

LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA LIMA

**TECIDO ESPONJOSO EM MANGA 'TOMMY ATKINS':
TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS NO MESOCARPO
DURANTE O ARMAZENAMENTO**

**Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do curso
de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
para obtenção do título de "DOUTOR".**

**Orientador
PROF. Dr. ADIMILSON BOSCO CHITARRA**

**LAVRAS - MINAS GERAIS - BRASIL
1997**

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da
Biblioteca Central da UFLA

Lima, Luiz Carlos de Oliveira.

Tecido esponjoso em manga 'Tommy Atkins': transformações químicas e bioquímicas no mesocarpo durante o armazenamento / Luiz Carlos de Oliveira Lima. -- Lavras : UFLA, 1997.

148 p. : il.

Orientador: Adimilson Bosco Chitarra.

Tese (Doutorado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Manga - Tecido esponjoso. 2. Armazenamento. 3. Enzima. 4. Transformação química. 5. Bioquímica. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

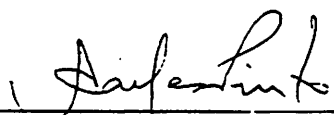
CDD-664.80444

LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA LIMA

TECIDO ESPONJOSO EM MANGA 'TOMMY ATKINS': TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS NO MESOCARPO DURANTE O ARMAZENAMENTO

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos para obtenção do título de "DOUTOR".

APROVADA EM 05/11/97



Dr. Alberto Carlos de Queiroz Pinto



Prof. Dr. José Donizeti Alves



Prof. Dr. José Fernando Durigan



Prof. Dr. Maria Isabel Fernandes Chitarra
(Co-orientadora)



Prof. Dr. Adimilson Bosco Chitarra
Orientador

A DEUS

À memória de meus pais

Manuel, (Alayde) Lima

À minha esposa, Maraisa

Aos filhos, Igor, André e Raíssa

Enfim, a minha família

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), pela oportunidade de realização do curso.

À CAPES, pelo apoio financeiro através de bolsa de estudos e ao CNPq, pelo apoio financeiro através de taxa de bancada.

Aos professores Adimilson Bosco Chitarra e Maria Isabel Fernandes Chitarra, pela forma, e generosidade que compartilham sua experiência e por tudo que têm feito pelo ensino e pesquisa, na Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita em nosso país e em nossa instituição.

Aos professores do DCA-UFLA pelos ensinamentos e amizade.

Ao professor Luiz Henrique de Aquino, pela valiosa colaboração quanto à forma de análise e apresentação dos dados.

As laboratoristas Constantina, Sandra, Mércia Magalhães pela contribuição e companheirismo.

Aos colegas Josivan, Ricardo Elesbão, Heloisa, Silvana, Regina, Eduardo, Helenice, Urquisa, Andréa, Neide Botrel, Rosimeire, Fábio Corcozza, Jorge, Rogério Amaro e Poliana, pelo convívio sadio durante esta longa jornada.

Aos funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA.

Ao Departamento de Vendas da Frunorte Ltda, especialmente aos senhores Sérgio Rodrigues e Manuel Ulisses, pela viabilização do transporte rodoviário e aéreo dos frutos.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Aspectos gerais sobre a manga.....	3
2.2 Transformações da manga durante a maturação.....	4
2.2.1 Textura e pectinas.....	5
2.2.2 Amido.....	7
2.2.3 Sólidos solúveis totais.....	7
2.2.4 Açúcares solúveis.....	8
2.2.5 Acidez total titulável e pH.....	9
2.2.6 Compostos fenólicos.....	10
2.2.7 Carotenóides totais.....	13
2.2.8 Vitamina C total.....	15
2.3 Conservação pós-colheita.....	16
2.4 Parede celular.....	17
2.4.1 Importância funcional.....	17
2.4.2 Estrutura.....	19
2.4.3 Composição.....	21
2.5 Atividade enzimática.....	30
2.5.1 Pectinases (PME e PG).....	30
2.5.2 Amilases.....	32
2.5.3 Celulases.....	33
2.5.4 Fenilalanina amônia-liase.....	35
2.5.5 Oxidases.....	36
2.6 Desordens fisiológicas em mangas.....	39
2.6.1 Aspectos gerais.....	39
2.6.2 Descrição.....	40
2.6.3 Sintomas.....	41
2.6.4 Causas.....	42

	Página
2.6.5 Ocorrência.....	44
2.6.6 Transformações químicas.....	46
2.6.7 Atividade enzimática.....	47
2.6.8 Cálcio.....	49
3 MATERIAL E MÉTODOS	53
3.1 Procedência e colheita dos frutos.....	53
3.2 Instalação do experimento e preparo das amostras.....	54
3.3 Avaliações físicas e físico-químicas.....	56
3.3.1 Perda de matéria seca.....	56
3.3.2 Textura.....	56
3.3.3 Sólidos solúveis totais.....	56
3.3.4 pH.....	57
3.4 Avaliações químicas.....	57
3.4.1 Acidez total titulável.....	57
3.4.2 Pectinas.....	57
3.4.3 Açúcares totais redutores e sacarose.....	58
3.4.4 Amido.....	59
3.4.5 Compostos fenólicos.....	60
3.4.6 Carotenóides totais.....	60
3.4.7 Vitamina C total.....	61
3.4.8 Cálcio total.....	61
3.5 Avaliações bioquímicas.....	62
3.5.1 Atividade de hidrolases	62
3.6 Atividade de enzimas do metabolismo fenil propanoide.....	63
3.7 Análise do material de parede celular (MPC).....	64
3.7.1 Extração da parede celular.....	64
3.7.2 Determinação dos compostos de parede celular.....	65
3.8 Análise cromatográfica.....	68
3.9 Delineamento experimental.....	69
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
4.1 Modificações durante o amadurecimento.....	70
4.1.1 Perda de matéria seca.....	70
4.1.2 Textura e pectinas.....	72
4.1.3 Amido.....	75
4.1.4 Sólidos solúveis totais (SST) e Açúcares solúveis.....	77
4.1.5 pH e Acidez total titulável.....	82
4.1.6 Compostos fenólicos totais.....	84
4.1.7 Carotenóides totais.....	86
4.1.8 Vitamina C total.....	87
4.2 Parede celular.....	89
4.2.1 Uronídeos e açúcares totais não celulósicos.....	89

	Página
4.2.2 Composição em açúcares neutros.....	93
4.2.3 Grau de esterificação.....	96
4.2.4 Celulose.....	98
4.2.5 Cálcio total e Cálcio ligado.....	100
4.3 Atividade enzimática.....	102
4.3.1 Pectinametilesterase.....	102
4.3.2 Poligalacturonase.....	105
4.3.3 Amilase.....	107
4.3.4 Celulase.....	109
4.3.5 Fenilalanina amônio liase.....	111
4.3.6 Polifenoloxidase.....	114
4.3.7 Peroxidase.....	116
5 CONCLUSÕES.....	118
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	120
APÊNDICE.....	146

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Teores médios de cálcio total (% de matéria seca) no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso.....	100

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Perda de matéria seca, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso.....	71
2	Textura no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = Tecido sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso.....	73
3	Pectina total no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = Tecido sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso.....	74
4	Pectina solúvel no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso.....	75

- 5 Teores de amido no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 76
- 6 Sólidos solúveis totais no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 77
- 7 Açúcares solúveis totais no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 79
- 8 Açúcares não redutores (sacarose) no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = tecido danificado por tecido esponjoso..... 80
- 9 Açúcares redutores no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 81

- 10 pH no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 82
- 11 Acidez total titulável no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 83
- 12 Compostos fenólicos totais no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 85
- 13 Carotenóides Totais no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 87
- 14 Vitamina C no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 88

- 15 Teor de Ácidos Urônicos em material de parede celular (MPC) no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 90
- 16 Açúcares totais não celulósicos em material de parede celular (MPC) no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 92
- 17 Resíduos de açúcares Arabinose (A); Galactose (B); Rhamnose (C); Xilose (D); Glicose (F) e Manose (E) neutros não celulósicos, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido: esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 94
- 18 Grau de Esterificação, no material de parede celular (MPC) no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 97
- 19 Celulose, no material de parede celular do mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = Tecido de fruto sadio; F_2 = Tecido sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = tecido danificado por tecido esponjoso..... 99

- 20 Teor de cálcio ligado no material de parede celular (MPC), no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 102
- 21 Atividade pectinametilsterase, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 103
- 22 Atividade poligalacturonase, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 105
- 23 Atividade amilásica, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 108
- 24 Atividade celulásica no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 110

- 25 Atividade da fenilalanina amônia-liase no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 112
- 26 Atividade polifenoloxidase no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 115
- 27 Atividade peroxidase, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso..... 117

RESUMO

TECIDO ESPONJOSO EM MANGA 'TOMMY ATKINS' : TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS NO MESOCARPO DURANTE O ARMAZENAMENTO

LIMA, Luiz Carlos de Oliveira. Tecido esponjoso em manga 'TOMMY ATKINS' : Transformações químicas e bioquímicas no mesocarpo durante o armazenamento. Lavras: UFLA, 1997. Tese - Doutorado em Ciência dos Alimentos)*.

Foram analisadas mangas da cultivar Tommy Atkins proveniente do Vale do Assú-Mossoró-RN, colhidas no estágio de maturação fisiológica com tamanho uniforme nº 10. Estes frutos sofreram tratamentos tipo exportação, no local de colheita e foram enviados, via aérea, até Belo Horizonte-MG. Os frutos foram classificados através de Raio-X, em : F₁ = frutos sadios; F₂ = porção sadia dos frutos que continham a desordem; F₃ = porção dos frutos com a desordem, armazenados a 12°C ± 2 °C, U.R. 88% ± 3 % analisados em 5 épocas (T₁ = 0 dias; T₂ = 7 dias; T₃ = 14 dias; T₄ = 21 dias; T₅ = 28 dias), com 5 frutos por parcela. Os mesocarpos afetados com tecido esponjoso são visíveis somente quando o fruto maduro é cortado em duas metades, e descrito como sendo um tecido coriáceo, fibroso de coloração esbranquiçado ou escura. Verificou-se que os frutos dos tratamentos F₂ F₃ e, apresentaram maiores valores de textura, e Acidez Total Titulável, pectina total, amido, cálcio total, fenólicos totais, maiores atividades de, Fenilalanina amônia liase, Peroxidase e Polifenoloxidase do que os frutos F₁. Apresentaram

* Orientador : Adimilson Bosco Chitarra. Membros da Banca: Alberto Carlos Queiroz Pinto, José Fernando Durigan, José Doniseti Alves, Maria Isabel Fernandes Chitarra.

também, menores teores de sólidos solúveis totais, açúcares solúveis totais, redutores e não redutores, ácido ascórbico, carotenóides totais, assim como menores atividades amilase, pectinametilsterase, poligalacturonase e Celulase. No material de parede celular insolúvel em álcool, os mesocarpo dos frutos F₂ e F₃ apresentaram maiores teores de celulose, grau de esterificação, resíduos de arabinose, xilose, manose, glicose, ramnose, e galactose menores teores de cálcio ligado. A desordem fisiológica tipo tecido esponjoso provocou um amadurecimento desigual da polpa dos frutos no local da desordem e um elevado teor de fenólicos ácidos, o que provocou inibição de uma série de atividades enzimáticas importante para o metabolismo normal do fruto, além dos baixos teores de cálcio encontrados nestes mesocarpos. Acredita-se que esta seja devido a elevada percentagem de metoxilação, causada pela baixa atividade de enzimas hidrolíticas. O mecanismo que regula o desenvolvimento desta desordem permanece incerto, o que se conclui que possa estar associado com desbalanço nutricional, e com o envolvimento de outras atividades metabólicas secundárias conduzindo ao aumento da desordem no fruto.

ABSTRACT

LIMA, Luiz Carlos de Oliveira. **Biochemistry of the changes of mango 'Tommy Atkins' in occurrence of internal breakdown type spongy tissue.** Lavras: UFLA, 1997. (Thesis: Doctor of Science in Food Science)*.

Mango fruits of the cv. Tommy Atkins were obtained from Assu-Valley-RN state, harvested in the stage of physiological maturity with uniform external aspect. Immediately after harvesting and being subjective selected, the fruits were packaged and transported by airplane to Lavras-MG for analysis. A non-destructive (X - Ray) method of predicting the incidence of the disorder was utilized. The experiment was carried out in a randomized design and evaluated at five periods, T₁= zero; T₂= seven; T₃= fourteen; T₄= twenty one; T₅= twenty eight days of maturations and plotted or separated into in three groups : F₁ = healthy mesocarp fruits (control); F₂ = healthy mesocarp from fruits damaged by internal breakdown (spongy tissue); and F₃ internal breakdown damaged mesocarp all stored in cold room maintained at temperature of 12 °C (± 2 °C) and relative humidity (RH) of 88 % ± 3. Fruits were evaluated for firmness, pH, titratable acidity, soluble solids, total sugar, reducing sugar, sucrose, starch, vitamin C, total and soluble pectin, total calcium, polygalacturonase, pectinmethylesterase, celulase, phenylalanineammonia lyase, polyphenoloxidase, peroxidase and amylase activities. Cell wall material, was analysed for cellulose, total polyuronides, degree of esterification, bound calcium, and neutral sugar. Fruits F₂ and F₃ of all degree of maturation produced higher values of firmness, titratable acidity, total pectin, total phenolics, total calcium, greater activities of phenylalanine ammonia-lyase;

peroxidases, polyphenoloxidase and lower values of pH, contented of soluble solids, total sugar, sucrose, vitamin C, pectin soluble, amylase activities, pectinmetylerase, polygalacturonase and celulase, and carotenoids than fruits from F₁ treatment (control).

1 INTRODUÇÃO

Tem-se verificado no Brasil, um aumento significativo na incidência de uma desordem fisiológica em mangas conhecida como colapso interno da polpa tipo tecido esponjoso (spongy tissue), cuja ocorrência é maior nas variedades mais produtivas e portanto, líderes de mercado.

Os sintomas do tecido esponjoso não são aparentes durante o desenvolvimento do fruto, colheita ou estágio maduro. O tecido afetado somente é visível quando o fruto maduro é cortado, diferenciando-se do mesocarpo do fruto sadio por sua cor amarela pálida, textura macia, esponjosa ou coriácea, algumas vezes apresentando bolsa de ar, acompanhada de sabor, odor e cor inaceitáveis (Subramanyam et al. 1971; Joshi e Roy, 1985; Katrodia, 1988).

Esta desordem é conhecida desde 1932, porém a causa exata e as medidas de controle não são ainda conhecidas. Sabe-se porém que a ocorrência e a severidade dos sintomas dependem, além de fatores ecológicos, do estágio de maturidade, de deficiências nutricionais, da cultivar, de enzimas e da temperatura durante o armazenamento (Subramanyam et al. 1971; Limaye et al. 1976; Krishnamurthy e Rao, 1982). Entretanto, o estudo de desordens fisiológicas exige o conhecimento da seqüência de eventos metabólicos que conduzem ao desenvolvimento destas, para posterior controle das condições que as induzem.

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar as transformações químicas e bioquímicas no mesocarpo de frutos sadios e naqueles afetados pela desordem

fisiológica denominada de tecido esponjoso em mangas 'Tommy Atkins', durante o armazenamento refrigerado por 28 dias, sob condições de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura e $88 \pm 3\%$ de umidade relativa. Especificamente procurou-se verificar o mecanismo de desenvolvimento da desordem nos tecidos de mangas, durante o armazenamento através das modificações ocorridas na composição química do mesocarpo de mangas. Além disso procurou-se estudar o comportamento das enzimas, pectinases (pectinametilesterase poligalacturonases), amilases, celulasas, fenilalanina amônio-liase, fenolases e peroxidases no mesocarpo de mangas e quantificar as alterações ocorridas na composição da parede celular de frutos desordenados. durante o armazenamento e amadurecimento de mangas da cv. Tommy Atkins.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais sobre a manga

A manga (*Mangifera indica* L.), é um fruto dicotiledôneo da família Anacardiaceae, originada da Índia na região 'Indo-Burmese', sendo o segundo fruto tropical mais importante cultivado no mundo (Lizada, 1993). No entanto, sua distribuição a centros consumidores distantes, é limitada por sua curta vida pós-colheita (2 a 3 dias) em temperatura ambiente (Bleinroth, 1981).

A cultivar Tommy Atkins, apresenta árvores vigorosas, com copa densa e arredondada e produção regular. Os frutos são grandes, (com até 13 cm de comprimento e 580 g de peso médio), de forma oval-oblonga, ápice largo e arredondado, e inserção do pedúnculo levemente saliente. Quando maduros, apresentam casca de coloração arroxeadopúrpura, com marcante cerosidade e cor básica amarelo-alaranjado, com manchas vermelhas que variam do claro a escuro e que podem cobrir a maior parte da superfície. A casca é lisa, brilhante, grossa e resistente a danos mecânicos, apresentando lenticelas esparsas e bem visíveis. A polpa é de coloração amarela-médio a escuro, com textura firme, decorrente das fibras finas e abundantes, sendo o sabor muito suave e doce. A semente é pequena, perfazendo cerca de 8% do peso do fruto. A maturação é de meia-estação, (novembro - dezembro), sendo suscetível ao colapso interno do fruto (Donadio, 1980; Donadio et al. 1982).

O desenvolvimento do fruto segue um padrão de crescimento sigmoidal simples (Chitarra e Chitarra, 1990; Lisada, 1993), onde se observa um crescimento inicial rápido, seguido de um crescimento lento. No início, ocorrem sucessivas divisões celulares, alargamento celular, seguidos de maturação, amadurecimento e finalmente senescência, fazendo com que os frutos adquiram qualidade desejável para o consumo.

O climatério em mangas é marcado por um apreciável aumento na atividade de algumas enzimas, e o estudo do desenvolvimento do tecido esponjoso durante a maturação é baseado nas diferenças de composição química e bioquímica da polpa sadia e da polpa afetada com a desordem fisiológica.

Nas primeiras décadas deste século, o amadurecimento era explicado como um colapso progressivo da compartimentalização celular. Essa teoria de ‘resistência organizacional’ persistiu por bastante tempo. Porém, evidências foram sendo gradualmente acumulada mostrando que, o amadurecimento, é um processo coordenado que envolve tanto síntese quanto degradação (Chitarra e Chitarra, 1990; Hobson e Grierson, 1993), e que a organização celular, de modo geral, é preservada (Awad, 1993).

2.2. Transformações da manga durante a maturação

Durante a maturação, os frutos sofrem grandes transformações físicas e químicas que representam um extenso espectro de processos degradativos simultâneos ou seqüenciais, conduzindo ao aprimoramento dos atributos de qualidade, notadamente da pigmentação, da textura e do *flavor* (Tucker, 1993).

A indução e a evolução da maturação, são etapas controladas durante o ciclo da vida do

fruto, onde, enzimas específicas são sintetizadas ou ativadas, disparando ou acelerando os eventos metabólicos específicos. Com a maturação, observa-se aumento de matéria seca, dos teores de açúcares totais e redutores, diminuição da firmeza e da acidez total titulável, e desenvolvimento da cor e do *flavor* (Mattoo et al. 1975; Biale, 1975 e Wills et al. 1981).

A mudança mais importante durante a maturação de muitos frutos é a hidrólise de polímeros de amido e carboidratos, e sua conversão em açúcares solúveis, contribuindo para sabor agradável do fruto, a hidrólise de pectinas, das hemiceluloses da celulose da lamela média e da parede celular, provocando o amaciamento da maioria dos frutos.

2.2.1 Textura e pectinas

A textura é um dos principais atributos de qualidade em frutos, e as propriedades mecânicas de resistência dos tecidos se correlacionam com as características estruturais do conglomerado celular. A textura depende da coesividade, do tamanho, da forma e da turgidez das células que compõem o tecido (Awad, 1993).

O manuseio e o processamento de frutos exigem cuidados especiais, visto que o consumidor tem opinião bem formada e expectativas a respeito da textura. Os frutos tornam-se macios durante a maturação e o armazenamento, e estas modificações estão correlacionadas com as modificações nos componentes da parede celular.

Em frutos, a mudança mais evidente e intensivamente estudada da composição da parede celular, é a perda e solubilização dos polímeros de uronídeos, caracterizada pela conversão de protopectina insolúvel de alto peso molecular, para pectina solúvel (Melford e Prakash, 1986).

As pectinas são um dos principais constituintes da parede celular dos vegetais. Depositam-se principalmente na lamela média, sendo também os tecidos meristemático e parenquimatoso particularmente ricos em substâncias pécticas. Nos tecidos vegetais, elas se recombinaam com a hemicelulose, exercendo uma função de 'cimento intercelular' (Lisada, 1993).

O teor de pectina indica a consistência ou a textura do produto. O amadurecimento de mangas é caracterizado pelo amaciamento da sua polpa, sendo este processo de especial interesse para a conservação e o processamento industrial. Dentre as transformações químicas que a célula sofre durante a fase de maturação do fruto, a hidrólise de pectina é uma das mais intensas, enfraquecendo a complexa malha de polissacarídeos na parede celular, com perda de adesão entre as células, devido a solubilização das pectinas, com conseqüente perda de firmeza do fruto (Roe e Bruemmer, 1981).

Para se avaliar as mudanças texturais que ocorrem durante o amadurecimento, além da análise física realizada através do uso de texturômetro, faz-se também análises químicas dos componentes da parede celular (Gross, 1984).

Em mangas, ocorre um aumento nos poliuronídeos solúveis em água com o amadurecimento. As mudanças nestes polissacarídeos da parede celular são consideradas por terem um papel importante nas alterações de textura. Este amaciamento tem sido atribuído, principalmente, à hidrólise dos polissacarídeos da parede celular, à degradação enzimática da protopectina, e à solubilização de conteúdos celulares e da parede celular (Brinson et al, 1988).

2.2.2. Amido

O amido é um polímero formado por resíduos de glicose, constituído por 2 tipos de cadeias, uma linear, onde as glicoses são lineares unidas por ligações glicosídicas α (1-4) formando a amilose, e a outra por uma porção ramificada com ligações intermediárias α (1-4) α (1-6) denominada de amilopectina. Representa o maior carboidrato de armazenamento na pós-colheita. As mudanças biossintéticas ou hidrolítica na concentração de amido em frutos são extremamente importante durante este período. Sua conversão em açúcares solúveis é um importante evento do processo de amadurecimento, dando ao fruto sabor doce característico, bem como, precursor de muitos dos compostos aromáticos do *flavor*. O estudo do metabolismo deste no contexto pós-colheita, é de grande importância.

Em mangas, o período de crescimento é caracterizado por um aumento no teor de sólidos insolúveis em álcool, principalmente amido (Tandon e Kalra, 1983; Salunkhe e Desai, 1984). Porém, durante o processo de maturação, os níveis de amido decrescem no que são acompanhados por aumento na atividade das amilases (Fuchs, Pesis e Zauberman, 1980; Tandon e Kalra, 1983), com um rápido acúmulo de sólidos solúveis totais (SST).

2.2.3. Sólidos solúveis totais

A determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST), normalmente é feita com o objetivo de se ter uma estimativa da quantidade de açúcares presentes nos frutos, embora, medidos através de refratômetro, incluem, além dos açúcares, pectinas, sais e ácidos. Os SST

umentam nos frutos com o amadurecimento.

A porcentagem de SST na manga varia de 6,65 a 21,9 %, dependendo da cultivar e do estágio de maturação do fruto (Awasthi e Pandey, 1980; Natividad Ferrer, 1987). Algumas cultivares apresentam teores mais baixos como a 'Tommy Atkins', com 13,0 %, ou mais elevados como as cultivares Dashehari, Fazli, Langra e Chousa, com teores de até 20%, e Mallika com até 22 a 24% (Lakshminarayana, 1980; Medlicott, Reynolds e Thompson, 1986). Os SST em frutos são constituídos principalmente pelos açúcares solúveis.

2.2.4. Açúcares solúveis

Os teores de açúcares em mangas variam em função da cultivar, condições nutricionais, do solo, condições climáticas, estágio de maturação e temperatura de armazenamento. Os principais açúcares presentes são a glicose, a frutose e a sacarose. Durante o amadurecimento, os teores de glicose e frutose variam, enquanto que o de sacarose aumenta de três a quatro vezes, sendo, portanto, o principal açúcar contribuinte para a doçura da manga (Lakshminarayana, 1980).

Os açúcares constituem 91% dos sólidos solúveis do mesocarpo de mangas 'Ngowe' (Brinson et al. 1988), com variação entre as cultivares. A 'Haden', quando verde, apresenta teor de sólidos solúveis de 7,9%, atingindo com a maturação o nível de 14,15% (Hulme, 1974).

O teor de sacarose eleva-se nos últimos estágios de maturação (Subramanyam, Gowri e Krishnamurthy 1976; Fuchs, Pesis e Zauberman, 1980; Medlicott, Reynolds e Thompson, 1986; Selvaraj, Kumar e Pal 1989) de forma consistente com o aumento na atividade de enzimas glicogênicas no fruto maduro (Kumar e Selvaraj, 1990). Krishnamurthy e Subramanyam (1973),

verificaram um aumento simultâneo nos teores de glicose, frutose e sacarose para a cultivar 'Alphonso', enquanto que Vasquez-Salinas e Lakshminarayana, (1985), trabalhando com cultivares cultivadas na Florida, e Bisoli Junior (1992) com a Tommy Atkins, observaram uma redução gradual nos teores de glicose e frutose e, aumento contínuo no de sacarose durante a maturação.

Os teores de açúcares totais de mangas 'Carabao' maduras é um dos mais altos, excedendo a 20% (Peacock e Brown, 1984). Contudo, teores de 10 a 12% são reportados em outras cultivares tais como a 'Golek' (Lam, et al. 1982), sendo que estas diferenças são atribuídas ao grau de maturação, que, quando no ponto ótimo de qualidade comestível alcança o seu máximo.

2.2.5. Acidez total titulável e pH

Segundo Kramer, (1973), os dois métodos mais comumente usados para medir a acidez de frutos são a acidez total titulável (ATT) e o potencial hidrogeniônico (pH), sendo que o primeiro representa todos os grupamentos ácidos encontrados, (ácidos orgânicos livres e na forma de sais, compostos fenólicos), enquanto que o segundo determina a concentração hidrogeniônica da solução.

Para a maioria dos frutos tropicais o teor de ácidos orgânicos diminui com o amadurecimento. Este decréscimo é devido a utilização desses no ciclo de Krebs, durante o processo respiratório (Hulme, 1974)

Em várias cultivares de manga a acidez titulável declina de 1,5 g/100g no estágio pré-climatérico para 0,4 g/ 100g no pós-climatérico (Morga et al.1979; Medlicott e Thompson, 1985;

Selvaraj e Kumar, 1989). Embora algumas cultivares apresentem teor de acidez mais elevado, como por exemplo a 'Alphonso', com aproximadamente 3% de acidez titulável, outras, tais como a 'Tommy Atkins', apresentam baixa acidez (0,5 a 1,0 %), onde o ácido orgânico predominante é o ácido cítrico, seguido pelo málico e pelo oxálico (Lakshminarayana, 1980). A acidez é usualmente calculada com base no principal ácido presente, expressando-se o resultado em percentagem.

Em mangas, há redução da acidez, acompanhada do aumento do pH (Mattoo et al. 1975). Quando a maturação é normal, no fruto sadio, o ácido predominante (ácido cítrico) praticamente desaparece, sendo a acidez remanescente devida aos fenólicos ácidos, como o ácido quínico, ácido clorogênico e ácido neoclorogênico.

A manga é considerada um fruto ácido, com a maioria das cultivares apresentando valores de pH abaixo de 4,5 (Berniz, 1984). Durante o amadurecimento há diminuição da acidez, e conseqüentemente aumento do pH, (Mattoo 1975).

Nos frutos afetados com a desordem fisiológica, Smagula e Bramlage, (1977), observaram acúmulo de acetaldeído no local e proximidades da desordem, tornando esta porção mais ácida, e concluíram que este aumento de concentração é de grande importância na deterioração fisiológica de frutos e outros tecidos vegetais.

2.2.6. Compostos fenólicos

Os fenólicos representam um dos mais abundantes grupos de compostos encontrados na natureza e são de particular interesse na fisiologia pós-colheita por causa de seus papéis no desenvolvimento da cor e do *flavor* (Chitarra e Chitarra, 1990).

Em plantas, são geralmente substâncias ácidas constituídas de anél aromático com grupos OH que rapidamente formam pontes de hidrogênio com outras moléculas. Frequentemente, eles interagem com ligações peptídicas de proteínas e quando as proteínas são enzimas, esta interação geralmente resulta em inativação, um problema comumente encontrado no estudo de enzimas de plantas (Goodwin e Mercer, 1986).

Os fenólicos são usualmente divididos em 3 classes com base no número de anéis aromáticos (fenólicos), presentes. Os mais simples (monoméricos) são monocíclicos como os fenóis, o catecol, a hidroquinona e o ácido p-OH-cinâmico. Os dicíclicos (oligoméricos) tais como os flavonóides tem 2 anéis fenólicos, enquanto que os remanescentes são policíclicos ou polifenóis (Goldstein e Swain, 1963; Lisada, 1993). De acordo com a sua estrutura química e concentração, contribuem para as características de acidez, amargor, coloração e adstringência de frutos e hortaliças, além de inibirem a atividade de enzimas (Beert, Raghuramayah e Krishnamurthy, 1976)

Goldstein e Swain, (1963), Saeed, Karamalla e Khattab, (1976), Kays, (1991), sugeriram que apenas as formas oligoméricas são adstringentes. A perda desta característica é uma das principais mudanças que ocorrem durante o amadurecimento de frutos, sendo esta propriedade relacionada com o teor de taninos.

Em mangas, predominam as formas mais simples (monoméricas), embora outras formas existam principalmente na fase pré-climatérica (Park et al, 1980). Os compostos fenólicos de baixo peso molecular, incluindo os precursores de taninos são aparentemente muito pequenos para formar ligações cruzadas suficientemente efetivas, sendo, portanto, não adstringentes.

Vários fatores fisiológicos afetam a síntese de fenólicos, incluindo a luz, a temperatura, os carboidratos celulares, minerais, e quantidade de água, sendo a resposta variável com o fenol específico e espécies em questão. O conhecimento da biossíntese de flavonóides é importante porque eles influenciam não só na qualidade, mas também no desenvolvimento fisiológico e mecanismo de defesa do fruto (Cheng e Breen, 1991).

Outra importante resposta desses compostos na pós-colheita é o escurecimento dos tecidos, em resposta a injúrias tais como cortes, amassaduras, etc e à desordens fisiológicas. A injúria pode ocorrer durante a colheita, manuseio, ou armazenamento, resultando na quebra de resistência organizacional entre substâncias e enzimas dentro da célula. Quando o escurecimento ocorre, os constituintes fenólicos são oxidados por enzimas específicas, produzindo quinonas ou produtos semelhantes a quinona, que polimerizam-se, formando pigmentos marrons. Esses polímeros escuros insaturados são geralmente chamados de melaninas ou melanoidinas. A quantidade e compostos liberados é importante quando os substratos são ácido clorogênico, ácido neoclorogênico, catecol, tirosina, ácido cafeico, fenilalanina, protocatequina, e dopamina.

As pesquisas sobre a descoloração fenólica têm focalizado os constituintes celulares responsáveis pelo escurecimento e as técnicas de manuseio e armazenamento que possam ser usadas para prevenir o escurecimento.

As mangas quando verdes são adstringentes e algumas cultivares apresentam teores de fenólicos na faixa de 18,0 a 20,0 mg/100g. Estes valores diminuem com o avanço da maturação atingindo 6,0 a 4,0 mg/100g (Goldstein e Swain, 1963; Selvaraj e Kumar, 1989). Gunjate et al., (1981); Gupta et al. (1985), observaram que em mangas da cv. Alphonso afetadas com tecido esponjoso que estes teores não decresciam mas, mantinham-se elevados em relação ao tecido sadio, com o avanço do amadurecimento.

2.2.7. Carotenóides totais

Os pigmentos naturais responsáveis pela coloração de frutos e hortaliças incluem um número muito grande de compostos químicos classificados em três principais grupos: clorofilas, carotenóides e pigmentos flavonóides (antocianinas) (Salunkhe, Bolin e Reddy, 1991).

A cor, é reconhecidamente um importante critério de avaliação da qualidade e aceitabilidade por parte do consumidor. Em mangas, a cor da casca é um importante critério de aceitabilidade. Durante a maturação, a cor da casca muda gradualmente de verde para avermelhado/amarelado. Algumas cultivares desenvolvem uma coloração avermelhada brilhante que tem sido atribuída a antocianinas, enquanto outras, retêm uma maior proporção de cor verde, embora estejam completamente maduras. Na cultivar Tommy Atkins, observa-se uma rápida destruição de clorofila, sendo a clorofila-a preferencialmente degradada em relação a clorofila-b (Medlicott, Reynolds e Thompson, 1986).

A síntese de carotenóides, em mangas, provem da mesma via biossintética estabelecida em outras espécies, e cerca de dezesseis diferentes hidrocarbonetos e oxicarotenóides foram identificados, sendo que o β - caroteno predomina no fruto totalmente maduro. Teores de antocianina (peonidina-3-galactosídeo), também foram detectados em algumas cultivares (Salunkhe, Bolin e Reddy, 1991).

