

**LEONARDO DA SILVA GARCIA**

**EFEITO DO ETILENO E DO 1-METILCICLOPROPENO NA  
FISIOLOGIA PÓS-COLHEITA DE DIFERENTES CULTIVARES  
BRASILEIRAS DE BATATA**

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  
2005

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

T

G216e  
2005

Garcia, Leonardo da Silva, 1980-

Efeito do etileno e do 1-metilciclopropeno na fisiologia pós-colheita de diferentes cultivares brasileiras de batata / Leonardo da Silva Garcia. – Viçosa : UFV, 2005. vii, 64f : il. ; 29cm.

Orientador: Marco Aurélio Pedron e Silva.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 57-64

1. Batata - Fisiologia pós-colheita. 2. Plantas - Reguladores. 3. Etileno. 4. 1- Metilciclopropeno. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 635.2168

**LEONARDO DA SILVA GARCIA**

**EFEITO DO ETILENO E DO 1-METILCICLOPROPENO NA  
FISIOLOGIA PÓS-COLHEITA DE DIFERENTES CULTIVARES  
BRASILEIRAS DE BATATA**

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 maio de 2005**

---

**Andréa Miyasaka de Almeida**

---

**Paulo Henrique Pereira Peixoto**

---

**Fábio Murilo Da Matta  
(Conselheiro)**

---

**Raimundo Santos Barros**

---

**Marco Aurélio Pedron e Silva  
(Presidente da Banca)**

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho de Conclusão de Curso, Àquele que me chamou a vida e colocou no meu ser a essência do Seu Ser Divino. Dedico aos meus pais que acompanham de perto toda a minha caminhada acadêmica e que nunca mediram esforços para ajudar-me em tudo que eu precisei. Esta vitória conquistada com muito ardor também é de vocês! Amo vocês!

A minha namorada que soube compreender todos os momentos de minha ausência e que contribuiu com o meu sucesso. Aline, eu te amo!

Ao meu irmão, Eduardo, companheiro de longo tempo que sempre me apoiou. Que minha formação lhe inspire e que possa lhe servir de exemplo em sua carreira profissional.

Aos meus avós e familiares, que me auxiliaram durante todos os anos de minha vida, aconselhando-me e incentivando-me a sempre continuar minha jornada pela vida. Mesmo aqueles que não estão mais presentes, iluminaram meu caminho.

Ao professor Paulo Henrique Pereira Peixoto o qual tenho grande admiração e respeito e que fez parte da minha vida por muito tempo e contribuiu muito para a formação do meu conhecimento adquirido ao longo desses anos. Você é um dos responsáveis pela minha iniciação no curso de pós-graduação. Paulo, muito obrigado!

Sou eternamente grato a todos vocês!

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus que foi o incentivo especial, ao meu orientador e conselheiros pelo auxílio prestado durante a realização deste trabalho, aos professores do departamento de Fisiologia Vegetal que contribuíram com a minha formação acadêmica. Aos técnicos de laboratório que por vezes me ajudaram a realizar este trabalho.

Aos meus grandes amigos que tive durante o curso, Gustavo, Elaine e Ana Maria. Sem o apoio, paciência e compreensão de vocês este trabalho não se concluiria. Vocês marcaram minha vida. Jamais me esquecerei de vocês!

Aos colegas de laboratório, pelo companheirismo e paciência.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Fisiologia Vegetal que me deram a oportunidade de realizar o mestrado e acreditaram na minha capacidade profissional.

A CAPES que financiou minha bolsa de mestrado. Sem esse auxílio dificilmente teria concluído o mestrado.

A todos vocês meu muito obrigado!

## **NDICE**

Resumo	v
Abstract	vi
1 Introdução	01
2 Revisão Bibliográfica	03
3 Material e Métodos	07
3.1 Material Vegetal	07
3.2 Design Experimental	07
3.2.1 Experimento 1	07
3.2.2 Experimento 2	10
3.3 Açúcares Solúveis e Amido	11
3.4 Atividades Enzimáticas	12
3.5 Delineamento Experimental	14
4 Resultados e Discussão	16
4.1 Experimento 1	16
4.1.1 Efeito do Etileno na Fisiologia Pós-Colheita das Cultivares Atlantic e Pérola	16
4.1.1.1 Efeito do Etileno nas Brotações	16
4.1.1.2 Produção de Etileno	19
4.1.1.3 Efeito do Etileno nas Concentrações de Glicose e Sacarose nos Tubérculos	20
4.2 Experimento 2	23
4.2.1 Efeito do Etileno e do 1-Metilciclopropeno na Fisiologia Pós-Colheita das cultivares Ágata e Vivaldi	23
4.2.1.1 Efeito do Etileno nas Brotações	25
4.2.1.2 Efeito do Etileno na Taxa Respiratória	29
4.2.1.3 Produção de Etileno e Efeito do 1-Metilciclopropeno	31
4.2.1.4 Efeito do Etileno no Metabolismo da Sacarose	34
4.2.1.5 Efeito do Etileno no Metabolismo do Amido	44
5) Conclusões	48
6) Referências Bibliográficas	49

## RESUMO

GARCIA, Leonardo da Silva, M.S. Universidade Federal de Viçosa, maio de 2005. **Efeito do etileno e do 1-metilciclopropeno na fisiologia pós-colheita de diferentes cultivares brasileiras de batata.** Orientador: Marcelo Ehlers Loureiro. Conselheiros: Fábio Murilo Da Matta, Marco Aurélio Pedron e Silva e Rolf Puschmann

Tubérculos de batata permanecem em estado variável de dormência após a colheita, sendo de grande importância econômica o controle da duração do período de dormência, que varia entre genótipos. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a ação do etileno e do 1-Metilciclopropeno (1-MCP) sobre a brotação e o efeito na fisiologia pós-colheita de tubérculos de quatro cultivares brasileiras de batata, que possuem diferentes períodos de dormência. Foram utilizadas as cultivares: Atlantic, Pérola, Ágata e Vivaldi. Os tubérculos foram submetidos aos tratamentos com etileno ( $4 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e com ar atmosférico. As cultivares Ágata e Vivaldi foram submetidos ao tratamento com 1-MCP ( $500 \text{ nmol L}^{-1}$ ), além dos tratamentos anteriores. O etileno promoveu a brotação, por 20 dias, na cultivar Atlantic e em cinco dias, na cultivar Pérola, enquanto nenhum efeito pôde ser observado nas cultivares Ágata e Vivaldi. Foi observada uma associação negativa entre a taxa de biossíntese de etileno e o tempo de brotação dos tubérculos das diferentes cultivares. A aplicação de etileno promoveu aumentos nos teores de sacarose, glicose e frutose, os quais, geralmente, foram maiores nas cultivares com brotação mais precoce (Pérola e Ágata). O etileno também promoveu um aumento na atividade das invertases ácida e alcalina e da sintase da sacarose-fosfato, com uma concomitante redução no teor de amido e aumento na atividade da fosforilase do amido. O 1-MCP foi eficiente em reduzir a taxa de síntese de etileno e esteve associado a um aumento no diâmetro e comprimento das brotações.

## ABSTRACT

GARCIA, Leonardo da Silva, M.S. Universidade Federal de Viçosa, May 2005. **Effect of the ethylene and the 1-methylcyclopropene in the postharvest physiology of different potato brazilian cultivars.** Adviser: Marcelo Ehlers Loureiro. Committee members: Fábio Murilo Da Matta, Marco Aurélio Pedron and Silva and Rolf Puschmann

After harvest, potato tubers remain in dormancy. The duration of the dormancy period is genotype specific. The dormancy regulation has great economic importance. This work aimed to evaluate the effect of the ethylene as an inhibitor of sprout and the effect of the 1-Methylcyclopropene (1-MCP) on postharvest tuber physiology in Brazilian potato cultivars that have different dormancy periods. In this work, we have studied the responses of four cultivars differing in tuber dormancy features: Atlantic, Perola, Agata and Vivaldi,. The response of all cultivars to ethylene ( $4 \mu\text{L L}^{-1}$ ), and under control conditions was compared, whereas the effects of 1-MCP was studied only for Agata and Vivaldi. Ethylene treatment has delayed tuber sprouting in about 20 days for Atlantic and 5 days for Perola, whereas any effect was detected for Agata and Vivaldi cultivars. A negative association was observed between the biosynthetic ethylene rate and the sprouting time. Ethylene also promoted an increase in sucrose, glucose and fructose tuber levels, which were higher in genotypes with shorter sprouting times. This increase was parallel to increase in the enzymatic activities of acid and alkaline invertases and SPS. Concomitantly tuber starch contents decreased and starch phosphorylase activity. Increased the treatment with 1-MCP was very efficient in reducing the ethylene biosynthetic rate. This effect seems to be associated with increased sprout diameter and length. The data presented here constitute a proof for an important role of ethylene in tuber sprouting.

## 1) INTRODUÇÃO

Após serem colhidos, os tubérculos de batata permanecem em estado de dormência, durante o qual a brotação é inibida. A duração do período de dormência está ligada fundamentalmente ao genótipo, podendo ser afetada pelas condições ambientais, em menor grau. Esse período pode se estender, desde algumas semanas por até meses, após a colheita (Burton, 1989).

O controle da duração do período de dormência dos tubérculos de batata é de grande importância econômica. Em termos comerciais, há o interesse em se prolongar a dormência, de forma a aproveitar-se da sazonalidade da produção, possibilitando o aumento do período de armazenamento, o que permite a obtenção de melhores preços pelos produtores (Jiméns et al., 1998). A redução do período de dormência traz benefícios na época do plantio, promovendo uma rápida e mais uniforme emergência das brotações, o que resulta em uma brotação mais homogênea e intensa e, conseqüentemente, numa maior produtividade (Castro, 1976).

Para um país como o Brasil, que apresenta temperaturas elevadas, períodos prolongados de dormência constituem característica genotípica desejável. Quanto maior a temperatura (acima de 10°C), menor é o período de dormência (Wilshire & Cobb, 1996). O pequeno período de dormência, observado em condições climáticas brasileiras, restringe a vida pós-colheita e também cria problemas de disponibilidade de batata-semente, mas permite a obtenção de duas ou até três colheitas anuais.

A busca por novas tecnologias e a aplicação de substâncias menos nocivas ao ambiente e ao ser humano tem-se tornado freqüente. O produto químico cloropropano (CIPC), utilizado como anti-brotante em tubérculos de batata armazenados, devido a sua elevada toxicidade, vem reforçar ainda mais essa busca. Também, a utilização de etileno exógeno pode ser uma alternativa para o controle de brotações em tubérculos de batata (Prange et al., 1998).

O presente trabalho abordou o mecanismo de dormência em tubérculos de batata e seu controle em nível bioquímico e fisiológico, bem como sua importância no prolongamento da conservação pós-colheita de tubérculos, tendo como objetivos:

- a) Avaliar o potencial do etileno e do 1-Metilciclopropeno (1-MCP) sobre o controle da brotação de tubérculos de batata;
- b) avaliar o efeito do etileno e do 1-MCP sobre a fisiologia pós-colheita de tubérculos de batata.

## 2) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A batata (*Solanum tuberosum* L.), também conhecida como batatinha ou batata inglesa, é uma hortaliça do tipo tubérculo, pertencente à família Solanaceae. É nativa da Cordilheira dos Andes, onde é consumida há mais de 8.000 anos. Introduzida na Europa por volta de 1570 e, posteriormente, em 1620, na América do Norte, tornou-se um alimento importante, sendo o quarto alimento mais consumido pela humanidade, superada apenas pelo arroz, trigo e milho. Constitui uma importante fonte de carboidratos e de proteínas de alta qualidade, e de uma considerável quantidade de vitaminas e sais minerais (Lopes, 2005).

A produção mundial, que envolve 19 milhões ha, é superior a 310 milhões de toneladas. Cerca de 90% da produção se concentra no hemisfério Norte. O Brasil ocupa o 20º lugar no “ranking” mundial, com uma área cultivada entre 110 mil e 170 mil ha, onde são produzidas mais de 2,5 milhões de toneladas. A produtividade nacional oscila entre 15 e 50 ton/ha, dependendo do nível tecnológico do produtor. O país importa, ainda, um volume de batata que corresponde à produção de 10 a 15 mil ha de área plantada. O consumo brasileiro de batata ainda é considerado baixo, de 14 a 15 kg/habitante/ano, se comparado a países como a Polônia, por exemplo, onde o consumo atinge 190 kg/habitante/ano, e a Bolívia, 100 kg/habitante/ano. A região Sudeste é a principal área produtora, com mais de 1,5 milhão de toneladas produzidas. Dentre os estados, Minas Gerais se destaca com sua produção próxima a 1 milhão de toneladas, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, sendo o maior produtor nacional (Lopes, 2005). O produto interno bruto gerado pela produção da batata atinge a cifra de US\$ 1 bilhão por ano. Considerando-se toda a cadeia produtiva, essa cifra pode chegar a triplicar.

A quebra da dormência de tubérculos de batata está associada a modificações metabólicas. Elas envolvem a degradação do amido, acúmulo de açúcares e aumento da respiração, que resultam em um declínio da qualidade, tanto nutricional como para o processamento dos tubérculos (Burton, 1989). Várias alternativas estão sendo utilizadas no

armazenamento de tubérculos. A principal delas é o uso de refrigeração que, dependendo do genótipo e da temperatura, pode levar ao adocicamento (acúmulo de açúcares solúveis) dos tubérculos, acarretando depreciação da qualidade do produto. Outra alternativa, que também se tem utilizado em escala mundial, é a aplicação do cloropropano (CIPC, 1-metil-3-clorofenilcarbamato) para a inibição de brotação. Este produto químico também é utilizado como herbicida e possui forte ação anti-mitótica, tanto em plantas como em animais, sendo nocivo à saúde humana, além de deixar resíduos tóxicos indesejáveis e causar indução de brotação interna (Meredith, 1995). O CIPC está entre os três agroquímicos presentes em maiores níveis na dieta dos americanos, correspondendo a 90% dos resíduos químicos sintéticos presentes na batata consumida nos EUA (Gartrell et al., 1986; Gunderson, 1998). Além disso, a presença de resíduos de CIPC tem sido utilizada como barreira para importação da batata em países como Holanda e Itália, dentre outros (Prange et al., 1998). Assim, a utilização de produtos, como o CIPC, deve tornar-se restrita. Há poucos dados disponíveis sobre o mecanismo de atuação do CIPC na promoção da dormência de tubérculos da batata. Blenkinsop et al. (2002) indicam que o CIPC pode aumentar a síntese de etileno, reduzindo a respiração dos tubérculos.

Hormônios vegetais parecem ter um papel importante na regulação da dormência dos tubérculos da batata. O ácido abscísico (ABA), as citocininas, as giberelinas (GA) e o etileno estão envolvidos nessa regulação (Suttle, 1995; Wiltshire e Cobb, 1996; Suttle 1998). Destes, o ABA é considerado o principal fator indutor da dormência, enquanto citocininas e giberelinas têm sido envolvidas na quebra da dormência. Contudo, muitas das evidências experimentais que suportam o papel dos hormônios são baseadas nos efeitos de aplicações de fitorreguladores e em estudos correlativos, comparando-se mudanças relativas nos níveis endógenos dessas substâncias, durante a brotação dos tubérculos. Em consequência, grande parte da evidência experimental é indireta e, portanto, não conclusiva (Sonnewald, 2001).

A questão relacionada ao envolvimento do etileno endógeno na regulação da dormência é bastante controversa. Aplicação de etileno (ou

agentes liberadores de etileno) pode resultar em respostas antagônicas. Dependendo da concentração e duração da exposição, a aplicação de etileno pode acelerar ou retardar a brotação de tubérculos. Aplicações de curto prazo podem resultar na quebra de dormência, enquanto aplicações por longos períodos podem inibir o crescimento das brotações (Rilski et al., 1974; Alam et al., 1994). O mesmo resultado é obtido com aplicação isolada de etefon (ácido 2-cloroetilfosfônico, substância liberadora de etileno), ou em combinação com GA<sub>3</sub>. Ambos tratamentos podem estimular a brotação. Por outro lado, outros resultados mostram inibição da brotação ou extensão do período de dormência pelo etileno. Aplicações de etefon, antes ou após a colheita, podem resultar na extensão do período da dormência (Metlitskii et al., 1982; Korableva et al., 1989; Tan & Thyman, 1989; Cvrikrova et al., 1994).

Dados baseados na inibição da ação do etileno durante o desenvolvimento *in vitro* de microtubérculos, pelo uso de AgNO<sub>3</sub> ou 2,5-norbornadieno (NBD) no tratamento de explantes nodais de batata, apontam também para um papel importante do etileno no estabelecimento da dormência dos microtubérculos (Suttle, 1998). Resultados de um experimento, utilizando condições de armazenamento semelhantes às utilizadas comercialmente, indicam que o etileno pode atrasar a brotação (Prange et al., 1998). Nesse estudo, também foi comparado o efeito do CIPC com o do etileno, sendo o etileno tão efetivo na promoção da dormência quanto o CIPC. O tratamento com etileno resultou em maior acúmulo de açúcares solúveis. Porém, esse estudo foi realizado com uma cultivar caracterizada por um longo período de dormência.

Em 2001, o governo canadense regulamentou o uso do etileno no controle da brotação da cultivar “Russet Burbank” (Pest Management Regulatory Agency, 2001). Entretanto, desde a publicação dessa regulamentação, pouco se publicou acerca do uso do etileno na indução de dormência de outras cultivares de batata.

