUDANÇAS FÍSICAS E  
QUÍMICAS NA PÓS-COLHEITA DE GOIABAS 'PALUMA' E  
'CORTIBEL'

**DIEDERSON BORTOLINI SANTANA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2015

RESPIRAÇÃO MITOCONDRIAL E MUDANÇAS FÍSICAS E  
QUÍMICAS NA PÓS-COLHEITA DE GOIABAS 'PALUMA' E  
'CORTIBEL'

**DIEDERSON BORTOLINI SANTANA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Professor Jurandi Gonçalves de Oliveira.  
Co-orientador: Luis Miguel Mazorra Morales.

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2015

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 157/2015

Santana, Diederson Bortolini

Respiração mitocondrial e mudanças físicas e químicas na pós-colheita de goiabas 'Paluma' e 'Cortibel' / Diederson Bortolini Santana. – 2015.

99 f. : il.

Orientador: Jurandi Gonçalves de Oliveira

Dissertação (Mestrado - Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2015.

Bibliografia: f. 66 – 82.

1. Mitocôndria 2. Respiração 3. Amadurecimento 4. Pós-colheita 5. Goiaba I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD–  
664.8

RESPIRAÇÃO MITOCONDRIAL E MUDANÇAS FÍSICAS E  
QUÍMICAS NA PÓS-COLHEITA DE GOIABAS 'PALUMA' E  
'CORTIBEL'

**DIEDERSON BORTOLINI SANTANA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 30 de Março de 2015

Comissão Examinadora:

---

Ricardo Enrique Bressan-Smith (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF

---

Marcos José de Oliveira Fonseca (D.Sc., Produção Vegetal) – EMBRAPA/CTAA

---

Luis Miguel Mazorra Morales (D.Sc., Bioquímica) – UENF  
Co-orientador

---

Jurandi Gonçalves de Oliveira (D.Sc., Biologia Vegetal) - UENF  
Orientador

## **Dedico**

A Adão, Marta e Diesther.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), pela infraestrutura, oportunidade de cursar o mestrado e concessão de bolsa, categoria UENF;

Aos brilhantes professores de cada uma das disciplinas cursadas, meu muito obrigado!

Ao meu orientador, Prof. Jurandi Gonçalves de Oliveira, pelo ensino, pela dedicação, pela paciência e pela confiança;

Aos meus pais Adão e Marta e à minha Irmã Diesther por todo apoio e por estarem comigo em todo tempo, por amar e me conduzir até agora;

Ao Prof. Cláudio Luiz Melo de Souza, por dispor seu tempo em me ajudar com as análises estatísticas;

Ao José Altino Machado Filho pelo incentivo prestado desde a graduação;

A Weslei de Souza Carvalho por enfrentar tudo comigo sem desanimar, essa conquista também pertence a ele!

Ao senhor Paulo César, agradeço pelo fornecimento dos frutos durante o desenvolvimento do trabalho;

A Clívia da Conceição Mar, que me ensina e ajuda muito mais do que imagina;

Ao Luis Miguel Mazorra Moralles, meu co-orientador, agradeço muito mais do que pelas horas de trabalho e ajuda teórica e prática, mas também pela amizade;

Ao André Vicente de Oliveira e à sua esposa Thaynã Amanda, pela incrível disposição em me ajudar sempre que precisei, além da amizade e do companheirismo;

A Gláucia Michele Cosme Silva pelo empenho, pela dedicação e pelo compromisso durante todas as fases do desenvolvimento deste trabalho;

Ao Felipe Marins e Emanuel Lousada, pelo apoio em todas as atividades desenvolvidas e a dedicação que tiveram para com o trabalho;

Ao primo Willian Batista Silva, por toda ajuda que prestou enquanto estive no laboratório e por mais distante que estivesse, continuou a contribuir e a se interessar pelo trabalho;

A Lígia Renata Almeida da Silva, pela contribuição que ofereceu na fase de protocolo das análises;

Aos meus queridos Marcos Cassoli, Juliete Penedo e Laila Mourad. Por mais que vocês estejam longe fisicamente, não sabem o quanto o simples fato de existirem me ajuda em tudo o que faço;

Profa. Elyzabeth Silva pela ajuda sempre prontamente disponível e também por sua amizade;

Ao Fábio Barros pelo companheirismo, pela amizade e pela ajuda no dia a dia do laboratório;

A Taiane Pires, vizinha amável, que nunca negou sua ajuda nos assuntos acadêmicos ou não, sempre que necessitei;

Agradeço a todos que de alguma forma e em qualquer momento tenham contribuído para a realização deste trabalho. A ausência de qualquer um de vocês impossibilitaria minha conclusão do mestrado.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1-MCP - 1-Metilciclopropeno

a\* - Coordenada de cromaticidade a do epicarpo

AA - Ácido ascórbico

ACC - Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico

ACO - ACC oxidase

ACS - ACC sintase

ADP - Adenosina Difosfato

ANOVA - Análise de variância

AOX - Alternativa oxidase

AT - Acidez titulável

ATP - Adenosina trifosfato

Azida - Potássio de azida

b\* - Coordenada de cromaticidade b do epicarpo

BSA - Albumina de soro bovino

C\* - Cromo do epicarpo

COX - Citocromo c oxidase

CR - Controle respiratório

CTE - Cadeia transportadora de elétrons

DIC - Delineamento inteiramente casualizado

EDTA - Ácido tetracético etilenodiamina

ERO - Espécie reativa de oxigênio

F - Teste de Fisher

FF - Firmeza do pericarpo

GL - L-galactono-1,4-lactona

GLDH - L-galactono-1,4-lactona desidrogenase

*Hue* - Ângulo de cor Hue

L\* - Luminosidade do epicarpo

MOPS - Ácido 4-morfolinopropanesulfônico

NADH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo forma reduzida

NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato forma reduzida

NO - Óxido nítrico  
n-PG - n-propil galato  
PG - Poligalacturonase  
Pi - Fosfato inorgânico  
PM - Perda de massa  
PME - Pectinametilesterase  
PVP - Polivinilpirrolidona  
*Ratio* - Relação sólidos solúveis e acidez titulável  
RESID - Respiração residual  
RESP - Respiração total  
SAM - S-adenosil L-metionina  
SHAM - Ácido salicilhidroxâmico  
SS - Sólidos solúveis  
UcP - Proteína desacopladora em mitocôndrias de plantas  
UQ - Ubiquinona  
UR - Umidade relativa

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Imagens dos aspectos visuais dos frutos 'Paluma' e 'Cortibel' armazenados a  $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $85\%\pm 5\%$  durante 6 dias após a colheita. Abaixo das imagens a figura mostra as médias ( $\pm$  EP) do ângulo de cor hue (*Hue*, em  $^{\circ}\text{h}$ ) e da firmeza do pericarpo (FF) em cada dia de avaliação.....35
- Figura 2:** Médias de cromaticidade  $a^*$  do epicarpo de goiabas 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP). .....37
- Figura 3:** Médias de cromaticidade  $b^*$  e croma ( $C^*$ ) do epicarpo de goiabas 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP). .....39
- Figura 4:** Médias de luminosidade da casca ( $L^*$ ) de frutos de goiaba 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP). .....39
- Figura 5:** Médias de cor hue (*Hue*, em  $^{\circ}\text{h}$ ) da casca da goiaba 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP). .....40
- Figura 6:** Médias da perda de massa fresca (PM, em %) em goiabas 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP). .....43
- Figura 7:** Médias de ácido ascórbico (AA, em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  MF) em 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP). .....48
- Figura 8:** Médias de respiração total ( $\text{nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ ) da 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP). .....53

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Resumo da ANOVA para os parâmetros de cor: índices de cromaticidade  $a^*$  e  $b^*$ , croma ( $C^*$ ), luminosidade ( $L^*$ ) e ângulo de cor *hue* (*Hue*, em °h) e coeficiente de variação (C.V., em %) em frutos de goiabeira ‘Cortibel’ e ‘Paluma’.....36
- Tabela 2.** Resumo da ANOVA para os atributos físicos e químicos: perda de massa fresca (PM, em %), firmeza do pericarpo (FF, em N), teor de sólidos solúveis (SS, em °Brix), teor de ácido ascórbico (AA, em mg AA 100g<sup>-1</sup> MF), acidez titulável (AT, em % de ácido cítrico) e razão SS/AT (*Ratio*) e coeficiente de variação (C.V., em %) em frutos de goiabeira ‘Cortibel’ e ‘Paluma’ durante 6 dias após a colheita.....42
- Tabela 3.** Médias ( $\pm$  EP) para os parâmetros físicos e químicos: firmeza do pericarpo (FF, em N), acidez titulável (AT, em % de ácido cítrico), teor de sólidos solúveis (SS) e razão SS/AT (*Ratio*).....45
- Tabela 4.** Resumo da ANOVA para a respiração total (RESP, em nmol O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup>), participação da citocromo c oxidase (%COX), participação da oxidase alternativa (%AOX), respiração residual (RESID, em %) e coeficiente de variação (C.V., em %) em mitocôndrias isoladas de polpa de goiaba ‘Cortibel’ e ‘Paluma’ durante 6 dias após a colheita.....52
- Tabela 5.** Médias ( $\pm$  EP) para a participação da citocromo c-Oxidase (%COX), participação da oxidase alternativa (%AOX) e da respiração residual (RESID, em %)......57
- Tabela 6.** Correlação dos parâmetros relacionados à atividade respiratória em mitocôndrias isoladas e os parâmetros físicos e químicos entre os parâmetros de cor e também entre os próprios parâmetros físicos e químicos das goiabas

Paluma'	e
'Cortibel'.....	61

## SUMÁRIO

RESUMO .....	xiii
ABSTRACT .....	xv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2. 1. Produção, perdas pós-colheita e conservação .....	4
2. 2. Fisiologia do amadurecimento .....	7
2. 2. 1. Transformações físicas e químicas durante o amadurecimento.....	7
2. 2. 2. Padrão respiratório e sua relação com o amadurecimento .....	11
2.2.2.1. Etileno e sua importância para o amadurecimento .....	15
2. 3. Respiração em mitocôndrias isoladas de tecido vegetal .....	16
3. OBJETIVOS .....	25
3.1. Objetivo geral.....	25
3. 2. Objetivos específicos .....	25
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4. 1. Material vegetal e aspectos do armazenamento dos frutos.....	26
4. 2. Avaliação das características físicas .....	27
4. 2. 1. Coloração do epicarpo.....	27
4. 2. 2. Perda de massa.....	27
4. 2. 3. Perda de firmeza e mudanças na textura .....	28
4. 3. Avaliação das características químicas .....	28

4. 3. 1. Acidez titulável.....	28
4. 3. 2. Teor de ácido ascórbico .....	29
4. 3. 3. Determinação do teor dos sólidos solúveis .....	29
4. 4. Ratio .....	30
4. 5. Isolamento de mitocôndrias .....	30
4. 6. Determinação da quantidade de proteínas .....	31
4. 7. Determinação da atividade respiratória .....	31
4. 8. Delineamento experimental e análise dos dados.....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
5.1. Atributos físicos e químicos .....	33
5.2. Atividade respiratória .....	50
4. 7. 1. Determinação da integridade de membrana.....	59
5.3. Correlação de Pearson .....	60
6. CONCLUSÕES .....	65
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	66

## RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar as transformações físico-químicas de frutos de goiaba relacionando-as ao processo respiratório através do isolamento de mitocôndrias da polpa. Foram utilizadas goiabas 'Paluma' e 'Cortibel' coletadas na região norte do estado do Rio de Janeiro no município de Bom Jesus do Itabapoana, de onde foram transportadas para o setor de Fisiologia Vegetal no laboratório de melhoramento genético vegetal (LMGV). Os frutos permaneceram armazenados sob condições controladas em temperatura ( $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), e controle de umidade ( $85\% \pm 5\%$ ). Os frutos foram avaliados em intervalo de dois dias até o sexto dia de armazenamento. Entre as análises físico-químicas foram testadas firmeza (FM), teor de sólidos solúveis (SS), coloração do epicarpo, acidez titulável (AT), teor de ácido ascórbico (AA) e perda de massa fresca (PM). Os frutos também foram submetidos a extração e purificação de mitocôndrias em gradiente de *Percoll*, a análise do consumo de  $\text{O}_2$  ocorreu através do método polarográfico com utilização de um eletrodo do tipo *Clark*. Através da adição de substratos e inibidores do processo respiratório foi possível quantificar a respiração total (RESP) das mitocôndrias purificadas de goiaba durante o período pós-colheita, além de detectar a porcentagem da contribuição da Citocromo c-Oxidase (COX) e Oxidase Alternativa (AOX). Avaliou-se o coeficiente respiratório das mitocôndrias (CR) além da atividade residual (RESID). Os resultados evidenciaram diferenças na evolução da cor entre os genótipos durante a pós-colheita, onde 'Paluma' se apresentou precoce com relação à

cromaticidade  $a^*$ , não diferindo estatisticamente em relação a cromaticidade  $b^*$  e o parâmetro  $C^*$  (croma), parâmetros que diferiram com o passar do tempo em 'Cortibel'. Estas distinções provocaram diferença entre genótipos com relação ao *Hue* da casca. A luminosidade da casca ( $L^*$ ) evoluiu de forma similar nos dois genótipos. A 'Paluma' apresentou maiores teores de AT, SS e AA, além de apresentar menor perda de massa quando comparada a 'Cortibel'. A respiração total da 'Paluma' mostrou-se maior em relação à 'Cortibel' com aumentos significativos no dia 4 de avaliação, o que pode ser explicado pela maior disponibilidade de intermediários da via respiratória nesta cultivar, apresentado pelos resultados das análises físico-químicas. A atividade COX e AOX permaneceu constante durante o armazenamento com respiração predominantemente COX. Os resultados apontam aumento do processo respiratório mitocondrial em ambas as cultivares. A 'Paluma' superou a 'Cortibel' quanto aos atributos físico-químicos e possui atividade respiratória maior entre o dia 2 e 4, provavelmente pela maior disponibilidade de substratos respiratórios neste período.

## ABSTRACT

This work evaluated the physico-chemical transformations of harvested guava fruits taking into account the respiration process of the pulp by means of the mitochondrial analysis. Guava varieties Paluma and Cortibel were collected in the municipality of Bom Jesus de Itabapoana, located at North Part of Rio de Janeiro state, and transported to the Plant Physiology Laboratory. The fruits were kept for six days at controlled temperature ( $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) and humidity ( $85\% \pm 5\%$ ) and a group of them were analyzed at every two days in terms of firmness, total soluble solids, epicarp color, titratable acidity, ascorbic acid content and fresh weight loss. Then, the extraction and purification of mitochondria was carried out by means of a *Percoll* gradient and the consumption of  $\text{O}_2$  by means of the polarographic method using a Clark-type electrode. Using substrates and inhibitors of the respiration, we quantified the mitochondrial total respiration (RESP), the percentage of Cytochrome C-Oxidase contribution (COX), Alternative Oxidase (AOX), respiratory quotient (CR) and the residual activity (RESID). We found differences in the color evolution in both varieties during the post-harvest period so that Paluma was considered precocious regarding the chromaticity  $a^*$ . Cortibel showed differences in the parameters chromaticity  $b^*$  and  $C^*$  (croma) along with time of storage. Such differences promoted a distinct *Hue* on the bark. The bark luminosity ( $L^*$ ) evolved in a similar pattern in both varieties. Contents of AT, SS and AA were higher in Paluma, which also had minor fresh weight loss. The total respiration of Paluma was higher in relation to Cortibel, especially at the 4<sup>th</sup> day of storage, what might be due to a major availability of intermediaries within the

respiration pathway. COX and AOX were constant during storage but COX was predominant in relation to AOX along the storage period. Overall, we concluded that the general increase of the mitochondrial respiration was related to the increase of the intermediaries of the respiration pathway during the period of storage. Finally, Cortibel surpassed Paluma in terms of the physico and chemical parameters, and showed higher respiratory activity two to four days of storage.

## 1. INTRODUÇÃO

Frutos são classificados em duas grandes classes quanto ao seu padrão de amadurecimento. Há frutos considerados climatéricos e aqueles considerados não climatéricos. Os frutos climatéricos apresentam no início da fase de amadurecimento uma elevação nas taxas respiratórias acompanhada de um pico característico na produção de etileno. Esses frutos são capazes de alcançar os atributos físicos e químicos desejáveis ao consumo, mesmo quando colhidos antecipadamente, desde que os frutos já tenham passado pela maturação fisiológica, as características respiratórias destes órgãos são as principais responsáveis para que tal evento ocorra (Silva et al., 2010). Como exemplos de frutos climatéricos pode-se citar a maçã, o mamão, o tomate, a banana entre outros.

Frutos não climatéricos são conhecidos por não completarem o amadurecimento após destacados da planta, mesmo que tenham sido colhidos após a maturação fisiológica. Esses frutos não apresentam aumento na taxa respiratória durante o amadurecimento, além de sua produção de etileno permanecer constante. São exemplos de frutos não climatéricos os citros de modo geral, o morango, a melancia e a uva.

Todavia, Paul et al. (2012) consideram esta classificação uma simplificação do padrão de amadurecimento dos frutos. Isso pode ser notado quando leva em conta as características de amadurecimento de alguns frutos, tais como goiabas, melão, pera asiática e ameixa japonesa, que de modo geral não apresentam atributos que permitem os classificar como climatéricos ou não climatéricos (Paul et al., 2012).

No caso da goiaba (*Psidium guajava* L.), são bastante controversos os resultados disponíveis na literatura que avaliam e tentam caracterizar seu padrão respiratório e de amadurecimento. Alguns autores consideram a goiaba como um fruto do tipo climatérico, apresentando pico na produção de etileno, aumento na taxa respiratória, além de apresentar transformações físicas e químicas pós-colheita, que levam a um aprimoramento da palatabilidade do fruto (Velho et al., 2011; Grigio et al., 2011; Siqueira et al., 2014., Santos et al., 2014). Entretanto, outros autores classificam a goiaba como um fruto não climatérico (Yamashita e Benassi, 1998; Mattiuz e Durigan, 2001; Chitarra e Chitarra, 2005;), ou mesmo sendo a goiaba pertencente a um grupo de frutos, tais como melão, que segundo alguns autores, parecem não se englobar em nenhuma das duas classificações atuais (Shiomi et al., 1999; Azzolini et al., 2005; Obando-Ulloa et al., 2008).

Ainda que o padrão de amadurecimento de frutos de goiaba permaneça obscuro, sua taxa respiratória durante o período pós-colheita se mantém bastante elevada quando comparada a outras espécies consideradas climatéricas, como o mamão, o tomate e a maçã. O processo respiratório tem sido apontado como um dos principais fatores responsáveis pela aceleração do processo de amadurecimento, contribuindo com o desperdício de alimentos, o que gera expressivos prejuízos em todas as etapas da cadeia de comércio de hortifrutícolas por todo o país, especificamente durante a pós-colheita (Botelho et al., 2002; Brackmann et al., 2008; Mazorra et al., 2013).

Durante o amadurecimento, frutos passam por uma drástica transformação que muda completamente suas características sensoriais tornando-os atraentes ao consumo. O processo consiste em transformações tanto físicas quanto químicas, que levam a mudanças na coloração, na textura, no sabor e no aroma. O principal objetivo de tal transformação para os vegetais está associado à perpetuação da espécie, já que muitas vezes, por meio deste processo, dispersores são atraídos a se alimentar destes frutos promovendo o transporte de sementes e possibilitando o desenvolvimento de novas plantas.

Quando estas mudanças ocorrem de forma acelerada, estes produtos acabam se perdendo antes do consumo. A velocidade destas perdas está intimamente associada ao processo respiratório, além da produção de etileno, principalmente naqueles frutos com padrão climatérico. Exemplos característicos da influência da respiração sobre o amadurecimento são as mudanças

envolvendo o teor de acidez dos frutos assim como a quantidade de açúcares. Os ácidos cítricos, responsáveis pela maior parte do sabor ácidos servem como substratos para o processo respiratório e durante a maturação são usados para este fim, tendo sua quantidade reduzida conforme o fruto avança no amadurecimento. Já o teor de açúcares tende a aumentar na maioria das vezes, isso se deve a uma gama de processos que transformam outros componentes em compostos também utilizados na etapa respiratória, na maioria das vezes glicose e frutose, elevando o sabor adocicado. (Chitarra e Chitarra, 2005; Taiz e Zeiger, 2010; Alves et al., 2012).

Outra característica que passa por drástica transformação é a textura dos frutos. Esta tende a diminuir gradativamente devido à hidrólise de componentes da parede celular, tais como pectina, hemicelulose e celulose, devido a enzimas específicas, cuja atividades tornam mais pronunciadas durante esta fase do desenvolvimento do fruto, dentre estas pode citar pectinametilesterase (PME) e a poligalacturonase (PG), contribuindo para o abrandamento da polpa. A degradação destes componentes favorece a formação de mais substratos da respiração, ligando também este fator do amadurecimento à etapa respiratória. Assim, em teoria, quanto maior a taxa respiratória total, mais rápido será o amolecimento da polpa (Ramos et al., 2013; Pinto et al., 2013).

A respiração, processo que dá condição para que estes eventos aconteçam ocorre em três etapas conhecidas como glicólise, acontecendo no citosol, ciclo dos ácidos tricarbóxicos na matriz das mitocôndrias, e por fim, fosforilação oxidativa, tendo como palco principal a membrana interna apesar de envolver também a matriz e o espaço intermembranar mitocondrial. Assim, as mitocôndrias constituem o centro de regulação máximo do processo respiratório, influenciando todas as vias metabólicas anteriores à formação de energia, oferecendo possibilidade de conhecer como se dá a influência da respiração em todo o processo de amadurecimento de órgãos vegetais, assim como sua influência em cada processo de transformação nos frutos especificamente (Taiz e Zeigar, 2010).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2. 1. Produção, perdas pós-colheita e conservação

A goiaba é um fruto tropical, sendo a cultura explorada em grande área plantada no Brasil. O potencial de aproveitamento da goiaba é alto, uma vez que pode ser consumida *in natura*, na forma de doces, geleias e sucos. A goiaba é rica em vitamina C, sendo também uma importante fonte de vitamina B (Oliveira et al., 2012).

O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores mundiais da espécie *P. guajava* L. juntamente com Índia, Paquistão, México, Egito, Venezuela, África do Sul, Jamaica, Quênia e Austrália. Entre os estados brasileiros, Minas Gerais, São Paulo e Pernambuco destacam-se como os mais importantes produtores, respondendo em conjunto por mais de 80% de toda a produção nacional de goiaba. Outros estados como Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e Ceará também contribuem com a produção nacional (Neto, 2007., Cardoso et al, 2010., Pereira e kavati, 2011).

Segundo Oliveira et al. (2012), o Brasil é o maior produtor mundial de goiabas de polpa vermelha, nas quais pode incluir tanto 'Cortibel' quanto 'Paluma', produzidas com direcionamento industrial, com destaque para as variedades 'Paluma' e 'Rica' ,enquanto que para o consumo *in natura* as variedades 'Sassaoka' e 'Pedro Sato' são as de maior demanda, entre outras.

Há um grande interesse por frutas tropicais e seus subprodutos nos países europeus e nos EUA, o que tem propiciado ótimas oportunidades de negócio para produtores e exportadores de frutas brasileiras. Empresas brasileiras exportam polpa de goiaba para diversos países da Europa (Pereira e Nachtigal, 2002; Frutas e Derivados, 2008), ainda assim, a quantidade de produto exportado é mínima quando comparada à produção nacional.

Apesar do potencial de comercialização da fruta, desde o ano de 2004 a produção nacional de goiaba tem sido reduzida. Em 2004 a produção brasileira foi de 408.283 ton, enquanto a produção total em 2011 apresentou considerável queda desse montante, com um valor de 288.299 ton. De 2007 a 2010, o CEAGESP comercializou um volume de goiaba equivalente a 46.390 ton (Agriannual, 2012). Estes dados demonstram a importância do produto para a economia nacional e atentam para os possíveis problemas econômicos que podem ser gerados com as quedas na produção do fruto. É notória a diminuição de forma gradual na produção nacional desde 2004.

