

UELITON MESSIAS

**RESPOSTA PÓS-COLHEITA À INJÚRIA POR FRIO DE TRÊS CULTIVARES
DE MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M593r
2004 Messias, Ueliton, 1973-
Resposta pós-colheita à injúria por frio de três cultivares de manjeriço
(*Ocimum basilicum* L.) / Ueliton Messias. – Viçosa : UFV, 2004.
ix, 36f. : il.; 29 cm.

Orientador: Fernando Luiz Finger..
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 32-36.

1. Manjeriço – Pós-colheita. 2. Manjeriço – Injúria por frio. 3.
Manjeriço – Cultivo. 4. Manjeriço – Conservação. I. Universidade
Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 20.ed. 633.825

UELITON MESSIAS

**RESPOSTA PÓS-COLHEITA À INJÚRIA POR FRIO DE TRÊS CULTIVARES
DE MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)**

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

Aprovada: 27 de abril de 2004.

Prof. Vicente Wagner Dias Casali
(Conselheiro)

Prof. Juraci Alves de Oliveira
(Conselheiro)

Prof. Mário Puiatti

Prof. Paulo César Corrêa

Prof. Fernando Luiz Finger
(Orientador)

*Aos meus pais José Expedito e Maria Creusa
Ao Douglas, Maiara e Anna Clara
À Rosana, com carinho*

AGRADECIMENTO

Ao povo brasileiro, por intermédio do CNPq e CAPES, que foram as fontes financiadoras para que eu pudesse desenvolver este trabalho.

Ao professor Fernando Luiz Finger, que não foi um, mas tantos, pela orientação, pela confiança e pelo apoio ao longo desses anos, foi orientador, ou seja, fica registrado minha admiração e gratidão.

Ao professor Juraci Alves de Oliveira, pelo aconselhamento, pelo incentivo, pela amizade e pelo apoio, sempre que necessário.

Ao professor Vicente Wagner Dias Casali que, com sua inquestionável competência, deu vida à redação da tese.

Aos professores Gerival Vieira e Wagner Campos Otoni, por acreditarem em minha pessoa e me recomendarem ao programa de pós-graduação.

Aos Funcionários Alcidis, Brás, Geraldo, Ribeiro, que sempre optaram pelo sim, dando a entender que não conheciam o não.

Aos amigos de todas as horas Barbosa, Célio, Cíntia, Crodoaldo, Evander, João, Josete, Juscimar, Lindenberge, Nilza, Rogério, Roseilton, Sílvia, Tadeu, que fizeram, questionaram, opinaram, brincaram, ensinaram e agiram. Enfim, faltam-me palavras, valeu!

A Viçosa que sempre fora viçosa para comigo.

BIOGRAFIA

UELITON MESSIAS, filho de José Expedito Messias e Maria Creusa Corrêa Messias, nasceu em 02 de agosto de 1973, em Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro.

Em Junho de 1991, iniciou o curso de Aprendiz de Marinheiro na Escola Aprendizes de Marinheiros, em Florianópolis – SC, concluindo-o em julho de 1995.

Em março de 1996, iniciou o curso de Agronomia na universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG, onde graduou-se em agosto de 2001.

Em abril de 2002, iniciou o programa de pós-graduação em Fisiologia Vegetal, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em abril de 2004, submeteu-se ao exame final de defesa de tese para obtenção do título de *Magister Scientiae* em fisiologia Vegetal, na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Índice

RESUMO.....	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
3.1. Perda de massa fresca	8
3.2. Extravasamento de eletrólitos	8
3.3. Análise de clorofila	9
3.4. Análise de evolução de cor	9
3.5. Taxa de produção de CO ₂ e etileno.....	9
3.6. Análise izoenzimática e determinação da atividade da catalase	10
3.7. Análise estatística	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
4.1. Perda de massa fresca	12
4.2. Extravasamento de eletrólitos	14
4.3. Análise de clorofila	16

4.4. Análise de evolução de cor	18
4.5. Taxa de produção de CO ₂ e etileno.....	23
4.6. Análise izoenzimática e determinação da atividade da catalase	27
5. CONCLUSÕES	31
6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

RESUMO

MESSIAS, Ueliton, M.S., Universidade Federal de Viçosa, abril, 2004.
Resposta pós-colheita à injúria por frio de três cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). Orientador: Fernando Luiz Finger.
Conselheiros: Juraci Alves de Oliveira e Vicente Wagner Dias Casali.

O manjeriço tem sido utilizado como condimento culinário, planta medicinal popular e como material de fila pela indústria farmacêutica. Apesar da importância do manjeriço como produto fresco, não há nenhuma informação na literatura relativo à sensibilidade de cultivares a injúria por frio. O presente trabalho teve como objetivo investigar a diferença entre os cultivares de manjeriço Folha Larga, Semi-roxo e Branco armazenados a 5 °C. Foram colhidos ramos terminais de cada cultivar, selecionados e embalados em caixas perfuradas de acetato de celulose ou não embalados e armazenados a 5 °C durante cinco dias. A perda de matéria fresca total dos ramos embalados em caixas de acetato celulose foi 50,2% para Folha Larga, 56,8% para Semi-roxo e 54,3% para Branco, enquanto nos ramos controle foi de 50,4%, 63,3% e 60,4%, respectivamente. Nas folhas embaladas em caixas de acetato celulose o aumento do extravasamento de eletrólitos foi 48% para Folha Larga, 47% para Semi-roxo e 54% para Branco, enquanto nas folhas controle o extravasamento teve aumentado de 59%, 58% e 68%, respectivamente. Não houve degradação de clorofila das folhas armazenada a 5 °C. O aumento da descoloração das folhas embaladas foi 17,5%, 15,7% e 15,7% para Folha

Larga, Semi-roxo e Branco, respectivamente. Nas folhas de controle, o aumento em descoloração foi 19,3%, 24,3% e 23,8%, respectivamente. A respiração aumentou até o quarto dia de armazenamento, com aumento da produção de CO₂ de 62,6% para Folha Larga, 48% para Semi-roxo e 82,6% para Branco. Para o tratamento controle a respiração aumentou para 23,2%, 21,9% e 50,9%, respectivamente. A maior produção de etileno para os ramos armazenados foi observada entre o segundo e terceiro dia de armazenamento, com evoluções de 52,3 nL kg⁻¹ h⁻¹ para Folha Larga, 127,3 nL kg⁻¹ h⁻¹ para Semi-roxo e 159,6 nL kg⁻¹ h⁻¹ para o Branco. No tratamento controle a produção máxima de etileno foi 26,6, 95,7 e 65,8 nL kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Géis de amido revelaram uma única isoforma de catalase, tanto nos tratamentos expostos ao frio ou não em todos os cultivares. A atividade de catalase nas folhas embaladas aumentou para 53%, 46% e 63% para Folha Larga, Semi-roxo e Branco, respectivamente. Nas folhas controle, o aumento na atividade da catalase foi 61%, 74% e 63%, respectivamente. O cultivar Folha larga foi o mais resistente à perda de matéria fresca. O aumento do extravasamento de eletrólitos e a atividade da catalase foram coincidentes com o desenvolvimento dos sintomas de injúria por frio (descoloração). As mudanças no extravasamento de eletrólito não estão relacionadas à maior sensibilidade dos cultivares a injúria por frio. A maior taxa de respiração foi observada no cultivar Branco, enquanto no cultivar Folha Larga houve a menor produção de etileno ao longo do armazenamento. O cultivar Folha Larga foi o mais resistente no desenvolvimento do sintoma de descoloração ao longo do armazenamento a 5 °C.

ABSTRACT

MESSIAS, Ueliton, M.S., Universidade Federal de Viçosa, April, 2004.
Postharvest responses to the chilling injury in three cultivars of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Adviser: Fernando Luiz Finger. Committee members: Juraci Alves de Oliveira e Vicente Wagner Dias Casali.

Sweet basil has been used as culinary condiment, popular medicinal plant and as raw material by the pharmaceutical industry. Despite of sweet basil importance as fresh product, there is no information in the literature regarding the sensitivity of cultivars to chilling injury. The present work had the goal to investigate such differences among the cultivars Folha Larga, Semi-roxo and Branco of sweet basil leaves stored at 5 °C. Terminal stems of each cultivar were harvested, selected, packed in perforated boxes of cellulose acetate or unpacked and stored at 5 °C for five days. The total weight loss of stems packed in cellulose acetate boxes was 50.2% for 'Folha Larga', 56.8% for 'Semi-roxo' and 54.3% for 'Branco', while in the control leaves was increased by 50.4%, 63.3% and 60.4%, respectively. In the leaves packed in cellulose acetate boxes the increase in leakage was 48% for 'Folha Larga', 47% for 'Semi-roxo' and 54% for 'Branco', while in the control leaves the leakage was increased by 59%, 58% and 68%, respectively. No chlorophyll degradation was detected on the leaves stored at 5 °C. The discoloration during storage increased by 17.5%, 15.7% and 15.7% in the boxed leaves of 'Folha Larga', 'Semi-roxo' and 'Branco', respectively. In the control leaves, the increase in

discoloration was 19.3%, 24.3% and 23.8%, respectively. The respiration increased until the fourth day of storage, enhancing the CO₂ production by 62.6% for 'Folha Larga', 48% for 'Semi-roxo' and 82.6% for 'Branco'. For the control treatment the respiration increased by 23.2%, 21.9% and 50.9%, respectively. The highest ethylene production for the boxed stems were observed between the second and third day of storage, with evolutions of 52.3 nL kg⁻¹ h⁻¹ for 'Folha Larga', 127.3 nL kg⁻¹ h⁻¹ for 'Semi-roxo' and 159.6 nL kg⁻¹ h⁻¹ for the 'Branco'. In the control treatment the maximum ethylene production was 26.6, 95.7 and 65.8 L kg⁻¹ h⁻¹, respectively. Starch gels revealed a single isoform of catalase, in both, chilling injured and not injured leaves in all cultivars. The catalase activity increased by 53%, 46% and 63% in the leaves of boxed 'Folha Larga', 'Semi-roxo' and 'Branco', respectively. In the control leaves, the increase in catalase activity was 61%, 74% and 63%, respectively. The cultivar 'Folha Larga' was the most resistant to the weight loss. The increase in the leakage of electrolytes and catalase activity were coincident with the development of chilling injury symptoms (discoloration). The changes in electrolyte leakage were not related to the sensitivity of the cultivar to chilling injury. The highest rate of respiration was observed in the cultivar Branco, while the cultivar Folha Larga had the lowest production of ethylene throughout the storage. The cultivar 'Folha Larga' was the most resistant in developing discoloration symptoms throughout storage at 5 °C.