O 1-metilciclopropeno (1-MCP) é largamente utilizado para conservação pós-colheita de frutos climatérios, por possibilitar seu armazenamento por período maior de tempo, resultado da redução na ação do etileno (Sisler & Serek, 1997). O 1-MCP é um produto não-tóxico

e inodoro. Seu modo de ação ocorre, preferencialmente, por meio da inativação dos receptores de etileno. Isso resulta no efeito de bloqueio da ação do etileno. O 1-MCP liga-se ao receptor do etileno mais eficientemente que o próprio etileno, por isso é efetivo em níveis extremamente baixos, em doses da ordem de  $nL L^{-1}$  (ppb) (Sisler & Serek, 1997). Após o tratamento com 1-MCP, algumas plantas, ou partes delas, perdem a sensibilidade ao etileno; esse efeito é reversível depois de certo tempo, dependendo da dose aplicada (Sisler & Serek, 1997). O 1-MCP é comercializado na forma de pó contendo 0,14% do ingrediente ativo, que é liberado quando entra em contato com solução tampão alcalina ou água aquecida (40°C) (Porat et al., 1999).

Apesar de haver um grande número de publicações sobre tuberização, pouco se conhece sobre os processos de dormência e brotação de batatas, tanto em nível bioquímico, como em níveis fisiológico e molecular (Sonnewald, 2001). A compreensão da fisiologia da dormência de tubérculos é pré-requisito para a descoberta de uma tecnologia eficaz no controle desse processo. Há poucos trabalhos sobre esse assunto na literatura brasileira (Daniels et al., 1982; Bisognin et al., 1996; Jiméns et al., 1998). Não é encontrado, nessas referências, nenhum estudo fisiológico e/ou bioquímico caracterizando o comportamento de diferentes genótipos. Portanto, estudos devem ser realizados a fim de se avaliar o real efeito do etileno no processo fisiológico da brotação em diferentes cultivares. Este trabalho pretende contribuir para uma melhor compreensão da fisiologia pós-colheita de genótipos brasileiros de batatas.

### **3) MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1) Material Vegetal**

Tubérculos de batata (*Solanum tuberosum*) recém-colhidos e escovados das cultivares Atlantic e Pérola foram obtidos da EMBRAPA Clima Temperado, Pelotas (31° 46' 19" S) Rio Grande do Sul. A cultivar Atlantic apresenta maior período de dormência e maior susceptibilidade ao adocicamento, ocorrendo o oposto com a cultivar Pérola. Tubérculos de batata recém-colhidos e escovados de outras duas cultivares foram obtidos na ABASMIG - Associação dos Bataticultores do Sul de Minas Gerais, Pouso Alegre (22° 13' 48" S), Minas Gerais. A cultivar Ágata apresenta menor período de dormência que a cultivar Vivaldi, sendo ainda desconhecida a susceptibilidade de cada uma delas ao adocicamento.

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Nutrição e Metabolismo e na Unidade de Processamento Mínimo do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa. Dois experimentos foram montados, de forma semelhante, comparando-se cultivares contrastantes quanto à duração de seus períodos de dormência.

#### **3.2) Design Experimental**

##### **3.2.1) Experimento 1**

O primeiro experimento foi montado durante o verão de 2003. Para isso, cerca de 500 g de tubérculos de batata das cultivares Atlantic e Pérola foram selecionados e armazenados em frascos de vidro de 1600 cm<sup>3</sup>, munidos de um pequeno ventilador para homogeneização do ambiente interno dos frascos (Figura 1). Os frascos foram hermeticamente fechados com tampas e vedados com filme plástico e silicone. As tampas continham septos de borracha, para aplicação de etileno e para coleta de amostras gasosas. Em seguida, os tubérculos de batata foram expostos aos tratamentos contendo etileno, à concentração de 4 mol m<sup>-3</sup>, ou apenas ar atmosférico.

O etileno utilizado foi produzido por hidrólise alcalina do etefon (ácido 2-cloroetil fosfônico), como foi descrito por Abeles et al. (1992). Os tubérculos foram expostos ao etileno durante 135 dias o qual foi aplicado

somente nos frascos do tratamento com o fitorregulador através do septo de borracha com o auxílio de uma micro-seringa.

A cada cinco dias, todos os frascos eram abertos por 15 min, de forma a reduzir-se o acúmulo de CO<sub>2</sub>. Nos tratamentos com etileno, o mesmo era novamente aplicado. Os frascos de todos os tratamentos foram mantidos no escuro em câmara fria com temperatura controlada de aproximadamente 15°C, durante os 135 dias de avaliação.

No interior dos frascos foi colocada uma pequena placa de Petri (3 cm de diâmetro) contendo 3 mL de uma solução de hidróxido de potássio a 50%. A cada cinco dias as soluções das placas de petri eram coletadas a fim de permitir o acompanhamento da taxa respiratória, ao longo do armazenamento. Amostras de 1 mL da solução de hidróxido de potássio 50% mantidas no interior dos frascos foram adicionadas a tubos de ensaio de 23 mL, hermeticamente fechados com tampas de borracha. Com o auxílio de uma seringa foi adicionado 1 mL de ácido clorídrico 27% (v/v) a cada amostra, para que ocorresse liberação do CO<sub>2</sub>. Em seguida, amostras de 1 mL do ar contido nos tubos de ensaio foram retiradas com o auxílio de seringas para quantificação do CO<sub>2</sub> em um cromatógrafo a gás (modelo GC-3BT, Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com uma coluna Porapak Q, utilizando-se de um detector de condutividade térmica, de acordo com Coleman & McInerney (1997). As temperaturas utilizadas para a coluna, injetor e detector foram de 50, 75 e 50°C, respectivamente.

No tratamento sem aplicação de etileno, outra placa de Petri foi colocada contendo 3 mL de uma solução de perclorato de mercúrio 1 mol L<sup>-1</sup> (Abeles et al., 1992). A cada cinco dias as soluções das placas de petri eram coletadas a fim de permitir o acompanhamento da taxa de produção de etileno, ao longo do armazenamento. Amostras de 1 mL das soluções de perclorato de mercúrio 1 mol L<sup>-1</sup> mantidas no interior dos frascos onde não se adicionou o etileno, foram transferidas para tubos de ensaio de 23 mL, hermeticamente fechados com tampas de borracha. Com o auxílio de uma seringa foi injetado, em cada amostra, 1 mL de uma solução de cloreto de potássio 1 mol L<sup>-1</sup>, para que ocorresse uma reação de liberação do etileno (Abeles, 1973). Em seguida, amostras de 1 mL do ar contido nos tubos de ensaio foram retiradas, com o auxílio de seringas, para

quantificação do etileno em cromatógrafo a gás (modelo 5890, serie II, Hewlett-Packard Canadá Ltda., Mississauga, Canadá), equipado com uma coluna de alumina ativada (Porapak N; 80-100 mesh, 100cm x 6mm). O fluxo dos gases nitrogênio, ar atmosférico e de hidrogênio foram de 30, 130 e 20 mL m<sup>-1</sup>, respectivamente. As temperaturas da coluna, injetor e detector de chama ionizada foram de 60, 100 e 150°C, respectivamente. A quantificação do etileno foi realizada pela comparação da integração das áreas dos picos das amostras, em comparação com áreas de padrão autêntico de etileno, determinados em um integrador HP 3395A.

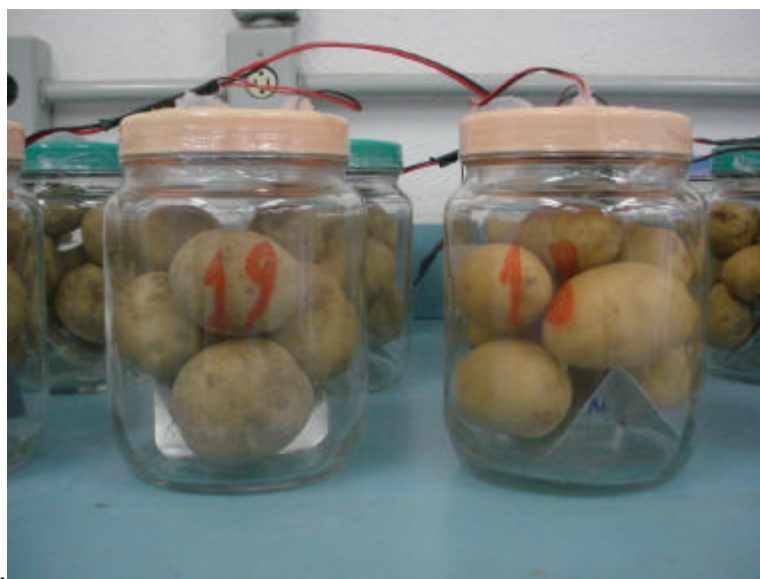


Figura 1. Frascos utilizados no armazenamento dos tubérculos.

A cada 10 dias, amostras de tubérculos de batata eram coletadas, perfurando-se transversalmente os tubérculos com um furador de rolhas de 1 cm de diâmetro. Cada cilindro era fatiado em pedaços de 1 mm de espessura, os quais eram congelados imediatamente em nitrogênio líquido, e transferidos para um freezer a -80°C, para análises posteriores. Os tubérculos de batata que serviram para coleta de amostras de tecido vegetal não retornavam aos frascos sendo retirados do experimento.

Aproximadamente 100 mg de tubérculos de batata previamente coletados e armazenados a -80°C, foram triturados com o auxílio de almofarizes e bastões de porcelana. Em seguida, foram utilizados 800 µL de etanol 80% para a preparação dos extratos. As amostras preparadas foram incubadas a 80°C, por 20 min e, em seguida, centrifugadas a 14000

g. O sobrenadante foi coletado e armazenado a  $-12^{\circ}\text{C}$ . Ao resíduo, foram adicionados 150  $\mu\text{L}$  de etanol 80% para lavagem sendo o material, novamente, centrifugado a 14000 g. O sobrenadante foi coletado e armazenado conjuntamente ao sobrenadante da primeira centrifugação. As amostras dos extratos etanólicos foram utilizadas para a determinação de açúcares solúveis. Os resíduos das centrifugações foram armazenados a  $-12^{\circ}\text{C}$ , para serem utilizados na determinação de amido, conforme Trethewey et al. (1998). Para a determinação dos açúcares solúveis utilizaram-se 270  $\mu\text{L}$  de meio, contendo 20  $\mu\text{L}$  do extrato etanólico, imidazol ( $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 6,9),  $\text{NAD}^{+}$  ( $2 \text{ mmol L}^{-1}$ ), ATP ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e desidrogenase da glicose 6-fosfato ( $10^{-3} \text{ U mL}^{-1}$ ). A determinação dos açúcares solúveis constituiu-se na quantificação da redução do  $\text{NAD}^{+}$  a NADH, a partir da oxidação da glicose-6-fosfato, o qual foi determinado a 340 nm (Trethewey et al., 1998). Para a determinação de glicose, hexocinase ( $1,4 \text{ U mL}^{-1}$ ) foi adicionada ao meio descrito acima (Trethewey et al., 1998) e, posteriormente 5  $\mu\text{L}$  de uma solução saturada de invertase para determinação da sacarose (Trethewey et al., 1998). Em todas as determinações espectrofotométricas dos açúcares solúveis, foi utilizado um leitor de placa de ELISA, (Versamax, Molecular Devices Inc, Sunnyvale, EUA).

### **3.2.2) Experimento 2**

No segundo experimento, não foi possível utilizarem-se as mesmas cultivares de batata, devido à perda de produção dos tubérculos na horta experimental da UFV, em consequência de problemas fitossanitários, bem como à falta de disponibilidade de tubérculos na Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS). Decidiu-se então escolher outras duas cultivares, uma com dormência leve (cultivar Ágata) e outra com dormência profunda (cultivar Vivaldi), que tivessem importância econômica para Minas Gerais.

O segundo experimento foi montado utilizando a mesma metodologia e nas mesmas condições do experimento 1 durante o inverno de 2004. Os tubérculos de batata foram submetidos aos

tratamentos contendo etileno, na concentração de  $4 \text{ mol m}^{-3}$ , durante 60 dias, 1-Metilciclopropeno, à concentração de  $0,5 \text{ mol m}^{-3}$ , ou apenas atmosférico.

O tratamento dos tubérculos com 1-MCP, foi reduzido através da exposição dos mesmos ao produto durante 24 h, no escuro a  $25^{\circ}\text{C}$ , em uma câmara hermética de 186 L, contendo, um pequeno ventilador para homogeneização do ambiente. O gás de 1-MCP foi gerado misturando-se Agrofresh™ (SmartFresh Inc.) e água destilada. No restante do período de armazenamento os tubérculos foram mantidos nos frascos de vidro de  $1600 \text{ cm}^3$ , descritos anteriormente, sob ar atmosférico, até o término do experimento, após 60 dias.

A perda de massa fresca foi avaliada após 40 e 60 dias de armazenamento a baixas temperaturas.

### **3.3) Açúcares Solúveis e Amido**

Aproximadamente 100 mg de tubérculos de batata previamente coletados e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , foram triturados com o auxílio de almofarizes e bastões de porcelana. Em seguida, foram utilizados  $800 \mu\text{L}$  de etanol 80% para a preparação dos extratos. As amostras preparadas foram incubadas a  $80^{\circ}\text{C}$ , por 20 min. Em seguida foram centrifugadas a  $14000 \text{ g}$ . O sobrenadante foi coletado e armazenado a  $-12^{\circ}\text{C}$ . Ao resíduo, foram adicionados  $150 \mu\text{L}$  de etanol 80% para lavagem sendo o material, novamente, centrifugado a  $14000 \text{ g}$ . O sobrenadante foi coletado e armazenado conjuntamente ao sobrenadante da primeira centrifugação. As amostras dos extratos etanólicos foram utilizadas para a determinação de açúcares solúveis. Os resíduos das centrifugações foram armazenados a  $-12^{\circ}\text{C}$ , para serem utilizados na determinação de amido, conforme Trethewey et al. (1998). Para a determinação dos açúcares solúveis utilizaram-se  $270 \mu\text{L}$  de meio, contendo  $20 \mu\text{L}$  do extrato etanólico, imidazol ( $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 6,9),  $\text{NAD}^+$  ( $2 \text{ mmol L}^{-1}$ ), ATP ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e desidrogenase da glicose 6-fosfato ( $10^{-3} \text{ U mL}^{-1}$ ). A determinação dos açúcares solúveis constituiu-se na quantificação da redução do  $\text{NAD}^+$  a NADH, a partir da oxidação da glicose-6-fosfato, o

qual foi determinado a 340 nm (Trethewey et al., 1998). Para a determinação de glicose, hexocinase ( $1,4 \text{ U mL}^{-1}$ ) foi adicionada ao meio descrito acima (Trethewey et al., 1998). Em seguida, adicionou-se isomerase da glicose-6-fosfato ( $1,4 \text{ U mL}^{-1}$ ), para a determinação de frutose e, finalmente  $5 \mu\text{L}$  de uma solução saturada de invertase para determinação da sacarose (Trethewey et al., 1998). A concentração de cada açúcar foi calculada a partir da diferença entre as absorvâncias final e inicial, utilizando-se o coeficiente de extinção de  $6,22 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Trethewey et al., 1998), sendo que se considerou a estequiometria da redução de 1 mol de  $\text{NAD}^+$  para cada mol de glicose e frutose, e de 2 moles de  $\text{NAD}^+$  para cada mol de sacarose.

O amido foi determinado a partir da suspensão do resíduo restante do extrato etanólico. O resíduo foi suspenso em 1 mL de KOH ( $200 \text{ mmol L}^{-1}$ ), homogeneizado e incubado a  $95^\circ\text{C}$ , por 1 h. Em seguida, foram adicionados  $70 \mu\text{L}$  de ácido acético, para neutralização. A solução foi centrifugada por 10 min, a  $14000 \text{ g}$ . Após a extração, o amido foi hidrolizado em meio de reação com volume final de  $150 \mu\text{L}$ , utilizando-se  $100 \mu\text{L}$  do extrato etanólico, tampão citrato ( $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 4,6) e amiloglicosidase ( $420 \text{ U mL}^{-1}$ ). A determinação da concentração de amido foi estimada pela quantidade de glicose formada, em reação idêntica à determinação de glicose dos extratos etanólicos. Em todas as determinações espectrofotométricas dos açúcares solúveis e amido, foi utilizado um leitor de placa de ELISA, (Versamax, Molecular Devices Inc, Sunnyvale, EUA).

### **3.4) Atividades Enzimáticas**

Aproximadamente 300 mg de tubérculos de batata, armazenados a  $-80^\circ\text{C}$ , foram triturados com o auxílio de almofarizes e bastões de porcelana. Em seguida, as amostras foram extraídas em HEPES-KOH ( $50 \text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 7.4),  $\text{MgCl}_2$  ( $5 \text{ mmol L}^{-1}$ ), EDTA ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ), EGTA ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ), DTT ( $5 \text{ mmol L}^{-1}$ ), benzamidina ( $2 \text{ mmol L}^{-1}$ ), ácido  $\epsilon$ -amino-n-capróico ( $2 \text{ mmol L}^{-1}$ ), PMSF ( $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ ), glicerol (10%; v/v) e Triton X-100 (0,1%; v/v) (Geigenberger & Stitt, 1993).