Em 2011 o nordeste destacou-se como o maior produtor de goiaba do país, seguido pela região sudeste que registrou uma produção de 137.841 ton e 113.390 ton, respectivamente (Agriannual, 2012).

Uma característica de produtos hortifrutícolas é a elevada perda de produção após a colheita. Essas perdas são ocasionadas por fatores diversos, tais como rápido amolecimento, perda da coloração verde, perda de brilho, danos mecânicos, incidência de podridões e rápida senescência dos produtos, que invariavelmente desqualificam o produto comercialmente. O produtor de goiaba tem o desafio de manter a qualidade de seus produtos o maior período de tempo possível. O manejo do produto é dificultado pelas características altamente perecíveis da goiaba, como curta etapa de conservação e pouca resistência ao ataque de patógenos e pragas em temperatura ambiente, obrigando a uma rápida comercialização para minimizar as perdas tipicamente elevadas (Durigan et al., 2005; Oshiro et al., 2011; Grigio et al., 2011). Estes entraves agregados à alta taxa respiratória da espécie dificulta ou mesmo impede a comercialização deste fruto para mercados consumidores mais distantes (Grigio et al., 2011; Brackmann et al., 2012).

As características pós-colheita das goiabas agravam os problemas da sua comercialização, principalmente quando esta etapa passa pelo transporte em

longas distâncias, aumentando as chances da ocorrência de problemas intrínsecos ou extrínsecos ao fruto, ocasionando mais desperdícios. Injúrias, definidas como sintomas visíveis ou mensuráveis (Chitarra e Chitarra, 2005), são constantemente observadas após a colheita de produtos agrícolas em diferentes etapas da comercialização. Dentre estas, as injúrias mecânicas, comumente ocorrentes durante o transporte de produtos hortifrutícolas, além das doenças pós-colheita, são as principais responsáveis pela redução da qualidade de frutos durante a comercialização.

Martins et al. (2007) realizaram um trabalho em quatro entrepostos do CEAGESP, onde analisaram os danos ocasionados por injúrias e doenças após a colheita da goiaba. Os autores relataram que 98% das amostras (caixas) possuíam pelo menos um fruto injuriado e 63% dos frutos mostravam alguma injúria, enquanto 34,6% das amostras continham algum tipo de doença e 5,5% dos frutos apresentaram algum tipo de doença, especificamente pós-colheita. Estes danos, além de servirem como porta de entrada para outros patógenos, podem acelerar o processo de amadurecimento das goiabas, modificando o sabor e a aparência, diminuindo a qualidade dos produtos, provocando perdas e danos financeiros aos produtores e comerciantes (Kluge et al., 2002; Fischer et al., 2010; Fischer et al., 2012; Carvalho et al., 2013). Investir em tecnologias para manutenção da qualidade dos produtos, como cultivares mais resistentes, uso de coberturas comestíveis e atmosfera controlada, ou embalagens mais adequadas são formas de agregar valor ao produto. Além disso, o uso correto da baixa temperatura e umidade relativa associado ao conhecimento da fisiologia do amadurecimento das espécies comercializadas podem ajudar a reverter as perdas pronunciadas de produtos hortifrutícolas após a colheita, assim como no caso da goiaba (Viviane e Leal, 2007; Brackmann et al., 2008; Campos et al., 2011; Costa et al., 2011; Mariano et al., 2011; Siqueira et al., 2014; Pereira et al., 2014).

## 2. 2. Fisiologia do amadurecimento

### 2. 2. 1. Transformações físicas e químicas durante o amadurecimento

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), geralmente, durante o desenvolvimento da goiaba os frutos passam por quatro estádios fisiológicos iniciados após a fecundação. Tais estádios são marcados pela etapa de crescimento, onde ocorrem sucessivas divisões celulares e expansão celular; a seguir o fruto inicia a fase de maturação onde ocorrem diversas mudanças bioquímicas e estruturais cuja etapa final se denomina fase do amadurecimento. Este é um processo irreversível onde ocorrem mudanças físicas e químicas que afetam a qualidade sensorial do fruto. Finalizando o desenvolvimento ocorre a fase da senescência, fase marcada pela predominância de processos degradativos resultando na morte dos tecidos.

O amadurecimento é um dos processos mais importantes no desenvolvimento dos frutos que sofrem mudanças na cor, no sabor e na textura tornando-os mais aceitáveis para os propósitos comestíveis (Guadarrama e Andrade, 2012; Ornelas-Paz et al., 2013; Pinto et al., 2013). Como se sabe, vários reguladores de desenvolvimento estão diretamente envolvidos durante o desenvolvimento dos órgãos vegetais, com destaque para o etileno na fase de amadurecimento dos frutos. Em condições normais, o etileno, um hidrocarboneto gasoso, liga-se aos sítios receptores, provavelmente metaloproteínas integrais de membrana, de onde partem respostas associadas ao amadurecimento, afetando a qualidade dos frutos, como alteração na cor, na textura e no aroma (Braz et al., 2008).

As principais transformações que ocorrem durante a fase de amadurecimento são o completo desenvolvimento das sementes, mudanças na cor, na textura da polpa, na taxa respiratória e na produção de etileno, além de alterações na permeabilidade dos tecidos, mudanças químicas no perfil dos carboidratos, dos ácidos orgânicos e das proteínas, na composição de substâncias fenólicas e na produção de substâncias voláteis, dentre outros (Chitarra e Chitarra, 2005).

Ao final do processo de maturação, durante o amadurecimento do fruto observa-se a síntese de proteínas e de novos mRNAs, juntamente com compostos responsáveis pelo sabor e pela coloração da polpa e da casca. Toda síntese necessita de energia e carbono que são fornecidos ao tecido do fruto pelo processo de respiração (Sampaio et al., 2007; Jiménez et al., 2011).

As mudanças que ocorrem durante o amadurecimento podem servir como parâmetro para definição do melhor momento para os frutos serem colhidos. No caso da goiaba, a cor da casca é importante para definir o estágio de maturação do fruto e o ponto ideal de colheita, além da firmeza da polpa, o teor de sólidos solúveis e a acidez total titulável. Goiabas 'Pedro Sato' colhidas em diferentes estádios de maturação apresentam modificações nos atributos físicos e químicos de forma semelhante (Azzolini et al., 2004).

Tais mudanças podem ser classificadas como mudanças químicas e físicas. Ambas contribuem para o melhoramento da palatabilidade do fruto e podem ocorrer antes ou depois destes serem colhidos. Entretanto, em qualquer uma destas situações, inúmeras transformações na composição destes frutos estão se realizando, principalmente, levando em conta a enorme variedade de compostos químicos que eles contêm (Klee e Giovannoni, 2011; Osorio et al., 2013).

As mudanças de caráter químico podem ser medidas por diversas técnicas. Por meio da refratometria é possível detectar as mudanças que ocorrem no teor de sólidos solúveis (SS), constituindo uma forma de medir, indiretamente, o teor de açúcar do tecido. Substâncias hidrossolúveis, como açúcares, vitaminas, ácidos orgânicos, aminoácidos e algumas pectinas são os componentes dos SS detectados de forma conjunta pela refratometria. O teor de SS é um importante parâmetro na qualidade da goiaba, apesar de não sofrer grandes alterações na maioria das cultivares. Na goiaba, o teor de SS é composto em grande parte por açúcares totais, que representam cerca de 51% a 91% do total, oferecendo grande contribuição para o sabor adocicado dos frutos. O principal açúcar encontrado é a frutose, portanto, o teor de SS está sob influência de fatores que afetam a síntese de frutose, molécula tradicionalmente hidrolisada pelo processo de glicólise, primeira etapa da respiração, garantindo poder redutor para a fosforilação oxidativa. (Mercado-silva et al., 1998; Xisto, 2002; Azzolini et al., 2004; Chitarra e Chitarra, 2005).

A aceitação da goiaba pelo consumidor é dependente dos teores de SS e acidez titulável (Cavalini, 2008; Faraonil et al., 2012). O teor de SS pode ser afetado diretamente pela ação do etileno, como demonstra o trabalho apresentado por Botrel et al. (2002), quando aplicaram diferentes concentrações de 1-MCP em frutos de banana com o intuito de inibir a ação do etileno, detectando menores teores de SS conforme aumentava a concentração do inibidor da ação do etileno.

Em goiaba os níveis de açúcares redutores (frutose e glicose) giram em torno de 2,6 gramas de glicose.100g<sup>-1</sup> da massa fresca dos frutos. Durante o desenvolvimento dos frutos os níveis dos açúcares redutores se elevam primeiramente para uma posterior queda conforme o fruto se aproxima da senescência. Trabalhos demonstraram que em goiaba os níveis de sacarose (açúcar não redutor) tendem a se elevar, assim como o de frutose enquanto ocorre o decréscimo da glicose (Seymour et al., 1993; Adsule e Kadan, 1995; Bashir e Abu-Goukh, 2003; Mendonça et al., 2007; Grigio et al., 2011; Meena et al., 2013).

A acidez dos frutos pode ser quantificada por titulação. Os ácidos orgânicos tendem a diminuir conforme o fruto amadurece, sendo utilizados como substrato em vias constituintes da respiração. Isso acontece em decorrência do aumento nas taxas respiratórias elevando a demanda por substratos da respiração, entre os quais se encontram os ácidos orgânicos. Esta relação foi demonstrada por Antunes et al. (2003) quando investigaram eficientes processos de conservação pós-colheita para amoreira-preta. Estas reações originam compostos fenólicos, lipídios, compostos voláteis e CO<sub>2</sub>. De forma incomum à fisiologia da maioria dos frutos, parece ocorrer uma tendência de aumento dos ácidos orgânicos em goiabas conforme amadurecem como demonstrado por Cerqueira et al. (2011).

Outro atributo químico bastante característico em goiabas é o elevado teor de vitamina C, constituído por L-ascorbato e L-dehidroascorbato (Aranha et al., 2000). A goiaba apresenta teores de vitamina C entre 60 e 372 mg 100<sup>-1</sup>g de polpa, variando em decorrência de diversos fatores como grau de maturação e cultivar, geralmente entrando em declínio ao chegar no estágio de senescência (Haida et al., 2011; Oliveira et al., 2011; Albuquerque et al., 2011; Ali et al., 2014).

O aumento no teor de ácido ascórbico (AA) no início do amadurecimento está associado ao aumento da síntese de intermediários metabólicos conhecidos como precursores da síntese de ácido ascórbico (Mercado-silva et al., 1998). Com a degradação dos polissacarídeos da parede celular culminando no aumento da disponibilidade de galactose, os teores de ácido ascórbico tendem a aumentar já que a galactose é um precursor da via de síntese do ácido ascórbico (Wheeler et al., 1998; Smirnoff et al., 2001; Tezotto et al., 2011; Pinto et al., 2013;). Por outro lado, durante o amadurecimento ocorre a oxidação dos ácidos orgânicos, o que pode contribuir com a redução no teor do ácido ascórbico, no início do período de senescência do fruto (Tucker, 1993; Mariano et al., 2011; Santos et al., 2014; ).

Além de transformações químicas, durante seu amadurecimento, os frutos passam por drásticas mudanças nos atributos físicos. A aparência de um fruto é determinante para a aceitação pelo consumidor. A coloração é um atributo de qualidade muito utilizado para avaliar o estágio de maturação em goiabas. A transformação na cor é resultante da degradação da clorofila e síntese de carotenoides e antocianinas (Cerqueira et al., 2010). A coloração dos frutos e a velocidade de sua mudança são positivamente correlacionadas com a taxa respiratória e os níveis de etileno no frutos climatéricos. Andreuccetti et al. (2007) detectaram significativo atraso no desenvolvimento da cor avermelhada em frutos de tomate tratados com inibidores da ação do etileno que provocaram diminuição no metabolismo respiratório, o que levou ao atraso na degradação de pigmentos clorofílicos e na síntese e revelação de pigmentos carotenoides.

Em goiaba, assim como na maior parte das frutas, a firmeza da polpa é um atributo importante, além de definir a qualidade do fruto para o consumo *in natura* e para o processamento, influencia a vida útil pós-colheita do fruto, interferindo na resistência ao transporte e no ataque de microrganismos (Callegari et al., 2011). Firmeza, grau de maciez ou friabilidade, são frequentemente medidos usando instrumentos que evitem a subjetividade (Mitcham et al., 1996). Azzolini et al. (2004), ao testarem alguns índices que avaliam a qualidade de goiabas após a colheita, constataram que os frutos possuem rápida perda de firmeza e que a velocidade desta perda não está associada ao estágio de maturação em que o fruto é colhido.

O amolecimento ou perda da firmeza de polpa é o resultado da solubilização das substâncias pécticas componentes da parede celular. À medida

que o fruto atinge sua maturidade, tais substâncias vão sendo solubilizadas, transformando-se em pectina solúvel, o que leva ao amaciamento da polpa (Donadon et al., 2012; Brackmann et al., 2013). As forças coesivas que mantêm as células unidas sofrem diminuição em decorrência da decomposição da protopectina através da ação de enzimas como a pectinametilesterase e a poligalacturonase (Dilley, 1970; Grigio et al., 2011; Ramos et al., 2013). O trabalho de Kluge e Minami (1997) demonstrou que a diminuição no ritmo respiratório de frutos de tomate por meio de técnicas de atmosfera modificada, levou a diminuição na atividade das enzimas pectinolíticas envolvidas na dissolução da parede celular, prolongando a manutenção da firmeza dos frutos.

A rápida perda de água em frutos ocasionada pela transpiração com consequente perda de massa também pode ser considerado um desafio na tentativa de manter a qualidade de frutos. Alguma perda de água pode ser tolerada, mas quando essa perda acarreta o murchamento ou enrugamento da casca do fruto, deve ser evitada. O murchamento pode ser evitado reduzindo-se a taxa de transpiração (Barros et al., 1994, Oshiro et al., 2011; Almeida et al., 2012). Mendonça et al. (2007), desenvolvendo experimentos que avaliavam caracteres físicos e químicos de goiaba 'Cortibel 1' mostraram que nesta variedade, as perdas de massa são crescentes durante o amadurecimento do fruto. Esses autores verificaram perda de massa de aproximadamente 11,0% entre o 2º e o 8º dia e de 27,5% entre o 16º dia e o 20º dia. Os autores creditaram a perda de massa às baixas taxas de umidade relativa do ar no armazenamento dos frutos, causando perda de água e consequente diminuição da pressão de turgor das células, traduzindo-se em alterações na aparência dos frutos.

## 2. 2. 2. Padrão respiratório e sua relação com o amadurecimento

A respiração é o processo pelo qual compostos orgânicos reduzidos são mobilizados e posteriormente oxidados de maneira controlada. Durante o processo de respiração a energia é liberada e armazenada transitoriamente na forma da adenosina trifosfato (ATP), que pode ser prontamente utilizada pela célula durante a manutenção e o desenvolvimento vegetal (Taiz e Zeiger, 2010; Peña, 2011).

Segundo Sams (1999), a respiração resulta em modificações profundas no perfil de diversos compostos orgânicos (proteínas, carboidratos, ácidos orgânicos, voláteis, etc.) de um fruto. Maia et al. (2009) salientam que cada espécie em si possui taxa respiratória diferente, podendo variar até mesmo dentro de uma mesma espécie, como por exemplo variações entre cultivares. Alguns fatores como a relação entre área superficial, volume, aumento da temperatura, aumento da concentração de oxigênio, acúmulo de etileno e danos mecânicos, também influenciam na atividade respiratória dos frutos. São as reações acopladas à respiração que tornam este processo fundamental para o amadurecimento dos frutos, estas provocam a síntese de compostos como pigmentos, proteínas, compostos fenólicos e fitormônios (Purvis, 1999; Azevedos e Santos, 2011; Siqueira et al., 2014; Souza et al., 2014; Nunes-Nesi et al., 2014).

Segundo Wills et al. (1998), durante a fase de maturação de frutos não climatéricos sua taxa respiratória diminui e se estabiliza não apresentando pico ou elevação até a senescência, desta forma frutos com este padrão amadurecem de forma mais lenta. Sendo assim, o amadurecimento só acontece quando o fruto ainda está ligado à planta mãe, diferente dos frutos climatéricos que completam o amadurecimento mesmo após a colheita. A fase de amadurecimento dos frutos climatéricos é marcada pelo aumento nas taxas respiratórias e na produção de etileno (Souza et al., 2014).

Vieira et al. (2008), estudando o amadurecimento de frutos de goiaba 'Pedro Sato' após a aplicação de tratamento hidrotérmico, identificaram um pico respiratório nos frutos armazenados a 8°C, o que não foi observado nos frutos tratados à temperatura de 22°C. Já, Campos et al. (2011) identificaram um pico na taxa respiratória em goiabas desta mesma cultivar seguido de um declínio da respiração até a senescência dos frutos, o que, segundo os autores, esse é o padrão respiratório característico de frutos climatéricos. Estes dados se contrastam com os apresentados por Cavalini (2004), que verificou aumento na taxa respiratória em todos os estádios de maturação em goiabas 'Kamugai', todavia sem pico característico.

Grigio et al. (2011), ao analisarem a liberação de etileno e CO<sub>2</sub> em goiabas 'Paluma' detectaram um pico climatérico característico nos frutos controle, observando tanto a elevação na liberação dos dois gases quanto sua gradual queda conforme o fruto avançava no amadurecimento. Ao contrário destes

resultados, Mattiuz e Durigan (2001), avaliando os efeitos de injúrias no processo de amadurecimento em goiabas 'Paluma' e 'Pedro Sato', não evidenciaram um pico respiratório até o sétimo dia de avaliação, quando os frutos já se encontravam em avançada fase de senescência. Segundo esses autores, a ausência do climatérico nesses frutos mostrava que a goiaba apresentava um padrão respiratório característico de fruto não climatérico.

Como pode ser notado, apesar da possibilidade de o padrão respiratório ser dependente da cultivar avaliada, no caso da goiaba, ainda há resultados controversos entre trabalhos avaliando as mesmas cultivares. Na diversidade de relatos na literatura, a mesma variedade de goiaba é considerada um fruto climatérico por alguns autores, enquanto para outros a não identificação de um pico respiratório característico remete à possibilidade de classificação da goiaba como um fruto não climatérico. Tais controvérsias alimentam a necessidade de análises mais profundas para esclarecer o padrão respiratório e o processo de amadurecimento da goiaba. Torna-se perigoso afirmar que a goiaba possui um padrão de amadurecimento muito bem definido, ainda sim está muito claro a importância e participação do processo de respiração durante esta fase do desenvolvimento do fruto.

O que ainda não está claro são as relações entre a característica do processo respiratório e as mudanças que vão ocorrendo enquanto o fruto de goiaba amadurece, como por exemplo, não se sabe o nível de participação das principais vias respiratórias tal como COX e AOX quando o fruto está em período de transformação, e nem se esta contribuição sofre alterações durante a etapa, tornando o isolamento de mitocôndrias proveniente da polpa destes frutos durante o amadurecimento, ferramenta útil na caracterização do funcionamento da CTE e sua possível contribuição para o processo.

A energia química liberada na respiração é utilizada durante os processos de manutenção e síntese necessários para a sobrevivência dos frutos. A respiração mantém a organização celular, a permeabilidade seletiva da membrana e a translocação de metabólitos para o tecido. Desta forma, a homeostase celular é capaz de manter a produção de enzimas e outras substâncias necessárias para o processo de amadurecimento dos frutos. Por outro lado, a velocidade da respiração também determina a vida útil destes frutos para o consumo, de forma que quanto mais alta a taxa menor é a vida do órgão,

assim a respiração é essencial para que se mantenha vivo o tecido. Entretanto, quando muito elevada contribui para sua rápida degradação (Pinto, 2009). Em condições não controladas, a aceleração do processo respiratório pode ocasionar o rápido amadurecimento do fruto, levando a antecipação da senescência, aumentando a susceptibilidade ao ataque de patógenos ocasionando perda na qualidade (Santos, 2010).

Bron et al. (2005), ao avaliarem a produção de CO<sub>2</sub> em frutos de goiaba observaram um aumento gradual na respiração dos frutos, chegando a atingir 1,24 mmol CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> após 156 horas de armazenamento corroborando com Grigio et al. (2011), que também detectaram elevação na emissão de CO<sub>2</sub> identificando um pico tanto na produção de CO<sub>2</sub> quanto na de etileno, caracterizando um período climatérico, ainda que este tenha ocorrido tardiamente após a colheita.

Durante um estudo realizado por Brown e Will (1983) com seis cultivares de *P. guajava* colhidas em quatro diferentes estádios de maturação, variando de imaturo a completamente desenvolvido, os autores puderam notar que em todas as cultivares a liberação de CO<sub>2</sub> e de etileno apresentou elevação com posterior declínio. Os frutos em estágio de amadurecimento mais avançado chegaram ao pico climatérico quatro a seis dias após a colheita, enquanto os frutos imaturos apresentaram desde pequena amplitude no pico de liberação de CO<sub>2</sub> e etileno, a ausência de pico, nesse caso, não completando o seu desenvolvimento.

Estes resultados sugerem que a respiração é fundamental para que a maturação se complete, já que aparentemente, quando alterações positivas no metabolismo respiratório não são observadas, os frutos não se tornam ideais para o comércio ou consumo. Provavelmente não só a respiração é protagonista das mudanças físico-químicas, mas também e não menos importante são as alterações fitormonais, principalmente aquelas ligadas a produção e manifestação do etileno.

### 2.2.2.1. Etileno e sua importância para o amadurecimento

O hormônio do amadurecimento, como é conhecido o etileno, é formado a partir do aminoácido metionina, via S-adenosil L-metionina (SAM). O SAM é convertido a ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) pela ação da enzima ACC sintase (ACS). O ACC é então oxidado a etileno através da ação da enzima ACC oxidase (ACO) (Taiz e Zeiger, 2010).

O etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) é biologicamente ativo em quantidades traços e seus efeitos são comercialmente importantes na agricultura (Lima et al., 2011; Silva et al., 2012). Este fitormônio é atuante em fases diversificadas do desenvolvimento vegetal, tais como germinação, crescimento, senescência, abscisão e principalmente no amadurecimento de frutos climatéricos. Está bem estabelecido o envolvimento do etileno na degradação da clorofila, na biossíntese de carotenoides e de antocianinas, além de sua influência sobre a respiração (Aguila et al., 2011). Em condições normais, o etileno liga-se a moléculas receptoras, provavelmente proteínas transmembranares localizadas no retículo endoplasmático, de onde iniciam-se respostas associadas ao amadurecimento, podendo afetar a qualidade de produtos hortícolas, como cor, textura e aroma.

O aumento na produção de etileno em frutos climatéricos ocorre pela regulação autocatalítica a partir do sistema 2 de síntese do hormônio, onde a produção de etileno regula positivamente as enzimas ACS e ACO, enzimas chave da via de biossíntese do etileno. Tal processo pode ser observado na etapa de senescência de alguns órgãos e no amadurecimento de frutos (Vandrell e Palomer, 1997)

Em tecidos vegetativos e frutos verdes, ocorre a predominância do sistema 1 de produção de etileno, onde o hormônio regula de forma negativa a enzima ACS, mantendo níveis basais de etileno (Paul et al., 2012). Isso significa que a aplicação exógena de etileno em frutos climatéricos (no estágio de maturação fisiológica) deve ativar o sistema 2 de produção, acelerando o amadurecimento do fruto. Porém, na presença de inibidores do etileno, a aplicação exógena ou a rota autocatalítica do hormônio se torna sem efeito (Paul et al., 2012).

