

**MARLENE DE SOUZA BRETAS**

**FATORES PRÉ E PÓS-COLHEITA NO ESCURECIMENTO DO PERICARPO DE  
*Litchi chinensis* 'BENGAL'**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Wellington Souto Ribeiro

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

B844f                    Bretas, Marlene de Souza, 1995-  
2022                    Fatores pré e pós-colheita no escurecimento do pericarpo de

*Litchi chinensis* 'Bengal' / Marlene de Souza Bretas. – Viçosa,  
MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (29 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Wellington Souto Ribeiro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Agronomia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 26-29.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.161>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Lichia - Colheita. 2. Lichia - Qualidade. 3. Enzimas.  
I. Ribeiro, Wellington Souto, 1989-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 634.6

MARLENE DE SOUZA BRETAS

FATORES PRÉ E PÓS-COLHEITA NO ESCURECIMENTO DO PERICARPO DE  
*Litchi chinensis* 'BENGAL'

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 15 de setembro de 2022.

Assentimento:

Marlene de Souza Bretas

Marlene de Souza Bretas

Autora

Wellington Souto Ribeiro

Wellington Souto Ribeiro

Orientador

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Edgard Augusto de Toledo Picoli e à Patrícia Rabelo Eustachio Nogueira pelo convite na participação deste projeto e cessão da infraestrutura da Fazenda Olhos d'água e frutos.

À Genáina Aparecida de Souza pela ajuda na amostragem, condução e elaboração das pranchas anatômicas.

Ao CNPq, CAPES e FAPEMIG pela concessão da bolsa de estudos e provimento de recursos para realização da pesquisa.

## RESUMO

BRETAS, Marlene Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2022. **Investigação sobre os fatores pré e pós-colheita no escurecimento do pericarpo de *Litchi chinensis* 'Bengal'**. Orientador: Wellington Souto Ribeiro.

A integridade e a coloração do pericarpo de frutos de *Litchi chinensis* são os seus principais atributos de qualidade. A formação e manutenção da cor do pericarpo na pré e pós-colheita, respectivamente, dependem das condições edafoclimáticas e tratos culturais. No entanto, no Brasil, as práticas de manejo adotadas são adaptadas de outros países e não refletem a heterogeneidade do contexto produtivo das regiões brasileiras. Portanto, o contexto pré-colheita, se inadequado, resulta em perdas imediatas ou em sequelas, como microfissuras, rachaduras, que resultarão no escurecimento do pericarpo e se expressarão em perdas nas etapas subsequentes. Portanto, o objetivo foi cinzelar os fatores causadores do escurecimento pós-colheita do pericarpo de frutos de *L. chinensis* var. Bengal considerando o contexto produtivo. Frutos íntegros e escurecidos/rachados foram colhidos nas primeiras horas da manhã e mantidos à temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C) e umidade relativa do ar de  $86 \pm 3\%$ . A coloração do pericarpo ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ), a perda de massa fresca dos frutos, o teor de compostos fenólicos totais, a atividade da peroxidase (POD), polifenol oxidase (PPO), ascorbato peroxidase (APx) foram determinados a cada duas horas até 8 horas. Foi realizado, também, a microscopia de varredura no pericarpo de frutos rachados e de frutos íntegros. O início do escurecimento do pericarpo em frutos íntegros ocorre entre 3 e 4 horas após a colheita com alteração da cor e concomitante perda de 2,3% de massa fresca. O teor de compostos fenólicos, atividade da POD, PPO e APx aumentaram a partir de 3 horas após a colheita. Nos frutos escurecidos/rachados, o teor de nitrogênio e potássio do arilo eram maiores que em frutos íntegros e o teor de cálcio do pericarpo menor. Portanto, as rachaduras foram o resultado da coalescência de microfissuras no pericarpo causados pelo aumento da osmolaridade do arilo associado à baixa resistência da parede celular. O escurecimento do pericarpo ocorreu como resposta cicatrizante às microfissuras no pericarpo. O rápido escurecimento pós-colheita do pericarpo de frutos de lichia é enzimático e a perda de massa fresca é o principal gatilho. No caso de frutos rachados na planta e das microfissuras, o balanço nutricional inadequado foi a causa mais provável e o

escurecimento decorrente se deve à cicatrização do pericarpo para evitar a perda de água.

Palavras-chave: Escurecimento. Microfissuras. Microcracking.

## ABSTRACT

BRETAS, Marlene Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2022. **Investigation of pre and postharvest factors in pericarp browning of *Litchi chinensis* 'Bengal'**. Adviser: Wellington Souto Ribeiro.

The pericarp color and integrity of the *Litchi chinensis* fruit are main quality attributes. The formation and maintenance of pericarp color in pre and postharvest, respectively, depend on soil and climate conditions and cultural practices. However, in Brazil, the management practices adopted are adapted from other countries and do not reflect the heterogeneity of the Brazilian regions productive context. Therefore, the pre harvest context, if inadequate, results in immediate losses or sequelae, such as microcracks, cracks, which will result in the darkening of the pericarp and will be expressed in losses in subsequent stages. Therefore, the objective was to chisel the factors that cause postharvest browning of the fruits pericarp of *L. chinensis* var. Bengal considering the productive context. Whole and darkened/cracked fruits were harvested in the morning early hours and kept at  $22 \pm 2$  °C and relative humidity of  $86 \pm 3\%$ . Pericarp color ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ), fruit fresh weight loss, total phenolic compounds content, peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO), ascorbate peroxidase (APx) activity were determined. Every two hours up to 24 hours. Scanning microscopy and pericarp spectrometry were evaluated. The pericarp browning beginning in intact fruits occurs between 3 and 4 hours after harvest with color change and concomitant of 2.3% fresh mass. The phenolic compounds content, POD, PPO and APx activity increased from 3 hours after harvest. The enzymes maximum activity was 12 hours after harvest, when the pericarp was fully browned. In darkened/cracked fruits, the nitrogen and potassium content of the aryl were higher than in intact fruits and the calcium content of the pericarp was lower. Therefore, the cracks were the result of the coalescence of microcracks in the pericarp caused by the increase in aryl osmolarity associated with low cell wall strength. The pericarp darkening occurred as a healing response to microcracks in the pericarp. The rapid postharvest browning of the lychee fruit pericarp is enzymatic and the loss of fresh mass is the main trigger. In the case of cracked fruits on the plant and micro-cracks, inadequate nutritional balance was the most likely cause and the resulting darkening is due to the healing of the pericarp to prevent water loss.

Keywords: Browning. Microcracks. Microcracking.



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	9
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1. Caracterização da área e delineamento experimental .....	11
3.2. Material vegetal.....	12
3.3. Procedimento experimental.....	13
3.3.1. Cor .....	13
3.3.2. Perda de massa fresca.....	13
3.3.3. Concentração de compostos fenólicos totais.....	13
3.3.4. Atividade enzimática .....	14
3.3.5. Microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia .....	14
3.3.6. Análise Nutricional .....	15
3.3.7. Análise de dados .....	15
4. RESULTADOS .....	16
5. DISCUSSÃO .....	22
6. CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS .....	26

## 1. INTRODUÇÃO

Frutos de *Litchi chinensis* Sonn. (Sapindales: Sapindaceae) são não-climatéricos e, portanto, devem ser colhidos no estágio maduro – caracterizado, a depender da variedade, pela cor vermelha-rosado, vermelho-vivo ou vermelho-púrpura em seu pericarpo (Swart, 1983; Kumar et al., 2013). A coloração do pericarpo, além de determinar o ponto de colheita, é o principal atributo de qualidade de frutos de *L. chinensis* que, após a colheita, apresentam um rápido escurecimento (Silva et al., 2012). O rápido escurecimento do pericarpo limita o transporte e a comercialização destes frutos, o que leva à redução do valor comercial do produto no mercado nacional e internacional (Neog e Saikia, 2010).

