

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos
Área de Bromatologia

**Influência do metil-jasmonato na formação de compostos voláteis
do aroma em Bananas (*Musa acuminata* cv. *Nanicão*) e Laranjas
(*Citrus sinensis* cv. *Pera*)**

Letícia Gabriele Damasceno Santos

**Dissertação para obtenção do grau de Mestre
em Ciências dos Alimentos**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Eduardo Purgatto

São Paulo

2022

Letícia Gabriele Damasceno Santos

**Influência do metil-jasmonato na formação de compostos voláteis do aroma em
Bananas (*Musa acuminata* cv. *Nanicão*) e Laranjas (*Citrus sinensis* cv. *Pera*)**

Palavras-chave: Jasmonatos; amadurecimento; voláteis.

Keywords: Jasmonates; ripening; volatiles.

Versão Corrigida

**Dissertação apresentada à faculdade de ciências farmacêuticas da Universidade de São
Paulo para obtenção do grau de Mestre
em Ciências dos Alimentos na área de concentração de bromatologia**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Eduardo Purgatto

São Paulo

2022

Letícia Gabriele Damasceno Santos

**Influência do metil-jasmonato na formação de compostos voláteis do aroma em
Bananas (*Musa acuminata* cv. *Nanicão*) e Laranjas (*Citrus sinensis* cv. *Pera*)**

Comissão Julgadora da dissertação para obtenção do Título de Mestre

**Professor Dr. Eduardo Purgatto
Orientador**

1o. Examinador

2o. Examinador

3o. Examinador

4o. Examinador

São Paulo, ____ de _____ de 202__.

Dedicatória

Dedico este trabalho a Deus que me fortaleceu, me inspirou e me sustentou até aqui, todos os dias com suas palavras de paz, descanso e favor imerecido sobre minha vida, a minha mãe Denise Damasceno e irmã Jéssica Dafhine Damasceno dos Santos que me apoiaram, entenderam e motivaram com muito amor, carinho e cuidado em todos os momentos da elaboração deste trabalho, sempre torcendo para o meu melhor desempenho, ao meu pai Francisco Fábio dos Santos que me deu apoio, suprimento e conselhos que foram forças para continuar e a todos os meus amigos e irmãos do coração pelas orações, palavras de incentivo e de amor que fizeram toda a diferença.

Agradecimentos

Agradeço ao Prof. Dr Eduardo Purgatto por todo o ensinamento e dedicação, por me corrigir, apoiar e acreditar no meu crescimento científico e intelectual. Sendo sempre um exemplo de profissional com muita seriedade e compromisso, no qual se tornou um grande exemplo profissional para mim, admiro a pessoa humilde, amiga e super dedicada que ele é. Agradeço professor e amigo Carlos Eduardo Sassano pela inspiração e direções que me motivou a seguir em frente nesse projeto, ao Prof. Dr João Paulo Fabi por sempre me apoiar, pela disposição em me ensinar e acreditar no meu potencial, ao Prof. Dr João Roberto pela indicação de orientação e linha de pesquisa. Agradeço as técnicas Aline, Luciene, Lúcia e Tania pela paciência e disposição em me auxiliar na elaboração das análises e pela amizade que me proporcionaram em ter com elas. Aos meus colegas do departamento que se dispuseram em me ensinar e ajudar na elaboração deste trabalho. E por todos os amigos que trouxeram leveza nos dias cinzentos com muito companheirismo, bom humor e alegrias.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de realização do curso de mestrado. Ao CNPq, pela bolsa de mestrado concedida e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro concedido através do processo no 2013/07914-8.

Resumo

Santos.L.G.D. **Influência do metil-jasmonato na formação de compostos voláteis do aroma em Bananas (*Musa acuminata* cv. Nanicão) e Laranjas (*Citrus sinensis* cv. Pera).** Defesa (Mestrado em Ciências dos Alimentos - Área de Bromatologia) – Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental - FCF, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

O principal hormônio associado aos processos do amadurecimento é o etileno, porém, na formação de compostos voláteis nos frutos, observa-se que as auxinas, o ácido abscísico e os jasmonatos também podem atuar como reguladores. Estudos indicam que em frutos climatéricos deve haver uma interação entre o metil jasmonato (MeJA) e o etileno na formação de compostos voláteis, mas em frutos não-climatéricos tal interação não é tão evidente. Há evidências de que o MeJA atue na regulação de algumas vias metabólicas relacionadas ao amadurecimento em frutos, sendo capaz de induzir aumento na produção de várias classes de compostos voláteis, através da expressão de genes que codificam as enzimas relacionadas às suas vias biossintéticas. Neste sentido, o objetivo deste projeto foi avaliar o efeito do metil jasmonato sobre o padrão de produção de compostos voláteis do aroma em frutos climatéricos e não-climatéricos. Precedentes do laboratório de Química, Bioq. e Biol. Molecular de Alimentos indicam que o MeJA apresentou padrões diferentes de comportamento em frutos climatéricos e não-climatéricos no que tange a formação do aroma. Assim, o presente projeto tem por hipótese a diferença de influência que o MeJA exerce sobre a produção de compostos voláteis em frutos climatéricos e não-climatéricos. Para testar esta hipótese foi avaliado o efeito do tratamento com MeJA na produção de compostos voláteis do aroma durante o amadurecimento de banana (*Musa acuminata*, cv. Nanicão), como exemplo de fruto climatérico e laranja (*Citrus sinensis* cv. Pera) para não-climatéricos. Os frutos foram divididos em grupo controle e tratado com MeJA (10 ppm/24h), armazenados em caixas plásticas tampadas e lacradas. Após tratamento foram submetidos a análises diárias da produção de etileno por cromatografia gasosa (CG), cor da casca e pesagem. Baseado em escalas de cor e a polpa foi congelada em N₂ líq. e armazenada a -80°C para posterior análise dos compostos voláteis por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Ésteres, álcoois, cetonas e aldeídos foram compostos majoritariamente identificados na banana e terpenos, aldeídos, ésteres na laranja. As Bananas sofreram influência no perfil de acetato de isoamila, butonoato de butila, isobutirato de isoamila e isovalerato de isoamila do começo ao fim do tratamento com MeJA, e as laranjas o tratamento influenciou os compostos Cis-muirola-3-5-diene, gama-geraniol, alfa-copaeno, valenceno, alfa-pineno, carvone, geranial, entre outros terpenos,

aldeídos como 3-hexanal e 2-hexenal (E) e ésteres como butirato de etila, nerol e tiglatato de etila. Os ésteres em frutos são produzidos por várias isoformas das álcool acil transferases (AATs). Estudos explicam que, ao menos 31 transcritos de AATs foram identificados em bananas, sendo 8 com altos níveis de expressão. Assim, é plausível supor que tal variedade de transcritos, e por conseguinte as AATs que codificam, sejam reguladas por múltiplos fatores, o que pode incluir o MeJa dentre outros sinais hormonais. Os terpenos são formados a partir de duas rotas, a do ácido mevalônico (MVA) e a rota do metileritritol fosfato (MEP). Compostos como, D-limoneno (51) e beta-selineno (62) tiveram níveis relativos maiores nos frutos do grupo controle, enquanto compostos terpênicos como geranial (59), valenceno (79) e o-cimeno (128), apresentaram maiores níveis nos frutos tratados com MeJa, no primeiro dia após o tratamento. Os resultados mostraram que o tratamento hormonal com MeJA causou mudanças do início ao fim do amadurecimento na composição do aroma de bananas (*Musa acuminata* cv Nanicão) e laranjas (*Citrus sinensis* cv Pera).

Palavras-chave: Jasmonatos; amadurecimento; voláteis.

Abstract

Santos.L.G.D. **Influence of methyljasmonate on the formation of aroma volatile compounds in Bananas (*Musa acuminata* cv. Nanicão) and Oranges (*Citrus sinensis* cv. Pera).** Defense (Master in Food Science - Bromatology Area) - Department of Food and Experimental Nutrition - FCF, University of São Paulo, São Paulo, 2022.

The main hormone associated with ripening processes is ethylene, but in the formation of volatile compounds in fruits, auxins, abscisic acid and jasmonates can also act as regulators. Studies indicate that in climacteric fruits there should be an interaction between methyl jasmonate (MeJA) and ethylene in the formation of volatile compounds, but in non-climacteric fruits such interaction is not so evident. There is evidence that MeJA acts in the regulation of some metabolic pathways related to fruit ripening, being able to induce an increase in the production of several classes of volatile compounds, through the expression of genes that encode enzymes related to their biosynthetic pathways. In this sense, the objective of this project was to evaluate the effect of methyl jasmonate on the production pattern of aroma volatile compounds in climacteric and non-climacteric fruits. Precedents from the Laboratory of Food Chemistry, Bioq. and Molecular Biol. Molecular Chemistry, Bioq. and Molecular Biol. of Foods laboratory indicate that MeJA showed different behavior patterns in climacteric and non-climacteric fruits regarding aroma formation. Thus, the present project hypothesizes the different influence that MeJA has on the production of volatile compounds in climacteric and non-climacteric fruits. To test this hypothesis the effect of MeJA treatment on the production of volatile aroma compounds during ripening of banana (*Musa acuminata*, cv. Nanicão) as an example for climacteric fruit and orange (*Citrus sinensis* cv. Pera) for non-climacteric fruit was evaluated. Fruits were divided into control and MeJA treated group (10 ppm/24h), stored in capped and sealed plastic boxes. After treatment they were subjected to daily analysis of ethylene production by gas chromatography (GC), peel color and weighing. Based on color scales and the pulp was frozen in liquid N₂ and stored at -80°C for subsequent analysis of volatile compounds by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). Esters, alcohols, ketones and aldehydes were compounds mostly identified in banana and terpenes, aldehydes, esters in orange. Bananas were influenced in the profile of isoamyl acetate, butyl butanoate, isoamyl isobutyrate and isoamyl isovalerate from the beginning to the end of the MeJA treatment, and oranges the treatment influenced the compounds Cis-myrcene, gamma-geraniol, alpha-copaene, valencene, alpha-pinene, carvone, geraniol, among other terpenes, aldehydes like 3-hexanal and 2-hexenal (E), and esters like ethyl butyrate, nerol, and ethyl tiglate. Esters in fruits are produced by various isoforms of the alcohol acyl transferases

(AATs). Studies explain that at least 31 AAT transcripts have been identified in bananas, 8 of which have high expression levels. Thus, it is plausible to assume that such a variety of transcripts, and therefore the AATs they encode, are regulated by multiple factors, which may include MeJa among other hormonal signals. Terpenes are formed from two routes, the mevalonic acid (MVA) route and the methylerythritol phosphate (MEP) route. Compounds such as, D-limonene (51) and beta-selinene (62) had higher relative levels in the fruits of the control group, while terpenic compounds such as geranial (59), valencene (79) and o-cymene (128), showed higher levels in the MeJa treated fruits on the first day after treatment. The results showed that the hormonal treatment with MeJA caused changes from the beginning to the end of ripening in the aroma composition of bananas (*Musa acuminata* cv Nanicão) and oranges (*Citrus sinensis* cv Pera).

Keywords: Jasmonates; ripening; volatiles.

Lista de Figuras

Título	Página
1 Rota Biossintética do etileno e o ciclo de Yang, com demonstração da reciclagem da metionina.	4
2 Cascata de sinalização do etileno	5
3. Padrão respiratório do fruto climatérico e não-climatérico.	7
4 - Biossíntese de Metil-Jasmonato no cloroplasto.	10
5. Vias de formação do aroma com seus respectivos precursores e classes orgânicas.	14
6. Via da lipoxigenase (LOX) na biossíntese de compostos voláteis.	16
7. Síntese de compostos voláteis a partir de aminoácidos	17
8. Síntese de isoprenoides e compostos voláteis derivados.	18
9. Síntese de precursores de isoprenóides pelas vias do metil-eritritol-fosfato (MEP) e mevalonato	19
10. Escala de mudança da cor da casca da banana cultivar Nanicão	23
11. Escala de mudança da cor da casca da laranja cultivar Pera	23
12. Microextração em Fase Sólida (SPME)	25
13. Produção de etileno em bananas (<i>Musa acuminata</i> cv. Nanicão) nos grupos controle (não tratado) e no grupo tratado com 10 ppm de MeJA por 24 hs. Barras verticais indicam desvio padrão da média (n=3). * indica diferença significativa ($p < 0,05$)	27
14. Produção de etileno em laranjas (<i>Citrus sinensis</i> cv. Pera) nos grupos controle (não tratado) e no grupo tratado com 10 ppm de MeJA por 24 hs. Barras verticais indicam desvio padrão da média (n=3). * indica diferença significativa ($p < 0,05$)	29

15. Análise de cor da casca em bananas (<i>Musa acuminata</i> - Nanicão) para o grupo controle e tratado com MeJA 10ppm por 24h, armazenadas em BOD a 25° até o sinais de manchas escuras, típicas do fruto sobremaduro. Barras verticais indicam desvio padrão da média (n=3). * indica diferença significativa (p < 0,05)	30
16. Evolução da cor em bananas da variedade Nanicão tanto no grupo controle (não tratado, painel superior) e tratado com MeJA 10 ppm por 24hs (painel inferior).	30
17. Análise de cor em laranja (<i>Citrus sinensis</i> cv Pêra) para o grupo controle e MeJA 10ppm por 24h, armazenadas até o final do amadurecimento, contando do D0 em BOD 25°. Barras verticais indicam desvio padrão da média (n=3). * indica diferença significativa (p < 0,05)	31
18. Evolução da cor em laranjas da variedade Pera, no grupo controle (não tratado, painel superior) e tratado com MeJA 10 ppm por 24hs (painel inferior).	31
19. Análises multivariadas dos compostos voláteis da banana cultivar nanicão no Dia 1 (D1), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e <i>HeatMap</i> , as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).	42
20 – Análise multivariadas dos compostos voláteis da banana cultivar nanicão no Dia 5 (D5), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e <i>HeatMap</i> . As cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (vermelho) e Grupo tratado com MeJA (verde).	44
21. Análise multivariada dos compostos voláteis da banana cultivar nanicão no Dia 8 (D8), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e <i>HeatMap</i> , as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento	46

com =10ppm)	
22. Análise multivariada dos compostos voláteis da banana cultivar nanicão no Dia 12 (D12), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e <i>HeatMap</i> , as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).	48
23. Gráfico de pizza da porcentagem dos compostos voláteis de aroma da banana cultivar nanicão dos grupos controle tratado com MeJA do D1, D5, D8, D12	50
24. Análises multivariadas dos compostos voláteis da Laranja pera no Dia 1 (D1), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e <i>HeatMap</i> , as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente.B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).	71
25. Análises multivariadas dos compostos voláteis da laranja pera no Dia 4 (D4), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e <i>HeatMap</i> , as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente.B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).	73
26. Análises multivariadas dos compostos voláteis da laranja pera no Dia 8 (D8), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e <i>HeatMap</i> , as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).	75
27. Gráfico de pizza da porcentagem dos compostos voláteis de aroma da laranja pera dos grupos controle e tratados com MeJA dos D1, D4 e D8	77

Lista de Tabelas

Título	Página
1. Fases do desenvolvimento do fruto	3
2. Descrição dos compostos voláteis de bananas não tratadas (controle) e tratadas (MeJA), ao longo do amadurecimento com respectivas notas aromáticas e precursor sintético.	34
3. Descrição dos compostos voláteis de laranja pera não tratadas (controle) e tratadas (MeJA), ao longo do amadurecimento com respectivas notas aromáticas e precursor sintético.	55

Sumário

1. Introdução	1
1.1 Revisão Bibliográfica	2
1.3 Metil-jasmonato	9
1.4 Formação do aroma	13
1.5 Regulação e formação do aroma em frutos	19
2. Objetivos	20
3. Materiais e Métodos	20
3.1 Frutos	20
3.2 Tratamento com Metil-jasmonato	21
3.3 Produção de etileno	23
3.4 Análise de cor	23
4. Análise estatística	24
5. Resultados e Discussão	25
5.2 Colorimetria	28
5.3 Compostos Voláteis	32
5.3.1 Análise em bananas <i>Nanicão</i>	32
5.3.2 Análise em laranjas Pera	52
6. Conclusão	78
Referências Bibliográficas	80

1. Introdução

O amadurecimento de frutos compreende diversas mudanças na cor, textura, sabor e aroma (ALEXANDER E GRIERSON, 2004). Este conjunto de processos é regulado por vários hormônios vegetais, dentre os quais o etileno é largamente o mais estudado. Dentre outros hormônios com funções associadas ao amadurecimento estão os jasmonatos, cujos estudos sugerem seu papel na regulação de vias metabólicas relacionadas ao metabolismo secundário, o que inclui a síntese de pigmentos e compostos voláteis. Uma linha de evidências parece indicar que o éster do ácido jasmônico, o metil-jasmonato (MeJA), pode exercer seus efeitos através de interação com o etileno, tanto modulando sua síntese quanto sua percepção pelo fruto. Porém, o mecanismo ainda não está claro, assim como se há um padrão diferente de influência do MeJA em frutos climatéricos, mais dependentes de etileno, e não-climatéricos, com aparentemente menor dependência do etileno para o amadurecimento.

Particularmente no que concerne às diferentes vias metabólicas de síntese de compostos voláteis que impactam o aroma dos frutos, investigações empregando o tratamento com MeJA indicam variados graus de sua influência nesse importante processo do amadurecimento.

O quadro encontrado na literatura permite levantar a hipótese de que o MeJA deve apresentar padrões diferentes de comportamento em frutos climatéricos e não-climatéricos no que tange a formação do aroma e que esta diferença possa estar relacionada aos níveis de etileno produzidos em cada tipo de fruto. Para testar tal hipótese, a banana (*Musa acuminata*, cv Nanicão) e a laranja (*Citrus sinensis*, cv. Pera), frutos cujos padrões respiratórios e síntese de etileno pós-colheita são representativos dos padrões climatérico e não-climatérico, respectivamente, foram tratados com MeJA e analisados quanto aos padrões de síntese e emissão de compostos voláteis, entre outros parâmetros, durante o amadurecimento.

Além do aspecto fisiológico, a escolha de tais frutos para a condução dos experimentos leva também em consideração a importância econômica de tais culturas.

A banana nanicão é produzida na maioria dos países tropicais e é uma das frutas mais consumidas no mundo. Em 2004 a produção mundial atingiu aproximadamente 70,6 milhões de toneladas. A maior produção está concentrada na Índia, considerado o principal país produtor (BORGES, A. L et al; 2006). O Brasil é o segundo produtor mundial, com cerca de 9,3% da produção total, sendo o maior consumidor mundial. No país, os principais polos produtores são: Vale do Ribeira (SP), norte de Minas Gerais, norte de Santa Catarina, Juazeiro (BA) e Petrolina (PE) (EMBRAPA, 2012). A temperatura ótima para o desenvolvimento normal das bananeiras

é de 28 ° C, variando em uma faixa de 15 ° C a 35 ° C, níveis de temperatura essencialmente tropicais, encontradas nas regiões produtoras do Brasil (EMBRAPA, 2012).

A laranja pera representa outra fruta de grande importância econômica para o Brasil, que possui a maior área plantada no mundo há alguns anos (por volta de 1 milhão de hectares), cuja produção supera 19 milhões de toneladas, colocando o Brasil como o maior exportador de suco concentrado e congelado da fruta. O valor da exportação deste e de outros derivados da laranja encontra-se em torno de 1,5 bilhão de dólares por ano. O maior centro produtor se concentra na região Sudeste, que possui em torno de 640.00 hectares cultivados, seguida pela região Nordeste, com 110.00 hectares (EMBRAPA;2003).

A qualidade dos frutos ao consumidor é determinada por uma série de fatores intrínsecos e extrínsecos, mas é indubitável que a resposta interna aos estímulos disparados por tais fatores tenham como importantes mensageiros os hormônios vegetais. Embora o etileno seja o mais comumente associado ao amadurecimento, é fato aceito que outros hormônios devam contribuir para as alterações metabólicas do amadurecimento, que definem a qualidade do fruto maduro. Neste contexto, os compostos voláteis têm fundamental importância, pois definem a experiência sensorial única aos humanos que os permitem identificar tais frutos como “banana” ou “laranja” e aceitá-los para consumo. Entender como a formação destes compostos voláteis é regulada fornece a base para o desenvolvimento de técnicas e aplicação de tecnologias, que visem a preservação destas características pelo máximo de tempo possível após a colheita dos frutos.

1.1 Revisão Bibliográfica

As angiospermas são plantas que sofrem polinização iniciando a formação do fruto, que nada mais é do que uma estrutura protetora das sementes (KERBAUY; et al 2008). No desenvolvimento do fruto, durante o amadurecimento ocorrem mudanças bioquímicas, fisiológicas, estruturais e moleculares que permitem a transformação do fruto verde para o maduro. As fases do desenvolvimento foram divididas em três momentos, segundo o modelo propostos por Gillaspy e colaboradores (1993) em tomates (*Lycopersicon esculentum*, *syn.Solanum lycopersicum*), que as dividiram em fase I, II, e III (Tabela 1).

Tabela 1. Fases do desenvolvimento do fruto

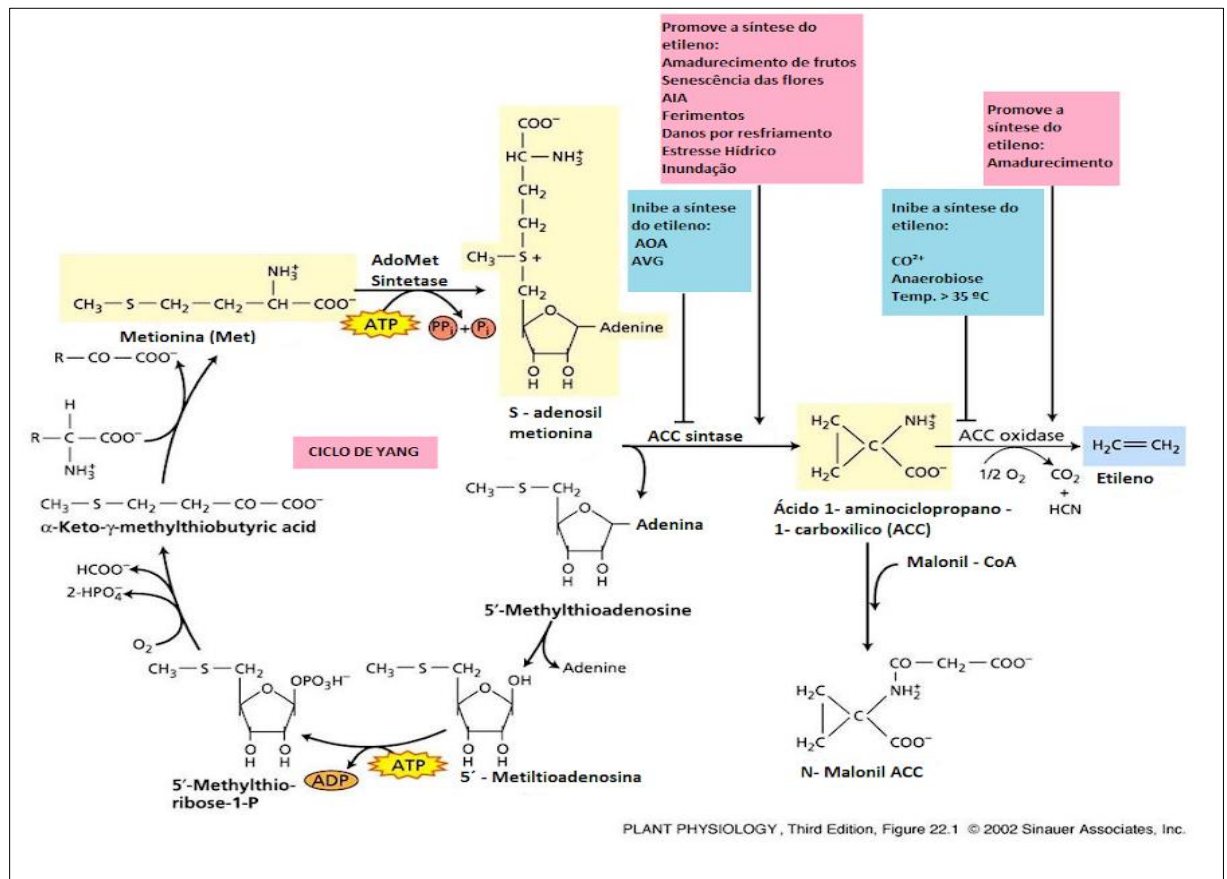
Fase	Descrição
Fase I	Polinização, fertilização e início do desenvolvimento (fruit set)
Fase II	Retomada das divisões celulares no ovário, sementes e no embrião
Fase II	Expansão celular e maturação do embrião

(GILLASPY ET AL 1993)

O etileno é o hormônio mais associado às mudanças durante o amadurecimento dos frutos, influenciando diversas vias bioquímicas, desde a fase imatura (fase na qual a semente não está totalmente formada) até a senescência dos frutos (CROZIER et al, 1935). Todas as plantas produzem etileno, mas o aumento da produção pode ser observado em estágios específicos do desenvolvimento, geralmente em processos como, desenvolvimento das flores, determinação sexual, abscisão foliar, amadurecimento dos frutos, senescência das folhas, indução por outros hormônios (ex. auxinas, citoquininas e etileno, entre outros) e fatores ambientais (infecções, ferimentos, luz ultravioleta e estresse oxidativo, entre outros) (ABELE et al., 1992). O etileno exerce sua regulação do amadurecimento através da coordenação da expressão gênica associada a enzimas responsáveis por alterações metabólicas, tais como respiração e síntese autocatalítica de etileno (KERBAUY, 2008; KLEE, 2002).