A maioria dos trabalhos demonstra íntima ligação dos níveis de produção de etileno e a etapa respiratória, demonstrando que apesar da grande influência destes dois fatores, qualquer um que sofra alteração por qualquer motivo também irá alterar fisiologicamente o amadurecimento. Linhares et al. (2007) observaram atrasos na maturação após aplicações de 1-MCP, um conhecido inibidor da ação do etileno, durante o amadurecimento da goiaba 'Pedro Sato'. Entre as respostas observadas os autores citam a maior firmeza, a menor perda de massa, o menor teor de pectina solúvel e menor teor de vitamina C nos frutos tratados com 1-MCP em comparação com os frutos controle. A aplicação do 1-MCP propiciou um amaciamento menos intenso da polpa do fruto devido à menor atividade das enzimas envolvidas neste processo, estendendo a vida pós-colheita dos frutos e mostrando de forma direta e efetiva a influência da inibição da ação do etileno sobre o amadurecimento da goiaba. Assim, é possível dizer que, apesar do processo respiratório não ter sido aparentemente afetado, neste caso a simples inibição a ação do etileno foi suficiente para alterar todo o processo de maturação.

### 2. 3. Respiração em mitocôndrias isoladas de tecido vegetal

Mitocôndrias estão presentes nas células eucarióticas sendo caracterizadas por uma série de propriedades morfológicas, bioquímicas e funcionais. Normalmente, são estruturas em forma cilíndrica ou oval e alongadas (em células animais), possuindo aproximadamente de 0,5 a 1,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro e de 1,0 a 3,0  $\mu\text{m}$  de comprimento. São suficientemente móveis, localizando-se em sítios intracelulares onde ocorre maior necessidade de energia, já que a função principal da organela é a produção de ATP (Molinaro et al., 2010).

Estas organelas estão envolvidas na homeostase celular, tendo importante função na sinalização intracelular, morte celular programada, metabolismo de aminoácidos, lipídios e nucleotídeos. Entretanto, as mitocôndrias têm como função principal a produção de energia prontamente disponível a partir do acoplamento da via final de formação de ATP com o fluxo de elétrons da cadeia respiratória (Ferreira et al., 2008; Silva e Ferrari, 2011).

As mitocôndrias apresentam um envoltório formado por duas membranas estrutural e funcionalmente distintas, elas delimitam dois espaços no interior da organela: um espaço intermembranar separando as membranas interna e externa e um segundo, gerado pela membrana interna, delimitando a matriz mitocondrial. A membrana interna contém uma série de invaginações voltadas para a matriz com a função de estender a sua superfície, gerando as cristas mitocondriais, são nestas cristas que estão presentes os complexos multiproteicos da cadeia respiratória responsáveis pela formação de ATP (Molinaro et al., 2010).

No interior da matriz mitocondrial estão contidas as enzimas envolvidas no ciclo dos ácidos tricarboxílicos, dentre outras. A grande riqueza de proteínas na matriz confere a este espaço uma força coloidosmótica com capacidade de estimular a entrada de água e aumentar o volume deste espaço quando o aporte de íons ao interior da mitocôndria se eleva (Garlid e Beavis, 1985; Beavis et al., 1985).

No que diz respeito à estrutura e à função, as mitocôndrias vegetais são significativamente similares às de outros organismos eucariotos. Tanto mitocôndrias vegetais quanto as de animais possuem em sua membrana interna uma cadeia transportadora de elétrons (CTE), que possibilita a passagem de prótons para o espaço intermembranar e uma via de síntese de ATP, além de fornecer um fluxo elevado de precursores metabólicos a partir do ciclo dos ácidos tricarboxílicos (Millar et al., 2007).

Apesar da similaridade estrutural e funcional de mitocôndrias em diversos organismos, as mitocôndrias de plantas possuem algumas peculiaridades. Mitocôndrias vegetais possuem na CTE além da NADH – Coenzima Q-Oxidorrredutase (complexo I), que ao oxidar o NADH bombeia prótons para o espaço intermembranar, vias alternativas localizadas na face externa e interna da membrana mitocondrial que oxidam o NADH sem efetuar bombeamento de prótons; estas enzimas são insensíveis à rotenona. Na membrana interna da mitocôndria também há uma via alternativa de consumo de oxigênio, a oxidase alternativa (AOX), insensível ao cianeto, além de um transportador de prótons desacoplado da síntese de ATP, a proteína desacopladora (UcP) (Luethy et al., 1991; Scheckhuber, et al 2011; Florez-Sarasa et al., 2011; Begcy et al., 2011; Cvetkovska e Vanlerberghe, 2012; Wallström et al., 2014).

A mitocôndria está intimamente ligada ao processo de amadurecimento dos frutos, tendo sua atividade aumentada durante essa fase, evento observado pelo aumento no consumo de  $O_2$  e na liberação de  $CO_2$ . Os níveis de etileno podem provocar a elevação na atividade mitocondrial em frutos climatéricos, além de favorecer a expressão de algumas das enzimas envolvidas no processo respiratório, tais como a AOX, Ucp e a Citocromo c-Oxidase (COX, complexo IV) como observado por Navet et al. (2003) em tomate. Segundo esses autores, os níveis de etileno são capazes de controlar a produção bioenergética nos órgãos durante seu desenvolvimento, demonstrando que a atividade respiratória das mitocôndrias relaciona-se com a produção de etileno e pode, portanto, ser afetada por esta.

Como já mencionado, durante o armazenamento de frutos climatéricos é notável o aumento nas taxas respiratórias, levando os frutos a uma menor vida de prateleira. Tem sido demonstrado que as vias alternativas da respiração têm sua atividade aumentada no período de amadurecimento, enquanto a via principal, dada pela COX, passa a ter uma menor contribuição (Duque e Arrabaça, 1999; Navet et al., 2003). A caracterização da atividade metabólica de mitocôndrias isoladas, com observação da contribuição das vias respiratórias, tais como AOX e COX, poderá servir como ferramenta para compreender melhor a fisiologia do amadurecimento em frutos de goiaba. Para tanto, torna-se importante uma rápida caracterização dos principais complexos enzimáticos envolvidos na via final da respiração, além de um melhor detalhamento da atividade tanto da COX quanto da AOX.

Sendo assim, o sistema da fosforilação oxidativa mitocondrial é composto por quatro complexos oxirredutases de multissubunidades envolvidos no transporte de elétrons, que são por fim utilizados na redução do  $O_2$  a  $H_2O$ . Além destes quatro complexos, a membrana mitocondrial conta com uma ATP sintase conhecida como complexo V (Dudkina et al., 2006; Millar et al., 2011).

A função primária da cadeia respiratória é a oxidação de nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH) e de flavina adenina dinucleotídeo reduzida ( $FADH_2$ ), providos de outras rotas metabólicas associadas à respiração, bem como o transporte de equivalentes reduzidos ao longo de uma série de transportadores de elétrons para o aceitador final na CTE, o oxigênio. Na via principal, os elétrons são transportados por complexos proteicos inseridos parcial

ou integralmente na membrana interna mitocondrial, conhecidos como complexo I, II, III e IV, os quais funcionam como bombeadores de prótons, com exceção do complexo II. Os prótons bombeados a partir da matriz, acumulam-se no espaço intermembranar, criando um potencial eletroquímico utilizado pela ATP sintase, que também integra a membrana interna, para a formação de ATP a partir de ADP e Pi (Ferreira et al., 2008; Taiz e Zaiger, 2010).

Tais complexos são conhecidos respectivamente por NADH – Coenzima Q-Oxidoreductase (complexo I), possuindo mais de 40 polipeptídios, SDH – Succinato Desidrogenase (complexo II) que não participa diretamente do bombeamento de prótons, Coenzima Q-Citocromo c-Oxidoreductase (complexo III) e por fim o complexo IV, Citocromo c-Oxidase (COX), componente final da cadeia que doa elétrons para o O<sub>2</sub>. O fluxo de elétrons ainda conta com dois transportadores móveis, a ubiquinona (UQ) e o citocromo c, que através da oxidação e redução possibilitam que elétrons provenientes do complexo I e II possam chegar até a COX (complexo IV) e AOX. Estes constituintes, bem como o complexo V, ATP sintase, integram o sistema de fosforilação oxidativa, formador do ATP necessário para o metabolismo celular, além de favorecer a formação de diversos intermediários importantes em outros processos celulares (Ferreira et al., 2008; Taiz e Zaiger, 2010).

A maior parte das plantas apresenta em sua CTE duas oxidases terminais, uma sensível à presença de cianeto, já citada anteriormente, componente da via principal da fosforilação oxidativa, de nome Citocromo c-Oxidase (COX) e outra insensível ao cianeto, chamada AOX. Ambas, COX e AOX, atuam transferindo os elétrons provenientes do *pool* de UQ, diretamente para o O<sub>2</sub> gerando água (Grewer et al., 2013).

A COX é formada por um complexo de metaloproteínas que fornecem um funcionamento crítico à respiração celular, seja de procariotos ou eucariotos. É importante lembrar que esta enzima constitui o último complexo da CTE a receber os elétrons provenientes da oxidação de substratos da respiração. A energia liberada desta reação exergônica é conservada em um gradiente de pH e em um potencial de membrana, através do transporte de prótons para o espaço intermembranar, efetuado pela COX e também pelos demais complexos (Capaldi, 1990; Taylor e Moncada, 2009).

Também é possível fazer associações entre a COX com o metabolismo do ácido ascórbico (AA). As enzimas de síntese do AA estão localizadas no citosol, exceto a que catalisa a etapa final de sua síntese, chamada L-galactono-1,4-lactona desidrogenase (GLDH), localizada na membrana interna das mitocôndrias, contribuindo para o transporte de elétrons na etapa de redução da COX. A GLDH catalisa a oxidação do L-galactono-1,4-lactona (GL) tendo como aceitador dos elétrons liberados nessa reação o citocromo c, assim o GL é convertido em AA e por meio deste evento a COX é reduzida,. Assim, indiretamente, a COX contribui para o mecanismo antioxidante não enzimático do ascorbato, ajudando a diminuir os níveis de espécies reativas de oxigênio (Bartoli et al., 2000; Millar et al., 2003; Szarka et al., 2007; Blokhina e Fagerstedt, 2010).

A COX se distingue dos outros complexos da CTE por seus mecanismos bioquímicos, estando já bem caracterizada para vários organismos. No entanto, há evidências de que *in vivo*, assim como outros componentes da CTE, a COX pode interagir especificamente com outros complexos formando estruturas supramoleculares conhecidas por supercomplexos. Os supercomplexos contendo o complexo IV já foram identificados em diversas espécies vegetais, como no caso da batata, onde pode ser encontrado supercomplexos contendo associação entre complexo III e IV, além de associações com o complexo I mesmo que mais raramente. A abundância destas supramoléculas geralmente depende da espécie e do estado fisiológico da planta (Eubel et al., 2004).

Estima-se que cerca de 90% do O<sub>2</sub> consumido por organismos aeróbicos participa da reação química da COX. A COX pode ser encontrada em uma ampla variedade de organismos aeróbios, incluindo bactérias, fungos, eucariotos unicelulares, animais e também nas plantas. É um complexo proteico integral de membrana localizado na membrana interna mitocondrial, constituído de duas ou três subunidades nos organismos mais simples como bactérias, chegando até 13 subunidades em mamíferos (Wikström et al., 1981).

Tratando-se do amadurecimento de frutos, ocorrem diversas mudanças metabólicas relacionadas à atividade dos complexos proteicos envolvidos na fosforilação oxidativa, inclusive com a COX. Considini et al. (2001), acompanhando o amadurecimento de mangas, frutos tipicamente climatéricos, puderam observar um significativo aumento nas taxas respiratórias acompanhado por alterações em diversas proteínas envolvidas na CTE.

A participação da COX na respiração durante o amadurecimento de frutos climatéricos é decrescente com o tempo. Holtzapffel et al. (2002), ao investigarem a atividade de vários componentes da cadeia respiratória mitocondrial em tomates tratados com frio, puderam observar um aumento na expressão da AOX durante o amadurecimento. Ainda de acordo com esses autores, houve uma diminuição na expressão de algumas subunidades constituintes de determinados complexos da CTE, principalmente pertencentes a ATP sintase e COX (Kumar e Sinha, 1992).

Considini et al. (2001), avaliando a expressão da AOX e UCP durante o período de amadurecimento em mangas, também perceberam elevação na expressão da AOX e da UCP. Estes autores ainda sugerem que estas proteínas atuam facilitando a senescência enquanto a atividade da COX encontra-se em declínio devido à diminuição da demanda por ATP nesta fase.

Apesar de diminuída a participação da COX em frutos tipicamente climatéricos durante a etapa final do amadurecimento, sua inibição pode prolongar a vida útil dos frutos através do decréscimo da taxa respiratória. Alguns trabalhos relatam que o óxido nítrico (NO) inibe a atividade da COX em mitocôndrias isoladas de suspensão de células de folhas. Este efeito geralmente é parcial ou reversível e também eleva a viabilidade de algumas sementes. Em frutos, o NO tem se mostrado um inibidor da atividade do etileno, estendendo a fase de latência de sua produção com efeito não tóxico (Sowa e Tawill, 1991; Gouble et al., 1995).

Como comentado anteriormente, uma das peculiaridades da CTE em vegetais é a presença de vias alternativas, tais como a AOX, a UCP e as NAD(P)H desidrogenases insensíveis à rotenona. Não se sabe ao certo a funcionalidade fisiológica destes componentes, entretanto alguns estudos sugerem que estejam envolvidos na adaptação destes indivíduos a ambientes instáveis, tais como estresse ao frio, estresse oxidativo, condições anaeróbicas e variações de temperatura (Amor et al., 2000; Calegario et al., 2003).

A AOX é um dos componentes da fosforilação oxidativa mais estudados em plantas, os primeiros relatos de sua atividade são datados de 1925 (Day et al., 1980; Moore e Siedow, 1991). Esta enzima é codificada no núcleo das células e posteriormente exportada para a mitocôndria. A AOX é responsável pela respiração resistente ao cianeto e fornece uma via adicional, ramificando-se da rota central, para a saída de elétrons (Watts et al., 2003).

Este componente da CTE mitocondrial caracteriza-se como uma oxidase terminal, ciano-resistente, receptora de elétrons da ubiquinona assim como ocorre com o complexo III. Tal enzima, à semelhança do COX, reduz o oxigênio à água através do transporte de dois elétrons (Barbosa, 2008).

A AOX é expressa a partir de uma família gênica. Experimentos com soja demonstram a expressão substancial da *AOX1* em cotilédones, enquanto *AOX3* está presente em folhas. Nenhum registro mostra a expressão da *AOX2* em soja, apesar de sua expressão relevante em outras espécies, o significado desta família de genes ainda é desconhecido. Todos os genes da AOX sequenciados até o momento codificam uma proteína muito semelhante, possuindo uma região C-terminal e outra N-terminal, voltadas para a matriz, indicando uma superfície helicoidal no espaço intermembranar. A porção N-terminal conserva resíduos de cisteína que postulam uma ponte dissulfeto lábil na AOX (Bodenstein-Lang e Follmann, 1989; Rasmusson e Moller 1990; Siedow et al., 1992; Kumar e Soll, 1992; Whelan et al., 1996).

O gene *AOX1*, assim como os demais genes, responsáveis por codificarem a AOX, são expressos pela influência de diversas situações estressantes para o vegetal, como também podem ser expressos por fatores que causam inibição do fluxo de elétrons na cadeia respiratória (Vanlerberghe et al., 1997). A indução da AOX ocorre na presença de inibidores convencionais da cadeia respiratória, inibidores estes que afetam a atividade do complexo III e IV, como a antimicina A ou o cianeto (Helmerhorst et al., 2002). É importante compreender que a AOX possui papel tanto metabólico quanto antioxidante (Papa e Skulachev, 1997; Vanlerberghe et al., 2002) e apesar de ter sua atividade resistente ao cianeto e à antimicina A, pode ser inibida especificamente por ácido salicilhidroxâmico (SHAM) (Schonbaum et al., 1971) e pelo *n*-propil galato (PG) (Guerrero e Sánchez, 2005).

Como já foi referido, a expressão da AOX sofre grande influência nas situações de estresse e dos fatores que inibem o fluxo de elétrons através da cadeia. Em vegetais já foi demonstrado que baixas temperaturas, estresse osmótico, senescência e peróxido de hidrogênio ativam a respiração ciano-resistente (McIntosh, 1994). É possível que o etileno seja responsável por estimular a rota alternativa de transporte de elétrons resistente ao cianeto (Solomos, 1977). Foi detectado em frutos climatéricos um aumento substancial

nas taxas respiratórias, essas elevações foram atribuídas à participação da AOX (Kumar e Sinha, 1992).

Duque e Arrabaça (1999) avaliaram a atividade da AOX durante a pós-colheita de maçã e puderam constatar uma maior atividade da enzima durante o climatério dos frutos com posterior queda após isso. Tal queda foi notada pela medição da quantidade de enzimas oxidadas após o climatério, o que caracteriza a forma inativa da AOX. Os autores puderam notar que a forma predominante da AOX em frutos de maçã é a oxidada, assim, é possível que haja uma desativação da proteína logo após o climatério.

Estes resultados corroboram com os encontrados por Navet et al. (2003), enquanto trabalhavam avaliando a atividade desta enzima em tomate, eles puderam notar aumento em sua atividade durante o amadurecimento, além da influência dos níveis de etileno sobre a participação da AOX no processo respiratório. Navat et al. (2003), verificaram ao utilizarem mutantes de tomate que produziam baixos níveis de etileno, que a perda ou a incapacidade de produzir etileno afeta diretamente as enzimas na rota respiratória, ainda que de modo diferente, principalmente a AOX, Ucp e COX.

Considine et al. (2001), também detectaram um aumento na atividade da AOX durante o amadurecimento de mangas, eles sugerem que o papel da AOX e Ucp nesta fase do desenvolvimento do fruto seja o de manter a respiração após um surto respiratório na presença de níveis elevados de ATP e, portanto, permitir o desenvolvimento até a senescência. Os autores levam em consideração que o papel das vias alternativas possa estar ligado à manutenção do transporte de elétrons enquanto a COX tem sua atividade em declínio.

Xu et al. (2012) verificaram redução dos níveis de transcrição de alguns genes relacionados a AOX quando frutos de tomate foram tratados com 1-MCP, reafirmando a importância da AOX no processo de amadurecimento de frutos e sugerindo que a expressão desta enzima é regulada pelos níveis de etileno durante o amadurecimento de frutos climatéricos. Estes autores também notaram aumento na atividade da AOX concomitante ao período de amadurecimento. Porém, os resultados mostraram que não ocorreu maior expressão em todos os genes da família que codificam a AOX. Apesar de concluírem que a AOX pode contribuir para a respiração climática, já que verificaram aumento marcante da *AOX1a*, a expressão da *AOX1b* e *AOX2* permaneceu relativamente baixa durante

a fase de amadurecimento. O experimento de Xu et al. (2012), demonstra que tanto a superexpressão quanto a subexpressão dos genes da família AOX provocam mudanças perceptíveis na maturação. A expressão negativa da AOX levou a um aumento na massa fresca, redução do teor de sólidos solúveis e quantidade de licopeno em tomate. O silenciamento da AOX em tomateiro prolongou a vida pós-colheita elevando o tempo de maturação e reduzindo a mudança de cor do epicarpo.

Em frutos não climatéricos, após a aplicação exógena de etileno, não se pode observar aumento na produção de etileno e na taxa respiratória, ou ocorre de forma transitória e a atividade da AOX está presente de forma bastante limitada (Lurie e Klein, 1990; Kays, 2004).

Ao isolar mitocôndrias purificadas diretamente da polpa de goiabas, análises mais sutis poderão ser feitas na tentativa de associar a contribuição de cada componente da CTE para o processo de amadurecimento, como se expressam essas enzimas a cerca de cada evento que levam às mudanças composicionais e estruturais do órgão e influenciam diretamente sua qualidade e vida útil.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Relacionar a respiração às mudanças que ocorrem durante o amadurecimento de goiabas das cultivares 'Paluma' e 'Cortibel'.

#### 3. 2. Objetivos específicos

Compreender as características do metabolismo respiratório na fase de amadurecimento destas duas cultivares;

Relacionar a capacidade mitocondrial máxima no que diz respeito ao consumo de oxigênio ao processo de amadurecimento;

Caracterizar a contribuição da COX e da AOX no processo da respiração durante amadurecimento dos frutos de goiaba em duas cultivares.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4. 1. Material vegetal e aspectos do armazenamento dos frutos

Os frutos utilizados no trabalho foram das cultivares 'Paluma' e 'Cortibel', coletados em uma propriedade rural localizada no distrito de Carabuçu no município de Bom Jesus do Itabapoana, região noroeste Fluminense, situada nas coordenadas geográficas 21 08' 02" S e 41 40' 47" W. Os frutos foram coletados na fase 0 de maturação (totalmente verdes) entre os meses de junho e novembro e encaminhados até o Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, onde foram avaliados na Unidade de Bioquímica e Fisiologia Pós-colheita.

Os frutos foram acondicionados em câmaras com controle de umidade ( $85\% \pm 5\%$ ) e temperatura ( $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ ), sendo amostrados, periodicamente, durante cerca de 6 dias de armazenamento. Os tempos de amostragem foram o dia da chegada dos frutos (tempo 0), e amostragens com intervalo de um dia até o sexto dia, sendo estes chamados de tempo 0, 2, 4 e 6, respectivamente.

## 4. 2. Avaliação das características físicas

### 4. 2. 1. Coloração do epicarpo

As medidas de coloração da casca da goiaba passaram por três medições em pontos distintos e equidistantes na superfície equatorial dos frutos. Utilizou-se um colorímetro portátil de modelo CR-300, Minolta. A calibração do aparelho ocorreu em superfície de porcelana branca, a qual fornecerá parâmetros de coloração definidos por três coordenadas (X, Y e Z). Os parâmetros foram analisados a partir do espaço de cor CIELab  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , além do ângulo de cor *hue*. A luminosidade dos frutos foi medida pela coordenada vetorial  $L^*$ , variando de  $L^* = 0$  (preto), percorrendo o cinza até  $L^* = 100$  (branco). Também foi realizada a análise da cromaticidade a partir da coordenada horizontal  $a^*$ , partindo de  $-a^*$  (verde) percorrendo o cinza até  $+a^*$  (vermelho); e da coordenada horizontal  $b^*$  que vai do  $-b^*$  (azul) até  $+b^*$  (amarelo) também foi avaliada assim como o ângulo de cor *hue*. O parâmetro *hue*, ao apresentar valores próximos a  $90^\circ$  está indicando que a coloração da casca está amarela, enquanto resultados próximos aos  $180^\circ$  estão tendendo a cor verde (McGuire, 1992).

### 4. 2. 2. Perda de massa

A perda de massa (PM) dos frutos foi avaliada desde a implantação do experimento (dia da colheita) até o último dia de avaliação. O material foi pesado ao iniciar-se o experimento utilizando balança semianalítica com os frutos referentes ao último tempo de armazenamento (6), assim foram avaliados sempre os mesmos frutos em todos os tempos de acondicionamento.

Os frutos permaneceram armazenados em câmaras de refrigeração com temperatura e umidade relativa sob controle. Foram pesados a cada dois dias, antes de se iniciarem os demais procedimentos. Os resultados foram expressos

em percentagem de perda de massa (PM) utilizando-se a expressão  $PM = [(P_{inicial} - P_{final})/P_{inicial}] \times 100$ .

#### 4. 2. 3. Perda de firmeza e mudanças na textura

A firmeza do pericarpo (FF) foi mensurada utilizando um texturômetro (Texture Analyser, modelo TA.XT Express, UK). Foi utilizada uma ponta de prova cilíndrica de 2 mm de diâmetro, com um deslocamento vertical de 1 cm iniciando-se da casca aprofundando-se através da polpa. A velocidade do ensaio será estabelecida a 2 mm s<sup>-1</sup>. A firmeza do pericarpo foi definida como força de resposta a 0,1961 N de força aplicada.