A literatura sugere que o escurecimento do pericarpo de *L. chinensis* está condicionado, *a priori*, a fatores genéticos, sendo causado pela rápida degradação das antocianinas pela ação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase (Akamine 1960; Chen e Wang 1989; Lee e Wicker 1991; Kumar et al., 2013), concomitantemente a oxidação de compostos fenólicos (Kumar et al., 2013). A desidratação do pericarpo contribui para o escurecimento do pericarpo quando associada à presença de microfissuras e fissuras, nomeadas como *cracking* ou *microcracking* (Scott et al., 1982; Underhill e Simons, 1993; Underhill e Critchley, 1994).

As microfissuras e fissuras aceleram a perda de água do pericarpo e, em última análise, aceleram o escurecimento do pericarpo pelo processo de cicatrização de feridas por suberização e/ou lignificação (Underhill e Critchley, 1992). Essas feridas são formadas quando a pressão de expansão do arilo excede a força do pericarpo afastando as espículas e/ou rompendo tecidos celulares; o que Wang et al. (2021) chamou de teoria de “*ball-skin versus bladder effect*” - “efeito pele de bola *versus* bexiga”. No entanto, é importante ressaltar que, para além das condições edafoclimáticas e tratos culturais, o aparecimento de microfissuras e fissuras está intimamente relacionado a fatores genéticos, quando determinadas variedades apresentam menor resistência do pericarpo. (Marboh, 2017).

Em frutos de *L. chinensis* var. Nuomici, susceptíveis ao escurecimento, as microfissuras e fissuras são proeminentes e há um baixo nível de expressão de genes relacionados à auxina, giberelinas e etileno, fatores de transcrição, transporte e sinalização de cálcio e síntese de lipídios no pericarpo que podem diminuir a sua força mecânica. Por outro lado, no arilo há um alto nível de expressão de genes associados

à auxina e ácido abscísico, fatores de transcrição, metabolismo amido/sacarose e transporte de açúcar/água que podem aumentar a pressão de expansão do arilo (Wang et al., 2021).

Estas avaliações são consistentes, no entanto, consideram apenas o resultado e não as causas do escurecimento que, normalmente, estão relacionados à respostas aos estímulos internos (genéticos e fisiológicos) e externos (tratos culturais e condições edafoclimáticas). As causas e as vias para o escurecimento do pericarpo de *L. chinensis* ainda não estão elucidadas e falta um protocolo adequado para reduzi-lo (Kumar et al., 2013).

A formação da cor do pericarpo e a sua manutenção na pós-colheita dependem do contexto pré-colheita, o qual inclui as condições edafoclimáticas e tratos culturais (Reichel et al. 2017.). O regime de chuvas, manejo da adubação (principalmente nitrogênio, potássio e boro), época de colheita, disponibilidade de água, lesões causadas por pragas e doenças, poda temperatura, entre outros fatores, são determinantes na formação dos atributos de qualidade do fruto. Esses fatores quando bem manejados, reduzem o aparecimento de fissuras e microfissuras que são um dos protagonistas no escurecimento do pericarpo de lichia (Huang et al., 2003).

No Brasil, o cultivo e as práticas de manejo adotadas são adaptados de outros países e não refletem a heterogeneidade do contexto produtivo das regiões brasileiras. Essa lacuna faz com que produtores adotem práticas de manejo, em sua maioria, que não possibilitam a expressão do potencial máximo da cultura, refletindo diretamente na durabilidade pós-colheita desses frutos (Takata et al., 2011).

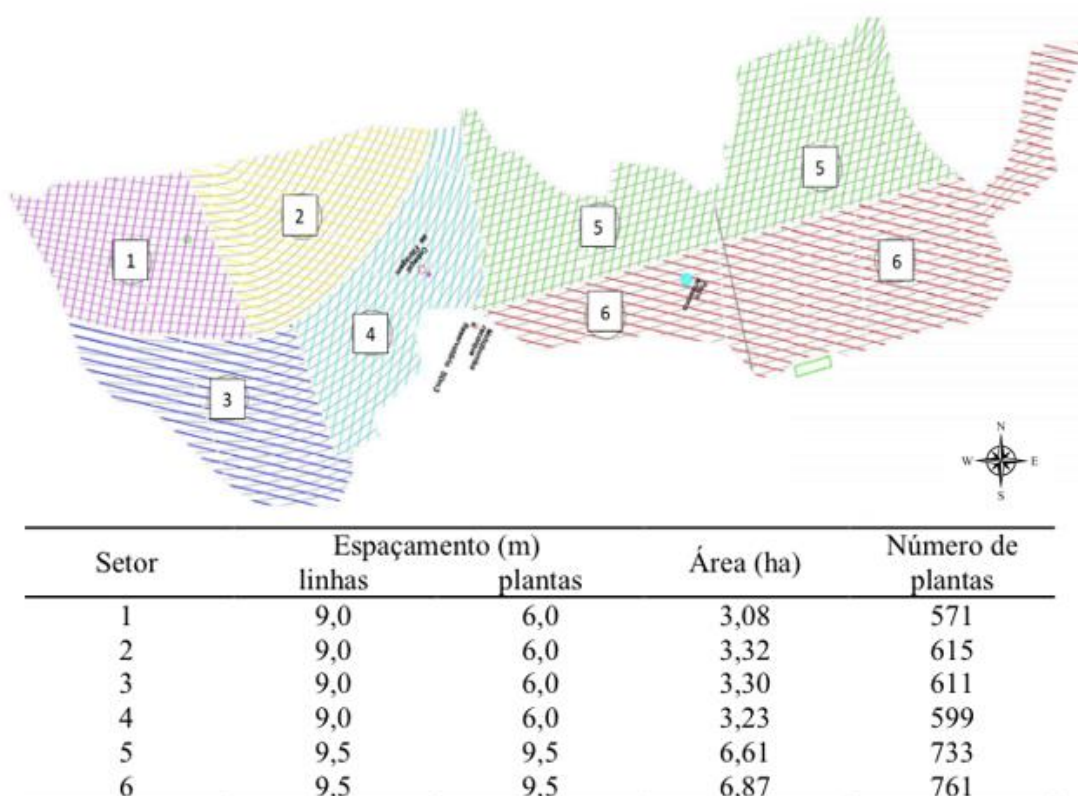
Diante de uma demanda indutiva em um pomar comercial, o objetivo do estudo foi pontuar os fatores causadores do escurecimento pós-colheita do pericarpo de frutos de *L. chinensis* var. Bengal, para que posteriormente mais estudos possam ser desenvolvidos.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização da área e delineamento experimental

O experimento foi conduzido em pomar comercial de *Litchi chinensis* var. Bengal, na Fazenda Red Lychee. Localizada em Mateus Leme, Minas Gerais, Brasil- (19° 59'S e 44° 25'W), onde há predominância de clima tipo Cwa (subtropical úmido), conforme classificação de Köppen, e altitude média de 827 m. Possui aproximadamente 4.500 plantas de lichia, distribuídas em 28 ha e em 6 setores (Figura 1), os quais são divididos de acordo com a idade das plantas, respectivamente. TIPO DE SOLO