A síntese do etileno inicia-se a partir do aminoácido metionina, seu precursor primário, o qual é convertido em S-adenosil-L-metionina (SAM) pela ação da enzima S-adenosilmetionina sintase (AdoMet sintase). Em seguida a SAM é convertida pela ACC sintase em Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) e 5-metiltioadenosina (MTA). O etileno, por sua vez, é formado a partir de ACC pela ação da enzima ACC oxidase (ACO). A metionina pode ser reciclada durante o processo da biossíntese por meio do ciclo de Yang, no qual SAM é convertida em Metiltioadenosina (MTA) e Metiltiorribose (MTR), precursores ressíntese da metionina, permitindo novamente reiniciar o processo de formação de etileno, reação essa chamada de produção autocatalítica do etileno. O ACC pode ser reciclado através da enzima maloniltransferase que transforma ACC em Malonil-ACC. Este composto é considerado uma forma de armazenamento do ACC e pode ser mobilizado conforme a necessidade do fruto. O produto MTA é utilizado para reciclar a metionina, possibilitando que a síntese de etileno continue mesmo em baixas concentrações do aminoácido (JAFARI; HADDAD; HOSSEINI; GAROOSI, 2013), como mostrado na figura 1.

Figura 1. Rota Biossintética do etileno e o ciclo de Yang, com demonstração da reciclagem da metionina.



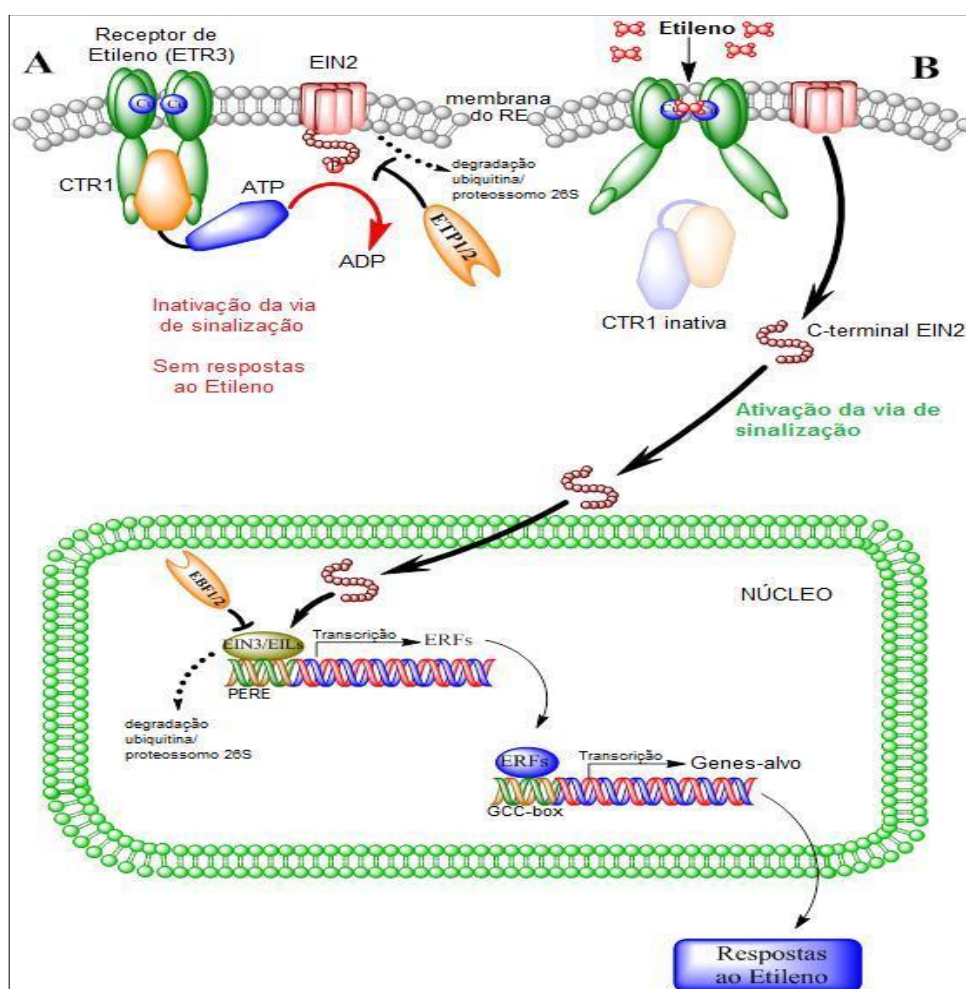
(PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 22.1; 2002)

O etileno liga-se ao seu receptor na no retículo endoplasmático, formando um complexo proteico-enzimático (Figura 2), e desencadeia uma série de transformações bioquímicas, que resultam em amadurecimento e senescência dos frutos (BRACKMANN et al., 2004). Durante o amadurecimento, ocorre a expressão diferencial de receptores de etileno. Esses receptores possuem um domínio de ligação do etileno na região C- terminal (BINDER, 2008) e um domínio sensor, no qual o íon cobre está presente, sendo imprescindível que a ligação aconteça corretamente (RODRIGUEZ et al., 1999). A interação dos receptores com a proteína Serina / treonina-proteína quinase (CTR1), que apresenta similaridade com proteínas da família RAF serina/treonina MAP kinase de mamíferos, faz com que os receptores atuem como reguladores negativos da resposta ao etileno, na ausência do hormônio (BLEECKER; KENDE, 2000).

Assim que o etileno se liga ao receptor, ocorre o desacoplamento da CTR1, o que possibilita a ativação da cascata de sinalização do etileno, que prossegue através da ativação dos genes que codificam fatores de transcrição da família *ethylene-insensitive 3* (EIN3) ou *EIN3-like* (EILs) pela proteína *ethylene-insensitive 2* (EIN2) (ZHU et al., 2006). Uma vez

ativados, esses fatores se ligam aos *Primary Ethylene Responsive Elements (PEREs)*, que estão em regiões promotoras de genes codificadores de outros fatores de transcrição, os *Ethylene Response Factors (ERFs)*, bem como nos promotores de outros genes, como por exemplo o gene que codifica para a enzima aminociclopropano carboxilato oxidase (ACO). Os ERFs têm como alvo as regiões GCC-box de uma ampla gama de genes que são etileno dependentes, e envolvidos em respostas às mudanças ambientais, infecções patogênicas (BARRY; GIOVANNI, 2007) e nos processos do amadurecimento (síntese de carotenóides, síntese de compostos voláteis, entre vários outros eventos), especialmente nos frutos climatéricos.

Figura 2. Cascata de sinalização do etileno



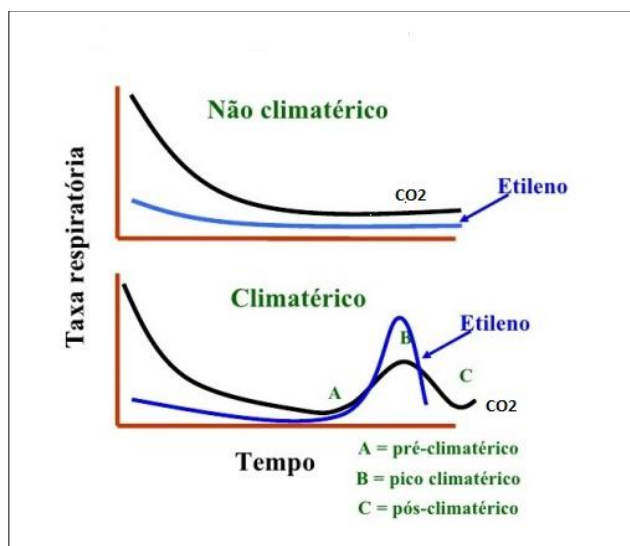
Adaptado de Ju et al. (2012)

A descrição ‘sistema I’ e ‘sistema II’ mencionado por McMurchie e colaboradores (1972), indica a diferença do modelo da biossíntese do etileno, durante o desenvolvimento do fruto. O etileno continuamente é sintetizado em baixos níveis. Normalmente a taxa de produção de etileno pelos tecidos é baixa, e a concentração necessária para induzir o amadurecimento

varia de acordo com a espécie e o estágio de maturação do fruto (YANG, 1985). O sistema I compreende a produção basal do etileno, e ocorre nos tecidos de todos os frutos, e é induzido quando o fruto é submetido a algum tipo de estresse e o tratamento com etileno exógeno inibe a produção de etileno. Os frutos com classificação não-climatéricos permanecem com essa produção até final do seu amadurecimento. O sistema II compreende o aumento da produção do etileno, característica observada somente nos frutos do tipo climatéricos, nos quais o tratamento com etileno exógeno promove a produção autocatalítica do etileno endógeno, diferenciando-o do sistema I.

Os frutos são classificados em dois grupos conforme seu padrão de amadurecimento, em climatéricos e não climatéricos; essa classificação está associada ao tipo de padrão respiratório e da produção de etileno (MCMURCHIE et al., 1972). Frutos que apresentaram aumento na taxa respiratória acompanhado do aumento da taxa de etileno endógeno no início do amadurecimento foram classificados como frutos climatéricos. Entre estes, estão frutos como o mamão, tomate, maçã e banana, entre outros (WHITE, 2002). Logo após este aumento, ocorrem mudanças nas características dos frutos, tais como mudança na cor, textura, sabor e aroma (LELIÉVRE et al., 1997). Em contrapartida, essas mudanças na respiração e na produção de etileno não ocorrem em frutos não-climatéricos, onde o processo de amadurecimento é relativamente lento. Exemplos destes frutos incluem o morango, framboesa, pimenta, uva e laranja, nos quais a respiração geralmente diminui e/ou permanece estável durante o amadurecimento, e as transformações bioquímicas, que tornam o fruto maduro, ocorrem, em vários casos, se o fruto estiver ligado à planta (WILLS ET AL., 1998).

Figura 3. Padrão respiratório do fruto climatérico e não-climatérico.



Nos frutos climatéricos, a aplicação exógena de etileno induz um rápido aumento da produção endógena deste hormônio, alterando o nível pré-climatérico e acelerando o amadurecimento. Por outro lado, o tratamento com inibidores da ação do etileno retardou diversos processos relacionados ao amadurecimento (BLANKENSHIP e DOLE, 2003; WATKINS, 2006, 2008). Alguns autores, como Hamilton e colaboradores (1990); Oeller et al. (1991); Picton et al. (1993) e Wilkinson et al. (1995), observaram que a síntese do etileno em tomates transgênicos tratados com um antagonista do etileno, levou a redução dos níveis de transcritos de 1-aminociclopropano-1- carboxílico sintase (ACS) e oxidase (ACO) que codificam enzimas da biossíntese do etileno. Em peras e melões, o tratamento com 1-metilciclopropeno (1-MCP), um gás inibidor da ação do etileno, resultou em diminuição no amaciamento da polpa e na redução da síntese de etileno endógeno (HIWASA, et al. 2003, NISHIYAMA, et al 2007). O processo de amadurecimento dos frutos climatéricos nem sempre é regulado de forma etileno-dependente, embora a ação do etileno seja necessária para o amadurecimento normal. Em melões, por exemplo, o amolecimento da polpa e a degradação da parede celular não são totalmente dependentes do etileno, mas são regulados por dois processos (etileno dependente e independente). Por outro lado, a abscisão foliar, mudanças de cor da casca, o que inclui a degradação da clorofila, e o aumento da cor amarela pela síntese de carotenóides, são processos dependentes do etileno em diversos frutos (GUIS, et al. 1997; FLORES, et al. 2001). Assim, é possível afirmar que o amadurecimento de frutos climatéricos tem diferentes níveis de dependência do etileno, que sofre influência de vários fatores, tais como fase de desenvolvimento, diversidade da espécie e cultivar.

Em frutos não-climatéricos, Perkins–Veazie e colaboradores (1996) observaram que morangos maduros tratados com etileno exógeno e etileno mais doses de 1-MCP não indicaram nenhuma influência no seu padrão de amadurecimento (BOWER, et al.; 2003). No entanto Tian e colaboradores (2000), mostraram que os níveis da respiração em morango foram estimulados quando estes foram expostos ao etileno e observaram pouco impacto na mudança de cor e no amaciamento da polpa. A aplicação exógena de etileno em uvas aumentou a síntese deste hormônio (COOMBE, HALE 1973; EL-KEREAMY, et al 2003, CHERVIN, et al 2004). A aplicação de 1-MCP no estágio *veraison* (fase após o início das mudanças de cor das bagas, considerado o início do amadurecimento do fruto), por sua vez, impediu a redução da acidez do fruto, no aumento das bagas e no acúmulo de antocianinas (CHERVIN, et al., 2004). Em frutos cítricos, a exposição ao etileno exógeno acelerou a taxa respiratória, e a degradação da clorofila (PURVIS e BARMORE, 1981) e a biossíntese de carotenoides (STERWART e WHEATON, 1972). Os baixos níveis de produção de etileno em frutos não-climatéricos foram suficientes para disparar as mudanças no amadurecimento (TRAINITTI, et al 2005), e a aplicação exógena acelerou algumas mudanças neste processo. Tais exemplos são apenas uma amostra do que a literatura no tema tem trazido como evidência da participação de outras classes hormonais no amadurecimento de frutos (LI, et al. 2021)

1.2 Fitormônios

Estudos sugerem que os fitormônios funcionam como uma rede complexa de sinalização, com efeitos interativos (SCHMELZ et al., 2003). Entre estes estão o ácido abscísico (ABA), brassinosteróides (BRs), auxinas, citocinas, giberelinas (AGs), jasmonato, entre outros.

O ácido abscísico (ABA) é um regulador do crescimento e do desenvolvimento vegetal e atua em processos como dormência das sementes e na adaptação da planta no processo de estresse (NAMBRA, MARION-POLL, 2005).

O ABA é sintetizado durante o amadurecimento de ambos frutos, climatéricos e não-climatéricos, e possui capacidade de acelerar mudanças na coloração e maciez (INABA et al 1976; JIANG e JOYCE, 2003, WHEELER et al 2009; ZHAN, et al 2009a). Rodrigo e colaboradores (2003), identificaram um mutante deficiente de *Citrus sinensis* deficiente em ABA que apresentava inibição na mudança da coloração da casca, comparado com o fruto normal, durante o amadurecimento. Zhang e colaboradores (2009b) mostraram que o ABA endógeno em tomates aumentou antes do pico de etileno, e a aplicação ABA exógeno promoveu a síntese de etileno no fruto.

Os brassinosteróides (BRs), assim como o ABA, estão envolvidos em respostas de plantas submetidas a estresses variados. Na regulação do amadurecimento em disco de pericarpos de tomates tratados com altos níveis de BRs, houve aumento do acúmulo de licopeno e açúcares, e redução da clorofila e do ácido ascórbico (VARDHINI e RA, 2002).

As auxinas estão envolvidas em muitos processos durante o desenvolvimento do fruto, sendo a forma mais abundante encontrada em plantas, o ácido indolilacético (AIA). Os níveis de AIA geralmente são mais altos no início do desenvolvimento do fruto e diminuem antes do início do amadurecimento (BUTA e SPAULING, 1994; ABBAS et al, 2000; BOTTCHEER et al, 2010). Vários estudos indicam que a auxina atua como um inibidor do amadurecimento, com algumas exceções análogos da auxina provocaram aceleração no amadurecimento de frutos climatéricos como o caqui (AUGUSTÍ, et al, 2004), maçãs (LI e YUAN 2008) e pêssegos (TRAINOTTI, et al., 2007) por conta da indução de síntese de etileno após os tratamentos. Porém, estudos feitos com abacate (TINGWA e YAOUNG, 1975), banana (PURGATTO, et al., 2002), uva (BOTTCHEER, et al 2011a.b), entre outros frutos, indicam que a aplicação da auxina no estágio verde inibe o amadurecimento, indicado pelo atraso na redução dos níveis de clorofila, retardo nas mudanças dos componentes da parede celular, e no acúmulo de açúcares e antocianinas.

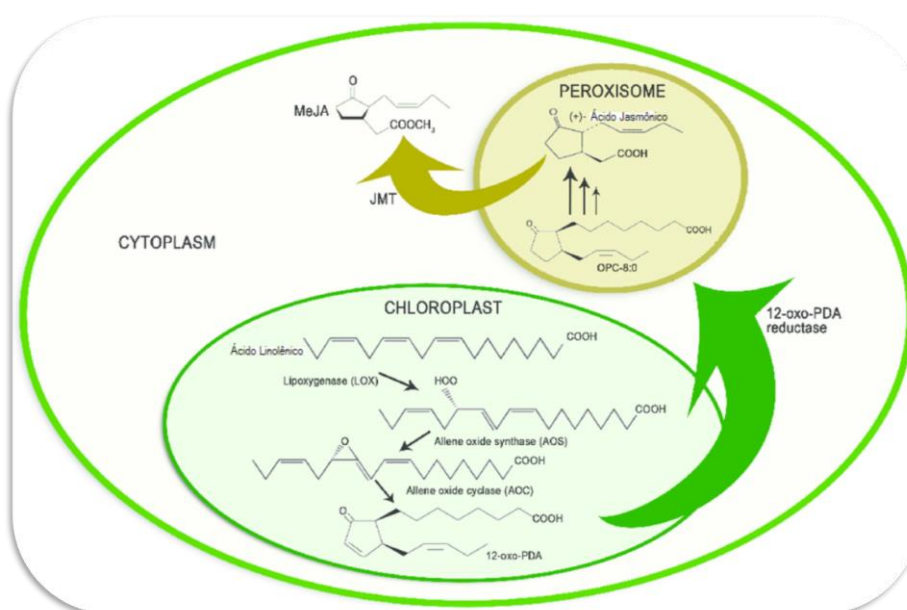
Em maçãs e tomates, os níveis de jasmonatos atingiram pico de concentração antes da fase climatérica, o que sugere relação com o processo do amadurecimento (FAN, *et al*, 1998). Diversas formas de jasmonatos foram medidos em frutos não-climatéricos, na casca de uvas (KONDO e FUKUDA, 2001), em cereja (KONDO *et al*, 2000) e em morango (GANSSEER, *et al*, 1997). Em vários casos, os jasmonatos induzem o aumento na produção de etileno, produzindo efeito tanto em frutos climáticos como não-climatéricos (FAN, *et al*, 1998; MUKKUN e SINGH, 2009), embora alguns estudos tenham relatado inibição na síntese de etileno, como em pêssegos (ZIOSI *et al*, 2008).

1.3 Metil-jasmonato

O ácido jasmônico e seu metil éster são jasmonatos de grande importância no desenvolvimento vegetal (FAN et al., 1998), encontrados em baixas concentrações em diversas partes da planta, como botões florais e folhas (MEYER et al., 1984), e em maiores concentrações nos frutos (MUKKUN e SINGH, 2009). Os jasmonatos são importantes na regulação celular de diversos processos, incluindo estresse biótico e abiótico, germinação de semente e senescência foliar. O metil-jasmonato está mais comumente associado aos

mecanismos de defesa das plantas contra herbívoros e patógenos (CREELMANREELMAN e MULLETE; 1997), desempenhando o papel de sinalizador e modulador de resposta de defesa da planta. A princípio, os jasmonatos foram classificados como um produto do metabolismo secundário por estarem presentes no perfume das flores de jasmim (*Jasminum ssp*). Com o decorrer das pesquisas, observou-se que em diversas espécies atua como indutor na síntese de metabólitos secundários e, por isso, foi também considerado um fitormônio. (REYES DÍAS et al; 2016 e WASTERACK, 2007). Jasmonato é um termo que define uma classe de compostos derivados de lipídios (CID, 2005). O início da sua biossíntese ocorre nos cloroplastos (Figura 4), pela ação das enzimas lipoxigenases (LOX) sobre os ácidos graxos insaturados presentes na membrana da organela, principalmente o ácido linoleico, que é então convertido em ácido 13-hidroperóxidolinoléico. Ocorre a catalisação pela ação das enzimas óxido aleno sintase e óxido ciclase, a partir do ácido 13-hidroperóxidolinoléico ocorre a formação do ácido 12-oxofitodienóico (12-oxo-PDA), seguindo para reações de β -redução e β -oxidação para formar (+)-ácido jasmônico nos peroxissomos. Em seguida, pela ação da enzima ácido jasmônico metiltransferase (JMT) forma-se o MeJA, como mostra na figura abaixo (CHERIAN et al., 2014; REYES-DÍAS et al., 2016, WASTERACK et al., 2007).

Figura 4. Biossíntese de Metil-Jasmonato no cloroplasto



(AVANCI, et al., 2010; JUNIOR, 2009; CHEONG & DO CHOI, 2003)

A aplicação de MeJA exógeno induziu mudanças na expressão de genes associados a formação de compostos do aroma de frutos, produção do pólen, crescimento do broto da raiz e broto foliar e resistência a insetos e patógenos (KAUSCH et al; 2012, YAN et al 2013, 2015).

O MeJA é apontado como um regulador de processos do amadurecimento no qual induz a mudança ou aumento na produção de várias classes de compostos voláteis, através da expressão de genes que codificam as enzimas relacionadas às suas vias biossintéticas (FAN et al. 1998), possivelmente em conjunto com o etileno. Outras pesquisas em pós-colheita mostraram que o MeJA promoveu a biossíntese de antocianinas e carotenóides, degradação da clorofila, redução do nível de taninos, acúmulo de sesquiterpenos, estilbenos terpenóides, alcalóides e fenólicos (SERRANO, et al; 2018). Embora o MeJA pareça influenciar o amadurecimento, sua inter-relação com o etileno no controle do amadurecimento de frutos ainda não está clara e necessita de mais estudos, em especial quantos aos mecanismos moleculares envolvidos, para elucidar seu papel na regulação de vias metabólicas, cujos produtos são característicos do fruto maduro.

O MeJA exógeno em maçãs e tomates aumenta a síntese do etileno no estágio pré-climatérico, decaindo no climatérico e pós-climatérico (FAN et al. 1997, 1998A; KONDO et al. 2007). Acelera o processo de degradação da clorofila e síntese de carotenóides, antocianinas e compostos voláteis do aroma, entre eles, ésteres e álcoois (SANIEWSKI e CZAPSKI, 1983; SANIEWSKI et al., 1987c; PEREZ et al., 1993; FAN et al., 1997, FAN et al., 1998).

Maçãs *Summerred* que foram tratadas com baixos níveis de MeJA na fase pré-climatérica, nos dias 91 e 99 após a plena floração (DAPF), observou-se aumento na produção do etileno logo no primeiro dia após tratamento. Mudanças na taxa da produção do etileno não foram mais observadas após 15 dias do tratamento. A composição dos ésteres foi aumentada pela baixa concentração e curta duração de exposição do MeJA. Na fase 99 DAPFs, no estágio maduro, a composição dos ésteres diminuiu nas maçãs tratadas. Após 106 e 113 DAPFs o MeJA não afetou a taxa de produção dos ésteres. Concluiu-se então, que as mudanças na composição volátil de maçãs *Summerred* expostas a baixa concentração e curta duração de MeJA é dependente do estágio do desenvolvimento (FAN, et al, 1997).

Em tomates (*Solanum lycopersicum* L.) verdes e maduros, que foram colhidos do campo comercial *Fort Pierc FL.*, que foram submetidos ao pré-tratamento com MeJA e ao resfriamento, foi observada a redução nas concentrações de alguns compostos voláteis característicos do sabor do fruto. Em tomates, este tratamento reduziu os teores de 25 de 42 compostos do fruto em relação ao grupo controle, considerando 33% da concentração volátil total. Por classe química, MeJA + resfriamento causou a maior redução de álcoois (65%), seguido de compostos heterocíclicos contendo oxigênio (52%) e cetonas (44%) e aumentou níveis de salicilato de metila, nonanal, linalool, *p*- cimeno . Contudo, o tratamento teve pouco impacto na perda dos voláteis do aroma e mostrou menor gravidade dos sintomas injúria pelo frio (*chilling injury* –

CI) nos tomates no estágio *breaker*, armazenados em incubadoras a 5 °C por mais de duas semanas (DING et al., 2002; DING et al., 2001).

Por classe química, MeJA em tomates (*Solanum lycopersicum* L.) causou a maior redução de cetonas (46%), seguida por álcoois (35%). O composto 2-feniletanol foi reduzido em 31% após tratamento com MeJA, enquanto o composto fenilacetaldeído foi aumentado, quando comparado ao grupo controle (LIBIN e WANG et al, 2015).

O tratamento pós-colheita com MeJA em tomates-cereja (*Solanum lycopersicum* L.) mantidos à temperatura ambiente, mostraram aumento significativo de ácido ascórbico, carotenoides e especialmente de licopeno, também aumentou a composição e conteúdo dos compostos orgânicos derivados dos carotenoides, como o 6-metil-5-hepten-2-ona, que acelerou a mudança de cor e o amadurecimento, mas não apresentou efeitos sobre a firmeza, açúcares e acidez titulável (HAORAN LIU; et al; 2018).

Em pêras da variedade “*Nanguoli*” (*Pyrus ussuriensis*), o aroma predominante é caracterizado pelos ésteres; frutos desta variedade foram tratados com MeJA e apresentaram aumento significativo na produção destes ésteres. Foram obtidos resultados semelhantes, em estudos com manga (FAN et al. 1997; AYALA-ZAVALA et al. 2005; KONDO et al. 2005). O efeito do MeJA na produção de voláteis nestes frutos parece depender das concentrações endógenas de etileno (KONDO et al. 2005). Todos esses frutos mencionados acima são classificados como climatéricos.

Em frutos não-climatéricos as vias relacionadas aos compostos voláteis parecem ser influenciadas por MeJA, mas os resultados ainda não são tão abundantes, principalmente se comparados aos efeitos relacionados a outros processos do amadurecimento.