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais e aromáticas são fontes importantes de matéria prima e de novas substâncias para a indústria farmacêutica e alimentícia. Além disso, as ervas culinárias frescas têm se tornado cada vez mais populares na alimentação. O comércio destas plantas envolve várias espécies e inclui partes, produtos e subprodutos de plantas de uso tradicionalmente popular. Embora exista reconhecimento popular sobre os benefícios das ervas frescas utilizadas, a qualidade comercial ainda é baixa. Como muitas plantas são de origem tropical e subtropical, estas são sensíveis ao frio, como o manjeriço, cujo manejo pós-colheita adequado torna-se de extrema importância, pois influencia diretamente na qualidade e quantidade do produto a ser comercializado.

A espécie *Ocimum basilicum* L., popularmente conhecida como manjeriço, alfavaca, alfavaca-doce ou basilicão, é originária do norte da África e da Índia, sendo utilizada como espécie medicinal, e nas últimas décadas como hortaliça folhosa. A planta é arbustiva, perene, muito ramificada, atingindo cerca de 60 cm de altura. Os caules são quadrangulares e pilosos, com folhas opostas cruzadas, inteiras, pecioladas, verdes ou roxas. As flores são brancas, pequenas, reunidas em inflorescências do tipo glomérulo e hermafroditas. A planta exala aroma intenso, agradável e as folhas frescas ou desidratadas são amplamente utilizadas na culinária.

A conservação pós-colheita das hortaliças folhosas frescas assume papel de destaque e há interesse em aumentar a diversidade dos produtos comercializados. O manjericão fresco é utilizado tanto na indústria alimentícia quanto na produção de fitoterápicos, e a espécie tem sido rapidamente reconhecida pelo seu valor na alimentação. É importante ressaltar, no entanto, que não há referências na literatura especializada sobre a conservação pós-colheita das folhas frescas, especialmente no que se refere à sensibilidade de variedades ao frio.

Com o propósito de avaliar a resposta pós-colheita do manjericão ao armazenamento em baixa temperatura, objetivou-se estudar:

- 1) As diferenças entre três cultivares de manjericão quanto à sensibilidade dos tecidos a injúria por frio, no armazenamento a 5 °C;
- 2) a influência do armazenamento na atividade respiratória, produção de etileno e escurecimento nos tecidos vegetativos;
- 3) o efeito da embalagem plástica na conservação pós-colheita e desenvolvimento da injúria por frio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Devido à rápida deterioração, os produtos perecíveis, como as hortaliças folhosas, não têm potencial de conservação além de alguns dias ou semanas após o destaque da planta original, exigindo consumo imediato ou técnicas de conservação pós-colheita.

O manjeriço comercializado fresco geralmente tem baixa qualidade comercial nas feiras e supermercados brasileiros. Segundo KADER (1986), a deterioração pós-colheita dos produtos frescos pode ser causada por muitos outros fatores em adição à alta taxa respiratória, incluindo mudanças bioquímicas associadas com o metabolismo respiratório, biossíntese e ação do etileno, mudanças na composição orgânica dos tecidos, mudanças anatômicas associadas ao crescimento e desenvolvimento pré-colheita, injúrias físicas, perda de água, desordens fisiológicas e patológicas.

A refrigeração, técnica de pós-colheita simples, relativamente barata é de grande efeito sobre a conservação de produtos perecíveis. Reduz a atividade biológica do produto, diminui o crescimento de patógenos e a perda de água do órgão armazenado (HENZ, 1992). Entretanto, produtos hortícolas de origem tropical e subtropical, quando armazenados em baixas temperaturas, podem ser sensíveis a injúria por frio (chilling), geralmente em temperaturas não-congelantes, entre 5 e 12 °C, causando o aparecimento de sintomas de degeneração dos tecidos (WILLS et al., 1981). A sensibilidade da planta, ou de

partes da planta à injúria por frio, depende da temperatura, do tempo de exposição ao frio, da espécie e do cultivar (KAYS, 1991). Tais fatores, durante o armazenamento dos produtos hortícolas, podem influenciar no tempo de vida em prateleira. LANGE e CAMERON (1994) relatam que o tempo de vida em prateleira é maior quando os ramos de *Ocimum basilicum* são colhidos no final da tarde e armazenados a 10°C no máximo por três dias, reduzindo assim os sintomas de injúria por frio. Neste trabalho, os autores avaliaram nos tecidos a conservação pós-colheita pelo aparecimento de sintomas de injúria por frio, como necrose, manchas aquosas e clorose.

Respostas à injúria por frio, na sua fase inicial, são consideradas de natureza física, incluindo principalmente as mudanças na permeabilidade das membranas celulares. LYONS e RAISON (1970) foram os primeiros a sugerir que, nas plantas sensíveis à baixa temperatura e expostas a temperatura injuriante, ocorre transição da fase física das membranas, passando da estrutura líquido-cristalino flexível para a estrutura gel-sólida. Tais mudanças na estrutura das membranas provocam ou não respostas secundárias além de mudanças irreversíveis, dependendo da temperatura, do tempo de exposição e da susceptibilidade genotípica (WANG, 1982).

Os indicadores externos da presença de injúria por frio são: pontuações, manchas de cor marrom/preta, descoloração, amarelecimento e amolecimento dos tecidos. Segundo YAMAUCHI E WATADA (1991), a degradação da clorofila indica a condição fisiológica dos tecidos de órgãos verdes. Os sintomas visuais causados pela injúria por frio, geralmente, aumentam significativamente após a transferência de frutos e hortaliças aos ambientes com temperaturas mais elevadas, comparadas aquelas que originalmente são observadas durante o desenvolvimento dos sintomas de injúria (MORRIS, 1982).

A injúria por frio, em grande número de espécies vegetais, estimula a produção do fito-regulador etileno, que em quantidades mínimas, regula vários processos fisiológicos das plantas, incluindo a senescência e a fisiologia pós-colheita de órgãos vegetais (ABELES, 1992). O aumento na produção de etileno é devido ao incremento da capacidade das células de sintetizarem o ácido 1-aminociclopropano 1-carboxílico (ACC), considerado o precursor imediato da rota biossintética do etileno nas plantas superiores. Os níveis de

ACC e, conseqüentemente, de etileno permanecem baixos enquanto os tecidos são submetidos à injúria por frio, porém aumentam rapidamente após a transferência dos órgãos vegetais a temperaturas maiores. O aumento na produção de etileno ocorre principalmente em função da ativação da sintase do ACC (WANG, 1982).

A resposta do sistema respiratório ao tratamento por frio pode indicar a intensidade da injúria por frio nos tecidos e órgãos vegetais (WANG, 1982). Há correlação inversa entre taxa respiratória e vida pós-colheita dos produtos hortícolas, sendo que taxas respiratórias altas resultam em deterioração pós-colheita prematura. A redução da temperatura de armazenamento pode ser eficaz por diminuir a taxa respiratória dos produtos hortícolas.

Aliado a temperaturas mais baixas, as embalagens plásticas evitam a perda excessiva de água, diminuem a respiração e a produção de etileno, reduzindo a severidade dos sintomas de injúria por frio. Segundo MORRIS (1982), o aumento da concentração de CO₂ durante o armazenamento em baixas temperaturas é responsável pela diminuição da injúria por frio. A embalagem, provavelmente, reduz a taxa respiratória ao incrementar a concentração de CO₂, conseqüente da barreira física à difusão desse gás. O CO₂, em altas concentrações (5 a 10 %), também inibe muitos dos efeitos do etileno, como o amadurecimento de frutos (TAIZ e ZEIGER, 2002).

É comum nos tecidos injuriados das plantas o escurecimento e o extravasamento do conteúdo celular. As catalases (EC 1.11.1.6, CAT) têm tido sua atividade associada aos danos pela injúria por frio. Esta enzima é encontrada em todos os organismos aeróbicos porém nas plantas superiores, é uma das principais responsáveis pela defesa contra estresse oxidativo (BUCHANAN et al, 2000). Ela promove a formação de oxigênio e água a partir do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (REILLY et al., 2001). Em adição à reação catalítica típica de decomposição do H₂O₂, a catalase pode oxidar substratos orgânicos, como o etanol e metanol com H₂O₂ (HAVIR e McHALE (1987). Esta reação secundária, juntamente com a ação oxidativa, podem causar peroxidação dos lipídeos das membranas. A peroxidação causa alteração na estrutura e na função da plasmalema, resultando no vazamento do conteúdo celular, desidratação rápida e morte celular. Quando o dano ocorre nas membranas intracelulares, pode afetar a atividade respiratória nas

mitocôndrias, causar degradação de pigmentos e perda da habilidade dos cloroplastos em fixar carbono (SCANDALIOS, 1993). Segundo SALA (1998), cultivares tolerantes ao "chilling" possuem maior capacidade de quebrar o peróxido de hidrogênio, pela ação da catalase, em relação as cultivares mais sensíveis.

3. MATERIAL E MÉTODOS

No experimento foram utilizados três cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum L*): Folha Larga (Oxadis BP 37-38291 Saint Quentin Fallavier Cedex - France), Semi-roxo (Herbário VIC Departamento de Biologia Vegetal da UFV, registro VIC 22760), e Branco (Herbário VIC Departamento de Biologia Vegetal da UFV, registro VIC 16388). Os ramos adultos, sem a presença de inflorescências, foram colhidos no período da manhã nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro, na área de pesquisa da horta da Universidade Federal de Viçosa.

Logo após a colheita, os ramos foram armazenados em câmara de temperatura a 5° C, em embalagem perfurada de acetato de celulose com seis furos de 5 mm de diâmetro (Figura 1), mantendo-se os ramos controle sem embalagem. As análises foram feitas diariamente, até o quinto dia de armazenamento.



Figura 1- Caixa de acetato de celulose perfurada (18 cm x 10 cm x 4 cm), com ramos de manjerição armazenados a 5  C.