Figura 1 – Croqui do pomar de *Litchi chinensis* var. Bengal da Red Lychee

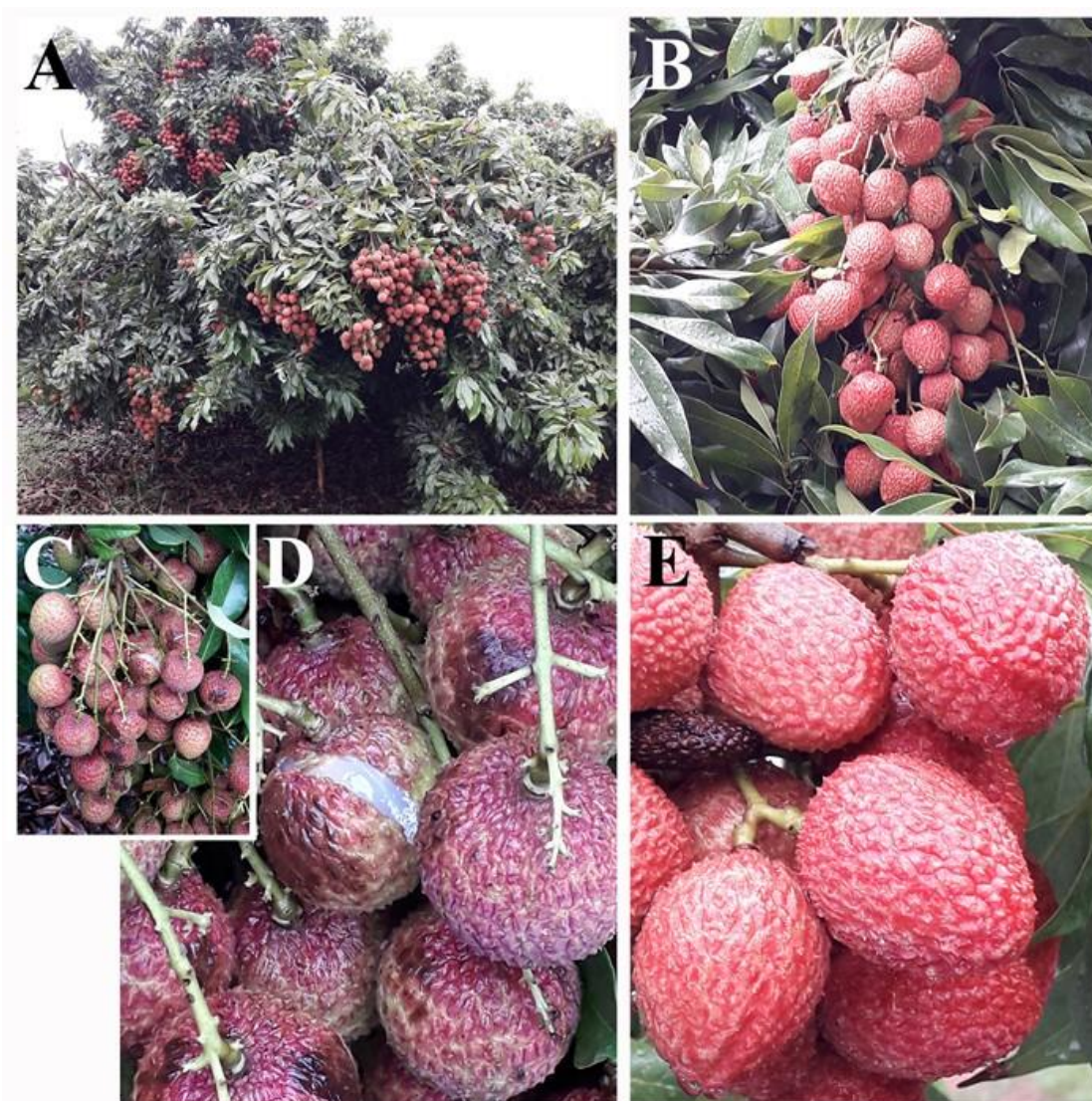


O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições – sendo cada repetição composta por 10 frutos – e as avaliações foram feitas em 7 intervalos de tempo até completar 24 h de armazenamento (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 horas).

### 3.2. Material vegetal

Frutos maduros de *Litchi chinensis* var. Bengal com pericarpo totalmente vermelho foram colhidos na safra de 2021/2022 – novembro a fevereiro – entre 05:00 e 11:00h. Cachos de frutos íntegros e cachos de frutos rachados em todo o pomar foram colhidos manualmente do terço médio de 10 plantas escolhidas aleatoriamente, em todas as suas faces (Figura 2).

Figura 2 – Lichieira com frutos em todas as faces (A). Detalhe do cacho de lichia não rachado (B e E) e cacho de lichia com frutos rachados (C e D).



Fonte: Picoli, E.A.T. (2022).

### 3.3. Procedimento experimental

Os cachos de frutos colhidos foram transportados em caixas de isopor revoltos por gelo ( $18 \pm 2$  °C) ao Laboratório de Fisiologia Vegetal e Fisiologia Pós-Colheita de Produtos Hortícolas da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, onde foram armazenados a  $22 \pm 2$  °C e UR do ar de  $80 \pm 5\%$ . Frutos íntegros e não rachados fronteiros aos primeiros e provenientes do mesmo cacho foram destacados e imediatamente preparados para posterior análise. Já os frutos provenientes dos cachos sem rachaduras foram armazenados por até 24 horas.

#### 3.3.1. Cor

A cor do pericarpo foi obtida por colorimetria (Konica Minolta - Chroma meter, CR 400/410) em faixa de comprimento de onda de 380 a 780 nm. As leituras de refletância foram realizadas com ângulo de observação de 2° e selecionado o iluminante C. A cor foi expressa pelo sistema de coordenadas retangulares L, a\* e b\* conforme a Commission Internationale de Eclairage (CIE), onde L expressa em porcentagem valores de luminosidade (0%= negro e 100%= branco), a\* representa as cores vermelha (+) ou verde (-) e b\* as cores amareladas (+) ou azul (-). As leituras foram realizadas em três pontos diferentes do pericarpo.

#### 3.3.2. Perda de massa fresca

A perda de massa fresca foi determinada por meio da diferença entre a massa inicial e final do fruto fresco em cada período de armazenamento, conforme a equação:  $PMF = (P_{inicial} - P_{final}) / P_{inicial} \times 100$ , sendo: PMF= perda de massa fresca,  $P_{inicial}$  = massa fresca inicial e  $P_{final}$  = massa fresca final.

#### 3.3.3. Concentração de compostos fenólicos totais

A concentração de compostos fenólicos totais foi extraída de 0,1g de pericarpo, triturados em nitrogênio líquido. 10 ml da solução extratora (etanol 80%) foi adicionada. A amostra foi centrifugada por 15 minutos a 16.000 rpm e avaliada pelo método descrito por Fu et al. (2010) com modificações. A absorbância foi medida por

meio da variação na absorvância em comprimento de onda de 760 nm em espectrofotômetro e a concentração estimada a partir do padrão ácido gálico, sendo expressa em  $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ FM}$ .

#### 3.3.4. Atividade enzimática

Aproximadamente 0,1 g de pericarpo fresco foi triturado em nitrogênio líquido. Ao material triturado foi adicionado 2 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 6,5), bissulfito de sódio 0,1%, NaCl 150 mM e polivinilpirrolidona solúvel (PVP) 1%, segundo metodologia descrita por Mizobutsi et al. (2012). A solução foi centrifugada a 12.000 rpm durante 15 minutos a 4 °C para posteriormente retirada do sobrenadante e quantificação da atividade das enzimas peroxidase (POD), polifenoloxidase (PPO) e ascorbato peroxidase (APx) em espectrofotometria.

A atividade da POD foi mensurada segundo metodologia descrita por Kar e Mishra (1976), com modificações, em que o tampão de reação era formado por peróxido de hidrogênio 3 mM e guaiacol 24 mM em pH igual a 6,5. A atividade foi determinada com base nos valores de absorvância a 470 nm e expressa em  $\text{mmol s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  de proteína, sendo usado o coeficiente de extração molar  $26,6 \mu\text{M}^{-1} \text{ m}^{-1}$ . A leitura foi feita em cubeta de vidro durante 1 minuto.