Modi, Reddy e Shah (1965) e Mattoo Modi e Reddy (1968), apresentaram evidências sobre o papel do ácido mevalônico e do geraniol na carotenogênese em mangas. Como na casca, a síntese de carotenóides na polpa é acompanhada por mudanças na estrutura dos plastídeos. As estruturas tubulares visíveis nos plastídeos de fruto verdes são perdidos com o amadurecimento do fruto, enquanto glóbulos osmofílicos aumentam em tamanho e em número (Parikh, Nair e

Modi, 1990). O teor de carotenoides em mangas da cultivar Tommy Atkins é superior a 5000 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de peso fresco (Medlicott, Reynolds e Thompson, 1986). As cultivares indianas também atingem o máximo de desenvolvimento da cor no período coincidente com a maturidade comestível (Selvaraj e Kumar, 1989).

A temperatura e o fotoperíodo durante o desenvolvimento e amadurecimento influenciam tanto a velocidade quanto a extensão das modificações de cor do fruto. Mangas oriundas de regiões tropicais são mais ricas em pigmentos (β - caroteno). Temperaturas entre 5 e 10 °C inibem a completa síntese de carotenóides, e acima de 30 °C, favorecem o acúmulo de β - caroteno (Medlicott, Reynolds e Thompson, 1986).

Mangas da cv. Alphonso, afetadas com tecido esponjoso apresentaram um teor ($\mu\text{g}/100\text{g}$) reduzido de aproximadamente 5000 $\mu\text{g}/100\text{g}$ em relação ao fruto sadio, com 8700 $\mu\text{g}/100\text{g}$, devido possivelmente a uma inativação dos sistemas de amadurecimento, e acúmulo de fenólicos, ou outros tipos de inibidores na polpa da manga afetada (Gunjate et al, 1982; Chhatpar, Modi e Vasvada, 1968-69; Subramanyam et al, 1971; Katrodia, Rane e Salunkhe, 1988).

Em um trabalho de revisão, Wainwright e Burbage, (1989), relatam que mangas afetadas com tecido esponjoso, apresentaram teores reduzidos de carotenoides e β - caroteno. Concluíram entretanto que estas determinações tem dado pouca indicação da causa ou de possíveis soluções para se determinar a(s) causa(s) da(s) desordem(ns) em mangas.

2.2.8. Vitamina C total

Os frutos constituem a fonte natural mais importante de vitamina C (ác. ascórbico) para os seres humanos, e os que se destacam pelo alto conteúdo desse ácido são: acerola, cajú, mamão, goiaba, citrus, morango, manga, caqui, kiwi, maracujá e tomate (Awad, 1993).

As mangas quando verdes são adstringentes, ácidas e ricas em vitamina C, entretanto quando amadurecem são doces, ricas em pro-vitamina A, moderadas em vitamina C e altamente aromáticas (Lakshiminarayana, 1980). O solo, o clima, o regime pluvial, o grau de maturação e a temperatura de armazenamento influem na composição vitamínica do alimento. Fonseca et al. (1969), analisando o teor vitamínico de seis variedades de mangas maduras cultivadas no Brasil, encontraram variações de 11 a 73 mg/100g, enquanto que em 50 variedades de mangas maduras produzidas na Flórida, os teores variaram entre 13 e 178 mg/100g (Singh, citado por Hulme, 1974), e em cultivares produzidas em Porto Rico entre 6 a 63 mg/100g, (George et al, citado por Hulme, 1974).

Com o avanço da maturação, o teor de vitamina C tende a diminuir. Lakshiminarayana, (1980), observou este comportamento trabalhando com manga 'Alphonso' produzida na Índia. Da sexta semana após a formação do fruto até a maturação, verificou uma redução de 192 para 96 mg de vit C/100g de polpa.

Os teores de vitamina C em mangas cv. Alphonso, afetadas com a desordem fisiológica, apresentam resultados controversos Subramanyam et al. (1971), encontraram valores na colheita mais elevados em mesocarpo sadio de 78,04 para 60,66 mg/100g enquanto que no fruto maduro afetado com a desordem fisiológica foi de 80 mg/100g de tecido. Em tecido esponjoso, a atividade de ácido ascórbico oxidase (AAO) é cerca de 7 vezes maior do que no tecido sadio, e

como consequência apresenta, menores quantidades de ácido ascórbico Gunjate et al. 1982; Katrodia 1988; Gupta et al. 1985).

2.3 Conservação pós-colheita

A conservação de mangas tem sido amplamente estudada e o uso de refrigeração durante o armazenamento prolonga sua vida pós-colheita, permitindo a exportação por meios de transporte menos honerosos, possibilitando, dessa forma, a sua competição com os demais frutos no mercado internacional (Sampaio, 1980). A faixa de temperatura para o amadurecimento de manga com melhor qualidade varia de 19 °C a 24 °C (Medlicott, Reynolds e Thompson, 1986). No entanto, para ampliar o período de conservação, recomenda-se o emprego de temperaturas em torno de 13°C e umidade relativa variável de 85 a 90%, como condições ideais para um grande número de cultivares, principalmente quando colhidas no pré-climatério (Bleinroth, 1981; Peacock et al. 1986; Esgueira e Lizada, 1990).

O grau de maturação, segundo Medlicott, Sigrist e Sy, (1990), exerce influência na conservação do fruto. Quando armazenados verdes, a 12°C durante 21 dias, apresentam melhor capacidade de armazenamento que os medianamente maduros e maduros. Os autores observaram ainda que a transferência de frutos verdes após o armazenamento, para temperatura de 25°C, torna-os impróprios para a comercialização, devido a desordens causadas pelo excesso de frio.

De modo geral, frutos submetidos a baixa temperatura apresentam a maioria dos constituintes químicos com teores semelhantes aos frutos não refrigerados, com exceção feita ao β -caroteno e carotenóides totais, que apresentam teores menores nos frutos refrigerados e certa

depreciação no *flavor* Salunkhe e Desai, (1984); Vasquez-Salinas e Lakshminarayana, 1985; Medlicott, Reynolds e Thompson, 1986)

A cultivar Haden armazenada nas temperaturas de 16, 18, 20, 22 e 28°C apresentou, quando madura, variações de 0,9 a 1,3% para glicose, de 2,2 a 3,2% para frutose e de 8,6 a 13,3% para sacarose. Entretanto, a cultivar Keitt armazenada nas mesmas condições, apresentou menores teores de glicose (0,2 a 0,9 %) e teores mais elevados de frutose (3,7 a 4,9 %) e sacarose (9,0 a 13,2 %), conforme verificado por Vasquez-Salinas e Lakshminarayana (1985); e por Castrillo Kruger e Whatley, (1992).

A temperatura de armazenamento influencia na composição em vitamina C, fato confirmado por Vasquez-Salinas e Lakshminarayana (1985), que trabalharam com mangas das cultivares Haden, Irwin, Kent e Keitt armazenadas a 16, 18, 20, 22 e 28°C. Os autores observaram menores teores de vitamina C à 28°C, e na Kent, uma maior concentração de vitamina C em todas as temperaturas utilizadas.

2.4. Parede celular

2.4.1. Importância funcional

A parede celular de frutos tem recebido considerável atenção devido as mudanças que ocorrem durante a maturação. O amaciamento de frutos durante o amadurecimento é frequentemente atribuído a um grande número de enzimas hidrolíticas da parede celular, que atuam principalmente no rompimento das ligações glicosídicas dos polissacarídeos (Pressey e Avants, 1982).

O componente mais resistente dos tecidos é a parede celular, que consiste de microfibrilas de celulose embebidas em matriz polissacarídica flexível. As células são mantidas unidas pela laméda média, constituída principalmente por substâncias pécticas, que fornecem a coesão necessária para manter a unidade estrutural da parede celular.

A parede celular e a lamela média de frutos contém celulose, pectina, proteína, arabinogalactanas e pequenas quantidades de resíduos de xilose e manose, os quais são característicos de polissacarídeos hemicelulósicos. A hidrólise destes componentes produz uma série de compostos. Os aminoácidos presentes são característicos de proteínas da parede celular. Por outro lado, contém uma alta proporção de resíduos de ácidos galacturônico e açúcares neutros como galactose e arabinose, os quais são típicos de polissacarídeos pécticos de glicose de celulose (Knee et al. 1973; Mitcham e McDonald, 1992)

Nas paredes celulares primárias, existem proporções semelhantes de pectinas, hemiceluloses e celulose. De modo simplificado, a celulose tem função de conferir rigidez e resistência ao cisalhamento, enquanto que as hemiceluloses e as substâncias pécticas conferem plasticidade e elasticidade Goodwin e Mercer, 1986).

A lamela média pode ser considerada uma extensão da parede primária que não contém celulose. Nessa porção, as substâncias pécticas são polímeros predominantes. Como contribuem para a resistência mecânica da parede e para a adesão entre as células, qualquer modificação nas características destas resulta em alterações na textura dos frutos (Van Buren, 1979)

Em mangas, tem sido observado uma substancial perda de firmeza durante o amadurecimento. O amaciamento que ocorre é primariamente devido à mudança no metabolismo dos carboidratos da parede celular, resultando numa diminuição líquida em certos componentes estruturais.

Em frutos, uma grande variedade de cadeias laterais são encontradas unidas à resíduos da cadeia principal das substâncias pécticas. Estas cadeias laterais são constituídas de açúcares neutros, tais como ramnose, fucose, arabinose, xilose, manose, galactose e glicose, podendo formar cadeias grandes e se unirem à porção celulósica da parede celular.

Arabinose, galactose e ramnose são os principais açúcares neutros componentes de polissacarídeos pécticos, sendo a arabinose e galactose o componente não celulósico encontrado em maior quantidade em mangas (Brinson et al. 1988; Mitcham e Mc Donald, 1992).

2.4.2. Estrutura

Os constituintes da parede celular de vegetais são depositados em várias camadas. O primeiro material formado é encontrado na região onde a parede de uma célula se une à da célula vizinha, e o último encontra-se próximo ao plasmalema (Brett e Waldron, 1990).

No tecido parenquimatoso de frutos comestíveis, a camada mais externa é a lamela média (LM), que é a primeira a ser depositada na divisão celular oriunda da placa celular. Une células adjacentes, agindo como uma espécie de cimento entre elas. A LM é composta principalmente por substâncias pécticas e tem influência decisiva na textura (Fischer, Arrigoni e Amadò, 1994). Devido ao tipo de polímeros que a compõem, a LM é uma camada amorfa. A camada seguinte é a parede celular primária, que é depositada durante a divisão celular do fruto enquanto a célula está crescendo. Possui um grau de organização mais alto do que a LM. É relativamente fina e apresenta em sua composição principalmente pectina, celulose, hemicelulose e algumas proteínas (Brett e Waldron, 1990).

Em meio aquoso, as cadeias de polissacarídeos da parede celular interagem não covalentemente para formar uma malha contínua, tridimensional, que imobiliza água. Existem dois tipos de regiões nas cadeias polissacarídicas do gel : regiões abertas, hidratadas, não associadas e regiões conhecidas como “zonas de junção”, nas quais conformações complementares de duas ou mais cadeias permitem a associação entre fragmentos restritos. Essas zonas de junção são estabilizadas por ligações de hidrogênio intermoleculares ou por forças iônicas. Quanto maior o número e a extensão das zonas de junção, maior a rigidez do gel. As zonas de junção podem ser delimitadas por características estruturais que introduzam irregularidades na cadeia do polímero, como modificações na sequência de monossacarídeos ou no tipo de ligação entre os resíduos, ou na conformação do anél, a presença de cadeias laterais volumosas e a presença de resíduos carregados mutuamente repulsivos (Bacic, Harris e Stone, 1988).

As rhamnogalacturonanas são polissacarídeos aniônicos de reconhecida capacidade de formar gel. Em solução, o esqueleto de galacturonana assume a conformação de dupla hélice que permite que íons cálcio se liguem de maneira cooperativa a grupos carboxílicos de segmentos não esterificados e não ramificados de cadeias adjacentes. A zona de junção formada, em modelo denominado *egg-box*, estabiliza o gel (Fry, 1986; Melford e Prakash 1986; Bacic, Harris e Stone, 1988).

Resíduos de ramnose interrompem as zonas de junção através da alteração na conformação da cadeia, e a esterificação dos grupos carboxílicos impede a formação das pontes de cálcio (Bacic, Harris e Stone, 1988)

A **d**esesterificação enzimática das galacturonanas, que resulta na formação de blocos não esterificados, favorece a formação das zonas de junção. São necessários sete ou mais grupos

carboxílicos livres ao longo de cada face participante da junção (Knee e Bartley, 1981; Markovic e Kohn, 1984).

2.4.3. Composição

As substâncias pécticas são formadas principalmente por polímeros de ácido galacturônico, esterificados ou não, cuja linearidade é interrompida pela inserção de resíduos de rhamnose, aos quais se ligam cadeias de açúcares neutros (Fishman, 1992).

Um esqueleto básico de α - 1,4 galacturonana entremeado com resíduos de ramnose em ligações 2 - e 2,4. Os resíduos de ramnose podem servir de pontes de ramificação, onde se ligam cadeias laterais de açúcares neutros, principalmente arabinose e galactose. Mais da metade dos grupos carboxílicos C₆ dos resíduos de ácido galacturônico encontram-se esterificados com grupos metil. As carboxilas livres desses resíduos podem estar ainda envolvidas em ligações inter ou intra-polímeros por pontes de cálcio (Gross, 1990; Hobson e Grierson, 1993).

Os polímeros que constituem a matriz da parede celular são moléculas polihidroxiladas, hidrofílicas, poli-iônicas e, no tecido vivo, altamente hidratadas. No entanto, a matriz é insolúvel em água e bastante consistente. Isto sugere que existem associações entre os polímeros, que os tornam insolúveis (Fry, 1986). As associações podem ser químicas ou covalentes, físicas ou não covalentes, ou de ambos os tipos (Bacic, Harris e Stone, 1988).

A natureza polihidroxílica dos principais polímeros possibilita a formação de inúmeras pontes de hidrogênio na parede celular (Brett e Waldron, 1990). Essas ligações tornam-se estruturalmente importantes quando ocorrem em grande quantidade entre duas macromoléculas

como nas microfibrilas de celulose. O grande número de pontes de hidrogênio que se forma entre a superfície das microfibrilas e as hemiceluloses é um dos principais fatores que as mantêm na matriz.

Usualmente, distinguem-se dois tipos de pectina de acordo com a sua localização na matriz da parede celular (Selvendran e O'Neil, 1997) : - os polímeros pécticos da laméla média (LM) são essencialmente lineares com apenas cadeias laterais curtas consistindo de diferentes açúcares neutros, principalmente arabinose e galactose, que são presos aos resíduos de ramnose da cadeia de ramnogalacturonanas. Apresentam em geral, alto grau de metilesterificação (GE). As cadeias de ramnogalacturonanas são formadas de regiões com resíduos não esterificados e altamente ramificados. As regiões não esterificadas são mantidas juntas por ligações com íons cálcio, e assim, podem ser extraídas por agentes quelantes que promovem o cálcio por complexação. Os polímeros pécticos da parede celular primária são mais altamente ramificados e as cadeias laterais são mais longas. A cadeia de ramnogalacturonanas tem baixo GE.

Entre as substâncias pécticas encontram-se ainda homopolímeros como homogalacturonanas, galactanas e arabinanas, estes últimos altamente ramificados. Arabinogalactanas, compostas por cadeias de galactanas com ramificações curtas de arabinana, podem existir na parede como moléculas independentes ou como cadeias laterais das ramnogalacturonanas. Alguns resíduos de arabinose e galactose podem ligar-se a ácido ferúlico e envolver-se em ligações cruzadas na parede celular (Brett e Waldron, 1990).

As cadeias laterais de açúcares neutros tendem a formar blocos que resultam em regiões muito ramificadas e ligam pectinas com hemicelulose (Mangas et al., 1992).

Melford e Prakash, (1986), propõem que as frações pécticas estejam fortemente ligadas por pontes de hidrogênio às xiloglucanas, e Mitcham e Mc Donald, (1992), encontraram

quantidade relativamente grande de complexo pectina-xilana em mangas 'Tommy Atkins' e 'Keitt'.

Nas substâncias pécticas com GE superior a 40%, o cálcio intramolecular ligado eletrostaticamente, apresenta distribuição aleatória, enquanto que em substâncias pécticas com GE inferior a 40 %, a ligação eletrostática muda para uma forma mais forte de ligação quelante (Markovic e Kohn 1984). Estes autores tentam explicar a relação entre o cálcio ligado e o GE das pectinas, acrescentando que o coeficiente de atividade do cálcio é uma função complexa de densidade linear de cargas, isto é, da distância média entre dois grupos COO^- livres vizinhos.

Em tomates, os dados sobre esterificação de pectina variam consideravelmente, principalmente em função do método empregado e da cultivar analisada. Por exemplo, Pressey e Avants, (1982) afirmaram que as pectinas da parede celular de tomates têm 47% de esterificação no estágio maduro e permanecem assim até o final do amadurecimento.

Tem sido sugerido que, pelo menos, dois grupos carboxilas livres adjacentes são necessários para ocorrer a ação da poligalacturonase. Esta característica para a desesterificação sugere que a hidrólise de pectina em tecidos de plantas pode ser controlada pela pectinametilesterase. Entretanto, não há evidências fortes de que a pectinametilesterase seja o único fator controlador do amolecimento de frutos. Quando as moléculas são desesterificadas podem originar grupos carboxilas carregados negativamente que se repelem entre si causando solubilização dos complexos. Poliuronídeos com baixo grau de esterificação formam elevado número de ligações com cálcio, dando origem a complexos estáveis, entretanto, quando desesterificados são fortemente afetados.

Em maçãs, Knee (1973, 1978) Knee e Bartley, (1981), observaram aumento no grau de esterificação da pectina solúvel em água sem qualquer mudança na esterificação das substâncias

pécticas da parede celular como um todo. Estes pesquisadores sugeriram que, durante o amadurecimento uma nova pectina altamente esterificada é trocada pela pectina original da lamela média, que é degradada durante o processo.

Pouco se conhece sobre o comportamento de outros polissacarídeos da parede celular de frutos, além das substâncias pécticas. O metabolismo da celulose tem sido extensivamente estudado em abacate (Pesis, Fuchs e Zauberman, 1978), e apontado como uma importante característica do processo de amaciamento durante o amadurecimento.

A fase microfibrilar, com alto grau de cristalinidade possui composição relativamente homogênea e consiste de moléculas de celulose alinhadas paralelamente em feixes que, agrupados, constituem as microfibrilas, que se agregam numa malha altamente estruturada e estável ao redor da qual se organizam os outros polímeros, que formam o gel da matriz (Brett e Waldron, 1990).

As hemiceluloses são polímeros formados por diferentes açúcares neutros, como xilose, glicose, fucose e manose. Esses açúcares polimerizam-se de formas diversas, produzindo xiloglucanas, glucomanas, ou galactoglucomanas.

Modelos estruturais da parede celular de plantas superiores, segundo Albersheim, (1976) e Monro et al, (1976), citados por Huber (1983), têm hemiceluloses ligando celulose e polissacarídeos pécticos. A relação entre a hidrólise de poliuronídeo, atividade endo-D-galacturonase e mudanças de peso molecular da hemicelulose, levantam a possibilidade de que o último, pode representar um importante fator do metabolismo da parede celular, em amadurecimento de frutos.

Isherwood, (1970), descreveu as hemiceluloses como polissacarídeos de açúcares neutros, extraídos por soluções alcalinas do resíduo de material da parede celular, após a remoção das substâncias pécticas. Junto com as substâncias pécticas, as hemiceluloses constituem o

polímero da matéria seca não celulósica, da parede celular primária.

Freqüentemente, a cadeia principal de um tipo particular de hemicelulose é composta principalmente de um tipo de monossacarídeo, relata Van Buren, (1979). Parece que estas cadeias principais ou internas têm preponderância de outro tipo de açúcar, como cadeias laterais. Como, por exemplo, elas têm uma xiloglucana e onde a xilose é a cadeia lateral, ou uma arbinogalactana onde a arabinose é a cadeia lateral.

As cadeias principais ou internas participam da formação de complexos não covalentes com as cadeias principais de outras moléculas de polímeros. De particular importância é a habilidade dos complexos de xilanas e glucanas se complexarem com celulose, portanto, unem fibrilas de celulose aos materiais da matriz.

Durante o processo de amadurecimento, com o amaciamento do fruto, além da redução no conteúdo de pectina, há uma diminuição no conteúdo de açúcares neutros não celulósicos da parede celular.

A hidrólise de polímeros de açúcares neutros pode enfraquecer a complexa rede de polissacarídeos, os quais compreendem a parede celular, contribuindo diretamente para a perda de firmeza do fruto. Além disso, a modificação de cadeias laterais de açúcares neutros pode afetar a atividade das poligalacturonases em cadeias principais de poliuronídeos (Gross e Wallner 1979). Esta modificação mais freqüentemente envolve galactose e/ou arabinose. Ahmed e Labavitch, (1980), relatam que a maior perda ocorre em relação a arabinose e a mesma, chega a representar aproximadamente 50% dos açúcares neutros não-celulósicos da parede do fruto firme. Este fato é confirmado por Gross, (1984), ao mostrar, em 17 tipos de frutos analisados durante o amadurecimento, a composição dos açúcares neutros não-celulósicos das paredes celulares, sendo

que a arabinose apresentava-se como o principal componente não-celulósico nos frutos de polpa. Em 15 dos 17 tipos de frutos houve uma perda líquida de resíduos de açúcares neutros durante o amadurecimento.

Gross e Wallner (1979), observaram que a diminuição dos conteúdos de galactose e arabinose pode ocorrer sem solubilização de poliuronídeo, mas, a solubilização de poliuronídeo, sem a perda destes açúcares neutros, não tem sido observada.

Huber (1984), trabalhando com morangos, observou em análise composicional das hemiceluloses, a presença de arabinose, galactose, xilose e glicose como principais componentes, apresentando uma perda líquida de arabinose, galactose e ramnose no início do amadurecimento, que se intensifica com a progressão deste. A ramnose apresentou o maior aumento de solubilidade com o amadurecimento.

Tem sido proposto por autores como Kunegt et al. Sanamiura et al. e Knee, citados por Huber, (1984), uma relação entre síntese e a solubilidade de poliuronídeos durante o amadurecimento. Apesar dos dois eventos poderem estar relacionados, ainda não estão bem esclarecidos, entretanto, não se pode desprezar o fato, de que o tecido durante o amadurecimento exibe uma perda na sua capacidade para converter os poliuronídeos que foram novamente sintetizados, a uma forma de ligação mais firme.

Gross, (1984), alerta que há substancial variação na composição da parede celular de frutos dos vários grupos botânicos, devendo-se evitar generalizações sobre o metabolismo do amaciamento dos diferentes frutos. Em células de dicotiledôneas, em geral, a principal hemicelulose é a xiloglucana, constituída por um esqueleto de β (1,4) - glicose. À maioria dos

resíduos de glicose unem-se resíduos de xilose em ligação α (1,6), aos quais podem se ligar resíduos de galactose e arabinose (Brett e Waldron, 1990).

As hemicelulases não têm sido extensamente encontradas em plantas superiores, por outro lado, um número suficiente de enzimas em frutos tem sido considerado, tais como β -galactosidases em maçãs (Bartley, 1976), mangas (Ali Armugam e Lazan 1995).

As proteínas da parede celular (p.c.) representam de 5 a 10% da sua composição e são divididas em 2 classes : proteínas enzimáticas e estruturais. Durante o início do amadurecimento de vários frutos climatéricos, tem sido mostrado que os teores de proteínas aumentam (Hulme, 1974), e sua principal função no metabolismo é como enzimas, catalizando reações biológicas.

A maioria das proteínas de parede celular é glicosilada. A glicoproteína mais estudada é conhecida como extensina, sendo constituída de aproximadamente 40% do aminoácido hidroxiprolina, que geralmente não é encontrado nas proteínas citoplasmáticas, além de serina e lisina (Brett e Waldron, 1990)

A parede celular de mangas contém cerca de 1% de hidroxiprolina nos primeiros estádios de desenvolvimento do fruto, aumentando cerca de 8 vezes durante o amadurecimento. O aumento das ligações cruzadas entre polissacarídeos de parede celular pela proteína rica em hidroxiprolina, parece ser a causa da paralização da expansão celular em mangas, Parikh, Nair e Modi, (1990). Estas interações podem ser reguladas pelas mudanças de pH da p.c. e Ca^{2+} e assim alterar sua estrutura. Os resíduos de lisina podem formar bases de schiff com polissacarídeos que podem ser alteradas reversivelmente por mudanças no pH da p.c (Brett e Waldron, 1990).

O cálcio têm sido aplicado em frutos antes e após a colheita para prevenir numerosas desordens fisiológicas e patológicas, retardar a senescência devido à redução na microviscosidade das membranas associada com a senescência, e na manutenção da integridade da membrana

durante o amaciamento de frutos (Poovaiah, 1986; Poovaiah, Glenn e Reddy, 1988).

Em mangas, os níveis de cálcio total e ligado sofreram variações durante o período pós-colheita, indicando que a concentração deste elemento está associado com o processo de amadurecimento, (Singh, Tandon e Kalra, 1993).

O cálcio ocorre em tecidos na forma livre ou ligado a grupos carboxílicos de pectinas, e de fenólicos (Ricardo, 1983). A maior porção do cálcio dos tecidos encontra-se imobilizado no apoplasto (parede celular e espaços intercelulares), nos vacúolos ou em associação com as membranas e certas organelas, como mitocôndrias e cloroplastos (Poovaiah, 1986; Poovaiah, Glenn e Reddy, 1988).

Sendo o cálcio um constituinte normal da parede celular-lamela média, a relação entre cálcio e a parede celular pode explicar, parcialmente, a manutenção da firmeza e o aumento da resistência à invasão por certos microrganismos (Conway, Sams e Watada, 1995).

A presença de cálcio além de conferir insolubilidade ao material péctico, inibe a degradação pela poligalacturonase, uma vez que o pectato de cálcio formado é resistente à ação desta enzima (Heppler e Wayne, 1985; Burns e Pressey, 1987).

As ligações cruzadas envolvendo o cálcio com os polímeros da parede celular, têm sido citadas como sendo o mecanismo que controla o amaciamento em tomates (Poovaiah e Nukaya, 1979).

O cálcio pode estabilizar e fortalecer a parede celular pela ligação com grupos carboxílicos livres nos polímeros de poligalacturonato, resultando em elevada coesão intercelular e retardando a solubilização enzimática de poliuronídeos da lamela média (Conway e Sams, 1983). De fato, tem-se sugerido que em plantas, muitos dos processos fisiológicos estão sobre o

controle do cálcio, e que o mesmo é mensageiro secundário na sinalização transmembrana para hormônios, luz e outros estímulos ambientais (Dieter, 1984). A ação de hormônios em plantas na regulação de crescimento ou senescência pode ser modulado pela presença de Ca^{2+} , mas efeitos inibitórios podem ocorrer com altas concentrações também no citoplasma.

O cálcio tem sido relatado como um importante fator no desencadear da maturação de frutos, conferindo insolubilidade ao material péctico, inibindo a atividade da poligalacturonase (PG), uma vez que o pectato formado é resistente à degradação pela PG (Heppler e Wayne, 1985; Burns e Pressey, 1987). O modelo mais aceito de ligação do cálcio aos poligalacturonatos é o do tipo *egg box* que envolve equilíbrio positivo. Todavia, o alto nível de esterificação de poliuronídeos em muitas paredes celulares pode ser o responsável pela formação de extensivas zonas de ligação no modelo *egg box*. O processo de ligação do cálcio com a parede celular de tecidos de plantas tem sido proposto por vários modelos e ocorre através de ligações iônicas dos grupos carboxilas livres dos polímeros de ácidos urônicos existentes na parede celular.

Nos vegetais, o cálcio encontra-se normalmente na parede celular formando ligações entre resíduos de ácido galacturônico, o que é responsável pela união de cadeias pecticas adjacentes.

Durante o processo normal de maturação dos frutos os cátions são translocados para as zonas de crescimento da planta (Marschiner, 1978). Isto tem sido associado à solubilização de material péctico da lamela média, causando o amolecimento do fruto (Fils-Lycaon e Buret 1990).

2.5 Atividade enzimática

2.5.1 Pectinases (PME e PG)

Na maioria dos frutos, a fração solúvel das substâncias pécticas aumenta durante o processo de amadurecimento, num processo atribuído à ação de enzimas pectolíticas (Gross e Wallner, 1979).

A hidrólise de moléculas de pectina envolve a ação de dois tipos de enzimas: Pectinesterase - (PE), também conhecida como pectinametilsterase - (PME) e Poligalacturonase - (PG). A PME catalisa a remoção de ésteres metilados do C₆, tornando a molécula insolúvel de pectina (protopectina) linear com grupos carboxilas livres. Este processo, entretanto, não resulta diretamente no amaciamento, mas, apenas deixa a molécula pronta para a degradação pela PG, solubilizando-a (Faria, et al. 1994; El-zoghbi, 1994).

A PME catalisa a desesterificação dos resíduos de galacturonosil presentes no homogalacturonano-polímero de ácido galacturônico, no qual o grupo carboxílico encontra-se metil esterificado, atuando nos finais redutores e no interior das cadeias pécticas com alto grau de esterificação, reduzindo seu peso molecular (Cheftel e Cheftell 1976; Braverman, 1980; Abu-Sarra e Abu-Goukh, 1992; El-zoghbi, 1994).

Em mangas, tem sido observado um decréscimo na atividade de PME com o amadurecimento (Roe e Bruemmer, 1981; El-zoghbi, 1994). Entretanto, em tomates (Buescher e Tigchelar, 1975 e Lima, 1992), e em bananas (Hultin e Levine, 1965; Vilas Boas, 1995), há um

aumento de atividade nos primeiros estádios de maturação com posterior decréscimo, e em pêras permanece constante (Ahmed e Labavitch, 1980). Estas variações podem ser decorrentes da predominância das frações de isoenzimas que compõem a PME (Pressey e Avants, 1982; El-zoghbi, 1994).

A atividade de PME foi detectada em todas as partes das plantas, tendo sido identificadas cinco isoformas da enzima. As diferentes isoformas podem ser separadas em dois grupos. As três do primeiro grupo são sintetizadas durante o desenvolvimento do fruto, e as do segundo grupo estão presentes durante todo o crescimento e desenvolvimento da planta e também do fruto (Gaffe, Tieman e Handa, 1994).

Não se conhece exatamente a histo-especificidade e o papel das diferentes isoformas de PME, mas existem propostas para a desesterificação de pectinas que incluem a redução localizada do pH, aumento da suscetibilidade à ação da PG, e a geração de grupos carboxílicos livres que facilitam a formação de novas ligações cruzadas nas paredes celulares (Fry, 1986; Gaffe, Tieman e Handa, 1994;).

As correlações entre PG e PME ainda não foram completamente esclarecidas (Huber, 1983a,b). Da mesma forma, ainda não foram explicadas as relações entre PME, grau de esterificação (GE) e o amadurecimento, pois, um alto grau de esterificação leva à fraca interação iônica dos polímeros com o cálcio, e menor coesão na lamela média (Fisher, Arrigoni e Amadó, 1994).

A PG, uma das enzimas responsáveis pela degradação da parede celular e da lamela média nos vegetais, é classificada em dois grupos com base na sua ação sobre o substrato. Em mangas, os dois grupos de PGs estão presentes (Faria et al, 1994). O primeiro que se caracteriza

pelo rompimento aleatório das ligações glicosídicas de β -1,4, é chamado de Endo-PG, e o outro grupo, Exo-PG, que remove sequencialmente resíduos de ácido galacturônico das extremidades da molécula (Konno et al. 1983).

A Endo-PG, é a mais importante do ponto de vista de mudanças físicas na textura. A clivagem de uma molécula de pectina no centro produz duas moléculas de metades iguais da original, aumentando assim sua solubilidade. Mas, a remoção de uma sub unidade terminal pela Exo-PG resulta apenas em leve alteração nas propriedades da molécula de pectina (Kays, 1991).

Os estudos de biologia molecular tem contribuído muito no estudo com plantas transgênicas, e tem renovado os debates sobre a relativa importância das poligalacturonases. Em tomates, já foi constatado, que a solubilização de pectinas não é o único fator que afeta a firmeza, ou que diferencia frutos firmes de macios. Além disso, a associação entre pectinas e outros polímeros pode afetar sua sensibilidade à solubilização. Portanto, o estudo de solubilidade de pectinas não deve ser dissociado dos outros constituintes da parede celular e suas possíveis interações (Malis-Arad et al. 1983; Smith et al. 1988).

2.5.2. Amilases

O amido que se acumula durante o crescimento e desenvolvimento do fruto é rapidamente mobilizado graças a atividade das α (EC 3.2.1.1) e β (EC 3.2.1.2). amilases (Fuchs, Pesis e Zauberman, 1980), cuja atividade máxima é alcançada no pico climatérico. A α - amilase pode ser a responsável por 80% da atividade amilolítica no fruto e pela produção de dextrinas, de oligossacarídeos, de maltose e de glicose. A atividade da β - amilase, que resulta na produção de

maltose, e a da fosforilase, que induz a produção de glicose-1-P, é bem menor que a atividade α -amilase (Subramanyam, Gowri e Krishnamurthy, 1976; Morga et al. 1979; Tandon e Kalra, 1983 ; Selvaraj, Kumar e Pal, 1989; Awad, 1993).

A atividade da β -amilase (EC. 3.2.1.2.) aumenta com o desenvolvimento do fruto, declinando com a aproximação da maturidade (Sen, Chatterjee e Roy, 1985). Em mangas sadias, atividade amilásica é máxima no climatério, onde também, observa-se o maior conteúdo de amido (Mattoo et al. 1975; Majmudar, Modi e Paejwala, 1981; Tandon e Kalra, 1983).