3.1. Perda de massa fresca

Os ramos contendo de 6 a 10 folhas foram pesados diariamente durante o armazenamento. A perda de massa fresca foi estimada em relação   massa fresca inicial dos ramos:

$$PMF = ((MFI - MFF) * 100) / MFI ,$$

em que:

PMF= perda de massa fresca (%)

MFI= massa fresca inicial

MFF= massa fresca final

3.2. Extravasamento de eletrólitos

O extravasamento eletrólitos das folhas foi determinado segundo método descrito por WHITLOW et al. (1992). Foram retirados discos de 6 mm de diâmetro de folhas com a massa 0,2g. Os discos foram lavados com água destilada e colocados em frascos de plástico de 50 mL. Os frascos foram

colocados em banho de água a 25°C, sob agitação, por 2 horas. Após esse período, foi mensurada a condutividade inicial. Em seguida, estes ficaram a -20° C durante 24 horas. Após o período de congelamento, foram colocados em banho de água em ebulição durante 25 minutos, sendo colocados novamente sob agitação a 25° C, até a estabilização da temperatura, mensurando-se, então, a condutividade total. O extravasamento de eletrólitos foi calculado em percentagem de eletrólitos, extravasados no início em relação ao total, após o congelamento das amostras.

3.3. Análise de clorofila

A quantidade de clorofila das folhas foi estimada pelo método não-destrutivo, utilizando-se o medidor portátil de clorofila SPAD-502 [Soil-Plant Analysis Development (SPAD) Section, Minolta]. Foram feitas cinco leituras em cada folha amostrada, às quais foram expressas em unidades SPAD.

3.4. Análise de evolução de cor

A evolução de cor da superfície das folhas foi mensurado de acordo com o método usado por PALOU et al. (1999), diariamente, com o auxílio do colorímetro (Color Reader CR-10, Minolta) calibrado com a cor branca. As leituras foram realizadas acoplado-se o sensor do aparelho à superfície das folhas sendo que *a* indica cromaticidade no eixo da cor verde (-) para vermelha (+); *b* indica a cromaticidade no eixo da cor azul (-) para amarela (+); e *C* indica a intensidade ou saturação de cor, com os dados das leituras foi estimada a descoloração dos tecidos:

$$C = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

onde,

C = Chroma

3.5. Taxa de produção de CO₂ e etileno

A produção de CO₂ e de etileno, pelos ramos, foi avaliada por cromatografia gasosa, utilizando o Gas Chromatograph SHIMADZU GC-14B.

As amostras dos gases CO₂ e etileno foram retiradas da atmosfera interna de frascos contendo folhas com massa 0,4g, respectivamente, após 2 e 4 horas de acúmulo a 25 ° C. Com o auxílio de uma seringa, os gases foram injetados no cromatógrafo equipado com coluna Porapak-Q de 1,0 m de comprimento. Foram utilizados detectores de conectividade térmica e de ionização de chama, para CO₂ e etileno, respectivamente. As temperaturas da coluna, injetor e detector foram de 70, 100 e 135 ° C para CO₂ e 70,100 e 140 ° C para etileno. Foi utilizado o N₂ como gás de arraste.

A taxa respiratória foi estimada por meio da equação:

$$TR = (\Delta \% \times 10) \times V / (P \times T),$$

em que:

$$TR = \text{taxa respiratória (mL de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1})$$

$\Delta \%$ = concentração de CO₂;

V = volume livre do recipiente de incubação (L);

P = massa fresca das folhas (kg); e

T = tempo de incubação (h).

A taxa de liberação de etileno foi estimada:

$$TLE = (\Delta \% \times V) / (P \times T),$$

em que:

$$TLE = \text{taxa de liberação de etileno (\Delta L de etileno kg}^{-1} \text{ h}^{-1})$$

$\Delta \%$ = concentração de etileno;

V = volume livre do recipiente de incubação (L);

P = massa fresca das folhas, em kg; e

T = tempo de incubação (h).

3.6. Análise izoenzimática e determinação da atividade da catalase

Empregou-se amostras de folhas expostas a 5 °C na análise isoenzimática da catalase. No laboratório, elas foram maceradas em almofariz

de porcelana, previamente resfriadas, para evitar a elevação da temperatura e a conseqüente desnaturação das enzimas.

No preparo do gel, empregou-se o sistema eletroforese em gel de amido (ALFENAS et al., 1998), utilizando-se amido nacional (maizena) na concentração de 11 %. O gel foi preparado a partir da suspensão de amido em solução-tampão do gel, à temperatura ambiente, em frasco Erlenmeyer com agitação constante. Terminada a corrida, o gel foi fatiado na espessura de 2 mm.

O gel foi mergulhado em solução tampão de fosfato de sódio 0,1M, pH 6,5 por 30 minutos a 0 °C. A solução foi descartada e o gel mantido em solução de iodeto de potássio (KI) por 2 minutos, descartada a solução, lavou-se o gel e aplicado H₂O₂ a 0,03 %. Os resultados foram avaliados assim que as bandas acromáticas apareceram sobre o fundo azul do restante do gel.

A atividade da catalase foi determinada de acordo com o método de KAR e MISHRA (1976), com algumas modificações. Foi pesado 1g de folhas frescas e homogeneizadas em 10 mL de tampão de extração (tampão fosfato 0,1M, pH 6,8) e a suspensão resultante foi centrifugada a 14000 x g, a 5 °C, por 30 minutos. A mistura de reação foi incubada em Banho Maria a 25 °C por 5 minutos e a reação foi interrompida com a adição de 10 mL de H₂SO₄ a 2 % (v/v). O H₂O₂ residual foi titulado com KMnO₄ (0,01M) até a coloração púrpura fraca persistir. A atividade da catalase foi expressa em $\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de MF.

3.7. Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por análise, sendo que todas as análises foram realizadas três vezes. Os dados foram submetidos ao teste T ao nível de 5 % de probabilidade para perda de massa fresca e os demais dados foram submetidos a análises descritivas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Perda de massa fresca

Verificou-se tendência de aumento da perda de massa fresca, de forma não linear, nos três cultivares, embalados ou não em caixa de acetato de celulose, durante o armazenamento a 5 °C (Tabela 1). Nos ramos de manjeriço do cv. Folha Larga, armazenados com ou sem embalagem até o primeiro dia de armazenamento a perda de massa fresca foi 18,0 e 19,7 %, respectivamente. A partir deste dia a perda diária foi cerca de 8,0 e 7,6 % para os ramos com e sem embalagem, respectivamente. Embora haja diferenças nas perdas diárias entre os tratamentos, após 5 dias as perdas acumuladas foram similares, quando se observou perda de 50,2 % de massa fresca acumulada nos ramos armazenados com embalagem, enquanto que para sem embalagem a perda foi 50,4 % (Tabela 1). Os resultados evidenciam que neste cultivar não houve efeito acentuado da embalagem na redução da perda de massa fresca, apenas no início do armazenamento.

A perda diária de massa fresca no cv. Semi-roxo, armazenado com ou sem embalagem, foi 21,5 e 31,3 %, respectivamente, até o primeiro dia de armazenamento. A partir deste dia, a perda diária foi em média de 8,82 e 8,0 % com e sem embalagem, respectivamente.

Tabela 1- Valores de perda de massa fresca acumulada (%) em folhas de manjeriço dos cultivares Folha Larga, Semi-roxo e Branco armazenadas com e sem embalagem por 5 dias

Variedade	Embalagem	Armazenamento (dias)					
		0	1	2	3	4	5
Folha Larga	Com	0Aa	18,0Ba	28,0Ca	35,7Da	42,9Ea	50,2Fa
	Sem	0Aa	19,7Ba	28,1Ca	36,5Da	43,9Ea	50,4Fa
Semi-roxo	Com	0Aa	21,5Ba	36,3Cb	45,1Dbc	51,0Ebd	56,8Fb
	Sem	0Aa	31,3Bb	44,2Cc	52,3Dd	57,6Ec	63,3Fc
Branco	Com	0Aa	20,4Ba	34,2Cb	42,7Db	49,4Eb	55,8Fb
	Sem	0Aa	29,8Bb	42,0Cc	49,3Dcd	54,8Ecd	60,4Fbc

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e de letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem estatisticamente pelo teste T, ao nível de 5 % de probabilidade.

A perda de massa fresca acumulada nos ramos do cv. Semi-roxo com embalagem foi 56,8 % e sem embalagem foi 63,3 %. Os resultados mostram que houve efeito da embalagem na redução da perda de massa fresca acumulada ao longo dos cinco dias de armazenamento (Tabela 1). Diferindo do cultivar Folha Larga provavelmente pôr apresentar um sistema menos eficiente de redução de perda de água, tal como camadas de cutículas menos espessas. A cutícula é muito eficiente para limitar a perda de água em tecidos da parte área de plantas (TAIZ e ZEIGER, 2002).

Os resultados da perda diária de massa fresca no cv. Branco, com ou sem embalagem, foi 20,4 e 29,8 %, respectivamente, até o primeiro dia de armazenamento (Tabela 1). A partir deste dia a perda diária foi em média de 8,4 e 7,6 % com e sem embalagem, respectivamente, comportamento semelhante ao dos outros cultivares. A perda de massa fresca acumulada com embalagem foi 55,8 % e sem embalagem a perda foi 60,4 %. Os resultados mostraram que houve efeito da embalagem na redução da perda de massa fresca acumulada durante o período de conservação. Tal como no cultivar Semi-roxo a embalagem reduziu cerca de 6,0 % a perda de massa fresca acumulada.

Comparando o comportamento dos três cultivares quanto às perdas acumuladas, observou-se que o cv. Folha Larga perdeu menos massa fresca,

provavelmente pela menor superfície específica, logo a perda de água por transpiração foi menor.

Verificou-se que nos três cultivares a aparência e conservação pós-colheita foram influenciadas pelo tratamento. O murchamento/enrugamento de frutos e hortaliças são sintomas iniciais da excessiva perda de água, além disso, podem acelerar a deterioração pelo aumento da taxa de algumas reações de origem predominantemente catabólicas (FINGER E VIEIRA, 1997). O murchamento expressou-se visivelmente durante o período experimental (Tabela 1), de modo que a massa fresca dos ramos sem embalagem perdida até o início do murchamento visual foi 28,1, 44,2 e 42,0 % nos cultivares Folha Larga, Semi-roxo e Branco, respectivamente.

O murchamento determinado visualmente foi de 35,7, 45,1 e 42,7 %, respectivamente, nos cultivares Folha Larga, Semi-roxo e Branco, nos armazenados em acetato de celulose. A embalagem retardou em um dia o aparecimento dos sintomas de murcha nos três cultivares.