Aplicou-se 1 mL das amostras obtidas em colunas de dessalinização Sephadex G25, equilibradas com a mesma solução utilizada para extração. Em seguida, as amostras foram deslocadas na coluna, após a aplicação de 1 mL da solução de extração. Os eluatos originados, após a passagem nas colunas, foram coletados e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , até serem utilizados nos ensaios enzimáticos.

Foram determinadas as atividades das invertases ácida e alcalina (E.C. 3.2.1.26), fosforilase do amido (E.C. 2.4.1.1), sintase da sacarose-fosfato (SPS; E.C. 2.4.1.14) e a atividade amilolítica total (E.C. 3.2.1.2;  $\alpha$  e  $\beta$ -amilase).

A atividade da sintase da sacarose fosfato (SPS) foi determinada segundo Huber et al. (1989), em 70  $\mu\text{L}$  de meio de reação, contendo MOPS-KOH ( $50\text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 7,4),  $\text{MgCl}_2$  ( $12\text{ mmol L}^{-1}$ ), DTT ( $1\text{ mmol L}^{-1}$ ) e UDP-glicose ( $6\text{ mmol L}^{-1}$ ). Para o ensaio não seletivo ( $V_{\text{máx}}$ ), glicose-6-fosfato ( $34\text{ mmol L}^{-1}$ ) e frutose-6-fosfato ( $12\text{ mmol L}^{-1}$ ) foram adicionados ao meio de reação. No ensaio seletivo ( $V_{\text{sel}}$ ), adicionou-se glicose-6-fosfato ( $6\text{ mmol L}^{-1}$ ), frutose-6-fosfato ( $2\text{ mmol L}^{-1}$ ) e fósforo inorgânico ( $5\text{ mmol L}^{-1}$ ). Para ambos os ensaios, utilizaram-se 50  $\mu\text{L}$  do extrato dessalinizado. Após 20 min, a reação foi paralisada com 70  $\mu\text{L}$  de KOH ( $5\text{ mol L}^{-1}$ ). Em seguida, adicionou-se 1 mL de antrona (0,15%) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $27\text{ mol L}^{-1}$ ) em cada microtubo. Os microtubos foram incubados, por 20 min, a  $40^{\circ}\text{C}$ . A determinação da atividade da SPS foi estimada pela quantificação de sacarose formada através da leitura da absorvância das amostras à 620 nm, utilizando-se uma curva da calibração de sacarose.

A atividade da invertase ácida foi determinada conforme Geigenberger & Stitt (1993), em 100  $\mu\text{L}$  de meio de reação contendo tampão acetato ( $60\text{ mmol L}^{-1}$ ; pH 4,7), sacarose ( $100\text{ mmol L}^{-1}$ ) e 60  $\mu\text{L}$  de extrato dessalinizado. Após 3 h, a  $37^{\circ}\text{C}$ , a reação foi neutralizada com 15  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de sódio (pH 7,2), e interrompida por fervura durante 5 min. Determinou-se a concentração de glicose formada, após a reação, conforme foi descrito para a determinação de açúcares solúveis. A atividade da invertase alcalina foi determinada conforme Geigenberger & Stitt (1993). A 100  $\mu\text{L}$  de meio de reação, adicionaram-se 80  $\mu\text{L}$  de

extrato dessalinizado, HEPES-KOH (100 mmol L<sup>-1</sup>; pH 7,5) e sacarose (100 mmol L<sup>-1</sup>). Após 1 h, a 37°C, a reação foi interrompida por fervura durante, 5 min. Em seguida, tomaram-se 10 µL da solução do meio de reação para a determinação de glicose, como foi descrito para a determinação de açúcares solúveis.

A atividade da fosforilase do amido foi determinada conforme Sweetlove et al. (1996). Para tanto, 10 µL de extrato dessalinizado foram adicionados em um meio de reação contendo tampão HEPES-KOH (50 mmol L<sup>-1</sup>; pH 7,4), MgCl<sub>2</sub> (5 mmol L<sup>-1</sup>), NAD<sup>+</sup> (0,25 mmol L<sup>-1</sup>), glicose-1,6-bisfosfato (0,024 mmol L<sup>-1</sup>), fosfoglicomutase (2 U mL<sup>-1</sup>), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (4,5 mmol L<sup>-1</sup>) e desidrogenase da glicose-6-fosfato (1,4 U mL<sup>-1</sup>) perfazendo um volume de 300 µL. A reação foi iniciada com a adição de amilopectina (0,0025% p/v). A atividade enzimática foi medida pela alteração na absorvância das amostras a 340 nm.

A atividade amilolítica total ( $\alpha$ - e  $\beta$ -amilases) foi determinada conforme Robinson et al. (1988). Para tanto, 80 µL do extrato dessalinizado foram adicionados a um meio de reação contendo solução de amido (500 µg mL<sup>-1</sup>) e CaCl<sub>2</sub> (400 µg mL<sup>-1</sup>), perfazendo um volume de 850 µL. As misturas foram incubadas, por 20 min, a 37°C. Em seguida foram adicionados 100 µL de lugol e 500 µL de água sendo as absorvâncias lidas em espectrofotômetro a 620 nm. Como padrão, foi utilizada curva de calibração preparada com amido.

### **3.5) Delineamento Experimental**

O delineamento experimental utilizado nos dois experimentos foi inteiramente casualizado. O primeiro experimento foi realizado com quatro tratamentos, em esquema fatorial 2x2 (duas cultivares versus tratamento com e sem etileno), utilizando as cultivares Atlantic e Pérola. O segundo experimento foi realizado com seis tratamentos, em esquema fatorial 2x3 (duas cultivares versus tratamento com e sem etileno, e com 1-MCP). Cada tratamento possuía cinco repetições, sendo a unidade experimental representada por um frasco contendo cinco batatas. A determinação da

significância estatística das diferenças entre as médias em ambos experimentos foi feita com teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

## 4) RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1) Experimento 1

#### 4.1.1) Efeito do Etileno na Fisiologia Pós-Colheita das Cultivares Atlantic e Pérola

##### 4.1.1.1) Efeito do Etileno nas Brotações

A brotação dos tubérculos na cultivar Atlantic, no tratamento sem etileno, iniciou-se somente aos 105 dias, e aos 125 dias, no tratamento com etileno (Figuras 2 e 3). Portanto, observa-se que o etileno retardou em 20 dias o início da brotação.

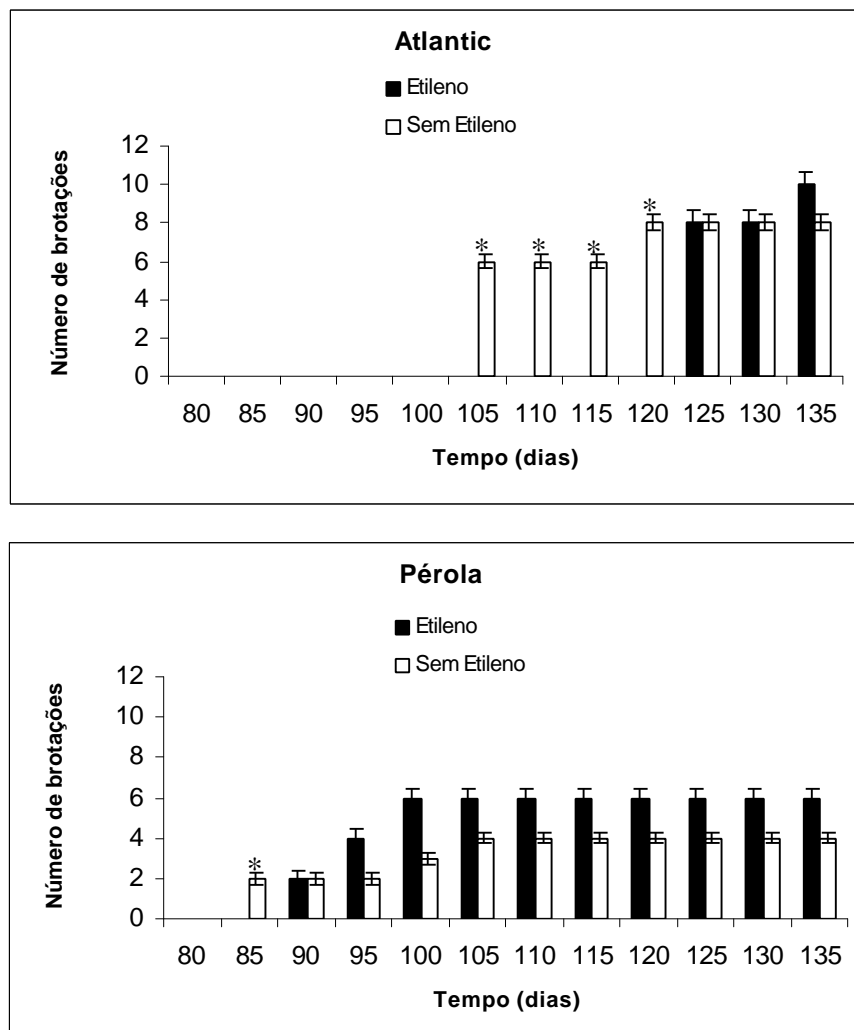


Figura 2. Efeito do etileno no número médio de brotações, em tubérculos de batata de diferentes cultivares, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ .

Na cultivar Pérola que apresenta menor período de dormência, a brotação iniciou-se aos 85 dias, no tratamento sem etileno, e aos 90

dias, no tratamento com etileno, resultando em um atraso de apenas cinco dias no início da brotação (Figuras 2 e 3). Portanto, a aplicação de etileno mostrou-se mais eficiente no prolongamento da dormência da cultivar Atlantic. O comportamento observado no diâmetro das brotações em ambas as cultivares foi bastante similar ao número de brotações.

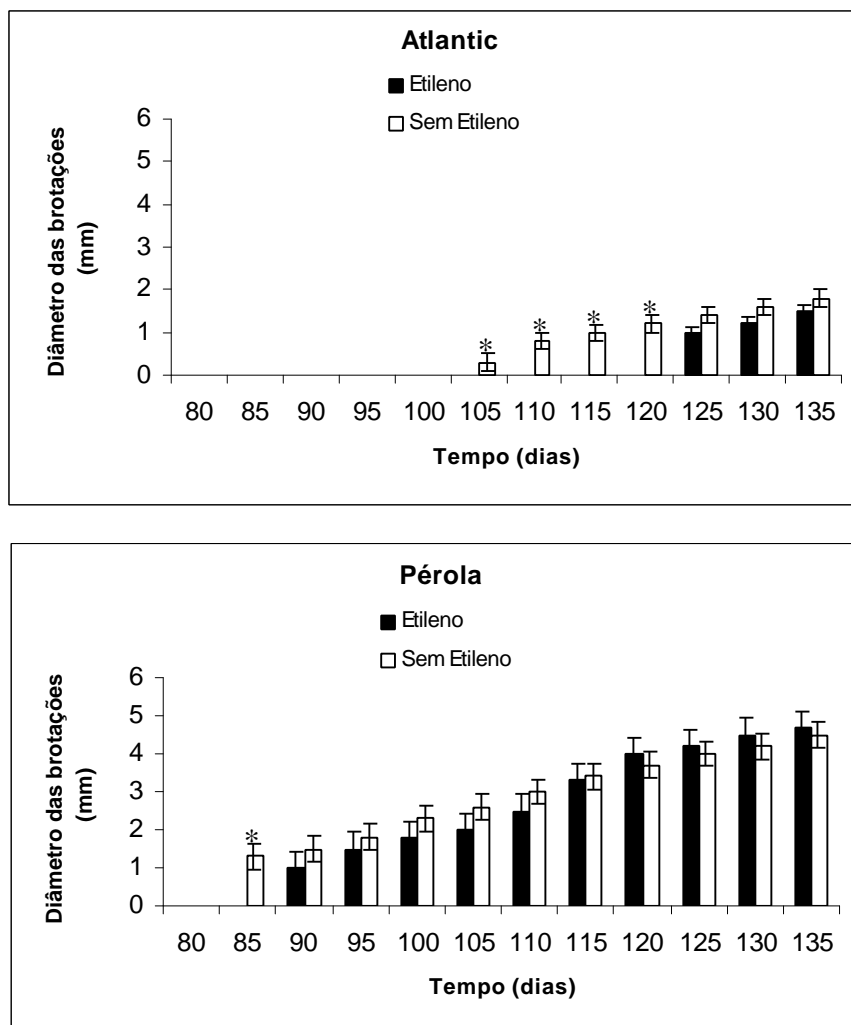


Figura 3. Efeito do etileno no diâmetro médio das brotações em tubérculos de batata de diferentes cultivares ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicados por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ .

Neste trabalho, a aplicação de etileno prolongou a dormência dos tubérculos da cultivar Atlantic. Apesar de não haver diferença significativa no comprimento médio e no diâmetro médio das brotações, visualmente o desenvolvimento das brotações foi afetado pelo etileno. As brotações se apresentaram sob a forma de um tecido caloso desorganizado (Figura 4). O acúmulo de etileno, observado em respostas morfogênicas, tem efeito

adverso no desenvolvimento de diversas plantas (Kumar et al., 1998). O fitorregulador, em altas concentrações, afeta a diferenciação, o desenvolvimento, a morfologia e o crescimento de diversas plantas. A causa principal dessas modificações morfológicas está ligada as interações altamente complexas e ainda pouco compreendida entre reguladores de crescimento. Sabe-se que a aplicação de auxinas e citocininas (Gude & van der Plas, 1985) pode estimular a produção do gás que resultaria em um aumento nos níveis de ácido abscísico (Grossmann, 2000) que é considerado um inibidor endógeno de crescimento. Possivelmente a aplicação de etileno levou a um desequilíbrio entre os reguladores de crescimento dos tubérculos de batata o que resultou na desorganização do tecido das brotações. A inibição do desenvolvimento das brotações também foi visível na cultivar Pérola.

Diversos estudos demonstraram que além de desequilibrar os níveis dos fitorreguladores, o tratamento com etileno pode influenciar a dormência de tubérculos de batata, podendo estender (Cvikrova et al., 1994) ou quebrar (Rylski et al., 1974) a dormência do tubérculo. Muitos indicam que a aplicação continuada de etileno pode resultar na supressão do crescimento das brotações (Elmer 1932; Rylski et al. 1974; Timm et al. 1986; Prange et al. 1998). Outros indicam que o etileno pode promover o acúmulo de glicoalcalóides (Bergenstrahle et al., 1992), compostos tóxicos para o organismo humano (Slanina, 1990) e que certamente inviabilizariam o tratamento. Pode estimular a respiração (Reid & Pratt, 1972) causando a degradação de carboidratos reduzindo o peso dos tubérculos e tendo como conseqüência a depreciação do produto.



Figura 4. Efeito do etileno na morfologia das brotações em tubérculos de batata de diferentes cultivares, armazenados a 15°C. Da esquerda para direita: Atlantic com etileno (AC), Atlantic sem etileno (AS), Pérola com etileno (PC) e Pérola sem etileno (PS).

Os estudos realizados por Prange et al. (1998) examinaram o impacto do tratamento com etileno por longo período na supressão das brotações e bem como a avaliação comercial desse tratamento como uma alternativa ao tratamento com cloropropano (CIPC). Os estudos mostraram que o tratamento continuado com etileno ( $4 \text{ mol m}^{-3}$ ) de batatas “Russet Burbank”, resultou em um atraso da iniciação da brotação, bem como uma redução na massa das brotações, em comparação com os tubérculos não tratados. Além disso, foi observada uma redução no número de brotações nos tubérculos em que se aplicou etileno.

#### **4.1.1.2) Produção de Etileno**

A produção de etileno foi maior na cultivar com baixo nível de dormência (Pérola), do que na cultivar com nível de dormência maior (Atlantic) aos 45, 85 e 105 dias de armazenamento. Aumentos significativos antecederam ao início da brotação, alcançando maiores níveis posteriormente a brotação, acompanhando o desenvolvimento dos brotos (Figura 5). Mesmo a cultivar Pérola produzindo mais etileno que a cultivar Atlantic a quantidade é muito inferior àquela requerida para a inibição da brotação. A aplicação do gás foi  $10^{12}$  vezes maior que a sua produção nos tubérculos de batata. Sabe-se que o etileno desempenha um papel importante na regulação do período de dormência em tubérculos de batata. Estudos utilizando inibidores da ação do etileno promoveram a quebra de dormência e brotação prematura dos tubérculos de batata (Suttle, 1998). De acordo com Suttle (1998), os tubérculos não tratados de batata produzem quantidades limitadas de etileno. Em tubérculos dormentes a produção de etileno é extremamente baixa durante o período de armazenamento, resultado similar ao observado no presente trabalho principalmente para a cultivar Atlantic. A crescente produção de etileno, observada em ambas cultivares, pode ser um indicativo da participação do fitormônio no início da brotação. O mesmo resultado apresentado neste trabalho foi observado por Suttle (2003), onde foi visto que o início da brotação em tubérculos não-dormentes foi acompanhado por um aumento marcante na taxa da

produção do etileno, embora o significado fisiológico deste aumento seja desconhecido. Visto que os níveis endógenos de etileno relacionaram-se com o início da brotação, era de se esperar uma maior produção de etileno na cultivar Pérola (dormência leve) comparativamente a cultivar Atlantic (dormência profunda).