A sacarose fosfato sintase (SPS), é a enzima responsável pela síntese de sacarose a partir de hexoses fosfatos, e aumenta sua atividade cerca de 10 vezes durante o amadurecimento da manga (Hubbard, Pharr e Huber, 1991), sendo que a sacarose sintase (SS), responsável pela hidrólise, permanece relativamente constante (Castrillo, Kruger e Whatley, 1992). Estes autores concluíram que o acúmulo de sacarose durante o amadurecimento de mangas é determinado por um balanço entre síntese e degradação, permitindo ao metabolismo de sacarose responder sensivelmente a estímulos durante o amadurecimento. A atividade da invertase ácida também aumenta durante o amadurecimento de mangas, mas, não contribui significativamente para a hidrólise de sacarose (Mattoo et al. 1975; Castrillo, Kruger e Whatley, 1992). A invertase neutra, por sua vez, não apresenta variações durante o amadurecimento (Castrillo, Kruger e Whatley, 1992).

2.5.3 - Celulases

Celulases constituem outro grupo de enzimas que tem sido relacionadas ao amaciamento

de frutos (Fischer e Bennett, 1991).

A atividade de celulasas é conhecida em mangas (Roe e Bruemmer, 1981, Abu-Sarra e Abu-Goukh, 1992, El-zoghbi, 1994), em tomates (Fisher e Bennett, 1991), e outros frutos. Têm-se observado que esta atividade aumenta durante o amadurecimento, embora não se saiba como a celulose é atacada pelas celulasas.

Por não degradarem as regiões cristalinas da celulose, deveriam ser referidas como $\beta(1-4)$ endo-glucanases. Desse modo, a natureza do substrato 'in situ' para atuação destas enzimas é duvidosa, mas acredita-se que, possivelmente, seja a fração hemicelulósica (Fry, 1986).

Os níveis de celulasas em frutos verdes são geralmente baixos e aumentam drasticamente durante o amadurecimento como observado em mangas por diversos autores (Roe e Bruemmer, 1981; Selvaraj e Kumar, 1989; Abu-Sarra e Abu Goukh, 1992; El-zoghbi, 1994), porém, em mangas cv. Harumanis há um decréscimo de atividade durante o amadurecimento (Lazan et al. 1993).

O papel das celulasas (referidas como um complexo de enzimas, β -glicosidase, exo- $\beta(1\rightarrow4)$ -glucanase, e duas endocelulasas) identificadas em tomates por Sobotka e Stelzig, (1974), e observado nas mudanças de textura durante o amadurecimento, ainda não está esclarecido. O aumento da atividade durante o amadurecimento em frutos, sugere a sua atuação em conjunto com outras enzimas hidrolíticas, contribuindo para o amaciamento de frutos durante o amadurecimento (Pressey Hinton e Avants, 1971; Roe e Bruemmer, 1981; Gomez-Lim 1993; El-zoghbi, 1994). Wallner e Bloon, (1977); e Huber, (1983a, b) trabalhando com degradação da parede celular de tomates "in vitro", consideraram a hidrólise da celulose em frutos, relativamente insignificante.

Em mangas cultivares Zebda e Baladi (El-zoghbi, 1994), Keitt, (Roe e Bruemmer, 1981); Abu-Sarra e Abu-Goukh, 1992), Tommy Atkins e Keitt (Mitcham e Mc Donald, 1992), verificaram aumento de atividade da celulase durante o amadurecimento acompanhados de redução no teor de celulose.

2.5.4 - Fenilalanina amônia-liase (FAL)

A FAL (EC. 4.3.1.5.) atua no metabolismo secundário dos vegetais, catalisando a conversão de L-fenilalanina a ácido cinâmico e amônia (Minamikawa e Uritani, 1964).

A ativação da via metabólica onde está inserida esta enzima tem sido relacionada a estímulos causados por baixas temperaturas, a tecidos injuriados e aos mecanismos de resistência do fruto à injúria. Normalmente, este ciclo metabólico conduz a formação do ácido cinâmico que é precursor de inúmeros compostos encontrados naturalmente no tecido vegetal, como lignina, flavonóides e outros compostos fenólicos (Tena, Lopes-Valbuena e Jorrín, 1984; Lattanzio, Cardinali e Palmieri, 1994). O ácido cinâmico é derivado biossinteticamente da fenilalanina (Legrand, 1983).

A partir do aminoácido fenilalanina são sintetizados todos os compostos fenilpropanóides (Rhodes, 1983). A FAL parece oferecer o esqueleto carbônico fenilpropano para a síntese de compostos fenólicos, pois, o aumento de sua atividade tem sido observado paralelamente ao acúmulo destes compostos (Minamikawa e Uritani, 1964). O nível de atividade da FAL depende do genótipo da idade e estágio de desenvolvimento, do órgão, e ainda do tipo de

tecido da planta (Lister, Lancaster e Walker, 1996). Portanto, a indução do metabolismo fenilpropanóide que se segue após estímulos como injúria mecânica e distúrbios de membrana, oferece interessante campo para estudos sobre a regulação do metabolismo secundário do vegetal e sua relação com os mecanismos de defesa.

2.5.5 Oxidases

O escurecimento enzimático é um dos principais fatores que contribuem para a perda de qualidade durante o manuseio pós-colheita de certos frutos. O escurecimento pode prejudicar a aparência e as propriedades organolépticas, reduzindo a vida útil, o valor nutricional e comercial dos produtos. Este escurecimento é devido principalmente à oxidação dos fenóis por duas enzimas : As polifenoloxidasas (PPO EC 1.10.3.1) e as peroxidases (POD EC 1.11.1.7), (Teisson, 1979; Nickerson e Ronsivalli, 1980).

As polifenoloxidasas, (PFOs) também conhecidas como fenolases, tirosinases e catecolases pertencem ao grupo das oxidases, e na presença de oxigênio, catalizam a hidroxilação de monofenóis a o-difenóis (atividade cresolásica) sendo a oxidação de o-difenóis a o-quinonas denominada atividade catecolásica (Sapis, Macheix e Cordonnier, 1983; Lamikanra, 1988; Sanchez-Ferrer et al. 1988; Lattanzio, Cardinali e Palmieri, 1994). As o-quinonas são compostos altamente reativos e podem polimerizar-se espontaneamente, formando pigmentos escuros de alto peso molecular, as melaninas, ou reagir com aminoácidos e proteínas, intensificando o escurecimento do tecido vegetal (McEvily, Iyengar e Otwell, 1992).

Durante a fase de desenvolvimento do fruto, os níveis de PFO são altos e diminuem progressivamente até o amadurecimento (Mayer e Harel, 1981; Selvaraj e Kumar, 1989).

Em frutos e hortaliças não danificados, os substratos fenólicos são separados das enzimas PFOs pela compartimentalização celular. A quebra da integridade física do fruto acelera a oxigenação dos tecidos e coloca as PFOs, os fenóis e as proteínas em contato direto, acelerando as reações químicas e a formação de melaninas (Awad, 1993).

Vários estudos têm sido realizados para caracterizar as PFOs em frutos. Em mangas, investigações tem sido realizadas para determinar as características das isoenzimas, e as condições sob as quais elas são mais ativas, conduzindo a reações de escurecimento (Park et al. 1980), e seu comportamento durante o amadurecimento, bastante variável (Selvaraj e Kumar, 1989). Em estudo com 7 cultivares de manga (Alphonso Banganapalli; Dasher; Fazli; Langra; Suvarnarekha e Totapuri), em 4 estádios de maturação, observou-se um aumento da atividade das PFOs desde a maturidade fisiológica até metade do amadurecimento seguido de um declínio em algumas cultivares (Banganapalli; Dasher; Fazli, e Langra) e um decréscimo a partir da maturidade fisiológica até alcançar o estágio de maturidade comestível nas demais cultivares estudadas (Selvaraj e Kumar, 1989).

As Peroxidases (POD, EC 1.11.1.7) oxidam os fenóis em presença de peróxido de hidrogênio (Dilley, 1979). A atividade das PODs é comum em muitos frutos e o estudo destas enzimas tem atraído interesse por causa de sua capacidade de propiciar modificações desejáveis e/ou indesejáveis (Wheatley, 1982; Awad, 1993).

A presença desta enzima tem sido descrita em diferentes partes da planta, incluindo frutos climatéricos como bananas (Haard e Tobin, , citado por Hulme, 1974); maçãs (Gorin e Heidenna, 1976); tomates (Fils, Savage e Nicolas, 1985), mangas (Prabha e Patwardhan, 1986;

Zauberman et al. 1988; Marin e Cano, 1992) e em frutos não climatéricos, laranjas (Chamarro e Molina, 1989) ; melões (Biles e Martyn, 1993).

Em frutos, a atividade das PODs têm sido relacionada a existência de multiplas formas de isoenzimas, catiônicas e/ou aniônicas. Contudo, ambos os tipos de isoenzimas (Fils, Savage e Nicolas, 1985), podem ser encontrados na casca na polpa de frutos durante o amadurecimento.

Geralmente, as enzimas são encontradas na forma glicosilada e associadas a membranas, embora isoenzimas solúveis tenham sido detectadas em bananas (Haard e Tobin, 1971), em tomates (Thomas et al. 1981), e em mangas (Prabha e Patwardhan, 1986)

A respeito do papel fisiológico das PODs, tem sido demonstrado que elas participam nos estádios finais do processo de formação da lignina (Wakamatsu e Takahama, 1993), e na proteção de tecidos danificados, ou infectados com microrganismos patogênicos, (Wakamatsu e Takahama, 1993; Biles e Martyn, 1993). A capacidade 'in vitro' das PODs convertem o ácido 1-amino ciclopropano-1-carboxílico (ACC) em etileno foi estabelecido em tomates por Gaspar et al. 1985) e que a sua forma ácida participa no processo de lignificação. Nesse trabalho os autores concluem que em tomates a forma ácida é sintetizada 'de novo' como resposta a diferentes estímulos, tais com estresse hídrico e danos mecânicos.

Em abacaxi, as anomalias causadas pelo frio parecem ser precedidas por uma solubilização das PODs, Abreu, (1991 e 1995), concluiu que o aumento no escurecimento interno estava correlacionado tanto com o aumento na atividade das PODs quanto das PFOs.

Trabalhos realizados sobre as atividades PFOs e PODs em mangas se restringem ao seu comportamento durante o amadurecimento, na procura de conhecimentos básicos, e de métodos para prevenir o escurecimento enzimático envolvendo a inativações da PFOs e conseqüentemente,

o escurecimento indesejável nos produtos (Park et al, 1980)

As PODs podem catalisar reações peroxidativas, oxidativas e hidroxilações. Há muitos compostos fenólicos de ocorrência natural que podem ser oxidados pelas PODs, na presença de pequenas quantidades de hidroperóxido. Mono e dihidroxifenóis e ácido clorogênico parecem ser substratos essenciais para as PODs (Robinson, 1991). As enzimas desempenham importante papel na biossíntese de lignina, por catalisar a oxidação do álcool coniferil, resultando em radicais fenólicos que em seguida polimerizam-se formando lignina (Butt, 1980).

2.6. Desordens fisiológicas em mangas

2.6.1. Aspectos gerais

As desordens ou distúrbios fisiológicos ainda são uma das principais causas dos danos em frutos e hortaliças, em decorrência de modificações no metabolismo normal ou da integridade estrutural dos tecidos (Chitarra e Chitarra, 1990).

As desordens fisiológicas em mangas são essencialmente o resultado do desequilíbrio no metabolismo induzido por algum fator ou fatores no ambiente pré-colheita ou pós-colheita que conduz ao colapso celular, e ao aparecimento de áreas ressecadas ou amarronzadas em algumas partes do fruto (Gautam e Lizada, 1984).

São agrupados em duas categorias : os resultantes de transformações internas como a senescência e os resultantes de condições externas desfavoráveis.

O termo “Internal Breakdown” (IB) tem sido largamente utilizado para se referir às desordens fisiológicas. Em mangas, alguns termos tais como *jelly seed*, *soft nose*, *spongy tissue* e *stem-end breakdown*, têm sido utilizados para caracterizar especialmente as desordens.

O tecido esponjoso e a podridão peduncular em mangas podem as vezes ser detectados na colheita pela ausência de fluxo de látex e produção de uma leve depressão em torno do pedúnculo, quando em estágio avançado de maturação (Chaplin, 1986).

2.6.2. Descrição

O IB, é caracterizado pela degradação da polpa que normalmente começa no início do desenvolvimento do fruto. Após o surgimento, a degradação avança rapidamente através da polpa tornando o fruto impróprio para comercialização.

A descrição das desordens fisiológicas não é muito clara e Winston (1986), sugere uma padronização da terminologia, embora este fato ainda seja polêmico.

A mais completa descrição de desordens fisiológicas em mangas é dada por Malo e Campbell, 1982), principalmente em cultivares que crescem na Flórida. Neste trabalho, os autores descrevem principalmente desordens fisiológicas na cv. Tommy Atkins como podridão fresca que aparentemente inicia-se na porção vascular (funículos) entre o pedúnculo e o caroço tornando-o desconectado, quando o fruto está ainda preso a árvore. Uma cavidade desenvolve-se próximo do cordão vascular, e em casos avançados, o tecido torna-se necrótico. Externamente, a casca não desenvolve sua cor total, produzindo áreas mais claras, freqüentemente na região do ombro

dorsal. Com o avanço da desordem, surge uma depressão na superfície do fruto. Uma vez iniciada, a podridão espalha-se rapidamente tornando o fruto impróprio ao consumo.

A desordem denominada tecido esponjoso tem sido descrita como um colapso que no início caracteriza-se por uma leve dessecação no centro do tecido circundado por um halo macio, que ocorre entre a casca e o caroço do fruto. Como a desordem inicia-se a partir do caroço, o fenômeno não é observado externamente no período de colheita e nem tampouco no estágio maduro. Em estádios avançados, manifesta-se como degenerescência da polpa, com escurecimento dos tecidos que, no entanto, permanecem mais firmes. O tecido torna-se coriáceo ou esponjoso com ou sem bolsa de ar, com pouco ou nenhum sabor e odor, e coloração amarelo pálido (Chhatpar, Modi e Vasvada., citado por Katrodia, 1988). Em casos extremos pode ser visto do lado externo, onde a casca torna-se escura formando uma depressão na superfície do fruto (Amin, citado por Katrodia 1988).

2.6.3. Sintomas

Diversos sintomas diferentes podem se desenvolver, incluindo uma região encharcada próxima a região distal do fruto denominada de nariz-mole (*soft-nose*); uma cavidade aberta na polpa próxima ao pedúnculo conhecida como cavidade peduncular (*stem cavity*); superamadurecimento próximo ao caroço circundado por polpa firme (*jelly-seed*) e áreas da polpa que parecem esponja e tem coloração preto acinzentado (*spongy tissue*), (Schaffer et al. 1988).

Outro fenômeno associado com desordens na cv. Tommy Atkins, inclui rachadura do endocarpo na porção dorsal e desenvolvimento pobre de tegumento que encerra os cotilédones,

com formação de uma estrutura semelhante a verruga negra (*dark wart*) na superfície dos cotilédones, e a presença de uma área seca de consistência caseosa (*cheesy*) (Malo e Campbell, 1982). Estudos sobre estas desordens foram reportados na Austrália por Winston (1986), onde três diferentes estádios foram distinguidos na sua formação e conclue que os sintomas externos destes fenômenos não foram aparentes exceto em casos extremos.

Na Flórida a podridão do fruto fresco no lado ventral em direção ao ápice em mangas, antes da colheita tem sido denominada de *soft-nose* (Young, 1957). Os sintomas externos não são sempre óbvios mas, pode ocorrer amarelecimento da casca verde entre o ápice e o estigma com perda de firmeza. O fruto fresco internamente afetado assemelha-se a um fruto muito maduro, mas, pode apresentar polpa marrom com sabor amargo e que em casos severos, torna-se esponjoso, com formação de uma massa preto-acinzentada.

2.6.4. Causas

As causas exatas das desordens permanecem ainda desconhecidas. Frutos de grande tamanho, (Subramanyam et al. 1971), com maior gravidade específica (Krishnamurthy, 1980), ou fruto colhido quando maduro (Limaye, Joshi e Gunjate, 1976; Joshi e Limaye, 1986), são citados como fatores que aumentam a incidência de tecido esponjoso. Estudos comparativos entre tecidos saudios e afetados sugerem que a deficiência de cálcio pode ser importante, (Subramanyam et al. 1971; Gunjate et al. 1979b).

No tecido esponjoso a polpa do fruto permanece imatura por causa do amido não-hidrolizado, em função dos distúrbios fisiológicos e bioquímicos causados pelo calor no fruto

maduro em estádios pré e pós-colheita (Katrodia, 1988). A irrigação, o estágio de maturidade, o vigor da árvore, a colheita tardia, os frutos internos da copa são fatores que favorecem a ocorrência de tecido esponjoso (Katrodia, 1988). O ponto de colheita dos frutos parece influenciar a manifestação do problema. Young, (1957), relata que uma das possíveis maneiras de reduzi-lo é colher o fruto maduro, qualquer que seja a época da produção.

Alguns trabalhos mostram correlação entre a incidência de desordens fisiológicas e fatores específicos. Subramanyam et al. (1971), trabalhando com mangas da cv. Alphonso no sudeste da Índia, observaram que a incidência do tecido esponjoso aumentou com o aumento do peso do fruto. A incidência de tecido esponjoso foi também maior em frutos colhidos na região litorânea ou quando colhidos no período intermediário de colheita.

A podridão interna foi positivamente correlacionada com a gravidade específica de mangas 'Alphonso' (Krishnamurthy, 1980) e também à exposição ao sol após a colheita (Gunjate et al. 1982).

A incidência de '*soft-nose*' em mangas cultivadas na Flórida parece ter pouca correlação com fatores ambientais tais como estações úmidas ou secas, árvores jovens ou velhas, ou nível de nutrição. Entretanto, de acordo com Young, (1957), talvez a *soft-nose* seja uma desordem mais predominante em solos alcalinos rochosos que em solos ácidos arenosos, comum nas áreas de crescimento da Flórida (Young e Miner, 1961).

Young e Miner, (1961), também verificaram que altos níveis de nitrogênio em árvores foram associados com elevada incidência de *soft-nose* em mangas 'Kent', embora sem nenhuma evidência conclusiva, mostrando ainda indicações de que altos níveis de cálcio na árvore retardam o desenvolvimento da desordem. Com outros minerais, como fósforo, potássio ou magnésio não

observou-se correlação consistente com a incidência de *soft-nose*. Esses mesmos autores concluíram que a desordem *soft-nose* aumentou com o aumento de fertilização nitrogenada, tendeu a decrescer com o aumento da fertilização de potássio e/ou aplicações pesadas de cálcio na forma de pedra calcária ou gesso.

Alguns trabalhos demonstram que, em maçãs, a desordem está associada com a deficiência de cálcio (Young e Miner, 1961; Burdon, Moore e Wainwright, 1991; Gautam e Lizada, 1984; Wainwright e Burbage, 1989). Young, Koo e Miner (1962), verificaram que o IB é mais freqüente quando o cultivo ocorre em solos com baixo teor de cálcio.

2.6.5. Ocorrência

Apesar de outras cultivares serem afetadas, o IB em mangas ocorre principalmente nas cultivares indianas ou naquelas da Flórida com linhagem indiana. A ocorrência do IB, pode variar sazonalmente e por localização, e uma grande percentagem de frutos em qualquer área pode se tornar incomercializável. Por exemplo Schaffer et al. (1988), relataram que na Guatemala, cerca de 70% dos frutos da cv. Tommy Atkins foram perdidos devido a esta desordem.

Katrodia, (1988), estudando a ocorrência e intensidade desta desordem fisiológica em mangas da cv. Alphonso, na Índia, por um período de dois anos, observou que esta variou de 15 a 35%, de local para local, e estação para estação, dependendo das condições agro-climáticas do local da cultura.

O distúrbio fisiológico em mangas da cv. Alphonso, uma das mais importantes e mais estudadas da Índia, é conhecido como tecido esponjoso ou centro mole *soft centre*. A perda no sudeste da Índia causada por esta desordem fisiológica tem variado, de 1 a 88% em diferentes plantações (Subramanyam et al. 1971). Revisando o problema de tecido esponjoso na Índia, Rane, Katrodia e Kulkarn (1976), reportaram que sua incidência tem aumentado. Na Flórida, a cv. Tommy Atkins tem sofrido grandes perdas, chegando até 50% (Malo e Campbell, 1982).

As cultivares de manga mostram grandes diferenças em sua susceptibilidade a podridão interna. Na Austrália, o estudo das 47 principais cultivares, mostrou a Tommy Atkins, a Kamerunga White e a Van Dyke como as cultivares mais afetadas pela *jelly seed*, enquanto as cultivares Golden Tropic, Haden e Nam Dok Mai, foram principalmente afetadas pelo amadurecimento prematuro (Winston, 1986).

Algumas cultivares de mangas parecem ser completamente resistentes a podridão interna. Mangas turpentina não melhoradas, poliembriônicas e fibrosas, não têm exibido os sintomas (Malo e Campbell, 1982). Entretanto Winston, (1986), já verificou que algumas cultivares poliembriônicas e fibrosas também exibem sintomas de IB.

Em trabalhos com a mesma cultivar Alphonso, outros fatores estão associados com o aumento do tecido esponjoso. Árvores plantadas na base de montanha mostraram incidência de 56,67%, no planalto 46,6%, e no alto de montanhas 35,56% de incidência, sendo que os frutos maiores foram mais susceptíveis (Joshi e Limaye, 1986). A incidência também foi maior em árvores com mais de 40 anos, bem nutridas, bem enraizadas e frutos colhidos após estação chuvosa, Joshi e Roy, (1985). Eventualmente, nenhum levantamento ou pesquisa reportam uma substancial correlação destes fatores com tecido esponjoso.

No Brasil, não se conhecem dados estatísticos sobre a extensão do problema, mas estima-se grandes perdas para as variedades mais susceptíveis, como é o caso da cultivar Tommy Atkins que tem sido amplamente utilizada na formação de novos pomares, no Estado de São Paulo, e na Região Nordeste (Polo Agrícola Mossoró-Assú e Vale do São Francisco).

Também na Austrália constataram que as perdas podem chegar à 100%, principalmente quando os frutos amadurecem na própria planta (Meurant, Johnson e Mayers, 1988).

2.6.6 Transformações químicas

As principais transformações químicas nos tecidos afetados com a desordem fisiológica têm apresentado valores reduzidos. Mangas da cv. Alphonso, afetadas pela desordem e provenientes de 8 pomares apresentaram valores mais baixos(mg/100g de tecido) de açúcares redutores, tanto na colheita (2,63), quanto depois de maduro (tecido sadio 3,23 e no tecido afetado 3,26); de glicose, na colheita 0,95, e depois de maduro (tecido sadio 0,45, no tecido afetado 0,65); de frutose na colheita 1,68 e quando maduro (tecido sadio 2,75, e no tecido afetado 2,62); de sacarose, na colheita 1,14, e quando maduro (sadio 12,33, e no tecido esponjoso 9,86), de açúcares totais na colheita 3,83 e quando maduro (sadio 16,22 e no tecido afetado 13,64) (Subramanyam et al. 1971).

Estes frutos também apresentam-se mais ácidos, que os frutos sadios. Dados sobre as modificações de parede celular e atividade de algumas enzimas em frutos afetados com a desordem fisiológica, não tem sido relatados.

2.6.7 Atividade enzimática

Pouco tem sido relatado sobre a atividade da pectinametilesterase - (PME) em relação ao tecido esponjoso em mangas. Krishnamurthy, (1981), observou que a atividade de PME no tecido esponjoso de mangas cv. Alphonso atingia um valor máximo antes do início do pico climatérico, comparado à baixa atividade no fruto sadio, no mesmo período. Este mesmo autor concluiu que estas mudanças sugerem que o tecido afetado está menos maduro do que o tecido sadio. Resultados contrastantes como os citados por Krishnamurthy (1980) têm sido observados em outras cultivares indianas, afetadas com tecido esponjoso (Selvaraj e Kumar, 1989), encontraram valores reduzidos no tecido afetado (0,170 Units.kg⁻¹ de tecido) em relação ao tecido sadio (0,300 Units.kg⁻¹ de tecido), antes do climatério e um decréscimo da atividade desta enzima com o avanço do amadurecimento.

A atividade poligalacturonase (PG), em mangas tem sido extensivamente estudada, mas nenhuma menção tem sido feita sobre sua atividade no tecido afetado com colapso interno tipo tecido esponjoso.

O tecido esponjoso de mangas, quando comparado ao sadio, apresenta uma atividade amilásica 16 vezes menor e uma atividade da invertase 2,5 maior (Gupta et al. 1985). Observações similares para a amilase tem sido relatadas por Chhatpar, Mattoo e Modi, (1971), e para a invertase por Amin, citado por Gupta et al. (1985) e Katrodia, Rane e Salunkhe, (1988). No tecido esponjoso os teores de sacarose são muito mais baixo quando comparados aos de tecido sadio (Subramanyam et al. 1971; Fuchs, Pesis e Zauberman, 1980 e Katrodia, Rane e Salunkhe, 1988).

Chhaptar et al., citado por Katrodia, (1988), observaram que, em tecido esponjoso de

mangas cv. Alphonso a atividade da amilase e de invertase foi cerca de 16 vezes menor e 2,5 maior, respectivamente, que em tecido normal

Resultados similares têm sido encontrados para o nível de sacarose no tecido esponjoso quando comparado com o da polpa de frutos sadios (Subramanyam et al. 1970; Fuchs, Pesis e Zauberman, 1980 e Gunjate et al. 1982; Faria et al. 1994).

Da mesma forma que a atividade de poligalacturonase, o comportamento da atividade das celulases em mangas sadias é bastante estudado (Roe e Bruemmer, 1981; Mitcham e Mc Donald, 1992; El-zoghbi, 1994), mas sua relação com o colapso interno, não tem sido discutida.

Kane, Katrodia e Kulkarni, (1979), em seu trabalho de revisão em mangas cv. Alphonso, observaram uma elevação de atividade da fenilalanina amônia liase no fruto afetado por tecido esponjoso em relação ao tecido sadio, coincidente com o máximo climatérico. Concluíram que isso, possivelmente, seria devido a distúrbios de membrana e o esboço de uma resposta do fruto ao colapso interno.

Em mangas afetadas com colapso interno, tipo tecido esponjoso Mattoo et al. (1968); Gunjate et al. (1982); Lazan et al.(1993), observaram um apreciável aumento na atividade das polifenoloxidasas, relacionandas ao processo de escurecimento observado no local e nas proximidades da desordem. Kays (1991), observou que estas enzimas estão também relacionadas com a oxidação de pigmentos carotenóides (β - caroteno).

Gupta et al. (1985), em estudo com enzimas no tecido esponjoso em mangas cv. Alphonso maduras, relatam que a atividade das peroxidases apresentava-se baixa (0,52U/mg proteína) em relação ao tecido sadio (2,74 U/mg de proteína). No entanto, dados contraditórios têm sido relatados na literatura. Gunjate et al. (1981) observaram que a atividade das PODs em mangas cv. Alphonso afetadas com tecido esponjoso apresentava-se elevada, possivelmente

estimulando o sistema de lignificação nos tecidos em torno da desordem.

Tratamentos pré-colheita com soluções de cálcio têm reduzido a atividade da polifenoloxidasas e o escurecimento interno durante o armazenamento, tanto de uvas (Lu e Ouyang, 1990) como de pêras (Eccker e Sozzi, 1979). Entretanto nas desordens fisiológicas de mangas,este tratamento (pré-colheita), não apresentou resultados satisfatórios. Em uvas, o tratamento pré-colheita com ácido giberélico, ácido naftalenoacético, cloreto de cálcio, e atmosfera modificada reduziu as atividades das PODs e das PFOs durante o desenvolvimento e o armazenamento (Medhi e Singh, 1983; Cenci, 1994). O efeito da atmosfera modificada sobre a atividade das enzimas, possivelmente seja devido à redução na concentração de oxigênio no ambiente interno da embalagem, pois, a ação das enzimas PODs e PFOs na oxidação de fenóis é dependente da presença de O₂ ambiente.

2.6.8 Cálcio

Numerosas desordens fisiológicas têm ocasionado sérias perdas econômicas e tem sido atribuídas a baixa concentração de cálcio resultante de um nível ou de uma distribuição inadequada dentro de frutos, raízes e tubérculos de muitas plantas (Shear, 1975).|Dentre estas desordens podem ser citadas, o *internal breakdown*, o *blossom-end-rot* em mangas e maçãs, e o *cork-spot* em maçãs e peras.

Estudos com fertilizantes na prevenção de tecido esponjoso realizados por Young e Miner, (1961), em mangas sugeriram que esta desordem era o resultado de uma deficiência de

cálcio e isto é freqüentemente citado na literatura, embora não haja evidências para isto (Wainwrigth e Burbage, 1989). A observação inicial de Young, (1957), indica que a desordem é dependente da cultivar, sendo algumas mais susceptíveis do que outras. Contudo, as razões para as diferenças na susceptibilidade de determinadas cultivares não são compreendidas.

Gunjate et al. (1979a), mostraram que o teor de cálcio no tecido esponjoso foi mais baixo (88,08 e 76,12 mg/100g) do que no fruto sadio (98,12 mg/100g). Subramanyam et al, (1971); Krishnamurthy (1981), e Rangwala, citado por Gunjate et al. (1979b) observaram que no fruto afetado com tecido esponjoso continha quantidades consideravelmente menores de cálcio do que no fruto sadio, enquanto que Gautam e Lizada, (1984), encontraram concentrações mais elevada nestes tecidos, e afirmaram que, a existência de diferenças pode ser o resultado de uma redistribuição de minerais que toma lugar quando o tecido esponjoso se desenvolve.

A análise de minerais tem sido usada para predizer a susceptibilidade de maçãs a desordens fisiológicas mas nenhum sistema existe para mangas. Tratamentos pré-colheita (Gunjate et al. 1979a) e pós-colheita (Krishnamurthy, 1981) em mangas com soluções de cálcio têm sido eficientes em reduzir outras desordens fisiológicas mas, não o tecido esponjoso. No entanto, estes tratamentos com cálcio em mangas sadias têm prolongado a vida pós-colheita (Singh, Tandon e Kalra, 1993).

Um desequilíbrio nutricional, em particular a deficiência de cálcio, pode ser a causa do IB em mangas e em alguns outros frutos afetados com desordens fisiológicas. Contudo, existem divergências nesta afirmação, em frutos provindos de diferentes localizações, estações e cultivares (Burdon, Moore e Wainwright, 1991).

A aplicação pré-colheita ou a imersão de mangas em cálcio aumentou o conteúdo de cálcio do fruto e reduziu a ocorrência de tecido esponjoso em mangas cv Alphonso, sendo que o cloreto de cálcio foi mais efetivo do que nitrato de cálcio. A imersão pós-colheita de frutos em soluções contendo cálcio e sais de boro não reduziu significativamente a incidência de tecido esponjoso (Krishnamurthy, 1981). Krishnamurthy e Rao, (1982), trabalhando com a cv Alphonso verificaram que pulverizações pré-colheita e/ou imersão pós-colheita de frutos em cloreto de cálcio e/ou ácido bórico não reduziu a incidência de podridão mostrando que a aplicação de cálcio nem sempre é bem sucedida.

Como a aplicação do cálcio por imersão não tem sido efetiva, têm-se realizado a infiltração a vácuo ou utilizado pulverizações com cloreto de cálcio com resultados mais efetivos em retardar o amadurecimento de mangas (Wills e Tirmazi, 1979; Bissoli Junior, 1992).

O potencial para a aplicação de cálcio em mangas é a evidência que em outros frutos, ele tem reduzido a susceptibilidade a injúria pelo frio como em abacates (Chaplin e Scott, 1980), e tem, retardado a deterioração patogênica e amaciamento em maçãs (Conway e Sams, 1983).

A demanda de mangas nos mercados internacionais tem aumentado nos últimos anos, e a necessidade de assegurar qualidade é de grande importância para expandir o comércio externo. O controle de qualidade para o comércio interno é também exigido em vista do alto preço pago pelos consumidores pela cultivar em estudo.

O desenvolvimento de uma técnica não destrutiva para identificar as mangas afetadas seria de grande vantagem pois, tais métodos poderiam ser usados no controle de qualidade.

Um método que tem sido usado para assegurar a detecção e a separação de mangas afetadas com tecido esponjoso antes do seu acondicionamento, é o seu monitoramento por raio-

X (Thomas et al. 1993) mas, ainda com uso bastante limitado. Esta técnica tem sido utilizada também em batatas (*Solanum tuberosum* L.) para a detecção de ‘coração oco’ (*Hollow Heart*) conforme revisado por Rex e Mazza, 1989), e hoje em uso comercial no Canadá.

A aplicação comercial desta técnica pode ser feita com o uso de sistemas de inspeção por raio-X de baixa voltagem, similar àqueles empregados na segurança de aeroportos. Outra técnica que tem futuro na detecção de *internal breakdown* em mangas é a imagem por ressonância magnética (MRI) (Joyce et al. 1993).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Procedência e colheita dos frutos

Os frutos da cultivar Tommy Atkins foram procedentes de pomar comercial localizado no Polo Agrícola de Mossoró-Assú município de Mossoró (RN). A região localiza-se a 5^o.13' de latitude e 44^o.28' de longitude oeste, com altitude de 15 metros, clima quente, seco, e semi-árido com precipitação média de 423 mm, temperatura máxima de 33°C e mínima de 29°C . O solo é um latossolo padronizado com textura arenosa classificação climática Cwb de Koopen, irrigado periodicamente por gotejamento e com tratos culturais regulares de capina, tratamentos fitossanitários e adubações convencionais de N, P, K. As mangueiras selecionadas, foram plantadas em espaçamento de 8,0 x 6,0 m.