4.2. Extravasamento de eletrólitos

A porcentagem de aumento do extravasamento de eletrólitos no cv. Folha Larga nos dias 0, 3 e 5 de armazenamento na caixa de acetato de celulose, foi respectivamente, 9,56, 52,19 e 48,16 %. Nos tratamentos sem embalagem, considerando os dias 0, 3 e 5 de armazenamento foram 9,56, 49,28 e 58,46 %, respectivamente. Estes resultados mostram que a embalagem reduziu cerca de 10 % o extravasamento acumulado (Figura 2). Os resultados da porcentagem de aumento do extravasamento de eletrólitos no cv. Semi-roxo nos dias 0, 3 e 5 de armazenamento em caixa de acetato de celulose foram 11,01, 57,16 e 47,4 %, respectivamente. Sem embalagem considerando os dias 0, 3 e 5 de armazenamento as porcentagens foram 11,01, 57,68 e 57,46 %, respectivamente. Portanto, a taxa de extravasamento de eletrólitos foi máxima no terceiro dia de armazenamento (Figura 2).

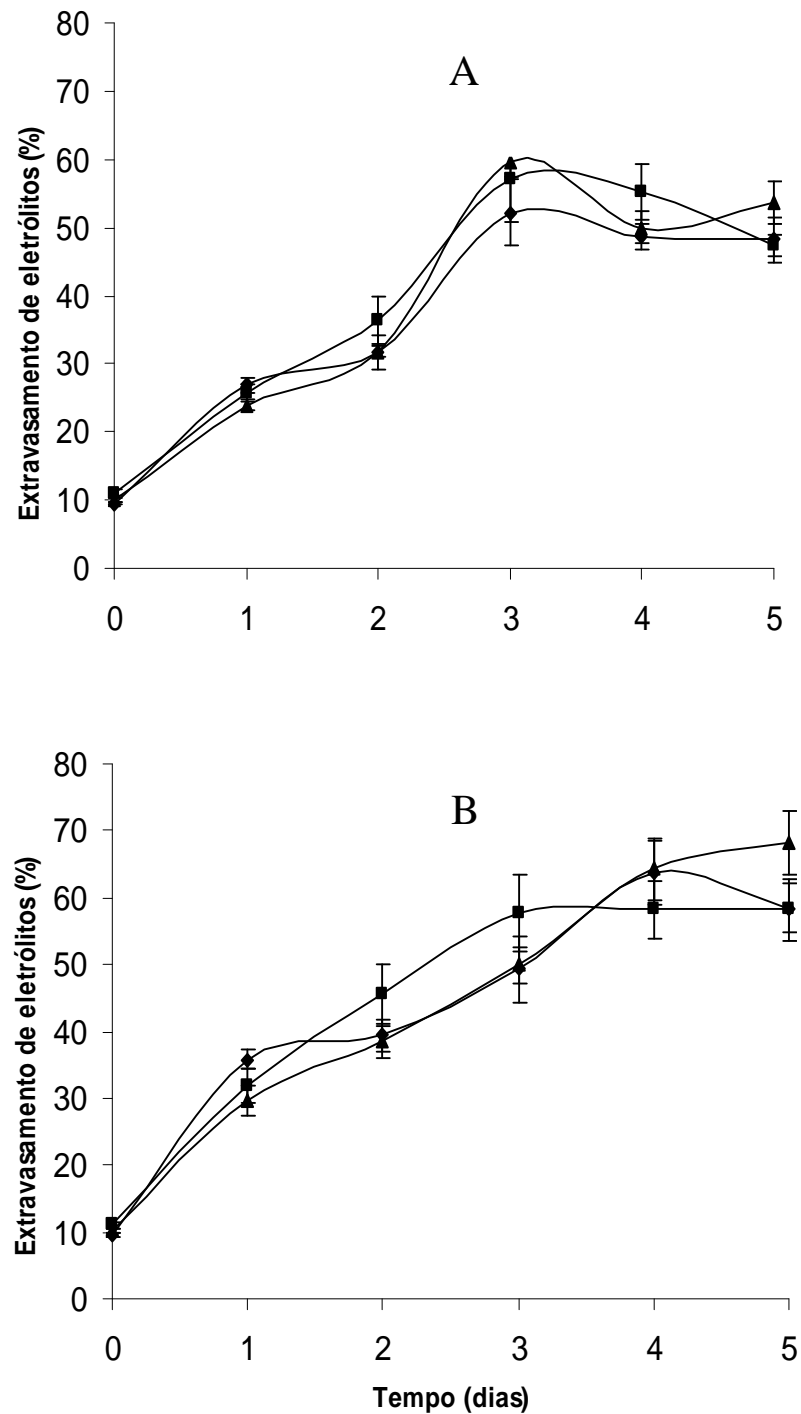


Figura 2 - Variação do extravasamento de eletrólitos de manjericão em percentagem, cv. Folha Larga(◆), cv. Semi-roxo(■) e cv. Branco(▲), armazenadas com embalagem(A) e sem embalagem(B), por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias, a 5 °C. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

Os resultados da porcentagem de aumento do extravasamento de eletrólitos no cv. Branco, nos dias 0, 3 e 5 de armazenamento em caixa de acetato de celulose foram 10,12, 59,13 e 53 %, respectivamente. Nos tratamentos sem embalagem considerando os dias 0, 3 e 5 de armazenamento foram 10,12, 49,94 e 68,11 %, respectivamente. Estes resultados mostram em média a redução de 10 % no aumento do extravasamento (Figura 2).

WHITLOW et al (1992) observou que o objetivo de se estudar o extravasamento de eletrólito é avaliar a injúria, presumivelmente nas membranas, causada pelo estresse ambiental. Respostas à injúria por frio são consideradas, na fase inicial, de natureza física, que inclui alterações de permeabilidade das membranas celulares. O aumento acentuado do extravasamento de eletrólitos, nos três cultivares, nos dois primeiros dias de armazenamento, evidenciou que os cultivares tiveram comportamento similar no frio. A variável extravasamento de eletrólitos parece não estar associada ao aparecimento dos sintomas visuais de injúria por frio ou a maior resistência varietal. Estes resultados reforçam a idéia de WANG (1982) que mudanças na estrutura das membranas podem ou não levar a respostas secundárias ou mudanças irreversíveis, dependendo da temperatura, do tempo de exposição e da susceptibilidade genotípica. Porém, em tomate KING e LUDFORD (1983) observaram que em cultivares susceptíveis a injúria por frio ocorreu aumento do extravasamento de eletrólitos e que nos cultivares tolerantes a resposta foi menor. Os autores detectaram relação entre o extravasamento de eletrólito e resistência a injúria por frio, sendo causas, principalmente, o aumento da permeabilidade das membranas. SEREK et al. (1995) afirmam que o aumento do extravasamento de eletrólitos de tecidos usualmente expressa as modificações das propriedades físicas das membranas celulares.

4.3. Análise de clorofila

Os resultados dos valores SPAD, referentes à clorofila, evidenciam que, independentemente do cultivar e da embalagem, as plantas aumentaram o teor de clorofila até o segundo dia de armazenamento, após este dia mantiveram-se constante (Figura 3). Observaram-se diferenças entre os cultivares quanto ao

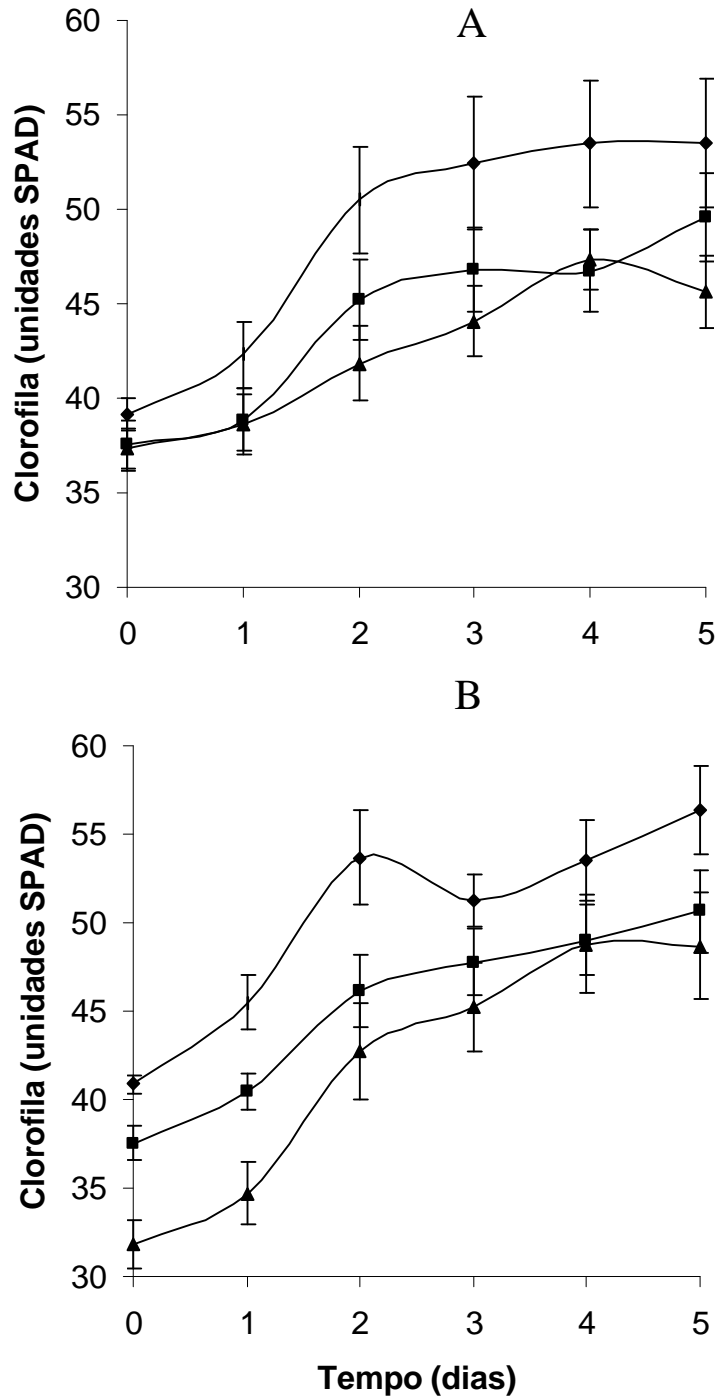


Figura 3 - Teor de clorofila em folhas de manjericão, cv. Folha Larga(♦), cv. Semi-roxo (■) e cv. Branco(▲), armazenadas, com (A) e sem (B) embalagem, por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias, a 5°C. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

teor de clorofila. O cv. Folha Larga destacou-se pelos maiores teores de clorofila durante todo o período de armazenamento.