#### 4. 3. Avaliação das características químicas

##### 4. 3. 1. Acidez titulável

A acidez titulável (AT) foi determinada por titulação com NaOH (0,1N) através do método 22.058 descrito pela AOAC (1992), utilizando um titulador manual, por meio de bureta volumétrica de 50 mL, com auxílio de um peagâmetro digital (*Scientec* versão 2.3). O pH na faixa de 8,2 serviu como indicação para o ponto final da titulação das amostras.

Uma amostra das frutas equivalente a 15 g foi transferida para um becker (200 mL) e o volume completado para 50mL com água deionizada. Utilizando um homogeneizador Turrtec TE 102 com rotação ajustada para 1800 RPM, as amostras foram homogeneizadas em um tempo aproximado de 30 s. Após este preparo, as amostras foram levadas imediatamente para a titulação.

Os resultados foram expressos em equivalente de ácido cítrico, sendo obtidos por meio da seguinte equação:

$$\% AT = \frac{V \times N \times P' \times 100}{P}$$

Onde:

AT = acidez titulável, em percentagem de ácido cítrico;

V = volume de NaOH gasto com a titulação, em mL;

N = normalidade do NaOH = 0,1;

P' = miliequivalente do ácido cítrico (0,064);

P = volume da amostra (mL).

#### 4. 3. 2. Teor de ácido ascórbico

Para determinar o teor de ácido ascórbico (AA) foi utilizado o método da Associação Oficial de Química Analítica (AOAC, 1992). Empregando soluções-padrão de AA foi formada uma curva padrão que possibilitou a obtenção da quantificação do teor de AA. Foi utilizado 1g de polpa após maceração em cadinho contendo 9mL de ácido oxálico em 1%, após passar por filtragem em papel filtro qualitativo com porosidade de 3 $\mu$ m, foram extraídos 2mL e transferidos para um erlenmeyer contendo 5mL de ácido oxálico 1%. Todas as etapas do procedimento foram realizadas em banho de gelo e abrigo contra a luz. O conteúdo do erlenmeyer passou por titulação com 2,6-diclorofenol (2,6-DCP) até que a solução passasse a ter coloração rosada e mantivesse a cor por alguns segundos. Todas as titulações foram realizadas em duplicata. O volume gasto do 2,6-DCP em cada uma das amostras foi empregado para determinar a concentração de ácido ascórbico, a partir da curva padrão preestabelecida. A expressão do resultado foi em mg de AA. 100mg<sup>-1</sup> de massa fresca do fruto.

#### 4. 3. 3. Determinação do teor dos sólidos solúveis

A determinação do teor de sólidos solúveis (SS) ocorreu a partir da extração manual de duas gotas de amostras da polpa dos frutos, coletadas da região mediana dos frutos. Utilizou-se um refratômetro digital com resultados expressos em °Brix.

#### 4. 4. Ratio

Para obtenção dos valores de *Ratio*, parâmetro relacionado ao sabor do fruto, fez-se a divisão entre os valores médios de SS e AT.

#### 4. 5. Isolamento de mitocôndrias

O isolamento de mitocôndrias ocorreu a 4°C, foram utilizados cerca de 200 g de polpa de goiaba do grupo dos mesmos frutos utilizados para as análises físicas e químicas. O tecido será homogeneizado em Mixer (modelo R1348, Walita, Brasil) em aproximadamente 300 mL de tampão de isolamento, ajustando o pH para 7,5. A solução contém MOPS 100 mM, sacarose 0,3 M, PVP 1%, ácido ascórbico 100 mM, BSA 0,1% e EDTA 2 mM e fosfato monobásico 10 mM, sempre em agitação constante. O homogenato foi filtrado através de duas camadas de gaze e uma de *Miracloth*. Após homogeneização o extrato foi centrifugado a 1.100 g, durante 15 minutos. O sobrenadante foi novamente centrifugado a 17.000 g, por 20 minutos, sendo o *pellet* suspenso em tampão de lavagem contendo sacarose 0,6 M, MOPS 20 mM, e BSA 0,2% com pH de 7,2. A suspensão referida foi centrifugada a 1.080 g por 5 minutos, sendo o sobrenadante novamente centrifugado a 23.000 g, por 15 minutos para a obtenção das mitocôndrias lavadas no precipitado.

A purificação das mitocôndrias foi realizada utilizando um gradiente de *percoll*. O precipitado coletado foi suspenso em 1 a 2 mL do tampão de lavagem e vertido sobre 30 mL de tampão de purificação contendo *Percoll* 16 % (frutos verdes) ou 18% (frutos maduros) além de tampão de suspensão nas concentrações já mencionadas. O tubo foi centrifugado a 40.000 g por 45 minutos. As mitocôndrias purificadas foram então coletadas com a ajuda de uma pipeta Pasteur, na região central dos tubos, com posterior diluição de aproximadamente dez vezes com um novo tampão de lavagem contendo sacarose 0,3 mM e MOPS 10 mM e centrifugados a 27.000 g por 15 minutos. Este procedimento segue o protocolo proposto por Duque e Arrabaca (1999),

ajustado por Oliveira (2012), com devidos ajustes necessários para extração de mitocôndrias em goiabas.

#### 4. 6. Determinação da quantidade de proteínas

A concentração de proteínas foi medida utilizando o método de Bradford, (1976).

#### 4. 7. Determinação da atividade respiratória

Foi feita a utilização de 1mg de proteína para determinação da atividade respiratória das mitocôndrias através do método polarográfico, com utilização de um eletrodo do tipo Clark (Hansatech, Respire 1, UK), em 0,6mL de meio de reação contendo Mannitol 0.35M, Mops 10mM, KPi 10mM, KCl 10mM, MgCl<sub>2</sub> 5mM além de BSA 0,5%. Todo o ensaio foi realizado na presença de NADH 0,1M como substrato oxidável com intuito de encontrar evidências da capacidade fosforilativa das mitocôndrias após a adição de ADP 100nmoles. Após a adição de ADP esperava-se registrar os estados 3 e 4 da respiração para a determinação do controle respiratório (Duque e Arrabaça, 1999).

A participação da AOX foi medida com a adição de n-propil galato (n-PG) 50 mM no estágio 4 da respiração e expresso em porcentagem, após adicionou-se Azida de Potássio 0,08 M para confirmar que a respiração restante era proveniente da COX, processo adaptado de Duque e Arrabaça (1999).

#### 4. 8. Delineamento experimental e análise dos dados

Os ensaios foram conduzidos sob delineamento inteiramente casualizado (DIC) sob um esquema fatorial equivalente a 2 x 4 onde utilizou-se dois genótipos de goiabeira avaliados durante 4 tempos distintos após a colheita, nomeados 0, 2, 4 e 6 dias. Para 'Paluma' as análises se constituíram em seis repetições e para 'Cortibel' efetuaram-se quatro repetições. No caso da 'Cortibel' o número de repetições foi menor devido a imprevistos na disponibilidade do material durante o período de ensaio. Os tempos de amadurecimento foram avaliados por análise de variância para regressão (Teste F,  $P < 0,05$ ).

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade de Lilliefors e de homogeneidade de Cochran & Bartlett. Foi conduzida a análise de variância (ANOVA) e posterior comparação entre médias pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Foram realizadas correlações entre as variáveis de respiração com a expectativa de visualizar a existência de correlações paramétricas e não paramétricas com as demais. Toda a análise foi feita no programa Saeg (Seag, 2007).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Atributos físicos e químicos

As mudanças na coloração do epicarpo dos frutos de goiaba 'Paluma' e 'Cortibel' estão demonstradas de forma ilustrativa na Figura 1, onde é possível observar os frutos das respectivas cultivares e, principalmente, as mudanças de cor durante 6 dias após a colheita. A cor da casca dos frutos mudou após a colheita de um verde-claro no tempo 0 para o amarelo no dia 6. Na mesma figura estão apresentados os valores médios ( $\pm$  EP) do ângulo de cor hue (*Hue*, em °h) e a firmeza do pericarpo (FF, em N) em cada um dos dias avaliados após a colheita, parâmetros que apresentaram correlação como será mostrado adiante.

	T 0	T 2	T 4	T 6
<b>'Paluma'</b>				
<b>Hue (°h)</b>	118,4 (±0,5)	100,6 (±3,3)	90,0 (±3,2)	84,5 (±1,9)
<b>FF(N)</b>	15,2 (±1,1)	5,5 (±0,7)	2,6 (±0,1)	2,2 (±0,3)
<b>'Cortibel'</b>				
<b>Hue (°h)</b>	117,2 (±0,3)	110,1 (±3,3)	97,0 (±3,2)	84,3 (±1,0)
<b>FF(N)</b>	14,0 (±0,5)	5,3 (±0,8)	2,9 (±0,1)	2,9 (±0,02)

**Figura 1:** Imagens dos aspectos visuais dos frutos 'Paluma' e 'Cortibel' armazenados a  $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $85\%\pm 5\%$  durante 6 dias após a colheita. Abaixo das imagens a figura apresenta as médias ( $\pm$  EP) do ângulo de cor hue (*Hue*, em °h) e da firmeza do pericarpo (FF) em cada dia de avaliação.

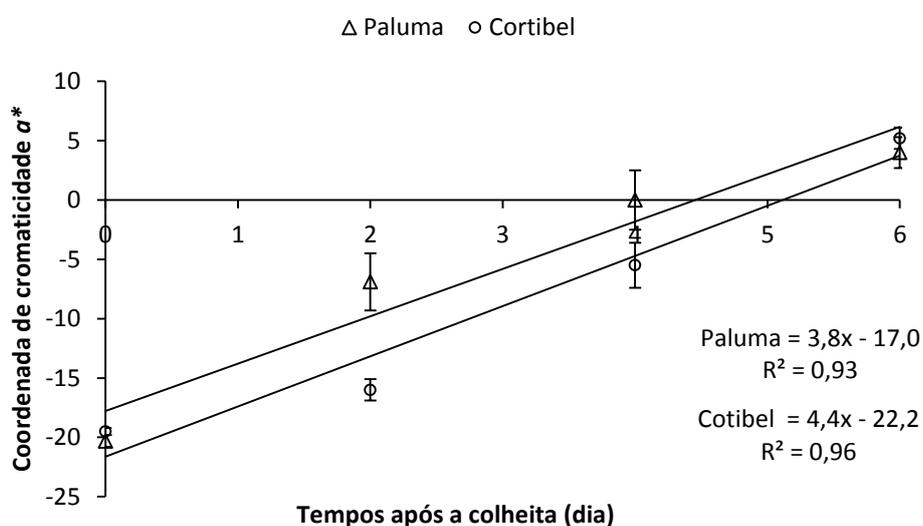
A ANOVA para os atributos de cor dos frutos indicou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os genótipos durante 6 dias após a colheita, mas não apresentou significância para todas as interações entre genótipos e o tempo de armazenamento após a colheita. Verificou-se diferença ( $P < 0,05$ ) em relação aos parâmetros de cor, cromaticidade  $b^*$  e croma ( $C^*$ ) entre os genótipos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resumo da ANOVA para os parâmetros de cor: índices de cromaticidade a\* e b\*, croma (C\*), luminosidade (L\*) e ângulo de cor *hue* (*Hue*, em °h) e coeficiente de variação (C.V., em %) em frutos de goiabeira ‘Cortibel’ e ‘Paluma’.

FV	a*			b*		C*		L*		Hue	
	GL	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F
<b>Genótipos (G)</b>	1	41,9	2,2 <sup>NS</sup>	99,7	5,4 <sup>*</sup>	109,0	8,5 <sup>**</sup>	17,4	1,6 <sup>NS</sup>	50,3	1,3 <sup>NS</sup>
<b>Tempo (T)</b>	3	575,2	30,1 <sup>**</sup>	132,0	7,1 <sup>**</sup>	45,8	3,6 <sup>*</sup>	197,6	18,6 <sup>**</sup>	1072,6	28,6 <sup>**</sup>
<b>Interação (GxT)</b>	3	22,4	1,2 <sup>NS</sup>	39,9	2,2 <sup>NS</sup>	33,7	2,6 <sup>NS</sup>	6,8	0,6 <sup>NS</sup>	20,2	0,5 <sup>NS</sup>
<b>Resíduo</b>	18	19,1		18,5		12,8		10,6		37,5	
<b>C.V.(%)=</b>		21,53		9,43		7,51		4,90		6,02	

(\*\*) Efeito significativo,  $P < 0,01$ , (\*) efeito significativo,  $P < 0,05$  e (NS) efeito não significativo, segundo o Teste F.

Em ambos os genótipos de goiaba avaliados, a evolução do índice de cromaticidade  $a^*$  seguiu uma tendência linear (Figura 2). Observa-se uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os genótipos estudados no segundo dia de armazenamento após a colheita (Tabela 1). Neste tempo, a cromaticidade  $a^*$  da casca da 'Paluma' foi de -6,9, enquanto na 'Cortibel' esse parâmetro de cor foi de -16,00. Considerando que o índice de cromaticidade  $a^*$  da casca das duas variedades era igual ( $P < 0,05$ ) no início do armazenamento dos frutos, conclui-se que a 'Paluma' mostrou uma evolução de cor mais rápida que a 'Cortibel'.



**Figura 2:** Médias de cromaticidade  $a^*$  do epicarpo de goiabas 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP).

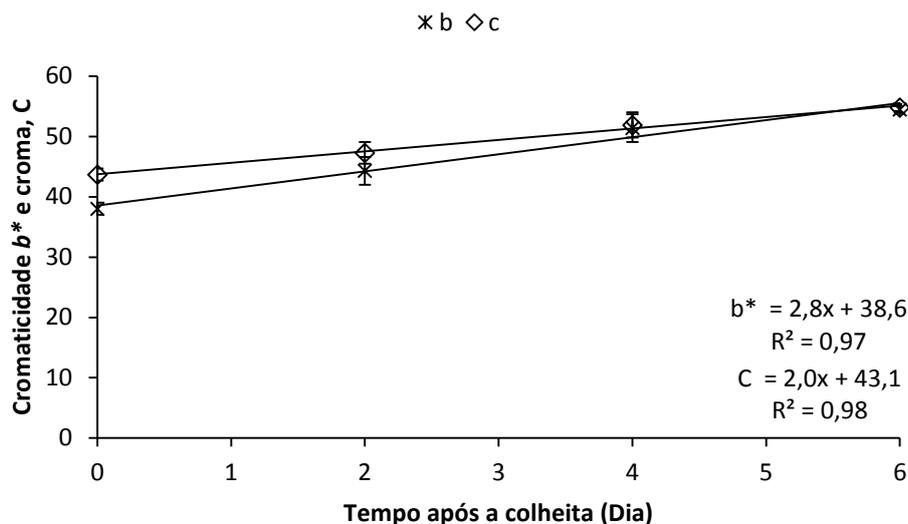
A cromaticidade  $a^*$  indica a mudança da cor verde (valores de  $a^*$  negativo) para o vermelho (valores de  $a^*$  positivo), confirmando que a 'Paluma' perdeu a cor verde mais rápido que a 'Cortibel'. A velocidade na mudança da coloração dos frutos está associada à velocidade da degradação da clorofila e, ou, na síntese de outros pigmentos da casca como por exemplo os carotenoides e as antocianinas (Pinto et al., 2013). Segundo esses autores, a evolução da cor em frutos de camu-camu, durante o amadurecimento se deve à degradação da clorofila presente inicialmente possibilitando a exposição das antocianinas responsáveis pela coloração final dos frutos.

Na comparação entre as duas variedades de goiaba, a precocidade na mudança de cor da 'Paluma' pode estar relacionada a uma maior atividade

metabólica do processo respiratório, bem como dos efeitos do etileno, como demonstrado por Andreuccetti et al. (2007). Esses autores, ao aplicarem inibidores da ação do etileno em frutos de tomate detectaram atrasos significativos no avanço da cor vermelha, além de queda na taxa respiratória.

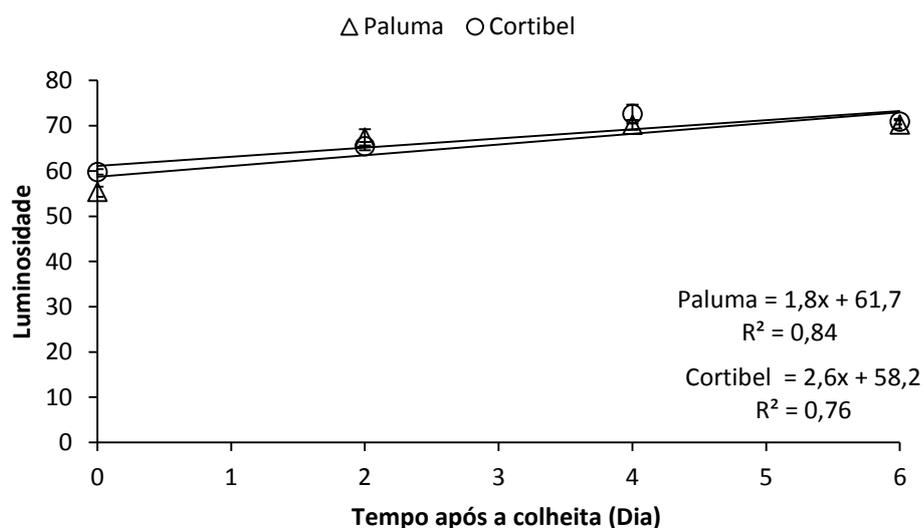
Enquanto o índice de cromaticidade  $b^*$  não variou durante o armazenamento da goiaba 'Paluma', este aumentou durante o mesmo período de amadurecimento da goiaba 'Cortibel', cuja variação durante os 6 dias após a colheita pode ser descrita ( $P < 0,05$ ) por uma equação linear. Ainda em relação a esse parâmetro de cor, observa-se uma diferença entre os genótipos a partir do quarto dia após a colheita dos frutos, quando a cromaticidade  $b^*$  foi maior ( $P < 0,05$ ) na goiaba 'Cortibel'. Essa mesma tendência foi observada para o parâmetro de cor  $C^*$  da casca (Figura 3).

A precocidade na transformação da cor em 'Paluma' está associada a mudanças no parâmetro  $a^*$  enquanto não se observa mudanças significativas nesta cultivar para os parâmetros  $b^*$  e  $C^*$  no decorrer do tempo. Em 'Cortibel',  $b^*$  e  $C^*$  sofrem mudanças no decorrer do período pós-colheita, enquanto  $a^*$  mudou de forma mais lenta quando comparado às mudanças verificadas em 'Paluma', permitindo observar que neste genótipo as transformações na pigmentação da casca dos frutos podem ser acompanhadas por estes três parâmetros,  $a^*$ ,  $b^*$  e  $C^*$ . Assim, os parâmetros  $b^*$  e  $C^*$  refletem a mudança de cor em 'Cortibel', evento observado em citros quando a mudança na coloração dos frutos se reflete na cromaticidade permitindo acompanhar a transformação da coloração verde e escura para o amarelo-claro e vívido (Pereira et al., 2014). Na 'Cortibel' estes dois parâmetros,  $b^*$  e  $C^*$  apresentaram tendência linear crescente (Figura 3).



**Figura 3:** Médias de cromaticidade  $b^*$  e cromina ( $C^*$ ) do epicarpo de goiabas 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP).

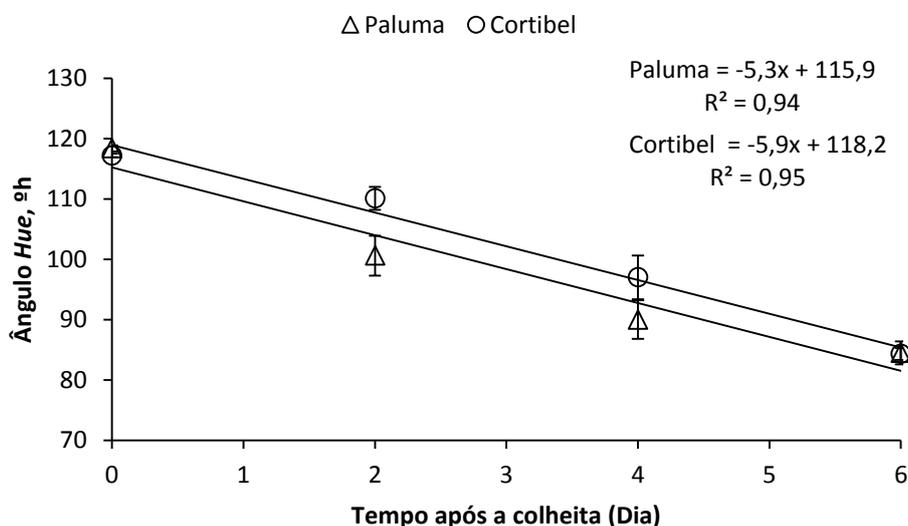
A luminosidade da casca ( $L^*$ ) não diferiu ( $P < 0,05$ ) entre as cultivares, aumentando durante o amadurecimento dos frutos, conforme indicam as equações de regressão. No início do armazenamento a luminosidade era da ordem de 55 a 60 e atingiu valores entre 70 e 72 aos 6 dias após a colheita (Figura 4). Estes valores são coerentes com aqueles encontrados na literatura tanto para as cultivares avaliadas neste trabalho quanto para outras cultivares (Matiuz e Durigan, 2001; Pereira et al., 2005; Morgado et al., 2010).



**Figura 4:** Médias de luminosidade da casca ( $L^*$ ) de frutos de goiaba 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP).

Os valores de luminosidade se alteram conforme os frutos amadurecem e sua cor verde-escura passa a um amarelo-claro, o que eleva o brilho e a reflexão da luz sobre a casca, com conseqüente aumento do parâmetro de luminosidade. Outros fatores podem afetar negativamente a luminosidade de frutos de goiaba diminuindo a qualidade do produto, como por exemplo injúrias mecânicas e ataques de patógenos, que ao provocarem o rompimento celular acabam por ocasionar extravasamento citosólico expondo este material a atividade enzimática responsável por provocar o escurecimento da casca (Mattiuz e Durigan, 2001).

O ângulo de cor *hue* da casca diferiu entre as cultivares quando os frutos atingiram dois dias de armazenamento após a colheita, com a goiaba 'Paluma' apresentando ângulo *hue* de 100,6 °h, menor ( $P < 0,05$ ) que 110,1 °h registrado para a 'Cortibel' (Figura 5). Essa diferença entre as cultivares indica uma coloração mais amarelada para a 'Paluma' já a partir do segundo dia após a colheita. Esta diferença na evolução da cor entre as duas cultivares no índice de cromaticidade  $a^*$  e no ângulo *Hue* é indicativa de uma precocidade da 'Paluma' no amarelecimento da casca em relação a 'Cortibel'.



**Figura 5:** Médias de cor *hue* (*Hue*, em °h) da casca da goiaba 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP).

A ANOVA para os demais atributos físicos e químicos como PM, FF, teor de SS e de AA, AT e *ratio* indicou que apenas em relação à FF não foi verificada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os genótipos. Por outro lado, a

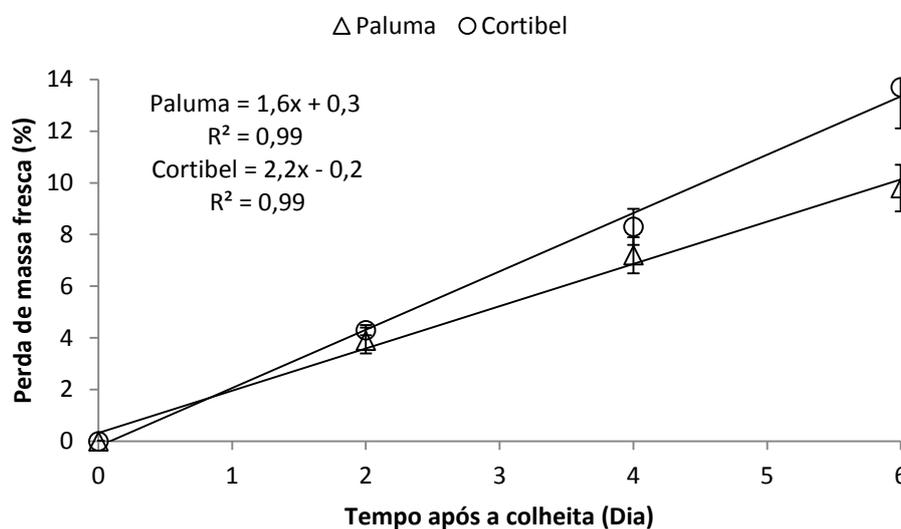
AT, o teor de SS e o *ratio* não apresentaram variações significativas em função do tempo de amadurecimento dos frutos após a colheita, diferentemente da PM, da FF e do teor de AA (Tabela 2).