Em morangos, a concentração endógena de MeJA é aumentada no estágio inicial do amadurecimento e decresce nos estádios seguintes (GANSSEER et al.,1997), e a aplicação exógena na fase em que os frutos ainda estão fisiologicamente imaturos levou a um aumento da biossíntese das antocianinas no fruto maduro (AZEVEDO; 2007). Concha e colaboradores (2013), reportaram que em morangos (*Fragaria chiloensis*) tratados com MeJA no estágio branco, houve aumento da atividade da enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato oxidase (ACO) elevando a síntese do etileno, sem, contudo, influenciar a taxa respiratória.

Em uva e cereja foram evidenciados que os níveis de MeJA endógeno são maiores no estágio inicial do desenvolvimento, decaindo durante o amadurecimento (GANSSEER et al., 1997; KONDO et al., 2000; KONDO; FUKUDA, 2001). Moro e colaboradores (2017),

identificaram que em framboesa, o tratamento com MeJA levou a um aumento na cor avermelhada dos frutos e na taxa de antocianinas.

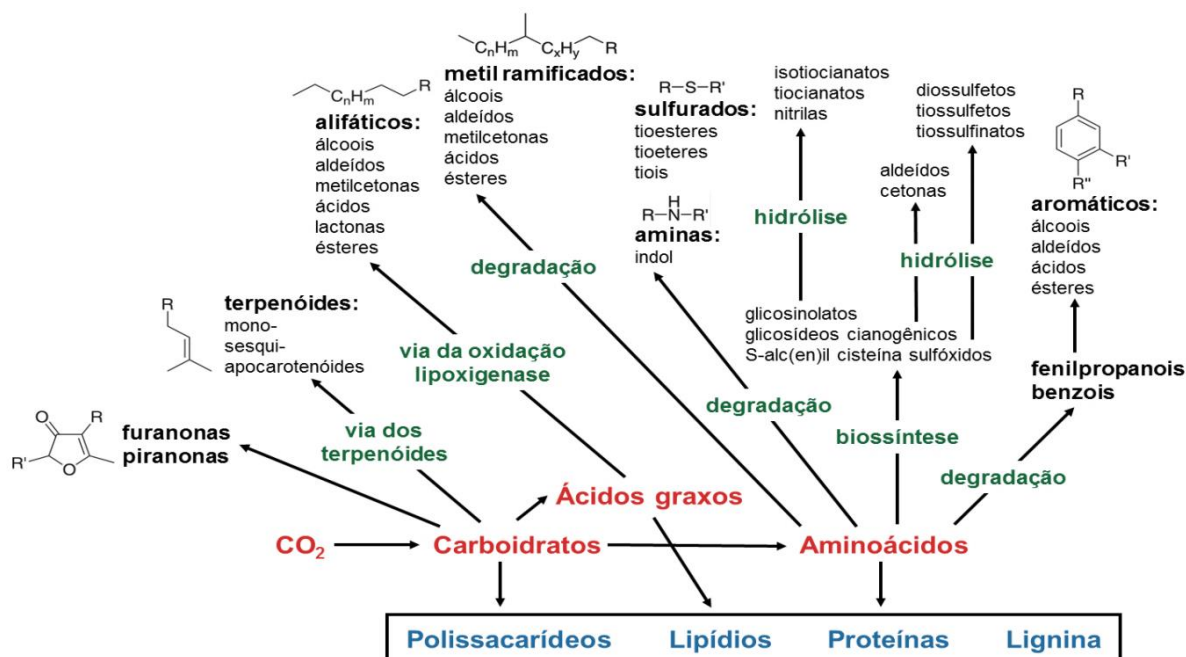
Em nêspersas, a aplicação de MeJA mostrou uma redução considerável na taxa respiratória (CAO et al., 2009), redução nos níveis de açúcares e ácidos orgânicos e aumento nos níveis de atividade antioxidante, como consequência do aumento nos teores de compostos fenólicos e flavonoides, influenciando, também, na aparência geral do fruto.

Dentre os estudos voltados a compostos voláteis em morangos, o tratamento com MeJA provocou aumento na biossíntese dos principais ésteres formadores do aroma, nos quais, reduziu o índice de podridões e aumentou a capacidade antioxidante nos frutos (AYALA-ZAVALA et al. 2005). Por outro lado, no tratamento em conjunto com 1-MCP, tais mudanças foram inibidas, evidenciando uma possível relação entre o MeJA e o etileno na regulação de processos do amadurecimento de frutos não-climatéricos.

1.4 Formação do aroma

O perfil volátil é altamente dependente da espécie e da variedade de cada fruto. Sabe-se que a biossíntese de compostos voláteis em frutos climatéricos e não-climatéricos é altamente integrada com o amadurecimento do fruto (SONG; et al., 2007). Os compostos voláteis presentes em frutos pertencem a diversas classes orgânicas, como álcoois, cetonas, aldeídos e ésteres, derivados de quatro principais grupos de precursores: ácidos graxos, aminoácidos, carboidratos e carotenoides (KADER, A., 2008) (Figura 5),

Figura 5. Vias de formação do aroma com seus respectivos precursores e classes orgânicas.



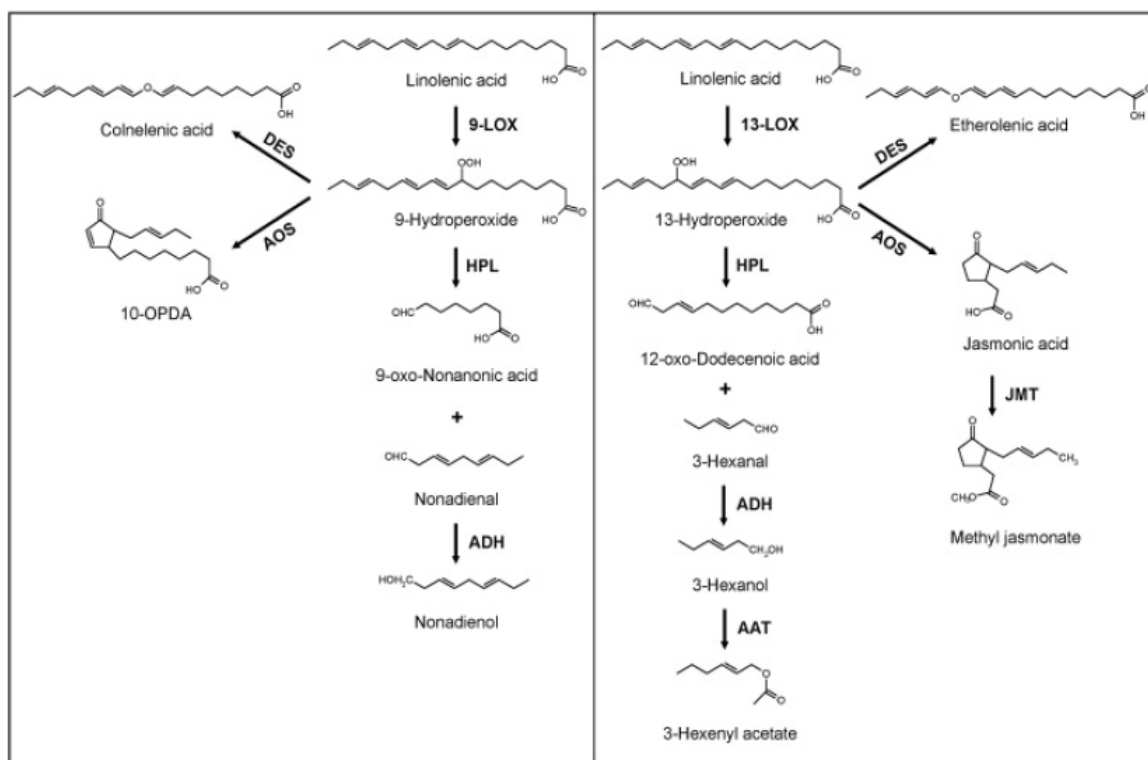
Na maioria dos frutos, os compostos voláteis são produzidos em quantidades significativas durante o amadurecimento, sendo perceptíveis ao olfato humano as mudanças entre o aroma do fruto verde e o aroma do fruto maduro (GOFF e KLEE; 2006). Os compostos voláteis, que dão as características de aroma ao fruto e contribuem para o sabor, fazem parte dos mecanismos de defesa das plantas contra o ataque de micro-organismos, insetos e herbívoros, além de participarem na comunicação planta a planta e na atração de agentes dispersores (MARÍN-LOAIZA e CÉSPEDES, 2007).

A produção dos voláteis em sua maioria, se originam a partir de ácidos graxos saturados e insaturados, principalmente dos ácidos linoleico e linolênico, e podem ocorrer por três vias: a da α -oxidação, β -oxidação e a da lipoxigenase (LOX, Figura 6), sendo que nos plastídios ocorre parte significativa das reações que produzem diferentes compostos voláteis (SCHWAB e SCHREIER, 2002). Os ácidos graxos são derivados de biomembranas e se encontram na forma de triglicerídeos e fosfolipídios; sua degradação pode ocorrer pela ação de triacilglicerol lipases e via fosfolipase D, liberando ácidos graxos que, por sua vez, sofrem a ação da enzima 3-cetoacil-CoA-tiolase, na via de β -oxidação, formando acil-CoA (PALIYATH; et al., 2008), substrato para a formação de ésteres voláteis. Aldeídos voláteis saturados e insaturados (C6 e C9) e álcoois são importantes para as características do *flavor* em frutas, vegetais e folhas verdes, os aldeídos e álcoois de cadeia curta são produzidos por plantas em resposta a

ferimentos e desempenham um papel importante nas estratégias de defesa e resistência às pragas (MATSUI et al., 2006).

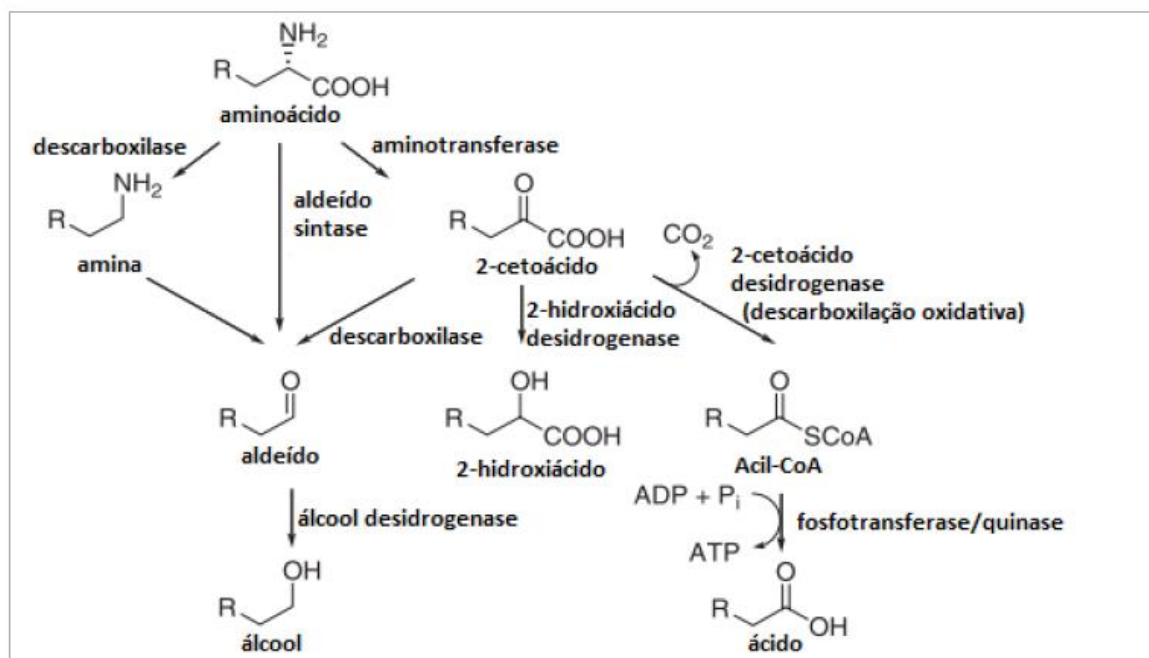
Pelo menos quatro enzimas estão envolvidas nessa via biossintética: a lipoxigenase (LOX), hidroperóxido-liase (HPL), (3Z):(2E)-*enal isomerase* e álcool desidrogenase (ADH). Nessa via, há a formação de hidroperóxidos, que são gerados na primeira etapa da reação, catalisada pelas lipoxigenases (LOXs). Em seguida a hidroperóxido liase (HPL) converte os produtos da oxigenação em cadeias curtas de aldeídos e de ácidos graxos. O aldeído formado pode ser convertido a álcool através da ação das álcool desidrogenases (ADHs) (MATSUI; 2006), o álcool, por sua vez, pode associado ao grupo ácido das Acil-CoAs, originar ésteres voláteis. Nesta última etapa da reação o grupo acil é transferido para o álcool através da ação das álcool acil transferases (ATTs) (DUDAREVA et al., 2004). Os aldeídos C6 e C9 podem ser ainda metabolizados por ADH para formar os álcoois correspondentes. Os Genes *ADH* participam na produção de aromas e são expressos particularmente durante o amadurecimento dos frutos (MANRIQUEZ et al., 2006), por exemplo, em tomates, a super-expressão do gene *ADH2* ocasionou mudanças no sabor do fruto, caracterizados como positivas, devido ao aumento dos níveis de álcoois, particularmente do 3-Z-hexenol (SPEIRS et al., 1998).

Figura 6. Via da lipoxigenase (LOX) na biossíntese de compostos voláteis.



Outra via de síntese de compostos de aroma, é derivada de aminoácidos (SCHWAB, RIKANATI e LEWINSOHN, 2008). As aminotransferases (Figura 7) atuam na catálise inicial da reação de aminoácidos a 2-cetoácidos, que são convertidos a ácidos carboxílicos, 2-hidroxiácidos e aldeídos, através de reações de descarboxilação oxidativa, redução e descarboxilação, respectivamente. Os ácidos e álcoois formados podem sofrer reação de esterificação, formando outros compostos voláteis. Pode ocorrer, também, a produção de álcoois e aldeídos a partir da descarboxilação direta de aminoácidos. Através dessas vias são sintetizados, entre outros compostos voláteis, os derivados de leucina (3-metilbutanal, 3-metilbutanol e ácido 3-metilbutanóico), os que apresentam fenilalanina como precursor (fenilacetaldeído e 2-feniletanol) e os produzidos a partir de ácidos por esterificação com álcoois (acetato de 3-metil-butila e 3-metilbutil-butanoato). Esses compostos estão presentes em frutos como o morango, o tomate e a banana.

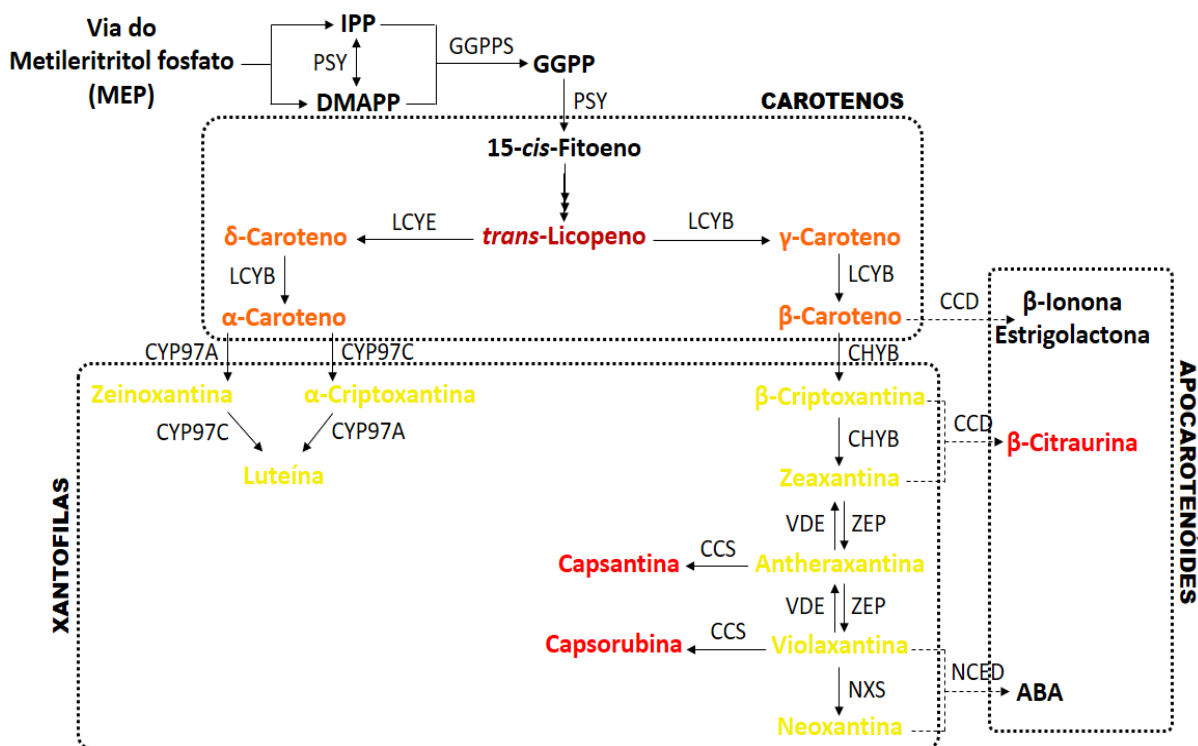
Figura 7. Síntese de compostos voláteis a partir de aminoácidos



A via de síntese de compostos voláteis derivada diretamente dos carboidratos (Figura 8), gera um número limitado de produtos voláteis, gerando principalmente furanonas e piranonas, e estão presentes em alguns frutos como o morango e o tomate (BOOD e ZABETAKIS, 2002). Experimentos de incorporação, utilizando precursores marcados revelaram que a D-frutose-1,6-difosfato é um precursor eficiente de furaneol (FARINE et al., 1994). Em morangos e tomates, algumas hexoses-difosfato são convertidas para 4-hidroxi-5-

metil-2-metileno-3 (2H) – furanona por uma enzima ainda não caracterizada, (KLEIN et al., 2007; RAAB ET AL., 2006). Em morangos, o furaneol é metabolizado pela enzima, O-metiltransferase (FaMOT) (WEIN et al., 2002), gerando o metoxifuraneol. A transformação genética de morangos com a sequência FaOMT na orientação anti-sentido, sob o controle de um promotor constitutivo, resultou numa perda quase total de metoxifuraneol, demonstrando a metilação *in vivo* de furaneol por FaOMT (LUNKENBEIN et al., 2006). Trabalhos anteriores indicaram uma importante função biológica evolutiva das furanonas como moléculas envolvidas na atração de animais dispersores de sementes de frutos de várias espécies (SLAUGHTER, 1999).

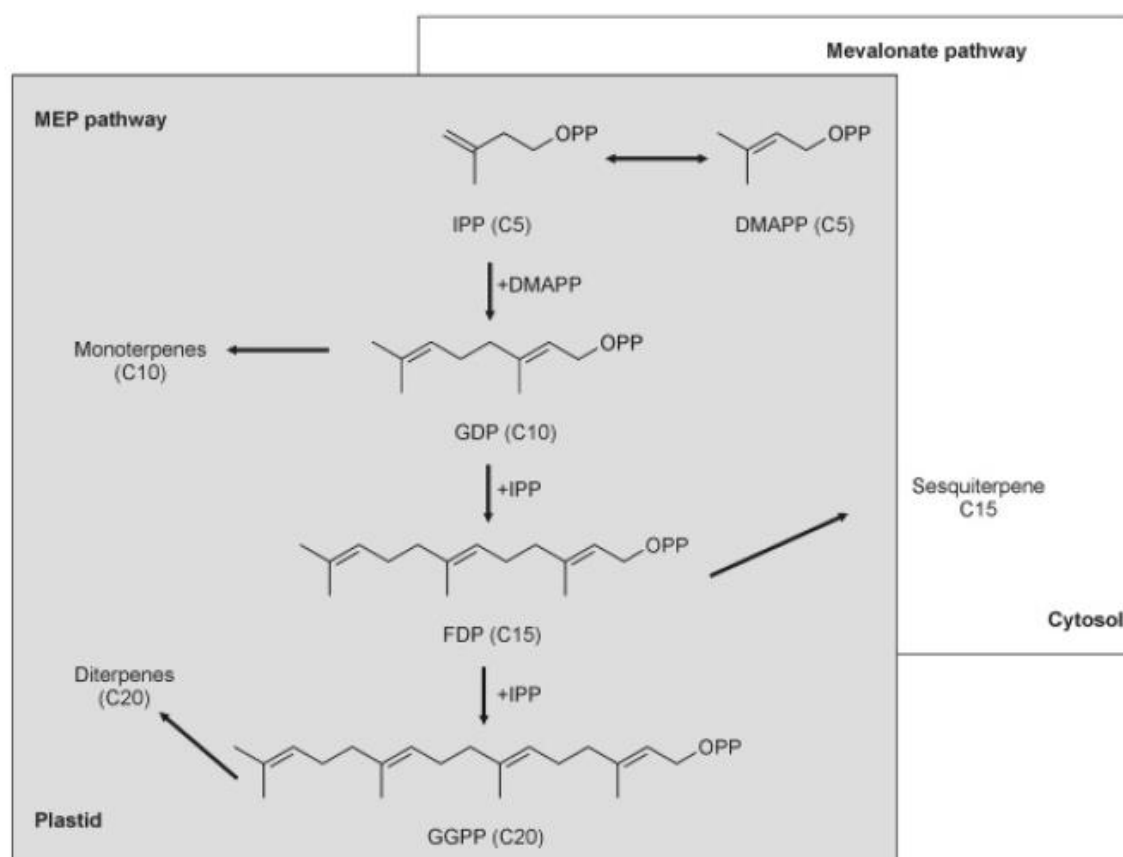
Figura 8. Síntese de isoprenoides e compostos voláteis derivados.



Os compostos voláteis provenientes da via dos terpenóides apresentam grande diversidade. Os terpenóides são produtos do metabolismo secundário e sua rota biossintética relaciona-se à formação de diversas substâncias responsáveis pelo desenvolvimento vegetal, além de produzir, através dos precursores dessa via, uma variedade expressiva de componentes voláteis de aroma, presentes no tomate, na melancia e em outros frutos (LEWINSOHN et al., 2005). São conhecidas duas vias de síntese de terpenóides: a do citosol (via mevalonato), na qual produtos como, sesquiterpenos, fitoesteróis e ubiquinona são gerados, e a dos plastídeos

(via metileritritol-4-fosfato), na qual ocorre a formação de monoterpenos, giberelinas, ácido abscísico, carotenoides, entre outros (ROHMER, 2003). Nessas vias citadas, unidades de isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero, dimetilalil difosfato (DMAPP), são os substratos iniciais (CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000) (Figura 9). Os apocarotenoides voláteis, como os encontrados no tomate (β -ionona, 6-metil-5-hepten-2-ona e geranilacetona), são derivados da clivagem de carotenoides (VOGEL; SIMS; ODABASI; CLARK; KLEE, 2010) pela ação das dioxigenases clivadoras de carotenoides (Clivage Carotenoid Dioxygenases – CCDs), uma família de enzimas cuja expressão gênica de alguns de seus membros é relativamente aumentada nos frutos maduros em comparação a frutos verdes. Os apocarotenoides voláteis formados no tomate são responsáveis pelas notas aromáticas mais apreciadas pelos consumidores (CLARK; KLEE, 2010).

Figura 9. Síntese de precursores de isoprenóides pelas vias do metil-eritritol-fosfato (MEP) e mevalonato



1.5 Regulação e formação do aroma em frutos

Em frutos não-climatéricos, o papel do etileno não parece muito claro em relação aos voláteis, assim como em outros aspectos do amadurecimento, devido ao padrão de produção do hormônio, recorrente neste tipo de fruto, embora tenham capacidade de responder à aplicação de etileno exógeno. Em uvas, o tratamento com etileno exógeno, no início do amadurecimento, acelera a coloração dos frutos e o crescimento celular, estimula a expressão de genes relacionados à biossíntese de antocianinas e também de um gene codificador de uma álcool desidrogenase (EL-KEREAMY et al., 2003; TESNIERE et al., 2004). Por outro lado, a aplicação do 1-metilciclopropeno (1-MCP), um antagonista do etileno, antes do estágio inicial do amadurecimento, suprime a redução da acidez, o aumento do tamanho das células e o acúmulo de antocianinas (CHERVIN et al., 2004).

A relação do etileno com o metabolismo de compostos voláteis indica que o hormônio tem papel relevante no acúmulo de transcritos das enzimas LOX, ADH e álcool acil transferases, após o aumento climatérico (DIXON; HEWETT, 1992). A concentração endógena de etileno varia conforme a espécie e cultivar, sendo que existe uma inter-relação com outros biorreguladores como auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico e jasmonatos, controlando o processo de amadurecimento de muitos frutos (KLUGE et al., 2002). Contudo, esses hormônios ainda não foram estudados com um alto grau de detalhamento sobre as vias metabólicas que influenciam.

Especialmente em relação a formação do aroma em frutos climatéricos e não climatéricos, experimentos realizados no laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêutica da Universidade de São Paulo (QBQ-FCF-USP), em framboesas, morangos e pimentas, indicaram que um único tratamento com MeJA no início do amadurecimento, induz alterações na composição de compostos voláteis que perduram até o estágio completamente maduro dos frutos, na comparação com frutos não tratados. A síntese de etileno nestes frutos foi aumentada em função do tratamento com jasmonato. Em contrapartida, uma única aplicação de MeJA em tomates e mamões induziu alterações na síntese de voláteis em comparação a frutos não tratados. Estas alterações, no entanto, não perduraram até o final do amadurecimento e, especialmente após o climatério, apresentaram composição qualitativa e quantitativa semelhante aos frutos não tratados. Estes dados, somados aos precedentes da literatura, permitem levantar a hipótese de que o MeJA deve apresentar padrões diferentes de influência em frutos climatéricos e não-climatéricos, no que tange alguns aspectos da formação do aroma e que esta diferença pode estar relacionada aos níveis de etileno produzidos em cada tipo de fruto.