A análise de clorofila foi utilizada por MEIR et al. (1997) na quantificação da susceptibilidade das folhas à injúria por frio, variando a temperatura e o tempo de armazenamento em cultivares de manjericão. Diversos autores (PHILOSOPH-HADAS et al., 1994; HEATON e MARANGONI, 1996) observaram, no entanto, que durante o tempo de armazenamento há perda de clorofila em consequência do processo de senescência dos tecidos vegetais.

No presente trabalho foram observados aumentos na concentração de clorofila estimada pelo SPAD acompanhados de mascaramento da cor verde e concomitante escurecimento das folhas. Provavelmente, a baixa temperatura nas folhas retardou ou paralisou o processo de degradação clorofila, mesmo sendo o 5 °C causador de injúria por frio. O aumento dos teores de clorofila, durante o armazenamento em baixa temperatura, pode estar associado à perda de massa fresca, causando aumento da concentração, ou seja, a unidade medida pelo SPAD é aumentada.

A descoloração dos tecidos pode ser devida a oxidação de compostos fenólicos que gerou a coloração escura nos tecidos dos cultivares. Mudanças bioquímicas durante o processo de armazenamento podem produzir perdas significativas da qualidade do produto resfriado (CANO et al., 1990). O escurecimento afeta a aceitabilidade do produto pelo consumidor e é uma das principais causas de perda de qualidade (MARTÍNEZ e WHITAKER, 1997).

4.4 Análise de evolução de cor

Houve mudança visual na coloração da superfície das folhas dos cultivares ao longo do armazenamento (Figura 4). A análise visual é subjetiva, porém ao consumidor a coloração é atributo de qualidade importante. Durante o período de armazenamento houve alterações de cor nas folhas, medido colorimetricamente (Tabela 2). Os resultados da cromaticidade da cor verde (-a) para vermelha (+a) nos cultivares Folha Larga, Semi-roxo e Branco mostram que a evolução da cor verde para vermelha foi 40,79, 49,10 e 60,84 %, respectivamente, com embalagem. Sem embalagem mudança de cor atingiu 28,67, 51,13 e 48,81 % nos cultivares Folha Larga, Semi-roxo e Branco,

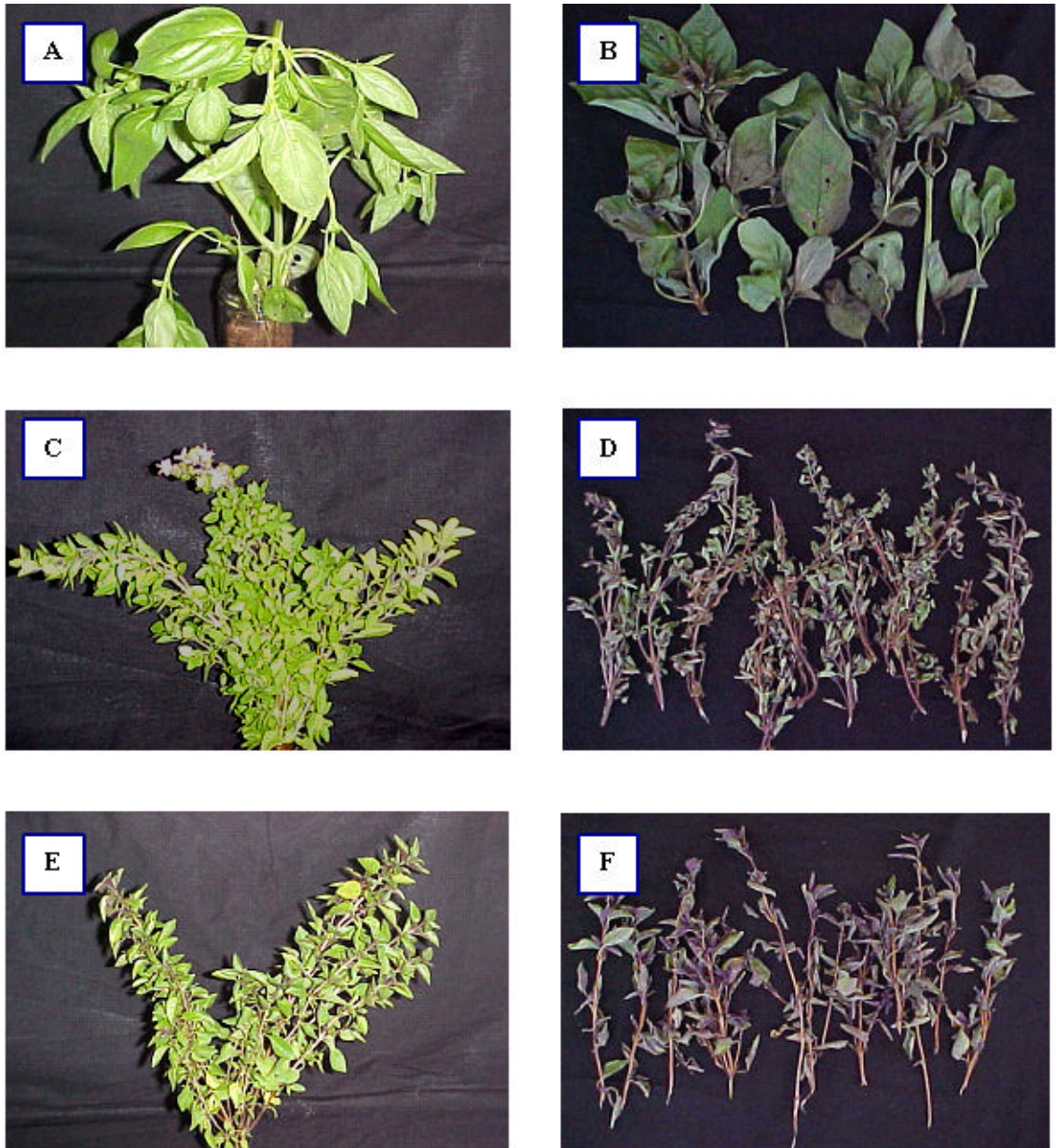


Figura 4 - Variação na mudança de coloração das superfícies dos tecidos das folhas dos cultivares Folha Larga (A e B), Branco (C e D) e Semi-roxo (E e F), armazenadas por cinco dias a 5 °C.

Tabela 2 – Valores de cromaticidade *a* e *b* em folhas de manjeriço, cultivares Folha Larga, Semi-roxo e Branco, armazenadas com e sem embalagem, por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias, a 5 °C

Variedade	Embalagem	Armazenamento (dias)											
		0		1		2		3		4		5	
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
Folha Larga	Com	-10,25	13,22	-9,14	12,12	-8,31	10,92	-8,09	10,93	-7,33	10,04	-6,07	9,73
	Sem	-9,59	12,52	-8,68	11,63	-8,37	11,48	-7,64	10,57	-7,24	10,45	-6,84	9,69
Semi-roxo	Com	-8,35	17,95	-8,00	18,52	-6,95	17,01	-5,59	16,75	-5,18	16,55	-4,25	16,30
	Sem	-9,23	19,15	-7,49	17,47	-6,47	17,19	-5,64	16,29	-5,49	15,64	-4,51	15,36
Branco	Com	-10,93	23,40	-9,61	24,65	-8,89	21,85	-7,98	23,73	-6,67	21,97	-4,28	21,33
	Sem	-10,57	25,11	-8,13	23,93	-7,56	21,70	-6,12	21,53	-5,05	20,59	-5,41	20,18

respectivamente, que correspondem às alterações acumuladas até o final do período experimental.

Considerando a cromaticidade das folhas embaladas, a evolução da cor azul (-b) para amarela (+b), nos cultivares Folha Larga, Semi-roxo e Branco foram de 26,39, 9,19 e 8,84 %, respectivamente. Assim as folhas tenderam a ficar com a tonalidade azul. Na avaliação dos tratamentos sem embalagem também ocorreu mudança de coloração que atingiu nos cultivares Folha Larga, Semi-roxo e Branco 22,60, 19,79 e 19,63 %, respectivamente, no quinto dia de armazenamento.

Segundo McGUIRE (1992), os valores do Chroma indicam analogamente a intensidade ou saturação de cor. No cultivar Folha Larga, observou-se que houve descoloração dos tecidos a partir do segundo dia de armazenamento atingindo perdas acumuladas de 17,5 % na coloração das folhas embaladas. Nas folhas sem embalagem, a perda de coloração iniciou-se no primeiro dia de armazenamento atingindo 19,32 %. Quando comparadas com valores iniciais, estes resultados mostram que a perda de coloração acumulada foi maior nas folhas sem embalagem mesmo tendo iniciado o escurecimento um dia mais tarde do que as folhas embaladas (Figura 5).

A perda de coloração no cultivar Semi-roxo ocorreu a partir do primeiro dia de armazenamento, e a perda acumulada foi 15,78 e 24,38 %, com e sem embalagem, respectivamente. Os resultados mostram que a embalagem reduziu a taxa de perda de coloração presente no início do experimento. No cultivar Branco a partir do segundo dia as folhas começaram a perder cor, atingindo perdas acumuladas de 15,79 e 23,89 % com e sem embalagem, respectivamente (Figura 5).

Nos três cultivares, os valores do Chroma, em porcentagem, das perdas acumuladas de coloração foram inferiores nos tratamentos embalados, evidenciando assim o efeito da embalagem na redução da descoloração dos tecidos das folhas. Segundo COUEY (1982), a injúria por frio em abacate é caracterizada por meio de diversos sintomas, sendo o mais comum à descoloração cinza-marrom especialmente nos tecidos vasculares, ocorrendo também em banana e manga.