**Tabela 2.** Resumo da ANOVA para os atributos físicos e químicos: perda de massa fresca (PM, em %), firmeza do pericarpo (FF, em N), teor de sólidos solúveis (SS, em °Brix), teor de ácido ascórbico (AA, em mg AA 100g<sup>-1</sup> MF), acidez titulável (AT, em % de ácido cítrico) e razão SS/AT (*ratio*) e coeficiente de variação (C.V., em %) em frutos de goiabeira 'Cortibel' e 'Paluma' durante 6 dias após a colheita.

FV	PM		FF		AT		AA		SS		<i>ratio</i>		
	GL	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F
<b>Genótipos (G)</b>	1	16,2	6,7 *	3,3	1,4 <sup>NS</sup>	0,8	95,4 **	970,3	4,5 *	8,3	6,8 *	288,8	21,0 **
<b>Tempo (T)</b>	3	216,4	89,6 **	202,7	87,7 **	0,01	1,5 <sup>NS</sup>	3179,8	14,8 **	2,6	2,1 <sup>NS</sup>	3,1	0,2 <sup>NS</sup>
<b>Interação(GxT)</b>	3	6,1	2,5 <sup>NS</sup>	1,8	0,8 <sup>NS</sup>	0,01	1,3 <sup>NS</sup>	58,2	0,2 <sup>NS</sup>	1,1	0,9 <sup>NS</sup>	0,5	0,0 <sup>NS</sup>
<b>Resíduo</b>	18	2,4		2,3		0,8		214,5		1,2		13,8	
<b>C.V.(%)=</b>		27,2		22,9		14		21,8		11,8		24,1	

(\*\*) Efeito significativo, P<0,01, (\*) efeito significativo, P<0,05 e (NS) efeito não significativo, segundo o Teste F.

Com relação à PM, a ANOVA indicou diferença significativa entre os dois genótipos (Tabela 2). A análise de regressão apresentou uma evolução crescente na PM, onde se verifica maior PM na goiaba 'Cortibel', a partir do 4º dia de armazenamento dos frutos (Figura 6).



**Figura 6:** Médias de perda de massa fresca (PM, em %) em goiabas 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP).

Os resultados apresentados por Cerqueira et al. (2011) e Ribeiro et al. (2005) são próximos àqueles demonstrados no presente trabalho para a 'Paluma', onde ao avaliarem a perda de massa de goiabas 'Kumagai' e 'Paluma' encontraram valores por volta de 7% e 10% ao 6º dia após a colheita, respectivamente. Jacomino et al. (2003), analisando o amadurecimento da goiaba 'Pedro Sato' encontraram valores de PM próximos de 9% para o 6º dia após a colheita dos frutos. A PM na goiaba 'Cortibel' no 6º dia de armazenamento foi de 13,7%, portanto maior ( $P < 0,05$ ) que o verificado na 'Paluma' que foi de 9,8% (Tabela 4). Esses dados são semelhantes àqueles verificados por Wener et al. (2009), em goiabas 'Cortibel' que no 6º dia de avaliação verificaram perda equivalente a 16,84%, sendo esta PM superior àquela observada em outras cultivares.

Alguns fatores podem ter significativa influência na PM dos frutos, contribuindo para a diminuição da qualidade destes. O controle da umidade relativa no interior da câmara de armazenamento influencia bastante na PM de

produtos estocados, sendo muito dependente da temperatura ambiente. A PM fresca pode ser minimizada através do controle minucioso do ambiente de armazenamento, onde a absorção de água do ambiente interno torna possível o controle exato da transpiração, permitindo fazê-la de modo constante durante todo o período de armazenamento (Pinto et al., 2012).

Pinto et al. (2012) observaram em frutos de pêsego uma relação direta da PM com o aumento na firmeza do pericarpo, lanosidade, teor de sólidos solúveis, respiração do fruto intacto, redução da suculência, produção de etileno e atividade da enzima ACO.

Assim, elevadas PM frescas podem traduzir-se em diminuição na qualidade do fruto, de forma que pelos resultados relacionados à PM deste trabalho, a goiaba 'Paluma' apresenta maior potencial para a perda de qualidade em comparação aos frutos da 'Cortibel'.

Os testes de FF não apresentaram diferença significativa entre os genótipos, demonstrando uma evolução comum entre as duas cultivares (Tabela 3).

**Tabela 3.** Médias ( $\pm$  EP) para os parâmetros físicos e químicos: firmeza do pericarpo (FF, em N), acidez titulável (AT, em % de ácido cítrico), teor de sólidos solúveis (SS) e razão SS/AT (*Ratio*).

Variável	Genótipo	Dias após a colheita				Equação $y = B_2x^2+B_1x+B_0$	Teste t		R <sup>2</sup>
		0	2	4	6		B <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	
FF	Paluma	15,2 A ( $\pm 1,1$ )	5,5 A ( $\pm 0,7$ )	2,6 A ( $\pm 0,1$ )	2,2 A ( $\pm 0,3$ )	$\hat{Y}=0,58x^2-5,57x+14,99$	-	-10,2**	1,0**
	Cortibel	14,0 A ( $\pm 0,5$ )	5,3 A ( $\pm 0,8$ )	2,9 A ( $\pm 0,1$ )	2,9 A ( $\pm 0,02$ )	$\hat{Y}=0,54x^2-5,02x+13,78$	-	-12,1**	0,99**
AT	Paluma	0,9 A ( $\pm 0,05$ )	0,8 A ( $\pm 0,04$ )	1,0 A ( $\pm 0,04$ )	0,8 A ( $\pm 0,1$ )	$\hat{Y} = 0,9 \pm 0,1$	-	-	-
	Cortibel	0,5 B ( $\pm 0,03$ )	0,5 B ( $\pm 0,05$ )	0,5 B ( $\pm 0,03$ )	0,5 B ( $\pm 0,1$ )	$\hat{Y} = 0,5 \pm 0,0$	-	-	-
SS	Paluma	10,3 A ( $\pm 0,4$ )	9,3 A ( $\pm 0,4$ )	11,2 A ( $\pm 0,3$ )	9,4 A ( $\pm 0,6$ )	$\hat{Y} = 10 \pm 0,9$	-	-	-
	Cortibel	8,00 B ( $\pm 0,7$ )	9,3 A ( $\pm 0,7$ )	9,2 B ( $\pm 0,2$ )	8,1 A ( $\pm 0,8$ )	$\hat{Y} = 8,6 \pm 0,7$	-	-	-
Ratio	Paluma	11,7 B ( $\pm 1,1$ )	11,8 B ( $\pm 0,5$ )	11,4 B ( $\pm 0,2$ )	12,4 A ( $\pm 1,3$ )	$\hat{Y} = 11,8 \pm 0,4$	-	-	-
	Cortibel	18,0 A ( $\pm 0,8$ )	19,9 A ( $\pm 1,8$ )	19,0 A ( $\pm 1,0$ )	17,9 A ( $\pm 5,6$ )	$\hat{Y} = 18,7 \pm 0,9$	-	-	-

(\*) Médias de cada variável seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si segundo o teste de Tukey ( $P < 0,05$ ; DMS=0,1975); (\*) Efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para a contribuição dos termos de B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> ao modelo de regressão e coeficiente de regressão (R<sup>2</sup>) segundo o teste F, e (NS) Efeito não significativo. .

A média inicial da força utilizada para romper o pericarpo dos frutos variou desde 15,2 N a 2,2 N, na goiaba 'Paluma' e entre 14,0 N e 2,9 N na 'Cortibel', durante 6 dias após a colheita. A maior redução na firmeza ocorreu até o 2º dia de avaliação, em ambas as cultivares, como pode ser visto na Tabela 3. Azzolini et al. (2004), também detectaram uma rápida diminuição da firmeza em goiaba, ocorrida também entre 0 e 2 dias após a colheita, o que por sua vez está associado à dissolução do material pectinolítico, componente da parede celular. Esse processo ocorre devido à ação de enzimas específicas responsáveis pela hidrólise deste material com consequente amolecimento da polpa devido à perda de coesão entre as células (Grigio et al., 2011; Ramos et al., 2013). A ativação destes processos enzimáticos, assim como sua manutenção, estão relacionadas tanto com a velocidade do metabolismo respiratório, quanto com a elevação da produção de etileno no tecido.

Visto a grande dificuldade imposta pelo amolecimento da polpa no transporte, manuseio e armazenamento da goiaba, o qual provoca rompimento da polpa e possibilita a entrada de patógenos levando desqualificação da mercadoria, utilizar de tecnologias que influenciem de forma a retardar a perda de firmeza torna-se essencial, desde que efetuada antes do segundo dia após a colheita. Qualquer tentativa de manter a firmeza do pericarpo dos frutos através de técnicas específicas será ineficiente para esta espécie após o segundo dia de armazenamento como verificado nos resultados, já que estes encontram-se com firmeza consideravelmente reduzida após dois dias de colheita.

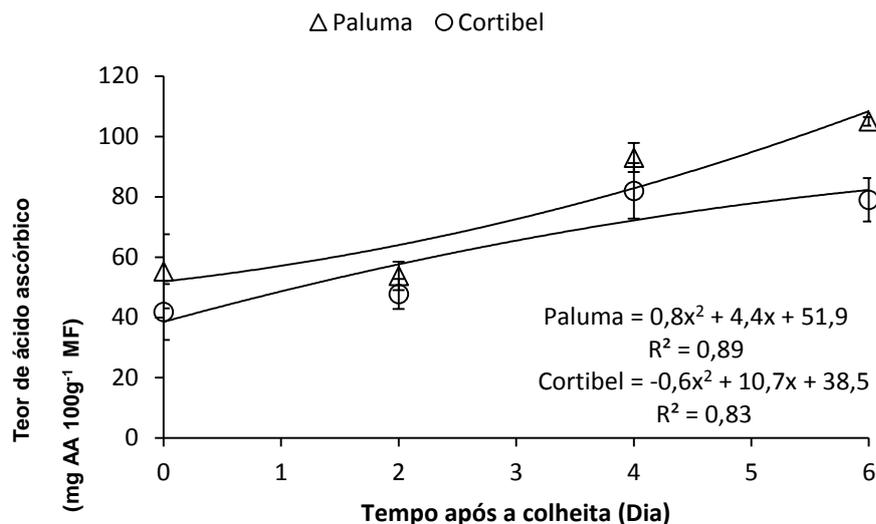
Quanto à AT, não foi verificada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em função do tempo de armazenamento dos frutos, assim como também não foi identificada ( $P < 0,05$ ) interação entre os genótipos e o tempo de armazenamento. Por outro lado, verificou-se uma diferença ( $P < 0,05$ ) entre as cultivares em relação à AT (Tabela 3). A goiaba 'Paluma' apresentou maior AT durante todo o período de amadurecimento dos frutos, com valores médios de 0,9 % de ácido cítrico contra 0,5 % de ácido cítrico na goiaba 'Cortibel'.

Esta significativa diferença entre as cultivares de goiaba quanto à AT, expressa como percentagem de ácido cítrico, também pode significar contrastes marcantes no sabor e diferença na aceitação destes produtos pelo consumidor. Essa afirmação está baseada na influência dos ácidos orgânicos e

sua relação com o teor dos açúcares sobre o sabor dos frutos (Couto e Canniatti-Brazaca, 2010).

Na maioria das espécies a AT tende a diminuir conforme o fruto amadurece (Antunes et al., 2003), devido à utilização deste composto como substrato na via respiratória, mais precisamente na etapa do ciclo dos ácidos tricarbóxicos (Ribeiro et al., 2005; Chitarra e Chitarra, 2005). Boas et al. (2004) ao efetuarem a aplicação de ácido cítrico em fatias de manga minimamente processada observaram uma menor utilização dos açúcares tradicionalmente conhecidos como substrato da via respiratória, efeito esse devido à conservação destes açúcares em função da aplicação do ácido cítrico, que foi consumido por vias metabólicas, principalmente a respiração, antes destes carboidratos. Todavia, ao que parece, não é isso que ocorre geralmente com a goiaba. Curiosamente, a AT desta espécie tende a se elevar ou pelo menos manter-se estável após a colheita, como foi observado no presente estudo, provavelmente devido à interferência da grande quantidade de ácido ascórbico verificada na goiaba (Azzolini et al., 2004; Cerqueira et al., 2011), que sendo acumulado durante o amadurecimento do fruto compensaria, de certa forma, a redução na AT.

O teor de AA difere ( $P < 0,05$ ) entre as cultivares de goiaba analisadas, assim como em função do tempo de amadurecimento dos frutos (Tabela 2). Observa-se um aumento no teor de AA para as duas variedades durante o amadurecimento dos frutos, com destaque para a goiaba 'Paluma' que acumulou mais AA que a 'Cortibel' ao sexto dia após a colheita dos frutos. Neste período, o teor de AA na goiaba 'Paluma' era de  $105,2 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{ g MF}$ , contra  $79,04 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{ g MF}$  da 'Cortibel', indicando uma diferença de quase 25% no teor de AA entre as duas variedades.



**Figura 7:** Médias de ácido ascórbico (AA, em mg.100g<sup>-1</sup> MF) em 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP).

Estes resultados estão coerentes com os encontrados por Gull et al. (2012), que encontraram teores de AA em três genótipos de goiaba similares àqueles apresentados neste trabalho, além de detectarem a elevação deste componente durante o armazenamento dos frutos, assim como ocorreu com a 'Paluma' e a 'Cortibel'. Outros autores trabalhando, também, com as goiabas 'Paluma' e 'Cortibel' verificaram teores próximos a estes, assim como tendência semelhante de elevação durante o amadurecimento dos frutos (Adrees et al., 2010; Valente et al., 2011; Brackmann et al., 2012). Isto mostra que a elevação no teor de AA durante o amadurecimento do fruto, além da grande quantidade acumulada, são possivelmente características comuns da espécie e independem do genótipo. A evolução da concentração de AA pode ser acompanhada na Figura 7, onde é possível observar elevação no teor de AA em ambos os genótipos ainda que na 'Paluma' este aumento tenha sido mais pronunciado.

Em ambas as cultivares observa-se um aumento maior no teor de AA a partir do segundo dia após a colheita, período que sucede elevada queda na firmeza do pericarpo dos frutos. É provável que o processo que resultou na perda de FF tenha contribuído para a elevação do teor de AA, uma vez que a degradação da parede celular resulta na liberação de alguns dos precursores

da via de síntese do AA (Wheeler et al., 1998; Smirnov et al., 2001). A degradação dos polissacarídeos da parede celular pode assim elevar a disponibilidade de galactose, um precursor da via de síntese do ácido ascórbico (Mercado-silva et al., 1998; Tezotto et al., 2011; Pinto et al., 2013).

O teor de SS não apresentou diferença significativa durante o período de armazenamento dos frutos nas duas cultivares, assim como não foi verificada interação entre os genótipos e o tempo de armazenamento dos frutos. Por outro lado, observa-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os genótipos (Tabela 2). Novamente, observa-se que a goiaba 'Paluma' mostra-se superior à 'Cortibel', quando apresenta teor de SS superior ( $P < 0,05$ ) no início e no 4º dia após a colheita dos frutos (Tabela 3). Enquanto o teor de SS da 'Paluma' apresentou-se constante variando de  $10,3^{\circ}\text{Brix} \pm 0,4^{\circ}\text{Brix}$  a  $9,4^{\circ}\text{Brix} \pm 0,6^{\circ}\text{Brix}$ , a 'Cortibel' diferiu da 'Paluma' durante a pós-colheita com valor mínimo de  $8,0^{\circ}\text{Brix} \pm 0,7^{\circ}\text{Brix}$  no dia 0 e valor máximo atingindo  $9,3^{\circ}\text{Brix} \pm 0,7^{\circ}\text{Brix}$  no dia 2 com valores inferiores de SS quando comparados aos da 'Paluma' no dia 0 e 4 de avaliação. Estes resultados referentes ao teor de SS estão de acordo com os encontrados por Oliveira et al. (2014) e Coser et al. (2014), para as respectivas cultivares estudadas.

A composição de açúcares em fruteiras constitui importante parâmetro relacionado ao sucesso na comercialização e aceitação destas hortifrutícolas pelos consumidores. O conhecimento do teor de SS possibilita escolher cultivares quanto à sua aptidão, seja para consumo *in natura* ou utilização na indústria. Ainda que o teor de SS apenas não seja suficiente para distinguir a aptidão das cultivares, genótipos com este parâmetro mais elevado demonstram qualidade pós-colheita positiva. (Carvalho et al., 2004).

O teor de açúcares pode apresentar distinção em sua acumulação a depender de fatores externos, tais como tratamentos culturais desde adubação e irrigação durante a pré-colheita até se o cultivo foi realizado no inverno ou no verão, provocando influência direta no teor de SS detectado, tais como ocorrem em cultivares de uva. Desta forma, esta característica pós-colheita, assim como outras, podem sofrer alteração a depender do manejo utilizado durante a produção (Júnior et al., 2014).

Durante a etapa após a colheita o teor de SS pode ser conservado e até mesmo melhorado, como demonstrado no trabalho de Campos et al. (2011),

onde ao aplicarem radiação gama em goiabas armazenadas em atmosfera modificada detectaram maior teor de SS quando comparadas ao tratamento controle. A utilização de técnicas que conservem os bons atributos adquiridos durante a pré-colheita agrega valor financeiro aos produtos, além disso, tais técnicas podem atribuir valor àqueles produtos com características de qualidade inferiores quando comparadas a outros produtos, como no caso da 'Cortibel'.

A relação entre o teor de SS e a AT, também chamado de *Ratio*, é um parâmetro que descreve de forma relativamente precisa o potencial de aceitação do fruto pelo consumidor, por representar o balanço entre os sabores doce e o ácido, além de servir como indicador do ponto de colheita (Couto e Canniatti-Brazaca, 2010). A análise do *Ratio* confirma que há diferença estatística ( $P < 0,01$ ) entre os genótipos, porém essa variável não apresenta mudança durante o amadurecimento dos frutos, independente do genótipo (Tabela 3).

O *Ratio* não variou durante o tempo de armazenamento dos frutos, não sendo possível o ajuste a um modelo de regressão com um mínimo de significância. O valor médio de *Ratio* registrado para a goiaba 'Paluma' foi de 11,8 enquanto para a 'Cortibel' foi de 18,7. A goiaba 'Paluma' apresentou maior *Ratio* no tempo 4 ( $12,4 \pm 1,3$ ) enquanto a 'Cortibel' atingiu seu maior valor no tempo 2 ( $19,9 \pm 1,8$ ), o que significa uma diferença de 37,7% a favor da 'Cortibel'. Desde o primeiro dia a 'Cortibel' demonstra diferenças percentuais acima da 'Paluma', bem próximas àquela encontrada em seu valor máximo, onde a 'Paluma' permanece com o *Ratio* médio por volta de 11,6 até o dia 4 enquanto a 'Cortibel' permanece com valores médios constantes de 19,0 também até o dia 4 após a colheita. Os valores então se igualam estatisticamente ( $P < 0,05$ ) entre as cultivares ao alcançarem o dia 6.

Estes resultados revelam a maior ( $P < 0,01$ ) doçura para os frutos da goiaba 'Cortibel' que apresentaram valores de *Ratio* acima de 17 aos 0, 2 e 4 dias após a colheita, enquanto a 'Paluma' não superou ( $P < 0,01$ ) esse nível verificado na 'Cortibel', em nenhum momento durante todo o período após a colheita.

Os valores apresentados neste trabalho são provavelmente devidos à AT, uma vez que mesmo que os valores do teor de SS tenham sido diferentes,

esta diferença foi menor do que aquela verificada na AT entre as duas cultivares (Tabela 3). Almeida e Durigan, (2006) demonstraram em seu trabalho com pêssego que maiores teores de açúcares resultando em elevado sabor doce não contribuíram para um aumento no preço dos produtos ou elevação dos lucros dos produtores. O fator de qualidade relacionado ao tamanho dos frutos influenciou muito mais na escolha e na compra dos frutos.

Assim, a cultivar 'Paluma' tem demonstrado atributos químicos e físicos relacionados à qualidade durante os dias após a colheita superiores à 'Cortibel'. Ainda que seus atributos de cor, *Hue* e  $a^*$ , possam evoluir de forma mais precoce, a 'Paluma' sobrepôs as características da 'Cortibel' na PM, AT, SS e AA.

## 5.2. Atividade respiratória

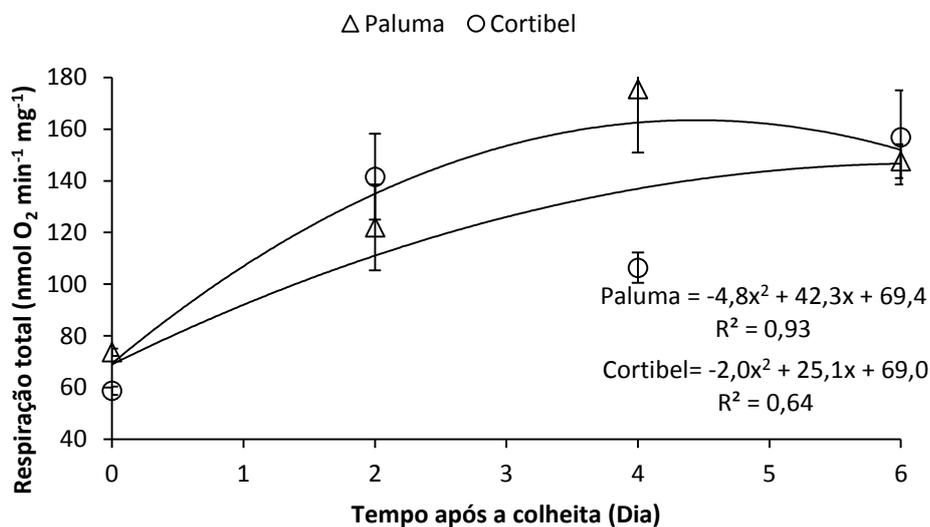
Verificou-se que não há diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as cultivares estudadas em relação à atividade respiratória em mitocôndrias isoladas, sendo verificado efeito do tempo após a colheita no nível da respiração total (RESP) e residual (RESID), assim como a interação entre o genótipo e o tempo para a RESP, a participação da oxidase alternativa (%AOX) e na RESID (Tabela 4). A %AOX em mitocôndrias isoladas de goiaba não foi influenciada pelo genótipo, nem pelo tempo após a colheita, assim como também não houve efeito significativo da interação do genótipo com o tempo de amadurecimento dos frutos analisados.

**Tabela 4.** Resumo da ANOVA para a respiração total (RESP, em  $\text{nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ ), participação da citocromo c oxidase (%COX), participação da oxidase alternativa (%AOX), respiração residual (RESID, em %) e coeficiente de variação (C.V., em %) em mitocôndrias isoladas de polpa de goiaba 'Cortibel' e 'Paluma' durante 6 dias após a colheita.