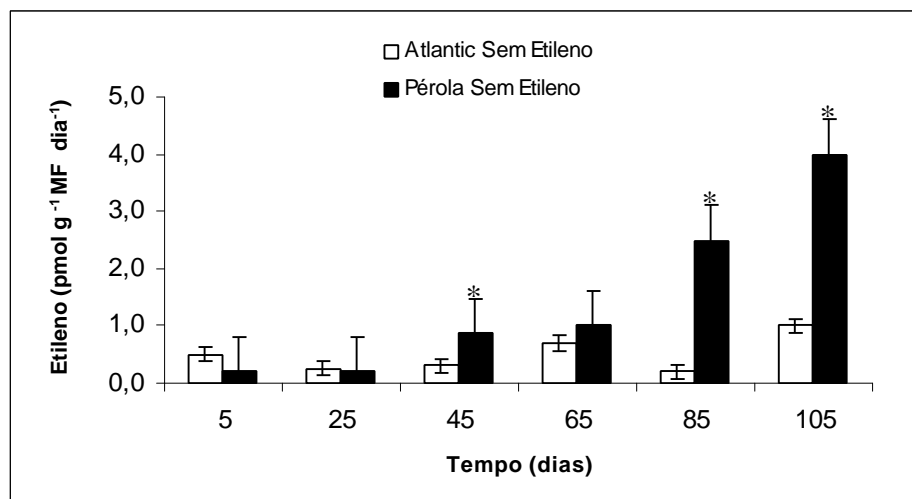


Figura 5. Produção média de etileno em tubérculos de batatas de diferentes cultivares, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo entre as cultivares, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ .

#### 4.1.1.3) Efeito do Etileno nas Concentrações de Glicose e Sacarose nos Tubérculos

A aplicação de etileno não afetou significativamente as concentrações de glicose (Figura 6) na cultivar Atlantic. Diferenças significativas foram observadas apenas na cultivar Pérola, em dois períodos específicos de armazenamento (65 e 105 dias). Sendo assim, não foi possível relacionar o teor de glicose à aplicação de etileno, pois a variação ocorreu tanto no controle quanto no tratamento com etileno. Embora não tenham apresentado diferenças significativas consistentes, as médias de ambas cultivares, obtidas na presença do etileno, foram em sua maioria, superiores as observadas na ausência desse fitorregulador. Durante o armazenamento de tubérculos observou-se uma degradação acelerada do amido e acúmulo tanto de hexoses provenientes da degradação da sacarose quanto de carboidratos intermediários da via glicolítica (Hajirezaei et al., 2003). Esses açúcares podem ser utilizados para a manutenção da respiração dos tubérculos

durante o período de armazenamento, uma vez que se observa um aumento moderado da taxa respiratória, além de poder contribuir para o desenvolvimento das brotações.

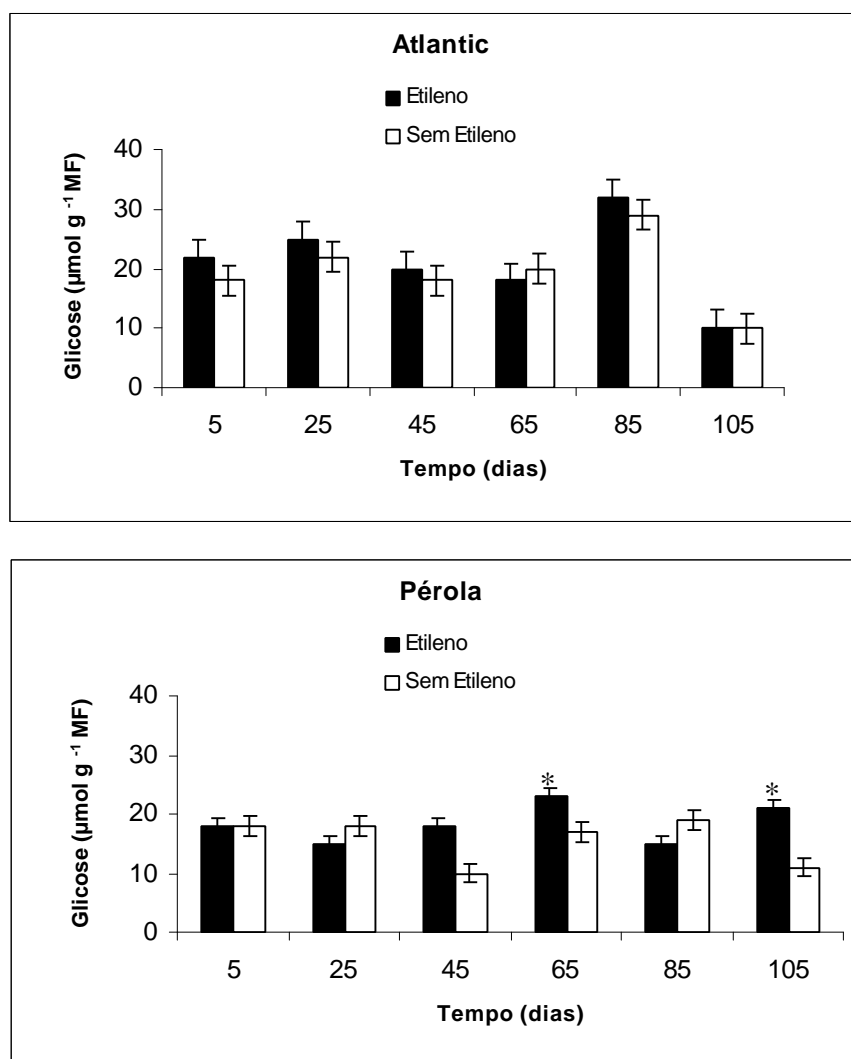


Figura 6. Efeito do etileno nas concentrações médias de glicose, em tubérculos de batata de diferentes cultivares, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ .

Paralelamente, foi observada uma variação nas concentrações de sacarose nos tubérculos de ambas as cultivares (Figura 7) apresentando valores significativos aos 25 e 45 dias de armazenamento para a cultivar Atlantic e 45 e 65 dias para a cultivar Pérola tratados como etileno. A variação foi mais proeminente na cultivar Atlantic em média 200 vezes maior que na cultivar Pérola. Não foi possível realizar qualquer inferência

sobre o efeito do etileno no metabolismo de açúcares apenas com essas informações.

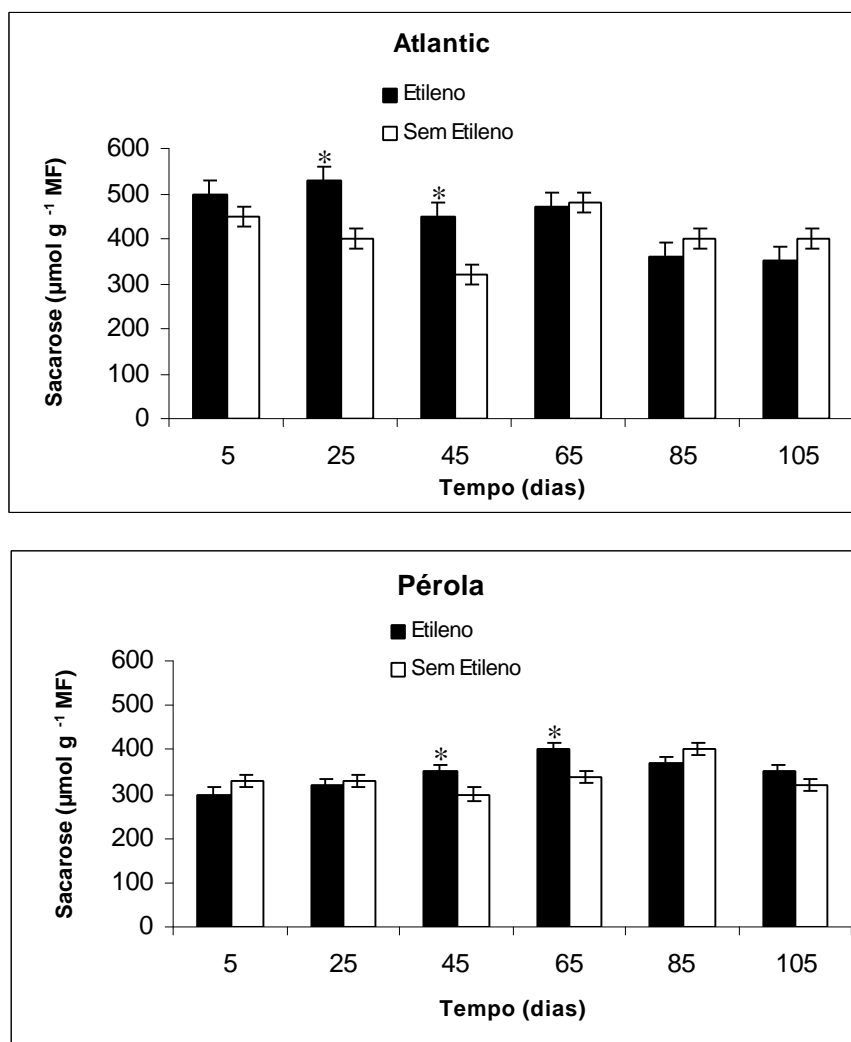


Figura 7. Efeito do etileno nas concentrações médias de sacarose em tubérculos de batata de diferentes cultivares, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicados por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ .

Durante a brotação de tubérculos da batata, o metabolismo celular desloca-se da síntese de complexos compostos de reserva para a degradação e utilização de compostos mais simples (Hajirezaei et al. 2003) para o desenvolvimento dos brotos. No processo, a quebra do amido conduz à formação de açúcares solúveis. Nesse período, a degradação do amido é detectável e a fase inicial do crescimento das brotações é iniciada pela sacarose pré-formada em tubérculos armazenados (Sonnewald, 2001; Hajirezaei et al., 2003).

Os resultados do primeiro experimento permitiram verificar que a aplicação de etileno pode provocar uma modesta alteração no período de dormência dos tubérculos. Além disso, o etileno pareceu inibir o desenvolvimento das brotações de modo semelhante ao observado em Prange et al. (1998). Rilski et al. (1974) também observaram o efeito do etileno sobre tubérculos de batata armazenados. Eles constataram um efeito dicotômico do etileno na fisiologia dos tubérculos. O etileno aplicado por curto período atuou na quebra da dormência, estimulando a brotação, enquanto o etileno aplicado por um longo período inibiu o início da brotação nos tubérculos armazenados. Além disso, não houve grandes alterações nos níveis de açúcares, apenas um ligeiro acúmulo de carboidratos.

O etileno endógeno pode estar relacionado também com a inibição de brotações em associação com outros fitorreguladores (Suttle, 2003). Estes resultados sugerem que a aplicação de 1-MCP, inibidor da ligação do etileno aos sítios de reconhecimento celular, pode resultar no retardamento da brotação, razão pela qual foi produzido o segundo experimento, verificar-se-á a ação deste composto.

## **4.2) Experimento 2**

### **4.2.1) Efeito do Etileno e do 1-Metilciclopropeno na Fisiologia Pós-Colheita das Cultivares Ágata e Vivaldi**

A perda de massa fresca dos tubérculos, aos 40 dias de armazenamento, foi maior na cultivar Ágata, embora sem diferenças entre os tratamentos (Figura 8). Essa perda de massa pode estar ligada à mais rápida brotação da cultivar, uma vez que o surgimento de brotações, nessa cultivar, iniciou-se aos cinco dias de armazenamento. O processo de brotação resultou em maiores taxas respiratórias e da transpiração dos seus tubérculos, visto que as barreiras à difusão dos gases são menores nos tecidos jovens das brotações.

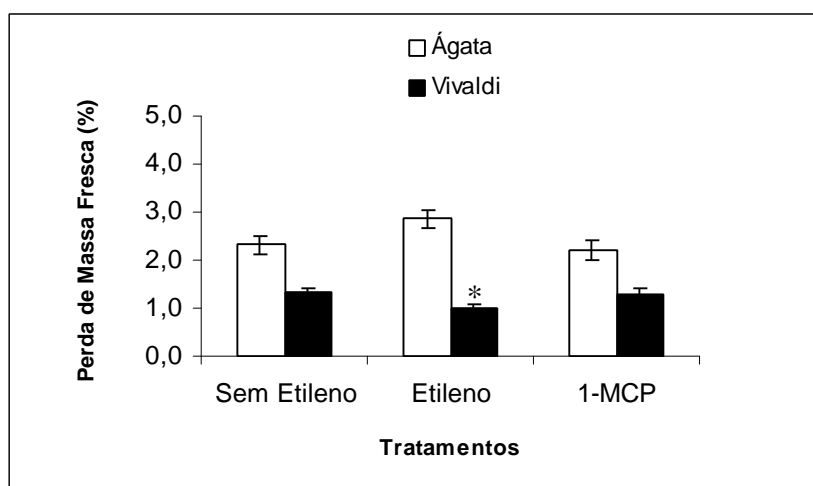


Figura 8. Perda média de massa fresca em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi, submetidas a diferentes tratamentos, após 40 dias de armazenamento a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para a mesma cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ .

Na cultivar Vivaldi, observou-se (Figura 8) que os tubérculos expostos ao etileno tiveram uma perda média de massa fresca significativamente menor (1%) que os demais tubérculos nos tratamentos com 1-MCP e no controle. Nestes tratamentos, as perdas ficaram próximas de 1,5%.

Aos 60 dias de armazenamento, os tubérculos de batata continuaram a mesma tendência de perda de massa fresca (Figura 9), embora uma acentuação da perda com o aumento do período de armazenamento tenha ocorrido. A cultivar Ágata apresentou, novamente, as maiores perdas de massa fresca, perdas essas que foram similares em todos os tratamentos. Novamente, a aplicação de etileno reduziu, significativamente, essas perdas na cultivar com maior período de dormência (cv. Vivaldi). O 1-MCP, independentemente do tempo de armazenamento, não alterou significativamente a perda de massa fresca. A brotação é a causa principal das perdas durante o armazenamento de batatas. Ela reduz a massa dos tubérculos de batata devido a evaporação intensa da água das superfícies das brotações além de diminuir o número de batatas comerciáveis (Afek & Warshavsky, 1998).

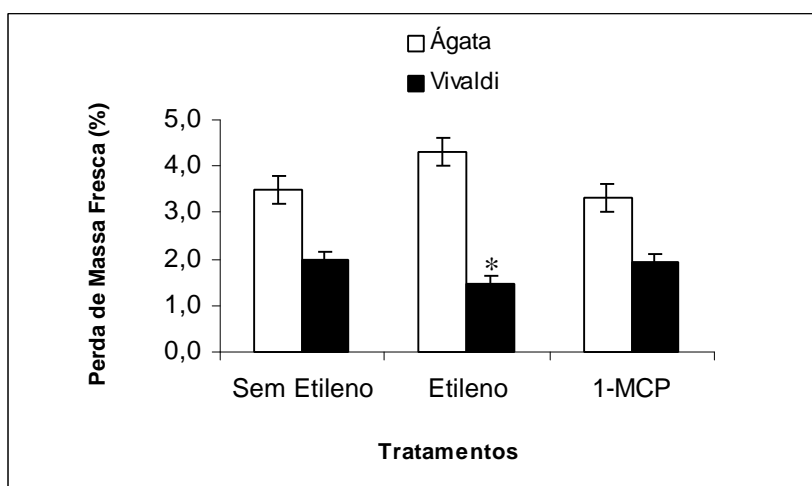


Figura 9. Perda média de massa fresca em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi, submetidas a diferentes tratamentos, após 60 dias de armazenamento a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para a mesma cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ .

#### 4.2.1.1) Efeito do Etileno nas Brotações

Uma rápida e inesperada brotação dos tubérculos foi observada no segundo experimento (Tabela 1). A definição da característica de dormência profunda para a cultivar Vivaldi, e de dormência leve, para a cultivar Ágata, feita pela EPAMIG, baseia-se no tempo de brotação observado quando as cultivares são armazenadas à temperatura de 2°C. Não era, até então, conhecido o comportamento da dormência dos tubérculos dessas cultivares, sob armazenamento a 15°C. A manutenção da mesma temperatura do experimento 1 (15 °C), foi definida visando possibilitar maiores comparações entre os dois diferentes experimentos.

Tabela 1. Número médio de brotações em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Asteriscos indicam diferença significativa entre as médias dos tratamentos, em relação ao tratamento sem etileno, para a mesma cultivar ( $P < 0,05$ ) valor  $\pm$  indica o erro-padrão da média  $n = 5$ . ND significa valor não determinado.

Cultivar	Tratamento	Número médio de brotações				
		Tempo (dias)				
		5	20	35	40	60
Ágata	Etileno	8,0 $\pm$ 0,2	ND	ND	8,0 $\pm$ 0,2	8,0 $\pm$ 0,2
	Sem Etileno	8,0 $\pm$ 0,2	ND	ND	8,0 $\pm$ 0,2	8,0 $\pm$ 0,2
	1-MCP	8,0 $\pm$ 0,2	ND	ND	8,0 $\pm$ 0,2	8,0 $\pm$ 0,2
Vivaldi	Etileno	ND	* 3,0 $\pm$ 0,3	ND	3,0 $\pm$ 0,3	3,0 $\pm$ 0,3
	Sem Etileno	ND	ND	2,0 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,3
	1-MCP	ND	ND	2,0 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,2

A cultivar Ágata apresentou brotação aos cinco dias de armazenamento, o que ocorreu independentemente da aplicação de etileno e 1-MCP. A cultivar Vivaldi apresentou brotação entre 15 e 30 dias mais tarde que a cultivar Ágata, dependendo do tratamento aplicado, indicando uma maior dormência dos tubérculos dessa cultivar.