A atividade da PPO foi quantificada de acordo com Benjamin and Mont-gomery (1973), com modificações, em que a reação foi formada por peróxido de hidrogênio 0,3 mM e 4-metilcatecol 10 mM e estabelecida em pH igual a 6,5. A atividade foi determinada com base nos redução dos valores de absorvância a 290 nm e expressa em  $\text{mmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína, quando foi usado o coeficiente de extração molar de  $3450 \mu\text{M}^{-1} \text{ m}^{-1}$ , onde foi usada uma cubeta de quartzo.

A atividade da APX foi determinada segundo Ramalheiro (2009) com modificações. A reação foi formada por fosfato de potássio 50 mM em pH=7,8, ácido ascórbico 0,25 mM e peróxido de hidrogênio 0,3 mM, em pH de 6,8. A atividade foi monitorada pela redução da absorvância a 290 nm durante 1 min, sendo expressa em  $\text{mmol s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  de proteína, usando o coeficiente de extinção molar de  $2,8 \mu\text{M}^{-1} \text{ m}^{-1}$ . A leitura foi feita utilizando cubeta de vidro por 1 minuto.

#### 3.3.5. Microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia



Amostras do pericarpo de cinco frutos íntegros (não rachados) e cinco frutos rachados, conservadas em álcool 70%, foram retirados com o uso de lâminas e desidratados de forma gradual em álcool 80, 90 e 100%, respectivamente, por 10 minutos, e, em seguida, seco em Ponto Crítico (CPD) Balzers para posterior metalização com ouro. A topografia da superfície do pericarpo foi avaliada com o auxílio de um microscópio eletrônico de varredura, modelo Leo 1430VP, acoplado a sonda de raio-X (EDS).

### 3.3.6. Análise Nutricional

Amostras do pericarpo e arilo de frutos íntegros e frutos rachados foram secos em estufa a  $60 \pm 5$  °C até peso constante e em seguida moídas. Os teores de P, K, Ca foram determinados em extrato nitro-perclórico; de N em extrato sulfúrico e B em extratos clorídrico, após calcinação (EMBRAPA, 1997).

### 3.3.7. Análise de dados

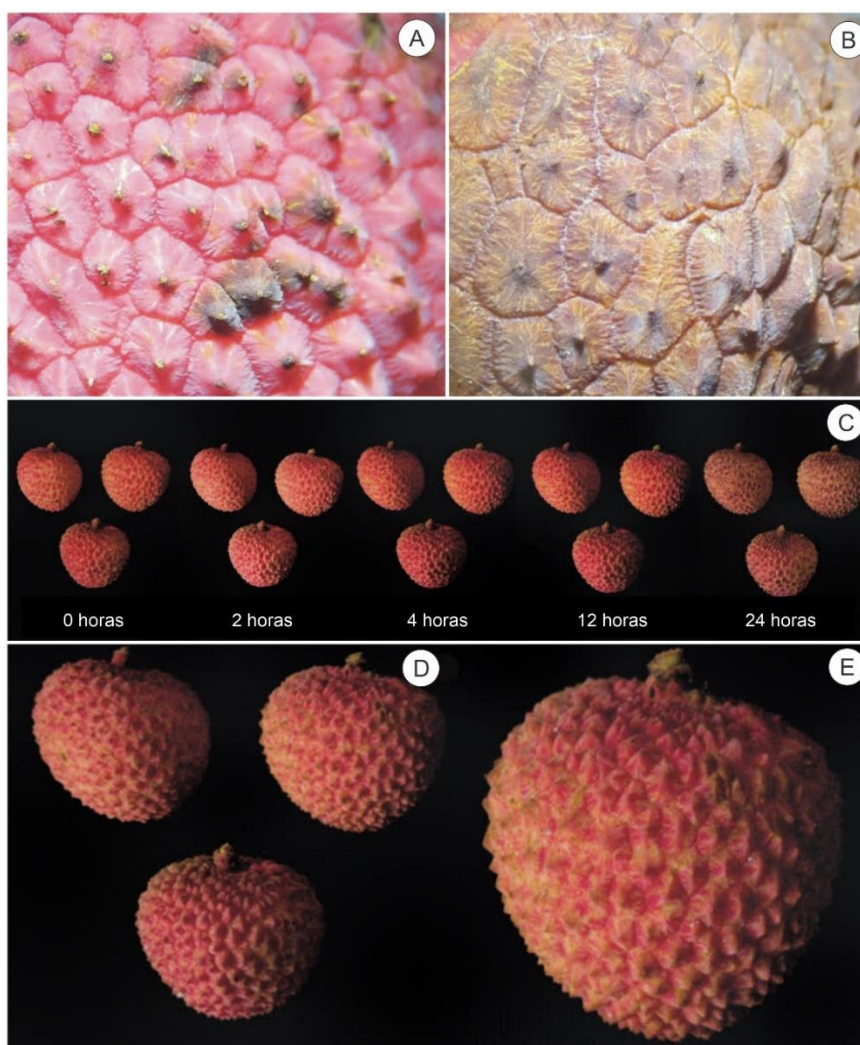
Os dados foram submetidos à análise descritiva, sendo expressos por meio da média e erro padrão da média. Para avaliar o grau de associação entre as variáveis, aplicou-se a análise de correlação linear de Pearson, com o resultado ilustrado na forma de *heatmap* usando o pacote *corrplot* (Wei & Simko, 2017) do software R. Dados que correspondem à quantificação de nutrientes no pericarpo foram submetidos ao teste estatístico de Tukey.



#### 4. RESULTADOS

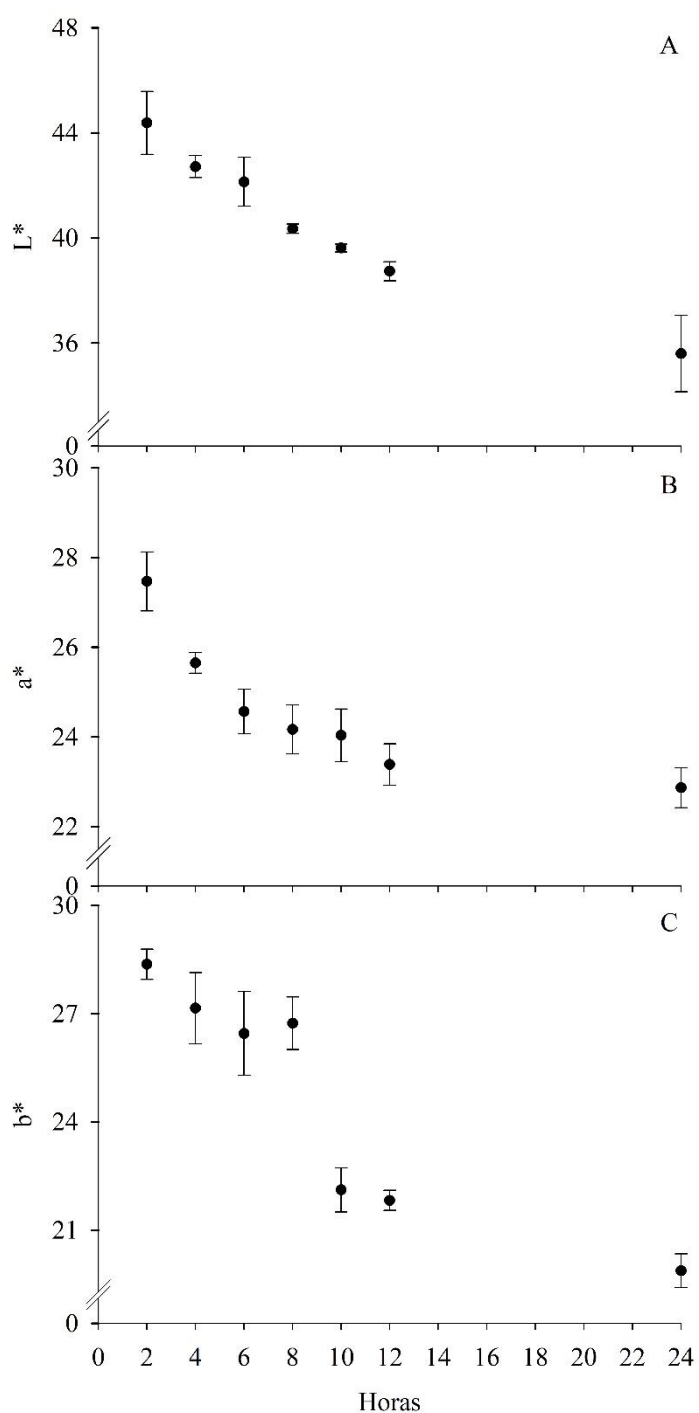
O escurecimento do pericarpo de frutos recém-chegados na maturidade hortícola, inicia do ápice das espículas em direção a base (Figura 3B) enquanto o escurecimento de frutos no pleno amadurecimento ocorre de forma homogênea (Figura 3A). Em ambos os casos, em temperatura ambiente, o escurecimento visível iniciou entre 3 e 4 horas após a colheita (Figura 3C).