2. Objetivos

O objetivo deste projeto é avaliar os efeitos da aplicação de metil-jasmonato (MeJA) na produção de compostos voláteis do aroma durante o amadurecimento de bananas e laranjas, tomadas como modelos para um fruto climatérico e não climatérico, respectivamente.

3. Materiais e Métodos

3.1 Frutos

Para avaliar os efeitos do metil-jasmonato sobre a produção de aroma durante o amadurecimento, bananas (*Musa acuminata* cv. *Nanicão*), fornecida pela Brasnica, cultivadas em Janaúba, Mesorregião do Norte de Minas Gerais (latitude: 15° 47' 50" lat. Sul e longitude: 43° 18' 31" long. W), (PREFEITURA DE JANAÚBA, 2020), foram utilizadas como modelo de frutos climatéricos, e laranjas (*Citrus sinensis* cv. *Pera*), fornecidas pelo Hortifruti OBA, cultivadas no Interior de São Paulo, na cidade Vitória Brasil, situada a 488 metros de altitude, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 20° 11' 57" Sul, Longitude: 50° 28' 55" Oeste, como modelo de frutos não-climatéricos. (CIDADE BRASIL, 2022)

A escolha destes frutos se baseia em seus comportamentos fisiológicos pós-colheita, típicos dos grupos em que são classificados e sua importância econômica. Também se buscou utilizar frutos que ainda não foram testados no laboratório QBQ-FCF-USP quanto aos efeitos do MeJA sobre a formação do aroma e, assim, somar resultados aos já encontrados em outros frutos como, morangos (*Fragaria x ananassa*), mamões (*Carica papaya* L.cv. *golden*) e tomates 'Grape' (*Solanum lycopersicum*), de modo a obter um quadro mais abrangente da influência dos jasmonatos sobre a formação de compostos voláteis e, assim, testar a hipótese levantada neste trabalho.

As bananas foram obtidas na fase de colheita no estágio verde, depois de atingida a maturidade fisiológica, o que implica, entre outras características, a capacidade de amadurecer desligada da planta-mãe. Foram fornecidas pela empresa *Brasnica Frutas Tropicais*, com um dia pós-colheita, sem tratamento prévio com etileno. No caso dos frutos não-climatéricos, a experiência do laboratório QBQ, indica que apenas frutos em início de mudança de cor são capazes de amadurecer completamente. Sendo assim, as laranjas foram compradas na fase de colheita, na qual ocorre o aparecimento das primeiras mudanças da cor verde para laranja, respectivamente, aqui referido como "*breaker*", fornecida pela Hortifruti OBA, entregue com um dia pós-colheita, sem tratamentos prévios com etileno. Todos os frutos foram transportados

em caixas de isopor com barras de gel para refrigeração. Foram higienizadas com água sanitária (10ml/litro de água) por 10 min e lavadas em seguida pela imersão em água e secos ao ar ambiente.

3.2 Tratamento com Metil-jasmonato

Os tratamentos com MeJa foram otimizados quanto às doses e tempo de tratamento, tendo como balizadoras iniciais as experiências anteriores do laboratório em outros frutos e também dados da literatura. Para selecionar o tratamento mais adequado, os frutos foram avaliados quanto às mudanças de cor, produção de etileno e perfil de compostos voláteis. O tratamento com MeJa seguiu o protocolo já estabelecido no laboratório QBQ, no qual os frutos são colocados na presença do hormônio espalhado em papéis de filtro e colocados em caixas que são fechadas e lacradas, mantidas a 22 °C por 12h, após o qual trocou-se o papel de filtro para mais 12h de exposição ao MeJa. Nesta condição, o MeJa evapora e por ser muito difusível, penetra facilmente no tecido vegetal.

Baseados em testes prévios, a quantidade de MeJa selecionada para os experimentos foi de 10 ppm, tanto para bananas cultivar nanicão como para as laranjas cultivar pera. O amadurecimento dos frutos foi acompanhado diariamente quanto aos parâmetros de cor e produção de etileno. Todos os resultados foram comparados com grupos de frutos controle, não tratados, submetidos às mesmas condições de armazenamento dos frutos que receberam tratamento, em câmaras climatizadas B.O.Ds, equilibradas em temperatura ambiente, mínima 24 °C e máxima 26 °C. As amostras da parte comestível de cada fruto foram congeladas em N₂ líquido: para as bananas foram removidas a casca, congelada somente a polpa na região central dos frutos, sem as pontas; e para as laranjas, a casca foi removida (flavedo), assim como o albedo, congelado somente a bolsa de suco. Os tempos de coleta foram determinados para cada fruto, padronizados por escalas de cor externa (CEAGESP, 2006), (Figura 10) e (CEAGESP; PBMH, 2011), (Figura 11). As amostras foram armazenadas a -80°C, para posterior análise do perfil de compostos voláteis por cromatografia em fase gasosa acoplada a detecção por espectrometria de massas (GCMS).

Os experimentos levaram 12 dias para a banana e 8 dias para laranja, para atingir o desenvolvimento completo da cor, ou seja, amarelo com áreas marrons, nível 7 da escala de maturação de cor da Von Loeseck, fornecido pela Ceagesp, PBMH & PIF (2006), (Figura 10) para as bananas cultivar Nanicão, e amarelo-alaranjado, nível C3 da escala de maturação da Ceagesp, PBMH (2011), (Figura 11) para laranjas cultivar pera. Para cada fruto, em cada grupo e em cada tempo de análise e coleta, foram utilizados três frutos.

Figura 10. Escala de mudança de cor da casca da banana cultivar Nanicão



(CEAGESP, PBMH & PIF, 2016)

Figura 11. Escala de mudança da cor da casca da laranja cultivar Pera



(CEAGESP, PBMH, 2011)

3.3 Produção de etileno

A análise de etileno foi realizada pela retirada de alíquotas de amostras de ar do interior de frascos de 2L (4 frascos para cada grupo analisado), contendo 3 frutos para banana e 3 para laranja. Os frascos ficaram fechados por 1 hora para o fruto climatérico e 2 horas para o não-climatérico, em vista deste último apresentar taxas menores de produção de etileno e necessitar de mais tempo de acúmulo, a fim de permitir sua detecção pelo método empregado neste estudo. O ar, retirado com uma seringa de 1 mL, foi injetado em um equipamento de cromatografia gasosa Hewlett-Packard, modelo GC-6890, equipado com detecção por ionização de chama. A coluna empregada foi uma Agilent Plot Q (30m, DI 0,53mm). As condições de injeção foram: modo *pulsed splitless*, temperatura de 200 °C, pressão de 138 psi por 3 minutos, fluxo de ventilação de 25 mL/min após 30 segundos de injeção e temperatura do injetor de 200 °C. O hélio foi utilizado como gás de arraste, em corrida isotérmica a 30 °C, com a temperatura do detector em 250 °C. A produção de etileno foi calculada com base na área do pico e em comparação com um padrão de 0,1ppm de etileno em ar sintético (Air Liquid).

3.4 Análise de cor

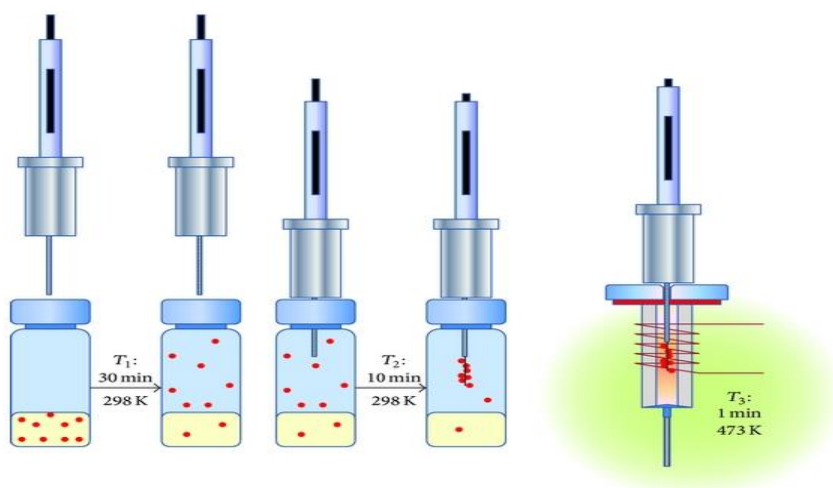
A determinação colorimétrica dos frutos foi realizada utilizando colorímetro CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japão). As análises da cor da superfície dos frutos foram realizadas diariamente em 3 frutos diferentes selecionados no decorrer dos dias de análise, realizadas 3 leituras/fruto em 3 pontos na parte central da casca, e expressa em relação ao valor de matiz (Hue) calculado pela fórmula $^{\circ}\text{Hue} = \tan^{-1}(b/a)$, onde “b” e “a” são valores fornecidos pelo aparelho, levando em conta o plano de cores descrito pelo método Hunter.

3.5 Análises dos perfis dos compostos voláteis

Para ambos os frutos foi realizado o mesmo método para a preparo das amostras para análises dos perfis dos compostos voláteis. Aproximadamente três gramas da polpa da fruta, provenientes de uma mistura de 3 unidade da fruta, excluindo as sementes, foram triturados em N₂ líquido e, em seguida, acrescidos de 7 mL de solução de NaCl 30% em vials de 20mL que foram congelados a -20°C. Os compostos voláteis foram extraídos por microextração em fase sólida (*Solid Phase Micro Extration*; SPME, Figura 10) com fibra de 100 µm revestida de carboxeno, divinilbenzeno e polidimetilsiloxano (CAR/DVB/PDMS). Os frascos foram descongelados em banho-maria a 40°C por cinco minutos. Após o descongelamento, os frascos foram mantidos por mais trinta minutos para bananas e quinze minutos para laranjas, para o acúmulo de voláteis no *head space*, com temperatura de 40°C para ambos os frutos. Em seguida,

os voláteis foram capturados por 45 minutos de exposição da fibra para adsorção e 5 minutos para dessorção no injetor do CG-MS.

Figura 12. Microextração em Fase Sólida (SPME)



Essas condições foram otimizadas quanto aos tempos e temperaturas na SPME, antes dos experimentos, tendo por critério de escolha a melhor resolução dos picos nos cromatogramas.

Para a análise, foi utilizado o cromatógrafo Agilent modelo 7890, acoplado a um detector seletivo de massas da mesma empresa, modelo 5977. A coluna cromatográfica empregada foi a Sulpelcowax 10 (30mts x 25 mm d.i., 0,25µm espessura de filme). A programação de temperatura foi: 40°C por 0,5 minuto, indo até 250°C em 5°C/min, permanecendo por 1 minuto, e subindo a 280°C, a 20°C/min permanecendo por 2 minutos. A temperatura da interface entre o cromatógrafo e o detector seletivo de massas foi de 200°C e a ionização foi feita por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons, mantida a 150°C. As análises foram realizadas em triplicatas para cada uma das amostras. Os espectros de massas obtidos foram comparados com os da biblioteca NIST 2011.

4. Análise estatística

Os perfis de compostos voláteis foram comparados entre os tratamentos nos diferentes estádios de maturação, sendo empregada a análise de componentes principais (*Principal Components Analysis*, PCA), utilizando áreas normalizadas dos picos cromatográficos, além de outras análises multivariadas, utilizando MetaboAnalyst 4.0 (www.metaboanalyst.ca) (XIA et

al., 2015). Nas análises de cor e produção de etileno foram empregados o teste T de Student para comparação de médias com significância $p < 0,05$.

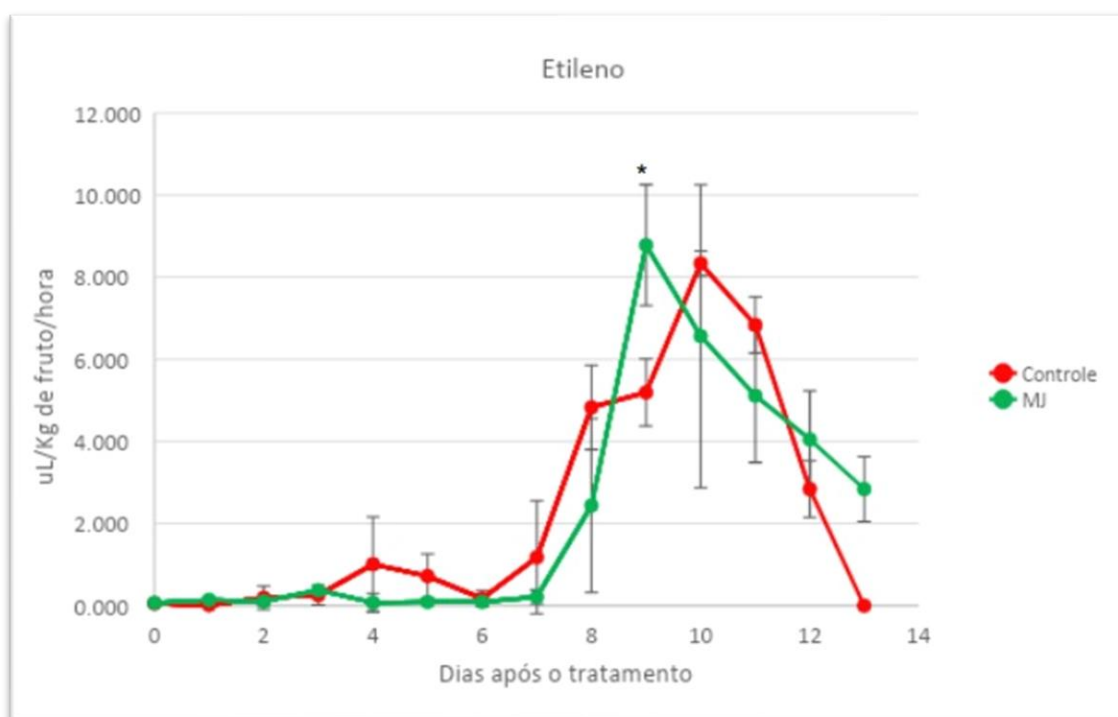
5. Resultados e Discussão

Os parâmetros dos tratamentos com MeJa, em relação a concentração e tempo de exposição, foram definidos após testes realizados no laboratório, para os quais o parâmetro acompanhado foi alteração na cor dos frutos. Desta forma, tanto para a banana como para a laranja, ficou convencionado duas exposições de 12 horas a 10 ppm de MeJa, sendo que para realizar a segunda exposição, as caixas onde os frutos foram acondicionados e tratados foram abertas e ventiladas antes da colocação da quantidade de MeJa necessária para, ao evaporar no interior da caixa, esta atingisse a concentração de 10 ppm no ar interno. Esta medida foi conferida por cromatografia a gás de uma amostra de ar retirada com uma seringa por meio de um septo na tampa da caixa. Estabelecidas estas condições, procedeu-se aos tratamentos propriamente ditos, cujos parâmetros de amadurecimento acompanhados foram as variações na coloração da casca e a produção de etileno.

5.1 Produção de etileno

O perfil de etileno liberado pelos frutos em ambos os grupos (Figura 17), embora apresentem ligeiras diferenças em relação ao teor, apresentaram curvas típicas de frutos climatéricos. No caso dos frutos controle, o início do aumento a partir do 6 dia pós-experimento, precede em dois dias as alterações observadas na cor da casca, o que corresponde ao padrão esperado para a banana nas condições empregadas no experimento. Para os frutos tratados com MeJa, embora o pico de etileno no 9º DPT preceda em 1 dia o pico do grupo controle, não encontra uma relação temporal com a mudança de cor tão próxima como a observada nos frutos não tratados. No grupo MeJa, a alteração mais evidente de cor foi observada nos frutos no 12º DPT, enquanto nos frutos controle esta mudança foi observada no 10º do experimento, mesmo dia em que foi registrada a máxima liberação de etileno.

Figura 13. Produção de etileno em bananas (*Musa acuminata* cv. Nanicão) nos grupos controle (não tratado) e no grupo tratado com 10 ppm de MeJA por 24 hs. Barras verticais indicam desvio padrão da média (n=3). * indica diferença significativa ($p < 0,05$)



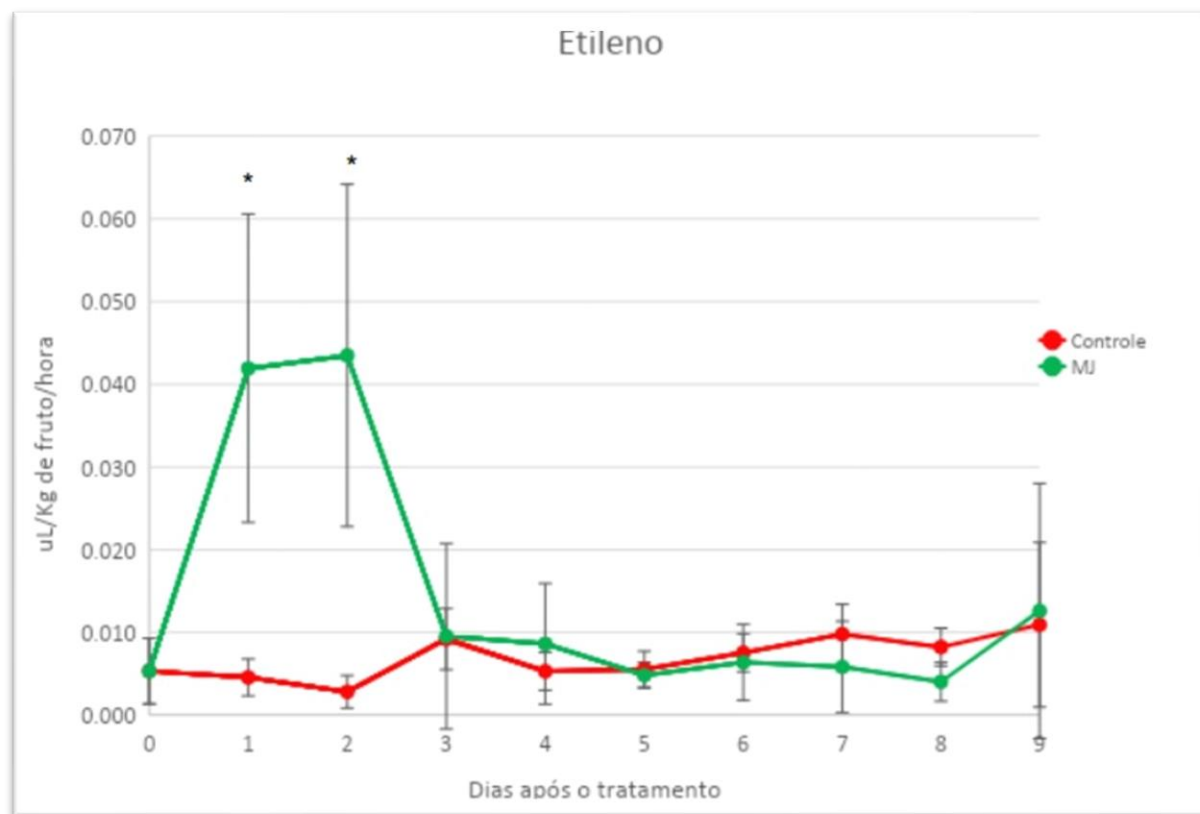
Sabe-se que a exposição de frutos climatéricos a etileno exógeno antecipa a mudança da cor (ANDREUCCETTI ET AL. 2007), sendo esta considerada para vários frutos como um processo etileno-dependente. O perfil registrado no grupo MeJA, apesar do leve atraso, não indicam que o jasmonato tenha afetado a produção de etileno. Assim, o comportamento observado na evolução da cor no grupo MeJA sugere que outro processo celular sinalizado pelo jasmonato, concorrente ao etileno, é capaz de interferir nos metabolismos de pigmentos na casca. Estudos recentes mostraram que a produção de etileno foi aumentada após o tratamento com MeJA em peras (*Pyrus ussuriensis*) da cv. Nanguo (XIÃO e CHEN YIN; et al, 2020), em resposta ao aumento na expressão dos genes *PuACS1* e *PuACO1* ($p < 0,05$), assim como atividade das enzimas aminociclopropano carboxilato sintase (ACS) e aminociclopropano carboxilato oxidase (ACO), codificadas por estes genes, respectivamente. No estudo feito por Ying-ying Wu e colaboradores (2020), em kiwis 'Hayward' (*Actinidia deliciosa*), tratados com etileno exógeno em conjunto com o metil jasmonato (ETH-MEJA) 100 $\mu\text{L} / \text{L}$, por 12 h, foi observado indução na síntese de etileno, associado ao aumento da expressão da ACC sintase (ACS), pelo aumento significativo da transcrição dos genes *AdACS1* e *AdACS2*.

Em relação às laranjas da cv Pêra, o perfil de liberação de etileno foi o esperado para frutos da espécie e típicos de um fruto não-climatérico, ou seja, pouca variação durante o amadurecimento pós-colheita. No grupo tratado, contudo, foi registrado aumento expressivo na liberação de etileno nas primeiras 48 horas, uma clara resposta à exposição ao MeJA. Em morangos tratados com MeJA foi observado comportamento similar, com aumento significativo de etileno 3 dias após a aplicação do hormônio (FERNANDES; 2017). Pimentas malagueta tratadas com MeJA apresentaram indução na síntese de etileno 12 dias após exposição ao hormônio (MAGALHÃES; 2017).

O resultado reforça o papel do MeJA como regulador da produção de etileno endógeno também em frutos não-climatéricos. O significado para o amadurecimento deste tipo de fruto não está claro, mas é plausível supor que o MeJA seja um componente importante da regulação de um ou mais processos que se desenvolvem na passagem do fruto verde para o estágio maduro.

A exposição ao etileno pode provocar a redução da clorofila na casca da laranja, efeito associado à indução de clorofilase pelo hormônio é conhecido há longo tempo (TREBUSH, et al 1993). Dado a indução da síntese de etileno observada nas laranjas, é possível supor que o mesmo possa estar relacionado à redução na coloração verde da casca no grupo tratado com MeJA.

Figura 14. Produção de etileno em laranjas (*Citrus sinensis* cv. Pera) nos grupos controle (não tratado) e no grupo tratado com 10 ppm de MeJA por 24 hs. Barras verticais indicam desvio padrão da média (n=3). * indica diferença significativa ($p < 0,05$)



Em morangos, Concha e colaboradores (2013) observaram aumento na atividade da ACC oxidase após o tratamento com MeJa em frutos no estágio branco.

A análise de expressão gênica de ACS e ACO nos frutos produzidos neste estudo é interessante para verificar a potencial relação com as variações na produção de etileno observadas, particularmente em laranjas, o que indica que o MeJa é um fator regulador da síntese de etileno nesta espécie.

5.2 Colorimetria

Nas bananas do grupo tratado, as mudanças da cor da casca durante o amadurecimento do fruto foram atrasadas em comparação com o grupo controle, com diferenças bastante visíveis entre o 9º e 11º dias pós-tratamento. O grupo controle apresentou os sinais mais evidentes da cor amarela na casca cinco dias antes em comparação ao grupo tratado. (Figuras 15 e 16).

Figura 15. Análise de cor da casca em bananas (*Musa acuminata* - Nanicão) para o grupo controle e tratado com MeJA 10ppm por 24h, armazenadas em BOD a 25° até os sinais de manchas escuras, típicas do fruto sobremaduro. Barras verticais indicam desvio padrão da média (n=3). * indica diferença significativa ($p < 0,05$)

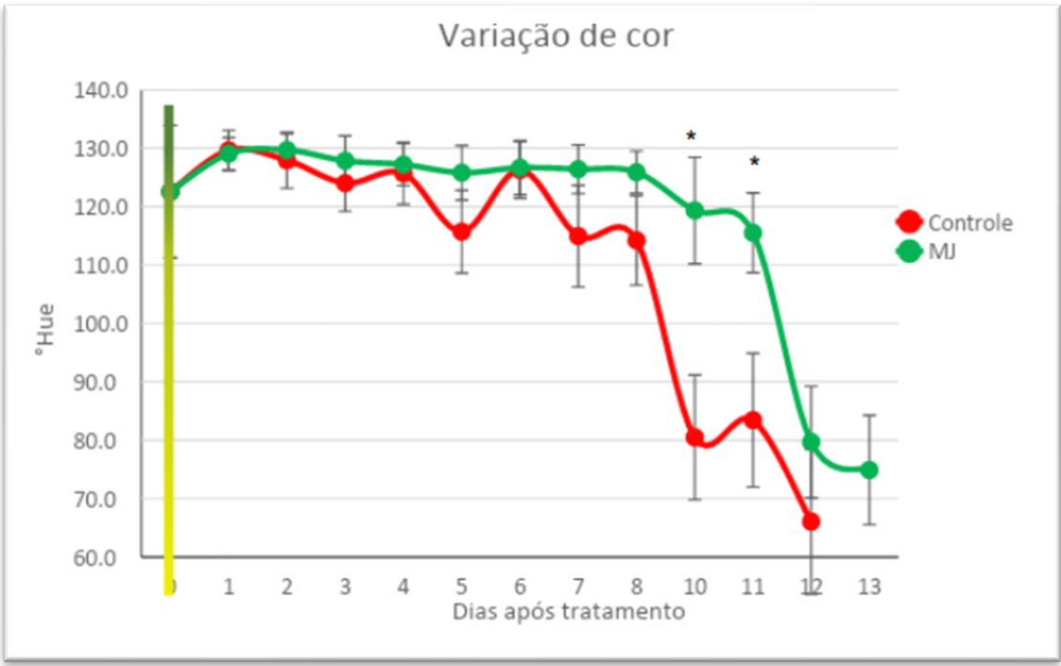


Figura 16. Imagens da evolução da cor em bananas da variedade Nanicão tanto no grupo controle (não tratado, painel superior) e tratado com MeJA 10 ppm por 24hs (painel inferior).