A colheita foi manual e ao acaso, na parte externa da copa de mangueiras com aproximadamente 10 anos de idade. Os frutos foram colhidos após as 15:00 h, na maturação fisiológica usualmente usada para o mercado externo ou interno, caracterizado pelo desenvolvimento da região proximal (ombros) em relação ao pedúnculo.

3.2 Instalação do experimento e preparo das amostras

Imediatamente após a colheita e seleção as mangas sofreram tratamento pós-colheita utilizado para exportação (imersão em procloraz, a 500 ug de i.a. L⁻¹, secagem ao ar, e polimento). Depois de realizada a classificação quanto ao tamanho do fruto (10 frutos/caixa) e uma análise subjetiva de existência ou não de frutos com a desordem fisiológica *spongy tissue* (tecido esponjoso), eles foram embalados em caixas utilizadas no mercado externo (papelão ondulado). Em seguida, eles foram transportados via terrestre para Natal - RN, distante 230 km do local de produção e depois por via aérea para Belo Horizonte - MG, de onde foram transportados novamente por via terrestre para Lavras - MG, distante 212 km de Belo Horizonte. Este período de transporte levou cerca de 15 horas.

Em Lavras - MG, os frutos foram transferidos para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita de Frutos e Hortaliças do Departamento de Ciência dos Alimentos da U.F.L.A., e imediatamente selecionados considerando-se a presença de pedúnculo, ausência de injúria externa e grau de maturação aparente pela coloração da casca. Além desta avaliação subjetiva os frutos foram submetidos a um método não destrutivo de inspeção através de raios-X (Thomas et al. 1993) com a finalidade de verificar-se a incidência interna da desordem fisiológica, *spongy tissue*, e foram separados em 2 grupos um com e outro sem a desordem fisiológica.

O aparelho de Raio-X, utilizado foi o da marca Salgado Herman - 300 MA, foco = 100; tempo de exposição = 0,4 segundos, Fator = 4 MA/S; Kwatts = 30 KV; Filme = kodak base verde Ekram kodak ; Processadora = 3 e ½ minutos.

Uma amostra de frutos de cada grupo de frutos sadios e com desordem fisiológica foi

utilizada para a caracterização inicial e os demais foram acondicionados nas caixas utilizadas para o transporte e armazenados por 28 dias em câmara com circulação de ar, e temperatura regulada a $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$. As avaliações dos frutos foram realizadas a cada 7 dias para o acompanhamento da evolução da maturação e do desenvolvimento da desordem fisiológica, por até 28 dias.

Utilizou-se cinco frutos de cada grupo como unidade experimental e como tratamentos, considerou-se o tipo de tecido avaliado, a saber:

Tratamento 1 (F1): Mesocarpo (sadio) do fruto normal

Tratamento 2 (F2) : Porção do mesocarpo sadio do fruto com desordem fisiológica

Tratamento 3 (F3) : Porção do mesocarpo danificado do fruto com desordem fisiológica

As pesagens e as determinações da textura foram realizadas individualmente nos frutos de cada unidade experimental. Após o descascamento manual, porções de 30g do mesocarpo (polpa) foram imediatamente trituradas com 120 mL de água destilada por cerca de 3 minutos em homogenizador de tecidos (Tissumizer Teckmar Company, tipo SDT 1880). Após filtração foram realizadas as medições do pH, do conteúdo de sólidos solúveis totais e avaliações da acidez total titulável.

O restante da polpa dentro de cada tratamento foi congelado em nitrogênio líquido e acondicionado em sacos de polietileno (tipo Vac-Freezer), totalmente impermeáveis e mantidos a -18°C para as análises posteriores.

3.3 Avaliações físicas e físico-químicas

3.3.1 Perda de matéria seca

Foi avaliada, pesando-se os frutos em balança semi-analítica Mettler modelo PC 2000. Os resultados foram expressos em porcentagem, considerando-se a diferença entre o peso inicial do fruto e aquele obtido a cada intervalo de tempo de amostragem.

3.3.2 Textura

Foi determinada como sendo a resistência à penetração usando-se penetrômetro Magness-Taylor modelo 30 A (valor máximo de leitura 30 lb) com “plunger” de ponta cônica (diâmetro de 0,83 cm e comprimento de 0,67 cm) em regiões equatoriais (2 determinações por fruto) da superfície do fruto desprovido da casca. Os resultados obtidos em lb/pol² foram convertidos para Kgf através do fator 0,4448, expressos em Newtons (N). Os valores mais altos correspondem a frutos mais firmes.

3.3.3 Sólidos solúveis totais

Determinou-se o conteúdo de sólidos solúveis totais (SST) por leitura em refratômetro digital, modelo PR - 100 Palette (Atago Co., LTD., Japão) com compensação de temperatura

automática, conforme a metodologia da AOAC, (1992). Os conteúdos de SST foram expressos em °Brix com precisão de 0,1 °Brix e corrigidos a 25°C.

3.3.4 pH

O pH foi determinado no filtrado, utilizando-se um potenciômetro digital, (AOAC, 1992).

3.4 Avaliações químicas

3.4.1 Acidez total titulável (ATT)

A acidez total titulável foi obtida por titulação do filtrado (diluição 1:5) com NaOH 0,1 N, padronizado segundo técnica estabelecida pelo Instituto Adolfo Lutz, (1985) e expressa como mg de ácido cítrico / 100 g de tecido.

3.4.2 Pectinas

O mesocarpo congelado foi desintegrado em homogeneizador de tecidos (Tissumizer - Tekmar company, tipo SDT 1880). e as frações pectina total e solúvel foram extraídas segundo a técnica de McCready e McComb, (1952).

Utilizou-se pectinase (EC.3.2.1.15) de origem fúngica -*Aspergillus niger*, 1,0 U/mg (Merck).

A análise foi feita por colorimetria através da reação de condensação do m-fenilfenol (m-hidroxibifenil - Eastman Kodak Company ou Sigma Company), segundo técnica de Blumenkrantz e Asboe-Hansen, (1973).

O teor de pectina foi medido como ácido urônico total. O processo foi monitorado espectrofotometricamente (modelo DU 640 B - Beckman Instruments Inc. USA) a 520 nm operando com o sistema "Power Up Diagnostics Window". O aparelho foi calibrado para fornecer leituras resultantes da média de 10 leituras no intervalo de 0,5 segundos. Os resultados foram expressos em mg de ácido galacturônico/100 g de tecido.

3.4.3 Açúcares totais, redutores e sacarose

Os açúcares redutores e não-redutores, foram extraídos segundo a técnica de Arêas e Lajolo, (1980), e analisados pelo método de Somogy-Nelson (Southgate, 1991). Utilizou-se inicialmente uma alíquota de 2 g de mesocarpo, a qual foi triturada em meio alcalino (5 mL de hidróxido de sódio a 0,5 N), em homogeneizador de tecido, por 3 minutos e em seguida neutralizada a pH 7 com ácido acético a 0,5 N, elevando-se o volume em balão volumétrico para 50 mL com água destilada. Após filtração, tomou-se 5 mL em tubo de centrifuga rosqueados. Adicionou-se cerca de 20 mL de álcool etílico 95^o GL, homogeneizou por cerca de 1 minuto, e centrifugou-se por 25 minutos a 9000 rpm. Após centrifugação, o sobrenadante alcoólico (I) foi transferido para becker de 120 mL, e o resíduo resuspenso em mais 20 mL de álcool a 80 %, e

sendo esta operação repetida por mais duas vezes, com a finalidade de retirar todo o açúcar, separando-se os sobrenadantes (II e III).

Efetuuou-se a evaporação do sobrenadante total (I +II +III) em chapa aquecida a 75 - 85 °C, até próximo de 5 mL da solução hidro-alcoólica, que foi resfriada, e transferida para balão volumétrico de 50 mL, cujo volume foi completado quantitativamente, obtendo-se o extrato básico. Tomou-se 25 mL do extrato básico para hidrólise ácida (HCl PA 0,5 mL/ 15 minutos a quente) da sacarose, que foi em seguida neutralizado com solução saturada de carbonato de sódio completando-se o volume para 50 mL em balão volumétrico com água destilada (açúcares totais). Para a dosagem dos açúcares redutores, usou-se 0,5 mL do extrato básico desproteínizado e 1 mL do extrato hidrolisado e desproteínizado, multiplicado pelo fator 0,95. Pela diferença entre o teor de açúcares solúveis totais e o de sacarose, obteve-se o teor de açúcares redutores, sendo os resultados expressos em porcentagem de glicose.

3.4.4 Amido

Determinação enzimática realizada a partir do resíduo obtido no item 3.4.3, livre de açúcares, segundo a técnica de Arêas e Lajolo (1980). A este resíduo adicionou-se 5 mL de uma solução de amiloglucosidase contendo 14 unidades por mL, após, o que homogeneizou-se em vortex e incubou-se por uma hora a 40 °C. A reação foi interrompida pela adição de 1 mL de ácido perclórico a 0,6 N. Esta solução foi novamente neutralizada a pH 7,0 e o volume elevado para 10 mL com água destilada. Tomou-se uma alíquota de 3 mL e procedeu-se a desproteínização, seguindo-se o método de Somogyi , modificado por Nelson, (1944), para o

doseamento. Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.4.5 Compostos fenólicos

A extração, fundamentou-se na sua solubilização em metanol absoluto (fenólicos dímeros); metanol a 50% (fenólicos oligoméricos) e água (fenólicos poliméricos), segundo o método de Goldestein e Swain, (1963): Utilizou-se 5 g de polpa colocada em erlenmeyer de 150 mL e adicionou-se 50 mL no mesmo resíduo foi refluxado por 15 minutos em chapa elétrica. Filtrou-se o material a vácuo, lavou-se o erlenmeyer e o funil com pequenas porções do líquido extrator quente; e evaporou-se os filtrados até aproximadamente 5 mL, transferido-o para balão volumétrico de 50 mL, onde o volume foi completado com água destilada. O doseamento foi realizado pelo método de Follin-Denis, conforme recomendação da AOAC, (1992) e os resultados foram expressos em mg/100g.

3.4.6 Carotenóides totais

Foram determinados em 10 g de mesocarpo triturado em homogeneizador de tecidos, por cerca de 3 minutos com 50 mL de água destilada. Este homogeneizado foi transferido quantitativamente para funil de separação tipo pêra, âmbar de 125 mL. Adicionou-se 30 mL de álcool isopropílico e 10 mL de hexano P.A., deixando-se em repouso por cerca de 30 minutos. A mistura orgânica foi lavada com NaCl 2% e transferida para balão volumétrico de 50 mL.

completando-se o volume com hexano P.A.

A leitura da absorvância foi efetuada a 450 nm. Os teores de carotenóides totais foram expressos em mg/100 g de polpa fresca, segundo a equação adotada por Higby, (1962).

3.4.7 Vitamina C total

Após a oxidação do ácido ascórbico, a ácido dehidroascórbico a vitamina C total foi extraída com ácido oxálico a 0,5% e determinada por método colorimétrico com o 2,4-dinitrofenilhidrazina, segundo Strohecker e Henning, (1967). A leitura espectrofotométrica foi realizada em espectrofotômetro Beckman 640 B, com sistema computadorizado. Os resultados foram expressos em mg/100g.

3.4.8 Cálcio total

O mesocarpo em cubos foi liofilizado, triturado em moinho tipo Wiley e homogeneizado. O cálcio, foi determinado, após digestão nitroperclórica, por espectrofotometria de absorção atômica conforme metodologia estabelecida por Sarruge e Haag, (1974), sendo os resultados expressos em mg/100g.

3.5 Avaliações bioquímicas

3.5.1 Atividade de hidrolases

A atividade enzimática da pectinametilesterase foi determinada pela titulação dos grupos carboxílicos liberados pela desesterificação da pectina devido a ação da pectinesterase de acordo com o método descrito por Jen e Robinson, (1984). Utilizou-se como substrato uma solução de pectina cítrica a 1%, (citrus; grau 150), dissolvida em NaCl, a 1 M. O pH da solução foi ajustado a 7,0 com NaOH 0,025 N. A mistura de reação formada era de 25 mL do substrato e 5 mL de extrato bruto enzimático, incubada por 10 minutos à temperatura ambiente com agitação contínua, e o pH da reação mantido a 7,0 pela adição de NaOH 0,025 N, por 10 minutos. A atividade da enzima foi expressa como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação de pectina correspondente a 1 nanomol de NaOH por minuto nas condições de ensaio. Os resultados foram expressos em unidades de atividade enzimática por minuto por grama de peso fresco, ($\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$).

A atividade poligalacturonase foi determinada pela medida dos grupos redutores liberados do ácido poligalacturônico (Orange; Sigma). Utilizou-se como substrato, o ácido poligalacturônico 0,25%, dissolvido em tampão acetato de sódio 37,5 mM, pH 5,0 (Pressey e Avants, 1973). A atividade enzimática foi determinada pela incubação do extrato enzimático com substrato por 3 horas a 30°C, e a reação interrompida pela colocação das amostras em banho fervente por 3 minutos. Os grupos redutores foram determinados segundo a técnica descrita por Somogyi modificada por Nelson, (1944), utilizando-se glicose anidra como padrão.

Uma unidade de atividade de PG foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a formação de 1 nanomol de açúcar redutor por minuto por grama sob as condições de ensaio.

A atividade da celulase foi determinada pelos grupos redutores liberados pela Carboximetilcelulose, (CMC) segundo El-zoghbi, (1994). A concentração dos grupos redutores foi determinado como glicose, conforme descrito para a poligalacturonase. A mistura de reação, (0,25 mL de extrato bruto, 0,5 mL de CMC, e 0,25 mL de tampão acetato de sódio a 100 mM pH 5,0), foi incubada a 37°C, por 12 h. A atividade da celulase foi determinada em unidades, correspondendo a quantidade de enzima que catalisou a formação de um μmol de grupos redutores por grama de peso fresco original por minuto ($\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)

A extração da amilase foi baseada na técnica preconizada por Bernfeld, citado por Gupta et al. (1985). A mistura de reação (2 mL de volume) contendo 0,5 mL de extrato bruto da enzima, 0,5 mL de amido solúvel 1% e 25 μMoles de tampão fosfato (pH 7,0), foi incubado, por 1 hora a 37° C. A reação foi interrompida pela adição de 1 mL de NaOH 2N. Os açúcares redutores formados foram determinados colorimetricamente pela técnica descrita por Somogyi modificada por Nelson, (1944) com a leitura a 510 nm. Uma unidade da atividade de enzima foi expressa em função do tempo (h) e da quantidade (mg) de açúcar redutor formado, ($\text{U} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$).

3.6 Atividade de enzimas do metabolismo fenilpropanóide

A extração e a determinação das atividades Peroxidase (PODs) e polifenoloxidase (PFOs) foram realizadas conforme a metodologia preconizada por Matsumo e Uritani, (1972). As

atividades das enzimas foram expressas em unidade de atividade por minuto por grama de tecido fresco, ($\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$).

Com relação a fenilalanina amônia-liase a extração foi baseada na técnica preconizada por Rhodes e Woollorton, (1971). A atividade enzimática foi expressa em U/h, definida como o conteúdo de enzima que produz aumento na absorção à 290 nm de 0,01 DO por hora, (Zucker, 1965). Os resultados foram expressos em $\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$.

3.7 Análise do material de parede celular (MPC)

3.7.1 Extração da parede celular

A parede celular foi extraída do mesocarpo como descrito por Mitcham e McDonald (1992), com poucas modificações. O mesocarpo (100 g) foi triturado em homogeneizador de tecidos, com tampão fosfato 0,1 M pH 7,5 (300 mL) com adição de 0,02 % de azida sódica, 1% de dodecil sulfato de sódio (SDS), e 1% de 2- mercaptoetanol (p/v). Após 2 h a 40°C, o homogenato foi filtrado, e o resíduo foi lavado com o mesmo tampão fosfato 0,1 M, pH 7,5 (600 mL) e filtrado sob vácuo. Adicionou-se 200 mL de fenol:ácido acético:água (2:1:1 v/v) no resíduo e manteve-se em repouso por 20 min. Lavou-se novamente o resíduo com tampão fosfato (600 mL). O resíduo foi resuspendido em 80 mL de dimetil sulfóxido (DMSO) 9 : 1 (v/v) aquecido a 100 °C por 30 minutos e permaneceu em repouso por 24 h a temperatura ambiente. Após homogeneização, filtração e lavagem com cerca de 150 mL de tampão acetato a 0,1 M pH 5,0,

seguida de lavagem extensiva com água destilada (2000 mL), o filtrado foi dialisado em membrana de diálise (cut-off 5000-6000), por 24 h contra água destilada para a retirada de resíduo de DMSO, e após, filtrado a vácuo. O resíduo contendo a parede celular isolada foi resuspendido em 100 mL de uma solução de amiloglucosidase em tampão acetato de sódio pH 4,8 e incubado a 40 °C por 2 h, após o que se procedeu a lavagem com cerca de 500 mL de água destilada, filtrando-se em seguida. A parede celular assim separada foi submetida ao teste do iodo com KI/I₂ para se verificar a ausência de amido. Após, foi resuspendida em uma mistura de clorofórmio:metanol -1:1 (v/v), filtrada a vácuo e lavada com acetona P.A. (3 porções de 200 mL), seguida de secagem sob vácuo à temperatura ambiente.

3.7.2 Determinação dos compostos de parede celular

Para a determinação do cálcio ligado utilizou-se a mesma técnica empregada para análise de cálcio total (item 3.4.7). Os resultados foram expressos em porcentagem de cálcio (p/p) no material de parede celular

Os açúcares totais foram determinados utilizando-se 2 mg do material de parede celular, o qual foi submetido à hidrólise com ácido trifluoracético (TFA), a 2N, a 121 °C por 1 h, após, o que foi centrifugado e evaporado sob fluxo de ar. Este material foi lavado com três porções de 1 mL de água destilada, e centrifugado, (Ahmed e Labavitch, 1977). Os sobrenadantes I+II+III foram utilizados para a determinação do teor de açúcares neutros totais pela técnica da antrona, (Dische, 1962); Lurie et al. 1994). Os resultados foram expressos em porcentagem (p/p) do material de parede celular.

Para a determinação dos uronídeos totais foi empregado o procedimento descrito por Ahmed e Labavitch, (1977). Os sobrenadantes, obtido acima foram utilizados na determinação específica de uronídeos totais da parede celular pela técnica de Blumenkrantz e Asboe-Hansen, (1973) após reação com m-hidroxidifenil. Os resultados foram expressos em porcentagem (p/p) de ácido galacturônico no material de parede celular.

A celulose foi determinada através do procedimento modificado de Updegraff, (1969). A amostra de parede celular bruta, foi submetida primeiramente a tratamento com ácido trifluoracético a 2 N, a 121 °C, para solubilizar a porção não celulósica,. O resíduo foi lavado com água destilada e hidrolisado com ácido sulfúrico 72 % (v/v), em banho de gelo com agitação intermitente. O conteúdo de celulose foi determinado colorimetricamente pelo método de antrona, conforme Southgate (1991), a partir de alíquotas de 0,1 mL, utilizando-se como padrão celulose microcristalina (Avicel - Merck). O padrão de celulose microcristalina foi preparado dissolvendo-se 10 mg em 3 ml de ácido sulfúrico 72 % (v/v), e completando-se o volume para 100 mL com água destilada. Os resultados foram expressos em porcentagem (p/p) do material de parede celular.

Para o grau de esterificação das pectinas foi empregado o método descrito por Lurie et al. (1994), segundo o qual as quantidades de ácido galacturônico da parede celular são determinadas antes e depois de incubação com borohidreto de sódio, (NaBH_4). Tomou-se 2 mg em duplicata do material de parede celular que foi incubado por uma noite com 1 mL de NaBH_4 (10 mg/mL em etanol 50%). Em seguida, o excesso de NaBH_4 foi neutralizado com ácido acético (até cessar a efervescência) e a amostra lavada várias vezes (3 X 0,5 mL) com ácido acético : metanol (1:9) e depois com metanol P.A. As duplicatas foram, então, dissolvidas em 3 mL de ácido sulfúrico a 72%, (v/v) gelado, e analisadas para ácidos urônicos (Lurie et al, 1994) partindo-

se de 50 μL do extrato. A incubação com NaBH_4 converte os resíduos galacturonosil esterificados a galactose e assim, a diferença no conteúdo de ácidos urônicos entre as amostras antes e depois da redução com NaBH_4 representa a quantidade de ácido urônico que continha metil ésteres (Kim e Carpita, 1992). O grau de esterificação foi definido como a porcentagem de ácido galacturônico esterificado em relação ao total.

Após a obtenção do material de parede celular (MPC), foi conduzida a derivatização (derivados alditol acetato) dos açúcares neutros, seguindo as recomendações de Albersheim et al. (1967), conforme descrição a seguir.

Na determinação da hidrólise dos polissacarídeos pesou-se de 1 a 5 mg de amostra (MPC) em tubo de ensaio rosqueado, e adicionou-se, como hidrolizante, 500 μL de ácido trifluoroacético a 2 N, contendo, 10 mg de inositol/mL (padrão interno), e vedou-se o tubo. Este foi aquecido por uma hora a 121 $^{\circ}\text{C}$ em 'block heater' (aquecimento a seco). Após este período, o TFA foi evaporado, em banho maria 45 $^{\circ}\text{C}$, usando mistura de água quente e fria em becker com exaustão em capela através de fluxo de ar, adicionou-se então 0,5 mL de metanol que foi também evaporado até a secagem.

A redução dos polissacarídeos foi determinada pela adição de 0,15 mL de hidróxido de amônia a 1 N contendo ± 10 mg de borohidreto de sódio por mL de hidróxido de amônia a 1 N. Misturou-se levemente e manteve-se à temperatura ambiente por uma hora. Adicionou-se algumas gotas de ácido acético P.A. para a retirada do excesso de borohidreto de sódio e evaporou-se, em banho maria a 45 $^{\circ}$ C com fluxo de ar, até a secagem.

Acrescentou-se 0,5 mL da mistura de metanol : ácido acético (9:1), que foi secada e repetiu-se esta operação por 4 vezes, finalmente adicionou-se 0,5 mL de metanol e secou-se.

repetindo-se esta operação por 3 vezes.

A acetilação dos polissacarídeos foi realizada pela adição de 0,15 mL de anidrido acético p.a. ao tubo rosqueado. Manteve-se a 121 °C por 3 h em 'block heater'. Após, resfriar e secar utilizando-se banho maria a 45°C e fluxo de ar nos tubos, aplicou-se 0,5 mL de metanol. Secou-se pelo mesmo processo e repetiu-se por mais 2 vezes a última operação.

3.8 Análise cromatográfica

As amostras derivatizadas foram diluídas com 200 µL de acetona e injetadas, (2 µL) em cromatógrafo a gás Intralab modelo 3.300 com coluna capilar OV-DB 225, 0,25 mm de diâmetro interno e 25 m de comprimento, acoplado a Integrador Intralab Mod 4290.

Os gases utilizados foram o hidrogênio como gás de queima, o ar sintético como mantenedor da chama, e o 'make up' uma mistura de hidrogênio e nitrogênio(30 mL/min. Utilizou-se sensibilidade 10^{-11} e atenuação 8 . A pressão da coluna era de 21 psi, o fluxo da coluna de 3,0 mL. min⁻¹ e gás de arraste de 30 mL. min⁻¹. Foram utilizadas as seguintes temperaturas : coluna 210°C, injetor 250 °C e detetor 300 °C.

Utilizou-se como padrão uma mistura dos açúcares ramnose, fucose, arabinose, xilose, manose, galactose, glicose e inositol (padrão interno), todos na concentração de 1 g/L⁻¹ (200 µg/0,2 mL).

3.9 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, (DIC) composto de 3 ^{efeito de conservação dos frutos} tratamentos (F_1 = frutos sadios, F_2 = metade sadia do fruto que continha a desordem, F_3 = metade danificada do fruto que continha a desordem), com 5 tempos de armazenamento (T_1 = 0 dias, T_2 = 07 dias; T_3 = 14 dias; T_4 = 21 dias; T_5 = 28 dias), compondo um fatorial 3×5 (tratamento - tipo de tecido \times tempos de armazenamento), com 2 repetições (R_1 e R_2). Devido a homogeneidade do material experimental, cada unidade experimental constou de 5 frutos, totalizando 150 frutos ($3 \times 5 \times 2 \times 5$). Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 1 e 5% de probabilidade, com auxílio do programa SANEST - Sistema de Análise Estatística, de autoria de Elio Paulo Zonta e Amauri Almeida Machado, do Instituto Agrônomo de Campinas. As regressões entre o tempo de armazenamento e as características avaliadas foram efetuadas através do programa Sigma Plot 2.0 For Windows (Jandel Scientific, 1995). Utilizou-se três critérios para a escolha da curva mais adequada: o valor de r^2 ajustado; a significância estatística-F do r^2 ; e a significância dos parâmetros da equação pelo teste t.

Tred	5
Tred (2x3)-1	14
estatística (3-1)	2
Tempo armaz. (5-1)	4
Tred x Tempo armaz.	2
Res	3
<hr/> total	<hr/> 29

$$-t_{r-d} = 3 \times 5 = 15$$

$$rep = 2 \text{ (bloco?)}$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido as diferenças entre os tratamentos analisados obteve-se significância ($p < 0,01$; $p < 0,05$) entre os fatores tratamentos e épocas de armazenamento, e para a interação entre eles, para todos os parâmetros avaliados, exceto para o conteúdo de cálcio total (Apêndice, Tabela 1A a 9A).

4.1 Modificações durante o amadurecimento

4.1.1 Perda de matéria seca

Verificou-se aumento na perda de peso durante o período experimental, sendo maior para os frutos afetados com a desordem fisiológica (tratamento F_2 e F_3). Esta diferença pode estar relacionada à área superficial e ao volume do fruto devido à modificação da estrutura da epiderme, no local e proximidades da desordem. A perda de matéria seca de maneira geral foi relativamente baixa devido ao elevado teor de umidade mantido na câmara durante o armazenamento ($88 \% \pm 3 \%$), atingindo valores médios de $1,6 \%$ (16 kg) nos frutos sadios, e $1,9 \%$ - $2,23 \%$ ($19,0 - 22,3 \text{ kg/}$) nos frutos afetados com a desordem. Os valores encontrados para as mangas sadias estão de acordo com aqueles apresentados por Medicott, Sigrist e Sy,

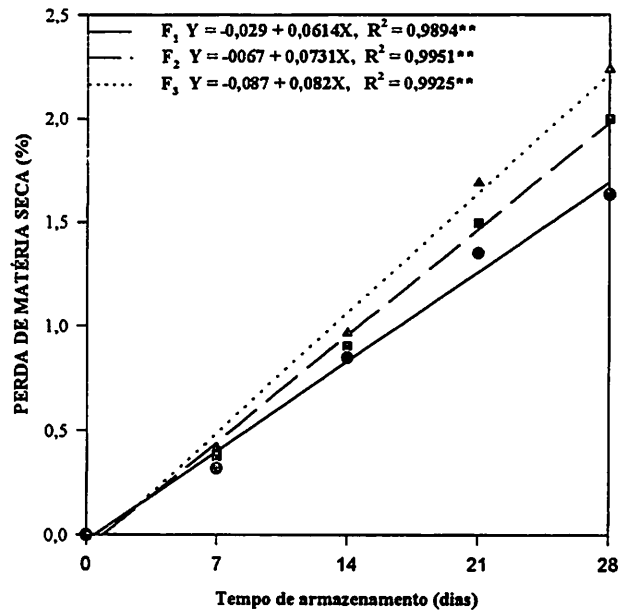


FIGURA 1. Perda de peso, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e com tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** $p < 0,01$).

(1990). Para os frutos afetados com a desordem não foram encontradas relações que pudessem ser correlacionadas. Embora alguns autores indiquem o local da desordem como um local em que a polpa permanece imatura, observou-se neste trabalho uma maior perda de matéria seca nestes frutos, possivelmente, devido a uma maior taxa de transpiração, embora, estes não tenham se apresentado com sinais aparentes de murchamento.

4.1.2 Textura e pectinas

Dos atributos de qualidade, a textura se caracteriza como um dos mais importantes, constituindo-se, por isso, em um dos desafios da fisiologia pós-colheita para manutenção da integridade dos frutos.

Observou-se um decréscimo linear acentuado na textura dos frutos (Figura 2) em todos os tratamentos, principalmente no mesocarpo sadio (F_1 e F_2) e os resultados obtidos encontram-se dentro da faixa de valores obtidos para mangas 'Tommy Atkins', durante a maturação (Medlicott et al 1985; Mitcham e Mc Donald 1992 e Bissoli Junior 1992).

Nas mangas sadias, (F_1) observou-se decréscimo no teor de pectina total (Figura 3) com elevação nos teores de pectina solúvel, (Figura 4) o que resultou no amaciamento dos frutos durante o armazenamento, fato também reportado por Faria et al. (1994).

O amaciamento de frutos tem sido atribuído, principalmente à hidrólise de polissacarídeos da parede celular e à degradação enzimática de compostos pécticos da lamela média (Roe e Brummer 1981; Salunkhe e Desai 1984).

Durante o processo de amadurecimento há redução no conteúdo de protopectina total em decorrência da conversão da protopectina (forma insolúvel), de alto peso molecular em pectina solúvel (ácidos pécticos), (Pressey e Avants 1982; Melford e Prakash 1986; Abu-Sarra e Abu-Goukh 1992; Faria et al. 1994). Este decréscimo observado durante o amadurecimento é devido à desesterificação promovida pela enzima pectinametilsterase (PME) sucedida pela despolimerização resultante da atividade da enzima poligalacturonase (PG), conduzindo a elevação no conteúdo de pectina solúvel.

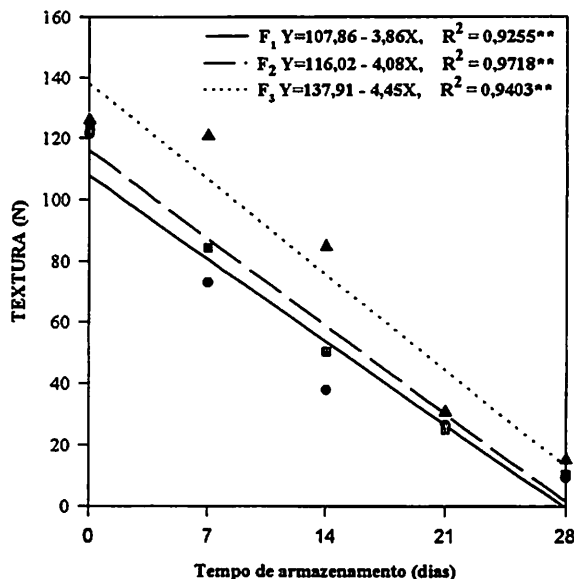


FIGURA 2. Textura do mesocarpo externo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** $p < 0,01$).

Por outro lado este amaciamento não pode ser atribuído somente à despolimerização e solubilização de protopectina, como sugere Abu-Sarra e Abu-Goukh (1992). Outros fatores também podem estar associados com o amaciamento das mangas, tais como o rompimento das interações iônicas entre polímeros da parede celular ou atuação de β -galactosidases, (Ali, Armugam e Lazan, 1995).

A porção sadia do mesocarpo dos frutos com desordem fisiológica (tratamento F₂) apresentou textura e teor de pectina total semelhantes ao observado nos frutos normais, enquanto que a porção afetada (Tratamento F₃) permaneceu com textura mais firme e com maior retenção de pectina total (Figura 3). No entanto, em ambos os tipos de tecido (F₂ e F₃)

houve redução na solubilização da pectina, notadamente a partir da segunda semana de armazenamento. Esses tecidos também apresentaram redução da atividade das enzimas PME e PG.

De acordo com Katrodia, Rane e Salunke (1988), o mesocarpo da manga com tecido esponjoso permanece imaturo devido aos distúrbios fisiológicos e bioquímicos decorrentes do aumento da temperatura no fruto maduro nas fases pré e pós-colheita. Por outro lado Gupta et al. (1985), detectaram maior conteúdo de compostos fenólicos e menor conteúdo de proteínas nos tecidos danificados que nos sadios em mangas 'Alphonso'. Os fenólicos são considerados como complexantes de proteínas e exercem efeito inibidor sobre várias enzimas (Lattanzio,

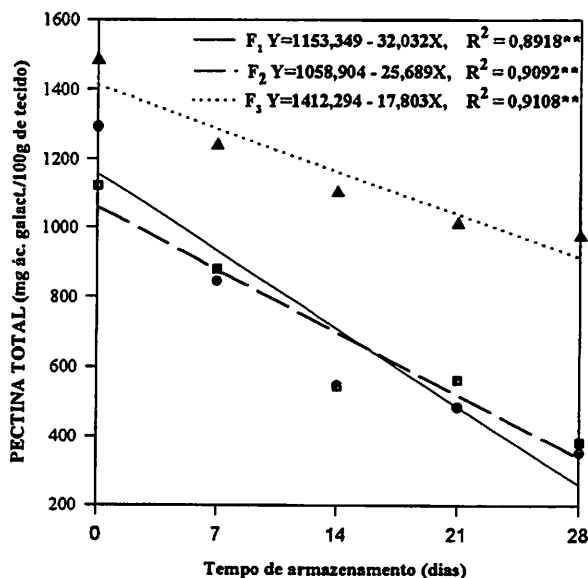


FIGURA 3. Pectina total no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

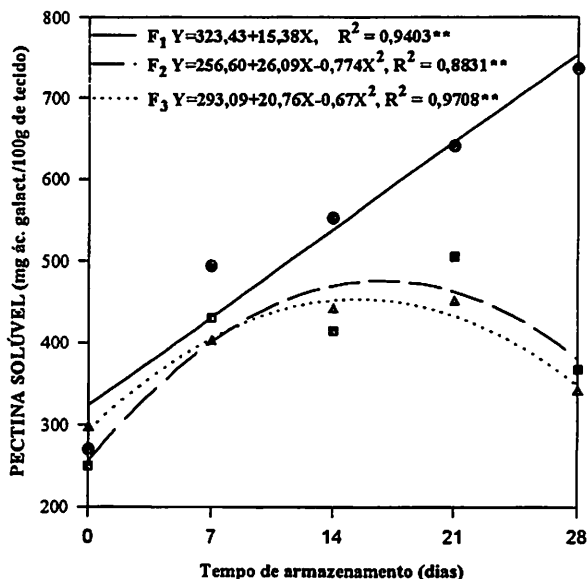


FIGURA 4. Pectina solúvel no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

Cardinali, Palmieri, 1994). Dessa forma, a menor solubilização das pectinas nos frutos com tecido esponjoso poderia ser atribuída a redução da atividade das hidrolases pécticas a nível de parede celular.