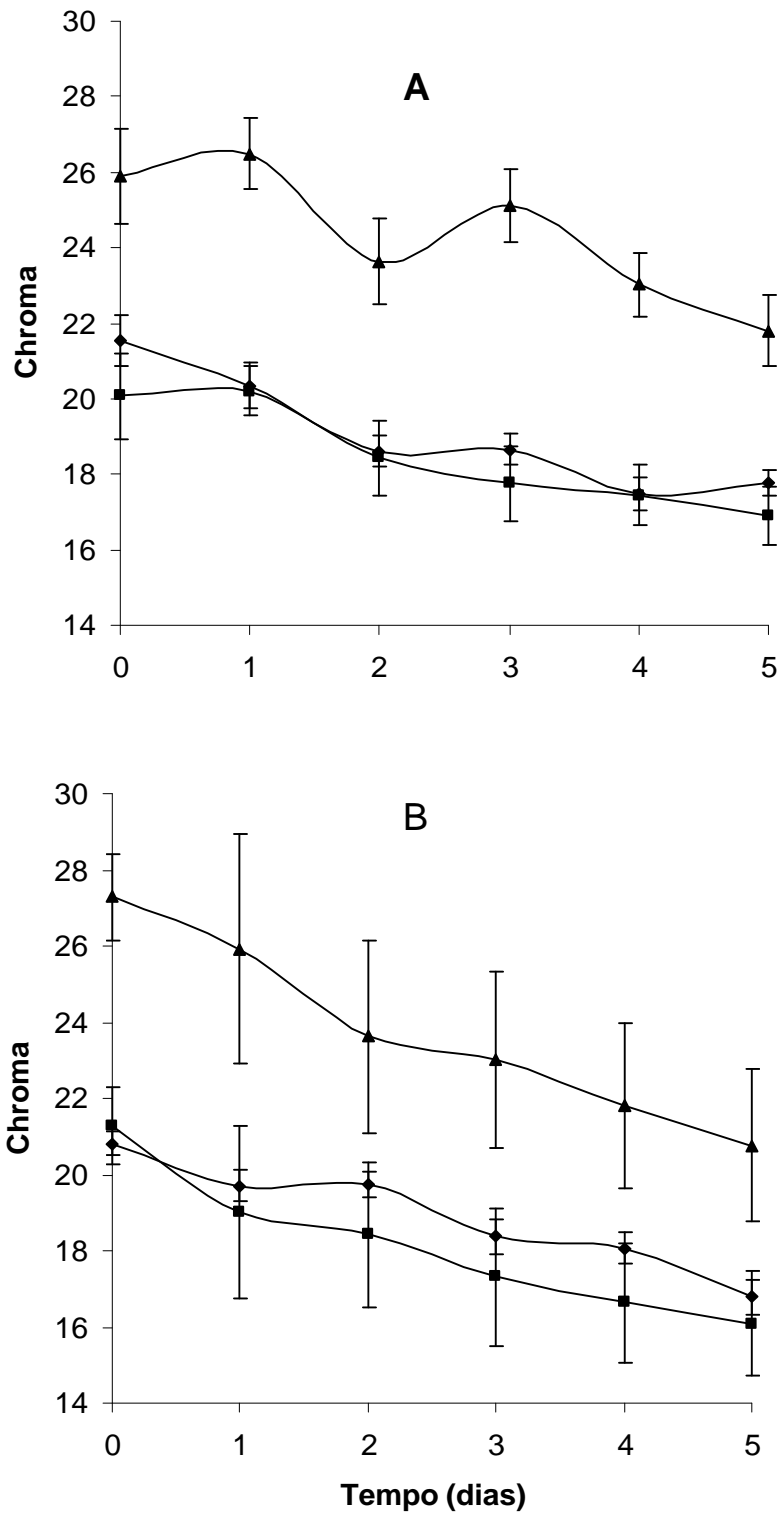


Figura 5 - Índice Chroma em folhas de manjericão, cv. Folha Larga(♦), cv. Semi-roxo(■) e cv. Branco(▲), armazenadas, com(A) e sem(B) embalagem, por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias, a 5 °C. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

No presente trabalho, o escurecimento dos tecidos foliares ocorreu durante o período de armazenamento. A descoloração dos tecidos pode estar diretamente relacionada com a atividade das enzimas de escurecimento, como polifenoloxidasas e peroxidases. Essas enzimas catalisam a oxidação de compostos fenólicos produzindo a coloração escura dos tecidos de plantas. Segundo STEWART et al. (2001), a polifenoloxidase é mais ativa se a temperatura for mais propensa a causar injúria por frio. Essa enzima produziu coloração escura nos tecidos de alface e cenoura minimamente processados (COUTURE et al., 1993; HOWARD et al., 1994).

4.5. Taxa de produção de CO₂ e etileno

A taxa respiratória no cv. Folha Larga se manteve estável nos três primeiros dias de armazenamento com embalagem, elevando-se rapidamente no quarto dia de armazenamento em que a taxa respiratória foi 460,8 mL CO₂ kg⁻¹.h⁻¹, ou seja, 62,6 % maior que no início do período experimental (Figura 6A). Verificou-se que sem embalagem a taxa respiratória manteve-se constante nos dois primeiros dias de armazenamento, no terceiro dia a taxa foi 217,78 mL CO₂ kg⁻¹.h⁻¹ diminuindo de 23,17 % em relação ao valor inicial. No quarto dia o valor não diferiu da taxa inicial, ou seja, foi 283,39 mL CO₂ kg⁻¹.h⁻¹ (Figura 6B). O cv. Semi-roxo com embalagem manteve a taxa respiratória estável até o terceiro dia de conservação, sendo que no quarto dia o valor foi 340,38 mL CO₂ kg⁻¹.h⁻¹. Verificou-se acréscimo de 48 % na taxa respiratória em relação taxa respiratória inicial (Figura 6A). Sem embalagem, o comportamento foi similar ao da cv. Folha Larga, diferindo no quarto dia de armazenamento, com taxa respiratória de 289,22 mL CO₂ kg⁻¹.h⁻¹, com aumento de 21,86 % sobre o valor inicial (Figura 6B).

O cultivar Branco com embalagem, teve aumento da taxa respiratória nos dois primeiros dias de armazenamento, e teve sua taxa respiratória acrescida no quarto dia de armazenamento, como observado nas demais cultivares, atingindo 350,20 mL CO₂ kg⁻¹.h⁻¹, ou seja, 82,6 % de acréscimo em relação ao início do experimento (Figura 6A). Quando o cv. Branco foi exposto ao frio, sem embalagem, teve comportamento similar as demais cultivares em

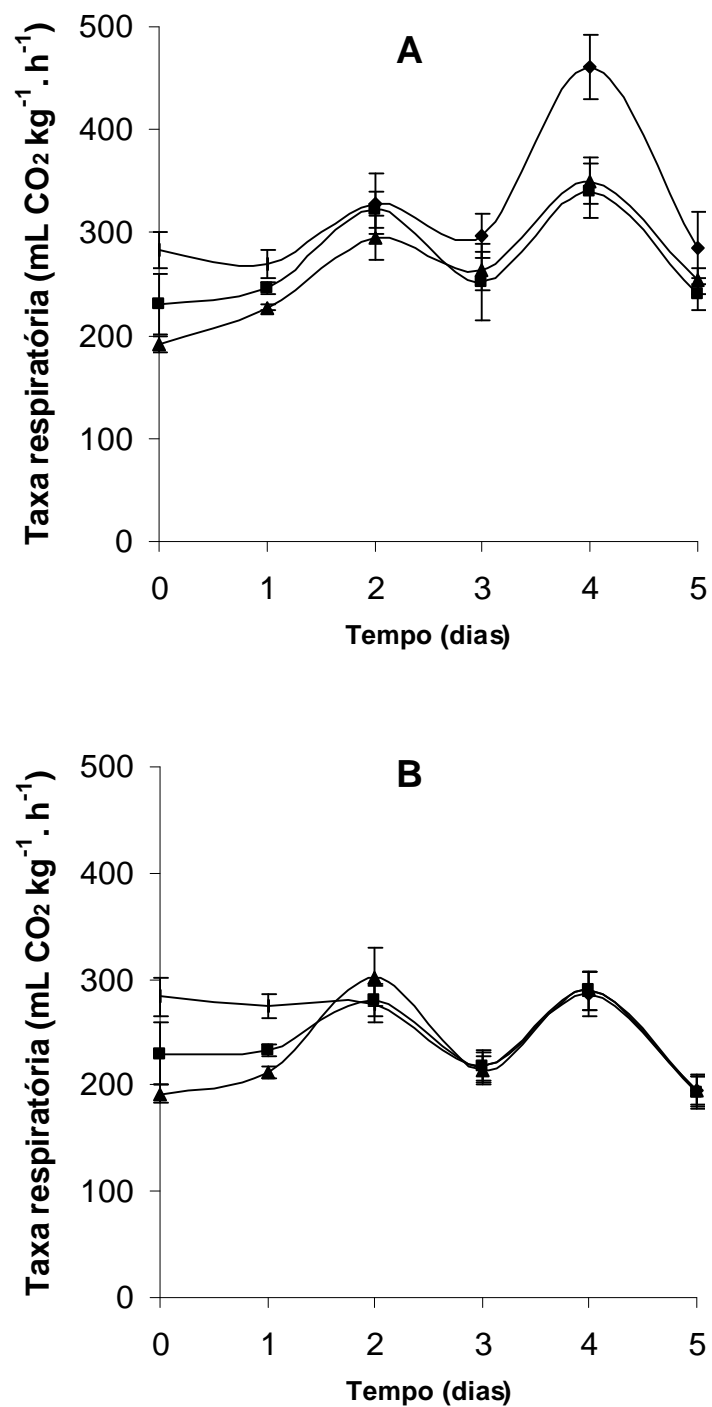


Figura 6 - Taxa respiratória em folhas de manjericão, cv. Folha Larga(◆), cv. Semi-roxo(■) e cv. Branco(▲). Armazenadas com(A) e sem(B) embalagem por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias a 5 °C. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

estudo nos três primeiros dias de conservação, sendo que no quarto dia de armazenamento diferiu dos demais com a taxa respiratória de 289,30 mL CO₂ kg⁻¹.h⁻¹, ou seja, 50,9 % maior que a taxa inicial (Figura 6B).

Os resultados indicam que no quarto dia de armazenamento houve resposta máxima da taxa respiratória em todos os cultivares. As folhas embaladas tiveram maiores taxas respiratórias quando comparadas com as folhas sem embalagem. Portanto, embalagem e a injúria por frio alteraram o comportamento da respiração.

A injúria por frio estimulou a respiração das folhas (Figuras 6A e 6B). Com maior tempo de exposição ao frio, maior foi a taxa respiratória, evidenciando que o sistema respiratório pode ser utilizado como índice da intensidade da injúria por frio nos tecidos e órgãos vegetais (WANG, 1982). Segundo MARKHART(1986), em plantas intactas ou órgãos de plantas normalmente há um estímulo ao consumo de oxigênio devido ao estresse por frio.