A mudança de coloração da casca da banana é resultado principalmente da degradação da clorofila contidas nos cloroplastos presentes na casca, e a exposição dos carotenoides (CHITARRA, CHITARRA 2005).

Figura 17. Análise de cor em laranja (*Citrus sinensis* cv Pêra) para o grupo controle e MeJA 10ppm por 24h, armazenadas até o final do amadurecimento, contando do D0 em BOD 25°. Barras verticais indicam desvio padrão da média (n=3). * indica diferença significativa ($p < 0,05$)

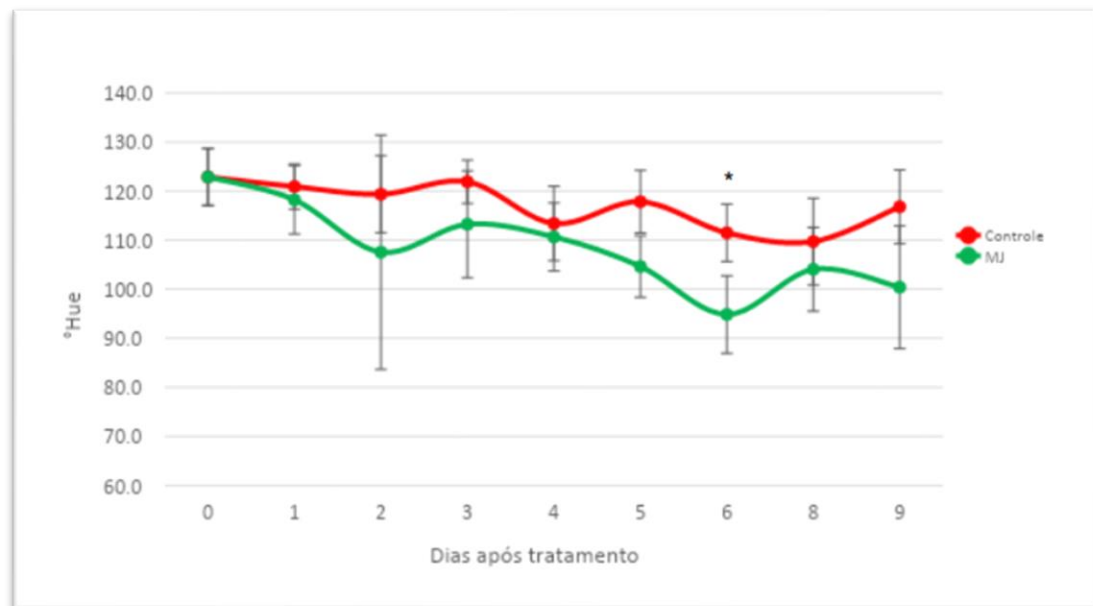


Figura 18. Evolução da cor em laranjas da variedade Pera, no grupo controle (não tratado, painel superior) e tratado com MeJA 10 ppm por 24hs (painel inferior).

DIAS	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D8	D9
CONTROLE								
MJ								

Embora menos evidente na análise pelo colorímetro (Figura 17), as mudanças na cor da casca das laranjas tratadas com MeJa, conforme o registro fotográfico (Figura 18), indicam um efeito diverso, ou seja, o tratamento com jasmonato acelerou a perda da coloração verde (C1) e o aparecimento da cor amarela (C2), característica dos carotenóides que, de forma idêntica a banana, conferem a coloração característica das laranjas maduras.

Sendo assim, entendesse que o atraso no aparecimento coloração amarela nas bananas com tratamento com MeJa, sugerem uma mudança na expressão de genes associados a degradação da clorofila e o aparecimento dos carotenoides, em contraponto ao que pode ter ocorrido na laranja da cultivar Pêra. Hao Luo e colaboradores (2019) identificaram que a degradação dos carotenoides é dependente da concentração usada durante o tratamento com MeJA. O tratamento de 0,5 μm de MeJA, em grãos de milho (*Zea mays* L.) germinados (cultivar: *Suyu* 29), adquiridos na Estação Experimental de Ciências Vegetais da Academia de Ciências Agrícolas de Jiangu (Nanjing, Jiangsu, China), induziu o aumento nos transcritos de genes de biossíntese de seis carotenóides e estimulou seu acúmulo. De forma contrária, não foi observado aumento adicional de carotenóides em tratamentos superiores a 0,5 μm . (HAO LUO et al., 2019). Trata-se claramente de sistema diverso ao do fruto, contudo a via de síntese de carotenóides é bastante conservada não apenas entre espécies, mas também entre órgãos vegetais. Sabe-se que sua regulação é multifatorial, sendo os hormônios e fatores importantes de tais alterações. Assim, o exemplo citado parece sugerir que a participação do MeJa na regulação da expressão de genes associados à síntese de carotenóides, pode ser um fenômeno não restrito ao observado em frutos.

No que tange aos frutos especificamente, em tomates cv. *Castlemart*, a adição de 0,05-0,50 μm de MeJA promoveu a biossíntese de licopeno, enquanto 5-10 μm de MeJA levou a um resultado negativo, com a inibição no acúmulo do carotenóide, considerando que tal efeito do MeJA deva ser dose dependente (LIU et al., 2012). Em frutos imaturos de tangerina Satsuma (*Citrus unshiu* Marc), tratados com 10 μm de MeJA, o conteúdo total de carotenóides foi bastante reduzido em relação aos frutos do grupo controle. A análise de expressão dos genes por PCR em tempo real, identificou que o gene *CitHYb*, que codifica a beta-caroteno hidroxilase nesta espécie de tangerina, apresentou níveis de transcritos relativamente mais baixos que o grupo controle, contudo outros genes da via de síntese de carotenóides foram menos afetados (YAMAMOTO et al; 2020). Segundo Rudell e Mattheis (2007), maçãs *Fuji* pré-climatéricas colhidas aleatoriamente após 135 dias do florescimento total, após o tratamento com MeJA

(1,12 g L⁻¹) combinado ao Ethephon aumentou a produção de β -caroteno nos frutos, sugerindo relação entre jasmonatos e etileno na regulação da síntese de carotenóides.

Considerando que os exemplos citados constituem exemplos dos efeitos do MeJa em um fruto climatérico (tomate) e um não-climatérico (tangerina), os resultados obtidos com banana e laranja parecem se contrapor, sugerindo que os efeitos do MeJa sobre o metabolismo de carotenóides não esteja claramente associado ao perfil climatérico e não-climatérico, mas sim seja associado a espécie e mesmo a variedade (genótipo).

5.3 Compostos Voláteis

5.3.1 Análise em bananas *Nanicao*

Foram analisados, em pontos considerados representativos de estádios diferentes do amadurecimento, por SPME-GC-MS, a produção dos compostos voláteis liberados pela polpa do fruto, no caso da região central da polpa da banana e da polpa da laranja, tanto nos frutos dos grupos controle e tratados, a fim de avaliar a influência do MeJA na biossíntese do aroma. Para cada composto destacado foi feita a consulta da classificação aromática nos sites, PubChem, The good scents company e a biblioteca de massas Nist. (NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE), (THE GOOD SCENTS COMPANY, 1980), (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, 2018).

Na banana *Nanicao* foram identificados 75 compostos, sendo estes 41 ésteres (55%), 12 aldeídos (16%), 7 álcoois (9%), 4 cetonas (5%), 6 fenólicos (8%), 4 benzênicos (5%), 1 furanoide (1%) e 1 alcano (1%). O aroma característico da banana é conferido por compostos como, butanoato de isoamila, acetato de isobutila, Isobutirato de isoamila, isovalerato de isoamila (BARAZAQUIO et al, 2008). Os ésteres compõem o grupo que sofreu maior influência no tratamento hormonal (MeJA), apresentando níveis ora mais elevados ora menores do que os encontrados no grupo controle. O aparecimento de compostos do grupo fenólicos foi evidenciado após o tratamento com o jasmonato.

Tabela 2. Descrição dos compostos voláteis de bananas cultivar Nanicão não tratadas (controle) e tratadas (MeJA), ao longo do amadurecimento com respectivas notas aromáticas e precursor sintético.

Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Ésteres	acetato de isoamila	123-92-2	doce, frutado	C1
	2-pentanol, acetato	626-38-0	laticínios	C2
	valerato de isobutila	10588-10-0	morango, maçã, frutado doce	C3
	butanoato de isoamila	106-27-4	maçã verde, cerosa, frutada, doce, melão e notas de bagas	C4
	acetato de etila	141-78-6	etéreo, frutado, doce, com uma nuance de uva e cereja	C5
	acetato de isobutila	110-19-0	doce frutado com uma nota de banana, floral	C6
	butanoato de isobutila	539-90-2	doce, frutado, abacaxi, maçã, chiclete e tutti frutti	C8
	isobutirato de isoamila	2050-01-03	doce, frutado, verde e graxo com uma nuance berry	C9
	butanoato de butila	109-21-7	doce, fresco, frutado, ligeiramente graxo	C10
	isovalerato de isoamila	659-70-1	maçã verde, frutada	C11
	isovalerato de hexila	10032-13-0	verde, frutado, maçã, cerosa	C14

Continuação tabela 2

Classe Orgânica**Ésteres**

Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
isobutirato de cis-3-hexenila	16491-36-4	doce, maçã, frutada e pêra	C16
butanoato de 1-metilbutila	60415-61-4	banana, doce, frutada, damasco	C17
valerato de isoamila	2050-09-01	maçã madura, frutado, verde	C18
butanoato de 2-heptila	39026-94-3	noz, vegetal, frutado, verde	C19
hexanoato de isopentila	2198-61-0	frutado, verde, abacaxi	C21
acetoacetato de isoamila	2308-18-1	maçã verde	C24
etil butanoato	105-54-4	doce, frutado, tutti frutti	C25
isobutirato de isobutila	97-85-8	frutado, abacaxi, fruta tropical, fruta madura	C26
isovalerato de isobutila	589-59-3	doce, verde, frutado, banana	C27
butil 2-metilbutanoato	15706-73-7	frutado, herbáceo	C28
isobutanoato de propilo	644-49-5	doce, frutado, melão, bagas e frutos vermelhos	C29
acetato de hexilo	142-92-7	frutado, verde, fresco, doce, casca de banana, maçã e pera	C30

Continuação da tabela 2

Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Ésteres	isobutirato de cis-3-hexenila	41519-23-7	doce maçã frutada e pêra verde	C32
	ácido propanoico, 2-metil-, etil éster	97-62-1	pungente, frutado, rum	C39
	2-metilbutanoato de isopentilo	27625-35-0	doce, cremoso, frutado, maçã, vinho, cereja, uva passa e bagas	C42
	2-hidroxi-3-metilbutanoato de etila	07-06-2441	frutado, abacaxi, morango, chá, mel	C45
	isovalerato de etila	108-64-5	doce, frutado, tempero, verde com abacaxi e maçã	C48
	cinamato de etila trans	103-36-6	balsâmico, frutado, baga, tempero, doce e verde	C54
	cinamato de isobutila	122-67-8	balsâmico, frutado	C55
	pentil furan-2-carboxilato	4996-48-9	erva-doce	C56
	3-hidroxi-hexanoato de etila	2305-25-1	doce, frutado, uva, cítricas	C57
	3-fenilpropil 2-fenilacetato	122-44-1	bálsamo, rosa, verde, picante	C58

Continuação da tabela 2

Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Ésteres	isopentanoato de octila	7786-58-5	abacaxi, maçã, mel,	C131
Alcano	anidrido butírico	106-31-0	manteiga	C109
	propano, 2-metoxi-2-metil-	1634-04-4	mentolado	C128
	Neopentano	463-82-1	solvente	C62
Ácidos	ácido acético	1000186-38-5	odor pungente, vinagre	C12
Álcoois	1-hexanol	111-27-3	herbal, verde, frutado	C65
	2-metil-1-propanol	78-83-1	doce, alcoólico	C68
	2-butanol, 3-metil-	598-75-4	mofado, alcoólico, cidra, cacau e queijo	C69
	2-heptanol, (s)	6033-23-4	cogumelo, oleoso ,gorduroso	C70
	4-hexen-1-ol	928-92-7	tomate verde, vegetal, fresco	C127
	2-pentanol, 4-metil-acetato	108-84-9	banana, frutada, doce	C111
	ciclohexanoetanol	4442-79-9	verde, floral, tropical	C130

Continuação da tabela 2

Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Aldeído	2,6-nonadienal, (e, e)	17587-33-6	pepino, verde, fresco	C73
	Hexanal	66-25-1	verde, fresca, frutado	C71
	2,6-nonadienal, (e, e)	17587-33-6	pepino, verde, fresco	C73
	(e, z) -2,6-nonadienal	557-48-2	verde, pepino, melão, graxo	C74
	2,4-decadienal	2363-88-4	doce, fresco e cítrico	C75
	Nonanal	124-19-6	floral, verde, limão	C79
	2-octenal	2548-87-0	doce, verde, picante	C76
	2-hexenal	505-57-7	verde, fresca, frutado	C77
	3-metil-hexanal	19269-28-4	verde doce	C78
	2-nonanal	18829-56-6	pepino verde, nuance cítrica	C80
	Pentanal	110-62-3	notas de chocolate, cacau	C81
	Butanol	123-72-8	cacau, verde, granulado, fermentado	C83
	Benzofenona	119-61-9	ervas, rosa, balsâmico	C124

Continuação da tabela 2

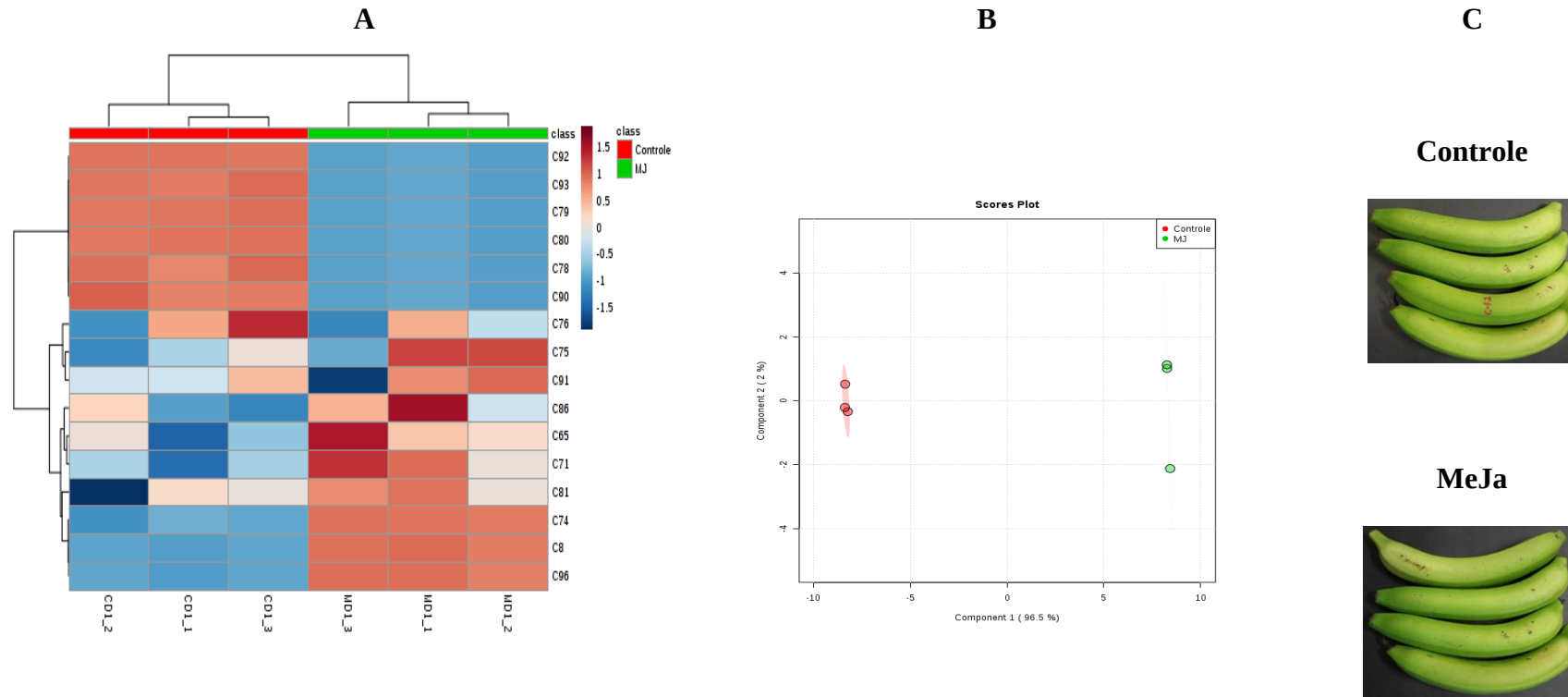
Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Aldeído	5-hidroxi metil-2-furaldeído	67-47-0	tabaco, de feno, de ervas	C155
	benzeno, 1,4-dimetoxi-	150-78-7	doce, verde, novo, erva-doce	C142
Benzênico	benzeno, 1,3-dimetil-	108-38-3	adocicado	C86
	Toluene	108-88-3	doce e pungente	C85
Cetonas	2-heptanona	110-43-0	queijo, frutado, coco, ceroso, verde, frutado banana	C7
	Acetofenona	55153-12-3	n.d	C90
	metil-heptenona	110-93-0	citrus, cogumelo, pimenta, borracha, morango	C91
	3,5-octadien-2-one	30086-02-3	verde frutado	C92
	2-pentanona	107-87-9	doce, frutado e tipo banana com uma nuance fermentada	C93

Continuação da tabela 2

Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Fenólico	Isoeugenol	97-54-1	cravo, picante, doce, lenhosa	C96
	fenol, 4-alil-2,6-dimetoxi	6627-88-9	esfumaçado, baunilha	C123
	Isoeugenol	97-54-1	cravo, picante, doce, lenhosa	C156
	metil eugenol	93-15-2	especiarias, canela e cravo, fresco, apimentado	C141
Furanoides	2-propilfurano	4229-91-8	manteiga, floral, fruta, feijão verde	C101

Nos cromatogramas obtidos, as áreas dos picos foram utilizadas para as comparações dos níveis dos compostos, sendo normalizadas pela mediana de cada amostras, tratadas na escala logarítmica e escalonadas segundo a escala de Pareto, condições estas aplicadas na análise conduzida na plataforma Metaboanalyst 4.0 (<https://www.metaboanalyst.ca>). Com os dados assim tratados, foram geradas análises de componentes principais e mapas de calor (*Heatmaps*) a fim de averiguar, de forma global, as semelhanças ou diferenças entre os perfis de compostos voláteis nos grupos de frutos em dias representativos do amadurecimento (D1, D5, D8 e D12 para as bananas; D1, D4 e D8 para as laranjas), selecionados em função das variações na cor e nos níveis de etileno.

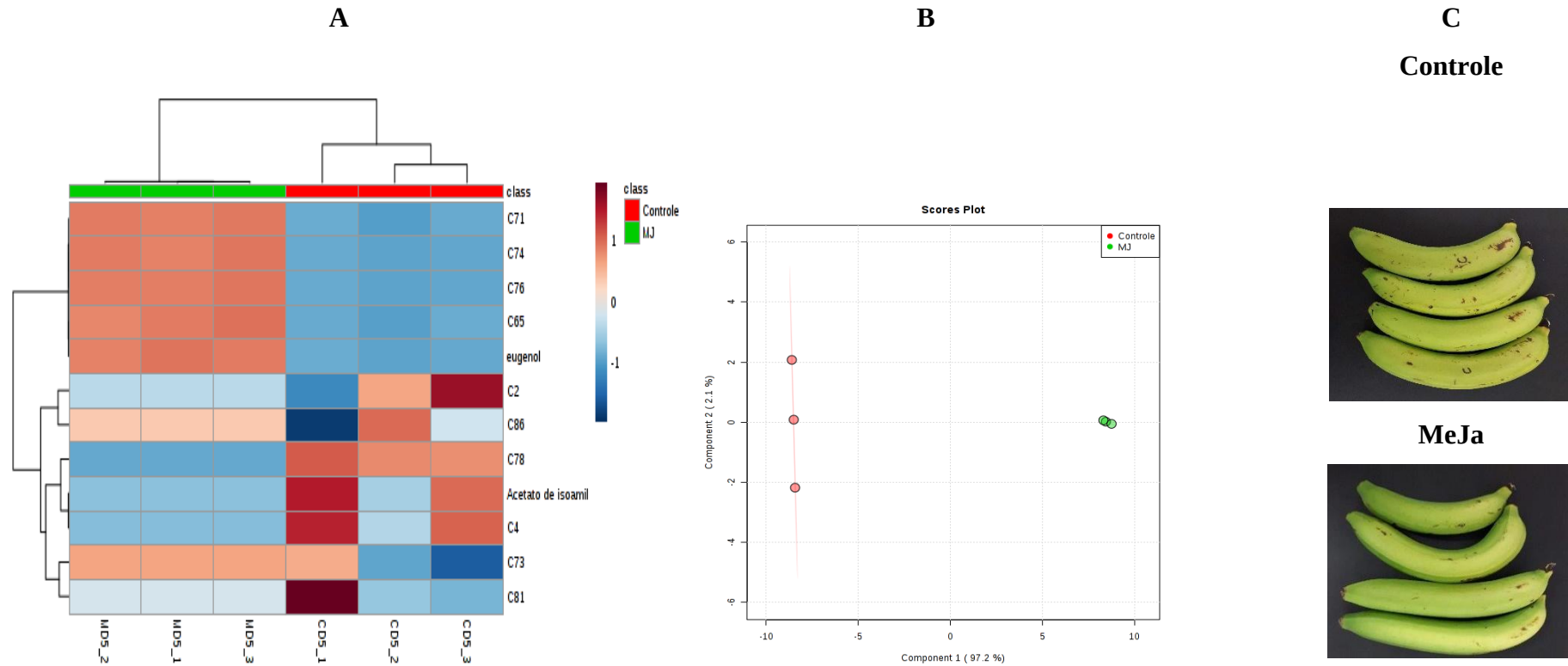
Figura 19. Análises multivariadas dos compostos voláteis da banana cultivar Nanicão no Dia 1 (D1), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e *HeatMap*, as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).



Como mostrado na Figura 19, as amostras do grupo tratado com MeJA, no D1, estão completamente divergentes do controle, considerando que o jasmonato modificou o padrão de síntese de todos os compostos identificados nas amostras para este dia, demonstrando impacto sobre o perfil dos compostos voláteis do aroma de banana apenas 24h após a aplicação.

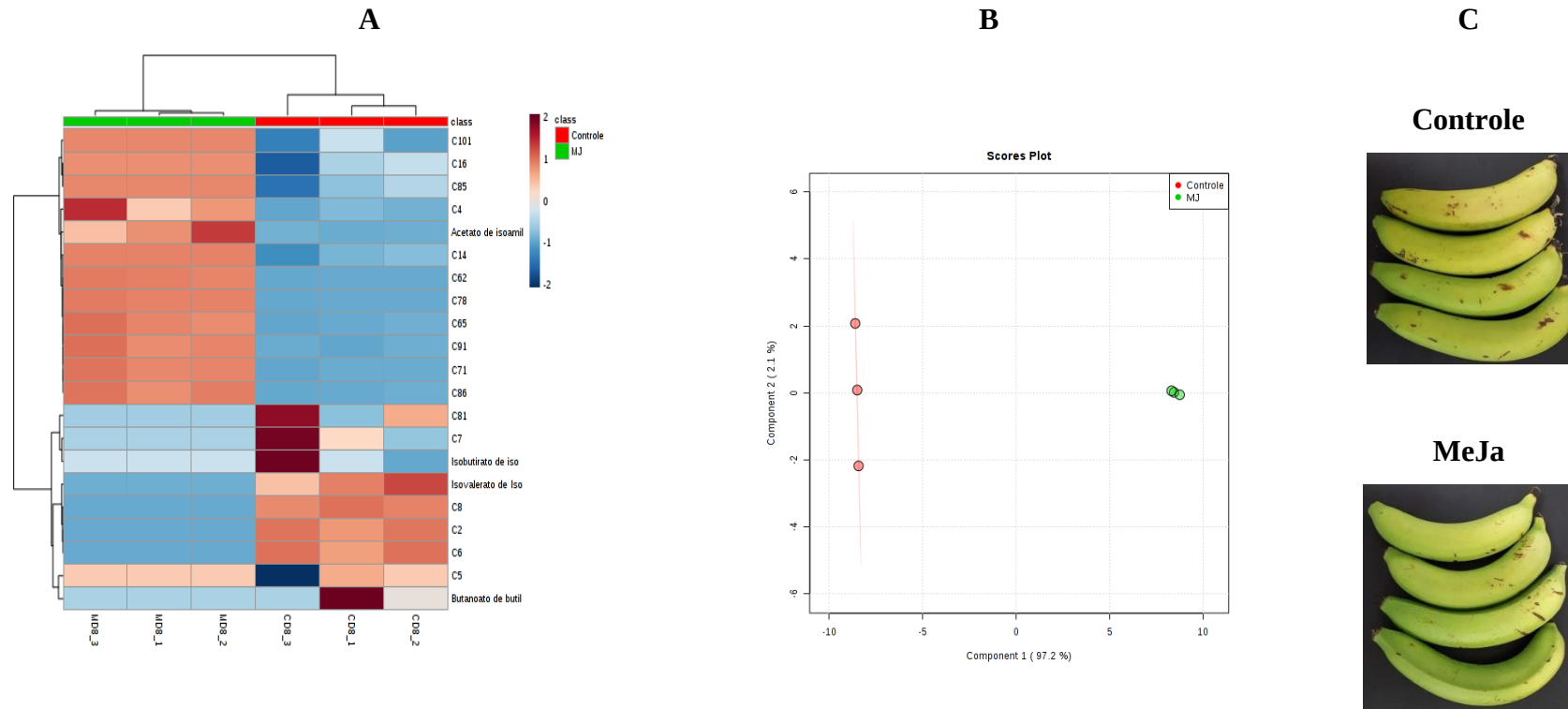
No grupo controle cetonas foram detectadas, tais como, 3-5-octadien-2-one, 2-pentanona, com notas aromáticas descritas com verde, doce, fermentado e aldeídos como nonanal, 2- nonanal, 3- metil-hexanal e 2-octanal, que conferem aroma floral, cítrico e picante. No grupo tratado com MeJA os compostos que se destacaram foram os ésteres, como butanoato de isobutílica com aroma doce e compostos fenólicos como o isoeugenol com nota picante, lenhoso e cravo. Embora o número de compostos voláteis detectados em frutos verdes de bananeira sejam relativamente pouco, o MeJa mostrou capacidade de induzir mudanças rapidamente no padrão de liberação de tais compostos.