Figura 3 – Aspecto geral do escurecimento do pericarpo de frutos de *Litchi chinensis* 'Bengal' recém-chegados na maturidade hortícola (A), em pleno amadurecimento (B), 24 horas após a colheita (C) e 4 horas após a colheita (D e E) em temperatura ambiente ( $\pm 25$  °C e 80% UR).



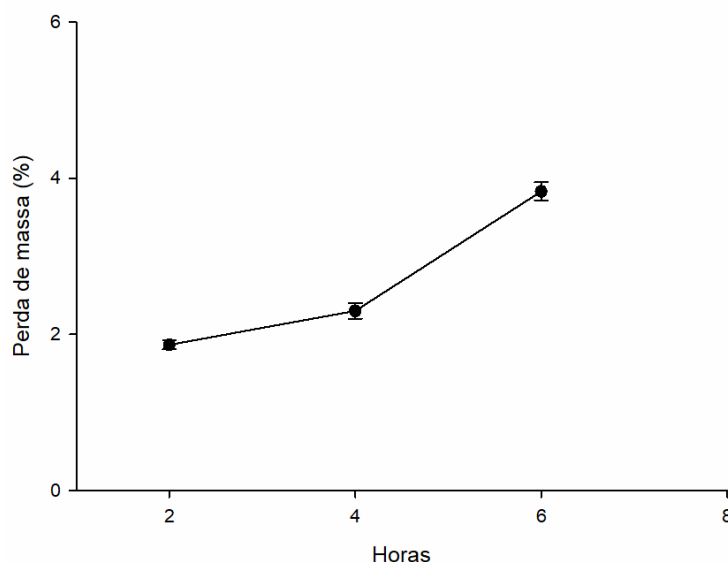
A alteração na coloração visual do pericarpo dos frutos de lichia pode ser comprovada pela redução dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  a partir de 3 horas após a colheita (Figura 4).

Figura 4 – Colorimetria do pericarpo de frutos de *Litchi chinensis* 'Bengal' durante 24 horas após a colheita em temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C e  $86 \pm 3\%$  UR). Barras que acompanham as médias correspondem ao desvio padrão.



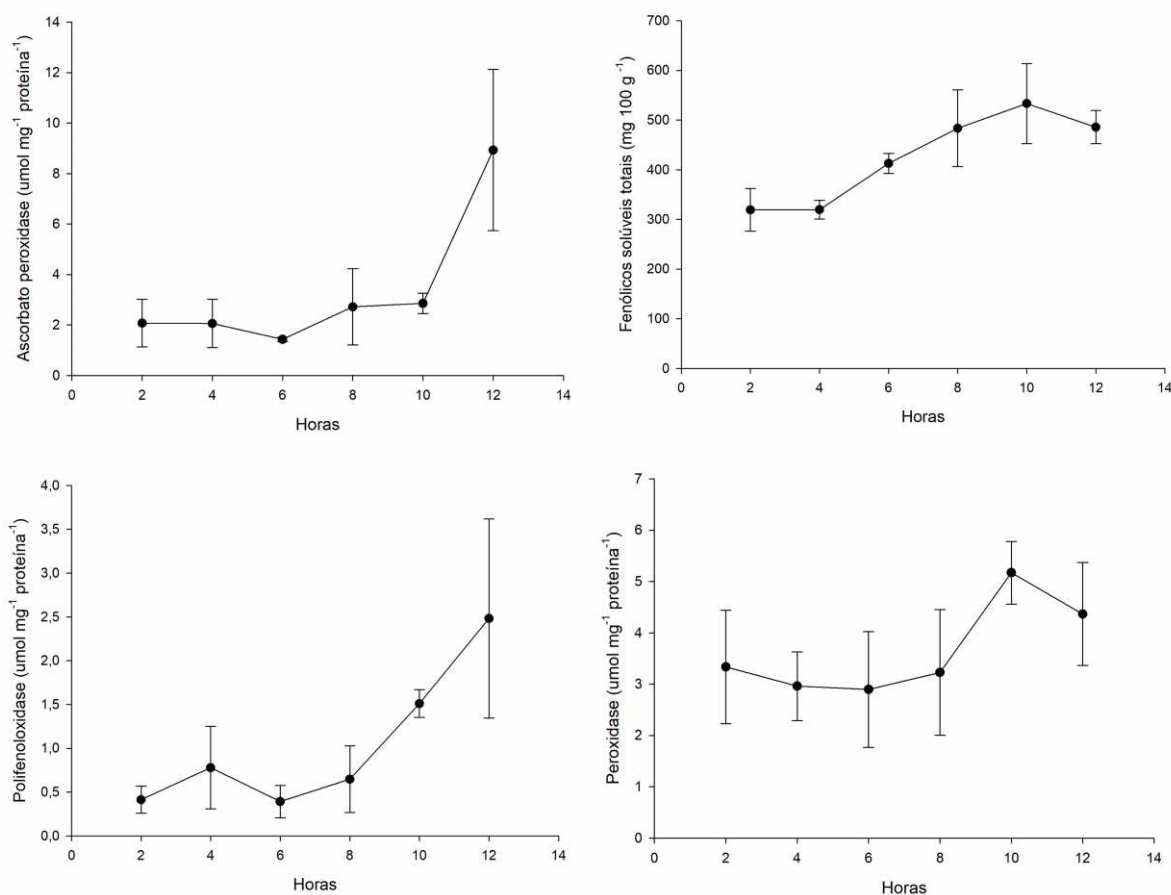
O escurecimento do pericarpo, principal problema pós-colheita de frutos de lichia, foi fortemente associado a rápida perda de massa fresca. Frutos de lichia 'Bengal' colhidos e mantidos a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C e  $86 \pm 3\%$  UR) perderam  $\pm 2$  e  $4\%$  de massa fresca entre 2 e 6 horas, respectivamente e o início do escurecimento do pericarpo ocorreu entre 3 e 4 horas após a colheita correspondendo a uma perda  $\pm 2,2\%$  de massa fresca (Figura 5).

Figura 5 – Perda de massa fresca de lichia 'Bengal' condicionada a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C e  $86 \pm 3\%$  UR). Barras que acompanham as médias correspondem ao desvio padrão.