FV	RES			%COX		%AOX		%RESID	
	GL	QM	F	QM	F	QM	F	QM	F
<b>Genótipos (G)</b>	1	1710,5	1,4 <sup>NS</sup>	0,0	0,0 <sup>NS</sup>	0,5	0,0 <sup>NS</sup>	0,3	0,0 <sup>NS</sup>
<b>Tempo (T)</b>	3	13095,8	10,9 <sup>**</sup>	191,3	1,4 <sup>NS</sup>	119,0	0,9 <sup>NS</sup>	19,4	0,9 <sup>NS</sup>
<b>Interação (GxT)</b>	3	3684,2	3,1 <sup>*</sup>	477,2	3,4 <sup>*</sup>	278,8	2,0 <sup>NS</sup>	59,3	2,6 <sup>NS</sup>
<b>Resíduo</b>	29	1195,5		139,9		136,2		22,6	
<b>C.V.(%) =</b>		27,8		13,4		119,3		6,02	

(\*\*) Efeito significativo,  $P < 0,01$ , (\*) efeito significativo,  $P < 0,05$  e (NS) efeito não significativo, segundo o Teste F.

A respiração total em mitocôndrias purificadas (Tabela 4), expressa como  $\text{nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ , mudou em função do tempo de amadurecimento dos frutos, cuja tendência pode ser descrita por uma equação quadrática, em ambas as cultivares (Figura 8).



**Figura 8:** Médias de Respiração total (RESP  $\text{nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ ) da 'Paluma' e 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, com erro padrão das médias ( $\pm$  EP).

Como representado na figura acima, a respiração total foi crescente no período após a colheita tanto para 'Paluma' ( $P < 0,05$ ) quanto para 'Cortibel' ( $P < 0,01$ ). A 'Paluma' apresenta valores crescentes durante os dias 0, 2 e 4 com queda no consumo de oxigênio apenas no sexto dia de avaliação onde a taxa decaiu de  $175,5 \text{ nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  no dia 4 para  $147,6 \text{ nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  no dia 6. Enquanto isso, a 'Cortibel' teve valores crescentes nos dias 0 e 2 com queda na taxa respiratória no dia 4, posteriormente elevando-se o consumo de  $\text{O}_2$  no sexto dia de armazenamento. Durante esta queda da 'Cortibel' o consumo de  $\text{O}_2$  passou de  $141,6 \text{ nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  no dia 2 para  $106,4 \text{ nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  no dia 4.

Este declínio na taxa respiratória da 'Cortibel' verificado no dia 4 unido à respiração crescente da 'Paluma' até o dia 4 provocaram diferença significativa na atividade respiratória na interação do genótipo versus tempo (GxT), ainda que a tendência geral tanto de uma quanto da outra seja de aumento. Desta forma, a diferente respiração total destas duas cultivares no dia 4 tornou a

'Paluma' o fruto com taxa respiratória mais elevada, já que estatisticamente as cultivares têm taxa igual nos outros tempos de avaliação ( $P < 0,05$ ). Isso ocorre porque ainda que a respiração da 'Paluma' sofra declínio no sexto dia este ainda não é maior do que aquele apresentado pela 'Cortibel' no dia 4 de avaliação.

A maior taxa respiratória encontrada na goiaba 'Paluma' observada no 4º dia de armazenamento dos frutos, pode estar associada a uma maior disponibilidade de intermediários utilizados no metabolismo respiratório, tais como carboidratos e ácidos orgânicos (Lee et al., 2010). Como mostrado anteriormente esta cultivar apresentou níveis de SS e AT superiores aos da 'Cortibel', parâmetros constituídos principalmente por substratos da via respiratória, mais precisamente o ciclo dos ácidos tricarboxílicos (Boas et al., 2004).

Os dois materiais apresentaram teor de SS semelhantes ( $P < 0,05$ ) no 2º dia após a colheita. No dia 4 as cultivares diferiram entre si quanto ao teor de SS com a 'Paluma' apresentando maior valor do que 'Cortibel', momento em que é notável a diminuição da RES da 'Cortibel' em relação à 'Paluma' (Tabela 3 e Figura 8). Segue-se então a avaliação no 6º dia após a colheita dos frutos quando o teor de SS entre as cultivares de goiaba se igualam sendo possível observar um aumento na taxa respiratória total da 'Cortibel' enquanto a da 'Paluma' parece se manter e a taxa respiratória total dos dois materiais se iguala estatisticamente.

Os teores de ácido cítrico também se mostraram maiores na 'Paluma'. Quanto a esta característica, isso ocorreu em todos os períodos avaliados no armazenamento (Tabela 3). Não se pode descartar a hipótese de que a maior AT encontrada na 'Paluma' possa interferir na etapa respiratória positivamente, contribuindo assim para a diferença ( $P < 0,05$ ) na taxa respiratória total encontrada no dia 4 entre as duas cultivares. Como já mencionado, este ácido orgânico é amplamente utilizado pelo tecido vegetal como substrato respiratório. Este evento foi observado por Castro et al, (2013), em trabalho que avaliava a atividade respiratória de frutos de mangueira, onde os ácidos orgânicos eram amplamente consumidos pela atividade respiratória.

Todavia, ainda que com diferenças, as duas cultivares apresentaram tendência a elevação da respiração. Outro fator que reforça a hipótese de

aumento da disponibilidade de substrato respiratório elevando a taxa total das cultivares é o padrão de mudança na firmeza do pericarpo destes frutos. Ambas as cultivares apresentaram acentuada queda na firmeza do pericarpo até o dia 2 de avaliação (Tabela 3), período em que é notável o acréscimo na taxa respiratória total das cultivares. Do dia 0 para o dia 2 a 'Paluma' muda sua taxa respiratória de  $73,7 \text{ nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  para  $122,0 \text{ nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  e a 'Cortibel' apresenta distância maior entre os valores destes dias com  $58,8 \text{ nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  no dia 0 e  $141,6 \text{ nmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  no dia 2.

Diversos trabalhos deixam clara a relação entre a hidrólise da parede celular por suas enzimas específicas, principalmente na etapa de amadurecimento, e o processo respiratório unido ao aumento da produção de etileno (Conway et al., 1994; Pinto et al., 2013). Enquanto se eleva a produção de etileno, as enzimas envolvidas na degradação da parede, PME e PG (Pinto et al., 2013; Vilas Boas et al., 2013), têm sua atividade e expressão elevadas, a degradação dos componentes pectinolíticos da parede celular propicia a utilização destes no processo respiratório (Yamamoto et al., 2011). Assim, a rápida diminuição da firmeza destes frutos observada logo no dia 2 de armazenamento pode relacionar-se ao aumento no processo respiratório ocorrido.

A produção de AA também mostrou elevação acentuada em ambas as cultivares, o que é esperado, já que a degradação da parede celular pode fornecer substratos para a síntese do AA (Mercado-silva et al., 1998; Tezotto et al., 2011; Pinto et al., 2013). Possivelmente a respiração das cultivares aumentou com a contribuição da etapa de síntese do AA. Sabe-se que a etapa final da síntese de AA tem como sítio a mitocôndria, mais precisamente a membrana interna, onde a oxidação de GL e consequente formação de AA tem suporte na CTE, de forma que é o citocromo c o receptor dos elétrons provenientes desta reação, responsável por também reduzir a COX que por fim utiliza estes elétrons para reduzir  $\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ . Isso torna o AA um importante substrato respiratório e influente no consumo de oxigênio, possibilitando aumentos na atividade mitocondrial de tecidos com elevação de seu teor, como pode ter ocorrido nas cultivares avaliadas (Bartoli et al., 2000).

Há trabalhos que avaliando a respiração de diferentes órgãos vegetais, desde tubérculos, até frutos climatéricos ou não, atribuem a elevação das taxas

respiratórias à maior disponibilidade de substratos utilizados nesta via (Prado et al., 2005; Galho et al 2007; Vitti et al., 2009; Costa et al., 2012). A redução na disponibilidade destes substratos pode resultar na diminuição na taxa respiratória destes órgãos vegetais. Isto é observado geralmente em órgãos vegetativos, onde a taxa respiratória tende a decrescer logo após a colheita em decorrência da diminuição dos carboidratos solúveis (Édres et al., 1999).

Talvez, isto ajude a explicar a diferença na respiração verificada entre as duas cultivares de goiaba no 4º dia de armazenamento dos frutos (Figura 8). É razoável afirmar que os menores valores de SS e de AT encontrados na goiaba 'Cortibel' influenciaram negativamente na respiração desses frutos, em decorrência da menor quantidade de substratos responsáveis pela manutenção da via, como alguns autores puderam verificar o uso destes substratos no processo respiratório de algumas espécies, a exemplo de Júnior et al. (2007) em manga e Mota et al. (2006) em maracujá-amarelo.

Não foi observada diferença significativa entre as cultivares, nem em função do tempo após a colheita dos frutos com relação à contribuição da COX para a respiração total. A ANOVA mostrou efeito significativo apenas para a interação genótipo x tempo após a colheita no que diz respeito à participação da COX (Tabela 4). Apenas no início do armazenamento dos frutos (tempo 0) pode-se verificar uma maior ( $P < 0,05$ ) participação da COX na goiaba 'Cortibel' em relação à verificada na 'Paluma', porém não foi verificada qualquer variação significativa durante todo o período após a colheita de ambas as cultivares (Tabela 5).

**Tabela 5.** Médias ( $\pm$  EP) para a participação da citocromo c-Oxidase (%COX), participação da oxidase alternativa (%AOX) e da respiração residual (RESID, em %).

Variável	Genótipo	Dias após a colheita				Equação $y = B_2x^2 + B_1x + B_0$	Teste t		R <sup>2</sup>
		0	2	4	6		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	
%COX	Paluma	78,5 B ( $\pm 7,9$ )	94,5 A ( $\pm 4,7$ )	91,2 A ( $\pm 5,6$ )	87,9 A ( $\pm 7,4$ )	$\hat{Y} = 88,0 \pm 6,4$	-	-	-
	Cortibel	97,6 A ( $\pm 2,4$ )	83,6 A ( $\pm 4,2$ )	95,2 A ( $\pm 3,1$ )	75,6 A ( $\pm 3,5$ )	$\hat{Y} = 88,0 \pm 3,3$	-	-	-
%AOX	Paluma	16,6 A ( $\pm 7,3$ )	4,8 A ( $\pm 4,8$ )	6,5 A ( $\pm 5,5$ )	11,9 A ( $\pm 7,3$ )	$\hat{Y} = 9,9 \pm 6,2$	-	-	-
	Cortibel	2,4 A ( $\pm 2,4$ )	16,4 A ( $\pm 4,2$ )	4,8 A ( $\pm 3,2$ )	17,2 A ( $\pm 4,3$ )	$\hat{Y} = 9,45 \pm 3,5$	-	-	-
%RESID	Paluma	4,9 B ( $\pm 6,3$ )	0,7 A ( $\pm 0,7$ )	2,6 A ( $\pm 1,5$ )	0,1 A ( $\pm 0,1$ )	$\hat{Y} = 2,0 \pm 2,15$	-	-	-
	Cortibel	0,0 A ( $\pm 0,0$ )	0,0 A ( $\pm 0,0$ )	0,0 A ( $\pm 0,0$ )	7,5 A ( $\pm 5,9$ )	$\hat{Y} = 1,9 \pm 1,5$	-	-	-

(\*) Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na coluna e dentro dos genótipos, não diferem entre si segundo o teste de Tukey ( $P < 0,05$ ;) (\*). Efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para a contribuição dos termos de B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> ao modelo de regressão, segundo o Teste t; (\*\*) Efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para o coeficiente de regressão (R<sup>2</sup>), segundo o Teste F e (NS) Efeito não significativo.

O momento de menor participação da COX na 'Paluma' ocorreu no primeiro dia com média percentual de  $78,5\% \pm 7,9\%$  enquanto em 'Cortibel' a participação mínima ocorreu no dia 6 com  $75,6\% \pm 3,5$ . De forma geral, a contribuição da COX se manteve alta e constante em ambas as cultivares com média durante todo o tempo após a colheita próximo de 88,0% na 'Paluma' e 88,0% na 'Cortibel'.

Sendo o processo respiratório um dos principais responsáveis pela diminuição da vida útil de produtos hortifrutícolas após a colheita (Chitarra e Chitarra, 2005) e compreendendo que a COX contribui com mais de 80% da taxa de consumo de  $O_2$  nestas cultivares, utilizar tecnologias que suprimem ou diminuem a atividade desta via poderiam influenciar nas transformações bioquímicas e aumentar o tempo de pós-colheita destas cultivares.

A participação da COX sobre a respiração total em ambas as cultivares não segue um padrão de frutos climatéricos, onde geralmente a atividade desta enzima sofre redução com o amadurecimento dos frutos (Considini et al., 2001; Holtzapffel et al., 2002). Aqui se verifica, nas duas cultivares de goiaba, que a participação da COX segue sem variações significativas durante todo o tempo de armazenamento dos frutos (Tabela 5).

Na análise da participação da AOX sobre a respiração total dos frutos, os resultados da ANOVA constatam que não há diferença entre as cultivares, nem em função do tempo de armazenamento, assim como não foi verificada diferença significativa na interação genótipo e tempo (Tabela 4). Diante disso, não foi possível ajustar a variação dos resultados em função do tempo de armazenamento dos frutos a nenhum modelo de regressão, em ambas as cultivares estudadas (Tabela 5). Os níveis de participação da AOX em relação à respiração do fruto permaneceram relativamente baixos quando comparados à participação da COX, onde na 'Paluma' a participação média da AOX foi de 9,9% enquanto na 'Cortibel' foi em média de 9,4%.

Como pode ser observado existiu uma alta variabilidade nos dados resultantes da quantificação da participação da AOX, o que torna sem sentido qualquer conclusão a respeito do verdadeiro nível de participação desta via na taxa total da respiração das goiabas. Talvez, a única conclusão possível, nesse caso, seja de fato a baixa contribuição da via respiratória alternativa, dado pela

AOX, em relação à respiração do fruto durante o amadurecimento das goiabas 'Paluma' e 'Cortibel'.

Vários trabalhos têm demonstrado diferentes níveis de participação da AOX e da COX durante o amadurecimento de frutos. Resultados comprovam a diminuição da capacidade máxima da AOX durante o amadurecimento de tomate enquanto a capacidade COX tende a decrescer (Almeida et al. 1999; Jarmuszkiewicz et al; 2000). Em contrapartida, Considini et al. (2001) detectaram relativo aumento da capacidade AOX durante o amadurecimento da manga enquanto observou-se o declínio da contribuição da COX. No presente trabalho não se observou nenhuma diferença significativa na participação destas oxidases terminais tanto em 'Paluma' quanto em 'Cortibel' durante 6 dias após a colheita, pois em ambos os casos, estas vias contribuíram de forma relativamente constante durante todos os 6 dias após a colheita.

Apesar da participação relativamente pequena da AOX no processo respiratório durante o amadurecimento da goiaba, esta parece ser constitutiva, visto que observou-se a participação desta via na respiração durante todos os seis dias de avaliação tanto para uma cultivar quanto para a outra. O que parece variar conforme o órgão estudado e as condições em que esse se encontra. Pinheiro et al. (2004) não identificaram participação desta via em tubérculos de batata armazenados em temperatura ambiente, somente foi verificada a contribuição da AOX quando o tecido foi submetido ao estresse pelo frio ou por envelhecimento artificial. Assim, é possível dizer que os níveis reduzidos da participação da AOX em goiaba quando comparados aos da COX podem sofrer alterações caso as características de armazenamento mudem, como por exemplo em condições de baixa temperatura, onde apesar de não se conhecer o mecanismo, a atividade AOX é estimulada (Calegario et al., 2003). Ainda, para a confirmação da atividade constitutiva ou induzida da AOX na goiaba precisaria da complementação desses resultados com análises da expressão dos genes AOX durante o amadurecimento dos frutos.

Futuros trabalhos que submetam os frutos a fatores de estresse poderão ajudar a esclarecer se existem mudanças na participação destas duas vias no processo respiratório ou se as cultivares podem diferir entre si na atividade COX e AOX. Situações que provoquem sobrefluxo de elétrons, como por

exemplo a necessidade de maior ciclagem de esqueletos carbônicos, ou estresses que afetem diretamente a cadeia transportadora de elétrons (CTE), como a baixa temperatura, alteram o fluxo de elétrons da CTE.. Esses e outros fatores que potencializem a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) ou o mal funcionamento da COX pela formação intrínseca de inibidores ou pela falta de substratos para o funcionamento da CTE, podem estimular e causar mudanças na capacidade máxima da AOX (Siedow e Umbach, 2000; Moller, 2001; Calegario et al., 2003).

A atividade respiratória residual não sofreu variação significativa como pode ser visualizado na Tabela 4, mantendo uma média de 2,0% em frutos 'Paluma' e 1,9% na 'Cortibel'. As médias apresentaram contrastes entre as duas cultivares no dia 0 e 6 dias após a colheita.

#### 4. 7. 1. Determinação da integridade de membrana

O coeficiente respiratório (CR) é mensurado para detectar o nível de fosforilação de mitocôndrias purificadas. Este artifício consiste em medir o incremento na taxa respiratória no instante em que se adiciona ADP 50 mM na câmara de reação onde estão contidas as mitocôndrias, já que o esperado seria observar um aumento no transporte de elétrons na CTE devido ao retorno dos prótons para o interior da matriz via ATP-sintase, meio pelo qual ADP seria convertido em ATP. Esta medida é realizada comparando a diferença entre o estágio 3 (momento da adição de ADP) e o estágio 4 da respiração, instante em que a taxa respiratória se estabiliza, retornando às características existentes antes da adição de ADP em decorrência do fim deste substrato após sua conversão em ATP (Sweetlove et al., 2007).

Quanto maior se apresenta o coeficiente respiratório maior é o nível de acoplamento mitocondrial e conseqüentemente entende-se que maior também é o número de mitocôndrias extraídas com integridade. Todavia, os resultados deste trabalho apresentam um baixo CR, algo variando em torno de 0,43 até 1,06 para 'Paluma' e 0,46 até 2,27 (Tabela 6) para 'Cortibel' sem apresentar padrão linear ou quadrático para o teste de regressão, assim como também não apresentou diferença significativa entre genótipos.

O CR encontrado nestes genótipos de goiaba poderiam levar a desconsideração dos resultados encontrados neste trabalho caso outro teste de integridade desenvolvido por Sweetlove et al. (2007) não tivesse sido feito. Tal teste de integridade consiste na adição de AA 500 mM para iniciar o consumo de O<sub>2</sub>, seguindo-se da adição de citocromo c 5 mM, para possível detecção de aumento na taxa respiratória caso as membranas mitocondriais estejam rompidas e o citocromo c tenha acesso à membrana interna. Após isso é efetuada a adição de Triton<sup>®</sup>, detergente que provoca o rompimento de membranas, com intuito de averiguar se após sua adição ocorre aumento na taxa respiratória, caso isso ocorra significa que o citocromo c adicionado anteriormente agora teve acesso ao interior da organela pelo seu rompimento. Medindo-se a taxa respiratória nestas três etapas é possível detectar a integridade das organelas através da fórmula determinada por Sweetlove et al. (2007).

Assim, detectou-se uma média de 75% de integridade mitocondrial para 'Paluma' e 81,15% para 'Cortibel', valores aceitáveis e comprobatórios da integridade das mitocôndrias que validam o método de extração utilizado na purificação. Desta forma, concluiu-se que o baixo CR seria provavelmente em decorrência de um desacoplamento fisiológico durante o período pós-colheita de goiabas 'Paluma' e 'Cortibel' (Sweetlove et al., 2007).

### 5.3. Correlação de Pearson

Os dados foram submetidos à análise de correlação de Pearson com intuito de tentar encontrar correlações significativas entre os parâmetros de respiração junto àqueles associados às mudanças físicas e químicas das cultivares durante seis dias após a colheita (Tabela 6). O objetivo seria detectar correlações que permitam estimar alguns atributos do fruto após a colheita através de análises mais simplificadas. Para isso buscou-se correlacionar as características de cor com os outros parâmetros físicos e químicos além de

RESP, %COX e %AOX, buscando também encontrar correlações entre os próprios atributos físicos e químicos.

**Tabela 6.** Correlação dos parâmetros relacionados à atividade respiratória em mitocôndrias isoladas e os parâmetros físicos e químicos entre os parâmetros de cor e também entre os próprios parâmetros físicos e químicos das goiabas 'Paluma' e 'Cortibel'.

PARÂMETROS	PM	FF	AT	SS	AA	Ratio	RESP	%COX	%AOX
<b>a*</b>	-0,58**	-0,75**	0,09 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	0,75**	-0,03 <sup>NS</sup>	0,46*	0,11 <sup>NS</sup>	-0,01 <sup>NS</sup>
<b>b*</b>	-0,50*	-0,83**	-0,13 <sup>NS</sup>	-0,05 <sup>NS</sup>	0,69**	0,09 <sup>NS</sup>	0,43*	0,14 <sup>NS</sup>	-0,03 <sup>NS</sup>
<b>C*</b>	-0,50*	-0,73**	-0,18 <sup>NS</sup>	-0,09 <sup>NS</sup>	0,64**	0,11 <sup>NS</sup>	0,41 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	-0,03 <sup>NS</sup>
<b>L*</b>	-0,43*	-0,85**	-0,04 <sup>NS</sup>	0,12 <sup>NS</sup>	0,70**	0,09 <sup>NS</sup>	0,45*	0,14 <sup>NS</sup>	-0,07 <sup>NS</sup>
<b>Hue</b>	0,54*	0,79**	-0,04 <sup>NS</sup>	0,06 <sup>NS</sup>	-0,76**	-0,00 <sup>NS</sup>	-0,48*	-0,11 <sup>NS</sup>	-0,00 <sup>NS</sup>
<b>PM</b>	-	0,54*	-0,19 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	-0,36 <sup>NS</sup>	0,15 <sup>NS</sup>	-0,45*	-0,41 <sup>NS</sup>	0,30 <sup>NS</sup>
<b>FF</b>	0,54*	-	-0,12 <sup>NS</sup>	-0,18 <sup>NS</sup>	-0,66**	-0,04 <sup>NS</sup>	-0,59**	0,04 <sup>NS</sup>	-0,13 <sup>NS</sup>
<b>AT</b>	-0,19 <sup>NS</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>	-	0,04 <sup>NS</sup>	0,05 <sup>NS</sup>	-0,83**	0,36 <sup>NS</sup>	-0,24 <sup>NS</sup>	0,04 <sup>NS</sup>
<b>SS</b>	0,14 <sup>NS</sup>	-0,18 <sup>NS</sup>	0,04 <sup>NS</sup>	-	0,04 <sup>NS</sup>	0,47*	0,24 <sup>NS</sup>	-0,17 <sup>NS</sup>	0,20 <sup>NS</sup>
<b>AA</b>	-0,36 <sup>NS</sup>	-0,66**	0,05 <sup>NS</sup>	0,04 <sup>NS</sup>	-	0,05 <sup>NS</sup>	0,22 <sup>NS</sup>	0,37 <sup>NS</sup>	-0,34 <sup>NS</sup>
<b>Ratio</b>	0,15 <sup>NS</sup>	-0,04 <sup>NS</sup>	-0,83**	0,47*	0,05 <sup>NS</sup>	-	-0,15 <sup>NS</sup>	0,11 <sup>NS</sup>	0,09 <sup>NS</sup>

<sup>NS</sup> não diferem estatisticamente; \* diferem em 5% e \*\* diferem em 1% pelo Teste T (Student).

Observou-se baixo nível de correlação entre a PM com a maioria dos atributos analisados. Os maiores níveis de correlação da PM foram verificados com os parâmetros de cor luminosidade (-0,43) e a cromaticidade  $a^*$  (-0,58) como explícito na Tabela 6. A PM também apresentou correlação, ainda que baixa, com a FF, o que era esperado lembrando que a perda de massa fresca está associada com a diminuição da massa seca que reflete na textura de frutos em decorrência da mudança na integridade da parede celular, da lamela média e do turgor celular, o qual depende do potencial hídrico. Conforme o fruto perde peso devido à desidratação e à respiração, a turgidez celular diminui afetando a firmeza do pericarpo dos frutos. (Miranda et al., 2002; Azzolini et al., 2004).