Figura 20. Análise multivariadas dos compostos voláteis da banana cultivar Nanicão no Dia 5 (D5), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e *HeatMap*. As cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (vermelho) e Grupo tratado com MeJA (verde).



No dia 5 após o tratamento (Figura 20) foi observado no grupo controle a presença de ésteres como, 2-pentanol- acetato que confere notas aromáticas frutada e banana, acetato de isoamila, com notas típicas de banana, butanoato de isoamila, notas frutadas, acetato de isobutila e butanoato de butila, e aldeídos como, metil-hexanal, com notas verdes frescas e doces. No grupo tratado destacaram-se os aldeídos, que possuem aromas verde, frutado, frescas e doces como, hexanal, (E,Z)-2-6-nonadienal e 2-octanal e 1-hexanal. Ainda no grupo tratado foi detectado um composto benzênico, 1,3,dimetil-benzeno, com notas aromáticas adocicadas. Os fenólicos continuaram em destaque, com o eugenol que confere aroma característico de cravo, doce, picante e amadeirado.

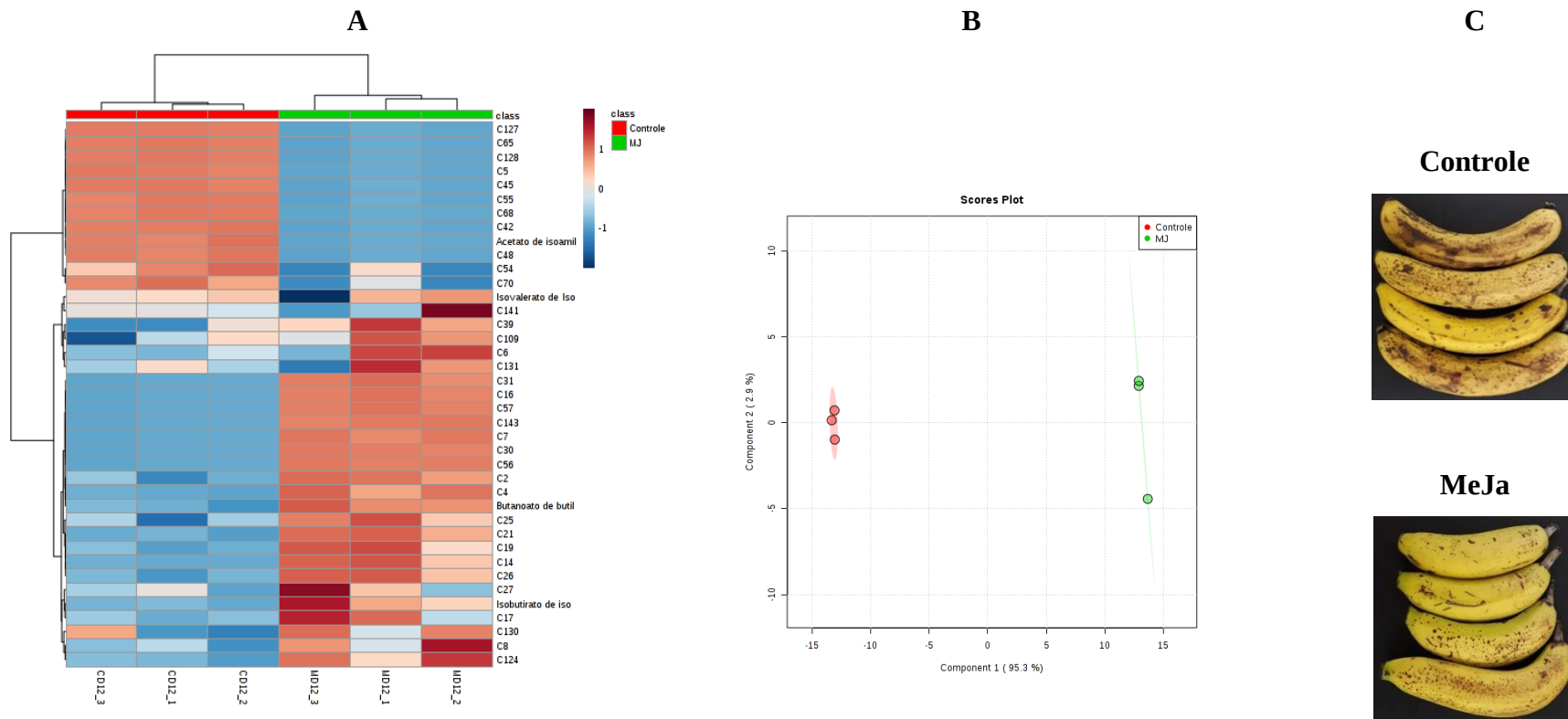
Figura 21. Análise multivariada dos compostos voláteis da banana cultivar Nanicão no Dia 8 (D8), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e *HeatMap*, as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).



No dia 8 (Figura 21) o grupo controle o mostrou notas aromáticas características da fruta completamente madura, no qual se destacam ésteres, como, acetato de etilo, isovalerato de isoamila e butanoato de isobutilo, com aromas frutado e doce, entre outros. O acetato de isoamila, éster típico do aroma de banana e um dos mais abundantes, foi detectado em maiores níveis no grupo tratado com MeJa. No grupo tratado com MeJA observa que compostos ésteres são majoritários, tais como, o 2-propilfurano, isobutirato de cis-3-hexemila, butanoato, acetato de isoamilo e isovalerato de hexila com notas, florais, frutadas, doces, verdes e madura, se destacou, alguns benzenos como, tolueno com aroma doce e pungente e aldeídos como 3-metil-hexanal, com notas verde e doce, hexanal com notas, verdes, frescas e frutadas.

Os ésteres em frutos são produzidos por várias isoformas das álcool acil transferases (AATs), que catalisam a ligação final de uma fração acil e um álcool para formar ésteres e, portanto, é diretamente responsável pela produção de ésteres. Nos frutos não incomum ocorrerem em famílias gênicas que apresentam diversas especificidades para diferentes substratos. Com isso, os produtos que preferencialmente geram são também diferenciados (DEFILIPPI, et al 2009). Em bananas, ao menos 31 transcritos de AATs foram identificados em frutos, sendo 8 com altos níveis de expressão (XU, et al. 2021). Assim, é plausível supor que tal variedade de transcritos, e por conseguinte as AATs que codificam, sejam reguladas por múltiplos fatores, o que pode incluir o MeJa dentre outros sinais hormonais. Esta possibilidade explicaria as alterações em níveis de ésteres específicos encontradas nas amostras analisadas neste estudo.

Figura 22. Análise multivariada dos compostos voláteis da banana cultivar nanicão no Dia 12 (D12), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e *HeatMap*, as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).



No dia 12º as bananas do grupo controle apresentaram compostos ésteres em abundância como, o hexanoato de isobutilo com notas verde e frutada, compostos álcoois como, 2 metil-1-propano com notas doce e hexanol com notas, herbal, verde e frutadas. No grupo tratado o fruto apresentou abundância de ésteres e ausência de compostos fenólicos. É importante também ressaltar a diferença na aparência dos frutos no dia 12: enquanto os frutos do grupo controle apresentavam a aparência típica de frutos entrando em estágio sobremaduro (casca totalmente amarelada com manchas marrom), os frutos do grupo MeJa estavam com a aparência de frutos em ponto de consumo, com poucas manchas escuras na casca e em alguns casos, ausência de manchas e não foi perceptível ao olfato alteração no aroma e nem ao paladar a mudança no sabor do fruto durante o experimento.

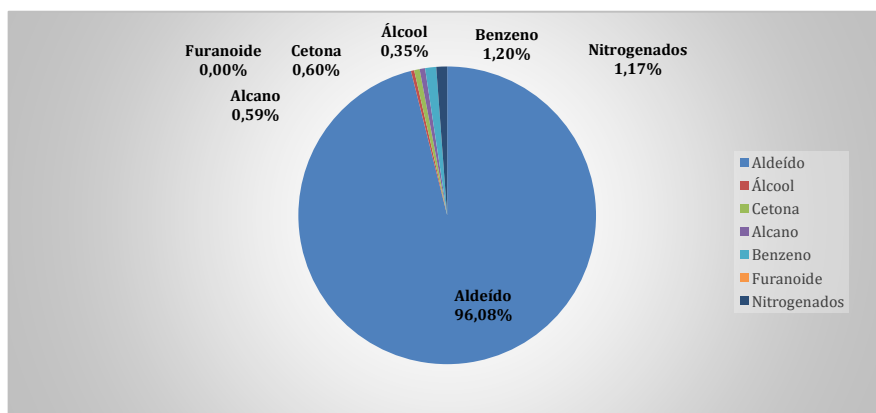
Desta forma, analisando compostos específicos ficam nítidas as alterações provocadas pelo tratamento com MeJa, colocando tal hormônio como um regulador do metabolismo de compostos voláteis em frutos de *Musa acuminata cultivar nanicão*. Embora não tenha sido realizada neste estudo, seria necessária a análise sensorial dos frutos para obter a dimensão destas alterações no que se refere ao sabor. A questão levantada seria se tais alterações em compostos específicos teriam impacto no aroma e no sabor dos frutos, seja ele positivo ou negativo, e quão perceptível seria tal impacto.

Classificando os compostos voláteis de acordo com suas diferentes classes orgânicas, é possível verificar qual a porcentagem da área no cromatograma corresponde a cada classe. Na Figura 21 estão apresentadas a distribuição destas porcentagens, tanto nos frutos do grupo controle quanto nos frutos do grupo MeJa, nos mesmos dias tomados para as análises multivariadas. Vale ressaltar que a porcentagem calculada se refere apenas aos compostos identificados e retidos na análise, após a identificação por comparação dos espectros dos compostos com os da biblioteca.

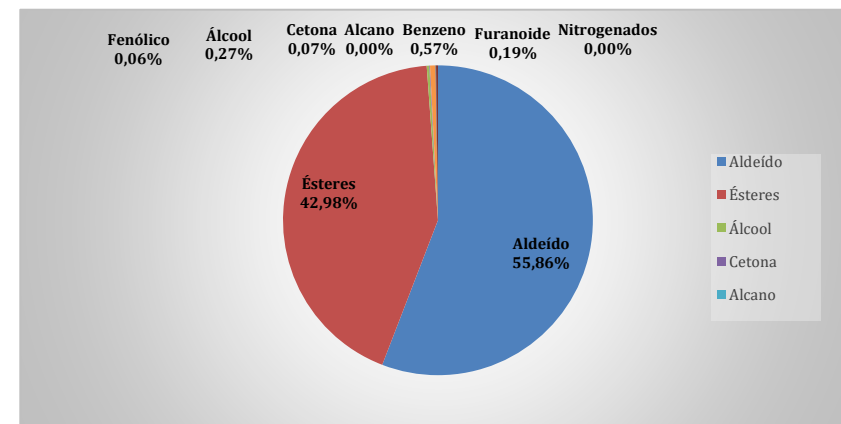
Figura 23. Gráfico de pizza da porcentagem dos compostos voláteis de aroma da banana cultivar Nanicão dos grupos controle tratado com MeJA do D1, D5, D8, D12

Controle

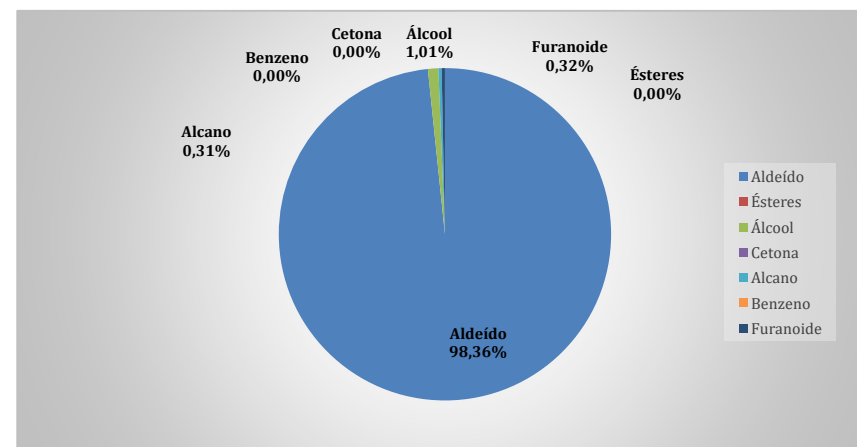
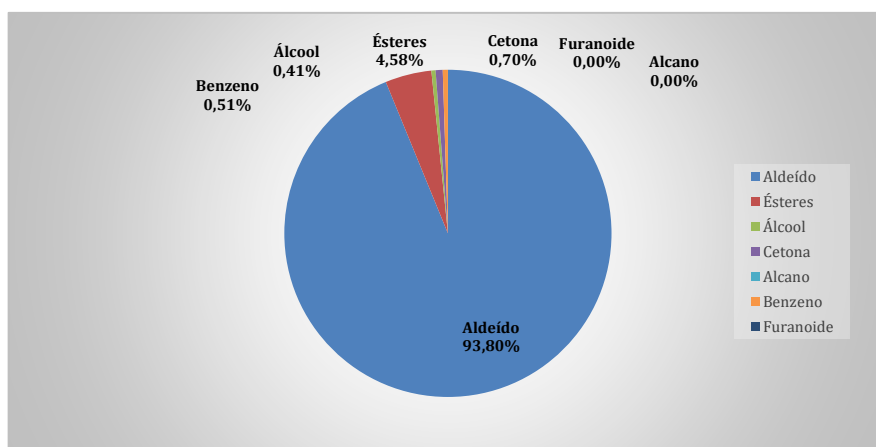
D1



Metil Jasmonato



D5

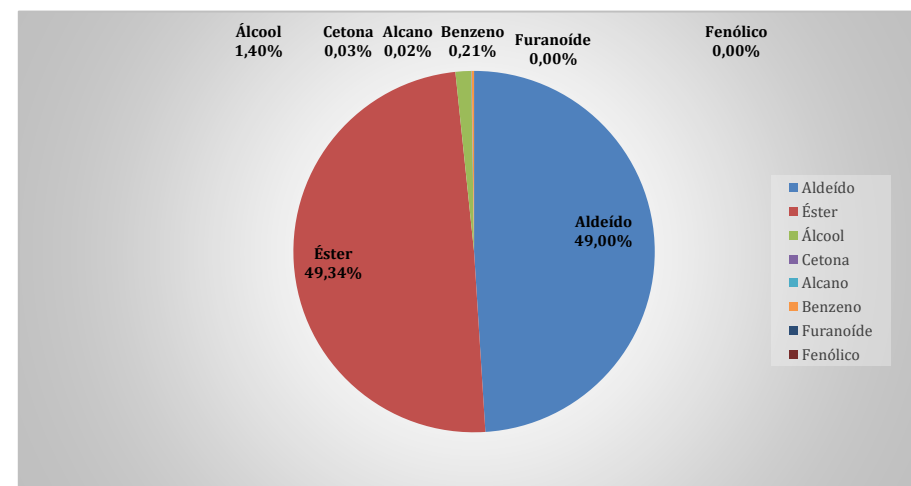
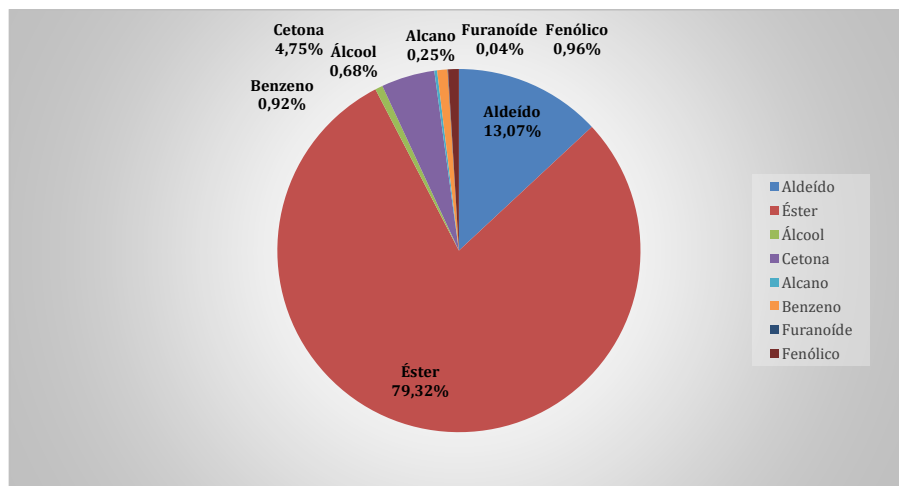


Cont. Figura 23. Gráfico da porcentagem dos compostos voláteis de aroma da banana nanica dos grupos controle tratado com MeJA do D1, D5, D8, D12

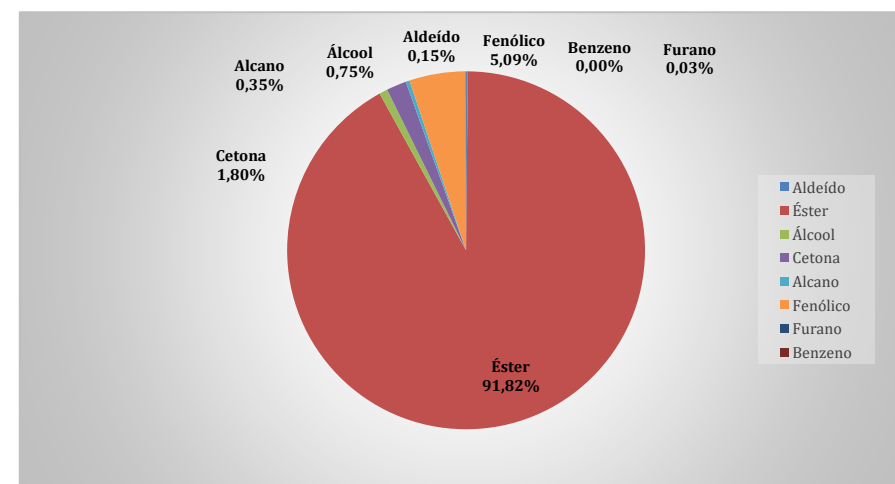
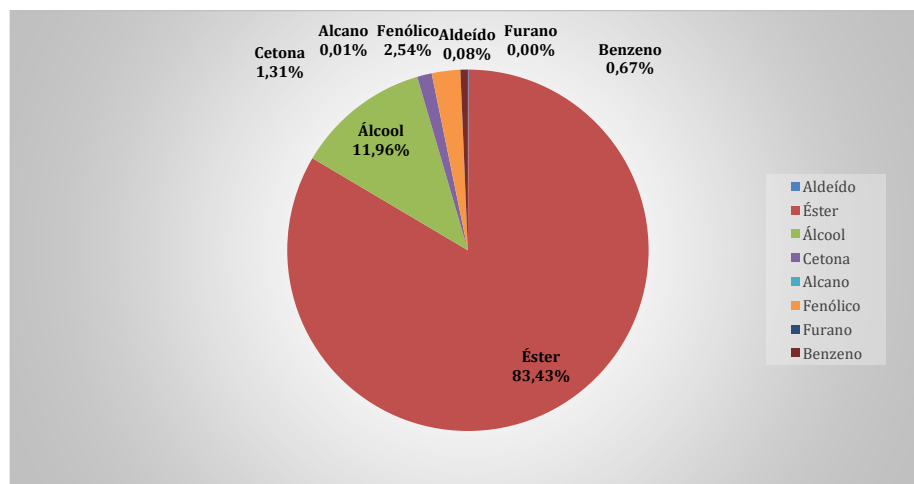
Controle

Metil Jasmonato

D8



D12



Após 24 horas do tratamento com MeJa, observou-se o aumento na fração de ésteres, algo não detectado no grupo controle. A indução de alguma forma específica de AAT ou a maior disponibilização de substratos por mobilização de lipídeos de membrana por aumento na atividade de lipoxigenase (FEUSSNER e WASTERACK, 2002a), canalizados para a via da LOX, podem estar relacionadas ao aumento de ésteres induzido por MeJa. Porém, este aumento aparentemente foi transiente visto que no 5º DPT, os níveis relativos de ésteres do grupo MeJa foram muito menores, prevalecendo o maior nível de aldeídos, o que se contrapõe ao observado para os frutos do grupo controle, que começaram a exibir aumento no acúmulo de ésteres.

Grande número de compostos voláteis surge a partir dos ácidos graxos na via da lipoxigenase (LOX), na qual ocorre a ação de três enzimas importantes, hidropéroxido liase (HPL), álcool desidrogenase (ADH) e álcool acil transferase (AAT). Os ácidos graxos linolênico e linoleico são catalisados, formando isômeros hidroperóxidos que, pela ação da enzima HPL, sofrem clivagem oxidativa e formam compostos aldeídos, que posteriormente, pela ação da ADH, são reduzidos a álcoois C6, que em seguida são convertidos em ésteres (DUDAREVA, 2013).

Em maçãs Golden delicious (*Malus sylvestris* L.), imersas por 2 minutos em solução de MeJa, foi induzida a expressão de MdAAT. (LI, Q., SHEN, J., LI, P., et al. 2012). Lalel e colaboradores (2003), observaram aumento de compostos aldeídos em mangas (*Kensington Pride*) tratadas com 4,8 µg de 9,10-dihydro MeJa na fase verde. Em peras (*Nanguo*), tratadas com 100 µmol. L⁻¹ de MeJA por 15 min, o conteúdo de ésteres e os precursores, ácido linoleico e alfa- linolênico aumentaram durante o amadurecimento, assim como as atividades de AAT, ADH e LOX. Os transcritos da *PuAAT*, *PuADH3*, *PuADH5*, *PuADH9*, *PuLOX1* e *PuLOX3* foram maiores no dia 9 do experimento em relação ao grupo controle (MANLI LUO et al; 2020). Considerando o aumento significativo de compostos aldeídos nas bananas tratadas com MeJA, presume-se que a expressão de genes associados a via da LOX foi aumentada após o tratamento, sendo necessárias análises posteriores dos transcritos destas enzimas para corroborar os resultados encontrados no conteúdo volátil. Outros genes em bananas que estão associados a síntese de compostos voláteis, como *MaOMT1*, *MaMT1*, *MaGT1*, *MaBCAT1*, *MaACY1*, *MaAGT1*, e *BanAAT*, aumentam no amadurecimento (YU-FAN GUO, et al., 2018) e também poderiam ser analisados em trabalhos posteriores.

A diferença mais nítida, contudo, ocorreu 8º DP, ponto no qual os frutos exibiram níveis crescentes de emissão de etileno (Figura 15). Enquanto o grupo controle exibe níveis elevados de ésteres, correspondentes a quase 80% da área total dos compostos identificados, há praticamente uma divisão meio a meio entre ésteres e aldeídos no grupo MeJa. Considerando

que a maior parte dos ésteres produzidos por bananas tem notas frutadas e doces, enquanto os aldeídos correspondem a notas frescas e herbáceas, é possível esperar diferenças sensoriais nítidas entre os frutos controle e tratados com MeJa.

No 12º DPT, os níveis de ésteres em ambos os grupos prevalecem sobre os demais compostos, o que pode indicar uma composição global de compostos mais próxima entre os dois grupos de frutos.

As análises multivariadas apontaram diferenças muito grandes entre os dois grupos em todos os pontos analisados, mas, como mostrado na Figura 22, é necessário ponderar tais observações face a outras formas de avaliar os dados obtidos. As PLSDAs são capazes de apontar compostos específicos e seu peso sobre as diferenças entre as amostras, o que é importante para verificar de forma mais detalhada como o tratamento com o hormônio influencia as vias de formação de voláteis nos frutos. Isso permite guiar o aprofundamento em análises moleculares acerca de genes e de seus produtos de codificação de forma específica, trazendo um quadro abrangente dos alvos da regulação hormonal em questão. Porém, dada a complexidade envolvida na formação dos voláteis nos frutos, é importante verificar mudanças mais amplas provocadas pelo tratamento, para uma melhor avaliação de qual a extensão que as modificações provocadas podem impactar o aroma.

Neste sentido, pode-se dizer que o tratamento com MeJa altera substancialmente a composição do aroma da banana, mesmo após vários dias de sua aplicação. Contudo, apesar das mudanças pontuais, com o aumento do etileno climatérico no grupo MeJA, percebe-se uma tendência de o fruto apresentar composição de aroma semelhante a um fruto não tratado, o que, se confirmado por análise sensorial, seria muito positivo levando-se em conta o atraso no desenvolvimento de sinais de senescência (manchas escuras na casca) que os frutos expostos ao jasmonato apresentaram.