4.1.3 Amido

Observou-se o conteúdo máximo de amido no mesocarpo fisiologicamente maduro, (Figura 5) seguido de um acentuado decréscimo até o final do período de armazenamento

quando estes teores estavam reduzidos aos seus valores mínimos. As mangas, sadias (tratamento F_1) foram as que apresentaram o maior decréscimo nos teores de amido provavelmente devido ao aumento na atividade de enzimas amilolíticas de acordo com o observado por Fuchs, Pesis e Zauberman, (1980). Nos frutos afetados (tratamentos F_2 e F_3) observou-se uma menor hidrólise do conteúdo de amido. Isto, possivelmente pode ser devido a distúrbios bioquímicos, e ao elevado teor de fenólicos totais, que exercem efeito inibitório sobre várias enzimas, em especial às enzimas hidrolíticas (Beerth, Raghuramaiah e Krishnamurthy, 1976; Gupta et al. 1985).

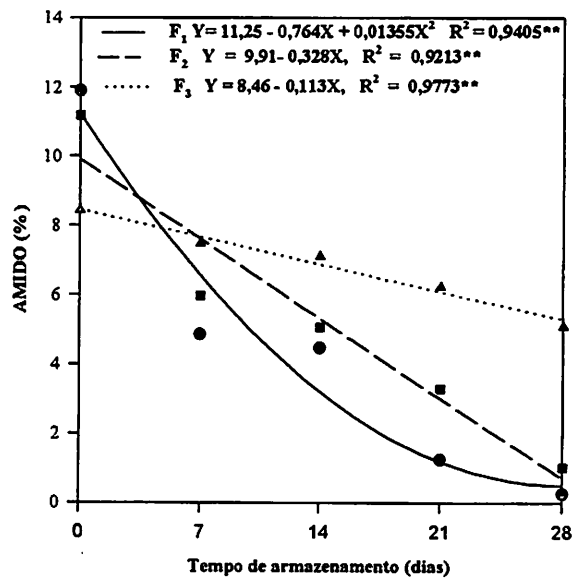


FIGURA 5. Teores de amido, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** $p < 0,01$).

4.1.4 Sólidos solúveis totais (SST) e Açúcares solúveis

O aumento nos valores observados para SST (Figura 6) representam o conteúdo em açúcares solúveis, ácidos orgânicos e outros constituintes menores (Hobson e Grierson, 1993). Portanto, valores mais baixos para essa variável representam teores baixos de um ou mais dos constituintes que contribuem para o índice de refração. Os teores de SST observados nas mangas sadias (tratamento F₁), encontram-se de acordo com os observados por Medicott, Reynolds e Thompson, 1986).

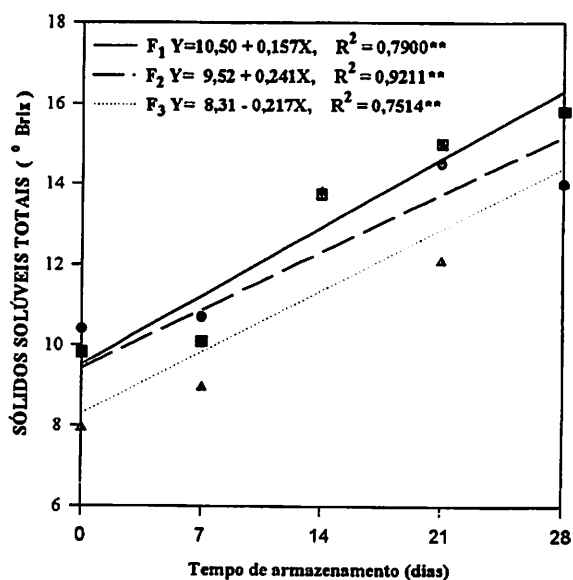


FIGURA 6. Sólidos solúveis totais no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0.01).

Nos frutos afetados (tratamento F_2 e F_3), os teores de SST foram menores, devido possivelmente, a menor hidrólise de amido, e a menor disponibilidade de sucos vacuolares pois os tecidos apresentam-se de forma coriácea, com natureza esponjosa desuniforme, conforme o observado por Krishnamurthy, (1980) e Katrodia, (1988)

Dados similares foram obtidos por Chatpar et al. e Rangwala citado por Katrodia, (1988); Subramanyam, et al. (1971); Patkar, Gunjate e Lad, (1983), que concluíram ser isto devido a uma menor atividade das enzimas ligadas ao metabolismo de açúcares principalmente a amilase, conseqüentemente a uma hidrólise parcial do amido, e dependendo do grau da desordem, o fruto não alcança o grau de maturação adequado (Katrodia, 1988); Katrodia, Rane e Salunkhe, (1988) e Chadha et al. (1989).

Observou-se um aumento nos açúcares solúveis totais constante durante o armazenamento em todos os tratamentos (figura 7). Os frutos afetados com a desordem (tratamentos F_2 e F_3) apresentaram menores teores de AST em relação aos frutos sadios (tratamento F_1). Com evolução mais lenta possivelmente devido a um processo desuniforme de amadurecimento ao redor da desordem, apresentando, inclusive, níveis inferiores de atividade amilase. Beerth, Raghuramaiah e Krishnamurthy, (1976), e Kays, (1991) relatam que elevada concentração de fenólicos no local da desordem pode inibir a atividade de enzimas diretamente relacionadas ao metabolismo de açúcares.

Medlicott, Reynolds e Thompson, (1986), trabalhando com mangas sadias da cv Tommy Atkins, observaram que o conteúdo de AST aumentou significativamente com o amadurecimento.

A variação menos acentuada nos teores de açúcares nos frutos dos tratamentos F_2 e F_3 pode ter sido causada não só pelo amadurecimento desuniforme, mas, também, devido a uma

utilização em outras vias metabólicas, principalmente a via do shiquimato, relacionada a processos de escurecimento enzimático e de lignificação.

Os teores de açúcares (AST) estão coerentes com os resultados obtidos para SST. Krishnamurthy e Subramanyam, (1973), também observaram aumento nos teores de açúcares durante o armazenamento de mangas. De acordo com esses pesquisadores, o principal açúcar presente é a sacarose, cujo teor aumenta com o amadurecimento, enquanto que o de glicose e de frutose, e apresenta uma redução gradual. Mangas da cultivar Haden armazenadas as

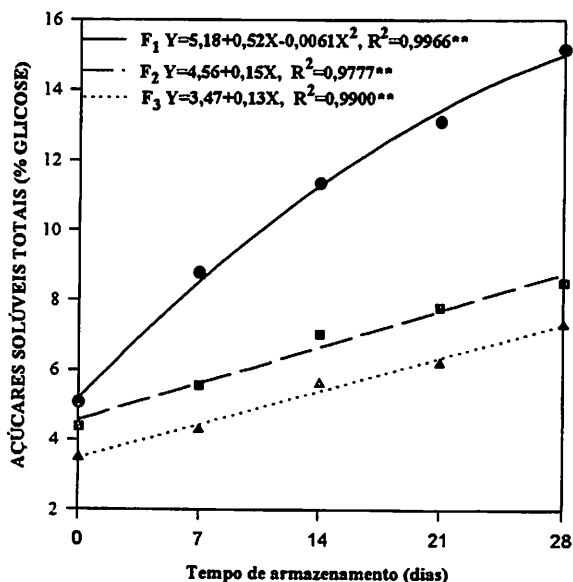


FIGURA 7. Açúcares Solúveis Totais, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01)

temperaturas de 16, 18, 20, 22 e 28 °C apresentaram quando maduras, variações nos teores de glicose, frutose e sacarose. Os da cultivar Keitt armazenados nas mesmas condições apresentaram menores teores de glicose, mas teores mais elevados de frutose e sacarose (Vasques - Salinas e Lakshminarayana, 1985). Neste trabalho, os teores de açúcares não redutores (sacarose) mostraram a tendência relatada por outros pesquisadores, (Figura 8).

Os frutos sadios (tratamento F₁) apresentaram maiores teores (maior doçura) que os frutos afetados (tratamentos F₂ e F₃) (Figura 8). Quanto aos açúcares redutores embora todos os tratamentos apresentassem o mesmo comportamento, os frutos do tratamento F₃ apresentaram um leve decréscimo até o final da primeira semana de armazenamento, para em

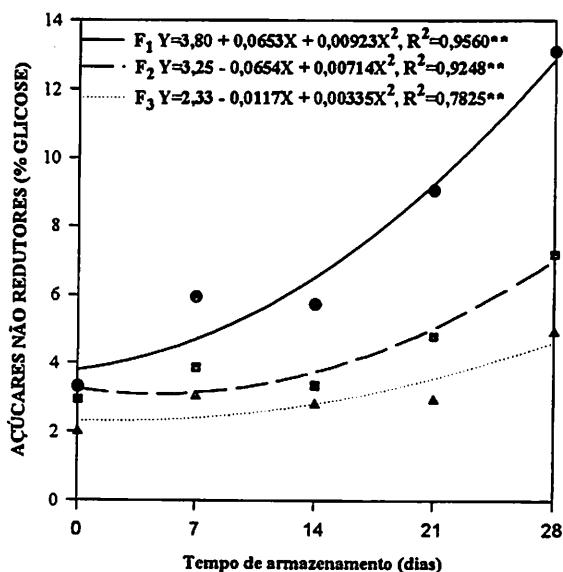


FIGURA 8 Açúcares não redutores (sacarose), no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de 12 °C ± 2 °C e umidade relativa de 88% ± 3 % ; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0.01)

seguida apresentar aumentos até o final da terceira semana e voltando a decrescer até o final do armazenamento idêntico aos frutos dos outros tratamentos (F_1 e F_2). Os aumentos e decréscimos foram menos intensos nos frutos afetados (tratamentos F_2 e F_3), isto possivelmente pela menor intensidade metabólica de açúcares nestes frutos. Ao se relacionar com o encontrado para tecido esponjoso em outra cultivar, (Katrodia, Rane e Salunkhe, 1988), que observou-se que o desenvolvimento dos sintomas da desordem foi associado a uma diminuição nos teores de açúcares devido a baixa atividade amilase no local. Observou-se neste trabalho, que, no tecido afetado, parte maior do amido não foi hidrolisado.

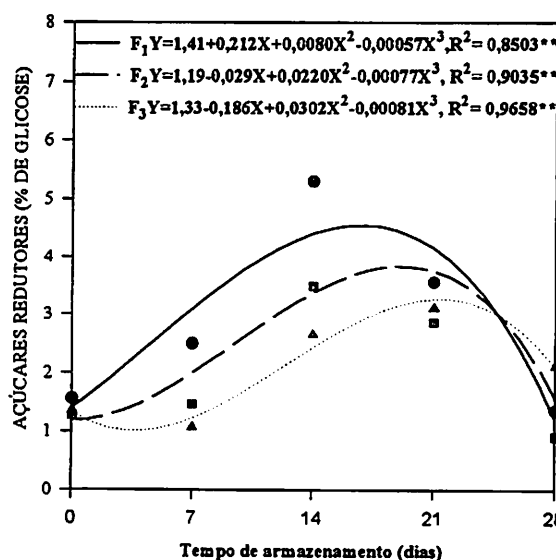


FIGURA 9. Açúcares redutores, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** $p < 0,01$)

4.1.5 pH e acidez total titulável

A manga é considerada um fruto ácido, com a maioria das cultivares apresentando valores de pH abaixo de 4,5 (Berniz, 1984). Durante o amadurecimento houve diminuição da acidez, e conseqüentemente, aumento do pH conforme mostrado pelas Figuras 10 e 11 o que vem ao encontro do mostrado por Mattoo, et al. (1975). Os tecidos dos frutos com desordem fisiológica (tratamento F₂ e F₃) apresentaram pH ligeiramente menor que os dos frutos sadios (tratamento F₁) ao longo do período de armazenamento.

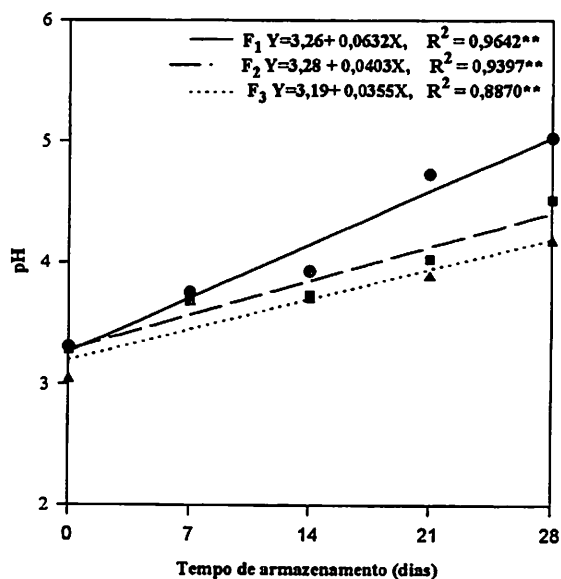


FIGURA 10. pH no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de 12 °C ± 2 °C e umidade relativa de 88% ± 3 % ; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo de sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

Os dados encontrados para os frutos sadios (tratamento F_1) também estão de acordo com aqueles apresentados por Medlicott, Reynolds e Thompson, (1986) e por Bissoli Junior, (1992) para a mesma cultivar, com valores de pH variando de 3,40 a 5,00. Medlicott, Reynolds e Thompson, (1986), também verificaram o efeito da época de colheita e do estágio de maturação, sobre os valores da acidez e do pH na polpa de frutos de uma mesma safra. Os frutos fisiologicamente mais desenvolvidos apresentaram valores de acidez menores e de pH superiores, àqueles apresentados por frutos imaturos. Houve elevação dos valores de pH ao longo da maturação para os frutos em todas as épocas de maturação, sendo o valor de 4,50, semelhante ao observado por Bleinroth et al. (1985), que detectaram, para a mesma cultivar, valor de pH igual a 4,30.

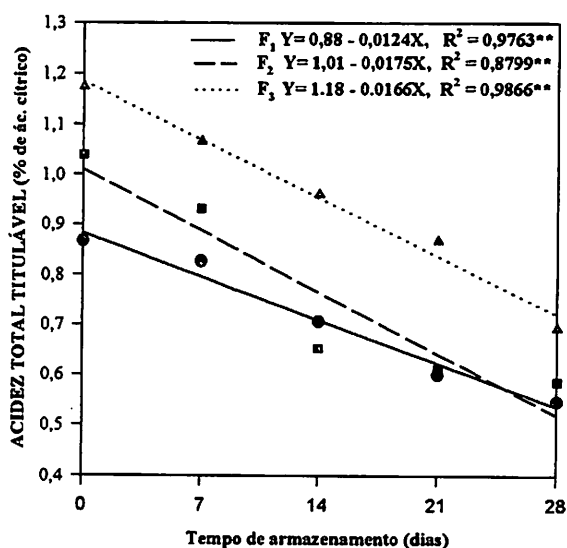


FIGURA 11. Acidez total titulável, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** $p < 0,01$).

Katrodia, (1988), Subramanyam et al. (1971) e Rangwala, citado por Katrodia, (1988), estudando a cultivar Alphonso, observaram que os frutos afetados pela lesão em estudo, também apresentavam valores de acidez ligeiramente superiores àqueles com polpa sadia. A variação na atividade metabólica da parede celular e no metabolismo respiratório, relacionada com a desordem tem sugerido retardo no processo de amadurecimento nas proximidades da desordem (Lazan et al. 1993). Acúmulo duas vezes maior de acetaldeído, ácido pirúvico e derivados ácidos intermediários do ciclo de Krebs, principalmente do ácido α -ceto glutárico e do ácido málico, tem sido verificado no local da desordem e nas suas proximidades, o que possivelmente contribui para valores de pH e acidez diferente nos frutos danificados, em relação aos sadios (Subramanyam et al. 1971; Krishnamurthy, 1981; Kays, 1991).

4.1.6 Compostos fenólicos totais

Os frutos sadios (tratamento F₁) apresentaram decréscimo constante nos compostos fenólicos com o avanço da maturação (Figura 12). Este fato é normal devido as polimerizações destes compostos, a partir dos primeiros dias de armazenamento, Nos frutos com desordem fisiológica (tratamentos F₂ e F₃) observou-se acréscimo estatisticamente significativo ($p < 0,01$), durante o período de armazenamento, atribuído a um mecanismo de resposta dos frutos em decorrência do estresse ocasionado pela desordem fisiológica com origem na pré-colheita, a qual avança com o amadurecimento do fruto, conforme o constatado por Krishnamurthy, (1981). Este fato também foi constatado por Gupta et al. (1985), em mangas da cv. Alphonso,

que apresentaram teores bastante elevados de fenólicos nos frutos com tecido esponjoso.

Durante o armazenamento e no processamento de frutos e hortaliças a reatividade dos compostos fenólicos está relacionada ao aumento gradual da sua condensação solúveis, que

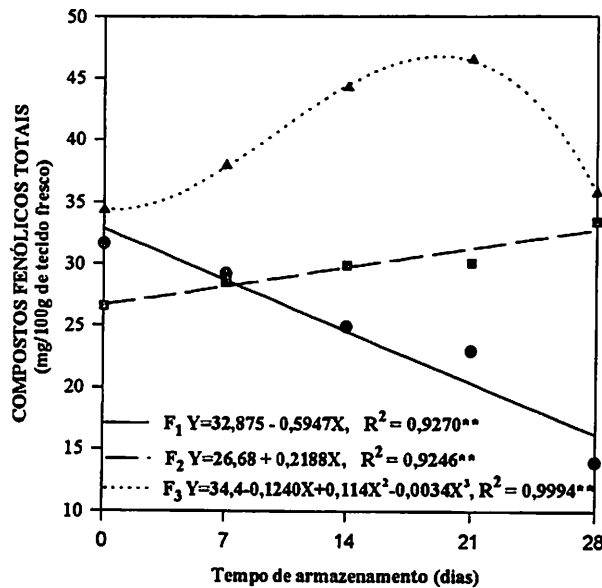


FIGURA 12. Compostos fenólicos totais, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

tornam insolúveis, por se ligarem fortemente a outros componentes celulares, e portanto, serem menos detectados, ou na solubilização destes compostos pela ligação dos mesmos a ácido clorogênico, ácido p-cumárico esterificado, ácido ferrúlico, lignina e/ou suberina (Park et al. 1980).

O metabolismo dos compostos fenólicos durante o armazenamento está diretamente relacionado à atividade de enzimas (PPOs, FAL e PODs). A diminuição nos seus teores no período final de armazenamento, constatado em mangas com tecido esponjoso, pode ser explicada pela oxidação dos fenóis à o-quinonas, pela ação das PFOs.

4.1.7 Carotenóides totais

Os carotenóides (Figura 13) apresentaram valores crescentes com o amadurecimento nos frutos sadios, (tratamento F₁) acompanhando a destruição da clorofila, o que está de acordo com os valores citados por Medlicott, Reynolds e Thompson, (1986), para a mesma cultivar. Nos frutos com a desordem fisiológica (tratamentos F₂, e F₃) a concentração era mais baixa no local da desordem, em relação ao fruto sadio, principalmente nos tecidos afetados com a desordem (tratamento F₃), as concentrações de carotenóides foram significativamente mais baixas durante o armazenamento, em relação aos outros tecidos (F₁ e F₂). Isto ocorreu, possivelmente, devido a elevada atividade de enzimas oxidantes tipo polifenoloxidasas, maior concentração de compostos fenólicos, conforme o mostrado no Item 4.1.6, e baixa concentração de substâncias anti oxidantes do tipo vitamina C.

Esses resultados confirmam a afirmação de vários autores, que também encontraram valores reduzidos de carotenóides totais e β -caroteno em mangas afetadas com tecido esponjoso. Da mesma forma, concluíram que isto possivelmente pode ser devido a uma degradação do sistema de síntese de pigmentos no local e proximidades da desordem Chhatpar,

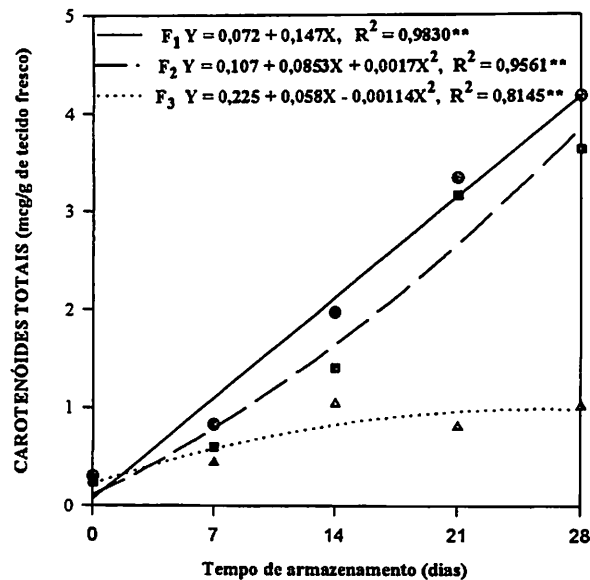


FIGURA 13. Carotenóides Totais, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

Modi e Vasvada 1968-1969, Subramanyam 1971, Gupta et al. 1985, Katrodia, Rane e Salunkhe 1988, Katrodia (1988).

4.1.8 Vitamina C total

O conteúdo de vitamina C (ácido ascórbico + ácido dehidroascórbico) foi afetado significativamente pelos tratamentos e pelos tempos de armazenamento, havendo oxidações deste componente durante o período analisado notadamente nos frutos afetados com o tecido

esponjoso (Figura 14). O conteúdo variou de 47,9 a 9,3 mg/100g de polpa nos frutos normais. A tendência à diminuição no conteúdo desta vitamina durante o amadurecimento pode ser atribuída a susceptibilidade do ácido ascórbico a destruição oxidativa pelas enzimas ácido ascórbico oxidase (Gupta et al. 1985), fenolase, citocromo C oxidase e peroxidase, sendo que apenas com ácido ascórbico oxidase (AAO) há uma relação direta entre a atividade da enzima e a concentração do substrato (Mapson 1971) e, ser esta a principal responsável pela degradação de vitamina C em mangas. Em frutos com a desordem por tecido esponjoso Gupta et al, (1985), verificou que a ácido ascórbico oxidase (AAO) apresentava alta atividade no local da desordem em mangas da cultivar Alphonso. Os valores encontrados neste trabalho apresentaram tendência similar. Neste trabalho não foi avaliada a atividade da AOO dada a

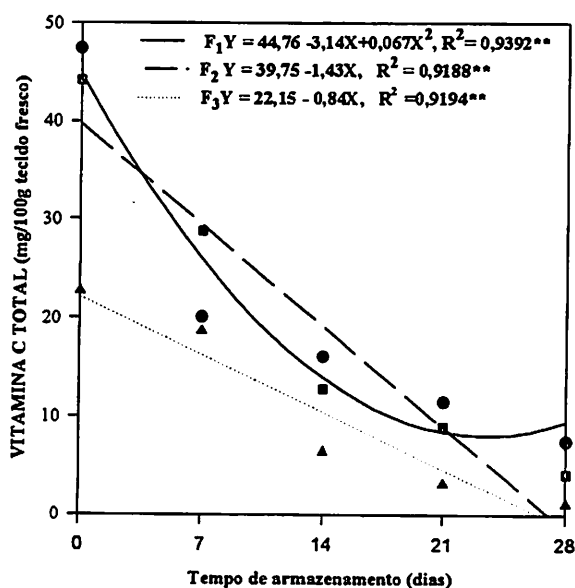


FIGURA 14. Vitamina C, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** $p < 0,01$)

dificuldade para sua quantificação visto que ela sofre ação de substratos secundários como luz e a presença de oxigênio, assim como devido a elevada concentração de fenólicos, alta atividade das polifenoloxidasas (PFOs) e peroxidases (PODs), e baixa concentração de vitamina C nos frutos com a desordem.

4.2 Parede celular

4.2.1 Uronídeos e açúcares totais não celulósicos

A concentração de poliuronídeos da parede celular decresceu nos três tipos de tecidos avaliados com o avanço da maturação (Figura 15). No entanto, observou-se uma despolimerização mais acentuada na parede celular dos frutos sadios (tratamento F₁). De acordo com os resultados de textura, pectinas e enzimas hidrolíticas, pode-se inferir que os frutos sadios apresentaram um comportamento esperado durante o processo de amadurecimento. No tratamento F₃ observou-se um conteúdo maior de poliuronídeos significativamente diferente. Estes resultados sugerem que o processo de amaciamento durante a maturação esteja relacionado com a atividade de enzimas hidrolíticas do tipo pectinametilesterase, poligalacturonase, como ocorre na maioria dos frutos.

Os frutos amaciam durante a maturação e o armazenamento, muito rapidamente e extensivamente, primariamente devido a modificações nos componentes de suas paredes celulares. A modificação mais intensamente estudada é a perda de polímeros de ácidos urônicos, a qual é acompanhada por um aumento nos teores de poliuronídeos solúveis.

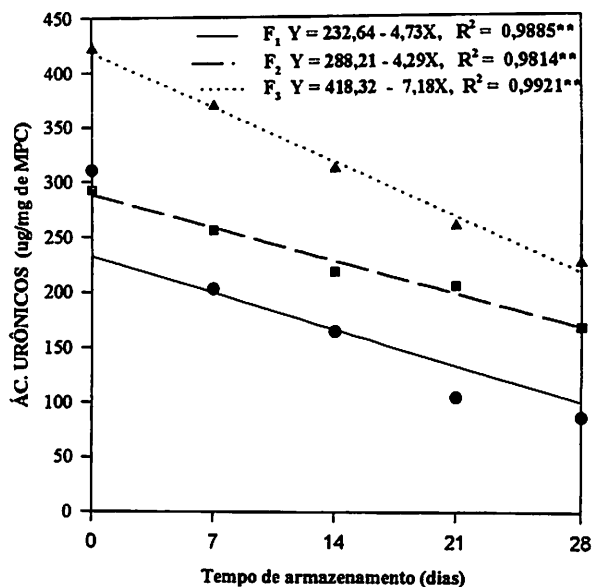


FIGURA 15. Ácidos urônicos, em material de parede celular (MPC), no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** $p < 0.01$).

Além de diferenças consideráveis entre cultivares (Brinson et al. 1988; Lazan et al. 1986; Roe e Bruemmer, 1981 e Seymour et al. 1989), limitadas informações são disponíveis sobre a parede celular de mangas afetadas com colapso interno.

Nos frutos sadios (tratamento F₁) observou-se um comportamento semelhante a aquele obtido por Mitcham e Mc Donald, (1992) para a mesma cultivar, e por Faria et al. (1994) para a cultivar Haden. Estes autores concluíram que o processo de amaciamento de mangas sadias durante a maturação pode estar relacionado à atividades de enzimas hidrolíticas, (PG e PME).

O mesocarpo das mangas afetadas com tecido esponjoso (tratamento F₃), permaneceu mais firme que os dos demais tratamentos (F₁ e F₂), durante o amadurecimento, conforme o demonstrado no Item 4.1.2. Observou-se com o avanço do armazenamento um significativo aumento nos poliuronídeos solúveis principalmente entre as primeiras semanas de armazenamento (T₀ e T₁), sendo que os frutos com a desordem fisiológica (tratamento F₂ e F₃) acumularam quase duas vezes mais poliuronídeos solúveis do que os frutos sadios (tratamento F₁).

Além da solubilização da pectina há uma perda substancial de resíduos de açúcares neutros não celulósicos durante o amadurecimento, (Figura 16). Segundo Mitcham e McDonald, (1992) e Brinson et al. (1988), em mangas são duas as principais modificações na estrutura da parede celular durante o amadurecimento, ou sejam aumento na quantidade de poliuronídeos solúveis ;e perda líquida de açúcares neutros não celulósicos, particularmente galactose, arabinose e ramnose.

Nos frutos com a desordem, também verifica-se uma menor degradação de substâncias pécticas durante o amadurecimento, com menor atividade de PME e PG, e maior grau de esterificação.

Os açúcares totais não celulósicos da parede celular também apresentaram o mesmo comportamento dos poliuronídeos ou seja, redução na concentração com o avanço da maturação dos frutos, notadamente na parede celular dos tecidos sadios (F₁ e F₂).

Esta redução nos teores de açúcares neutros não celulósicos juntamente com a de ácidos urônicos na parede celular, durante a maturação de mangas, pode ser um dos principais fatores responsáveis pela desestruturação da parede celular nos frutos contribuindo para a perda de firmeza do mesocarpo.

Os tecidos danificados pela desordem fisiológica (tratamento F_3) retiveram cerca de duas vezes mais açúcares totais não celulósicos que os sadios ao longo do período de armazenamento. Esses resultados confirmam as observações anteriores deste trabalho e a de outros autores (Gupta, 1985; Katrodia, Rane e Salunke, 1988) ou seja que o tecido esponjoso permanece mais imaturo e apresenta grandes diferenças composicionais e bioquímicas em relação aos tecidos sadios.

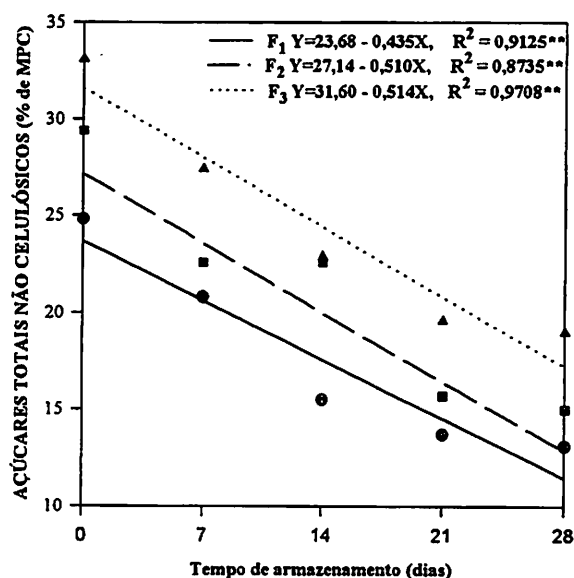
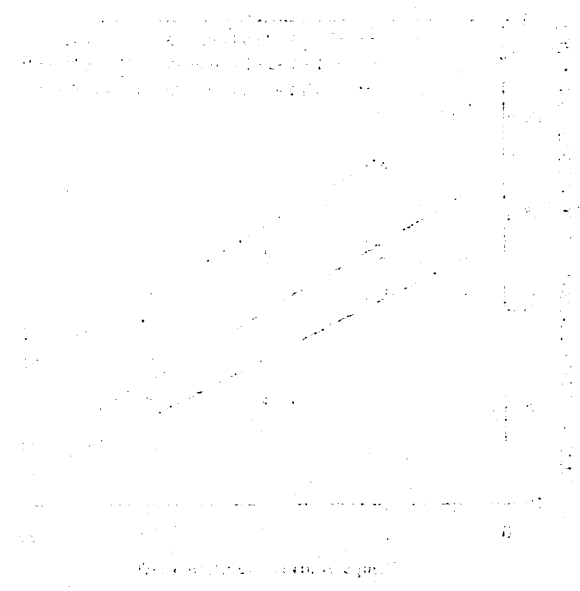


FIGURA 16. Açúcares totais não celulósicos, em material de parede celular (MPC), no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** $p < 0.01$).

As modificações na estrutura e na composição da parede celular podem ser um dos principais fatores fisiológicos que contribuem para a suscetibilidade da cv. Tommy Atkins ao colapso interno do mesocarpo.

The first part of the report deals with the general principles of the investigation. It is shown that the results obtained are in good agreement with the theoretical predictions. The second part of the report describes the experimental procedure and the results obtained. The third part of the report discusses the results in detail and compares them with the theoretical predictions.



The results of the investigation are shown in the graph. It is seen that the resistance increases linearly with temperature. This is in agreement with the theoretical prediction. The slope of the line is found to be 0.01 ohms/°C. The intercept of the line is found to be 0. This indicates that the resistance is zero at 0°C. The results are in good agreement with the theoretical predictions.

4.2.2 Composição em açúcares neutros

Com a maturação dos frutos, houve perda líquida dos principais componentes dos polissacarídeos pécticos (galactose, arabinose e ramnose), enquanto que os componentes da fração hemicelulósica (xilose, glicose e manose) tenderam a aumentar (Figura 17), como previamente detectado por Mitcham e McDonald, (1992) em mangas sadias das cvs. Tommy Atkins e Keitt.