A produção de etileno nos cultivares de manjericão, embalados ou não, aumentou entre o primeiro e terceiro dia de armazenamento (Figura 7). Nos cultivares Semi-roxo e Branco os níveis de liberação máxima de etileno foi 127,31 ηL de etileno kg⁻¹ h⁻¹ e 159,63 ηL de etileno kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente, com embalagem, no terceiro dia de armazenamento. Logo após este dia, houve queda acentuada na produção de etileno (Figura 8A), considerando os mesmos cultivares e tempos de conservação, porém sem embalagem (Figura 8B), a liberação máxima foi de 95,69 ηL de etileno kg⁻¹ h⁻¹ e 65,77 ηL de etileno kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente, evidenciando que sem embalagem houve menor produção de etileno no período máximo de liberação. Observou-se que o cultivar Folha Larga, com embalagem ou não, no segundo dia de armazenamento teve liberação de 52,25 e 26,62 ηL de etileno kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Essas taxas mostram que a embalagem contribuiu com o aumento da taxa nesse dia (Figura 8A e 8B).

A produção de etileno é estimulada quando tecidos de plantas são injuriados acumulando em embalagem de produtos cortados frescos (WATADA

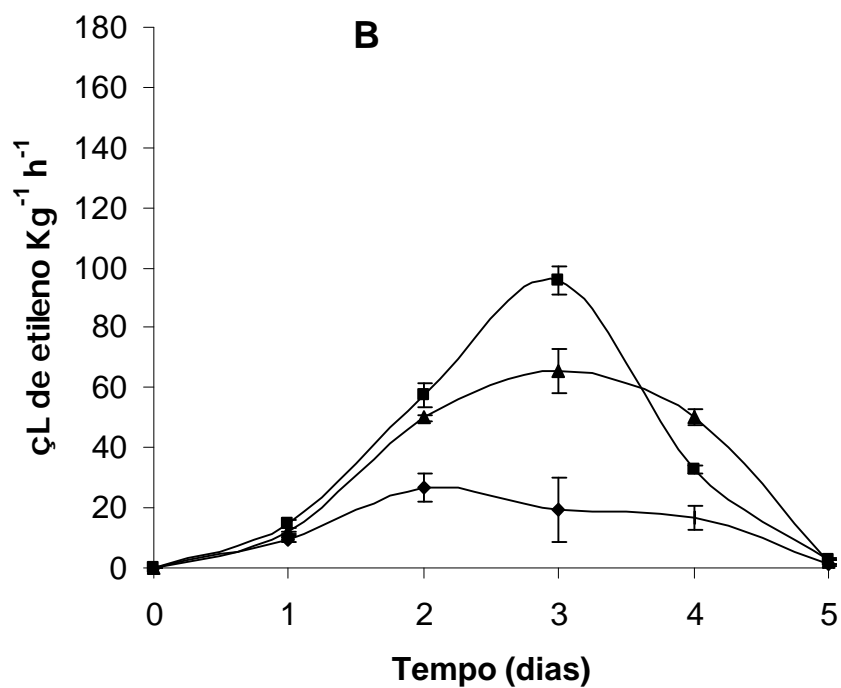
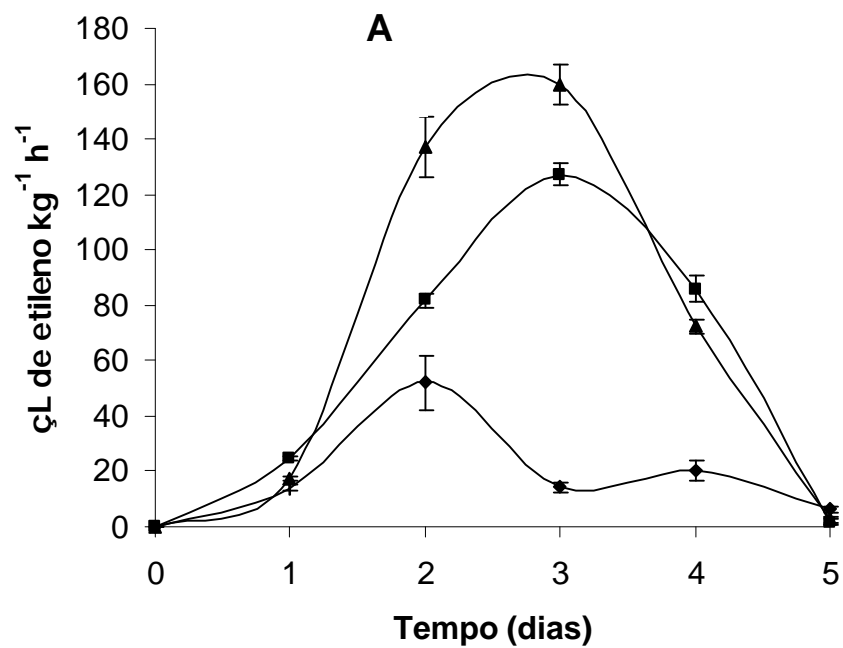


Figura 7 - Taxa de produção de etileno em folhas de manjerição, cv. Folha Larga(◆), cv. Semi-roxo(■) e cv. Branco(▲), armazenadas com(A) e sem(B) embalagem, por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias, a 5 °C. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

e QI, 1999). Segundo WANG (1982) o aumento da produção de etileno nos tecidos com injúria por frio é resultado do aumento da capacidade do tecido de produzir ACC (ácido 1- aminociclopropano 1- carboxílico) que é o precursor imediato do etileno. De acordo com ROMANI (1984), o etileno, por meio de efeitos de estresses, pode agir preferencialmente como agente acelerador do sintoma primário de senescência. Nosso trabalho observou-se um aumento no extravasamento de eletrólitos. SEREK et al, (1995) afirma que o aumento do extravasamento de eletrólitos de tecidos expressa as modificações das propriedades físicas das membranas celulares, e atribuiu ao etileno a expressão senescência precoce relacionado com modificações celulares. A menor taxa respiratória e evolução de etileno pode ser devido ao fechamento estomático nas folhas sem embalagem, com o menor consumo de oxigênio, devido ao estresse por frio. BRODRIBB e HOLBROOK (2003), considerando a perda de turgescência das folhas, afirmam que ocorre fechamento estomático em resposta ao estresse.

4.6. Análise isoenzimática e determinação da atividade da catalase

A partir dos dados isoenzimáticos, verificou-se a presença de uma única isoforma de catalase, nos cultivares Semi-roxo (A e B), cultivar Folha Larga (C e D) e cultivar Branco (E e F), (Figura 8). Não houve diferença aparente na expressão da enzima entre os tratamentos expostos ao frio ou não por cinco dias.

A atividade da catalase foi maior nos dois últimos dias de armazenamento. No cultivar Folha Larga, a atividade foi aumentada de 53,0 e 61,2 % com e sem embalagem, respectivamente (Figura 9A e 9B). No cultivar Semi-roxo houve um acréscimo na atividade enzimática de 46 e 74 % para os tratamentos com e sem embalagem, respectivamente (Figura 9A e 9B). O aumento na atividade da catalase no cultivar Branco foi 23,1 e 63,04 % com e sem embalagem, respectivamente (Figura 9A e 9B). As porcentagens foram do quinto dia, em relação ao início do período de armazenamento, e indicam incremento na atividade da catalase nos três cultivares, sendo que a embalagem contribuiu na redução na taxa de elevação da atividade da catalase.

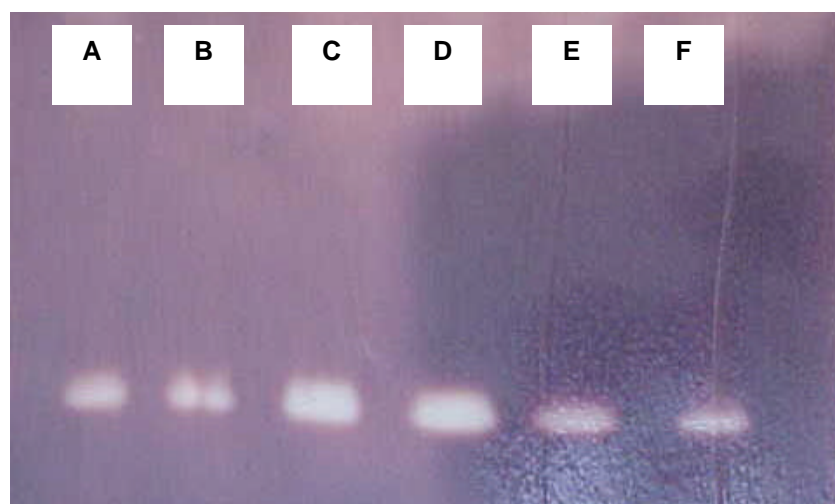


Figura 8 – Análise izoenzimática da presença da catalase em folhas de manjericão cv. Semi-roxa (A e B), cv Folha Larga (C e D) e cv. Branco (D e F),. sem exposição a 5 °C (A, C e E), armazenadas por cinco dias, a 5 °C (B, D e F).