5.3.2 Análise em laranjas Pera

Analizados individualmente, boa parte da composição voláteis nas laranjas foi modificada pelo tratamento com MeJA desde início do experimento. Vários compostos terpênicos foram aumentados após o tratamento com MeJA. Os terpenos são compostos formados por unidade de isoprenos (5 carbonos), sintetizados pela via de isoprenóides a partir de acetil-CoA ou de seus intermediários glicolíticos (TAIZ et al., 2017). São formados a partir de duas rotas, a do ácido mevalônico (MVA) e a rota do metileritritol fosfato (MEP). Para a síntese do ácido mevalônico são necessárias três moléculas de Acetil-CoA, que passam por

reação de pirofosforilação, descarboxilação e desidratação para produzir o Isopentenil difosfato (IPP). A rota MEP ocorre nos cloroplastos e outros plastídeos, nos quais, o gliceraldeído-3-fosfato em conjunto com dois átomos de carbono do piruvato condensam e forma 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato, o qual é reduzido a MEP, que é convertido em dimetialil difosfato (DMAPP, HENRY et al., 2018). A união de IPP e DMAPP forma geranyl difosfato (GPP), que é responsável pela formação de monoterpenos. Essa molécula pode se ligar a outra molécula de IPP, formando farnesil difosfato (FPP) e originando os sesquiterpenos. Ainda o GPP se ligar a uma outra molécula de IPP, formando geranylgeranyl difosfato (GGPP), precursor de diterpenos. A dimerização entre FPP E GGPP pode formar triterpenos e tetraterpenos (BROCK e DICKSCHAT, 2013).

No experimento conduzido, foram identificados 138 compostos ao longo do amadurecimento das laranjas (Tabela 3), nos dois grupos experimentais (controle e MeJa). Nestes foram identificados 51 terpenos (37% do total), 28 ésteres (20%), 14 compostos fenólicos (10%), 12 alcanos (9%), 10 cetonas (7%), 8 compostos benzênicos (6%), 7 aldeídos (5%), 3 furanóides (2%), 3 ácidos (25) e 2 álcoois (1%). A maior variedade de terpenos é típica do aroma de frutas cítricas, sendo o D-limoneno, o citral e o geranial alguns dos mais abundantes (BRAT, et al. 2003).

Tabela 3. Descrição dos compostos voláteis de laranja pera não tratadas (controle) e tratadas (MeJA), ao longo do amadurecimento com respectivas notas aromáticas e precursor sintético.

Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Ésteres	acetato de etila	141-78-6	frutado, doce, suave, agradável semelhante a rum	C1
	butirato de metila	623-42-7	pungente, etéreo, frutado, perfumista e fusel com uma nota fermentada, cultivada e cremosa	C2
	butirato de etila ou butanoato de etila	105-54-4	doce, verde, gorduroso, frutado, tutti-frutti e bagas	C3
	hexanoato de etila	123-66-0	frutado, banana verde, doce	C4
	2-hexenoato de etila	1552-67-6	rum frutado verde doce succulento	C5
	octanoato de etila	106-32-1	ceroso, doce, mofado, abacaxi e frutado, com uma nuance cremosa e láctea	C6
	Acetato de octile	112-14-1	floral, frutado, doce	C7
	3-hidroxihexanoato de etila	2305-25-1	frutado,uva, verde, doce, cítricas	C8

Continuação da tabela 3				
Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Ésteres	acetato de decila	112-17-4	cerosa, doce, gordurosa, cremosa e levemente ensaboada, laranja, óleo	C9
	formato de citronelila	105-85-1	doce, verde, ceroso, floral, damasco, cítrico, frutado e tangerina	C10
	Nerol	106-25-2	fresco, cítrico, floral, verde, doce, limão	C11
	éster etílico	1000373-80-4	n.d	C16
	butanoato de hexilo	2639-63-6	verde, frutado, seco e vegetativo com uma nuance de cera	C19
	ftalato de diisobutila	84-69-5	n.d	C17
	benzoato de periloilo	1000196-48-6	n.d	C18
	1,1-dimetil-ciclopentano	1638-26-2	n.d	C20

Continuação da tabela 3				
Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Ésteres	tiglato de etila	5837-78-5	frutado, com uma nota de fundo terra, azeitonas verdes	C23
	octanoato de metila	111-11-5	frutado, verde, ervas, doce, ceroso	C24
	butirato de isoamila	106-27-4	frutado, tropical, damasco, banana, verde	C26
	ácido ftálico, éster isobutílico 4-octilo	1000314-84-7	n.d	C27
	butirato de butila	109-21-7	doce, fresco, frutado, levemente graxo	C29
	hexanoato de metila	106-70-7	gorduroso, frutado	C31
	2-metilbutirato de etila	7452-79-1	maçã, frutado, verde, afiado, doce	C34
	ftalato de 6-etil-3-octil-butila	1000315-17-4	n.d	C35
	crotonato de etila	623-70-1	caramelo, rum, doce	C39

Continuação da tabela 3				
Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Ésteres	isovalerato de isoamila	659-70-1	maçã verde e frutada	C40
	dibutirato de etilideno		n.d	C41
	isobutirato de isoamila	2050-01-3	doce, frutado, verde e gorduroso	C42
Ácidos Graxos	Miristato	544-63-8	coco, sabão, graxo e ceroso	C43
	Valerato	109-52-4	ácido e agudo, semelhante a queijo, leitoso azedo, tabaco, com nuances frutadas	C22
	Isobutirato	97-72-3	manteiga rançosa	C149
Terpeno	jasmonato de metila	1211-29-6	doce, frutado, ceroso, floral e verde	C153
	dibutirato de etilideno	25572-25-2	n.d	C158
	beta-tujeno	28634-89-1	n.d	C45
	beta-felandreno	555-10-2	menta, hortelã	C46

Continuação da tabela 3				
Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Terpeno	3-careno	13466-78-9	cítrico, herbal, doce, picante	C47
	alfa-felandreno	99-83-2	ervas, cítricas, verde, apimentado, amadeirado com notas discretamente menta	C48
	D-limoneno	5989-27-5	cítrico, doce	C51
	isoterpinoleno	586-63-0	hortelã, pimenta	C52
	cis-muurola-3,5-dieno	1000365-95-4	n.d	C54
	Linalool	78-70-6	citrino, laranja, floral,	C55
	Carvona	99-49-0	manjerição, amargo, erva-doce	C58
	Geranial	141-27-5	limão cítrico	C59
	naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1s-cis)-	483-76-1	n.d	C60
	Perilaldeído	2111-75-3	picante, cominho, canela, picante, cravo, citros, laranja	C61

Continuação da tabela 3				
Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Terpeno	Nootkatone	99-48-9	gordura, fresco, hortelã	C63
	beta-selineno	17066-67-0	Ervas	C62
	alfa-copaeno 1	4674-50-4	toranja, cítrica, laranja, doce, com nuances amadeiradas	C64
	alfa-copaeno 2	1000360-33-0	mel, picante, amadeirado	C65
	p-mentona-1,3,8-trieno	18368-95-1	aguarrás, cânfora, ervas arborizado	C66
	germacreno a	75023-40-4	n.d	C67
	10-epi-gama-eudesmol	15051-81-7	floral, amadeirado, doce	C68
	2-isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno	1000192-43-5	n.d	C69
	beta-pineno	18172-67-3	Ervas	C72
	alfa-cubebeno	17699-14-8	Ervas	C73

Continuação da tabela 3				
Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Terpeno	ciclohexen-1-ol, 4-metil-1-(1-metiletil)-, (r)-	20126-76-5- 3	perfumes, cosméticos, chá lapsang souchong	C74
	óxido de limoneno	1195-92-2	fresco limpo, cítrico, hortelã, ervas	C75
	Cariofileno	87-44-5	picante, doce, cravo, amadeirado, seco	C76
	(-) - beta-elemeneno	515-13-9	Doce	C77
	Humuleno	6753-98-6	amadeirado, oceânico-aquoso, cravo-da-índia	C78
	valenceno	4630-07-3	doce, cítrico fresco, toranja, amadeirado, laranja	C79
	1-metilenespiro [4.4] nonano	19144-06-0	n.d	C80
	(-) - aloaromadendreno	25246-27-9	amadeirado	C81
	alfa-selineno epi-a-selineno	1000365-93-4	n.d	C82

**Continuação
da tabela 3**

**Classe
Orgânica**

Terpeno

Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
alfa-selineno	1000193-57-0	âmbar	C83
azuleno, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metilethenil)-,[1r1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,7.beta.)]-	22567-17-5	mofado	C84
óxido de (+) - trans-limoneno	6909-30-4	verde	C87
beta-ocimeno	13877-91-3	verde, tropical, amadeirado, com nuances florais e vegetais	C89
biciclo[3.1.0]hex-2-eno,2-metil-5-(1-metiletil)-	2867-05-2	amadeirado	C91
1-norpineno, 3,6,6-trimetil-	4889-83-2	n.d	C92
Citral	5392-40-5	casca de limão fresca, doce nuance verde, picante, hortelã	C93

Continuação da tabela 3	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Classe Orgânica				
Terpeno				
	alfa-panasinseno	56633-28-4	n.d	C94
	cis-muurola-4 (14), 5-dieno	1000365-95-5	n.d	C98
	beta-panasinseno	1000159-39-0	n.d	C101
	biciclosesquifelandreno	54274-73-6	ervas, manjerição	C146
	alfa-pineno	7785-26-4	pinho fresco, aroma limpo e resinoso com um toque de menta	C147
	beta-cubebeno	13744-15-5	frutado, cítrico	C130
	o-cimeno	527-84-4	citrus	C128
	beta-chamigreno	18431-82-8	n.d	C38
	(+)-4-careno	29050-33-7	não aromático	C102
	4-tujanol	17699-16-0	bálsamo amadeirado	C97
	gama-geraniol	13066-51-8	n.d	C148
	selina-3,7(11)-dieno	6813-21-4	n.d	C100

Continuação da tabela 3	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Classe Orgânica				
Alcano	bis (2-metilpropanoato de 2,4,4-trimetilpentano-1,3-diil)	74381-40-1	n.d	C155
	ciclohexano, 1-metil-4-(1-metiletenil)-, cis-	1879-07-8	n.d	C36
	ciclopentano, 1-etil-1-metil-	16747-50-5	n.d	C37
	3,3-dimetil-hexano	563-16-6	ervas	C103
	3,3-dimetilpentano	562-49-2	n.d	C105
	undecano, 3,7-dimetil-	17301-29-0	n.d	C106
	Heneicosano	629-94-7	ceroso	C107
	Tetracosano	646-31-1	n.d	C108
	3,8-dimetilundecano	17301-30-3	n.d	C109
	Nonadecano	629-92-5	suave	C152
	biciclo [4.1.0] heptano, 7-metileno-	54211-14-2	n.d	C156

Continuação da tabela 3	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Classe				
Orgânica				
Aldeído	Tetracosano	646-31-1	n.d	C157
	Hexanal	66-25-1	verde fresca frutado	C112
	Nonanal	124-19-6	floral, verde, limão	C113
	Decanal	112-31-2	casca de laranja, cerosa, cítrica, floral	C114
	Octanal	124-13-0	casca de laranja, cítrica, cerosa	C116
	3-ciclohexeno-1-acetaldeído, alfa.,4- dimetil-	29548-14-9	ervas picantes	C56
	2-hexenal, (e)-	6728-26-3	folhas verdes	C117
	Benzaldeído	100-52-7	doce forte, amêndoa amarga	C118
Álcool	1-decanol	112-30-1	cera, floral, laranja doce	C119
	1-octanol	111-87-5	ceroso, verde, cítrico, floral doce	C120

Continuação da tabela 3				
Classe Orgânica	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Furano	8-hidroximetilfurfural	67-47-0	ceroso mofado, amanteigado de cera	C122
	furano, 3-(4-metil-3-pentenil)-	539-52-6	amadeirado,floral e cítrico	C53
	2-acetil-2-metiltetra-hidrofurano	32318-87-9		C123
Benzeno	benzeno, 4-etenil-1,2-dimetil-	27831-13-6	n.d	C124
	Toluene	108-88-3	doce e pungente	C125
	1,2-benzenediol,o-(4-butilbenzoi)-o'-(2-metilbenzoi)	1000325-96-0	n.d	C126
	ácido 3,4-bis (metoxicarbonil) benzóico	54699-35-3	n.d	C127
	3,9-epoi-p-menta-1,8(10)-dieno	1000111-14-8	n.d	C129
	terc-butilbenzeno	98-06-6	n.d	C131

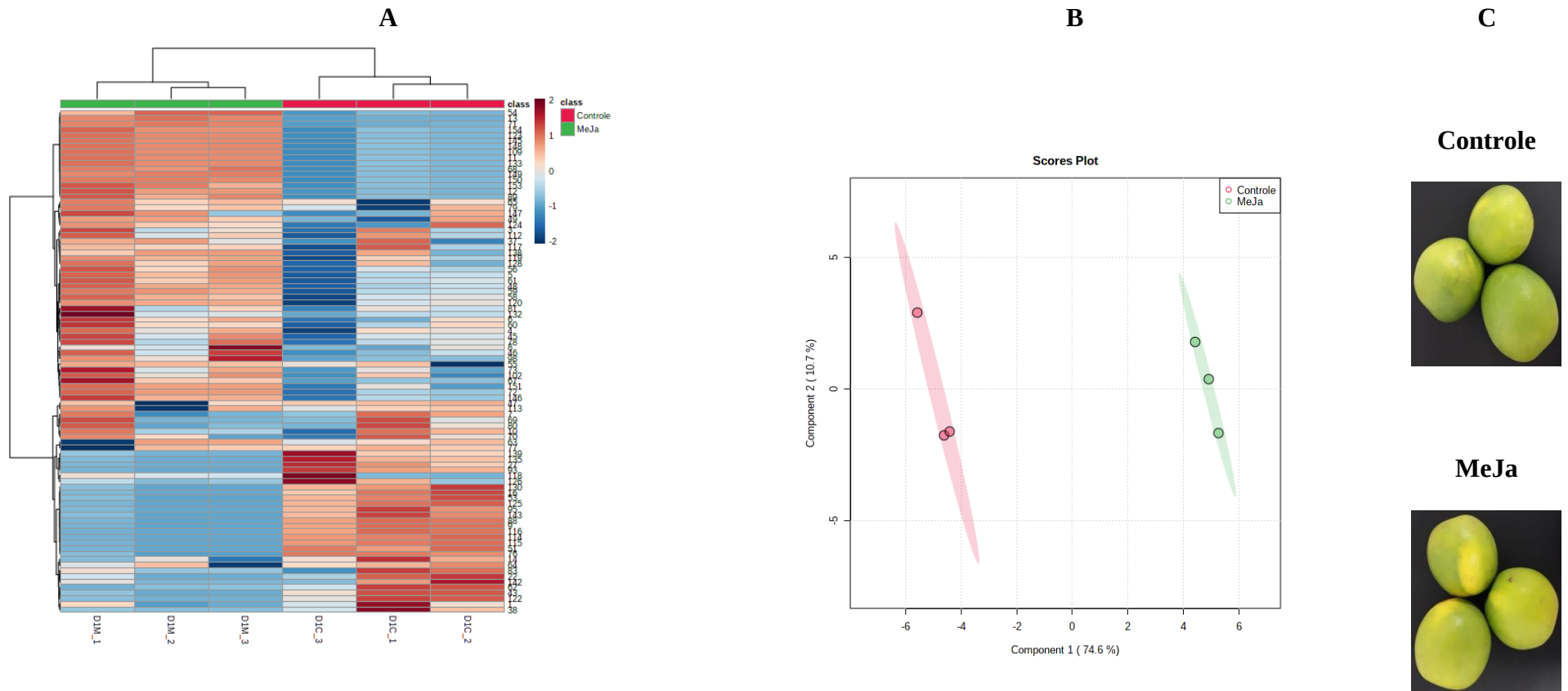
Continuação da tabela 3	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Classe				
Orgânica				
Benzeno	4'-metilvalerofenona	1671-77-8	n.d	C132
	isocianeto de benzila	10340-91-7	n.d	C145
Cetona	Benzofenona	119-61-9	floral	C115
	formato de fenacilo	55153-12-3	n.d	C135
	2,3-butanodiona	431-03-8	doce, cremoso, amanteigado, picante,	C136
	3'-metilacetofenona	585-74-0	n.d	C137
	isopiperitenona	529-01-1	doce de ervas, frutado	C138
	Sulcatona	110-93-0	mofado, verde, cítrico	C133

Continuação da tabela 3	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Classe Orgânica				
Cetona	2'-metilacetofenona	577-16-2	espinheiro doce em pó, noz, mel	C134
	1-etanona, 1-(1-adamantil)-2-fenil-	268543-19-7	n.d	C140
	dimetilsulfona	67-71-0	queimado com enxofre	C141
	cetona, ciclopropil 4-piridilmetil	6580-95-6	n.d	C142
Fenólico	ácido fenilsuccínico	635-51-8	n.d	C143
	2-fenilfenol	90-43-7	n.d	C144
	1-metileno-2b-hidroximetil-3,3-dimetil- 4b-(3-metilbut-2-enil)-ciclohexano	1000144-10-6	n.d	C150
	p-mentona-1 (7), 8 (10) -dien-9-ol	29548-13-8	n.d	C151
	3-etinilanilina	54060-30-9	n.d	C154
	p-ment-1-en-9-ol	18479-68-0	ervas, frutado	C159
	ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2-(1- metiletenil)-4-(1-metiletilideno)	3242-08-8	n.d	C12

Continuação da tabela 3	Composto volátil	CAS	Nota aromática	Código
Classe Orgânica				
Fenólico	acetato de perililo	15111-96-3	n.d	C14
	biciclo[3.3.1]non-2-en-9-ol, 9-metil-	54703-60-5	n.d	C25
	biciclo[4.1.0]heptano, 7-metileno-	54211-14-2	n.d	C28
	4-alil-1,6-heptadien-4-ol	10202-75-2	n.d	C95
	naftaleno, 1,2,3,4,4a,8a-hexahidro-	62690-62-4	n.d	C99
	4h-piran-4-ona, 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-	28564-83-2	n.d	C139
	2-oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol, 1,3,3-trimetil-, acetate	57709-95-2	n.d	C70

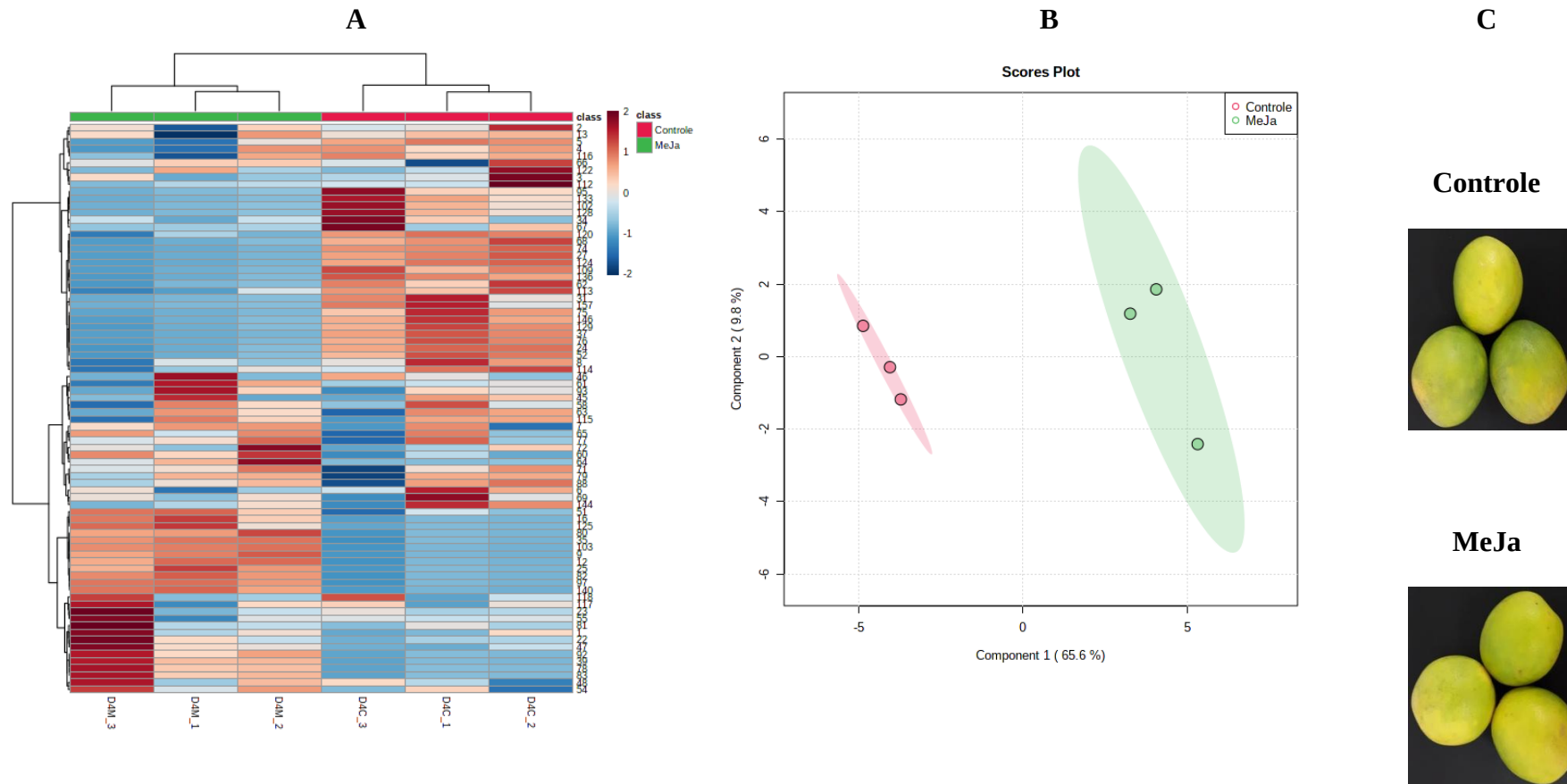
As análises multivariadas indicam que o efeito do MeJa sobre a composição volátil da polpa das laranjas foi bastante influenciado pelo hormônio logo no primeiro dia após o tratamento, a exemplo do observado em bananas. Na PLSDA (Figura 22 B), observa-se que as amostras dos frutos tratados com MeJa são separadas pelo componente 1 (74,6%), indicando um perfil bastante divergente do grupo controle, o que pode ser constatado no *Heat-map* (Figura 22 A). Compostos terpênicos como, o furan, 3-(4-metil-3-pentenyl) (53), cariofileno (76), D-limoneno (51) e beta-selineno (62) tiveram níveis relativos maiores nos frutos do grupo controle, enquanto compostos como, cis-muurola -3,5-diene (54), valenceno (79) e 10-epi-gama-eudesmol (68), apresentaram maiores níveis nos frutos tratados com MeJa. A distribuição dos níveis relativos indica dois grupamentos de compostos separados em função dos perfis: grupamento 1 com níveis relativos maiores no grupo MeJa e grupamento 2 com níveis maiores no grupo controle. Não há uma classe que prevaleça em um ou outro grupamento, mas é possível perceber um número maior de ésteres no grupamento 1, resultado esse similar ao encontrado nas bananas, no primeiro dia após o tratamento. Pelo mesmo motivo, é possível que o resultado esteja associado a um estímulo na transcrição dos genes da via da LOX e formas específicas de AATs (FEUSSNER e WASTERACK, 2002b).

Figura 24. Análises multivariadas dos compostos voláteis da Laranja pera no Dia 1 (D1), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e *HeatMap*, as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).



Os resultados obtidos nas análises das amostras do 4º DPT mostram que, embora as amostras dos frutos tratados com MeJa tenham apresentado perfis mais heterogêneos, ainda assim diferiram dos frutos do grupo controle. Neste ponto, os níveis dos compostos terpênicos como, D-limoneno (51), alfa-selineno (83), humuleno (78) tiveram níveis relativos maiores que os detectados nas amostras do grupo controle que, por sua vez, apresentaram maiores níveis de beta-selineno (62), cariofileno (76) e ésteres como, 2-hexenoato de etila (5), entre outros compostos. A visualização dos padrões obtidos no *heat map* (Figura 25 A) indicam que, em grande parte, os compostos encontrados em maiores níveis no grupo controle, estavam em menores níveis no grupo MeJa e vice-versa. A visão de tal padrão é traduzida na separação que o componente principal 1 (Figura 25 B) imprime aos dois grupos na PLSDA.

Figura 25. Análises multivariadas dos compostos voláteis da laranja pera no Dia 4 (D4), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e *HeatMap*, as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).