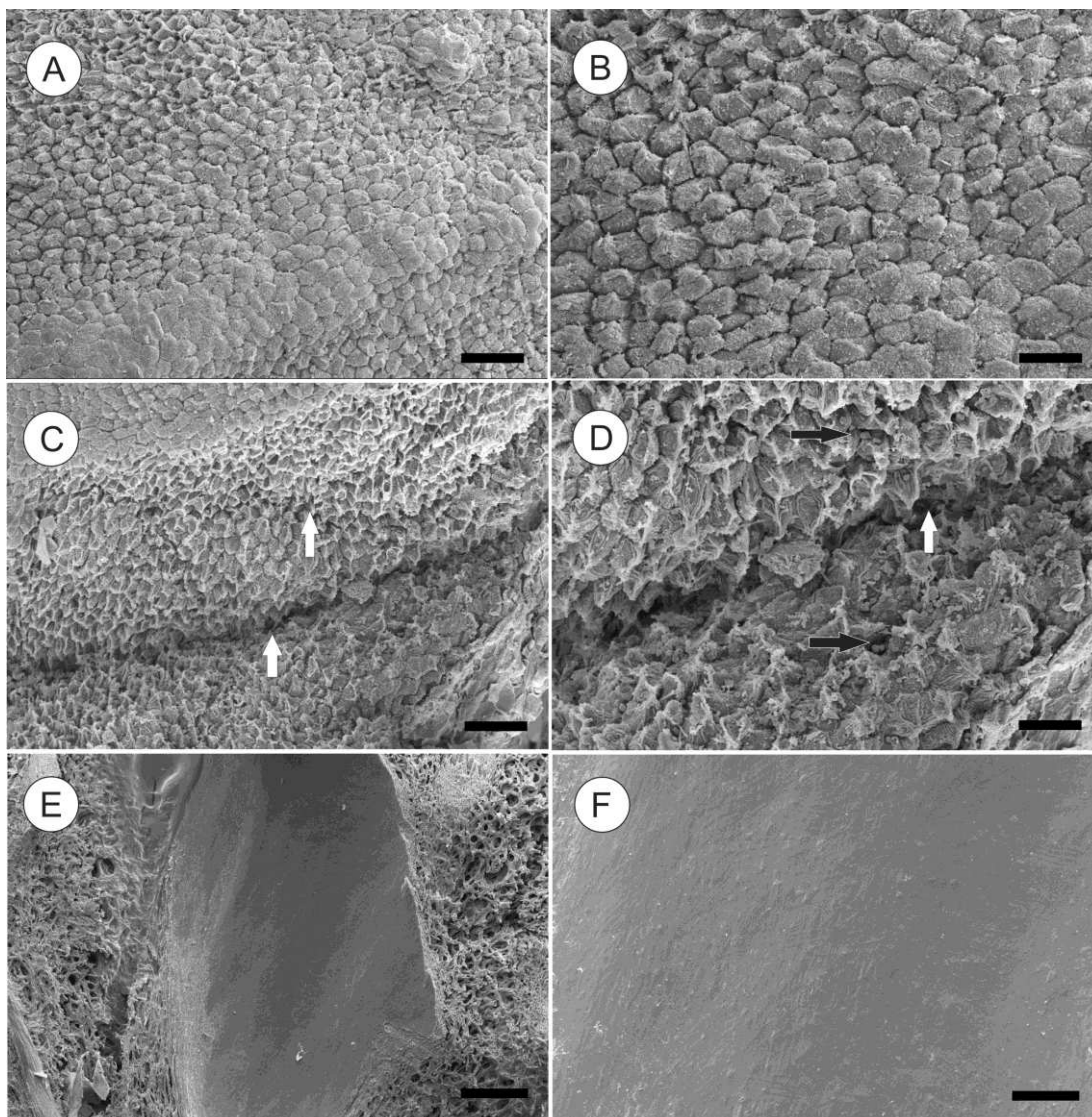
O teor de compostos fenólicos no pericarpo da lichia duplicou em, aproximadamente, 4 horas após a colheita e manteve-se elevado durante o período experimental (Figura 6A), o que coincide com o aumento da perda de massa. A atividade da POD aumentou aproximadamente 8 horas após a colheita e manteve elevada durante todo o período experimental (Figura 6B). A atividade da APX aumentou a partir das 10 horas após a colheita e diminuiu após esse mesmo período voltando a atividade inicial (Figura 6C). A atividade da PPO aumentou aproximadamente 8 horas após a colheita e diminuiu a partir das 12 horas pós-colheita (Figura 6D).

Figura 6 – Teor de compostos fenólicos, atividade da APX, PPO, POD, respectivamente, no pericarpo de lichia ‘Bengal’ condicionada a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C e  $86 \pm 3\%$  UR). Barras que acompanham as médias correspondem ao desvio padrão.



O pericarpo das lichias em pleno amadurecimento apresentava microfissuras associadas a uma evidente desestruturação e exposição de conteúdo celular e conteúdo de reserva contrastando com regiões de tecidos íntegros no mesmo fruto. Estas – as microfissuras – atingem o epicarpo e mesocarpo, porém não afetam o endocarpo (Figura 7).

Figura 7 – Microscopia eletrônica de varredura do pericarpo de frutos não rachados (A e B), frutos rachados (C e D) e do endocarpo de frutos rachados (E e F) de *Litchi chinensis* 'Bengal'. Bar (A, C e D) =20  $\mu\text{m}$  e Bar (B, D e E) =10  $\mu\text{m}$ .



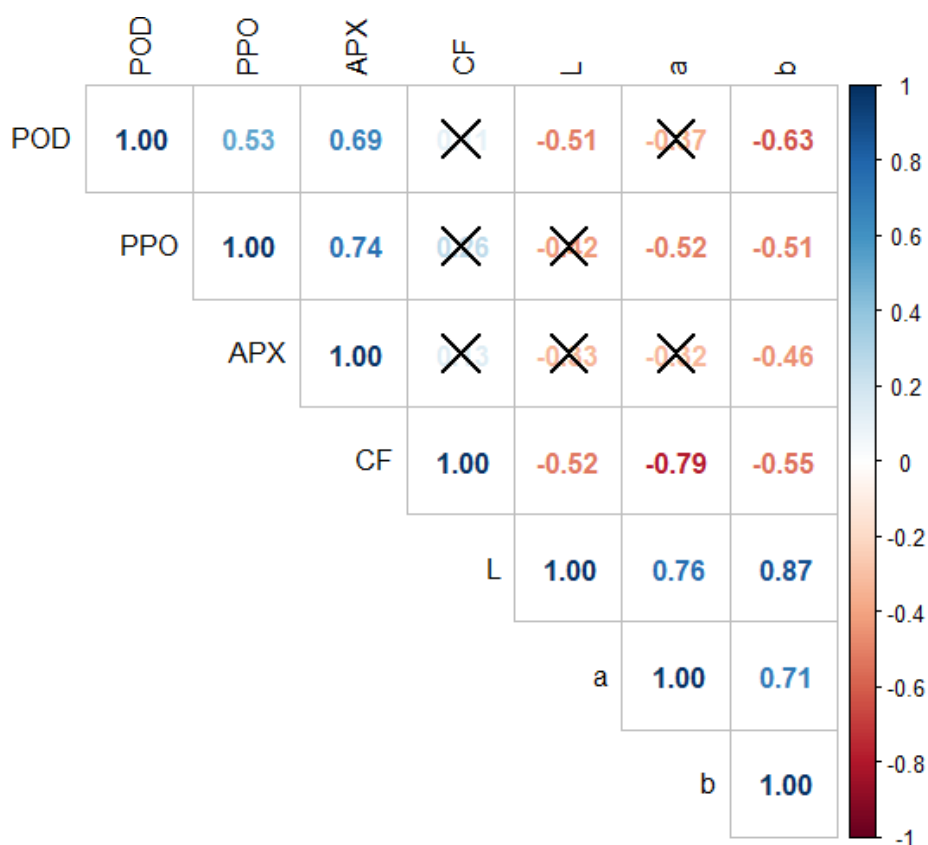
A concentração de cálcio no pericarpo de frutos com microfissuras e rachados era menor que naqueles sem rachaduras. A concentração de potássio e nitrogênio no arilo dos frutos foi maior em frutos rachados (Tabela 1 e Figura 7).