A PM não apresentou correlação significativamente relevante para %COX ou %AOX e uma baixa correlação se apresenta para RESP, -0,45 ( $P < 0,05$ ), denotando um baixo nível de interferência da atividade respiratória total das mitocôndrias em relação a PM das cultivares. Isso também está de acordo com o relato da literatura (Pinto et al., 2012), onde a perda de massa dos frutos é associada além da transpiração, ao processo respiratório e intensifica-se conforme eleva-se tal processo.

Curiosamente a FF apresentou alta correlação ( $P < 0,01$ ) com todos os parâmetros de cor avaliados neste trabalho,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $L^*$  e *Hue*. As maiores correlações foram visualizadas com a luminosidade  $L^*$  (-0,85) e também para com o ângulo de cor *Hue* (0,79). Esta alta correlação entre coloração e firmeza pode ser seguramente utilizada para estimar de forma indireta a firmeza do pericarpo de frutos de goiaba destas cultivares quando não for possível utilizar métodos destrutivos para avaliação da firmeza. Como pode ser verificado nos resultados deste trabalho, esta alta correlação ocorre de modo inverso, enquanto a FF e o ângulo de cor *Hue* declinam, a luminosidade aumenta.

A FF também apresentou correlação relativamente alta ( $P < 0,01$ ) com a evolução dos teores de AA (-0,66), também elevando-se os teores de AA conforme observa-se a queda na firmeza. Resultados que confirmam a relação direta destes dois parâmetros, uma vez que a diminuição na FF é resultante da degradação de componentes da parede celular, o que dessa forma fornece substratos metabólicos para a síntese de AA em frutos de goiaba (Tezotto et al., 2011; Pinto et al., 2013). Além disso, ocorreu elevada correlação ( $P < 0,01$ ) entre FF e RESP (-0,59), confirmando a alta relação do processo de amolecimento a

atividade respiratória, como já mencionado anteriormente (Yamamoto et al., 2011; Vilas Boas et al., 2013 Pinto et al., 2013).

Assim como ocorreu com FF, os teores de AA tiveram boa correlação ( $P < 0,01$ ) com as características de coloração. A correlação mais expressiva foi verificada com o parâmetros *Hue* e a cromaticidade  $a^*$ , com respectivos valores iguais a -0,76 e 0,75.

A RESP também se correlacionou de forma menos elevada com todas as características de cor, com exceção do parâmetro  $C^*$ . Estas correlações tiveram nível de probabilidade de 5% e giraram em torno de -0,43 para a cromaticidade  $b^*$  e 0,48 para o ângulo de cor *Hue*.

Este estudo deixa claro a alta correlação da coloração em frutos de goiaba com os demais atributos físicos e químicos durante a pós-colheita além de mostrar boa correlação com o processo respiratório. É possível afirmar que estes parâmetros de cor podem ser usados como importante ferramenta na estimativa de diversas outras características, como observado para PM, FF e os teores de AA, além de poder ser utilizado no manejo como determinação de época de colheita, como observado no experimento de Azzolini et al. (2004).

As contribuições da COX e AOX não apresentaram correlações significativamente relevantes para nenhum dos atributos físicos e químicos avaliados neste trabalho.

## 6. CONCLUSÕES

A 'Paluma' mostrou evolução mais rápida em relação à cor quando comparada à 'Cortibel'.

A 'Paluma' mostrou-se superior em qualidade por possuir maior teor de sólidos solúveis, vitamina C, acidez titulável e por perder massa fresca de forma mais lenta que a 'Cortibel' apesar de apresentar evolução de cor mais rápida.

A taxa respiratória total de ambas as cultivares evoluiu no decorrer do período após a colheita, bem como alguns atributos físicos e químicos conhecidos como substratos do processo respiratório vegetal ou fornecedores destes, são eles a FF, AA e PM.

A 'Paluma' apresentou maior taxa respiratória total no quarto dia após a colheita dos frutos, momento em que se detectou maior AT e SS nesta cultivar.

A participação relativa da COX e da AOX permanece constante durante o amadurecimento das goiabas 'Paluma' e 'Cortibel' nas condições estudadas. A maior parte do consumo de O<sub>2</sub> é em decorrência da atividade COX.

## 7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Adrees, M., Younis, M., Farooq, U., & Hussain, K. (2010). Nutritional quality evaluation of different guava varieties. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 47(1): 1-4.
- Adsule, R. N., & Kadam, S. S., Guava. In: Salunkhe, D. K., Kadam, S. S. (1995). Handbook of fruit science and technology, production composition, storage and processing. New York: Marcel Dekker, cap.9 p.419-433
- Agrianual: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2012.
- Albuquerque, A. V. T., Sanches-Silva, A., & Costa, H. S. (2011). Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Research International*, 44: 2237-2242
- Ali, D. O. M., Ahmed, A. R., & Babikir, E. B. (2014) Suitability of local sudanese suava (*Psidium guajava* L.) cultivars for concentrates production. *Journal of Agri-Food and Applied Sciences*, 2(8): 225-229
- Almeida, A. M., Jarmuszkiewicz, W., Khomsi, H., Arruda, P., Vercesi, A. E., & Sluse, F. E. (1999). Cyanide-resistant, ATP-synthesis-sustained, and uncoupling-protein-sustained respiration during postharvest ripening of tomato fruit. *Plant Physiology*, 119(4): 1323-1330
- Almeida, E. I. B., Lucena, H. H., Ribeiro, W. S., Roseane, M., Oliveira, T., & Barbosa, J. A. (2012). Análise das perdas de caule, folhas e frutos de hortaliças frescas comercializadas na rede varejista de areia (PB). *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, 2(2): 81-91

- Almeida, G. V. B., & Durigan, J. F. (2006). Relação entre as características químicas e o valor dos pêssegos comercializados pelo sistema veiling frutas holambra em Paranapanema-SP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28(2): 218-221
- Álvarez, P., Jiménez, A., Chaki, M., Río, L. A., Sevilla, F., Corpas, F. J., & Palma, J. M. (2012). Proteoma de peroxisomas y mitocondrias de frutos de pimiento (*Capsicum annuum* L.) durante la maduración.
- Alves, R. R., Salomão, L. C. C., de Siqueira, D. L., Cecon, P. R., & da Silva, D. F. P. (2012). Desenvolvimento do maracujá doce em Viçosa, Minas Gerais. *Revista Ceres*, 60(1): 127-133
- Amor, Y., Chevion, M., & Levine, A., (2000). Anoxia pretreatment protects soybean cells against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell death: possible involvement of peroxidases and of alternative oxidase. *FEBS*, 477: 175-180
- Andreuccetti, C; Ferreira, M. D., Moretti, C. L., & Honório, S. L. (2007). Qualidade pós-colheita de frutos de tomate cv. Andréa tratados com etileno. *Horticultura Brasileira*, 25(1): 122-126
- Antunes, L. E. C., Filho, J. D., & Souza, C. M. (2003). Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(3): 413-419
- Aranha, F. Q., Barros, Z. F., Moura, L. S. A., Gonçalves, M. C. R., Barros, J. C., Metri, J. C., & Souza, M. S. (2000). O papel da vitamina c sobre as alterações orgânicas no idoso. *Revista Nutrição*, 13(2): 89-97
- Association Of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis of the Association of Agricultural Chemists. 12.ed. Washington: A.O.A.C., 1992. 1094p
- Azevedo, I. G., Santos, C. A. (2011). Influência do etileno e da H<sup>+</sup>-ATPase durante o amadurecimento de frutos. *Ciências Biológicas e da Saúde*, 1(1): 12-20
- Azzolini, M., Jacomino, A. P., & Bron, I. U. (2004). Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(2): 139-145
- Azzolini, M., Jacomino, A. P., Bron, I. U., Kluge, R. A., & Schiavinato, M. A. (2005). Ripening of " Pedro Sato" guava: study on its climacteric or non-climacteric nature. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(3): 299-306
- Barbosa, M. O., (2008). Papel da oxidase alternativa na resistência ao stress oxidativo em *Candida krusei*. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Aveiro, Universidade de Aveiro.
- Barros, J. C. S. M., Goes, A., & Minani, K., (1994). Condições de conservação pós-colheita de frutos de pimentão (*Capsicum annum* L.). *Scientia Agricola*, 51(2): 363-368

- Bartoli, C. G., Pastori, G. M., & Foyer, C. H. (2000). Ascorbate biosynthesis in mitochondria is linked to the electron transport chain between complexes III and IV. *Plant Physiology*, 123(1): 335-344
- Beavis, A. D., & Vercesi, A. E. (1992). Anion Uniport in Plant Mitochondria Is Mediated by a Mg<sup>2+</sup>-insensitive Inner Membrane Anion Channel. *The Journal of Biological Chemistry*, 267: 3079-3087
- Beavis, A. D., Brannan, R. D., & Garlid, K. D. (1985). Swelling and contraction of the mitochondrial matrix. I. A structural interpretation of the relationship between light scattering and matrix volume. *Journal of Biological Chemistry*, 260(25): 13424-13433
- Begcy, K., Mariano, E. D., Mattiello, L., Nunes, A. V., Mazzafera, P., Maia, I. G., & Menossi, M. (2011). An Arabidopsis mitochondrial uncoupling protein confers tolerance to drought and salt stress in transgenic tobacco plants. *PLoS one*, 6(8): 1-9
- Blokhina, O., & Fagerstedt, K. V. (2010). Reactive oxygen species and nitric oxide in plant mitochondria: origin and redundant regulatory systems. *Physiologia plantarum*, 138(4): 447-462
- Bodenstein-Lang, J., Buch, A., & Follmann, H. (1989). Animal and plant mitochondria contain specific thioredoxins. *FEBS letters*, 258(1): 22-26
- Boas, B. M. V., Nunes, E. E., Fiorini, F. V. A., Lima, L. C. D. O., Boas, E. V. D. B. V., & Coelho, A. H. R. (2004). Avaliação da qualidade de mangas Tommy Atkins minimamente processadas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26(3): 540-543
- Botelho, R. V., Souza, N. L., & Peres, N. A. R. (2002). Qualidade pós-colheita de goiabas 'Branca de Kumagai' tratadas com cloreto de cálcio. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24(01): 63-67
- Botrel, N.; Jumior, M. F., Vasconcelos, R. M., & Barbosa, H. T. G. (2002). Inibição do amadurecimento da banana-‘prata-anã’ com a aplicação do 1-metilciclopropeno. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24(1): 53-65
- Brackmann, A., Anese, R. O., Both, V., Thewes, F. R., & Fronza, D. (2012). Atmosfera controlada para o armazenamento de goiaba cultivar 'Paluma'. *Revista Ceres*, 59(2): 151-156
- Brackmann, A., Schorr, M. R., Gasperin, A. R., Venturini, T. L., & Pinto, J. A. V. (2013). Controle da maturação de caqui 'Fuyu' com aplicação de aminoetoxivinilglicina e 1-metilciclopropeno. *Revista Brasileira de fruticultura*, 35(4): 953-961
- Brackmann, A., Weber, A., Pinto, J. A. V., Neuwald, D. A., & Steffens, C. A. (2008). Manutenção da qualidade pós-colheita de maçãs 'Royal Gala' e 'Galaxy' sob armazenamento em atmosfera controlada. *Ciência rural*, 38(9): 2478-2484

- Braz, V. B., Nunes, E. S., Vieira, G., Ribeiro Júnior, J. I., Bertini, L. A., & Couto, F. A. D. A. (2008). Initiation of ripening of Tommy Atkins and Ubá mangoes with postharvest application of ethephon. *Bragantia*, 67(1): 225-232
- Bron, I. U., Ribeiro, R. V., Cavalini, F. C., Jacomino, A. P., & Trevisan, M. J. (2005). Temperature-related changes in respiration and Q10 coefficient of guava. *Scientia Agricola*, 62(5): 458-463
- Brown, B. I., & Wills, R. B. H. (1983). Post-harvest changes in guava fruit of different maturity. *Scientia Horticulturae*, 19(3): 237-243
- Calegario, F. F., Cosso, R. G., Fagian, M. M., Almeida, F. V., Jardim, W. F., Ježek, P., & Vercesi, A. E. (2003). Stimulation of potato tuber respiration by cold stress is associated with an increased capacity of both plant uncoupling mitochondrial protein (PUMP) and alternative oxidase. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 35(3): 211-220
- Callegari, R. A., Morais, F. A., Miranda, N. O., Goés, G. B., & Silva, R. M. (2011). Correlação entre qualidade e produtividade de frutos de meloeiro e o pH do solo. *Revista Verde*, 6(1): 8-12
- Campos, A. J., Fujita, E., Neves, L. C., Vieites, R. L., & Chagas, E. A., (2011). Radiação gama e atmosfera modificada passiva na qualidade de goiabas 'pedro sato'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, volume especial: 350-356
- Campos, A. J., A. J., Fujita, É., Costa, S. M., Neves, L. C., Vieites, R. L., & Chagas, E. A. (2011). Irradiação e atmosfera modificada passiva na qualidade pós-colheita de goiabas' Pedro Sato'. *Revista Agro@ ambiente On-line*, 5(3): 233-239
- Capaldi, R. A. (1990). Structure and function of cytochrome c oxidase. *Annual review of biochemistry*, 59(1): 569-596
- Cardoso, E. A., Costa, J. T. A., Soares, I., Silva, R. M., & Aguiar, A. V. M. (2010). Exportação de nutrientes por frutos de goiabeira 'paluma' em função da adubação mineral. *Agropecuária Científica no Semi-árido*, 6(3): 38-41
- Carvalho, C. R. L., Rossetto, C. J., Mantovani, D. M. B., Morgano, M. A., CASTRO, J. D., & Bortoletto, N. (2004). Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo Instituto Agrônomo de Campinas comparadas a outras de importância comercial. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26(2): 264-271
- Carvalho, J. L. A. S., Rocha, R. H. C., Moreira, I. S., & Silva, H. S. (2013). Qualidade da goiaba comercializada em diferentes dias da semana no sertão da Paraíba. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 8(2): 166-171
- Castro, J. C., Marsolla, D. A., Kohatsu, D. S., & Hora, R. C. D. (2013). storage and fruit quality of mango (*Mangifera indica* L.) treated with acid gibberellic. *Journal of Agronomic Sciences*, 1(1): 76-83

- Cavalini, F. C., (2004). Índices de maturação, ponto de colheita e padrão respiratório de goiabas 'Kumagai' e 'Paluma'. Dissertação (Mestre em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Piracicaba - SP, Universidade de São Paulo, 68p.
- Cavalini, F. C., (2008). Fisiologia do amadurecimento, senescência e comportamento respiratório de goiabas 'Kumagai' e 'Pedro Sato'. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Piracicaba - SP, Universidade de São Paulo, 90p.
- Cerqueira, T. S., Jacomino, A. P., Sasaka, F. F., & Alleoni, A. C. C. (2011). Recobrimento de goiabas com filmes proteicos e de quitosana. *Bragantina*, 70(1): 216-121
- Chitarra, M. I. F.; Chitarra, A. B. (2005). Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças: Fisiologia e manuseio. Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil, 785 p.
- Considini, M. J., Daley, D. O., & Whelan, J. (2001). The expression of alternative oxidase and uncoupling protein during fruit ripening in mango. *Plant Physiology*, 126(4): 1619-1629
- Conway, W. S., Sams, C. E., Wang, C. Y., & Abbott, J. A. (1994). Additive effects of postharvest calcium and heat treatment on reducing decay and maintaining quality in apples. *Society for Horticultural Science*, 119(1): 49-53
- Coser, S. M., Ferreira, M. F. D. S., Ferreira, A., & Saraiva, S. H. (2014). Genetic diversity in Cortibel guava selections. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2): 391-399.
- Costa, A. G., Chagas, J. H., Pinto, J., & Bertolucci, S. K. V. (2012). Crescimento vegetativo e produção de óleo essencial de hortelã-pimenta cultivada sob malhas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(4): 534-540.
- Costa, L. C., Ribeiro, W. S., Almeida, E. I. B., Santos, K. M. A., & Barbosa, J. A. (2011). Armazenamento pós-colheita de sapoti (*manilkara sapota* L.) utilizando fécula de milho e atmosfera modificada. *Agropecuária Técnica*, 31(1): 141-144
- Couto, M. A. L., & Canniatti-Brazaca, S. G. (2010). Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, 30(1): 15-19
- Cvetkovska, M., & Vanlerberghe, G. C. (2012). Alternative oxidase modulates leaf mitochondrial concentrations of superoxide and nitric oxide. *New Phytologist*, 195(1): 32-39
- Da Motta, W., Chamhum, L. C., Lacerda, C. R., Polete, G., & De Melo, L. L. (2006). Uso de cera carnaúba e saco plástico poliolefinico na conservação pós-colheita do maracujá amarelo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28(2): 190-193

- Day, D. A., Arron, G. P., & Laties, G. G., (1980). Nature and control of respiratory pathways in plants: cyanide sensitive and cyanide resistant respiration. *The Biochemistry of Plants 2*: 197-241
- De Miranda, M. R. A., Benbadis, A. K., Filgueiras, H. A. C., & Alves, R. E. (2002). Alterações em Firmeza e na Atividade da  $\beta$ -Galactosidase de Sapoti *Manilkara zapota* (L.) P. Royen Armazenados Sob Refrigeração e Atmosfera Modificada. *Interamerican Society for Tropical Horticulture*, 46: 46-48.
- Dilley, D. R. (1970) Enzymes. In: Hulme, A.C. The biochemistry of fruits and their products. London: Academic Press, p.159-178
- Donadon, J. R., Durigan, J. F, Morgado, C. M. A., & Santos, L. O. (2012). Armazenamento refrigerado de abacates 'hass'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(4): 981-989
- Dudkina, N. V., Heinemeyer, J., Sunderhaus, S., Boekema, E. J., & Braun, H. P. (2006). Respiratory chain supercomplexes in the plant mitochondrial membrane. *Trends in plant science*, 11(5): 232-240
- Duque, P., & Arrabaca, J. D. (1999). Respiratory metabolism during cold storage of apple fruit. II. Alternative oxidase is induced at the climacteric. *Physiologia Plantarum*, 107(1): 24-31
- Durigan, M. F. B., Mattiuz, B. H., & Durigan, J. F. (2005). Injúrias mecânicas na qualidade pós-colheita de lima ácida 'Tahiti' armazenada sob condição ambiente. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27(3): 369-372
- Endres, L., Finger, F. L., & Mosquim, P. R. (1999). Fitormônios e senescência pós-colheita do brócolis. *Horticultura Brasileira*: 29-33.
- Eubel, H., Heinemeyer, J., & Braun, H. P. (2004). Identification and characterization of respirasomes in potato mitochondria. *Plant Physiology*, 134(4): 1450-1459
- Faraonil, A. S., Ramos, A. M., Guedes, D. B., Oliveira, A. N., Lima, T. H. S. F., & Sousa, P. H. M. (2012). Desenvolvimento de um suco misto de manga, goiaba e acerola utilizando delineamento de misturas. *Ciência Rural*, 42(5): 911-917
- Ferreira, M., Aguiar, T., & Vilarinho, L. (2008). Cadeia Respiratória Mitocondrial Aspectos Clínicos, Bioquímicos, Enzimáticos e Moleculares Associados ao Déficit do Complexo I. *Arquivos de Medicina*, 22(2-3): 49-56
- Filho, A. G., (2009). Diversidade genética em acessos de goiabeiras (*Psidium guajava* L.) provenientes de Bom Jesus do Itabapuana – RJ. Tese (Doutorado em Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, UENF.

- Fischer, I. H., Almeida, A. M., Arruda, M. C., Bertani, R. M. A., Garcia, M. J. M., & Amorim, L. (2010). Danos em pós-colheita de goiabas na Região do Centro-Oeste Paulista. *Bragantina*, 70(3): 570-576
- Fischer, I. H., Silva, B. L., Soares, A. R., Arruda, M. C., Parisi, M. C. M., & Amorim, L. (2012). Efeito de fungicidas e produtos alternativos no controle da antracnose e da pinta preta da goiaba. *Ciências Agrárias*. 33(1): 2753-2766
- Florez-Sarasa, I., Flexas, J., Rasmusson, A. G., Umbach, A. L., Siedow, J. N., & Ribas-Carbo, M. (2011). In vivo cytochrome and alternative pathway respiration in leaves of *Arabidopsis thaliana* plants with altered alternative oxidase under different light conditions. *Plant, cell & environment*, 34(8): 1373-1383.
- Frutas e Derivados: informação a serviço da fruticultura. São Paulo: IBRAF Instituto Brasileiro de Frutas, 2008
- Galho, A. S., Lopes, N. F., Bacarin, M. A., & Lima, M. D. G. D. S. (2007). Composição química e respiração de crescimento em frutos de *Psidium cattleianum* Sabine durante o ciclo de desenvolvimento. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, 29(1): 61-66.
- Garlid, K. D., & Beavis, A. D. (1985). Swelling and contraction of the mitochondrial matrix. II. Quantitative application of the light scattering technique to solute transport across the inner membrane. *Journal of Biological Chemistry*, 260(25): 13434-13441
- Gouble, B., Fath, D., & Soudain, P. (1995). Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climacteric fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 5(4): 311-321
- Grewer, C., Gameiro, A., Mager, T., & Fendler, K. (2013). Electrophysiological characterization of membrane transport proteins. *Annual review of biophysics*, 42: 95-120
- Grigio, M. L., Neves, L. C., Tosin, J. M., Nascimento, C. R., Chagas, E. A., & Vieites, R. P. (2011). Efeito da modificação atmosférica em goiabas var. Paluma na redução de danos mecânicos em pós-colheita. *Revista Agro@ambiente on-line*, 5(1): 57-65
- Guadarrama, A., & Andrade, S., (2012). Physical, Chemical and Biochemical Changes of Sweetsop (*Annona squamosa* L.) and Golden Apple (*Spondias citherea* Sonner) Fruits during Ripening. *Journal of Agricultural Science and Technology*: 1148-1157
- Guerrero, N. A. C., & Sánchez, R. M., (2005). Problema bioquímico bioenergetica. Cadenas respiratórias ramificadas. *Revista de Educación Bioquímica*, 24: 3-4

- Gull, J., Sultana, B., Anwar, F., Naseer, R., Ashraf, M., & Ashrafuzzaman, M. (2012). Variation in antioxidant attributes at three ripening stages of guava (*Psidium guajava* L.) fruit from different geographical regions of Pakistan. *Molecules*, 17(3): 3165-3180
- Haida, K. S., Baron, A., Haida, K. S., Faci, D., Haas, J., & Silva, F. J. (2011). Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de duas variedades de goiaba e arruda. *Revista Brasileira de Ciências e Saúde*, 9(28): 11-19
- Helmerhorst, E. J., Murphy, M. P., Troxler, R. F., & Oppenheim, F. G. (2002). Characterization of the mitochondrial respiratory pathways in (*Candida albicans*). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1556(1): 73-80
- Holtzapffel, R. C., Finnegan, P. M., Millar, A. H., Badger, M. R., & Day, D. A. (2002). Mitochondrial protein expression in tomato fruit during on-vine ripening and cold storage. *Functional plant biology*, 29(7): 827-834
- Jacomino, A. P., Ojeda, R. M., Kluge, R. A., & Scarpere Filho, J. A. (2003). Conservação de goiabas tratadas com emulsões de cera de carnaúba. *Revista brasileira de fruticultura*, 25(3): 401-405.
- Jarmuszkiewicz, W., Almeida, A. M., Vercesi, A. E., Sluse, F. E., & Sluse-Goffart, C. M. (2000). Proton re-uptake partitioning between uncoupling protein and ATP synthase during benzohydroxamic acid-resistant state 3 respiration in tomato fruit mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 275(18): 13315-13320.
- Jiménez, A. M., Sierra, C. M., Rodríguez-Pulido, F. J., González-Miret, M. L., Heredia, F. J., & Osorio, C. (2011). Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims. fo *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. *Food Research International*, 44: 1912-1918
- Júnior, L. S., Fonseca, N., & Pereira, M. E. C. (2007). Uso de fécula de mandioca na pós-colheita de manga 'Surpresa'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(1): 067-071
- Júnior, M. J. P., Hernandez, J. L., Blain, G. C., & Bardin-Camparotto, L. (2014). Curva de maturação e estimativa do teor de sólidos solúveis e acidez total em função de graus-dia: Uva IAC 138-22 'Máximo'. *Bragantia*, 73(1): 81-85
- Kamo, N., Hongoh, R., Kobatake, V. (1979). Membrane potential of mitochondria measured with an electrode sensitive to tetraphenylphosphonium and relationship between proton electrochemical potential and phosphorylation potential in steady state. *The Journal of Membrane Biology*, 49: 105-121
- Klee, H. J., & Giovannoni, J. J., (2011). Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. *Annual Review of Genetics*, 45: 41-59
- Kluge, R. A., & Minami, K. (1997). Efeito de ésteres de sacarose no armazenamento de tomates 'santa clara'. *Scientia Agricola*, 54(2): 39-44