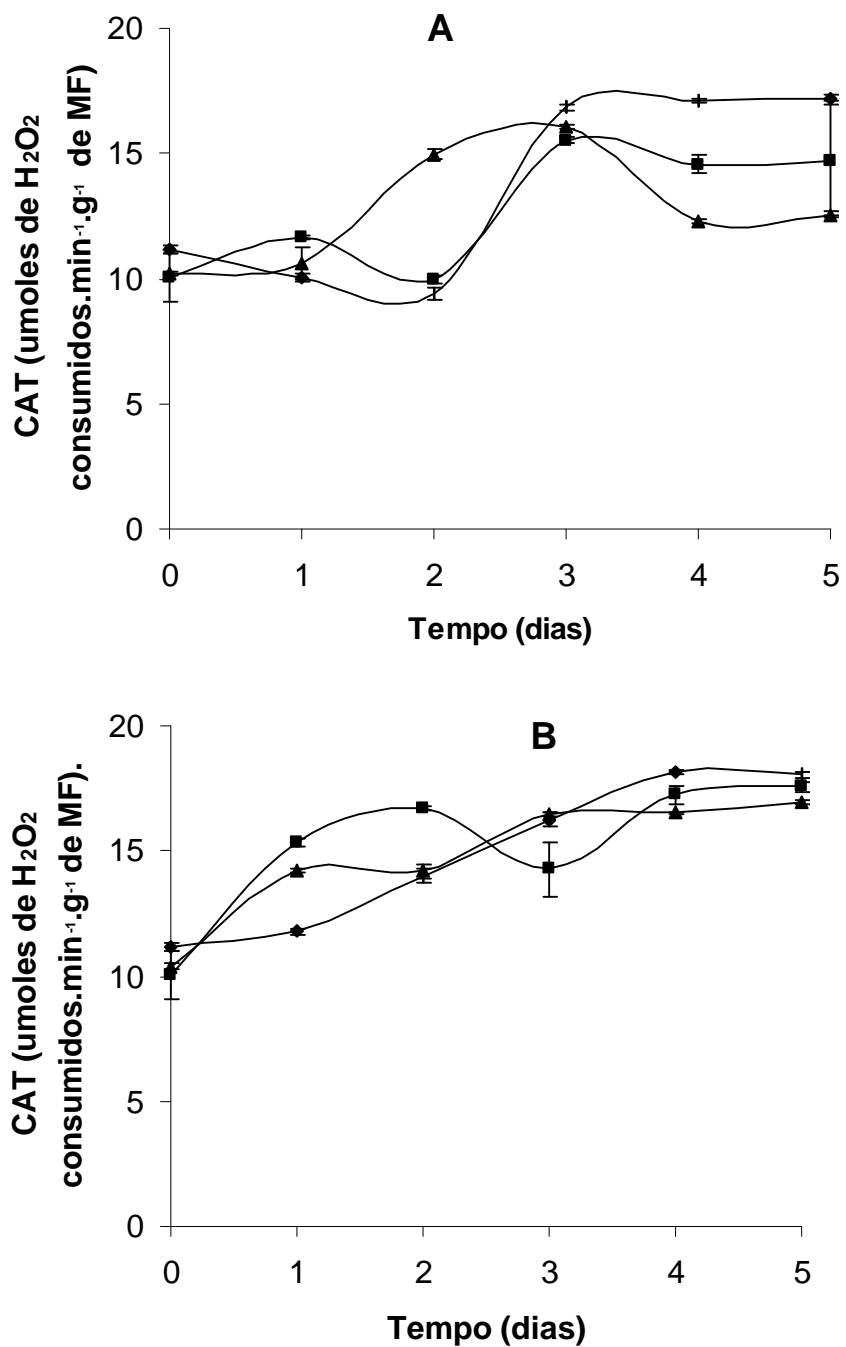


Figura 9- Atividade da catalase em folhas de manjericão, cv. Folha Larga(♦), cv. Semi-roxo(■) e cv. Branco(▲), armazenadas com(A) e sem(B) embalagem , por 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias, a 5 °C. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

A atividade da enzima catalase está sendo associada ao desenvolvimento dos sintomas de injúria por frio, como o estresse oxidativo, por isso a remoção do peróxido de hidrogênio pela catalase parece estar diretamente envolvida com a regulação da resposta ao este estresse nas plantas (SALA, 1998). No presente trabalho foi constatado o aumento na atividade da catalase, e de acordo com PRASAD et al., (1994) e ANDERSON et al., (1995) este aumento pode estar relacionado com a redução das concentrações de peróxido de hidrogênio, que tem sua produção aumentada sob condições de injúria por frio. Entretanto, a catalase também apresenta atividade peroxidativa, podendo utilizar o peróxido para oxidar substratos orgânicos e causar a peroxidação dos lipídios das membranas (SCANDALIOS, 1993).

Os resultados de perda de massa fresca e escurecimento, revelam o grau de murchamento e descoloração dos tecidos, respectivamente, evidenciando os sintomas visuais de injúria por frio, principalmente no final do período experimental que coincidiu com aumento da atividade da catalase, possivelmente confirmando a hipótese de que o aumento da atividade da catalase pode contribuir com a peroxidação de lipídios das membranas.

5. CONCLUSÕES

O cultivar Folha Larga foi menos susceptível à perda de massa fresca quando comparado com os cultivares Semi-roxo e Branco. A utilização da embalagem retardou em um dia o aparecimento dos sintomas de murcha.

As alterações no extravasamento de eletrólitos parecem não estar associada ao início do aparecimento dos sintomas visuais de injúria por frio, e a maior resistência de um determinado cultivar a injúria por frio. A presença da embalagem reduziu o extravasamento de eletrólitos nos três cultivares.

O teor de clorofila aumentou nos dois primeiros dias de armazenamento e o cultivar Folha Larga destacou-se pelos maiores teores.

A embalagem de acetato de celulose retardou em um dia as alterações visuais de cor nos três cultivares.

A injúria por frio estimulou a respiração e a produção de etileno nos três cultivares, com maiores taxas na presença da embalagem.

A partir dos dados izoenzimáticos, verificou-se a presença de uma única isoforma da catalase. A atividade da catalase foi maior nos dois últimos dias de armazenamento, o cultivar Semi-roxo teve maior acréscimo seguido pelos cultivares Branco e Folha Larga quando não embalados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELES, F. B., MORGAN, P.W., SALTVEIT JUNIOR, M. E. **Ethylene in plant biology**. New York, Academic press, 1992. 441p.
- ALFENAS, A.C., PETERS, I., BRUNE, W., PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e isozimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 242p.
- ANDERSON, M.D., PRASAD, T.K., STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedling. **Plant physiol.**, v.109, p.1247-1257, 1995.
- BRODRIBB, T.J., HOLBROOK, N.M. Stomatal closure during leaf dehydration correlation with other leaf physiological traits. **Plant physiol.**, v.132, p.2166-2173, 2003.
- BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W., JONES, R.L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plant**. Rockville, Maryland, 2000. 1406p.

- CANO, P., MARIN, M.A., FUSTER, C. Effects of some thermal treatments on polyphenoloxidase and peroxidase activities of banana (*Musa cavendishii*, var enana). **J. Sci. Food Agric.**, p.223-231, 1990.
- COUTURE, R., CANTWELL, M. I., KE, D., SALTVEIT JUNIOR., M.E. Physiological attributes related to quality attributes and storage life of minimally processed lettuce. **HortScience**, v.28, p.723-725, 1993.
- COUEY, H.M. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. **HortScience**, v.17, p.162-165, 1982.
- FINGER, F.L., VIEIRA, G. **Controle da perda pós-colheita de água em produtos hortícolas**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 29p.
- HAVIR, E.A., McHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiol.**, v.84, p.450-455, 1987.
- HEATON, J.W., MARANGONI, A.G. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. **Trends Food Sci. Technol.**, v.7, p. 8-15, 1996.
- HENZ, G.P. Conservação pós-colheita de pimentão através do uso de embalagem e refrigeração. **Hort. Bras.**, v.10, p.110-112, 1992.
- HOWARD, L.R., GRIFFIN, L.E., LEE., Y. Steam treatment of minimally processed carrot sticks to control surface discoloration. **J. Food Sci.**, v.59, p. 356-358, 1994.
- KADER, A.A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruit and vegetables. **Food Technol.**, v.40, p.99-104, 1986.
- KAR, M. MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant physiol.**, v.57, p.315-319, 1976.

- KAYS, S.J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: AVI, 1991. 532p.
- KING, M.M., LUDFORD, P.M. Chilling injury and electrolyte leakage in fruit of different tomato cultivars. **J. Am. Soc. Hort. Sci.**, v.108, p.74-77, 1983.
- LANGE, D.D., CAMERON, A C. Postharvest shelf life of sweet basil (*Ocimum basilicum*). **HortScience**, v.29, p.102-103, 1994.
- LYONS, J.M., RAISON, J.K. Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. **Plant physiol.**, v.45, p.386-389, 1970.
- MARKAHART, A. H. Chilling Injury: a review of possible causes. **HortScience**, v.21, p.1329-1333, 1986.
- MARTÍNEZ, M.V., WHITAKER, J.R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends Food Sci. Technol.**, v.6, p.195-200, 1995.
- McGUIRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v.27, p.1254-1255, 1992.
- MEIR, S., RONE, R., LURIE, S., PHILOSOPH-HADAS, S. Assessment of chilling injury during storage: chlorophyll fluorescence characteristics of chilling-susceptible and triazole-induced chilling tolerant basil leaves. **Postharvest. Biol. Technol.**, v.10, p. 213-220, 1997.
- MORRIS, L.L. Chilling injury of horticultural crops: an overview. **HortScience**, v.17, p.161-162, 1982.
- PALOU, E., LÓPES-MALO, A., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., WELTI-CHANES, J., SWANSON, B.G. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. **J. Food Sci.**, v.64, p. 42-43, 1999.

- PHILOSOPH-HADAS, S., MEIR, S., AKIRI, B., KANNER, J. Oxidative defense systems in leaves of three edible herbs species in relation to their senescence rates. **J. Agric. Food Chem.**, v.42, p.2376-2381, 1994.
- PRASAD, T. K., ANDERSON, M.D., MARTIN, B.A., STEWART, C.R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. **Plant Cell**, v.6, p.65-74, 1994.
- REILLY, K., HAN, Y.M TOHME, J BEECHING, J.R. Isolation and characterization of cassava catalase expressed during post-harvest physiological deterioration. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1518, p.317-323, 2001.
- ROMANI, R. J. Respiration, ethylene, senescence, and homeostasis in an integrated view of postharvest life. **Can. J. Bot.**, v.62, p.2950-2955, 1984.
- SALA, J.M. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarins fruits. **Postharvest Biol. Technol.**, v.13, p.255-261, 1998.
- SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutase. **Plant physiol.**, v.101, p.7-12, 1993.
- SEREK, M., TAMARI, G., SISLER, E.C., BOROCHOV, A. Inhibition of ethylene-induced cellular senescence symptoms by 1-methylcyclopropene, a new inhibitor of ethylene action. **Plant physiol.**, v.94, p.229-232, 1995.
- STEWART, R.J., SAWYER, B.J.B., BUCHELE, C.S., ROBINSON, S.P. Polyphenoloxidase is induced by chilling and wounding in pineapple. **Aust. J. Plant Physiol.**, v.28, p.181-1991, 2001.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Redwood City: Benjamin/Cummings, 2002. 565p.
- WANG, C. Y. Physiological and biochemical responses of plants to chilling stress. **HortScience**, v.17, p.173-186, 1982.

WATADA, A.E., QI, L. Quality of fresh-cut produce. **Postharvest Biol. Technol.**, v.15, p.201-205, 1999.

WHITLOW, T.H.; BASSUK, N.L.; RANNEY, T.G.; REICHERT, D.L. An improved method for using electrolyte leakage to assess membrane competence in plant tissues. **Plant physiol.**, v.98, p.198-205, 1992.

WILLS, R.H.H., LEE, T.H., GRAHAM, W.B. **Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables**. Westport: AVI, 1981. 162p.

YAMAUCHI, N.; WATADA, A.E. Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. **J. Am. Soc. Hort. Sci.**, v.116, p.58-62, 1991.