Os períodos requeridos para a brotação, nas cultivares Ágata e Vivaldi, foram muito inferiores àqueles observados no primeiro experimento. Naquele experimento, foram necessários 105 dias para haver brotação na cultivar de dormência profunda (entre 20 e 35 dias no segundo experimento), e de 85 dias para a cultivar de dormência leve (cinco dias neste experimento). Embora sejam genótipos diferentes, a dimensão dessas variações sugere que outros fatores também possam ser responsáveis por tais diferenças. Talvez uma importante diferença seja de que os tubérculos utilizados no primeiro experimento foram provenientes de uma safra de inverno e de um cultivo sob uma latitude maior (Pelotas - 31° 46' 19" S), sendo sujeitos a menores irradiâncias e temperaturas. Ao contrário, os tubérculos utilizados no segundo experimento foram provenientes do cultivo de primavera, em uma latitude menor (Sul de MG - 22° 13' 48" S), sendo então sujeitos a temperaturas e irradiâncias bem mais elevadas. Segundo McGee et al. (1987, 1988), tanto a temperatura quanto a irradiância influenciam o desenvolvimento das brotações. Altas temperaturas aceleram o processo de envelhecimento fisiológico dos tubérculos e conseqüentemente reduzem o período de dormência. Em um experimento realizado por McGee et al. (1987) observou-se que houve um crescimento linear das brotações a medida em que se aumentou a temperatura. Sendo assim, a temperatura afeta o período de dormência dos tubérculos. Quanto menores forem as temperaturas, menor é o desenvolvimento das brotações. A luz afeta diretamente a taxa de crescimento das brotações após o término da dormência. O fator principal é a exposição luminosa recebida pelo tubérculo, o que irá determinar a magnitude de supressão das brotações. A inibição está muito mais relacionada com a energia recebida do que com a duração ou a intensidade luminosa (McGee et al. 1987, 1988). Quanto menores forem as irradiâncias, menor é o desenvolvimento das

brotações. Sabe-se que a percepção do fotoperíodo está ligada intimamente ao período de dormência dos tubérculos de batata ainda durante o processo de tuberização (Coleman & Coleman, 2000), mas o efeito da luz sobre os tubérculos de batata ainda é obscuro. Possivelmente o fator determinante para a diferença no período de dormência entre as cultivares do primeiro experimento (Atlantic e Pérola) e as cultivares do segundo experimento foi a temperatura.

Outro efeito observado neste experimento, que contrasta com os resultados do primeiro, foi a ineficácia do etileno em postergar a brotação, na cultivar de maior dormência (Vivaldi), como, em contraste, foi observado com a cultivar Atlantic. Este comportamento pode estar relacionado tanto à fatores genotípicos na resposta ao etileno, como ligada as condições ambientais de produção dos tubérculos utilizados nos dois experimentos.

Nas Tabelas 2 e 3, é possível verificar que o etileno e o 1-MCP afetaram o desenvolvimento das brotações de ambas cultivares.

Tabela 2. Comprimento médio das brotações em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Asteriscos indicam diferença significativa entre as médias dos tratamentos em relação ao tratamento sem etileno para a mesma cultivar (P<0,05) valor ± indica o erro-padrão da média n = 5. ND significa valor não determinado.

		Comprimento médio das brotações (mm)				
Cultivar	Tratamento	Tempo (dias)				
		5	20	35	40	60
Ágata	Etileno	* 0,2 ± 0,0	ND	ND	* 4,3 ± 0,5	* 9,8 ± 0,2
	Sem Etileno	0,6 ± 0,0	ND	ND	8,4 ± 0,3	19,1 ± 0,2
	1-MCP	* 0,9 ± 0,0	ND	ND	8,7 ± 0,3	* 16,8 ± 0,2
Vivaldi	Etileno	ND	0,0 ± 0,0	ND	* 4,9 ± 0,4	* 9,5 ± 0,4
	Sem Etileno	ND	ND	0,0 ± 0,0	3,1 ± 0,2	14,5 ± 0,3
	1-MCP	ND	ND	0,0 ± 0,0	3,7 ± 0,2	* 18,2 ± 0,2

Tabela 3. Diâmetro médio das brotações em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Asteriscos indicam diferença significativa entre as médias dos tratamentos em relação ao tratamento sem etileno para a mesma cultivar (P<0,05) valor ± indica o erro-padrão da média n = 5. ND significa valor não determinado.

Cultivar	Tratamento	Diâmetro médio das brotações (mm)				
		Tempo (dias)				
		5	20	35	40	60
Ágata	Etileno	* 0,3 ± 0,0	ND	ND	* 4,4 ± 0,2	* 9,8 ± 0,2
	Sem Etileno	0,5 ± 0,0	ND	ND	8,4 ± 0,1	19,1 ± 0,0
	1-MCP	* 1,0 ± 0,0	ND	ND	8,7 ± 0,3	* 16,8 ± 0,2
Vivaldi	Etileno	ND	0,0 ± 0,0	ND	2,7 ± 0,2	* 4,70 ± 0,0
	Sem Etileno	ND	ND	0,0 ± 0,0	2,6 ± 0,2	6,55 ± 0,2
	1-MCP	ND	ND	0,0 ± 0,0	3,4 ± 0,4	6,35 ± 0,1

Como foi observado no primeiro experimento, também nas cultivares Ágata e Vivaldi, foi possível verificar um efeito inibitório do etileno sobre o crescimento das brotações (na cultivar Ágata, em todas as análises, e na cultivar Vivaldi, na análise realizada aos 60 dias). O 1-MCP aumentou o comprimento das brotações aos 5 dias de armazenamento, na cultivar Ágata, ao passo que diferenças significativas, para o genótipo com maior dormência (Vivaldi) foram verificadas na análise realizada aos 60 dias.

Assim, como foi observado para os comprimentos médios, os diâmetros médios das brotações dos tubérculos da cultivar Ágata, expostos ao etileno, também apresentaram os valores menores ao longo de todo o período de armazenamento analisado (Tabela 3), o que segue a mesma tendência observada no primeiro experimento, com outros genótipos. Pode-se observar que o 1-MCP apresentou uma tendência, ainda que bastante sutil, oposta ao etileno, embora as diferenças tenham sido somente significativas aos 60 dias de armazenamento. O aspecto visual das brotações da cultivar Ágata, em consequência da aplicação de 1-MCP, é observado na Figura 10. Os dados das Tabelas 2 e 3, juntamente com os resultados do primeiro experimento, indicam que o etileno retarda o crescimento das brotações.

O efeito antagônico do 1-MCP ao etileno, como foi observado nas Tabelas 2 e 3, sugere que o etileno endógeno pode estar envolvido na inibição do desenvolvimento das brotações. Suttle (2003) apresentou

resultados similares trabalhando com inibidores de etileno. Esse autor observou que o etileno endógeno pode ter envolvimento na inibição de brotações, uma vez que tubérculos armazenados e tratados com 1-MCP tiveram suas brotações inibidas.

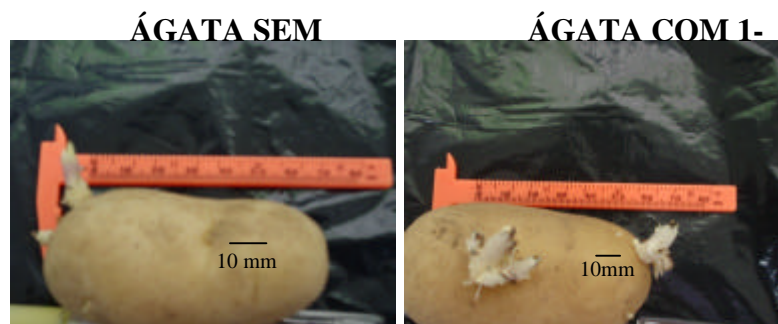


Figura 10. Efeito do 1-MCP ( $0,5 \text{ mol m}^{-3}$ ) na morfologia das brotações em tubérculos de batata da cultivar Ágata em relação ao tratamento sem etileno. A barra marcada na região central das figuras representa 10 mm.

#### 4.2.1.2) Efeito do Etileno na Taxa Respiratória

A respiração dos tubérculos da cultivar Ágata foi mais acentuada durante as duas primeiras análises (cinco e 10 dias de armazenamento), não havendo, entretanto, diferença entre os tratamentos (Figura 11). Essa taxa respiratória mais alta correspondeu ao período inicial das brotações da cultivar. Após a brotação, observa-se uma oscilação na taxa respiratória ao longo do período de armazenamento analisado.

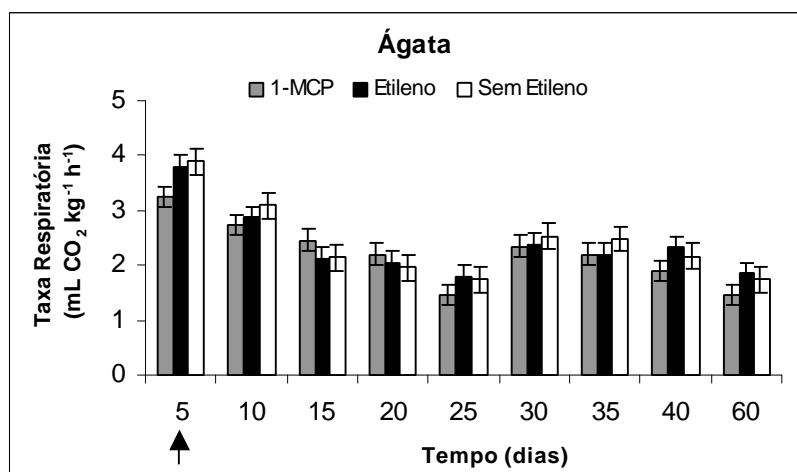


Figura 11. Taxa respiratória média em tubérculos de batata da cultivar Ágata submetida a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ . A seta indica o início das brotações no tratamento com etileno.

Na cultivar Vivaldi, um aumento significativo da taxa respiratória foi observado nas análises realizadas no 25º e no 30º dia no tratamento com etileno (Figura 12). Houve uma diferença de aproximadamente 10 dias entre os picos respiratórios das diferentes cultivares. Ao contrário do observado com a cultivar Ágata, o etileno resultou em aumento significativo da taxa respiratória, o que foi, entretanto, observado somente nas análises com tubérculos armazenados por 25 e 30 dias.

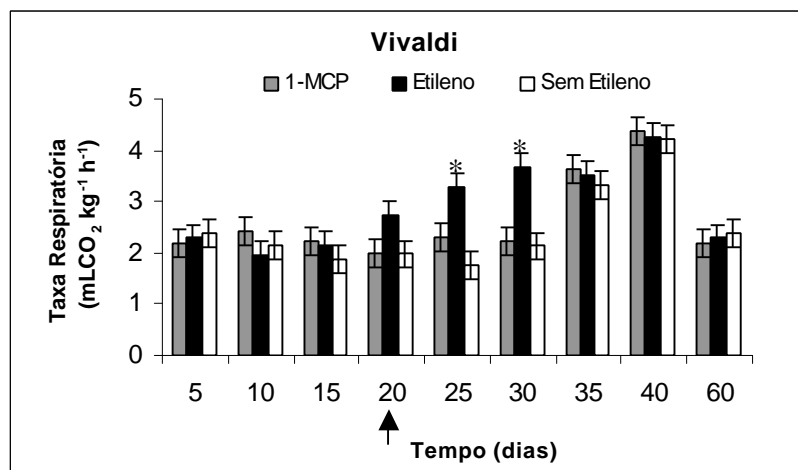


Figura 12. Taxa respiratória média em tubérculos de batata da cultivar Vivaldi submetida a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ . A seta indica o início das brotações no tratamento com etileno.

Comparando-se as médias das cultivares em cada tempo no tratamento sem etileno, observou-se uma maior respiração aos cinco e 10 dias de armazenamento na cultivar Ágata. Esse período relacionou-se ao surgimento de um número elevado de brotações nessa cultivar, bem como maiores valores, de comprimento médio e de diâmetro médio das brotações. Posteriormente, observou-se uma constância na taxa respiratória na cultivar Ágata, no período subsequente às brotações. Aos 35 dias de armazenamento, observou-se um aumento considerável da taxa respiratória na cultivar Vivaldi. Nesse período, o número médio, o comprimento médio e o diâmetro médio das brotações na cultivar foram inferiores aos encontrados na cultivar Ágata. Provavelmente, estes resultados relacionam-se à brotação precoce na cultivar Ágata, em relação à brotação tardia da cultivar Vivaldi.

Embora uma tendência de redução na taxa respiratória em resposta ao 1-MCP, tenha sido observada na cultivar Vivaldi (Figura 12, análises com 15, 25 e 30 dias de armazenamento), as diferenças em relação ao etileno não foram significativas apresentando um comportamento transitório, o que dificulta qualquer inferência ou interpretação fisiológica.

#### **4.2.1.3) Produção de Etileno e Efeito do 1-Metilciclopropeno**

Durante a maior parte do período de armazenamento, a produção de etileno pelos tubérculos tratados com 1-MCP foi menor que no tratamento sem etileno, na cultivar Vivaldi. Na cultivar Ágata não foi observada qualquer diferença significativa ao longo do período de armazenamento (Figura 13).

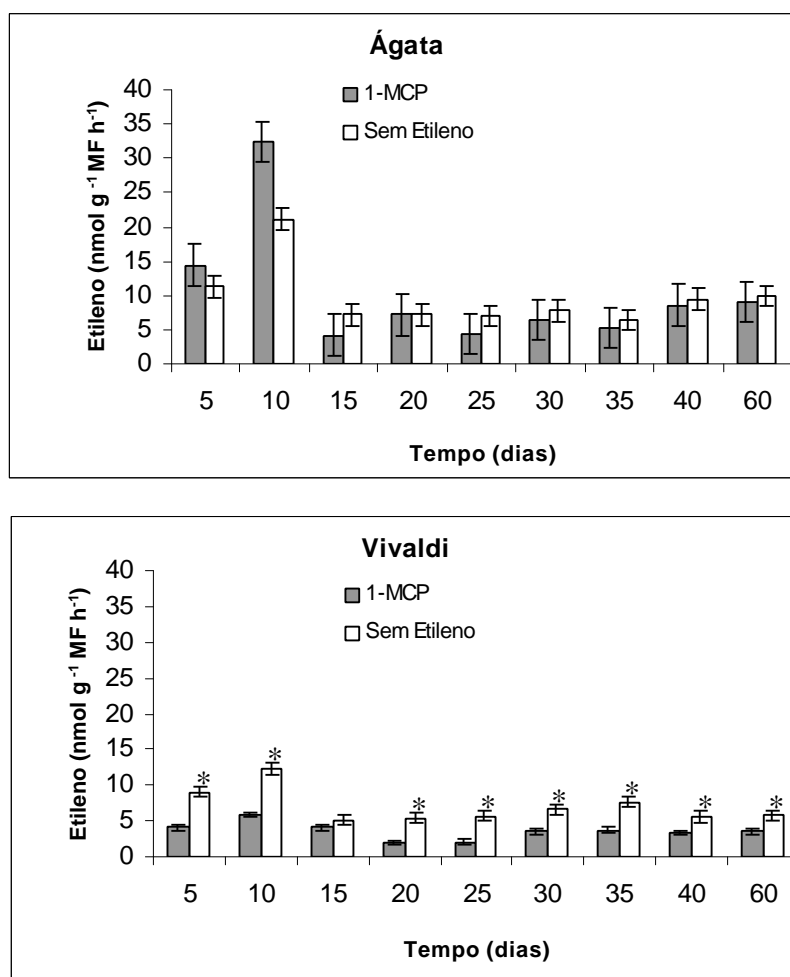


Figura 13. Produção média de etileno em tubérculos de batatas das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ .

O 1-MCP atua como inibidor da ação do etileno obstruindo os sítios de ligação dos receptores dos sítios de ligação do hormônio competitivamente (Sisler & Serek, 1997). Além disso, há o bloqueio das proteínas ligantes do etileno, impedindo que haja a associação etileno-receptor que, por sua vez, desencadearia uma série de respostas fisiológicas ligadas ao fitorregulador (Sisler & Serek, 1997; Wild et al., 1999; Hall et al., 2003). O 1-MCP também apresenta um efeito sobre a produção autocatalítica do etileno. Esse efeito se deve a mudanças na expressão de genes da sintase do 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC), LE-ACS2 e LE-ACS4 (Rottmann et al., 1991; Lincoln et al., 1993) e da oxidase do ACC, LE-ACO1 (Barry et al., 1996) que catalisam a reação do S-adenosilmetionina ao ACC, e do ACC ao etileno, respectivamente. A

expressão desses três genes é altamente regulada por um mecanismo de feedback positivo (Nakatsuka et al., 1997). O acúmulo de transcritos desses três genes está ligado ao aumento da produção de etileno em tecidos vegetais. Durante a aplicação de 1-MCP há a expressão de um gene, LE-ACS6 (Nakatsuka et al., 1998), que é regulado por um mecanismo de feedback negativo e que atua diretamente na produção de etileno levando a uma inibição dos genes LE-ACS2 e LE-ACS4 (Nakatsuka et al., 1998). Da mesma forma que os genes da sintase da ACC são inibidos, através do mecanismo de feedback negativo, o gene da oxidase do ACC também é inibido, porém de uma forma ainda não tão bem compreendida (Nakatsuka et al., 1998). Esse mecanismo leva a uma redução nos níveis endógeno de etileno.