Tabela 1 – Análise nutricional do pericarpo e arilo de frutos de *Litchi chinensis* ‘Bengal’ pelo método de extração nitro-perclórica, sulfúrica e clorídrica e por espectroscopia. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Método nitro-perclórico, sulfúrico e clorídrico				
Pericarpo				
	N (dag kg <sup>-1</sup> )	K (dag kg <sup>-1</sup> )	Ca (dag kg <sup>-1</sup> )	B (mg kg <sup>-1</sup> )
Frutos não rachados	0,80 a	0,74 a	0,25 a	16,36 a
Frutos rachados	0,90 b	0,79 b	0,18 b	14,32 b
Arilo				
	N (dag kg <sup>-1</sup> )	K (dag kg <sup>-1</sup> )	Ca (dag kg <sup>-1</sup> )	B (mg kg <sup>-1</sup> )
Frutos não rachados	0,67 a	0,93 a	0,01 a	4,81 a
Frutos rachados	0,74 b	1,14 b	0,02 b	6,14 b

A atividade da POD teve correlação negativa com o parâmetro L. O teor de compostos fenólicos correlacionou-se negativamente com os parâmetros L\*, a\* e b\* (Figura 9).

Figura 9 – Mapa de calor da correlação de Pearson entre variáveis (POD, PPO, APX, CF, L, a e b). As cores da barra lateral indicam a natureza da correlação: 1 significa uma correlação perfeitamente positiva (azul escuro) e -1 significa uma correlação perfeitamente negativa (vermelho escuro). Os números dentro do retângulo indicam os valores do coeficiente de correlação linear de Pearson. Os retângulos com X indica ausência de significância pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ).



## 5. DISCUSSÃO

O fruto da lichia origina-se das panículas terminais e à medida que se desenvolve, o pericarpo diferencia-se morfológicamente em três zonas: epicarpo, mesocarpo e endocarpo (Nacif et al., 2002). Durante o desenvolvimento inicial, o epicarpo consiste em uma cutícula contínua e espessa, que se afina, em parte, resultado da rápida expansão do pericarpo e a expansão do arilo. Partindo desta premissa, o escurecimento iniciado nos ápices das espículas em frutos maduros se deve a fenolização e oxidação dos tecidos epidérmicos causados por compressão e/ou impacto. Ou seja, quando uma força é exercida sobre o pericarpo, as braquiesclereides rompem o epicarpo fino causando a degradação de fosfolipídios e iniciando eventos rápidos e precoces de escurecimento enzimático (PPO, POD, APX) e não enzimático (desidratação).

Diante disso, pode-se concluir que o padrão de escurecimento do pericarpo de lichias está diretamente relacionado as modificações anatômicas e morfológicas que ocorrem neste tecido durante o desenvolvimento do fruto. Após o desenvolvimento da semente e do arilo, essas protuberâncias tornam-se progressivamente menores e o pericarpo afina ganhando aspecto verrucoso devido o desenvolvimento da semente e do arilo explicando a percepção e distribuição homogênea do escurecimento do pericarpo de frutos de lichia no pleno amadurecimento (Nacif et al., 2002).

As microfissuras e rachaduras, observadas nos frutos em pleno amadurecimento, também podem ser explicadas por alterações anatômicas e morfológicas durante o desenvolvimento do fruto. No entanto, a pressão de expansão do arilo excede a força de resistência do pericarpo gerando uma pressão interna que resulta no afastando das espículas e resultando em microfissuras; o que Wang et al. (2021) chamou de teoria de “*ball-skin versus bladder effect*” - “efeito pele de bola *versus* bexiga”. Logo, estas pequenas microfissuras do pericarpo podem coalescer formando rachaduras e acelerando a perda de água e, conseqüentemente, a desidratação e dessecação do pericarpo – gatilho para o escurecimento enzimático e não enzimático. No entanto, é importante ressaltar que, para além das condições genéticas o aparecimento das microfissuras está intimamente relacionado com as condições edafoclimáticas e tratos culturais. Acredita-se que a baixa resistência das células à expansão de tecidos, potencialmente causada por um desbalanco nutricional

(deficiência de cálcio no pericarpo e excesso de nitrogênio e potássio no arilo), pode levar à ruptura dessas células resultando, em última análise, no escurecimento do pericarpo.

O cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) determina a rigidez da parede celular pela reticulação de grupos carboxila carregados negativamente da pectina desesterificada na lamela média (Thor, 2019). Além das paredes celulares, o  $\text{Ca}^{2+}$  também estabiliza as membranas celulares através da interação com fosfolipídios (Marschner, 1995; Hepler, 2005). Logo, um baixo teor de  $\text{Ca}^{2+}$  enfraquece a parede celular diminuindo a resistência a pressão exercida pelo crescimento do arilo. Portanto, a menor concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  no pericarpo de frutos com microfissuras e rachados explica sua ocorrência. Estes resultados reiteram e dão suporte à necessidade de uma adubação equilibrada e adequada às condições em que são conduzidas a licheira, visando suprir, dentro do possível, o cálcio demandado pontualmente no momento do desenvolvimento do fruto.

As evidências indicam que o escurecimento do pericarpo de frutos de lichia entre 3 e 4 horas após a colheita é um processo induzido pela desidratação do pericarpo agravada pela presença das microfissuras e potencializado pelos danos causados no manuseio durante a colheita e pós-colheita. Estas – as microfissuras – atingem o epicarpo e mesocarpo, porém não afetam o endocarpo, sugerindo que a perda de massa fresca é, a priori, restrita ao pericarpo. O epicarpo imaturo é composto pela epiderme externa e duas camadas hipodérmicas. A epiderme externa é constituída por uma série de pequenas células cúbicas com paredes radialmente espessadas, recobertas por uma cutícula espessa impregnada de compostos fenólicos (que servirão como substrato para atividade enzimática). A formação do tecido esclerenquimático começa logo abaixo da epiderme e torna-se completamente diferenciada aos 62 dias depois da antese. O tecido esclerenquimatoso distribui-se em duas ou três camadas descontínuas separadas por protuberâncias muito visíveis presentes no pericarpo que, por suas características, não são barreiras à perda de água. O mesocarpo, por sua vez, é composto por células parenquimatosas e o endocarpo é formado por células muito pequenas, de paredes finas e não lignificadas que também não constituem barreiras para a perda de água. Estes tecidos têm a função de proteção contra estresses mecânicos, fisiológicos e herbívoros. Logo, o que mantém o pericarpo de um fruto não colhido com a coloração íntegra é a manutenção do balanço hídrico que chega até o fruto pela presença de tecidos vasculares bem



distribuídos. Durante o desenvolvimento da lichia, a maioria dos tecidos vasculares aumenta em quantidade por meio da diferenciação de linhas vasculares adicionais dentro do parênquima fundamental. Segundo Fahn [18], o tecido vascular é encontrado no pericarpo e em outras partes de frutos e sua localização está relacionada à forma como os carpelos se fundem ou se unem. No entanto, após a colheita, o fluxo de água proveniente da planta mãe é interrompido e a desidratação do pericarpo é seguida por uma rápida descompartimentação celular, aumento da peroxidação dos lipídios da membrana, superprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS). Concomitante a estes eventos, no mesocarpo, há o aumento da oxidação de fenólicos e antocianinas catalisada por enzimas como peroxidase (PDO) e polifenol oxidase (PPO) a subsequente produção de subprodutos marrons (Akamine 1960). Estas, diante de tais observações, são as causas prováveis do escurecimento do pericarpo em lichia.