As menores concentrações de arabinose, galactose e ramnose na parede celular do mesocarpo dos frutos sadios são indicativos de um elevado grau de despolimerização, em comparação com os danificados pelo tecido esponjoso (tratamentos F₂ e F₃). A acentuada redução nos teores de ramnose na parede celular dos frutos sadios, juntamente com os de arabinose e galactose, possivelmente, indica que as cadeias principais dos polímeros pécticos tornaram-se mais lineares, pois, os resíduos de ramnose introduzem pontos de hidrólise na sua conformação (Yoshioka, Aoba e Kashimura, 1992).

Por outro lado, a maior retenção de resíduos de ramnose na parede celular dos frutos danificados pode ser correlacionada com a manutenção do grau de ramificação dos polímeros: Esses resíduos atuam como ponto de ramificação entre o esqueleto rhamnogalacturonana da pectina e as cadeias laterais de arabinogalactana.

As regiões ramificadas, constituídas por açúcares neutros, possibilitam a ligação entre pectinas e hemiceluloses (Mangas et. al. 1992; Brinson et al. 1988). Mais uma vez, as alterações na composição da parede celular demonstram a maior sensibilidade dos polímeros pécticos dos frutos sadios à degradação pelas enzimas hidrolíticas.

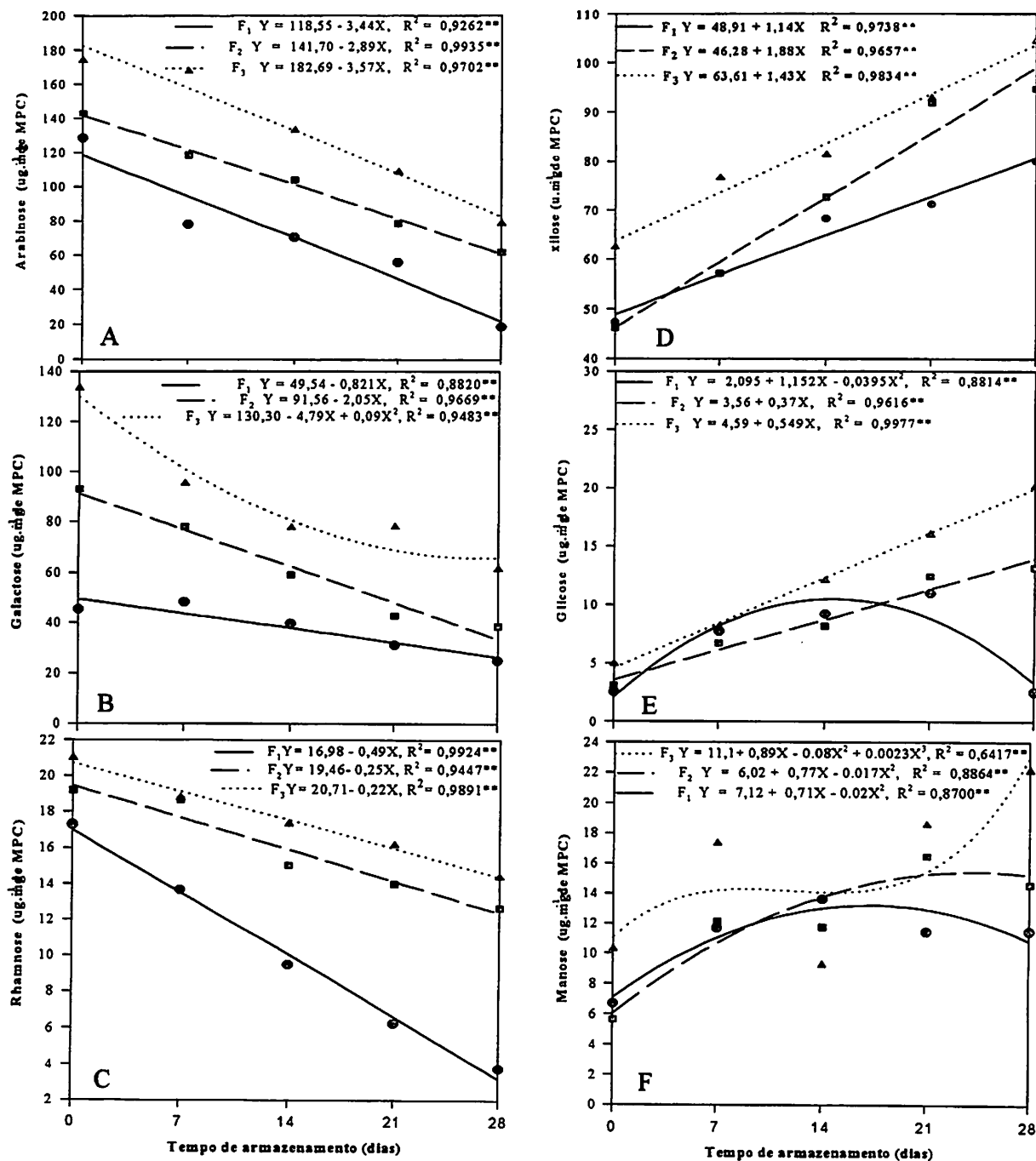


FIGURA 17. Resíduos de açúcares Arabinose(A); Galactose (B); Rhamnose (C); Xilose (D); Glicose (F) e Manose (E) neutros não celulósicos, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3 \%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido: esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

Os principais açúcares hemicelulósicos identificados neste trabalho embora não foram realizado isolamento das frações da parede celular no mesocarpo de mangas afetadas e sadias durante o amadurecimento foram as xiloglucanas, as mananas e as glicomananas, com evidência para os frutos afetados com a desordem fisiológica. Em mangas sadias, cv. Tommy Atkins Mitcham e Mc Donald, (1992) observaram tendência similar com o amadurecimento, onde os resíduos de xilose aumentaram uniformemente, mas decresceram nos frutos da cv. Keitt. Do mesmo modo a galactose foi o resíduo mais abundante.

Nos frutos afetados com a desordem (tratamento F₃) encontrou-se teores levemente mais elevados para os açúcares o que sugere consideráveis variabilidade na composição da parede celular e nas suas modificações com amadurecimento, muito possivelmente devido ao amadurecimento desuniforme já relatado, ou pela manutenção da estrutura hemicelulósica composta de xiloglucanas.

As β -galactosidases em mangas têm sido referidas como sendo enzimas chaves na modificação de pectinas, complementando a atividade poligalacturonase que é baixa se comparada a de outros frutos (Ali, Armugan e Lazan, 1995). Os teores de galactose para os frutos do tratamento F₁ foram similares aos encontrados por Mitcham e Mc Donald, (1992) para a mesma cultivar.

Os teores de glicose nos frutos do tratamento F₃, apresentaram-se significativamente maiores nas últimas semanas de armazenamento, isto sugere uma manutenção de estruturas poliméricas do tipo celulose, bem como dos teores de resíduos de glicose provenientes do metabolismo retardado no local da desordem. Os frutos do tratamento F₁, apresentaram um acréscimo no início do armazenamento atingindo um máximo na metade deste período seguida de redução até o final do armazenamento.

Contrário aos resultados obtidos neste trabalho, a análise de açúcares neutros não celulósicos das mangas indianas 'Ngowe' (Brinson et al. 1988) assim com da 'Tommy Atkins' e 'Keitt' (Mitcham e Mc Donald, 1992) mostraram que galactose, arabinose e glicose foram os resíduos mais abundantes. Estes pesquisadores concluíram que o elevado nível de glicose encontrado foi possivelmente devido a contaminação com amido no material de parede celular, principalmente nos frutos em início de armazenamento.

4.2.3 Grau de esterificação (GE)

O GE ou % de esterificação das pectinas decresceu durante o amadurecimento sendo que nos frutos com a desordem (tratamentos F₂ e F₃), os teores foram significativamente mais altos (Figura 18).

O GE em mangas é relativamente alto quando comparado com outros frutos como melão 'Galia' (Menezes, 1996), e tomates, (Filgueiras, 1995). Estes resultados sugerem que a atuação da PME durante o amadurecimento tem um grande significado para as mudanças que ocorrem na firmeza da polpa. Isto pode, em parte, dificultar a ligação dos íons de cálcio de acordo com o modelo "egg box" o que torna a parede celular mais instável durante o amadurecimento.

Observou-se que os frutos com a desordem apresentaram elevado grau de esterificação dificultando as ligações com cálcio. A variação observada, está concordante com os dados reportados por El-zoghbi (1994), que estudou as mudanças bioquímicas durante o amadurecimento de mangas 'Zebda' e 'Baladi', goiaba, tâmara e morango, verificando também

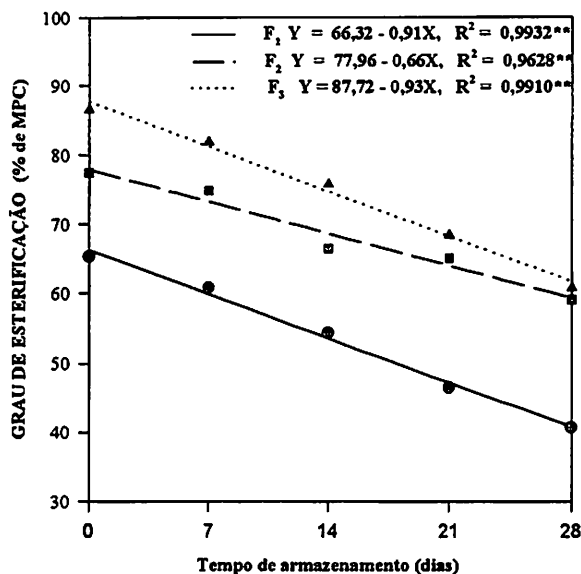


FIGURA 18. Grau de Esterificação, em material de parede celular (MPC), no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

a redução do grau de esterificação. No estudo conduzido por El-zoghbi, (1994) e por outros autores (Lurie et al. 1994, Batisse et al. 1994), o grau de esterificação foi determinado no material de parede celular (resíduo insolúvel em álcool).

O papel do grau de esterificação durante o amadurecimento de frutos e hortaliças tem sido freqüentemente questionado, pois ainda não está claro se o seu aumento ou sua diminuição pode explicar o amaciamento e a solubilização de pectinas.

O alto nível de metil esterificação enfraquece as ligações iônicas dos polímeros pécticos com ligações de íons de cálcio divalente reduzindo a coesão das pectinas da lamela média.

O método empregado neste trabalho para determinar o grau de esterificação (Lurie et al. 1994), quantifica os resíduos de ácido galacturônico envolvidos em ligação éster, não necessariamente com metanol. Assim sendo, uma possível explicação para que nos frutos F₃ o grau de esterificação tenha sido alto (Figura 18) e ainda assim a solubilização de pectinas relativamente baixa seria a hipótese de que outras ligações ésteres com hidroxilas de açúcares neutros tenham impedido a ação das enzimas hidrolíticas, principalmente nos resíduos de ramnosil. Os resíduos de ramnosil atuam como pontos de ramificações entre o esqueleto de rhamnogalacturonanas da pectina e a cadeia lateral das arabinogalactanas. O que se pode concluir é que se o GE dos frutos afetados com a desordem apresentassem baixa porcentagem estes poderiam estar excessivamente desesterificados para serem reconhecidos pela poligalacturonase.

4.2.4 Celulose

Pouco se sabe acerca do comportamento de outros polissacarídeos da parede celular durante o amadurecimento de frutos, além das substância pécnicas. O metabolismo da celulose é apontado como uma importante fator do processo de amolecimento durante esse amadurecimento.

Observou-se que nos frutos sadios (tratamento F₁) estes apresentaram um comportamento quadrático decrescente, durante o armazenamento (Figura 19). Esta característica, juntamente com a redução nos teores de pectina total e pectina solúvel (Figura 3 e 4), são as principais mudanças responsáveis pelo amaciamento de frutos durante a maturação.

Nos frutos dos tratamentos F_2 e F_3 observou-se também um decréscimo linear no conteúdo de celulose mas menos acentuado, possivelmente devido a menor atividade celulase no local e proximidades da desordem. Considerando que a porcentagem de cálcio total e cálcio ligado à parede celular, nos frutos afetados com a desordem (tratamento F_3), tenha sido menor que nos outros frutos (tratamentos F_1 e F_2), a menor redução nos teores de celulose pode ser explicada como sendo o resultado de menor atividade da celulase no tecido desordenado.

Lima, (1992) observou que o conteúdo de celulose também reduziu-se em tomates, 'Santa Clara', tratados com cálcio, sendo esta redução proporcional à dose de cálcio aplicada.

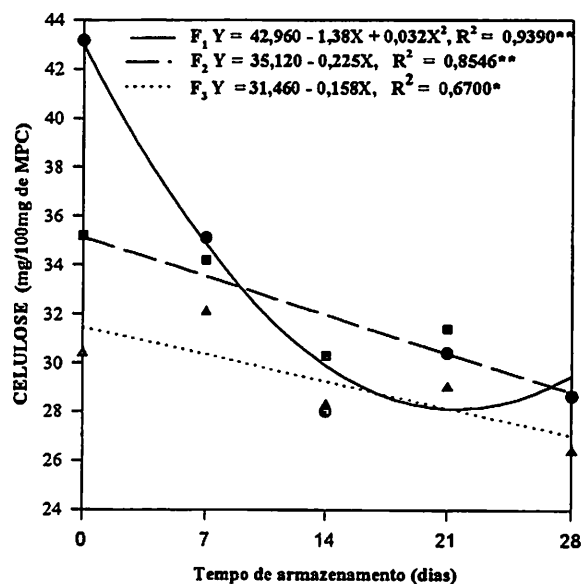


FIGURA 19. Celulose em material de parede celular de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

4.2.5 Cálcio total e cálcio ligado

Os teores de cálcio total não apresentaram variação significativa durante o armazenamento entre os tratamentos (tabela 5A do Apêndice). Os valores médios obtidos durante os períodos de armazenamento encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1. Teores médios de cálcio total (% de matéria seca) no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso.

Tratamento	Cálcio total
F ₁	0,144A
F ₂	0,136AB
F ₃	0,128 B

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey em $P < 0,05$.

Comparando-se as médias dos tratamentos, observa-se que os teores de cálcio total foram mais baixos nos frutos com a desordem (tratamento F₃). Os valores encontrados estão concordantes com os encontrados por Gunjate et al. (1979a), para a cultivar Alphonso, que varia de 0,108 a 0,241%, na casca, e de 0,085 a 0,241%, na polpa. Estes autores concluíram que esta desordem estaria associada com a menor concentração de cálcio próxima ao caroço dos frutos.

Os estudos que relacionam o teor de cálcio e a presença de tecido esponjoso a nível tecidual são conflitantes Subramanyam et al. (1971) e Gunjate et al. (1979b), também encontraram concentrações mais baixas no tecido desordenado quando comparado ao tecido sadio. Enquanto, Gautan e Lizada, (1984), encontraram concentrações mais altas neste tecido tem-se avaliado que esta diferença pode ser o resultado de uma redistribuição de minerais que ocorre com o desenvolvimento do tecido esponjoso

Burdon, Moore e Wainwright, (1991), trabalhando com maior ou menor susceptibilidade à desordem concluíram que a concentração absoluta de cálcio pode não ser somente o único responsável pelo desenvolvimento da desordem, e que a diferença na susceptibilidade dos diferentes cultivares a desordem por tecido esponjoso não é simplesmente uma função da habilidade do fruto em acumular cálcio, mas de todo um comprometimento com o metabolismo do fruto no local e nas proximidades da desordem.

Os resultados encontrados confirmam a hipótese de que a perda da firmeza em mangas durante a maturação esta diretamente associada com atividades enzimáticas, e com a concentração de cálcio ligado a parede celular, (Figura 20).

Verificou-se também que o conteúdo de cálcio ligado a parede celular durante o amadurecimento de mangas sadias (F₁) sofreu grandes alterações (Figura 20). Isto pode ser explicado pela extensiva atividade da poligalacturonase nestes frutos. Nos frutos afetados (tratamento F₃) observou-se um maior grau de esterificação (Figura 18), o que vem confirmar a baixa atividade das enzimas hidrolíticas (PME e PG) na lamela média, o que pode também afetar a interação do cálcio com estes polímeros. Por outro lado, houve também redução bastante acentuada nos níveis de cálcio ligado durante a maturação dos frutos com a desordem. Acredita-se que o elevado grau de esterificação tenha propiciado menor interação

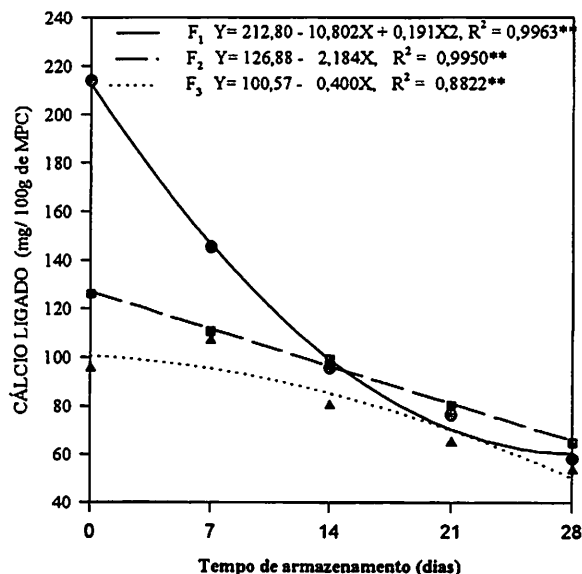


FIGURA 20. Teores de cálcio ligado em material de parede celular (MPC), no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** $p < 0,01$).

com este elemento.

4.3 Atividade enzimática

4.3.1 Pectinametilesterase (PME)

A atividade PME apresentou-se no fruto ‘verde’ bastante elevada, seguida de declínio acentuado até o final do período experimental, com a evolução da maturação, (Figura 21). Este

comportamento é semelhante ao observado por outros autores (Roe e Bruemmer, 1981; Faria et al. 1994 e El-zoghbi, 1994)

Os valores da atividade PME na cv. Tommy Atkins, também apresentaram a mesma tendência da 'Keitt' e 'Haden', 'Zebda' e 'Baladi' com o amadurecimento. Os valores encontrados pode ser correlacionados com o grau de esterificação (Figura 18), e de solubilização de pectinas, (Figura 15) onde pode-se observar a importância desta enzima na desmetilação do C₆, preparando o polímero para a ação da poligalacturonase. Ainda, pode-se observar que o alto grau de esterificação nos frutos F₃ (Figura 18) leva à fraca interação iônica dos polímeros com o cálcio (Huber 1983a, b).

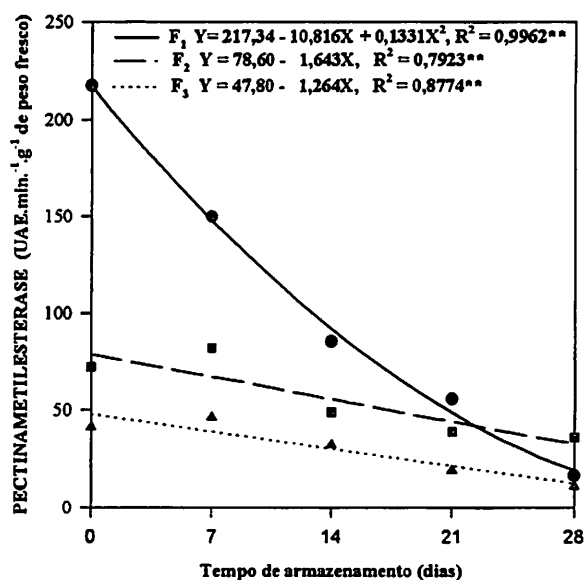


FIGURA 21. Atividade pectinametilesterase, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de 12 °C ± 2 °C e umidade relativa de 88% ± 3 % ; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01)

Os frutos com desordem fisiológica (tratamentos F₂ e F₃) , apresentaram atividade PME baixa, e com tendência de declínio, talvez devido ao amadurecimento desuniforme no local e desenvolvimento de uma porção coriácea em torno de desordem, dificultando a atividade da enzima, semelhante ao observado por Subramanyam et al. (1976), o que refletiu-se nos dados apresentados na figura 2.

Conforme observado por Kays (1991), esta baixa atividade pode estar ligada aos distúrbios bioquímicos ocasionados pelo elevado teor de fenólicos encontrados no local e proximidades da desordem, o que pode resultar em baixa despolimerização, e que também pode ser observado neste trabalho, quando os dados referentes a atividade da PME são relacionados com os da figura 12.

Os trabalhos sobre as mudanças na atividade PME durante amadurecimento de mangas são freqüentemente contraditórios. A enzima tem sido mostrada por permanecer constante (Ashraf et al. 1981) ou decrescer sua atividade durante amadurecimento (Roe e Bruemmer 1981, Faria et al. 1994, El-zoghbi 1994) como encontrado neste trabalho.

A atividade de PME em mangas maduras afetadas com colapso interno quando comparadas com mangas sadias no mesmo estágio de maturação tem sido relatada como sendo baixa (Subramanyam et al. 1976), confirmando o que se observou neste trabalho com os frutos do tratamento F₃. Estas mudanças sugerem que o tecido afetado encontra-se menos maduro que o sadio (F₁), no final do período de armazenamento.

4.3.2 Poligalacturonase (PG)

Durante o período experimental observou-se uma acentuada elevação na atividade PG, nos frutos sadios (tratamento F₁) seguidos da mesma tendência para os afetados com a desordem fisiológica, (Figura 22). De modo geral, a atividade de PG foi menor nos frutos com a desordem, notadamente no tecido esponjoso (tratamento F₃).

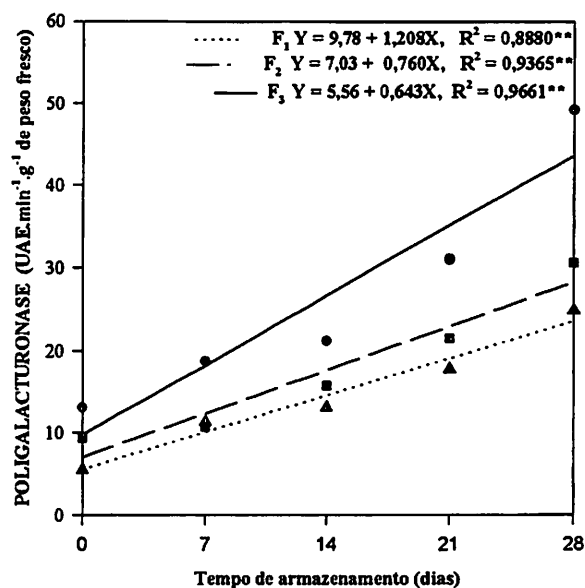


FIGURA 22. Atividade poligalacturonase, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso (** p < 0,01).

O que possivelmente ocorreu é o menor acesso da PG ao seu substrato, nos frutos afetados com a desordem. Isto também foi observado por Gross e Wallner, (1979), que

sugeriram que cadeias laterais, ou outras interações dos polímeros em tomates possam restringir o acesso da PG ao substrato. Essas cadeias laterais são formadas por rhamnogalacturonanas, o que pode ter contribuído para a baixa atividade, uma vez que observou-se maior concentração de resíduos de ramnose nos frutos afetados com a desordem (tratamento F₃), (Figura 17).

A maior atividade da PG no final do armazenamento para os frutos sadios (F₁), foi coincidente com a queda de atividade PME. A função da PME no processo de amaciamento de frutos é preparar as sub-unidade de protopectina, possibilitando a atividade da PG (Faria et al. 1994). A maior atividade de PG ocorreu entre o 21^o ao 28^o dia de armazenamento.

Relacionando-se os resultados obtidos para o conteúdo de pectinas, (Figura 3 e 4), com os de atividade máxima de PG, observou-se que os picos de atividade de PG coincidem com máximo de concentração de pectinas solúveis.

Em tomate, Tieman e Handa (1994), observaram níveis reduzidos de PG e PME, com efeitos opostos sobre a firmeza dos frutos durante o armazenamento prolongado. Em frutos com atividade reduzida de PME, eles observaram perda quase completa da integridade no final da vida útil devido à diminuição dos sítios de ligação com o cálcio.

Os resultados obtidos, e os revisados indicam que o processo de perda de firmeza comumente observado no armazenamento de mangas, pode ter envolvido a atuação de outras hidrolases, como as celulases (Abu-Sarra e Abu-Goukh 1992) e as β -galactosidases (Ali, Armugan, Lazan 1995).

4.3.3 Amilase

O comportamento da atividade amilásica nos tecidos dos frutos normais (tratamento F_1) foi diferente do observado para os frutos com a desordem (tratamentos F_2 e F_3). Nos frutos sadios a atividade máxima ocorreu na segunda semana após o armazenamento, declinou rapidamente, apresentando valores inferiores aos dos frutos danificados no final do período experimental, (Figura 23).

Nos frutos danificados pela desordem observou-se um aumento linear lento até o 28º dia de armazenamento, o que resultou em menor hidrólise de amido (Figura 5), conforme observado por Gupta et al. (1985) e Katrodia, (1988).

Nos frutos sadios (tratamento F_1) os valores são concordantes com aqueles encontrados em mangas, por Fuchs, Pesis e Zauberman, (1980), Tandon e Kalra, (1983), ou seja durante o amadurecimento, há elevação da atividade amilásica paralelamente à diminuição do conteúdo de amido, (Figura 5) com conseqüente aumento no de açúcares, (Figura 6 e 7) que contribuem para o sabor agradável dos frutos.

Chhatpar et al. citado por Katrodia, (1988), também observaram que a atividade amilásica em mangas verde maduras apresentava-se elevada no tecido sadio, e no tecido esponjoso muito baixa. Eles concluíram que o desenvolvimento da desordem pode ter retardado a atividade da enzima resultando na retenção de mais amido não hidrolizado na polpa afetada. Também, Rangwala, citado por Katrodia, (1988), observou maiores teores de amido na parte afetada com tecido esponjoso do fruto maduro contra nenhum conteúdo na polpa sadia. Patkar, Gunjate e Lad, (1983), embora em outra cultivar, encontraram 8,25% de amido

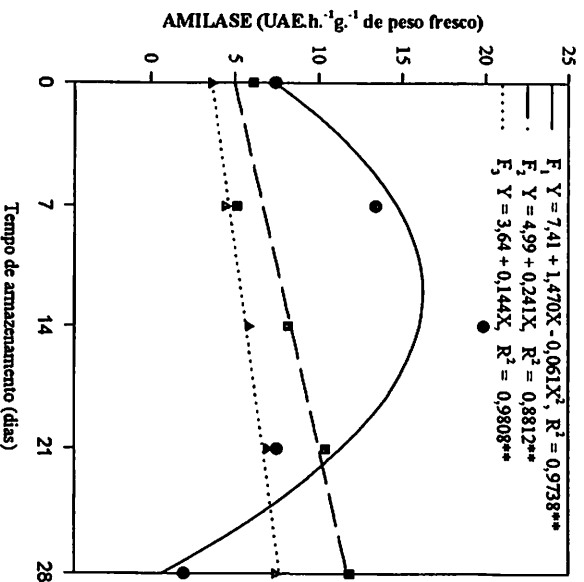


FIGURA 23. Atividade amilásica, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido no fruto esponjoso. (** $p < 0,01$).

no tecido esponjoso, quando comparado com 13,80% no fruto sadio maturo, e observaram que maduro sadio o amido era quase totalmente metabolizado (0,25%) e no fruto maduro afetado estes teores se mantinham relativamente elevados (4,75%). Katrodia, (1988), observou que em mangas *Alphonso* maduras, muito do amido no tecido afetado permanecia não hidrolizado (7,98%), mas o era quase que totalmente no tecido sadio (0,25%), e concluiu que a retenção de amido no tecido afetado é devido a baixa atividade de amilase.

Um leve decréscimo no teor de açúcares redutores no final do amadurecimento foi observado no tecido esponjoso em relação aos outros tecidos, talvez devido a maior

concentração de amido não hidrolizado, (Figura 9), além de menores teores de açúcares totais, não redutores e redutores, (Figura 7,8 e 9).

Os dados apresentados demonstram que a atividade amilolítica é uma importante atividade metabólica durante o amadurecimento de mangas.

4.3.4 Celulase

A atividade de celulase é conhecida em mangas (Roe e Bruemmer, 1981; Abu-Sarra e Abu-Goukh, 1992; El-zoghbi, 1994), em tomates (Fisher e Bennett, 1991), e outros frutos. Têm-se observado que esta atividade aumenta durante o amadurecimento, como o mostrado pela figura 24, embora não se saiba como a celulose é atacada pelas celulases. Selvaraj e Kumar, (1989), demonstraram a atividade de celulase em várias cultivares indianas de mangas. Estes autores observaram que em algumas cultivares esta atividade aumentava a partir da maturidade fisiológica até o estágio meio-maduro e decrescia até o estágio maduro. Em outras cultivares relataram que a atividade aumentava até aos $\frac{3}{4}$ do estágio de maturidade e declinava nos frutos maduros. Este comportamento não foi observado por El-zoghbi (1994), quando estudou três cultivares, este autor também observou aumento na atividade celulásica durante o amadurecimento, que era acompanhado por declínio no conteúdo de celulose.

As celulases constituem uma classe de enzimas com atividade endo- β -(1,4)-glucanases, e podem agir sobre diferentes substratos, entre os quais as xiloglucanas (Fisher e Bennett, 1991), que mantêm a associação entre as microfibrilas e os polissacarídeos da matriz da parede.

Considerando-se essa possibilidade Babbit, Powers e Patterson, (1973), propuseram que talvez o amaciamento se inicie pela ação das celulases no entrelaçamento das microfibrilas possibilitando que outras enzimas, inclusive a PG, e a β - galactosidase (Ali, Armugam e Lazan, 1995) tenham acesso a seus substratos. Isto possivelmente pode ocorrer, uma vez que os frutos do tratamento F₃, mesmo apresentando baixa atividade de PME (Figura 21) e PG (Figura 22) apresentaram algum amaciamento. Outra possibilidade que possa ter ocorrido no tecido afetado, levando a uma menor degradação da celulose, durante o armazenamento (Figura 2), e concordantes com os dados de literatura, e que nestes frutos afetados pode ter ocorrido um

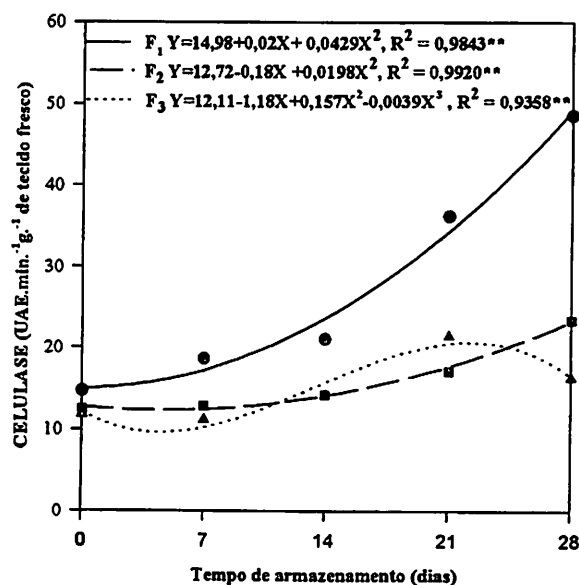


FIGURA 24. Atividade celulásica, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

retardo no processo de amadurecimento devido ao maior teor de compostos fenólicos, (Figura 12), que pode ter inibido o acesso de determinadas enzimas (Beerth, Raghuramaiah e Krishnamurthy 1976).

A realização das análise deste parâmetro se justifica pelo desconhecimento quanto ao metabolismo de celulose nos frutos com a desordem. Em mangas acredita-se que a celulose contribua para a textura do fruto, uma vez que este polímero ocorre em arranjos ordenados através da parede celular. Os valores encontrados neste trabalho para mangas ‘Tommy Atkins’ sadias estão de acordo com os encontrados para esta cultivar, quando estudada por Mitcham e Mc Donald (1992), a onde a redução no teor de celulose foi acompanhada de aumento na atividade celulase.

O mecanismo envolvido no amaciamento de mangas parece estar ou relacionar-se com mudanças nos componentes da parede celular principalmente substâncias pécticas através da ação de enzimas hidrolíticas. Vários trabalhos têm sido publicados com inferência à diminuição do conteúdo de celulose em mangas sadias (Roe Bruemmer, 1981; Abu-Sarra e Abu-Goukh, 1992; El-zoghbi, 1994). Em mangas com tecido afetado com a desordem nenhuma inferência é feita com relação ao comportamento da celulase antes ou durante o amadurecimento.

4.3.5 Fenilalanina amônia-liase

Observa-se que a atividade da FAL no início do armazenamento, apresentava valores quase duas vezes maiores para os frutos com a desordem (F_3) quando comparadas com os sadios (F_1) o que acentuou com o avanço do armazenamento, (Figura 25). Este comportamento

é coincidentemente com o dos fenólicos, (Figura 12).

Têm-se observado em frutos maior atividade de FAL durante o desenvolvimento dos mesmos com tendência a diminuir a níveis muito baixos com o avanço do amadurecimento.

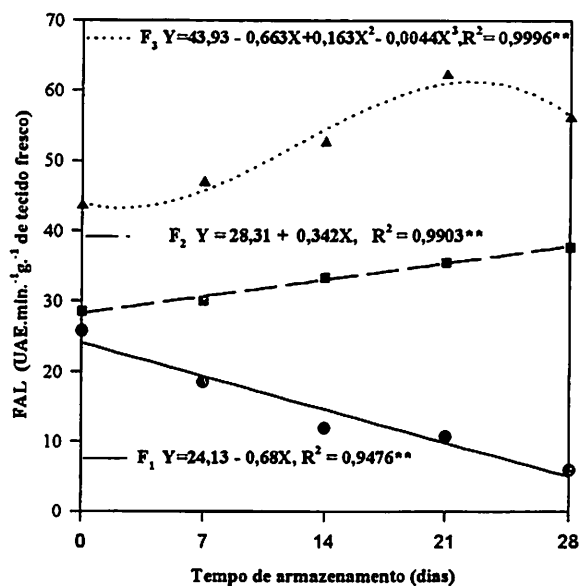


FIGURA 25. Atividade da FAL, no mesocarpo de mangas ‘Tommy Atkins’ sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

Em mangas, essa atividade tem sido pouco estudada, talvez devido nos níveis muito baixos durante o amadurecimento do fruto e a uma maior concentração na casca (Lattanzio, Cardinali e Palmieri, 1994).