Na cultivar Ágata, nas análises realizadas aos 5 e 10 dias, na ausência de 1-MCP, a taxa de produção de etileno, superou significativamente a taxa observada da cultivar Vivaldi em, 18 a 43%, durante aquele período de armazenamento. Para o tratamento com 1-MCP, a produção de etileno na cultivar Ágata também excedeu em 72 e 80% a produção observada na cultivar Vivaldi, nas análises realizadas aos 5 e 10 dias de armazenamento, respectivamente. A produção de etileno com a aplicação de 1-MCP, na cultivar Ágata, continuou, quase sempre, bem maior do que aquela observada, no mesmo tratamento, na cultivar Vivaldi. No primeiro experimento, observou-se que a cultivar Pérola, com menor dormência, também exibiu uma taxa de produção de etileno maior. Estes dados, em conjunto, sugerem uma relação entre a precocidade da brotação e o nível endógeno de etileno produzido pelo tubérculo. Assim, a produção de etileno, em níveis fisiológicos, parece importante no processo de brotação. Entretanto, a aplicação de altos níveis de etileno retarda o crescimento das brotações, como foi observado nos quatro genótipos analisados, nos dois experimentos efetuados. O retardamento do início da brotação, efeito oposto a relação entre níveis endógenos de etileno e precocidade da brotação, foi observado para as cultivares Atlantic e Vivaldi. Estas observações antagônicas, ou seja, relação entre níveis endógenos de etileno e brotação, e inibição da brotação com etileno exógeno, sugerem que diferentes níveis de etileno

possam ter efeitos opostos, dependendo do nível de dormência dos tubérculos e dos genótipos utilizados.

#### **4.2.1.4) Efeito do Etileno no Metabolismo da Sacarose**

Como foi observado nas Figuras 11 e 12, a taxa respiratória diferiu entre as cultivares, e o etileno, em determinados períodos, pode afetou a mesma. Para verificar-se a extensão das diferenças nas repostas metabólicas entre as cultivares durante o armazenamento, e em resposta ao etileno, determinaram-se os níveis dos principais carboidratos e das principais enzimas envolvidas no metabolismo de açúcares.

Aumentos significativos nas concentrações de sacarose, em resposta à aplicação de etileno, foram observados na maior parte das análises dos tubérculos da cultivar Vivaldi e em todas as análises da cultivar Ágata (Figura 14). Em relação ao controle, estes aumentos corresponderam, em média, a 95% e 110%, nas cultivares Ágata e Vivaldi, respectivamente. Isso foi também observado nas concentrações de glicose nos tubérculos (Figura 15). Embora a resposta tenha ocorrido em maior magnitude (percentual médio de aumento de 380% em relação ao controle) e em todas as análises realizadas em ambas cultivares. Os aumentos nas concentrações de glicose e sacarose estiveram associados a uma tendência de redução no teor de amido, a ser mostrado mais adiante (Figura 21).

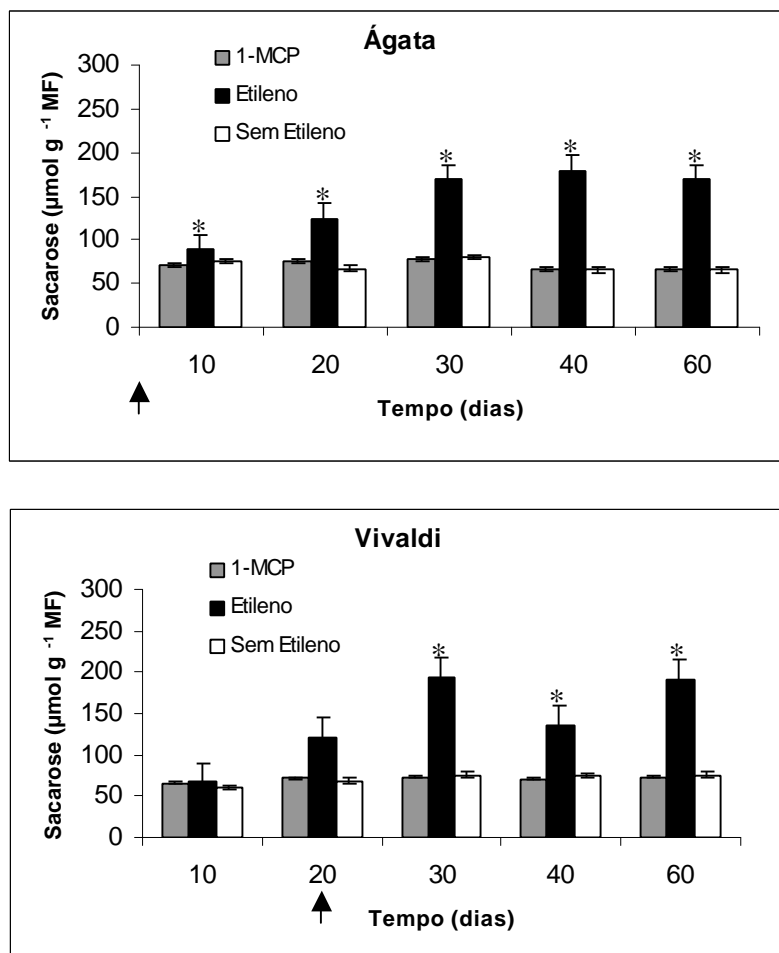


Figura 14. Concentrações médias de sacarose em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas cultivares.

Não houve diferenças significativas nas concentrações de sacarose, para um mesmo tratamento, entre as duas cultivares (Figura 14). Além disso, o tratamento com 1-MCP não produziu qualquer alteração na concentração de sacarose em relação ao tratamento sem etileno.

Como se pode observar na Figura 15, a aplicação de etileno fez aumentar as concentrações de glicose nos tubérculos, em ambas as cultivares, os quais permaneceram, durante todo o período de armazenamento, em níveis em torno de 200% a 600% acima daqueles encontrados nos tratamentos sem etileno. Os maiores níveis de aumento

foram observados na cultivar Ágata, de menor período de dormência, nas análises realizadas com tubérculos armazenados aos 30 e 40 dias.

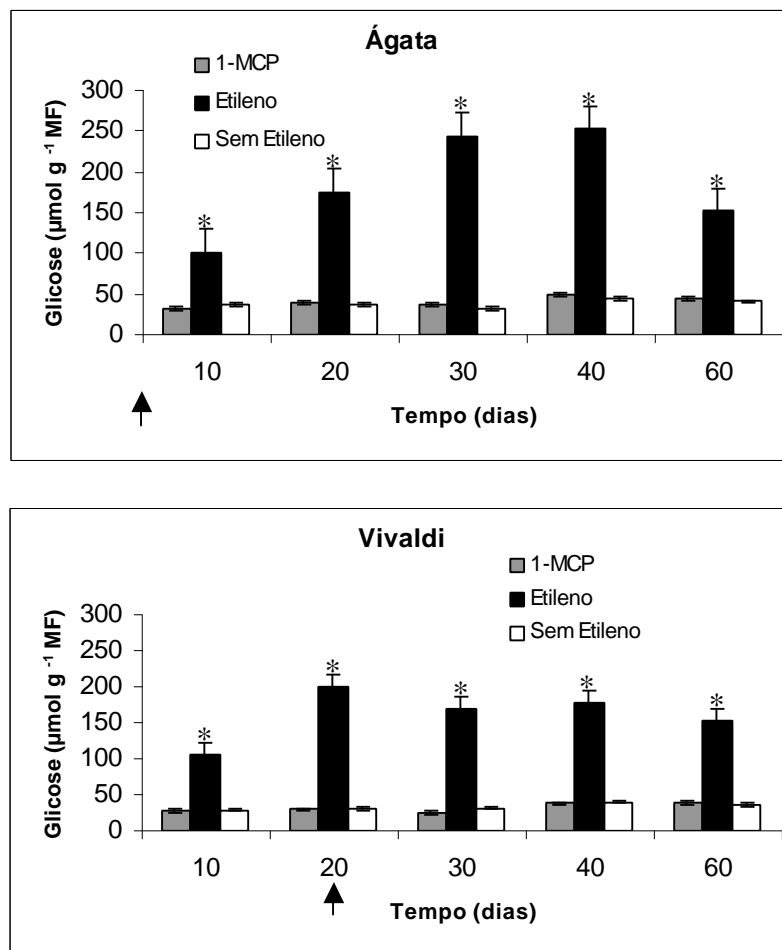


Figura 15. Concentrações médias de glicose em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidos a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro padrão das médias  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas cultivares.

Notou-se uma tendência de aumento nas concentrações de glicose entre os primeiros 30 dias de armazenamento. Esse efeito foi bem superior àquele observado no primeiro experimento, em que houve apenas uma tendência de aumento na concentração de glicose na cultivar Atlantic, enquanto na cultivar Pérola, o aumento foi significativo somente em dois períodos de armazenamento (Figura 6). Em conjunto, estes dados indicam que o etileno produz maiores aumentos no teor de glicose nas cultivares mais precoces quanto à brotação (Pérola e Ágata). Entretanto, o aumento, na cultivar Ágata, não esteve relacionado com

alterações significativas na taxa respiratória em resposta ao hormônio. Estes resultados indicam que, mesmo após aumentos em torno de 600% no nível de glicose, não ocorreram aumentos significativos na taxa respiratória. Resultados semelhantes também foram observados por outros autores (Trethewey et al., 1998).

Na Figura 16 observa-se que, embora tenha ocorrido uma tendência de aumento nas concentrações de frutose em resposta ao etileno, em ambas as cultivares, as diferenças não foram significativas. Além disso, o tratamento com 1-MCP não produziu qualquer alteração na concentração de frutose em relação ao tratamento sem etileno.

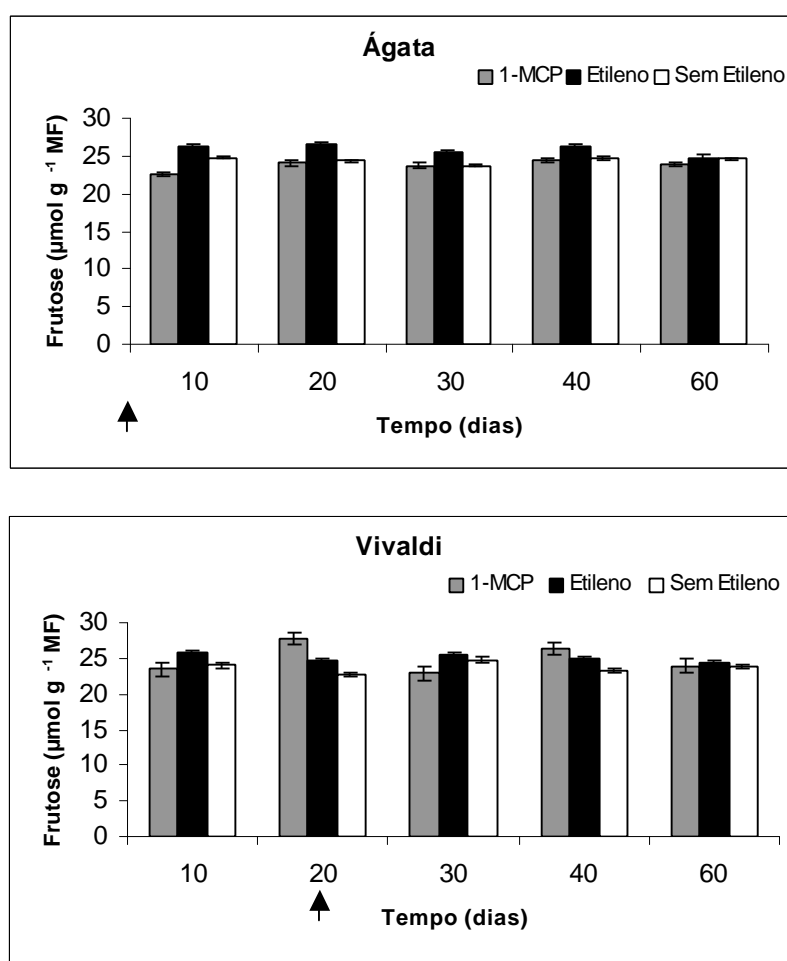


Figura 16. Concentrações médias de frutose em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas as cultivares.

Como pode ser observado na Figura 17, o etileno promoveu aumentos significativos na atividade da invertase apoplástica, nas análises realizadas aos 30, 40 e 60 dias de armazenamento, em ambas as cultivares. Os aumentos observados nas concentrações de sacarose e de hexoses, em ambas cultivares, podem se associados ao aumento contínuo da atividade das invertases no tratamento com etileno. A sacarose é o principal carboidrato translocado pelas plantas devido à sua natureza não redutora. A regulação do catabolismo da sacarose é de suma importância já que sua quebra produz hexoses que são requeridas para a manutenção do metabolismo celular (Pollock & Farrar, 1996). A aplicação de etileno levou a um desequilíbrio nas concentrações de açúcares devido a uma alteração nas enzimas que atuam na degradação de açúcares. A hidrólise da sacarose é dependente da atuação das enzimas sacarose sintase e as invertases que a degrada formando hexoses livres (Pollock, 1999). O aumento na concentração de hexoses livres está diretamente ligada ao aumento na atividade enzimática e/ou na abundância de mRNA da enzima envolvida no processo de degradação de sacarose (Koch, 1996). Quanto maior a quantidade de mRNA da enzima, maior será a sua síntese e conseqüentemente maior será a concentração de hexoses. Sendo assim, é possível que o aumento da atividade das invertases esteja associado a um estímulo em resposta ao incremento nas concentrações de sacarose.

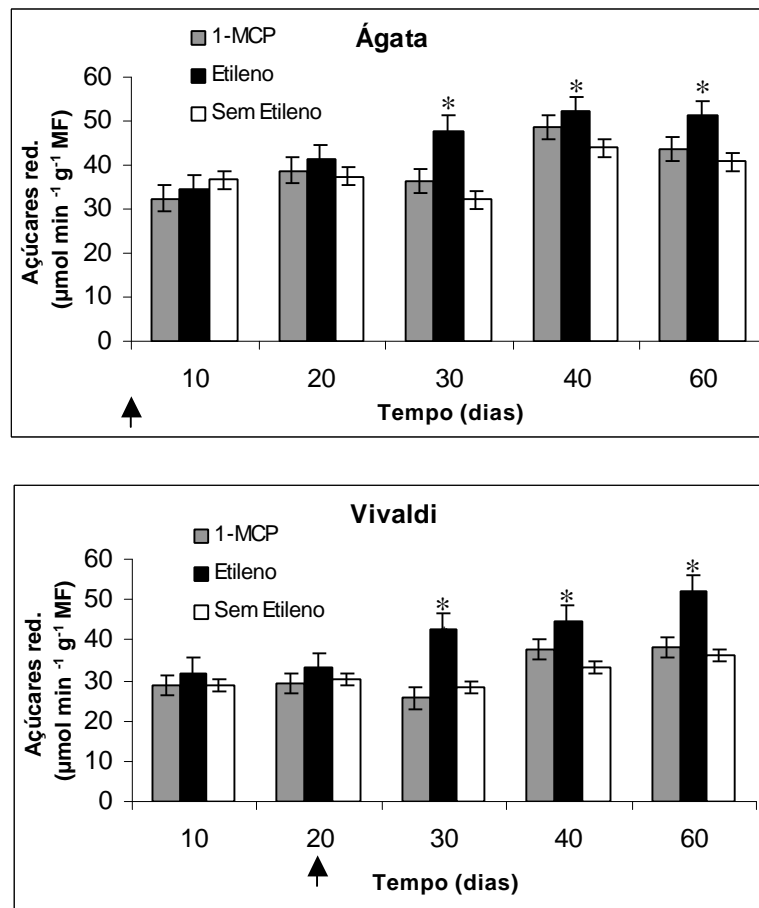


Figura 17. Atividade média da invertase apoplástica em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas cultivares.

Foi possível, também, observarem-se diferenças na atividade da invertase citosólica entre as cultivares, em resposta ao tratamento com etileno (Figura 18). Neste trabalho, o etileno parece afetar da mesma maneira as isoformas da invertase, pois os mesmos aumentos observados na atividade da invertase apoplástica foi verificado na invertase citosólica em ambas cultivares tratadas com esse fitorregulador. Novamente, o aumento de atividade da invertase citosólica relacionou-se com a elevação das concentrações de sacarose e hexoses, em resposta ao etileno. A invertase citosólica está envolvida no controle dos níveis intracelulares de glicose e frutose nos tecidos vegetais e na canalização do catabolismo de sacarose, quando a atividade da sintase da sacarose é baixa. O excesso de sacarose estaria sendo direcionado para o interior

das células. Uma vez dentro das células, a sacarose estaria estimulando a atividade da invertase citosólica. A expressão do gene da invertase em plantas bem como sua atividade podem ser influenciadas por uma variedade de fatores dentre eles os reguladores de crescimento (Ehness & Roitsch, 1997). Além disso, sabe-se também que a invertase pode sofrer inibição de acordo com os níveis de glicose (inibidor não competitivo) e frutose (inibidor competitivo) (Lin et al., 1999). Possivelmente a alteração nos níveis dos reguladores de crescimento provocada pela aplicação de etileno resultou no aumento da atividade das invertases. Supostamente as altas concentrações de hexoses não inibiram a atividade das invertases apoplásticas e citosólicas como eram de se esperar devido a ação do etileno exógeno.