A capacidade antioxidante do pericarpo depende da composição e concentração dos compostos fenólicos, os quais previnem as células do estresse oxidativo causado por danos mecânicos no manuseio, por exemplo. O aumento no teor de compostos fenólicos no pericarpo da lichia após a colheita se deve às microfissuras e aos danos mecânicos causados durante a colheita e no pós-colheita, como resposta de defesa do tecido. O aumento da atividade da POD, PPO e APX pode ser explicado pela presença de descompartimentação de células causadas pelas microfissuras, que expõem o conteúdo celular, incluindo os compostos fenólicos.

A correlação negativa entre a atividade da POD e o parâmetro  $L^*$  demonstra que quanto maior a ação da enzima, menor será a luminosidade, porém não significa que a POD seja o único fator em atuação. A POD é uma enzima do sistema antioxidante, um mecanismo de defesa dos tecidos em casos de danos mecânicos e rompimento de células, a fim de promover a cicatrização de ferimentos (Mizobutsi et al., 2010). Durante o armazenamento, a POD foi a enzima que apresentou maior atividade, especificamente a partir de 6 horas após a colheita. A correlação negativa entre o teor de compostos fenólicos e os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  pode ser explicada pela oxidação de determinados compostos fenólicos, como por exemplo as antocianinas, o qual tem grande importância na formação da cor do pericarpo dos frutos de lichia (Jiang, 2000). Quando maior a concentração de compostos fenólicos extravasados pelo rompimento de células, menor será a luminosidade do fruto, bem como a intensidade da cor vermelha e amarela.

## **6. CONCLUSÃO**

O rápido escurecimento pós-colheita do pericarpo de frutos de lichia é enzimático e a perda de massa fresca é o principal gatilho. No caso de frutos rachados na planta e das microfissuras, o balanço nutricional inadequado foi a causa mais provável e o escurecimento decorrente se deve à cicatrização do pericarpo para evitar a perda de água.

## REFERÊNCIAS

- AKAMINE, Ernest K. Preventing the darkening of fresh lychees prepared for export. Hawaii Agricultural Experiment Station, University of Hawaii, 1960.
- CAVALCANTI, Josefa S. B. Frutas para o mercado global. *Estudos Avançados*, v. 11, n. 29, p. 79-93, 1997.
- DEL AGUILA, Juan S. et al. Pré-resfriamento em água de lichia 'B3' mantida em armazenamento refrigerado. *Ciência Rural*, v. 39, n. 8, p. 2373-2379, 2009.
- DURIGAN, José F. Pós-colheita de frutas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 35, 2013.
- FISCHER, Ivan H. et al. Adubação nitrogenada sobre a ocorrência de doenças em pós-colheita do morango. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 82, p. 1-5, 2016.
- FERREIRA, Rafael B. et al. Desenvolvimento fenológico de frutos de lichia (*Litchi chinensis*) em diferentes regiões. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 40, n. 2, p. 397-404, 2017.
- HEPLER, P.K. Calcium: a central regulator of plant growth and development. *Plant Cell* v. 17, n. 1, p. 2142–2155, 2005.
- HUNSCHE, Maurício et al. Efeito da adubação potássica na qualidade pós-colheita de maçãs 'Fuji'. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, n. 4, p. 489-496, 2003.
- JIANG, Yueming. Role of anthocyanins, polyphenol oxidase and phenols in lychee pericarp browning. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, n. 3, p. 305-310, 2000.
- KUMAR, Deepak et al. Pericarp browning and quality management of litchi fruit by antioxidants and salicylic acid during ambient storage. *Journal of Food Science and Technology*, v. 50, n. 4, p. 797-802, 2013.

LEE, H. S.; WICKER, L. Anthocyanin pigments in the skin of lychee fruit. *Journal of Food Science*, v. 56, n. 2, p. 466-468, 1991.

MARBOH, Evening S. et al. Fruit cracking in litchi (*Litchi chinensis*): An overview. *Indian J. Agric. Res*, v. 87, p. 3-11, 2017.

MATIAS, Rosana G. P. et al. Tratamento hidrotérmico para prevenção do escurecimento do pericarpo de Lichia. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, 2012.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. San Diego: Academic Press, 1995.

MIZOBUTSI, Gisele Polete et al. Effect of pH and temperature on peroxidase and polyphenoloxidase activities of litchi pericarp. *Scientia Agricola*, v. 67, p. 213-217, 2010.

MCGUIRE, Raymond G. Response of lychee fruit to cold and gamma irradiation treatments for quarantine eradication of exotic pests. *HortScience*, v. 32, n. 7, p. 1255-1257, 1997.

NACIF, S., PAOLI, Adelita Aparecida Sartori, SALOMÃO, Luiz Carlos Chamhum. Morphological and anatomical development of the litchi fruit (*Litchi chinensis* Sonn. cv. *Brewster*). *Fruits*, v. 56, n. 4, p. 225-233, 2001.

NEOG, M.; SAIKIA, L. Control of post-harvest pericarp browning of litchi (*Litchi chinensis* Sonn). *Journal of Food Science and Technology*, v. 47, n. 1, p. 100-104, 2010.

REICHEL, Mareike et al. Postharvest control of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp browning by cold storage at high relative humidity after enzyme-inhibiting treatments. *Postharvest Biology and Technology*, v. 125, p. 77-90, 2017.

SALOMÃO, Luiz C. C. et al. Redução do escurecimento do pericarpo de lichia com ácido clorídrico. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 34, p. 568-575, 2012.

SCOTT, Kevin J. et al. The control of rotting and browning of litchi fruit by hot benomyl and plastic film. *Scientia Horticulturae*, v. 16, n. 3, p. 253-262, 1982.

SILVA, Danielle F. P. et al. Influência da utilização de ácidos e filmes na conservação pós-colheita de lichia. *Revista Ceres*, v. 59, n. 6, p. 745-750, 2012.

SIVAKUMAR, Dharini et al. Postharvest management on quality retention of litchi during storage. *Fresh Produce*, v. 1, n. 1, p. 66-75, 2007.

SOUZA, Angela V. de et al. Tratamento térmico na manutenção da coloração de lichias. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 32, p. 067-073, 2010.

TAKATA, William H. S. et al. Alporquia em Lichieira, *Litchi chinensis* (Sapindaceae), submetida a diferentes doses de ácido naftaleno acético. *Acta Biológica Paranaense*, v. 40, n. 1-4, 2011.

THOR K. Calcium-Nutrient and Messenger. *Frontiers of Plant Science*, v. 25, n. 10, 2019.

OLESEN, Trevor et al. Pruning to control tree size, flowering and production of litchi. *Scientia Horticulturae*, v. 156, p. 93-98, 2013.

UNDERHILL, S.; CRITCHLEY, C. Anthocyanin decolorisation and its role in lychee pericarp browning. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v. 34, n. 1, p. 115-122, 1994.

UNDERHILL, Steven J. R.; CRITCHLEY, C. The physiology and anatomy of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during fruit development. *Journal of Horticultural Science*, v. 67, n. 4, p. 437-444, 1992.

UNDERHILL, Steven J. R.; SIMONS, David H. Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp desiccation and the importance of postharvest micro-cracking. *Scientia Horticulturae*, v. 54, n. 4, p. 287-294, 1993.

HUANG, X. et al. An overview of calcium's role in lychee fruit cracking. In: II International Symposium on Lychee, Longan, Rambutan and other Sapindaceae Plants 665. 2003. p. 231-240.

YANG, Yi-Chao et al. Rapid detection of anthocyanin content in lychee pericarp during storage using hyperspectral imaging coupled with model fusion. *Postharvest Biology and Technology*, v. 103, p. 55-65, 2015.

WANG, Jun et al. RNA-Seq Provides New Insights into the Molecular Events Involved in “Ball-Skin versus Bladder Effect” on Fruit Cracking in Litchi. *International journal of molecular sciences*, v. 22, n. 1, p. 454, 2021.

WEI, Taiyun et al. Package ‘corrplot’. *Statistician*, v. 56, n. 316, p. e24, 2017.