- Kumar, A. M., & Söll, D. (1992). Arabidopsis alternative oxidase sustains Escherichia coli respiration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(22): 10842-10846
- Kumar, S., & Sinha, S. K. (1992). Alternative Respiration and Heat Production in Ripening Banana Fruits (*Musa paradisiaca* van Mysore Kadali). *Journal of experimental botany*, 43(12): 1639-1642
- Lee, S., Choi, H. K., Cho, S. K., & Kim, Y. S. (2010). Metabolic analysis of guava (*Psidium guajava* L.) fruits at different ripening stages using different data-processing approaches. *Journal of Chromatography*, 878(29): 2983 - 2988.
- Lima, F. V., Aguila, J. S., Ortega, E. M. M., & Kluge, R. A. (2011). Pós-colheita de lichia 'Bengal' tratada com etileno e 1-metilciclopropeno. *Ciência Rural*, 47(7): 1143-1149
- Linhares, L. A., Santos, C. D. D., Abreu, C. M. P. d., & Corrêa, A. D (2007). Transformações químicas, físicas e enzimáticas de goiabas 'Pedro Sato' tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e 1-metilciclopropeno e armazenadas sob refrigeração. *Ciência Agrotecnologia*, 31(3): 829-841
- Luethy, M. H., Hayes, M. K., & Elthon, T. E. (1991). Partial purification and characterization of three NAD (P) H dehydrogenases from Beta vulgaris mitochondria. *Plant physiology*, 97(4): 1317-1322
- Lurie, S., & Klein, J. D. (1990). Cyanide metabolism in relation to ethylene production and cyanide insensitive respiration in climacteric and non-climacteric fruits. *Journal of plant physiology*, 135(5): 518-521
- Maia, G. A., Sousa, P. H. M., Lima, A. S., Carvalho, J. M., & Figueiredo, R. W. (2009). Processamento de frutas tropicais: nutrição, produção e controle de qualidade. *UFC*, Fortaleza: 277p.
- Mariano, F. A. C., Boliani, A. C., Corrêa, L. S., & Moreira, E. R., (2011). Vida-de-prateleira de goiabas, cv. Sassaoka, minimamente processadas e armazenadas em diferentes embalagens. *Revista Brasileira de Fruticultura*, volume especial: 384-391
- Martins, M. C., Amorim, L., Lourenço, S. A., Gutierrez, A. S. D., & Watanabe, H. S. (2007). Incidência de danos pós-colheita em goiabas no mercado atacadista de São Paulo e sua relação com a prática de ensacamento dos frutos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(2): 245-248
- Mattiuz, B. H., & Durigan, J. F. (2001). Efeito de injúrias mecânicas no processo respiratório e nos parâmetros químicos de goiabas' Paluma' e 'Pedro Sato'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23(2): 282-287

- Mazorra, L. M., Oliveira, M. G., Souza, A. F., Silva, W. B. D., Santos, G. M. D., Silva, L. R. A. D., & Oliveira, J. G. D. (2013). Involvement of brassinosteroids and ethylene in the control of mitochondrial electron transport chain in postharvest papaya fruit. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25(3): 0-0
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12): 1254-1255
- McIntosh, L. (1994). Molecular biology of the alternative oxidase. *Plant Physiology*, 105(3): 781
- Medina, J. C., (1978). Goiaba, da cultura ao processamento e comercialização. Campinas: Governo do Estado de São Paulo, Secretaria da Agricultura, coordenadoria da pesquisa agropecuária, ITAL, 106p.
- Meena, R., Waghmare, G. M., Diwan, K., & Vadak, Y. (2013). Variability studies in red flesh guava (*Psidium guajava* L.) genotypes for growth , yeld and quality attributes. *The Ansian Journal of Horticulture*, 8(2): 609-611
- Mendonça, R. D., Ferreira, K. S., Souza, M. L., Marinho, C. S., & Teixeira, S. L., (2007). Características físicas e químicas de goiabas ‘cortibel 1’ e ‘cortibel 4’ armazenadas em condições ambientais. *Bragantina*: 685-692
- Mercado-Silva, E., Benito-Bautista, P., & de los Angeles García-Velasco, M. (1998). Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central Mexico. *Postharvest Biology and Technology*, 13(2): 143-150
- Millar, A. H., Mittova, V., Kiddle, G., Heazlewood, J. L., Bartoli, C. G., Theodoulou, F. L., & Foyer, C. H. (2003). Control of ascorbate synthesis by respiration and its implications for stress responses. *Plant Physiology*, 133(2): 443-447
- Millar, A. H., Whelan, J., Soole, K. L., & Day, D. A. (2011). Organization and regulation of mitochondrial respiration in plants. *Annual review of plant biology*, 62: 79-104.
- Mitcham, B., Cantwell, M., & Kader, A. (1996). Methods for determining quality of fresh commodities. *Perishables handling newsletter*, 85: 1-5
- Molinaro, E. M., Caputo, L. F. G., & Amendoeira, M. R. R., (2010). Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2. 1253p.
- Møller, I. M. (2001). Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual review of plant biology*, 52(1): 561-591
- Moore, A. L., & Siedow, J. N. (1991). The regulation and nature of the cyanide-resistant alternative oxidase of plant mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1059(2): 121-140

- Morgado, C. A., Durigan, J. F., Lopes, V. G., & Santos, L. O. (2010). Conservação pós-colheita de goiabas 'Kumagai': Efeito do estágio de maturação e da temperatura de armazenamento. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(4): 1001-1008
- Navet, R., Jarmuszkiewicz, W., Almeida, A. M., Sluse-Goffart, C., & Sluse, F. E. (2003). Energy conservation and dissipation in mitochondria isolated from developing tomato fruit of ethylene-defective mutants failing normal ripening: the effect of ethephon, a chemical precursor of ethylene. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 35(2): 157-168
- Neto, L. G., (2007) Produção de goiaba. Fortaleza: Instituto de desenvolvimento da fruticultura e agroindústria – FRUTAL, 64p.
- Nunes-Nesi, A., Fernie, A. R., & Stitt, F. (2014). Metabolic and signaling aspects underpinning the regulation of plant carbon nitrogen interactions. *Molecular Plant*, 3(6): 973-996
- Obando-Ulloa, J. M., Moreno, E., García-Mas, J., Nicolai, B., Lammertyn, J., Monforte, A. J., & Fernandez-Trujillo, J. P. (2008). Climacteric or non-climacteric behavior in melon fruit: 1. Aroma volatiles. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1): 27-37
- Oliveira, D. S., Aquino, P. P., Ribeiro, S. M. R., Proença, R. P. C., & Pinheiro-Sant'Ana, H. M (2011). Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. *Health Sciences*, 33(1): 89-98
- Oliveira, F. Q., Junior, A. L. B., Maria de Lourdes, Z. C., Sanches, P. A., Walder, J. M., & Batista, J. D. L. (2014). Preference and infestation level of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) on fruits of some *Psidium guajava* L. cultivars and relation to their physicochemical parameters. *Phytoparasitica*, 42: 475-483.
- Oliveira, I. P. D., Oliveira, L. C., Moura, C. S. F. T. D., Júnior, A. F. D. L., & Rosa, S. R. A. D. (2012). Cultivo da goiabeira: do plantio ao manejo. *Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos*, 5(4): 139-156
- Oliveira, M, G., (2012). Armazenamento de frutos de mamoeiro: investigação da participação da oxidase alternativa e da proteína desacopladora na respiração em mitocôndrias isoladas da polpa do fruto. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 106p
- Ornelas-Paz, J. J., Yahia, E. M., Ramírez-Bustamante, N., Pérez-Martínez, J., Escalante-Minakata, M. P., Ibarra-Junquera, V., Costa-Muñiz, C., Guerrero-Prieto, V., & Ochoa-Reyes, E., (2013). Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. Albion) at six stages of ripening. *Food Chemistry*, 138: 372-381

- Oshiro, A. M., Scalon, A. P. Q., Argandoña, E. J. S., & Zárata, N. A. H. (2011). Conservação pós-colheita de goiabas 'Pedro Sato' em atmosfera modificada, associada ou não à refrigeração. *Revista Agrarian*, 4(14): 294-302
- Osorio, S., Scossa, F., & Fernie, A. R., (2013). Molecular regulation of fruit ripening. *Plant Science*, 4(189): 1-8
- Papa, S., & Skulachev, V. P. (1997). Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. *Detection of Mitochondrial Diseases*, 174(1-2): 305-319
- Paul, V., Pandey, R., & Srivastava, G. C. (2012). The fading distinctions between classical patterns of ripening in climacteric and non-climacteric fruit and the ubiquity of ethylene. *Journal of food science and technology*, 49(1): 1-21
- Peña, J. R. A. (2011). Manual de Histología Vegetal. Espanha: Mundi-Prensa
- Pereira, F. M., & Nachtigal, J. C., (2002). Melhoramento da goiabeira. In: Bruckner, C. H., (org) *Melhoramento de fruteiras tropicais*. Viçosa: Editora UFV.
- Pereira, G. S., Machado, F. L. C., & Costa, J. M. C., (2014). Aplicação de recobrimento prolonga a qualidade pós-colheita de laranja 'Valência Delta' durante armazenamento ambiente. *Ciência Agrônômica*, 45(3): 520-527
- Pereira, K., & Kavati, R. (2011). Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical. *Revista Brasileira de Fruticultura*, volume especial: 92-108
- Pereira, T., Carlos, L. A., Oliveira, J. G., & Monteiro, A. R., (2005). Características físicas e químicas de goiaba cv. Cortibel (*Psidium guajava*) estocadas sob refrigeração em filmes x-tend\*. *Alimentos e Nutrição*, 16(1): 11-16
- Pinheiro, H. A., Borges, R., & Centeno, D. C. (2004). Activity of alternative oxidase and plant uncoupling mitochondrial protein in potato tubers stored at low temperature or submitted to artificial aging. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16(2): 69-76
- Pinto, J. A. V., Brackmann, A., Schorrl, M. R. W., Venturini, T. L., & Thewes, F. R. (2012). Indução de perda de massa na qualidade pós-colheita de pêssegos 'Eragil' em armazenamento refrigerado. *Ciência Rural*, 42(6): 962-968
- Pinto, J. A., (2009) Amadurecimento de caqui 'fuyu' em função da exposição ao frio, atmosfera controlada e 1-MCP. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Santa Maria - RS, Universidade Federal de Santa Maria, 79p.

- Pinto, L. K. A., Martins, M. L. L., Resende, E. D., Thiébaud, J. T. L., & Martins, M. A. (2013). Avaliação da atividade das enzimas pectinametilesterase e  $\beta$ -galactosidase em mamões cv. Golden armazenados sob diferentes concentrações de oxigênio. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(1): 15-22.
- Pinto, P. M., Jacomino, A. M., Silva, S. R., & Andrade, C. A. W., (2013). Ponto de colheita e maturação de frutos de camu-camu colhidos em diferentes estádios. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(6): 605-612
- Prado, M. E. T., Chitarra, A. B., & Resende, J. V. D. (2005). Armazenamento de melão'orange flesh'minimamente processado sob atmosfera modificada. *Ciência Agrotecnologia*, 29(2), 346-352
- Ramos, A. R. P., Amaro, A. C. E., Macedo, A. C., de Assis Sugawara, G. S., Evangelista, R. M., Rodrigues, J. D., & Ono, E. O. (2013). Qualidade de frutos de tomate 'giuliana' tratados com produtos de efeitos fisiológicos. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(6): 3543-3552.
- Ramos, A. R. P., Amaro, A. C. E., Macedo, A. C., Sugawara, G. S. A., Evangelista, R. M., & Ono, E. O. (2013). Qualidade de frutos de tomate 'giuliana' tratados com produtos de efeitos fisiológicos. *Ciências Agrárias*, 34(6): 3543-3552
- Rasmusson, A. G., & Møller, I. M. (1990). NADP-utilizing enzymes in the matrix of plant mitochondria. *Plant physiology*, 94(3): 1012-1018
- Ribeiro, V. G., Assis, J. D., Silva, F. F., Siqueira, P. P. X., & Vilaronga, C. P. P. (2005). Armazenamento de goiabas 'Paluma' sob refrigeração e em condição ambiente, com e sem tratamento com cera de carnaúba. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27(2): 203-206
- Saeg - Sistema para Análises Estatísticas. (2007). Versão 9.1: *Fundação Arthur Bernardes – UFV / Viçosa*.
- Sampaio, S. A., Bora, P. S., Holschuh, H. J., & Silva, S. D. M. (2007). Postharvest respiratory activity and changes in some chemical constituents during maturation of yellow mombin (*Spondias mombin*) fruit. *Food Science and Technology*, 27(3): 511-515
- Sams, C. E. (1999). Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest biology and Technology*, 15(3): 249-254
- Santos, A. A. C., Florêncio, A. K. G. D., Rocha, E. M. F., & Costa, J. M. C. (2014). Avaliação físico-química e comportamento higroscópico de goiaba em pó obtida por *spray-dryer*. *Revista Ciência Agronômica*, 45(3): 508-514
- Santos, J. S., Santos, M. L. P., & Azevedo, A. S. (2014). Validação de um método para determinação simultânea de quatro ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência em polpas de frutas congeladas. *Química Nova*, 37(3): 540-544

- Santos, W. C., (2010). Dependência do coeficiente de difusão de massa no fruto do mamoeiro "Golden" com a temperatura e atmosfera controlada. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, UENF.
- Scheckhuber, C. Q., Houthoofd, K., Weil, A. C., Werner, A., De Vreese, A., Vanfleteren, J. R., & Osiewacz, H. D. (2011). Alternative oxidase dependent respiration leads to an increased mitochondrial content in two long-lived mutants of the ageing model *Podospora anserina*. *PLoS one*, 6(1): 1-9
- Schonbaum, G. R., Bonner, W. D., Storey, B. T., & Bahr, J. T. (1971). Specific inhibition of the cyanide-insensitive respiratory pathway in plant mitochondria by hydroxamic acids. *Plant physiology*, 47(1): 124-128
- Seymour, G. B., Taylor, J. E., & Tucker, G. A., (1993). Biochemistry of fruit ripening. Chapman & Hall, London, 454p
- Shiomi, S., Yamamoto, M., Nakamura, R., & Inaba, A. (1999). Expression of ACC synthase and ACC oxidase genes in melons harvested at different stage of maturity. *Society for Horticultural Science*, 68: 10-17
- Siedow, J. N., & Umbach, A. L. (2000). The mitochondrial cyanide-resistant oxidase: structural conservation amid regulatory diversity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1459(2): 432-439.
- Siedow, J. N., Whelan, J., Kearns, A., Wiskich, J. T., & Day, D. A. (1992). Topology of the alternative oxidase in soybean mitochondria. *Molecular, Biochemical and Physiological Aspects of Plant Respiration*: 19-27
- Silva, D. F. P., Salomão, L. C. C., Siqueira, D. L., Cecon, P. R., & Rocha, A. (2012). Manga 'Ubá' tratada com ethephon na pré-colheita. *Revista Ceres*, 59(4): 555-559
- Silva, T. V., Lima, R. V., Azevedo, I. G., Rosa, R. C. C., Souza, M. S., & Oliveira, J. V., (2010). Determinação da maturidade fisiológica de frutos de maracujazeiro-amarelo colhidos na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(1): 57-66
- Silva, W. J. M., & Ferrari, C. K. B. (2011). Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 14(3): 441-451
- Singh, S. P., & Pal, R. K. (2008). Response of climacteric-type guava (*Psidium guajava* L.) to postharvest treatment with 1-MCP. *Postharvest biology and technology*, 47(3): 307-314
- Siqueira, A. M. A., Santos, A. M. L., Lima, B. S., Rodrigues, M., Afonso, A., & Costa, J. M. C. (2014). Vida útil pós-colheita de goiaba cv. 'Paluma' submetida ao resfriamento rápido por ar forçado. *Revista Ciência Agronômica*, 45(1): 45-51

- Smirnoff, N., Conklin, P. L., & Loewus, F. A. (2001). Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. *Annual review of plant biology*, 52(1): 437-467
- Solomos, T. (1977). Cyanide-resistant respiration in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 28(1): 279-297
- Souza, A. F., Silva, W. B., Gonçalves, Y. S., Silva, M. G., & Oliveira, J. G. (2014). Fisiologia do amadurecimento de mamões de variedades comercializadas no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2): 318-328
- Sowa, S., & Towill, L. E. (1991). Effects of nitrous oxide on mitochondrial and cell respiration and growth in *Distichlis spicata* suspension cultures. *Plant cell, tissue and organ culture*, 27(2): 197-201
- Sweetlove, L. J., Taylor, N. L., & Leaver, C. J. (2007). Isolation of intact, functional mitochondria from the model plant *Arabidopsis thaliana*. *Mitochondria*: 125-136.
- Szarka, A., Horemans, N., Kovács, Z., Gróf, P., Mayer, M., & Bánhegyi, G. (2007). Dehydroascorbate reduction in plant mitochondria is coupled to the respiratory electron transfer chain. *Physiologia plantarum*, 129(1): 225-232
- Taiz, L., & Zeiger, E., (2010). *Plant Physiology*. Sinauer, Assoc. Inc. Sunderland Ma, USA, 5. 782p.
- Taylor, C. T., & Moncada, S. (2010). Nitric oxide, cytochrome C oxidase, and the cellular response to hypoxia. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 30(4): 643-647
- Tezotto, J. V., Jacomino, A. P., Godoy, A. E., Cerqueira-Pereira, E. C., & Gallon, C. Z. (2011). Efeito do corte como dano mecânico na qualidade e na fisiologia de mamões 'golden'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, volume especial: 241-247
- Tucker, G. A., Introduction. In: Seymour, G. B., Taylor, J. E., Tucker, G. A., (1993). *Biochemistry of fruit ripening*. London: Chapman & Hall, cap.1 p. 2-51.
- Valente, A., Albuquerque, T. G., Sanches-Silva, A., & Costa, H. S. (2011). Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Research International*, 44(7): 2237-2242.
- Vandrell, M. & Palomer, X. (1997). Hormonal control of fruits ripening in climacteric fruits. *Acta Horticulturae*, (463): 325-334
- Vanlerberghe, G. C., Robson, C. A., & Yip, J. Y. (2002). Induction of mitochondrial alternative oxidase in response to a cell signal pathway down-regulating the cytochrome pathway prevents programmed cell death. *Plant Physiology*, 129(4): 1829-1842

- Velho, A. C., Amarantes, C. V. T., Argenta, L. C., & Steffens, C. A. (2011). Influência da temperatura de armazenamento na qualidade pós-colheita de goiabas serrana. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(1): 14-20
- Vercesi, A.E., Borecký, J., Maia, I.G., Arruda, P., Cuccovia, I.M. & Chaimovich, H. (2006). Plant uncoupling mitochondrial proteins. *The Annual Review of Plant Biology*. 57: 383-404
- Vieira, S. M., Couto, S. M., Corrêa, P. C., dos Santos, A. E., Cecom, P. R., & da Silva, D. J. (2008). Características físicas de goiabas (*Psidium guajava* L.) submetidas a tratamento hidrotérmico. *Revista Brasileira de engenharia agrícola Ambiental*, 12(4): 408-414
- Vilas Boas, B. M., Alves, A. D. P., Alves, J. A., Rodrigues, L. J., Alves, T. C., & Vilas Boas, E. V. D. B. (2013). Caracterização física, química e bioquímica do mesocarpo interno de frutos do pequizeiro colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento. *Ciência Rural*, 43(12): 2285-2290
- Vitti, M. C. D., Sasaki, F. F., Miguel, P., Jacomino, A. P., Moretti, C. L., & Kluge, R. A. (2009). Atividade respiratória e aspectos microbiológicos de cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas em diferentes temperaturas. *Ciência Rural*.
- Viviani, L., & Leal, P. M. (2007). Qualidade pós-colheita de banana prata anã armazenada sob diferentes condições. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(3): 465-470
- Wagner, A. M., van den Bergen, C. W., & Wincencjusz, H. (1995). Stimulation of the alternative pathway by succinate and malate. *Plant physiology*, 108(3): 1035-1042
- Wallström, S. V., Florez-Sarasa, I., Araújo, W. L., Aidemark, M., Fernández, M. F., Fernie, A. R., & Rasmusson, A. G. (2013). Suppression of the external mitochondrial NADPH dehydrogenase, NDB1, in *Arabidopsis thaliana* affects central metabolism and vegetative growth. *Molecular plant*, sst 115
- Wallström, S. V., Florez-Sarasa, I., Araújo, W. L., Escobar, M. A., Geisler, D. A., Aidemark, M., & Rasmusson, A. G. (2014). Suppression of NDA-type alternative mitochondrial NAD (P) H dehydrogenases in *Arabidopsis thaliana* modifies growth and metabolism, but not high light stimulation of mitochondrial electron transport. *Plant and Cell Physiology*, 55(5), 881-896
- Wener, E., Junior, L. F. G. O., Bona, A. P., Cavati, B., & Gomes, T. D. U. H. (2009). Efeito do cloreto de cálcio na pós-colheita de goiaba Cortibel. *Bragantia, Campinas*, 68(2), 511-518
- Wheeler, G. L., Jones, M. A., & Smirnov, N. (1998). The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature*, 393(6683): 365-369
- Whelan, J., Millar, A. H., & Day, D. A. (1996). The alternative oxidase is encoded in a multigene family in soybean. *Planta*, 198(2): 197-201

- Wikström, M., Krab, K., & Saraste, M. (1981). *Cytochrome oxidase: a synthesis* (pp. 142-180). London: Academic Press.
- Wills, R., McGlasson, B., Graham, D., Joyce, D., (1998). Introducción a la fisiología e la manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales. Trad de J.B Gonzáles. 2 .ed. Zaragoza: Ascribia. 240p.
- Xisto, A. L. R. P., (2002). Conservação pós-colheita de goiaba 'Pedro Sato' com aplicação de cloreto de cálcio em condições ambiente. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Lavras - MG, Universidade Federal de Lavras, 47p
- Xu, F., Yuan, S., Zhang, D. W., Lv, X., & Lin, H. H. (2012). The role of alternative oxidase in tomato fruit ripening and its regulatory interaction with ethylene. *Journal of experimental botany*, 63(15): 5705-5716
- Yamashita, F., & Benassi, M. T. (1998). Influência de diferentes embalagens de atmosfera modificada sobre a aceitação de goiabas brancas de mesa (*Psidium guajava* L., var. Kumagai) mantidas sob refrigeração. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 9(1): 9-16
- Yamamoto, E., Ferreira, R., Fernandes, P., Albuquerque, L., & Alves, E. (2011). Função do cálcio na degradação da parede celular vegetal de frutos. *R. Verde*, 6 :49-55.