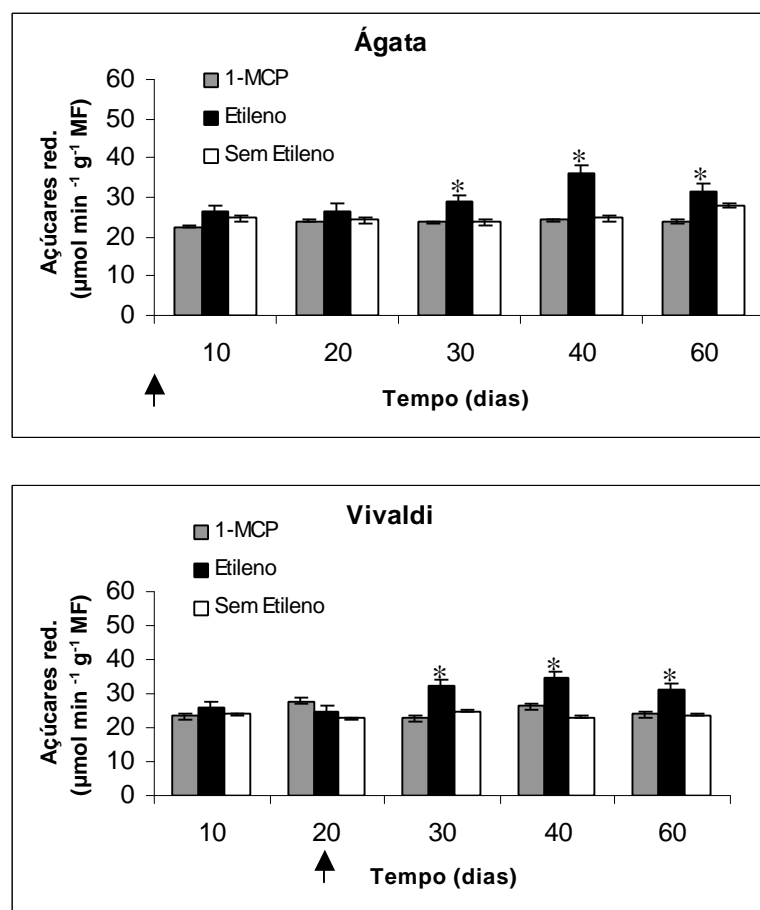


Figura 18. Atividade média da invertase citosólica em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas cultivares.

A aplicação de etileno promoveu aumento significativo na atividade catalítica máxima ( $V_{m\acute{a}x}$ ) da sintase da sacarose-fosfato (SPS) em ambas as cultivares. A atividade catalítica máxima está associada à concentração da enzima presente nos tecidos do tubérculo de batata. Estes aumentos indicam que a aplicação de etileno elevou o nível dessa enzima em tubérculos de batata (Figura 19). SPS foi significativamente maior na cultivar Ágata do que na cultivar Vivaldi, apenas na análise realizada aos 10 dias de armazenamento. A primeira enzima envolvida na síntese de sacarose é a sacarose fosfato sintase (SPS), que catalisa a síntese de sacarose 6-P através de uma transglicosilação de UDP-glicose a frutose-6-fosfato. O aumento observado na atividade catalítica dessa enzima contribuiu, possivelmente, com o aumento nas concentrações da sacarose observado anteriormente (Figura 14) em ambas cultivares tratadas com etileno já que a SPS está envolvida na síntese de sacarose. O acúmulo de hexoses e a crescente degradação de amido, com o passar do tempo, supostamente contribuíram com a elevação da concentração de carboidratos intermediários utilizados na síntese da sacarose.

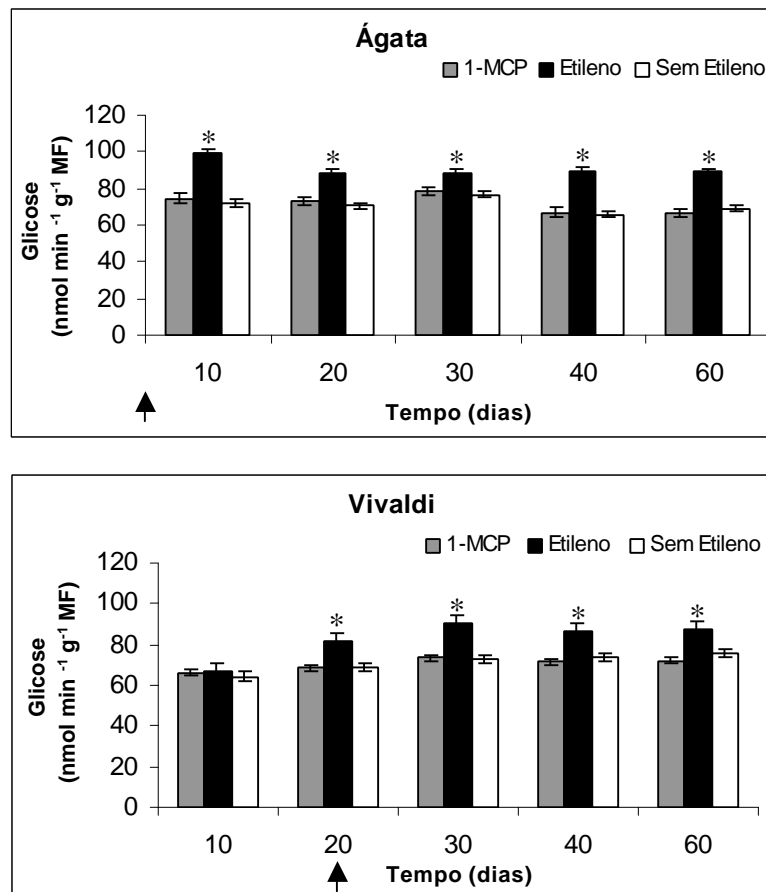


Figura 19. Atividade não seletiva ( $V_{máx}$ ) média da sintase da sacarose fosfato, em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas cultivares.

Visto que houve aumento significativo no teor de hexoses em resposta ao etileno, o qual provavelmente poderia também refletir-se em maiores níveis de glicose 6-P, metabólito que é ativador alostérico da SPS, e também inibidor da atividade da cinase da SPS, procurou-se também verificar se ocorriam alterações na regulação alostérica dessa enzima, determinando-se a sua atividade seletiva. Um sítio não catalítico é a chave para o mecanismo de modulação na SPS que é regulada por fosforilação (Huber et al., 1989). Essa enzima se mostra mais ativa quando se encontra desfosforilada. Através da ação da cinases da SPS o Pi é ligado a SPS. A glicose-6-P atua nessa cinase de forma inibitória além de ser um ativador alostérico da SPS. Pela ação da fosfatase da sacarose-fosfato o Pi é retirado e a SPS se torna mais ativa. O Pi age de

forma inibitória sobre a atividade dessa fosfatase além de ser um inibidor alostérico da SPS. Um aumento na concentração de glicose-6-P e uma diminuição de Pi podem favorecer a desfosforilação/ativação da SPS (Huber et al., 1989). O grau de ativação da enzima é avaliado no ensaio enzimático denominado atividade seletiva ( $V_{sel}$ ). Nesse ensaio são utilizadas altas concentrações do inibidor (Pi), e baixas concentrações do ativador (glicose-6-P) e dos substratos enzimáticos.

Como se pode observar na Figura 20, a aplicação de etileno levou a uma tendência discreta de aumento na atividade seletiva da SPS, mas sem diferenças significativas ao longo dos 60 dias de armazenamento. Esse resultado sugere que o aumento observado na atividade catalítica máxima da SPS esteve mais relacionado a uma ativação alostérica dessa enzima ligado ao aumento na concentração de glicose-6-P (ativador alostérico da SPS).

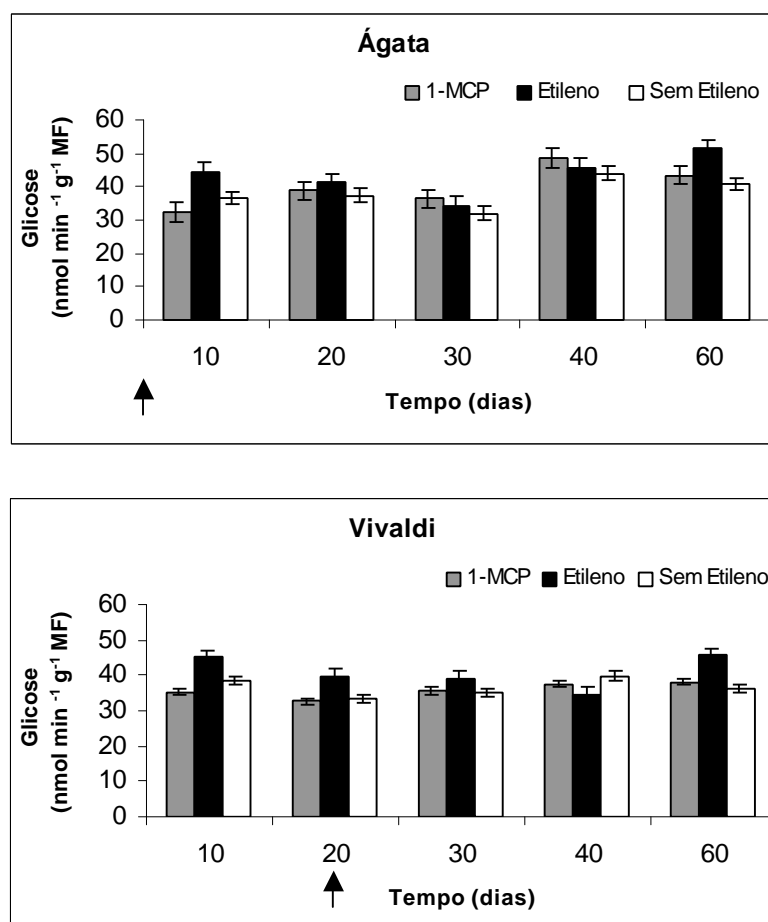


Figura 20. Atividade seletiva ( $V_{sel}$ ) média da sintase da sacarose fosfato, em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas cultivares.

#### 4.2.1.5) Efeito do Etileno no Metabolismo do Amido

Observou-se uma leve redução do teor de amido, ao longo do período de armazenamento de ambas as cultivares (Figura 20). A redução acompanhou tanto o aumento no crescimento das brotações quanto o aumento nos teores de açúcares solúveis. Em uma única época de análise (20 dias) observou-se uma maior redução na concentração de amido no tratamento com etileno, na cultivar Vivaldi e em três épocas (20, 40 e 60 dias), na cultivar Ágata. É importante observar que pequenas variações na concentração de amido promoveram grandes variações nas concentrações de glicose. Essa redução contribuiu de forma acentuada na elevação da concentração de glicose nos tubérculos tratados com etileno.

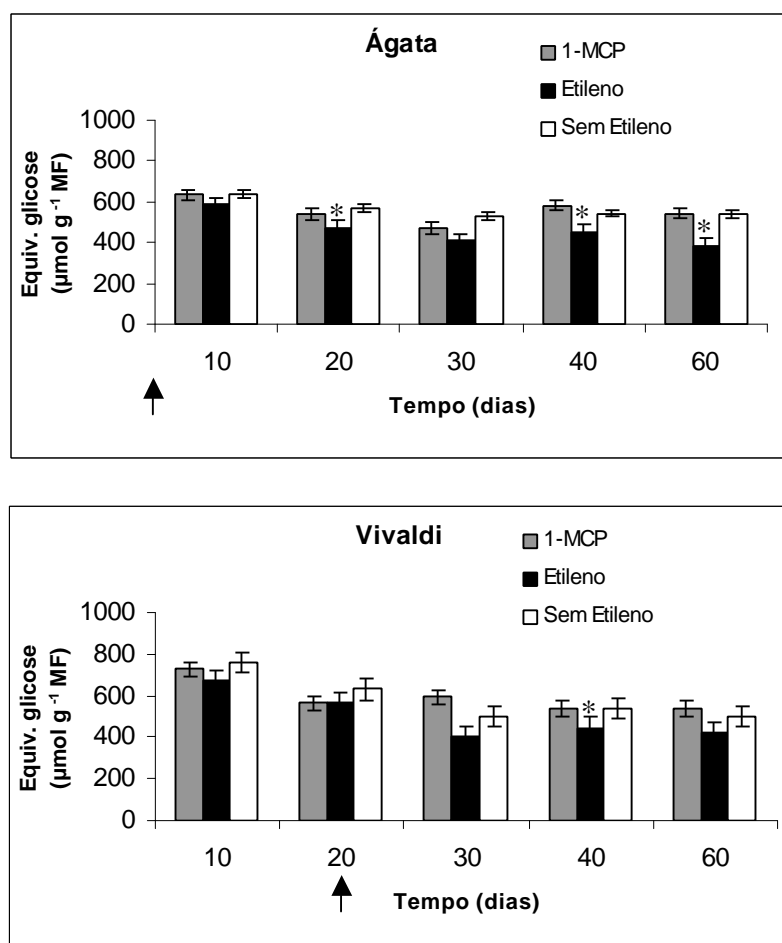


Figura 21. Concentrações médias de amido em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi, submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro-padrão da média  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas cultivares.

A atividade da fosforilase do amido foi bastante variável (Figura 22). Em duas análises (30 e 40 dias), houve um aumento da atividade da enzima no tratamento com etileno, na cultivar Vivaldi, e em quase todas as análises (20, 30, 40 e 60 dias) na cultivar Ágata. Segundo Illeperuma et al. (1998), em tubérculos de batata, a degradação do amido é realizada principalmente via fosforilase do amido, porém outras enzimas podem estar envolvidas na sua degradação como as amilases. Como a degradação do amido não é feita exclusivamente pela fosforilase do amido, foram realizados ensaios para a determinação da atividade amilolítica total ( $\alpha$ - e  $\beta$ -amilase).

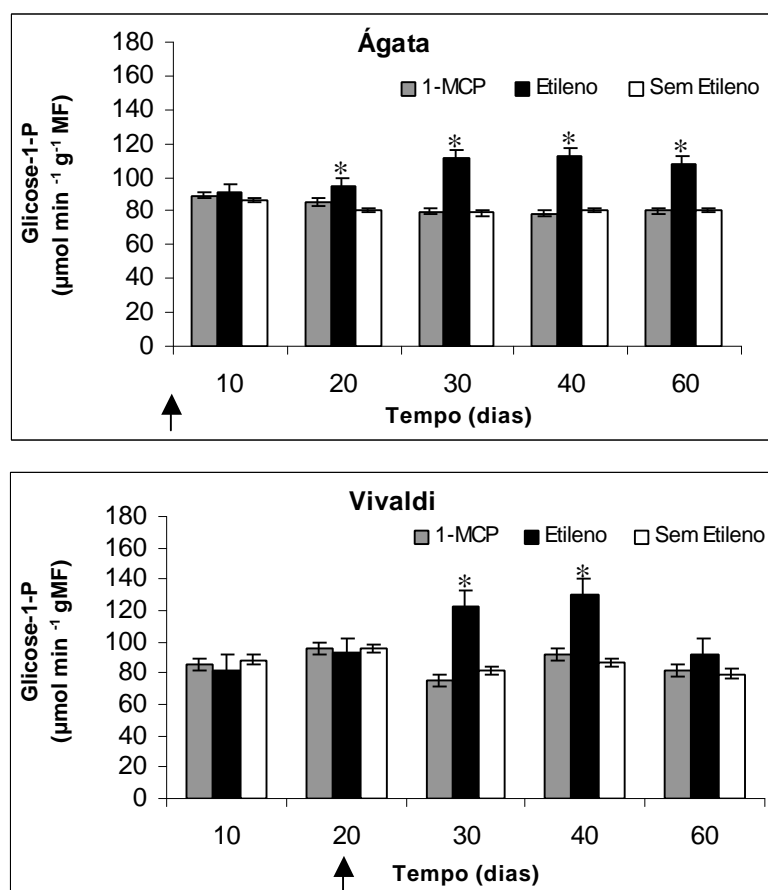


Figura 22. Atividade média da fosforilase do amido em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro padrão da média  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas cultivares.

A atividade amilolítica total foi bastante variável ao longo do período de armazenamento, não tendo sido observada diferença significativa entre os tratamentos, em ambas as cultivares (Figura 23). A aplicação de etileno parece não afetar a atividade das amilases em ambas cultivares. A degradação do amido ainda é um ponto conflitante na literatura. Walker & Hope (1963) sugeriram que grãos de amido não podem ser digeridos pela  $\alpha$ -amilase. Em contraste, Witt & Sauter (1996) defendem a idéia de que  $\alpha$ -amilases possuem capacidade de se ligar a grãos intactos e degrada-los *in vitro*. Davies & Viola (1988) relataram uma diminuição na atividade amilolítica total próxima à época de início das brotações em tubérculos de batata, além de uma diminuição transiente, especificamente da  $\alpha$ -amilase. Já Bailey et al. (1978) descreveram um aumento da atividade para  $\alpha$ -amilases durante o início da brotação em

tubérculos de batata. Biemelt et al. (2000) encontraram um aumento da atividade tanto para  $\alpha$ -amilase quanto para  $\beta$ -amilase em tecidos de tubérculos de batata após o início das brotações. Assim, não há qualquer evidência bem definida na atividade de enzimas que atuam na degradação do amido próximo à época de brotação dos tubérculos de batata, como foi concluído também por Biemelt, et al. (2000). De acordo com os resultados obtidos e considerando as informações da literatura, a principal via de degradação do amido parece ser a rota fosforilítica.