Neste trabalho, os frutos sadios (tratamento F₁), apresentaram grande variação na atividade da FAL no início do armazenamento, e com valores muito baixos até o final do armazenamento, semelhante ao observado durante o amadurecimento em mangas da cultivar

Alphonso Kane, Katrodia e Kulkani, 1979, Gunjate, et al. 1979b). Os frutos dos tratamentos F₂ e F₃, apresentaram teores mais elevados, notadamente no tecido esponjoso, contribuindo para os teores crescentes de fenólicos observados, nestes tratamentos (Figura 12), com o avanço do armazenamento. Segundo Zucker, (1965) a FAL catalisa a primeira reação do ácido hidroxicinâmico, produzindo o ácido trans-cinâmico, precursor de vários compostos fenólicos. Conseqüentemente, qualquer alteração na atividade desta enzima afetará o nível de muitos compostos fenólicos no tecido vegetal.

Tem sido observado que, em muitos tecidos os níveis da FAL e de compostos fenólicos, aumentam concomitantemente, (Jones 1984). Em muitos casos, este aumento é coordenado com o aparecimento da atividade de outras enzimas associadas com a via biossintética de fenólicos. A síntese de fenólicos simples e de flavonóides em tecidos de plantas tem sido associada com o aumento de atividade da FAL (Lister, Lancaster e Walker, 1996).

A ativação desta via metabólica em frutos injuriados pode ser possivelmente associada aos mecanismos de resistência do fruto à injúria. Os estudos sobre compostos fenólicos em tecido de manga afetado por colapso interno avaliam sua participação como o esboço de uma resposta do fruto à desordem (Gupta et al. 1985). O colapso interno induziu modificações nos compostos fenólicos que podem agir como substratos, co-fatores ou inibidores de várias atividades enzimáticas (Beerth, Raghuramaiah e Krishnamurthy, 1976).

Em batatas, afetadas com uma desordem fisiológica semelhante, o coração ôco (*hollow heart*), foi observado uma aumento da atividade nos tecidos afetados, que os autores atribuíram a uma redução no sistema inativador (FAL-IS) (Rex e Mazza, 1989).

Em abacaxi (Abreu, 1995), e maçãs (Tan, 1979; Lister, Lancaster e Walker, 1996), observaram que baixas temperaturas (<12 °C) estimulam a atividade da FAL e reduzem o nível

de seu sistema inativador (FAL-IS).

Em mangas sadias a FAL é rapidamente degradada devido a uma maior redução na taxa de degradação que na de síntese (Lister, Lancaster e Walker 1996).

Os níveis de atividade da FAL são difíceis de serem avaliados e comparados entre cultivares, visto que as condições ambientais exercem efeito muito intenso.

Os resultados obtidos no presente trabalho estão coerentes com os autores revisados pois mostram que com o avanço da desordem houve aumento da atividade desta enzima, sugerindo que sua atividade tem grande influência nos níveis de fenólicos totais nos frutos com tecido esponjoso e está relacionada, possivelmente, com a síntese de lignina.

4.3.6 Polifenoloxidase

Nos frutos afetados com a desordem (tratamento F₃), verificou-se elevada atividade no momento da colheita, (Figura 25). Esta atividade aumentou linearmente até o período final do armazenamento. Nos frutos dos tratamentos F₁ e F₂ a atividade das PFOs foi baixa, com aumento de atividade até a 2ª semana, seguido de decréscimo até o final do período experimental. Estes resultados concordam com os de Selvaraj e Kumar, (1989), que encontraram aumento de atividade em várias cultivares de manga durante a primeira semana seguido de acentuada queda até o final do armazenamento.

A grande diferença no conteúdo de compostos fenólicos observado neste trabalho entre os tecidos sadios (tratamento F₁) e com a desordem fisiológica (tratamento F₂ e F₃), (Figura 12) pode ser devida ao aumento de atividade das enzimas PFOs, nestes últimos, pois,

sabe-se que, os fenólicos ácidos são considerados os melhores substratos endógenos para a atividade de fenolases, as quais poderiam rapidamente oxidar alguns fenólicos solúveis em substâncias de coloração marrom resultando no escurecimento celular, observado no tecido esponjoso neste experimento.

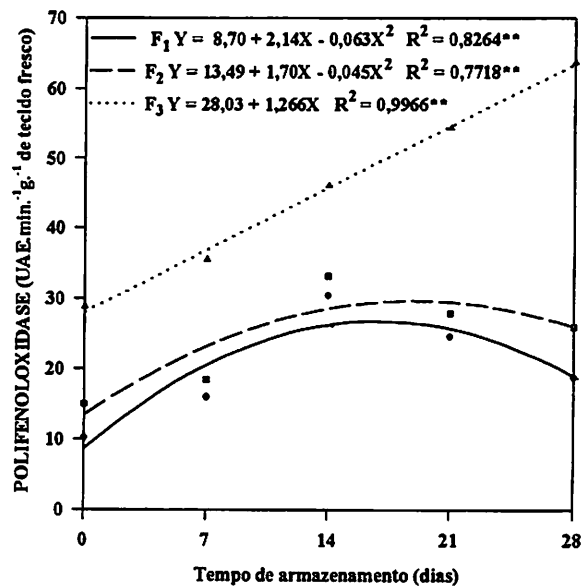


FIGURA 26. Atividade polifenoloxidásica, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de 12 °C ± 2 °C e umidade relativa de 88% ± 3 % ; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01)

Nos tecidos danificados (tratamento F₃) a atividade dessas enzimas foi elevada, desde o início do experimento (cerca de 2,0 a 2,5 vezes maior que nos tecidos sadios), e aumentou linearmente em função do tempo de armazenamento.

Várias substâncias têm sido utilizadas para investigar o mecanismo de inibição das reações de oxidação provocadas pelas fenolases. Em estudos com batatas, Rex e Mazza (1989) observaram que o ácido ascórbico, quando presente no sistema catecol-polifenoloxidase, atua como antioxidante, reduzindo o desenvolvimento da cor escura até que ocorra oxidação completa deste ácido. No presente trabalho, observou-se decréscimo acentuado nos teores de ácido ascórbico no tecido esponjoso, (Figura 14), fato que pode ter favorecido o aumento da atividade das PFOs no local da desordem.

Selvaraj e Kumar, (1989), também correlacionaram a atividade de PFOs com mudanças nos níveis de ácido ascórbico, em mangas com diferentes níveis de susceptibilidade à desordem fisiológica, concluindo que a causa e o desenvolvimento da desordem são desconhecidos, mas, as reações de escurecimento do tecido afetado estão envolvidas com o aumento de atividade dessas enzimas.

4.3.7 Peroxidase

Observa-se valores crescentes de atividade das PODs nos frutos com a desordem fisiológica (Tratamento F₃), (Figura 26), possivelmente resultante de um processo de lignificação no local e proximidades da desordem, concordantes com os valores encontrados por Gunjate et al. (1981).

O aumento na atividade das PODs durante o armazenamento de mangas, tem sido explicado por vários autores, associando-o ao mecanismo de resistência à injúria, uma vez que esta enzima tem ação importante na síntese de lignina, e que, a combinação entre os aumentos

da atividade da PODs e os acréscimos nos teores de fenólicos nos frutos, (Figura 12) poderia ser uma resposta do fruto à desordem fisiológica (Gupta et al. 1985).

Durante estas complexas mudanças fisiológicas que ocorrem nos frutos com tecido esponjoso, a precisa reação química catalisada pelas PODs ainda não é totalmente elucidada, visto que, as mesmas podem promover um grande número de reações. Na pós - colheita, as

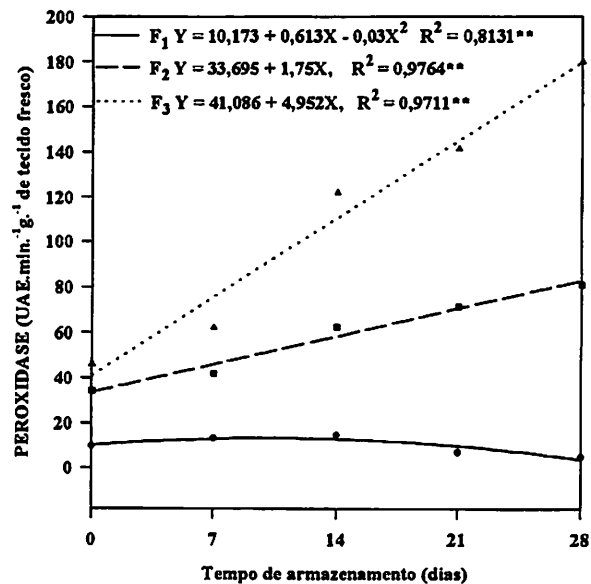


FIGURA 27. Atividade peroxidásica, no mesocarpo de mangas 'Tommy Atkins' sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F₁ = mesocarpo de fruto sadio; F₂ = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F₃ = mesocarpo danificado por tecido esponjoso. (** p < 0,01).

peroxidases têm sido responsáveis pela deterioração no *flavour*, na cor, na textura, e nas qualidades nutricionais, além da resposta do fruto ao estresse e às desordens fisiológicas (Gupta et al. 1985; Robinson, 1991).

5 CONCLUSÕES

Em mangas sadias, as principais mudanças que explicam o processo de amaciamento foram, a extensiva perda de firmeza, a redução nos teores de amido, de poliuronídeos totais, os de açúcares neutros, principalmente ramnose, arabinose, galactose, além da redução nos teores de celulose, e a maior atividade de poligalacturonase, pectinametilesterase, Celulase e amilase.

O tecido sadio do fruto danificado pelo tecido esponjoso, apresentou para alguns dos parâmetros analisados comportamento similar ao fruto sadio e ao tecido esponjoso, (F₃) o que caracteriza que este tecido já apresentava seu metabolismo alterado em relação a desordem fisiológica.

Os tecidos afetados com a desordem foram mais firmes e com menores teores de carotenóides (β -caroteno), pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, e de açúcares totais, redutores e não redutores. Apresentaram-se também com menor solubilização de pectinas; maior grau de esterificação das mesmas e com teores mais elevados de celulose, arabinose, galactose, xilose e ramnose na parede celular ao final do amadurecimento, assim como baixa atividade pectinametilesterase e uma menor elevação na atividade de poligalacturonase com o avanço do amadurecimento.

Os frutos com grau de esterificação mais elevado foram, em geral, mais firmes pela menor atividade das enzima pectinametilesterase e celulase.

Os frutos dos tratamentos F₂ e F₃ apresentaram maiores teores de fenólicos, maiores atividade de fenilalanina amônia-liase, polifenoloxidasas, peroxidases, celulase, e menor hidrólise de amido, assim como menores teores de ácido ascórbico e de cálcio total no local da desordem.

Nos frutos afetados com a desordem fisiológica determinou-se um particular comportamento na atividade da pectinametilesterase, o que indica uma menor atividade sobre a desesterificação de pectinas. Não obstante, a desordem afetou a atividade da poligalacturonase, embora tal supressão enzimática tenha provocado uma menor despolimerização de pectinas. Acredita-se que outras enzimas despolimerizantes também tenham interferido para o amaciamento destes frutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C. M. P. de Efeito da embalagem de polietileno e da refrigeração no escurecimento interno e composição química durante a maturação do abacaxí cv. *Smooth cayenne*, Lavras:UFLA, 1995. 94p. (Tese Doutorado em Ciências dos Alimentos).
- ABREU, C. M. P. de Alterações no escurecimento interno e na composição e na composição química do abacaxí cv. *Smooth cayenne*, durante seu amadurecimento com e sem refrigeração. Lavras:ESAL, 1991. 72p. (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- ABU-SARRA, A. F.; ABU-GOUKH, A. A.. Changes in pectinesterase, polygalacturonase and cellulase activity during mango fruit ripening. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.67, n.4, p.561-568, July 1992.
- AHMED, A. E.; LABAVITCH, J. M.. Cell wall metabolism in ripening fruits. I: Cell wall changes in ripening "Bartlett" pears. **Plant Physiology**, Baltimore, v.65, n.5, p.1009-1013, May 1980.
- AHMED, A.; LABAVITCH, J. M. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v.1, n.4, p.361-365, Dec. 1977.
- ALBERSHEIM, P.; NEVINS, D. J.; ENGLISH, P. D.; KARR, A. A. A method for the analysis of sugar in plant cell wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v.5, p.340-345, Oct. 1967.
- ALI, M. Z.; ARMUGAM, S; LAZAN H. β -Galactosidase and its significance in ripening of mango fruit **Phytochemistry**, Oxford, v.38, n.5, p.1109-1114, Mar. 1995.
- ARÊAS, J. A. G.; LAJOLO, F. M. Determinação enzimática específica de amido, glicose, frutose e sacarose em banans preclimatéricas e climatéricas. **Anais de Farmácia e Química de São Paulo**, São Paulo, v.20, n.1/2 ,p.307-318, jan./dez. 1980.

- ASHRAF, M. W.; KHAN, N. AHMAD, M.; ELAHI, M. Studies on the pectinesterase activity and some chemical constituents of some Pakistani mango varieties during storage ripening. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Columbus, v.29, n.3/4, p.526-528, May/June 1981.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 12 ed. Washington: A.O.A.C. 1992.
- AWAD, M. **Fisiologia Pós-colheita de frutos**, São Paulo : Nobel, 1993. 114p.
- AWASTHI, R. K.; PANDEY, I. C. Physico-chemical composition and canning suitability of mango varieties. **Indian Food Packer**, Nova Delhi, v.34, n.3, p.60-63, May/June 1980.
- BABBIT, J. K.; POWERS, M. J.; PATTERSON, M. E. Effects of growth regulators on cellulase, polygalacturonase, respiration, color and texture of ripening tomatoes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.98, n.1, p.77-81, Jan. 1983.
- BACIC, A.; HARRIS, P. J.; STONE, B. A. Structure and function of plant cell walls. In: PRESS J. (ed). **The biochemistry of plants : a comprehensive treatise. Carbohydrates**. London: Academic Press, 1988. v.14, p.297-371.
- BANGERTH, F; DILLEY, R. D. DEWEY Effect of postharvest calcium treatments on internal breakdown and respiration of apple fruits. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v.97, n.5, p.679-682, Sept. 1972.
- BARTLEY, I. M. Changes in the glucans of ripening apples. **Phytochemistry**, Elmsford, n.15, n.4, May 1976.
- BATISSE, C.; FILS-LYCAON, B.; BURET, M. Pectin changes in ripening cherry fruit. **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.2, p.389-393, Mar./Apr. 1994.
- BEERTH, O. P.; RAGHURAMAIAH, B.; KRISHNAMURTHY, G. V. Utilization of mango waste peel as a source of pectin. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v.13, n.1, p.96-97, Feb. 1976.
- BERNIZ, P. J. **Avaliação industrial de variedades de manga (*Mangifera indica* L.) para elaboração de néctar**. Viçosa: UFV, 1984. 55p. (Tese Mestrado Fisiologia vegetal).

- BIALE, J. B. Synthetic and degradative process in fruit ripening. In: HAARD, N. F.; SALUNKHE, D. K. **Postharvest biology and handling of fruits and vegetables**. Westport: AVI, 1975. Cap.2, p.8-18.
- BILES, C. L.; MARTYN, R. D. Peroxidase, polyphenoloxidase, and shiquimate the hydrogenase isoenzymes in relation to tissue type, maturity and pathogen induction of watermelon seedlings. **Plant Physiology Biochemistry**, Paris, n.31, v.4, p.499-506, May/June 1993.
- BISSOLI JUNIOR, W. **Qualidade de mangas (*Mangifera indica* L.) cv 'Tommy Atkins' sob influência da pulverização pré-colheita dos frutos com calcio e boro**. Lavras: ESAL. 1992. 86p. (Dissertação de mestrado em Ciência dos Alimentos).
- BLEINROTH, E. W. Recomendações para armazenamento de frutas. In: BLEINROTH, E. W. **Curso de Pós-colheita e armazenamento de frutas**. Instituto de Tecnologia de Alimentos Campinas:ITAL, 1981. Cap.13, p. 58.
- BLEINROTH, E. W; FIGUEIREDO, I. B. de ; VEIGA, A. A.; SOARES, N. B.; MEDINA, J. C.; SABINO, J. C. Avaliação de novas cultivares de manga para industrialização. I. Análise das características físico-geométricas e químicas da matéria-prima. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.2, p.207-216, abr./jun.1985.
- BLUMENKRANTZ, N.; ASBOE-HANSEN, G.. New methods for quantitative determination of uronic acids. **Analytical Biochemistry**, New York, v.54, n.3, p.484-489, Apr. 1973.
- BRADY, C. J. Fruit ripening. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.38, p.155-178, 1987.
- BRAVERMAN, J. B. S. **Bioquímica de los alimentos**. 9. ed. México : Editorial el Manual Moderno, S.A. de C. V.,1980. 167p.
- BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and biochemistry of plant cell walls**. London: Unwin Hyman, 1990. 193p.
- BRINSON, K.; DEY, P.M.; JOHN, M. A.; PRIDHAN, J. B. Post harvest changes in *Mangifera indica* mesocarp cell walls and cytoplasmic polysaccharides. **Phytochemistry**, Oxford, v.27, n.3, p.719-723, Feb. 1988.

- BUESCHER, R. W.; TIGCHELAAR, E. C.. Pectinesterase, polygalacturonase, Cx-cellulase activities and softening of the rin tomato mutant. *Hortscience*, Alexandria, v.10, n.6, p.624-625, Dec. 1975.
- BURDON, J. N.; MOORE, K. G.; WAINWRIGHT, H. Mineral distribution in mango fruit susceptible to the physiological disorder soft-nose. *Science Horticulturae*. Amsterdam v.48, n.3/4, p.329-336, May 1991.
- BURNS, J. K.; PRESSEY, R. Ca^{2+} in cell walls of ripening tomato and peach. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.112, n.5, p.783-787, Sept. 1987.
- BUTT, V. S. Direct oxidases and related enzymes. In: STUMPF, P. K.; COHN, E. E. *The biochemistry of plants -a comprehensive treatise*. New York: Academic Press, 1980. v.2, p.81-123.
- CASTRILLO, M.; KRUGER, N. J.; WHATLEY, F. R. Sucrose metabolism in mango fruit during ripening. *Plant Science*, Irlanda, v.84, n.1, p.45-51, July 1992.
- CENCI, S. A. **Ácido naftaleniácético (ANA) e cloreto de cálcio na pré-colheita de uva niagara rosada (*Vitis labrusca* L. X *Vitis vinifera* L.): Avaliação do potencial de conservação no armazenamento**. Lavras: ESAL, 1994. 109p. (Tese Doutorado em Ciência dos Alimentos)
- CHADHA, H. S.; MATTOO, A. K.; MODI, V. V. Biochemical studies on chilling injury in mangoes. *Phytochemistry*, Oxford, v.10, p.1007-1009, Oct. 1989.
- CHAMARRO, J.; MOLINA, I. Oxidation of indoleacetic acid by an apparently homogeneous peroxidase from the flavedo of washington navel oranges (*Citrus sinensis*). *Journal of Food Biochemistry*, Westport, v.13, n.5, p.361-375, Oct. 1989.
- CHAPLIN, G. R. Postharvest physiology of mango fruit. In: *FIST AUSTRALIAN MANGO RESEARCH WORKSHOP*, November, 1984. *Proceedings...*, Melbourne: CSIRO, 1986, p.261-270.
- CHAPLIN, G. R. SCOTT, K. J. Association of calcium in chilling injury susceptibility of stored avocados. *Hortscience*, Alexandria, v.15, n.4, p.514-515, Aug. 1980.

- CHEFTEL, J.; CHEFTELL, H. **Introdução a la Bioquimica y tecnologia de los Alimentos.** Espanha, 1976.v.1, 220p.
- CHENG, G. W.; BREEN, P. J. Activity of Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v.116, n.5, p.865-869, Sept. 1991.
- CHHATPAR, H. S.; MATTOO, A. K.; MODI, V. V. Biochemical studies on chilling injury in mangoes **Phytochemistry**, Oxford,v.10, n.5, p.1007-1009, May 1971.
- CHHATPAR, H. S.; MODI, V. V.; VASVADA, P. C. Bacterial production of spongy tissue in mango. **Journal Maharashtra Agriculturistics Universities**, Baroda, v.17-18, n.3, p.49-53, July 1968-69.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças; Fisiologia e Manuseio**, Lavras: FAEPE, 1990. 293p.
- CONWAY, W. S.; SAMS, C. E. Calcium infiltration of Golden Delicious apples and its effect on decay. **Phytopathology**, St.Paul, v.73, n.7, p.1068-1071, July 1983.
- CONWAY, W. S.; SAMS, C. E.; WATADA, A. E. Relationship between total and cell wall bound calcium in apples following postharvest pressure infiltration of calcium chloride. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.398, p.31-39, 1995.
- DIETER, P. Calmodulin and calmodulin-mediated processes in plants. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v.7, n.4, p.371-380, May 1984.
- DILLEY, D. Enzymes. In: HULME, A. C. (ed). **The biochemistry of fruits and their products.** London: Academic Press, 1979, v.1, Cap.8, p.179-204.
- DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAN, M. L. (ed.). **Carbohydrates Chemistry.** New York: Academic Press, 1962. v.1, p. 477-512.
- DONADIO, L. C.; SOARES, N. B.; MORAIS, L. G.; XAVIER, N. J. D.; SCALOPI, E. J.; PIZA JUNIOR, C. T. **Características de algumas variedades de mangueiras cultivadas no Estado de São Paulo.** Campinas: CATI, 1982.16p. (Boletim Técnico, 171).

- DONADIO, L.C.. **Cultura da mangueira**. Piracicaba: Livroceres, 1980. 72p.
- EL-ZOGHBI, M. Biochemical changes in some tropical fruits during ripening. **Food Chemistry**, London, v.49, n.1, p.33-37, Jan. 1994.
- ESGUEIRRA , E.. B. LIZADA, M. C. C. The postharvest behaviour and quality of 'Carabao' mango subjected to vapour heat treatment. **ASEAN Food Journal**, Singapore, v.16, n.5 p.704-712, Oct. 1990.
- FARIA, A. J. B.; CAVALCA, M. M.; FERREIRA, R. C.; JANZANTI, N. S. Transformações enzimicas das substâncias pécticas da manga (*Mangifera indica* L.) v. Haden no amadurecimento. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.14, n.2, p.189-201, jul./dez. 1994.
- FILGUEIRAS, H. A. C. **Bioquímica do amadurecimento de tomates híbridos heterozigotos para o mutante 'Alcobaça'**. Lavras: UFLA, 1996. 117p.(Tese Doutorado em Ciência dos Alimentos).
- FILS, B.; SAVAGE, F. X.; NICOLAS, J. Tomato peroxidases, purification and some properties. **Science Aliments**, Washington, v.5, n.2, p.217-232, Mar.1985.
- FILS-LYCAON, B.; BURET, M. Loss of firmness and changes in pectic fractions during ripening and overripening os sweet cherry. **HortScience**, Alexandria, v.25, n.7, p.777-778, July 1990
- FISHER, M.; ARRIGONI, E.; AMADÒ, R. Changes in pectic substances of development and postharvest ripening. part 2 : Analysis of the pectic fractions. **Carbohydrate Polymers**, London,v.25, n.2, p.167-175, Mar. 1994
- FISHER, R. L.; BENNETT, A. B. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.675-703, 1991
- FISHMAN, M. L. Pectic substances. In: HUUY, Y. H.(ed.). **Encyclopedia of Food Science and Technology**. New York : Wiley Interscience, 1992. v.3, p.2039-2043.

- FONSECA, H.; NOGUEIRA, J.N.; MARCONDES, A. M. S. Teor de ácido ascórbico e beta-caroteno em frutas e hortaliças brasileiras. **Separata de Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.19, n.1, p.9-16, mar. 1969.
- FOX, P. F. **Food Enzymology**. London: Elsevier Applied Science. 1991. v.1, 696p.
- FRY, S. C. Cross-Linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.37, p.165-186, 1986.
- FUCHS, Y.; PESIS, E.; ZAUBERMAN, G.. Changes in amylase activity, starch and sugars contents in mango fruit pulp. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.13, n.2, p.155-160, Mar. 1980.
- GAFFE, J.; TIEMAN, D. M.; HANDA, A. H. Pectin methylesterase isoforms in tomato (*Lycopersicon esculentum*) tissues. Effects of expression of a pectin methylesterase antisense gene. **Plant Physiology**, Baltimore, v.105, n.1, p.199-203, May 1994.
- GASPAR, T.; PENEL, C; THORPE, T.; GREPPIN, H. **Peroxidases**. Genève: Ed. Université de Genève-Centre de Botanique, 1982. p. 1970-1980.
- GAUTAM, D. M.; LIZADA, M. C. C.. Internal breakdown in 'Carabao' mango subjected to modified atmospheres IV. Ca and K levels in the spongy tissue. **Postharvest Research Notes**, Amsterdam, v.1, n.3, p.90-92, July/Sept. 1984.
- GOLDESTINEIN, J. L.; SWAIN, T. Changes in tannin in ripening fruits. **Phytochemistry**, Oxford, v.2, n.1, p.371-383, Jan. 1963.
- GOMEZ-LIM, M. A. Mango fruit ripening : Physiology and molecular biology. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.341, p.484-499, Aug. 1993.
- GOODWIN, T. W.; MERCER, E. I. **Introduction to plant biochemistry**. 2. ed. Oxford: Pergamon Press, 1986. 677p.

- GORIN, N.; HEIDEMA, F. T. Peroxidase activity in Golden Delicious apples as a possible parameter of ripening and senescence. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Washington, v24, n.1, p.200-201, Jan./Feb. 1976.
- GRIERSON, D. Gene expression in ripening tomato fruit. **CRC Critical Review of Plant Science**, Cleveland, v.3, p.113-132, 1985.
- GRIERSON, D.; TUCKER, G. Timing of ethylene and polygalacturonase synthesis in relation to the control of tomato fruit ripening. **Planta**, New York, v.157, n.1, p.174-177, Feb. 1983.
- GROSS, K C. Fractionation and partial characterization of cell wall from normal and ripening tomato fruit. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.62, n.1, p.25-32, Sept. 1984.
- GROSS, K. C.; WALLNER, S. J. Degradation of cell wall polyssaccharides during tomato fruit ripening. **Plant Physiology**, Baltimore, v.63, n.1, p.117-120, July 1979.
- GROSS, K.. C, Recent developments on tomato fruit softening. **Postharvest News and Information**, Amsterdam, v.1, n.2, p.109-112, Apr. 1990.
- GUNJATE, R. T.;TARE, S. J.; RANGWALA, A. D.; LIMAYE, V. P . Effect of pre-harvest and post-harvest calcium treatments on calcium content and occurrence of spongy tissue in 'Alphonso' mango fruits. **Indian Journal of Horticulture**, New-Delhi, v.37, n.2, p.140-144, Jun. 1979a.
- GUNJATE, R. T.;TARE, S. J.; RANGWALA, A. D.; LIMAYE, V. P.. Calcium content in "Alphonso" mango fruits in relation to occurrence of spongy tissue. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, Baroda, India, v.4, n.2, p.159-61, Mar./Jul. 1979b.
- GUNJATE, R. T.;TARE, S.J.; WALIMBE, B. P.; LAD, B. L.; LIMAYE, V. P.. Development of internal breakdown in Alphonso mango by post-harvest exposure of fruits to sunlight. **Science and Culture**, Calcutta, v.48, n.2, p.188-190, Feb. 1982.

- GUPTA, D. N.; LAD, B. L.; CHAVAN, A. S.; SALVI, M. J. Enzyme studies on spongy tissue : A physiological ripening disorder in Alphonso mango. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, Baroda, India, v.10, n.2-6, p.280-282, Jan./Jul. 1985.
- HAARD, N. F.; TOBIN, C. Patterns of soluble peroxidase in banana fruit. **Journal of Food Science**, Chicago, v.36, n.5, p.854-857, July/Aug. 1971.
- HAHLBROCK, K.; GRISEBACH, H. Enzymic controls in the biosynthesis of lignin and flavonoids **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, n.30, p.105-130, 1979.
- HASEGAWA, S.; SMOLENSKY, D. C.. Cellulase in dates and its role in fruit softening. **Journal of Food Science**, Chicago, v.36, n.2, p.966-967, Apr. 1971.
- HEPPLER, P. K.; WAYNE, R. O. Calcium and plant development. **Annual Review Plant Physiology**, Palo Alto, v.36, p.397-439, 1985.
- HIGBY, W. K. A simplified method for determination of some aspects of the carotenoid distribution in natural and carotene-fortified orange juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v.27, n.1, p.42-49, Jan./Fev. 1962.
- HILTON, D. M.; PRESSEY, R. Cellulase activity in peaches during ripening. **Journal of Food Science**, Chicago, v.39, n.4, p.783-785, July/Aug. 1974.
- HOBSON, G. E.; GRIERSON, D. Tomato. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. (ed.) **Biochemistry of fruits ripening**. London:Chapman&Hall, 1993. Cap.13, p.405-442.
- HUBBARD, N. L. PHARR, M. D. and HUBER, S. C. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruits of various species. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.82, n.2, p.191-196, Jun. 1991.
- HUBER, D. J. Polyuronide degradation and hemicellulose modifications in ripening tomato fruit. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.108, n.3, p.405-409, May 1983a.

- HUBER, D. J. Strawberry fruit softening: the potential roles of polyuronides and hemicelluloses. **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, n. 5, p. 1310-1315, Sept./Oct. 1984.
- HUBER, D. J. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. **Horticultural Review**, Westport v.5, p.169-219, 1983b.
- HULME, A. C. The mango. **The biochemistry of fruits and their products**. 2 ed. London: Academic Press, 1974. v.2, p.233-254.
- HULTIN, H. O.; LEVINE, A. S.. Pectin methylesterase in ripening banana. **Journal of Food Science**, Chicago, v.30, n.6, p.917-921, Nov./Dec. 1965.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de Alimentos**. 3 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985 .v.1, 533p.
- ISHERWOOD, F. A. Hexosanas, pentosanas and gums. In: HULME, A.C, (ed.) **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1970,v.1,p.33-51.
- JANDEL SCIENTIFIC, sigma plot, Scientific Graphing Software,. **User's Manual**. California: Jandel Corporation, 1995. 280p.
- JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. P. Pectolitic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.)**Journal of Food Science**, Chicago, v.49, p.1085-1087, Mar./Apr. 1984.
- JOEL, D. M.; MARBACH, I.; MAYER. Laccase in Anacardiaceae. **Phytochemistry**, Elmsford, v.17, n.6, p.796-797, June 1978.
- JONES, D. H. Phenylalanine ammonia Lyase:regulation of its induction and its role in plant development. **Phytochemistry**, Oxford, v.23, n.7, p.1349, July 1984
- JOSHI, G. D.; ROY, S. K.. Spongy tissue in mango, a physiological disorder. **Indian Horticulture**, Delhi, v.29, n.4, p.21-22, Jan./Mar. 1985.

- JOSHI, G. D; LIMAYE, V. P.. Effects of tree location and fruit weight on spongy tissue occurrence in Alphonso mango. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, Baroda, v.11, n.2-6, p.104, Jan./Jun. 1986.
- JOYCE, D. C.; HOCKINGS, P. D.; MAZUCCO, R. A.; SHORTER, A. J.; BRERETON, I. M. Heat treatment injury of mango fruti reveleed by non destructive magnetic resonance imaging. **Postharvest Biology and Technology**, St. Lucia, v.3, n.1, p.305-311, Mar. 1993
- KANE, D. A.; KATRODIA, J. S.; KULKARNI, D. N. Problem of spongy tissue development in mango (*Mangifera indica* L.), cv. Alphonso: A review. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, Baroda, v.1, n.2-6, p.89-94, Jan./July 1979.
- KATRODIA, J. S. Spongy tissue in mango - causes and control measures. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.231, p.815-826, 1988.
- KATRODIA, J. S.;RANE, D. A.;SALUNKHE, D. K. Biochemical nature of spongy tissue in Alphonso fruits. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.231, p.835-839, 1988.
- KATWA, L. C.; RAMAKRISHINA, M. AGHAVENDRA RAO, M. R. Purification and properties of polyphenol oxidase from mango peel (*Mangifera indica*). var. Raspuri **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v.6, n.4, p.217-228, Dec. 1982.
- KAYS, J. S. **Postharvest Physiology of Perishables Plant Products**. New York: AVI, 1991. 532p.
- KIM, J.; CARPITA, N. C. Changes in esterification of the uronic acid groups of cell wall polysaccharides during elongation of maize coleoptiles. **Plant Physiology**, Baltimore, v.98, n.2, p.646-653, Feb. 1992
- KNEE, M. Properties of polygalcturonase and cell cohesion in apple fruit cortical tissue. **Phytochemistry**, Oxford, v.17, n.5, p.1257-1260, May 1978.
- KNEE, M.. Polysaccharide changes in cell wall of ripening apples. **Phytochemistry**, Elmsford, v.12, n.3, p.1543-1549, July 1973.