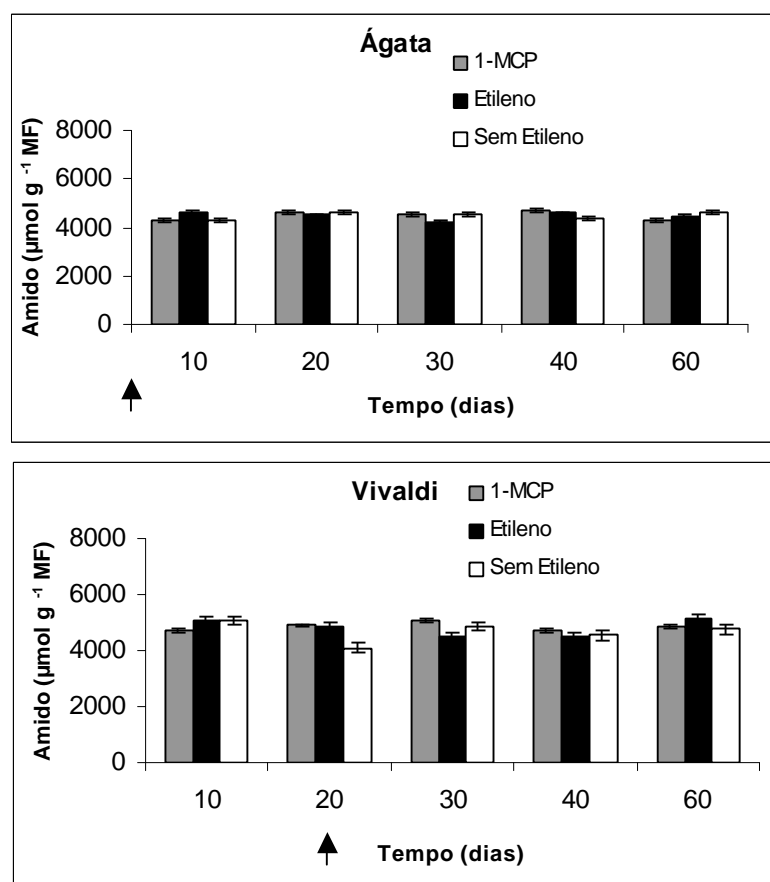


Figura 23. Atividade amilolítica total média ( $\alpha$ - e  $\beta$ -amilase) em tubérculos de batata das cultivares Ágata e Vivaldi submetidas a diferentes tratamentos, ao longo do período de armazenamento, a 15°C. Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos, para o mesmo tempo e cultivar, são indicadas por asterisco. As barras indicam o erro padrão da média  $n = 5$ . As setas indicam o início das brotações no tratamento com etileno em ambas cultivares.

## 5) CONCLUSÕES

As cultivares de batata Atlantic e Pérola exibiram um comportamento diferenciado das cultivares Ágata e Vivaldi, quanto à aplicação de etileno e ao período de início da brotação. O etileno atrasou o início da brotação de tubérculos de batata nas cultivares Atlantic e Pérola, porém nenhum efeito no prolongamento do período requerido para o início de brotação foi observado nas cultivares Ágata e Vivaldi. A aplicação de etileno se mostrou relativamente eficiente na inibição do desenvolvimento das brotações em todas as cultivares testadas. O etileno promoveu aumentos nas concentrações de sacarose, glicose e frutose, observando-se aumentos mais acentuados nas cultivares de brotação precoce (Pérola e Ágata). A aplicação de etileno resultou em um aumento no nível de atividade das invertases ácida, alcalina e sintase da sacarose fosfato, juntamente com uma redução nos níveis de amido além de um aumento de atividade da fosforilase do amido nas cultivares Ágata e Vivaldi. A aplicação de 1-Metilciclopropeno reduziu eficientemente a produção de etileno nas cultivares Ágata e Vivaldi, além de mostrar-se associada a uma tendência de aumento no diâmetro e comprimento dos brotos, sem produzir maiores alterações no metabolismo de sacarose e amido.

## 6) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abeles F.B. (1973) **Ethylene in Plant Biology**. Academic Press, New York.
- Abeles F.B., Morgan P.W., Saltveit M.E. (1992) **Ethylene in plant biology**. San Diego, Academic Press. 414p.
- Afek U., Warshavsky S. (1998) Problems in storage of potatoes in Israel. In: Potatoes in Hot Climates (D. Levy, ed.), **Journal of the Agricultural Research Organization** 9, 97-114.
- Alam S.M.M., Murr D.P., Kristof L. (1994) The effect of ethylene and of inhibitors of protein and nucleic acid synthesis on dormancy break and subsequent sprout growth. **Potato Research** 37, 25-33.
- Bailey K.M., Phillips I. D. J., Pitt, D. (1978) The role of buds and gibberellin in dormancy and the mobilization of reserve materials in potato tubers. **Annals of Botany** 42, 649-657.
- Barry C. S., Blume B., Bouzayen M., Cooper W., Hamilton A. J., Grierson D. (1996) Differential expression of the 1-aminocyclopropene-1-carboxylate oxidases gene family of tomato **The Plant Journal** 9, 525-535.
- Bergenstrahle A., Tillberg E., Jonsson L. (1992) Regulation of glycoalkaloid accumulation in potato tuber discs. **Journal of Plant Physiology** 140, 269-275.
- Biemelt S., Hajirezaei M., Henschel E., Sonnewald U. (2000) Comparative analysis of abscisic acid content and starch degradation during storage of tubers harvested from different potato varieties. **Potato Research** 43, 371-382.
- Bisognin D., Amarante C., Canci P. (1996) Quebra de dormência e dominância apical em batata. **Horticultura Brasileira** 14, 23-26.
- Blenkinsop R.W., Copp L.J, Yada R.Y., Marangoni A.G. (2002) Effect of chlorpropham (CIPC) on carbohydrate metabolism of potato tubers during storage. **Food Research International** 35, 651-655.

- Burton W.G. (1989) **The Potato**. Harlow, Longman Scientific and Technical. 742p.
- Castro, J.A. (1976) Forçamento da brotação em batata-semente. **Tecnologia e produção de batata-semente: coletânea de artigos técnicos**. Brasília: AGIPAN. 47 p.
- Coleman W.K., McInerney J. (1997) Enhanced dormancy release and emergence from potato tubers after exposure to a controlled atmosphere. **American Potato Journal** 74, 173-182.
- Coleman W.K, Coleman S.E.(2000) Modification of potato microtuber dormancy during induction and growth in vitro and ex vitro. **American Journal of Potato Research** 77, 103-110.
- Cvikrova M., Sukhova L.S., Eder J., Korableva N.P. (1994) Possible involvement of abscisic acid, ethylene and phenolic acids in potato tuber dormancy. **Plant Physiology and Biochemistry** 32, 685-691.
- Daniels J., Patella A.E., Leal M.L.S. (1982). **Métodos e efeitos de forçamento da brotação da batata**. Pelotas, EMBRAPA-UEPAE, Comunicado Técnico 24, 7p.
- Davies H. V., Viola R. (1988) The effect of gibberellic acid on starch breakdown in sprouting tubers of *Solanum tuberosum* L. **Annals of Botany** 61, 689-693.
- Ehness, R., Roitsch T. (1997) Co-ordinated induction of mRNAs for extracellular invertase and a glucose transporter in *Chenopodium rubrum* by cytokinins **The Plant Journal** 11, 539-548.
- Elmer O. H. (1932) Growth inhibition of potato sprouts by the volatile products of apples. **Science** 75, 19-24.
- Gartrell M.J., Craun J.C., Podrebarac D.S., Gunderson E.L. (1986) Pesticides, selected elements and other chemicals in adult total diet samples. **Journal of Analytical Chemistry** 69, 146-159.

- Geigenberger P., Stitt M. (1993) Sucrose synthase catalyses a readily reversible reaction *in vivo* in developing potato tubers and other plant tissues. **Planta** 189, 329-339.
- Grossmann K. (2000) Mode of action of auxin herbicides: a new ending to a long drawn out story. **Trends in Plant Science** 5, 506-508.
- Gude H., van der Plas L. H. W. (1985) Endogenous ethylene formation and the development of the alternate pathway in potato tuber disks. **Physiologia Plantarum** 65, 57-62.
- Gunderson E.L. (1998) FDA total diet study. April 1982-April 1984, dietary intakes of pesticides, selected elements and other chemicals. **Journal of Assessment Official Analytical Chemistry** 71, 1200-1209.
- Hajirezaei M. R., Börnke F., Peisker M., Takahata Y., Lerch J., Kirakosyan A., Sonnewald U. (2003) Decreased sucrose content triggers starch breakdown and respiration in stored potato tubers (*Solanum tuberosum*). **Journal of Experimental Botany** 382, 477-488.
- Hall A. E., Findell J. L., Schaller E. G., Sisler E. C., Bleecker A. B. (2000) Ethylene perception by the ERS1 protein in Arabidopsis. **Plant Physiology** 123, 1449-1458.
- Huber J.A., Huber S.C., Nielsen T.H. (1989) Protein phosphorylation as a mechanism for regulation of spinach leaf sucrose phosphate synthase activity. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 270, 681-690.
- Illeperuma C., Schlimme D., Solomos T. (1998) Changes in sugars and activities of sucrose phosphate synthase, sucrose syntase, and invertase during potato tuber (Russet Burbank) reconditioning at 10°C in air and 2.53 kPa oxygen after storage for 28 days at 1°C. **Journal of American of Society Horticultural Science** 123, 311-316.

- Jiméns M.L.A, Araújo P.J., Bilhalva A.B. (1998) Efeito do antibrotante CIPC no armazenamento de batatas (*Solanum tuberosum* L.). **Revista Brasileira de Agrociência** 2, 121-124.
- Kingston-Smith A.H., Walker R.P., Pollock C.J. (1999) Invertase in leaves: conundrum or control point ? **Journal of Experimental Botany** 50, 735-743.
- Koch K.E. (1996) Carbohydrate-modulate gene-expression in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant molecular Biology** 47, 509-540.
- Korableva N.P., Sukhova L.S., Dogonadze M.Z., Machackova I. (1989) Hormonal regulation of potato tuber dormancy and resistance to pathogens. In: J. Kredule, R. Seidlova, (eds), **Signals in Plant Development**. SPB Academic Publishers. The Haggue, pp 65-71.
- Kumar, P. P., Lakshmanan, P., Thorpe, T. A.(1998) Regulation of morphogenesis in plant tissue culture by ethylene **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant** 34, 93-103.
- Lin C.L., Lin H. C., Wang A., Sung H. Y. (1999) Purification and characterization of an alkaline invertase from shoots of etiolated rice seedlings. **New Phytologist** 142, 427-434.
- Lincoln J. E., Campbell A. D., Oetiker J. ,Rottmann W. H., Oeller P. W., Shen N. F., Theologis A. (1993) LE-ACS4, a fruit ripening and wound-induced 1-aminocyclopropene-1-carboxylate synthase gene of tomato (*Lycopersicon esculentum*) **Journal of Biological Chemistry** 268, 19422-19430.
- Lopes A. C., Cultivo da batata. [online] Disponível na Internet via: <http://www.batata.net/cultivo.asp>. Arquivo capturado em 05/01/2005.

- McGee E., Booth R. H., Jarvis M.C., Duncan H.J. (1987) The inhibition of potato sprout growth by light I. Effects of light on dormancy and subsequent sprout growth. **Annals of Applied Biology** 110, 399 -404.
- McGee E., Booth R.H., Jarvis M.C. Duncan H.J. (1988) The inhibition of potato sprout growth by light II. Effects of temperature and light intensity. **Annals of Applied Biology** 113, 137-147.
- Meredith R. (1995) New chemical sets sprouts a challenge. **Potato Review** 5, 10-15.
- Metlistkii L.V., Korableva L.S., Sukova A.N., Pershutin A.N., Litver N.N. (1982) Use of Hydrel to prevent potato tuber germination during storage with concurrent reduction of disease-induced losses. **Applied Biochemistry and Microbiology** 18, 96-103.
- Nakatsuka A., Shiomi S., Kubo Y., Inaba A. (1997) Expression and internal feedback regulation of ACC synthase and ACC oxidase genes in ripening tomato fruit **Plant and Cell Physiology** 38, 1103-1110.
- Nakatsuka A., Murachi S., Okunishi H., Shiomo S., Nakano R., Kubo Y., Inaba A. (1998) Differential expression and internal feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, and ethylene receptor genes in tomato fruit during development and ripening. **Plant Physiology** 118, 1295-1305.
- Pest Management Regulatory Agency Health Canada (2001) Ethylene Eco Sprout Guard: proposed regulatory decision document PRDD2001-04, 18 p., Ottawa, Canada. ([www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/english/pdf/pr...dd2001-04-e.pdf](http://www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/english/pdf/pr...dd2001-04-e.pdf)). Arquivo capturado em 13/05/2004.
- Pollock C.J., Farrar J.F. (1996) Source-sink relations: the role of sucrose. **Photosynthesis and the environment** 5, 261-279.

- Porat R., Weiss B., Cohen L., Daus A., Goren R., Droby S. (1999) Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of 'Shamouti' oranges. **Postharvest Biology and Technology** 15, 155-163.
- Prange R.K., Kalt W., Daniels-Lake B.J., View C.L., Page R.Y., Walsh J.R., Dean P., Coffin R.H. (1998) Using ethylene as a sprout control agent in stored "Russet Burbank" potatoes. **Journal of American Society for Horticultural Science** 123, 436-439.
- Reid M. S., Pratt H. K. (1972) Effects of ethylene on potato tuber respiration. **Plant Physiology** 49, 252-255.
- Rilsky I., Rappaport L., Pratt H.K. (1974) Dual effects of ethylene on potato dormancy and sprout growth. **Plant Physiology** 53, 658-662.
- Robinson N. L., Hewitt J. D., Bennett A. B. (1988) Sink metabolism in tomato fruit I. Development changes in carbohydrate metabolism enzymes. **Plant Physiology** 87, 727-730.
- Rottmann W. H., Peter G. F., Oeller P. W., Keller J. A., Shen N. F., Nagy B. P., Taylor L. P., Campbell A. D., Theologis A. (1991) 1-Aminocyclopropene-1-carboxylate synthase in tomato is encoded by a multigene family whose transcription is induced during fruit and floral senescence. **Journal of Molecular Biology** 22, 937-961.
- Sisler E.C., Serek M.E. (1997) Inhibitors of ethylene response in plants at the receptor level: recent developments. **Physiologia Plantarum** 100, 577-582.
- Slanina P. (1990) Solanine (glycoalkaloids) in potatoes: toxicological evaluation. **Food Chem. Toxicol** 28, 759-761.
- Sonnewald U. (2001) Control of potato tuber sprouting. **Trends in Plant Science** 6, 333-335.

- Suttle J.C. (1995) Postharvest changes in ABA levels and ABA metabolism in relation to dormancy in potato tubers. **Physiologia Plantarum** 95, 233-240.
- Suttle J.C. (1998) Involvement of ethylene in potato microtuber dormancy. **Plant Physiology** 118, 843-848.
- Suttle J.C. (2003) Auxin-induced sprout growth inhibition: role of endogenous ethylene. **American Journal of Potato Research** 80, 303-309.
- Sweetlove L. J., Burrell M. M., Ap Rees T. (1996) Characterization of transgenic potato (*Solanum tuberosum*, L.) with increased ADPglucose pyrophosphorylase. **Biochemistry Journal** 320, 487-492.
- Tan Z.Y., Thimann K.V. (1989) The roles of carbon dioxide and abscisic acid in the production of ethylene. **Physiologia Plantarum** 75, 13-19.
- Timm H., Hughes D. L., Weaver M. L. (1986) Effect of exposure time of ethylene on potato sprout development. **American Potato Journal** 63, 655-666.
- Trethewey R.N., Geigenberger P., Riedel K., Hajirezaei M.R., Sonnewald U., Stitt M., Riesmeier J.W., Willmitzer L. (1998) Combined expression of glucokinase and invertase in potato tubers leads to a dramatic reduction in starch accumulation and a stimulation of glycolysis. **Plant Journal** 15, 109-118.
- Walker G. J. & Hope P. M. (1963) The action of some  $\alpha$ -amilases on starch granules. **Biochemistry Journal** 86, 452-462.
- Witt W., Sauter J. J. (1996) Purification and properties of a starch granule-degrading  $\alpha$ -amilase from potato tubers. **Journal of Experimental Botany** 47, 1789-1795.

Wild H.P.J., Woltering E.J., Peppelenbos H.W. (1999) Carbon Dioxide and 1-MCP inhibit ethylene production and respiration of pear fruit by different mechanisms. **Journal of Experimental Botany** 50, 837-844.

Wiltshire J.J., Cobb A.H. (1996). A review of the physiology of potato tuber dormancy. **Annals of Applied Biology** 129, 553-569.