- KNEE, M.; BARTLEY, I. M. Composition and metabolism of cell wall polysaccharides in ripening fruits. In: FRIEND, J.; RHODES, M. J. C. (ed.) **Recent advances in the Biochemistry of fruits and vegetables**. London: Academic Press, 1981. Cap.7, p.131-146.
- KONNO, H. YAMASAKI, Y.; KATOH, K.. Degradation of pectic polysaccharides extracted from suspension cultures of carrot by purified exo-polygalacturonase. **Plant Physiology**, Baltimore, v.61, n.5, p.20-26, Dec. 1983.
- KRAMER, A. Fruits and Vegetables. In: TWIGG, B. A. **Quality control for Food Industry**. Connecticut : AVI Publishing Company, 1973. v.2, p.157-227.
- KRISHNAMURTHY, S Effect of calcium and boron on the incidence of internal breakdown in Alphonso mango (*Mangifera indica* Linn.). **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v.19, n.1, p.80-81, Feb. 1982.
- KRISHNAMURTHY, S. Chemical studies on internal breakdown in Alphonso mango (*Mangifera indica* L.). **Journal of Horticultural Science**, Asford, v.56, n.3, p.247-250, July 1981.
- KRISHNAMURTHY, S.. Internal breakdown during ripening of Alphonso mango (*Mangifera indica* Linn.) in relation to specific gravity of the fruit. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v.17, n.4, p.198-199, Oct. 1980.
- KRISHNAMURTHY, S.; SUBRAMANYAM, P. M. H. Pre and postharvest physiology of the mango fruit: a review. **Tropical Science**, Trinidad, v.15, n.2, p.167-193, Feb. 1973.
- KRISHNAMURTHY, S; RAO, G. K.. Regulation of ripening by chemical in Alphonso mango. **Scientia Horticulture**, Amsterdam, v.16, n.2 p.179-183, Apr. 1982.
- KUMAR, R.; SELVARAJ, Y. Fructose-1-6 - biphosphatase in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. **Indian Journal of Experimental Biology**, Burdon, v.28, n.2, p.284-286, Mar. 1990
- LAD, B. L.; GUNJATE, R. T.; SALVI, M. J.. Effect of post harvest ethephon dipping of fruits on occurrence of spongy tissue in Alphonso mango. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v.28, n.1, p. 85-87, Mar. 1985.

- LAKSHIMINARAYANA, S. Mango. In: NAGY, S; SWAW, P. E. **Tropical and Subtropical Fruits**. Westport: AVI Publishing, INC. 1980. p.157-184.
- LAM, P. F.; NG, K. H.; OMAR, D.; TALIB, Y. Physical, physiological and chemical changes of Golek after harvest. Proceedings of workshop on mango and Rambutan. **ASEAN Postharvest Training College**, Laguna, Phillipines. p.96-112,1982.
- LAMIKRANRA, O. Browning capacity of Muscadine grapes. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Tallahassee, v.101, p.224-232, 1988.
- LATTANZIO, V.; CARDINALI, A.; PALMIERI, S. The role of phenolics in the postharvest physiology of fruits and vegetables: Browning reactions and fungal diseases. **Italian Journal Food Science**, Bari, v.1, n.1, p.3-30, Jan. 1994.
- LAZAN, H.; ALI, Z. M. A.; LEE, K. W.; VOON, J.; CHAPLIN, G. R. The potential role of polygalacturonase in pectin degradation and softening in mango fruit. **ASEAN Food Journal**, Singapore, v.2, n.1, p.93-95, Feb. 1993.
- LEGRAND, M. Phenylpropanoid metabolism and its regulation in disease. In: Callow, J. A., ed. **Biochemical Plant Pathology**. New York: John Willey and Sons, 1983.p.367-383.
- LESTER, G.E.; BRUTON, B. D. Relationship of mettted muskmelon fruit water loss to postharvest storage life. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 111, n.5, p.727-731, Sept. 1986.
- LIMA, L. C. de O. **Bioquímica da parede celular de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill), cv. Santa Clara: Transformações e interação com o cálcio durante a maturação**. Lavras: ESAL. 1992. 100p. (Dissertação Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- LIMAYE, V. P.; JOSHI, G. D.; GUNJATE, R. T.. Occurrence of spongy tissue in relation to the stage of harvest of Alphonso mango fruits. **Journal Maharashtra Agricultural Universities**, Baroda, Índia, v.1, n.1-6, p.96-104, Jan./july 1976.
- LISADA, C. Mango. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G.A. (ed.). **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993, Cap.8, p.255-266.

- LISTER, C. E.;LANCASTER, J. E.;WALKER J. R. L. Phenylalanine Ammonia-lyase (PAL) activity and its relationship to antocyanin and flavonoid levels in New Zealand-grown Apple cultivars. **Journal American Society Horticultural Science**. Crithchurch, v.121, n.2, p.281-285, Feb. 1996.
- LIZADA, M. C. C.; KOSIYACHINDA, S.; MENDOZA, D. B.. Physiological disorders of mango. In: MANGO MENDOZA, D. B.; WILLS, R. B. H.; (Ed.) **ASEAN Food Handling Bureau**, Kuala Lumpur,p.68-74, 1984.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J.. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. **Journal Biological Chemistry**, Baltimore, v.193, n.1, p.265-275, Nov. 1951.
- LU, C.;OUYANG, S. R. The effects of preharvest calcium sprays on storage of table grapes. **Acta Horticulturae Sinica**, tianjin, v.17, n.2, p.103-110, Mar. 1990.
- LURIE, S.; LEVIN, A.; GREVE, C. LABAVITCH, J. M. Pectic polymer changes in nectarines during normal and abnormal ripening. **Phytochemistry**, Oxford, v.36, n.1, p.11-17, May 1994.
- MAJMUDAR, G.;MODI, V. V. PAEJWALA, V. A. Effect of plant growth regulators on mango ripening. **Indian Journal Experientia Botany**, Nova Delhi, v.191, n.4, p.885-886, Oct. 1981.
- MALLIS-ARAD, S.; DIDI, S.; MIZRAHI, Y.; KOPELIOVITCH, E. Pectic substances: changes in soft and firm cultivars and in non-ripening mutants. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.58, n.1, p.111-116, Jan. 1983.
- MALO, S. E.; CAMPBELL, C. W. Studies on mango fruit breakdown in Florida. **Proceedings of the Tropical Region of American Society for Horticultural Science**, Santiago, v.22, n.1, p.1-15, Jan. 1978.
- MANGAS, J. J. DAPENA, E.; RODRIGUEZ, M. S.; MORENO, J.; GUTIERREZ, M. D.; BLANCO, D. Changes in pectic fractions during ripening of cider apples. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.2, p.328-330, Apr. 1992.

- MAPSON, L.W. Vitamins in fruits. In:HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**, London: Academic Press, 1970, v.1, Cap.13, p.369-382.
- MARIN, M. A.; CANO, M. P. Patterns of peroxidase in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruits. **Journal of Food Science**, Chicago, v.57, n.3, p.690-692, May/Jun. 1992.
- MARKOVIC, O.; KOHN, R. Mode of pectin deesterification by *Trichoderma reesei* pectinesterase, **Experientia**, Basel, v.40, n.5, p.842-843, Oct. 1984.
- MARSCHINER, H. "Ernährungs-und erfragsphysiologische aspekte der pflanzenernährung", **Angew Botanik**, Göttinger, v.63, p.71-87, May 1978.
- MARTINEZ-CAYWELA, M. Effect of some phenolic carboxylic acids on cherimoya (*Anona cherimolia*) polyphenoloxidase activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.45, n.3, p.215-222, May 1988.
- MATSUMO, H.;URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isosymes in sweet potat root tissue injured by cutting or black rot. **Plant and Cell Physiology**, Toquio, v.13, n.6, p.1091-1101, Sept. 1972.
- MATTOO, A. K.; MODI, V. V. Ethylene and ripening of mangoes **Plant Physiology**, Baltimore v.44, n.2, p.308-310, Feb. 1969.
- MATTOO, A. K.; MODI, V. V.; REDDY, V.V.R. Oxidation and carotenogenesis regulating factors in mangoes. **Indian Journal Biochemistry**, New Delhi, v.5, n.1, p.111-114, Jan. 1968.
- MATTOO, A. K; MURATA, T.; PANTASTICO, E. B.; CHACHIN, K.; OGATA,K.; PHAN, C. T. Chemical changes during ripening and senescence. In: PANTASTICO, Er.B. **Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables**. Westport: The AVI Publishing, 1975.p.103-127.
- MAURRICE, F. B.; PALEHETT, B. J.. Cell wall degradang enzymes and softning of senescent strawberry fruit. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, n.6, p.1392-1395, Nov./Dec. 1976.

- MAYER, A. M.; HAREL, E. Polyphenol oxidases in fruits - Changes during ripening. In: FRIEND, M. J.; RHODES, J. C. **Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables**. London: Academic Press, 1981.p.1611-1691.
- Mc.CREADY, R. M.; Mc.COMB, E. A.. Extration and determination of total pectic materials. **Analytical Chemistry**, Washington, v.24, n.12, p.1586-1588, Nov. 1952.
- MCEVILY, A. J.; IYENGAR, R.; OTWELL, W. S. Inhibition of enzymatic browning in food and beverages. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.32, n.3,p.253-273, July 1992.
- MEDHI, G.; SINGH, I. S. Effect of gibberellic acid on catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity in Beauty in Seedles grapes during cold storage. **Haryana Journal of Horticultural Sciences**, Haryana, v.12, n.1/2, p.26-29, Jan./Feb. 1983.
- MEDLICOTT, A. P.; THOMPSON, A. K. Analysis of sugar and organic acids in ripening mango fruits. (*Mangifera indica* L. Var. Keitt) by high performance liquid chromatography. **Journal of Science of Food and Agriculture**, London, v.36, n.7, p.561-566, July 1985.
- MEDLICOTT, A. P.; REYNOLDS, S. B.; THOMPSON, A. K. Effects of temperature on the ripening of mango fruit (*Mangifera indica* L.)var. Tommy Atkins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.37, n.5, p.469-474, May 1986.
- MEDLICOTT, A. P.; SIGRIST, J. M. M. ;SY, O. Ripening of mangos following low-temperature storage. **Journal American Society Horticultural Science**. Alexandria, v.115, n.3, p.430-434, May 1990.
- MELFORD, J.; PRAKASH, M. D. Postharvest changes in fruit cell wall. **Advances in Food Research**, Orlando, v.30, p.139-180, 1986.
- MENEZES, J. B. **Qualidade pós-colheita de melão tipo Galia durante a maturação e o armazenamento**, Lavras: UFLA,1996.157p.(Tese Doutorado em Ciência dos Alimentos)
- MEURANT, V. N.; JOHNSON, G. I. e MAYERS, P. E. Mangoes diseases and disorders. In: **Farm Note Queensland Department of Primary Industries**, Brisbane: Australia,1988. p.1-4

- MINAMIKAWA, T.; URITANI, I. Phenylalanine deamine and tyrosine deaminase in sliced or black rot-infected sweet potato roots. **Archives of biochemistry and biophysics**, New York, v.108, n.2, p.573-574, Feb. 1964.
- MITCHAN, E. J.; Mc DONALD, R. E. Cell wall modification during ripening of "Keitt and "Tommy Atkins" mango fruit. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v.117, n.6, p.919-924, Nov. 1992.
- MODI, V. V.; REDDY, V. V. R. ; SHAH, D. V. Carotene precursors in mangoes, **Indiam Journal of Experimental Biology**, Bourdon, v.3, n.1, p.145-146, Feb. 1965.
- MORGA, N.S.; LUSTRE, A. O.; TUNAC, M. M.; BALOGOT, A. H.; SORIANO, M. R. Physicochemical changes in Philippine Carabao mangoes during ripening. **Food Chemistry**, London, v.4, n.2, p.225-234, Mar. 1979.
- NATIVIDAD FERRER, R. E. **Avaliação das características da polpa da Manga (*Mangifera indica* L.) para elaboração e armazenamento de néctar**. Viçosa: UFV, 1987.60p. (Dissertação Mestrado em fisiologia vegetal).
- NELSON, N. A photometric adaptation of Somgyi method for determination of glicose. **Journal Biological Chemistry**, Baltimore, v.135, n.1, p.136-175, Jan. 1944.
- NIKERSON, J.T.R.; ROSINVALL, L.J. Enzyme reactions. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. (ed). **Elementary Food Science**, Westport: AVI, 1980. Cap. 8, p.121-131.
- NUEVO, P. A.; CUA, A. U.; LIZADA, M. C. C.. Internal breakdown in "Carabao" mango subjected to modified atmospheres III. Starch in the spongy tissue. **Postharvest Research Notes**, Amsterdam, v.1, p.34-35, 1984.
- PARIKH, H. R.; NAIR, G.M. and MODI, V.V. Some structural changes during ripening of mangoes (*Mangifera indica* var. Alphonso) by abscisic acid treatment. **Annals of Botany**, n.65, p.121-127, Jan. 1990.

- PARIKH, H. R.;NAIR, G. M.; MODI, V. V. Some structural changes during ripening of mangoes (*Mangifera indica* var. Alphonso) by abscisic acid treatment. **Annals of Botany**, London, v.65, n.1, p.121-127, Jan. 1990.
- PARK, K.Y.; SATO, H. H.;ALMEIDA, T. D.;MORETI, R.H. Polyphenol oxidase of mango (*Mangifera indica* L.var. Haden) **Journal of Food Science**, Chicago, v.45, n.6, p.1619-1621, Dec. 1980.
- PATKAR, V. R.; GUNJATE, R. T.; LAD, B. L.. Effect of spongy tissue on chemical composition of ripe Alphonso mango fruit. **South Indian Horticulture**, Bangalore, v.32, n.1, p.83-85, Jan. 1983.
- PEACOCK, B. C.; BROWN, B. I. Quality comparison of several mango varieties. **Proceedings First Australian manga Research Workshop**. Mealburne, p.334-339.1984.
- PEACOCK, B. C.; MURRAY, C.; KOSIYACHINDA, S.; KASITTRAKAKUL, M.; TANSIRIYAKUL, S. Influence of harvest maturity of mangoes on storage potential and ripe fruit quality. **ASEAN Food Journal**, Mealburn, v.2, n.1, p.99-103, May 1986.
- PECH, J. C.; LATCHKE, A.. Activities of enzymes involved in sugar metabolism in Passe-Crassane pears during cold storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture*** London, v.23, n.12, p.1499-1502, Dec. 1972.
- PESIS, E.; FUCHS, Y.; ZAUBERMAN, G.. Changes in amylase activity, starch and sugars contents in mango fruit pulp. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.13, n.2, p.155-160, Feb. 1980.
- PESIS, E.; FUCHS, Y.; ZAUBERMAN, G.. Starch content and amylase activity in avocado fruit pulp. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v.103, n.5, p.673-676, Sept. 1978.
- POOVAIAH, B. W. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago,v.40, n. 1, p.86-89, Jan. 1986.

- POOVAIAH, B. W.; NUKUYA, A. Polygalacturonase and cellulase enzyme in the rutgers and mutant rin tomato fruits and their relationship to the climateric. **Plant Physiology**, Washington, v.64, v.1 p.534-537, Sept. 1979.
- PPOVAIAH, B. W.; GLENN; and REDDY, A. S. N. Calcium and fruit softening: physiology and biochemistry. **Horticultural Review**, London, v.10, n.1, p.107-151, Jan. 1988.
- PRABHA, T. N. Changes in polyphenols and related enzymes during fruit ripening, University of Mysore, 1981.p.101.(Tesi PhD in Food Science)
- PRABHA, T. N.;PARTWARDHAN, M.V. Polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzyme activities and their isozyme patterns in ripening fruits. **Acta Alimentaria**, Budapest, v.15, n.3, p.199-207, May 1986.
- PRESSEY, R. ; HINTON, D. M. ; AVANTS, J. K. Development of polygalacturonase activity and solubilization of pectin in peaches during ripening. **Journal of Food Science**, Chicago, v.36, n.7, p.1070-1072, Nov./Dec. 1971.
- PRESSEY, R. Extraction and assay of tomato polygalacturonases. **HortScience**, Alexandria, v.21, n.3, p.490-492, June 1986.
- PRESSEY, R. Reevaluation of the changes in polygalacturonases in tomatoes during ripening. **Planta**, Berlin,v.174, n.1, p.39-43, Apr. 1988.
- PRESSEY, R.; AVANTS, J. K.. Separation and characterization the exopolygalacturonase e endopolygalacturonase from peaches. **Plant Physiology**, Baltimore, v.52, n.3, p.252-256, Sept. 1973.
- PRESSEY, R; AVANTS . Solubilization of cell wall by tomato polygalacturonase: role of pectinesterase. **Journal of Food Biochemistry**.Westport, v.6, n 1, p.57-74, Sept. 1982.
- RANE, D. A.; KATRODIA, J. S.; KULKARN, D. N.. Problem of spongy tissue development in mango (*Mangifera indica L.*) cv Alphonso. A review. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, Baroda, Índia, v.1, n. 2-6, p.89-94, Jan./July 1976.

- REX, B. L.; MAZZA, G.. Cause, control and detection of Hollow Heart in potatoes: A Review. **American Potato Journal**, Morden, Canada, v.66, n.3, p.165-183, Mar. 1989.
- RHODES, M. J. C.; WOOLTORTON, L. S. C. The effect of ethylene on the respiration and on the activity of phenylalanine ammonia lyase in swede and parship root tissue. **Phytochemistry**, Oxford, v.10, n.6, p.1989-1997, May 1971.
- RHODES, M. J.C. Enzyme activities and post harvest change. In: LIEBERMAN, M. (ed.). **Postharvest Physiology and Crop Preservation**, New York:Plenum Press, 1983. p.111-121.
- RICARDO, C. P. P. Aspectos da fisiologia do cálcio nas plantas. **Garcia de orta, Série Estudos Agronomicos**, Lisboa, v.10, p.65-76, 1983.
- ROBINSON, D. S.Peroxidases and their significance in fruits and vegetables. In:FOX, P.F.(ed) **Food Enzymology**London: Chapman&Hall, 1991.Cap10, p.399-426.
- RODRIGUES, J. A. S.. Alguns aspectos da mangicultura nacional. In: SIMPÓSIO SOBRE MANGICULTURA, 2, Jaboticabal, 1989. **Anais...** Jaboticabal: UNESP/FCAVJ, 1989. p.21-29.
- ROE, B.; BRUEMMER, J. H.. Changes in pectic substance and enzyme during ripening and storage of "Keitt" mango. **Journal of Food Science**, Chicago, v.54, n.1, p.186-189, Jan. 1981.
- SAEED, A. R.; KARAMALLA, K. A.; KHATTAB, A. H. Polyphenolic compounds in pulp of *Mangifera indica* L.. **Journal of Food Science**, Chicago, n.41, n.4, p.959-960, July/Aug. 1976.
- SALUNKE, D. K.; DESAI, B. B. **Postharvest biotechnology of fruits**. Boca Raton: CRC Press. 1984. v.1, p.77-93.
- SALUNKHE, D. K.; BOLIN, H. R.; REDDY, N. R. **Storage, processing, and nutritional quality of fruits and vegetables; fresh fruits and vegetables**.2.ed. Boston: CRC Press, 1991.v.1, 323p.

- SAMPAIO, J. M. M. Características gerais de algumas cultivares e tipo de mangueira no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGUEIRA, 1, Jaboticabal 1980. **Anais...Jaboticabal: UNESP, 1980.p.35-50.**
- SANCHEZ-FERRER, A.; BRU, R.; CABANES, J.; GARCIA-CARMONA, F. Characterization of catecholase and cresolase activities of monastrell grape polyphenol oxidase. **Phytochemistry**, Oxford, v.2, n.27, p.319-321, Jan. 1988.
- SAPIS, J. C.;MACHEIX, J. J.; CORDONNIER, R. E. The browning capacity of grapes. II. Browning potential and polyphenol oxidase activities in different mature grapes varieties. **American Journal Enology Viticulture**, Davis, v.34, n.3, p.157-162, Apr. 1983.
- SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P.. **Análise Química em Plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 56p.
- SAYMAL, M. M.;MISHRA, K. A. Physico-chemical analysis of some important mango varieties of Bihar, **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.231, p.149-151, 1988.
- SCAFFER, B.; LARSON, K. D.; SNYDER, G. H.; SANCHEZ, C. A. Identification of mineral deficiencies associated with mango decline by DRIS. **HortScience**, Alexandria, v.23, n.3, p.617-619, Jun. 1988.
- SELVARAJ, J. Y.; KUMAR, R. Studies on fruit softening enzymes and polyphenol oxidase activity in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v.26, n.4, p.218-222, Oct. 1989.
- SELVARAJ, J. Y.; KUMAR, R.; PAL, D. K. Changes in sugar, organic acids, amino acids, lipid constituents and aroma characteristics of ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v.26, n.4, p.308-313, Oct. 1989.
- SELVENDRAN, R. R.; O'NEILL, M. A. Isolation and analysis of cell wall from plant material. **Methods of biochemical analysis**, New York, v.32, p.25-153, 1987.
- SEN, S.; CHATTERJEE, B. K. and ROY, H. B. Amylase activity in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. **Indian Biology**, Baroda, v.17, n.1, p.25-28, Feb. 1985.

- SEYMOUR, G. B.; HARDING, S. E.; TAYLOR, A. J.; HOBSON, G. E.; TUCKER, G.A. Polyuronide solubilization during ripening of normal and mutant tomato fruit. **Phytochemistry**, Oxford, v.26, n.7, p.1871-1875, July 1987.
- SGARBIERI, V. C.; HEC, M. Bioquímica dos compostos fenólicos e adstringência das frutas. **Boletim do Centro Tropical de Pesquisa e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.11, p.35-60, 1967.
- SHEAR, C. B. Calcium related disorders of fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.10, n.4, p.361-365, Aug. 1975.
- SILVA, B. P. da. **A produção e as exportações brasileiras de fruta frescas : seus problemas e grandes perspectivas**. São Paulo : Hortinexa, 1991, 41p.
- SIMÃO, S. Situação da cultura da mangueira no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGUEIRA, 1, Jaboticabal 1980. **Anais...** Jaboticabal: UNESP, 1980. p.3-12.
- SINGH, B. P.; TADON, D. K.; KALRA, S. K. Changes in postharvest quality of mangoes affected by preharvest application of calcium salts. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.54, n.3, p.211-219, Jun. 1993.
- SMAGULA, J. M.; BRAMLAGE, W. J. Acetaldehyde accumulation. Is it a cause of physiological deterioration of fruits? **HortScience**, Alexandria v.12, n.4, p.200-203, Apr. 1977.
- SMITH, C. J. S.; WHATSON, C. F.; RAY, J. BIRD, C. R.; MORRIS, P. C.; SCHUCH, W.; GRIERSON, D. Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. **Nature**. London. v.334, n.6167, p.724-726, Mar. 1988.
- SOBOTKA, F.; STELZIG, D. An apparent cellulase complex in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. **Plant Physiology**, Baltimore, v.53, n.5, p.759-763, Oct. 1974.
- SOUTHGATE, D. A. T. **Determination of foods carbohydrates**. London: Elsevier Applied Science, 1991.232p.
- SROHECKER, R.; HENNING, H. M. **Analises de vitaminas**, Madri: Paz Montalvo, 1967.428p.

- SUBRAMANYAM, H.; GOURI, S.; KRISHNA MURTHY, S. Ripening behaviour of mango fruits graded on specific gravity basis. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v.13, n.1, p.84-86, Mar. 1976.
- SUBRAMANYAM, H.; KRISHNA MURTHY, S.; SUBHADRA, N. V. ; DALAL, V.B.; RANDHAWA, G. S.; CHACKO, E. K.. Studies on internal breakdown : A physiological ripening disorder in Alphonso mangos (*Mangifera indica* L.) **tropical Science**, Trinidad, v.13, n.3, p.203-210, May 1971.
- TAN, S. C. Relationship and interactions between phenylalanine ammonia-lyase, phenylalanine ammonia-lyase inactivation system, and antocyanin in apples. **Journal of the American Society Horticultural Science**. Alexandria, v.104, n.5, p.581-586, Sept. 1979.
- TANDON, D. K.; KALRA, S. K. Changes in sugars, starch and amilase activity during development of mango fruit cv. Dashehari. **Journal of Horticultural Science**, Ashford. v.58, n.3, p.449-453, July 1983.
- TEISSON, C. Le brunissement interne de l'ananas. I- Historique. II - Matériel et méthodes. **Fruits**, Paris, v.34, n.4, p.245-281. Avr. 1979.
- TENA, M.; LOPES-VALBUENA, R.; JORRÍN, J. Introduction of phenylalanine ammonia-lyase in hypotys of sun flower seedlings by light, excision and sucrose. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.60, n.2, p.159-165, Feb. 1984.
- THOMAS, P.; SAXENA, S. C. ; CHANDRA, R. RAO, R.; BHATIA, C. R.. X-ray imaging for detecting spongy tissue, an internal disorder in fruits of "Alphonso" mango (*Mangifera indica* L.). **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.68, n.5, p.803-806, Sept. 1993.
- THOMAS, R. L.; JEN, J. J.; MORR, C. V. Changes in soluble and bound peroxidase-IAA oxidase during tomato fruit development, **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, n.1, p.158-161, Jan./Feb. 1981.

- TIEMAN, D. M.; HANDA, A. K. Reduction in pectinmethylesterase activity modifies tissue integrity and cation levels in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) fruits. **Plant Physiology**, Baltimore, v.106, n.2, p.429-436, Oct. 1994.
- TUCKER, G. A. Introduction. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, S. E.; TUCKER, G.A. (ed) **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993, Cap.1, p. 255-266
- TUCKER, G. A.; GRIERSON, D. Synthesis of polygalacturonase during tomato fruit ripening. **Planta**, New York, n.155, v.1, p.64-67, Jun. 1982.
- UPDEGRAFF, D. M. Semi-micro determination of cellulose in biological materials. **Analytical Biochemistry**, New York, v.32, p.420-424, 1969.
- VAN BUREN, J. P. The chemistry of texture in fruits and vegetables. **Journal of Texture Studies**, Westport, v.10, n.1, p.1-23, Sept. 1979.
- VASQUEZ-SALINAS, C.; LAKSHIMINARAYANA, S. Compositional changes in mango fruits during ripening at different storage temperatures. **Journal of Food Science**. Chicago v.50, n.6, p.1646-1648, Nov./Dec. 1985.
- VILAS BOAS, E. V. B. **Modificações pós-colheita de banana "Prata" (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* - grupo AAB) γ -irradiada**. Lavras: UFLA, 1995. 75p. (Dissertação-Mestrado em Ciência dos Alimentos)
- WAINWRIGHT, H.; BURBAGE, M. B. Physiological disorders in mango (*Mangifera indica* L.) fruit. **Journal of Horticultural Science**, Almsford, v.64, n.2, p.125-135, Mar. 1989.
- WAKAMATSU, K.; TAKAHAMA, U. Changes in peroxidase activity and in peroxidase isozymes in carrot callus. **Physiology Plant**, Washington, v.88, n.2, p.167-171, Apr. 1993.
- WALLNER, S. J.; BLOOM, H. L.. Characteristics of tomato cell wall degradation in vitro, implications for the study of fruit-softening enzymes. **Plant Physiology**, Washington, v.60, n.2, p.207-210, Aug. 1977.

- WHEATLEY, C. C. Studies on cassava (*Manihot esculenta* GRANTZ) root postharvest physiological deterioration. London: Wye College University of London, 1982. 246p. (Tese Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- WILLS, R. B. H.; LEE, T. H. GRAHAM, D. ; MC GLASSON, W. B.; HALL, E. G. Temperature. In: **Postharvest physiology, handling of fruits and vegetables**. Australia: N.S.W.U.Press, 1981. p.39-51.
- WILLS, R.B.H.; TIRMAZI, S. I. H. Effect of calcium and other minerals on ripening of tomatoes. **Australian Journal Plant Physiology**, Victoria, v.6, n.2, p.221-227, Jun. 1979.
- WINSTON, E. C.. Observations of internal mango flesh breakdown: need for standardization of terminology. In: First Australian Mango Research Workshop, November, 1984. **Proceedings... Melbourne: CSIRO**, 1986. p.77-81.
- YOSHIOKA, H; AOBA, K.; KASHIMURA, Y. Molecular weight and degree of methoxylation in cell wall polyuronide during softening in pear and apple fruit. **Journal of the American Society Horticultural Science**, Alexandria, v.117, n.4, p.600-606, Sept. 1992.
- YOUNG, T. W.. "Soft-nose", a physiological disorder in mango fruits. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, Gainesville, v.73, p.280-283, 1957.
- YOUNG; T. W.; KOO, R.C.J.; MINER, J. T. Effects of nitrogen, potassium, and calcium fertilization on Kent mangos on deep, acid, sandy soil. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**. Gainesville, v.75, p.364-371, 1962.
- YOUNG; T. W.; MINER, J. T.. Relationship of nitrogen and calcium to soft-nose disorder in mango fruits. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.78, n.2, p.201-208, Mar. 1961.
- ZAUBERMAN, G.; FUCHS, Y.; ROT, I.; WEXLER, A.. Chilling injury, peroxidase, and cellulase activities in the peel of mango fruits at low temperature. **HortScience**, Alexandria, v.23, n.4, p.732-733, Aug. 1988.

ZUCKER, M. Introduction of phenylalanine diaminase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. **Plant Physiology**, Baltimore, v.40, n.5, p.779-784, Sept. 1965.

APÊNDICE

TABELA 1A. Quadrados médios da ANAVA e respectíveis níveis de significância de Textura, Perda de Peso; Acidez Titulável Total (ATT) e pH de manga cv. Tommy Atkins, sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso.

Causas de Variação	GL	Quadrados Médios			
		Textura	Perda de Peso	ATT	pH
Tratamento (A)	2	1309,0123**	0,1369**	0,1622**	0,5335**
Armazenamento (B)	4	12733,242**	3,8573**	0,1797**	1,627**
A * B	8	291,504**	0,0304**	0,0062**	0,0808**
Resíduo	15	11,599	0,0085	0,00069	0,0107
Total	29				
Média Geral		62,741	0,9500	0,8086	3,8963
CV (%)		5,428	9,744	3,255	2,659

^{NS,*} / ** Teste de F, não significativo, significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade respectivamente.

TABELA 2A. Quadrados médios da ANAVA e respectíveis níveis de significância de Sólidos Solúveis Totais (SST); Amido; Açúcares Redutores (AR) Açúcares Solúveis Totais (AST); de manga cv. Tommy Atkins, sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso.

Variação		SST	Amido	AR	AST
Tratamento (A)	2	6,9404**	0,1370**	2,2601**	76,5295**
Armazenamento (B)	4	36,0600**	92,1070**	7,4660**	33,5323**
A * B	8	1,2642**	2,9689**	0,8804**	3,7154**
Resíduo	15	0,4200	0,00410	0,00996	0,0114
Total	29				
Média Geral		12,3090	4,6439	2,3111	7,5708
CV (%)		5,264	1,376	4,319	1,409

^{NS,*} / ** Teste de F, não significativo, significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade respectivamente.

TABELA 7A. Quadrados médios da ANAVA e respectivos níveis de significância de Poligalacturonase (PG); Celulose, Celulase; Resíduos de Rhamnose; de manga cv. Tommy Atkins, sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = mesocarpo de fruto sadio; F_2 = mesocarpo sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = mesocarpo danificado por tecido esponjoso.

Causas de Variação	GL	Quadrados Médios			
		PG	Celulose	Celulase	Rhamnose
Tratamento (A)	2	3975,3630**	38,667**	507,824**	154,047**
Armazenamento (B)	4	5973,5683**	73,674**	311,995**	77,620**
A * B	8	306,8621**	14,623*	83,104**	5,698**
Resíduo	15	6,4192	5,467	0,453	1,598
Total	29				
Média Geral		19,6417	31,420	19,643	14,522
CV (%)		4,079	7,442	3,428	8,705

NS,* / ** Teste de F, não significativo, significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade respectivamente.

TABELA 8A. Quadrados médios da ANAVA e respectivos níveis de significância de Resíduos de Fucose; Arabinose; Xilose; Manose; de manga cv. Tommy Atkins, sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = Tecido de fruto sadio; F_2 = Tecido sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = tecido danificado por tecido esponjoso.

Causas de Variação	GL	Quadrados Médios			
		Fucose	Arabinose	Xilose	Manose
Tratamento (A)	2	7,834**	9718,251**	890,155**	55,727**
Armazenamento (B)	4	0,120**	8057,454**	1623,632**	73,538**
A * B	8	0,039*	186,250**	54,358**	18,026**
Resíduo	15	0,022	51,420	12,051	1,516
Total	29				
Média Geral		1,048	101,395	73,700	12,919
CV (%)		14,155	7,072	4,710	9,530

NS,* / ** Teste de F, não significativo, significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade respectivamente.

TABELA 9A. Quadrados médios da ANAVA e respectivos níveis de significância de Galactose Glicose de manga cv. Tommy Atkins, sadias e danificadas por tecido esponjoso, armazenadas durante 28 dias sob temperatura de $12\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $88\% \pm 3\%$; F_1 = Tecido de fruto sadio; F_2 = Tecido sadio do fruto danificado por tecido esponjoso; F_3 = tecido danificado por tecido esponjoso.

Causas de Variação	GL	Quadrados Médios	
		Galactose	Glicose
Tratamento (A)	2	6582,281**	82,163**
Armazenamento (B)	4	2247,516**	88,153**
A * B	8	259,042**	25,560**
Resíduo	15	26,237	0,754
Total	29		
Média Geral		63,273	9,212
CV (%)		8,095	9,430

^{NS,*} / ** Teste de F, não significativo, significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade respectivamente.