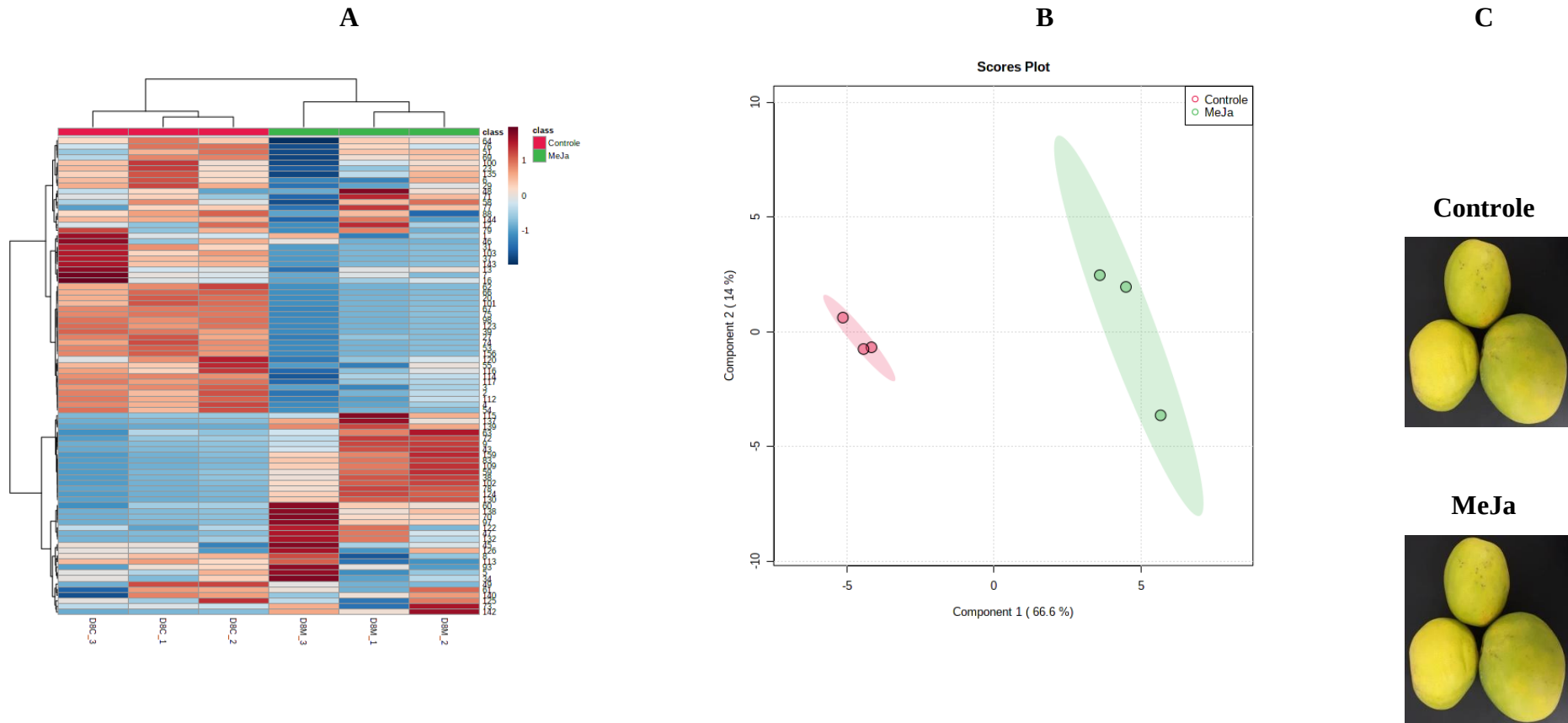


Vários estudos têm apontado que os jasmonatos são capazes de regular a expressão gênica de terpenos sintases envolvidas na formação de mono, di, sesqui e triterpenos nas mais variadas espécies (CHEN, et al 2019). As enzimas terpenos sintases compõem uma extensa família de enzimas que catalisam a etapa final na formação dos terpenos das diferentes classes e dezenas de genes já foram descritas, indicando que se trata de enzimas de larga distribuição na natureza, mas capazes de gerar milhares de estruturas diferentes. Apenas na classe dos monoterpenos, estima-se que mais de 2500 moléculas diferentes foram identificadas em plantas (WÜST, 2017).

Sendo que vários terpenos estão envolvidos em defesa contra estresse biótico e abiótico e o MeJa é um hormônio diretamente relacionado com a defesa em plantas, não seria por menos esperar que tenha sido associado a regulação de síntese de terpenos (CHEN, et al 2019). Embora o presente estudo tenha foco nos compostos voláteis relacionados ao aroma e a qualidade do fruto, sendo a laranja pera um fruto que emite uma grande gama de terpenos durante o amadurecimento, é possível supor que os efeitos observados após o tratamento com MeJa indiquem maior impacto sobre a composição de terpenos produzidos pelos frutos.

Assim, os efeitos observados nos dias 1 e 4 após o tratamento, embora variem em relação aos compostos, ainda indicam que o MeJa influenciou o perfil de emissão de voláteis na laranja pera até o 8º DPT (Figura 26). Tanto os padrões observados no *heat map* como a separação na PLSDA indicam níveis de compostos voláteis diferenciados entre os dois grupos, de modo inverso para boa parte dos casos.

Figura 26. Análises multivariadas dos compostos voláteis da laranja pera no Dia 8 (D8), após tratamento com MeJA. A) Análise do agrupamento hierárquico e *HeatMap*, as cores vermelhas e azuis representam altos e baixos níveis de composto, respectivamente. B) Análise discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLSDA) em 2D. Grupo controle (C) e Grupo tratado (M) (tratamento com 10ppm).

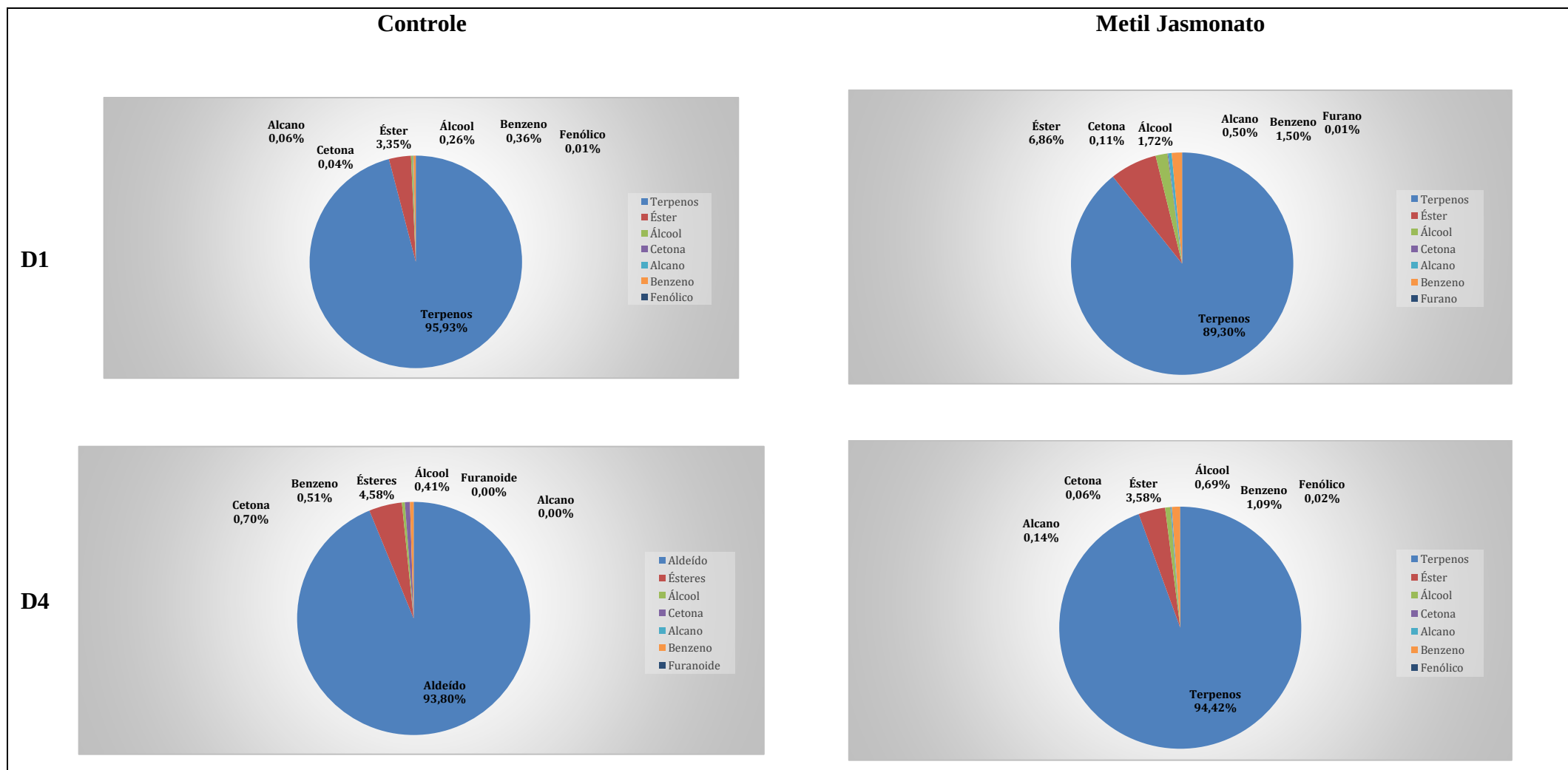


O comportamento parece ser o mesmo observado para a banana, sugerindo que o caráter climatérico ou não climatérico parece não influenciar tantos os resultados.

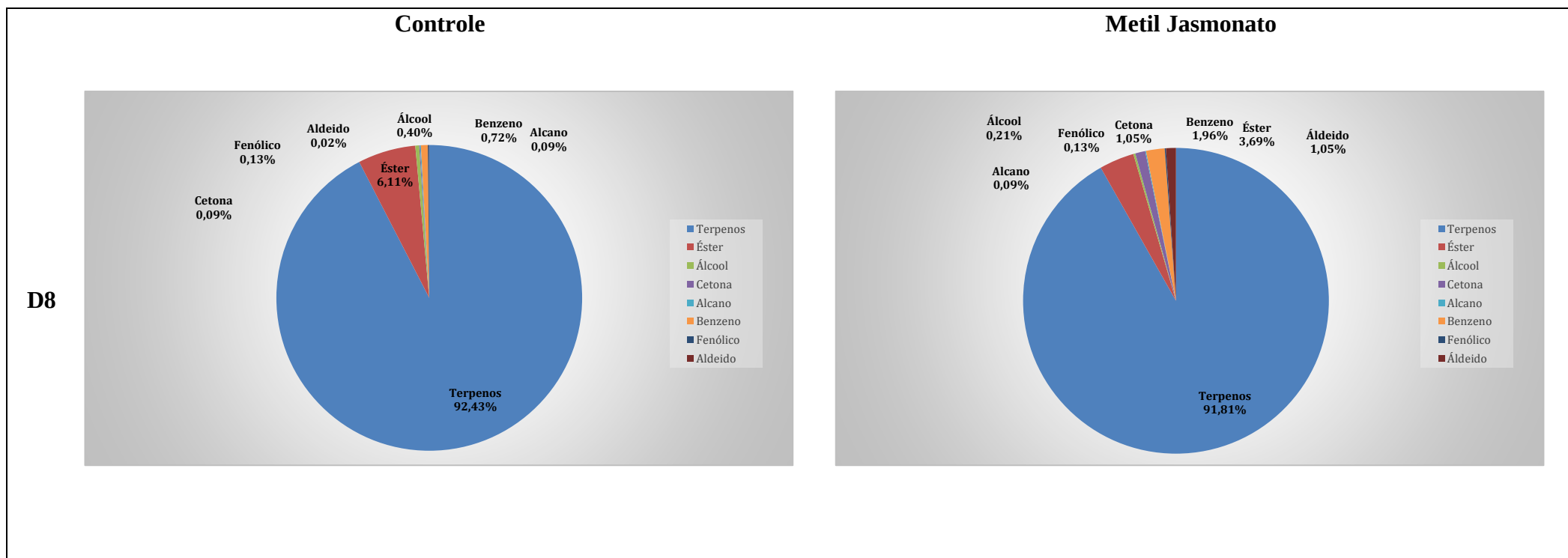
Da mesma forma como avaliado para a banana, as áreas somadas das diversas classes de compostos identificadas foram agrupadas e calculadas em termos da porcentagem relativa à área total dos compostos. Esta distribuição percentual foi plotada (Figura 27) para cada dia da análise, a fim de avaliar tendências de aumento de uma classe em relação a outra. Diferentemente do observado nas bananas tratadas com MeJa, nas laranjas, os percentuais majoritários da área dos compostos foram dos terpenos e estes percentuais foram similares entre os frutos do grupo controle e do grupo tratado com MeJa em todos os dias amostrados para análise de compostos voláteis. Assim, apesar da variabilidade individual, ilustradas nos *heat-maps*, e seu impacto para a separação das amostras na PLSDA, de forma global, não há uma variação nos perfis por classe de compostos.

Da mesma forma que apontada para a banana, apenas com análise sensorial seria possível avaliar se os efeitos das alterações individuais dos compostos têm algum impacto na característica sensorial do fruto, ou se o fato de globalmente não se detectar alteração dos compostos, tanto os frutos tratados como os não tratados teriam características similares ao olfato e paladar humano.

Figura 27. Gráfico da porcentagem dos compostos voláteis de aroma da laranja pera dos grupos controle e tratados com MeJA dos D1, D4 e D8



Cont. Figura 27. Gráfico da porcentagem dos compostos voláteis de aroma da laranja pera dos grupos controle e tratados com MeJA dos D1, D4 e D8



De todo o modo, os resultados mostraram que o tratamento hormonal com MeJA causou mudanças do início ao fim do amadurecimento na composição do aroma de bananas (*Musa acuminata* cv *Nanicão*) e laranjas (*Citrus sinensis* cv *Pera*).

Analisando os compostos voláteis individualmente, o padrão de resposta observado em bananas difere do que foi reportado para tomates (MAGALHÃES, 2017) e mamões (de FUSCO, 2015) (frutos climatéricos), onde as alterações no perfil de voláteis foram observadas até 72 horas após os tratamentos e, ao final, os frutos apresentaram padrões semelhantes aos frutos não tratados. Já para as laranjas, as respostas se assemelham ao que foi obtido em morangos (FERNANDES, 2017) e uvas (MORO, 2019) (frutos não-climatéricos), nos quais os efeitos do tratamento pós-colheita com MeJA influenciam os níveis de compostos do aroma até as fases finais do amadurecimento, nas quais os sintomas de senescência se tornam mais evidentes.

Compostos tipicamente derivados da via da lipoxigenase e também compostos terpênicos parecem ser os mais afetados pelo MeJA, o que está em acordo com relatos disponíveis na literatura, o que coloca tal hormônio como um regulador da síntese de tais compostos em frutos.

6. Conclusão

As respostas do etileno ao MeJA mostraram influência no pico hormonal em ambos os frutos, do início ao fim do experimento, em bananas cultivar nanicão identificou pouca mudança no perfil do etileno, no qual não observou a mudança da coloração do fruto, mesmo com o pico precedente a dois dias ao controle, nota-se somente no 12º após o tratamento a mudança da coloração na casca, comparado ao grupo controle que identificou a mudança de cor quando o perfil de etileno atingiu o pico mais expressivo. Em laranja cultivar pera, observou aumento expressivo do etileno no início do tratamento, que mostrou influencia leve na mudança de coloração na casca. Conclui-se, no entanto, que o MeJA é um forte fator regulador do etileno endógeno em frutos climáticos não climáticos e que outros fatores são capazes de interferir no metabolismo dos pigmentos na casca.

Os resultados obtidos no presente trabalho somados a trabalhos anteriores do grupo de pesquisa do Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos da FCF-USP e também outros relatos na literatura (KONDO e MATTEIS, 2006; DE LA PEÑA MORENO, et al, 2010), parecem indicar que, ao menos para frutos não climatéricos, a influência que o metil-jasmonato parece exercer sobre a síntese de compostos voláteis é

independente da espécie ou gênero. Uma aplicação do hormônio logo após a colheita é capaz de alterar a composição volátil do fruto por vários dias, sem que volte a apresentar características similares a frutos não expostos ao MeJa.

Em relação aos frutos climatéricos, os resultados obtidos com frutos de bananeira não tiveram o mesmo comportamento de outros frutos avaliados no laboratório, mas tiveram respostas similares às observadas em maçãs (KONDO; MATTEIS 2006), nos quais o tratamento com MeJa após a colheita provocou alterações na composição de ésteres que resultaram em frutos com perfis diferentes dos obtidos em frutos não tratados. Desta forma, aparentemente para frutos climatéricos, é possível indicar que o MeJa exerça efeitos espécie dependente.

Referências Bibliográficas

ALMEIDA, CLÓVIS DE OLIVEIRA. Embrapa, Produção e problemas na comercialização, concentração da produção e comportamento dos preços, inserção no Brasil no mercado externo, 2004

AZEVEDO, CLAUDIO LUIZ LEONE. Embrapa Mandioca e Fruticultura Sistema de Produção, 16 ISSN 1678-8796 Versão eletrônica, Dez/2003, Disponível: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/index.htm>

BRAT, PIERRE; REGA, BARBARA; ALTER, PASCALINE; REYNES, MAX; BRILLOUET, JEAN-MARC. Distribution of Volatile Compounds in the Pulp, Cloud, and Serum of Freshly Squeezed Orange Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, [S. l.], v. 51, n. 11, p. 3442–3447, 2003. ISSN: 0021-8561. DOI: 10.1021/jf026226y. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf026226y>.

BROCK, N. L.; DICKSCHAT, J. S. Biosynthesis of Terpenoids. *Natural Products*, p. 2693–2732, 2013.

CEAGESP. PBMH & PIF - programa brasileiro para a modernização da horticultura & produção integrada de frutas. Normas de Classificação de Banana. São Paulo. 2006. Disponível: <https://ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2015/07/banana.pdf>

CEAGESP. Companhia de entrespostos e armazéns Gerais de São Paulo, Normas de Classificação de Citros de Mesa, São Paulo, 12p.: il.; 30 cm. Programa Brasileiro para Modernização da Horticultura – PBMH, 2011. Disponível: <https://ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2015/07/citros.pdf>

CHEN, XUEYING; WANG, DAN-DAN; FANG, XIN; CHEN, XIAO-YA; MAO, YING-BO. Plant Specialized Metabolism Regulated by Jasmonate Signaling. *Plant and Cell Physiology*, [S. l.], v. 60, n. 12, p. 2638–2647, 2019. ISSN: 0032-0781. DOI: 10.1093/pcp/pcz161. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz161>.

CIDADE BRASIL. Município de Vitória Brasil, 8 abril de 2021. Disponível: Município de Vitória Brasil. 23 Junho 2022 06:50

DE LA PEÑA MORENO, Fernando; BLANCH, Gracia Patricia; RUIZ DEL CASTILLO, Maria Luisa. Effect of (–)- and (+)-methyl jasmonate on the bioformation of aroma-active esters in strawberry fruits. *European Food Research and Technology*, [S. l.], v. 231, n. 6, p. 829–834, 2010. ISSN: 1438-2385. DOI: 10.1007/s00217-010-1339-y. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1339-y>.

DEFILIPPI, B.G.; MANRÍQUEZ, D.; LUENGWILAI, K.; GONZÁLEZ-AGUERO, M. Aroma Volatiles: Biosynthesis and Mechanisms of Modulation During Fruit Development. *Advances in Botanical Research*, v. 50, p 1-37, 2009.

PREFEITURA DE JANAÚBA, MINAS GERAIS. Cidade, Dados gerais, 2020. Disponível: https://janauba.mg.gov.br/cidade/dados_gerais

RUDELL, DR, JP MATTHEIS. *Postharvest Biology and Technology* 47; 2008

LIHONG LIU, JIA WEI, MIN ZHANG, LIPING ZHANG, CHUANYOU LI, QIAOMEI WANG. Ethylene independent induction of lycopene biosynthesis in tomato fruits by jasmonates; *Journal of Experimental Botany*, Volume 63, Issue 16, October 2012, Pages 5751 5761, Published: 31 August 2012; <https://doi.org/10.1093/jxb/ers224>

DUDAREVA, N , A. KLEMPIEN , K. MUHLEMANN , I. Kaplan, Biossíntese, função e engenharia metabólica de compostos orgânicos voláteis de plantas, *New Phytol.* , 198; pp. 16 - 32. 2013

FERNANDES, CAROLINA PRADO Influência do ácido abscísico, metil-jasmonato e etileno na formação de compostos voláteis do aroma em morangos (*Fragaria x ananassa*). Ano de conclusão: 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP-São Paulo, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Orientador: Eduardo Purgatto.

FEUSSNER, Ivo; WASTERACK, Claus. THE LIPOXYGENASE PATHWAY. Annual Review of Plant Biology, [S. l.], v. 53, n. 1, p. 275–297, 2002a. ISSN: 1543-5008. DOI: 10.1146/annurev.arplant.53.100301.135248. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100301.135248>.

FEUSSNER, IVO; WASTERACK, CLAUS. The lipoxygenase pathway. Annual Review of Plant Biology, [S. l.], v. 53, n. 1, p. 275–297, 2002b. ISSN: 1543-5008. DOI: 10.1146/annurev.arplant.53.100301.135248. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100301.135248>.

FUSCO, DEBORAH OLIVEIRA. Produção de compostos voláteis característicos do aroma em mamões (Carica papaya cv Golden) tratados com metil-jasmonato e armazenados a baixa temperatura Ano de conclusão: 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP-São Paulo, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Orientador: Eduardo Purgatto.

HJD LALEL, Z. SINGH & SC TAN. O papel do jasmonato de metila no amadurecimento da manga e biossíntese de compostos voláteis do aroma, The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 78: 4, 470-484, DOI: 10.1080 / 14620316.2003.11511652; 2003.

HAORAN LIU FANLIANG MENG HUIYING MIAO SHANSHAN CHEN TINGTING YIN SONGSHEN HU ZHIYONG SHAO YUANYUAN LIU LIUXIAO GAO CHANGQING ZHU BO ZHANG QIAOMEI WANG; Effects of postharvest methyl jasmonate treatment on main health-promoting components and volatile organic compounds in cherry tomato fruits; Key Laboratory of Horticultural Plant Growth, Development and Quality Improvement, Ministry of Agriculture, Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China Zhejiang Provincial Key Laboratory of Horticultural Plant Integrative Biology, Hangzhou 310058, China; Received 14 December 2017, Revised 26 April 2018, Accepted 27 April 2018, Available online 30 April 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.124>

LI, Q., SHEN, J., LI, P. Correlações entre seis fatores de transcrição induzida por hormônio e o gene da álcool aciltransferase na maçã. *J. Plant Biol.* 55, 290-297; 2012. <https://doi.org/10.1007/s12374-011-0261-6>

LI, S.; CHEN, K.; GRIERSON, D. Molecular and Hormonal Mechanisms Regulating Fleshy Fruit Ripening. *Cells* 2021, 10, 1136. <https://doi.org/10.3390/cells10051136>

HAOLUO; WEIWEIHE; DAJINGLI; YIHONGBAO; ASADRIAZ; YADONGXIAO; JIANGFENGSONG; CHUNQUANLIU. Effect of methyl jasmonate on carotenoids biosynthesis in germinated maize kernels; College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China Institute of Agro-product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, Jiangsu, China, Received 30 May 2019, Revised 24 August 2019, Accepted 12 September 2019, Available online 13 September 2019.

HENRY, L. K. Contribution of isopentenyl phosphate to plant terpenoid metabolism. *Nature Plants*, v. 4, p. 721–729, 2018.

KONDO, S.; MATTHEIS, J. Aroma volatile biosynthesis in apples at harvest or after harvest affected by jasmonates. In: (Purvis, AC and McGlasson, WB and Kanlayanarat, S, Org.) PROCEEDINGS OF THE IVTH INTERNATIONAL CONFERENCE ON MANAGING QUALITY IN CHAINS, VOLS 1 AND 2: THE INTEGRATED VIEW ON FRUITS AND VEGETABLES QUALITY 2006, Anais [...]. [s.l: s.n.] p. 381+. ISSN: 0567-7572. ISBN: 90-6605-539-1.

MARCELO BEZERRA LIMA SEBASTIÃO DE OLIVEIRA E SILVA CLÁUDIA FORTES FERREIRA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Mandioca e Fruticultura Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Embrapa), Coleção 500 Perguntas 500 Respostas, Banana, O produtor pergunta, a Embrapa responde, 2ª edição revista e ampliada, Brasília, DF 2012.

MAGALHÃES, HILTON CÉSAR RODRIGUES. Influência hormonal na biossíntese de compostos voláteis associados ao amadurecimento em Tomate (fruto climatérico) e Pimenta (fruto não-climatérico). Ano de conclusão: 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP-São Paulo,. Orientador: Eduardo Purgatto.

MANLI LUOA , XIN ZHOUA , YI HAOB , HUAJUN SUNA, QIAN ZHOUA , YANGYANG SUNA, SHU-JUAN JIA. Methyl jasmonate pretreatment improves aroma quality of cold-stored 'Nanguo' pears by promoting ester biosynthesis, Department of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, PR China b Liao Ning Institute of Pomology, Yingkou 115009, PR China, Food Chemistry, Volume 338, 15 February 2021, 127846

MEYER, A., MIERSCH, O., BÜTTNER, C. *et al.* Occurrence of the plant growth regulator jasmonic acid in plants. *J Plant Growth Regul* 3, 1 (1984). <https://doi.org/10.1007/BF02041987>

MORO, LAÍS. Desenvolvimento de uma bebida a base de uva (*Vitis Labrusca*) naturalmente enriquecida de resveratrol. Ano de conclusão: 2019. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP-São Paulo, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. (Orientador).

MUKKUN, LINCE AND SINGH, ZORA. 2009. Methyl jasmonate plays a role in fruit ripening of 'Pajaro' strawberry through stimulation of ethylene biosynthesis. *Scientia Horticulturae*. 123 (1): pp. 5-10.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST). Atomic Clock Comparison Confirms Key Assumptions of 'Einstein's Elevator', 2018. Disponível: <https://www.nist.gov/news-events/news/2018/06/nist-atomic-clock-compari...>

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. Pubchem, National Center for Biotechnology Information 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD, 20894 USA. Disponível: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

ROBEROBERTT A. CREELMANREELMAN ANDAND ANDAND JOHNOHN E. MULLETULLET. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1997 48:1, 355-381

TAIZ, L.; ZEIGER, E; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6ª Ed., Porto Alegre, Artmed, 2017. TAIZ, L.; ZEIGER, E; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6ª Ed., Porto Alegre, Artmed, 2017.

THE GOOD SCENTS COMPANY (TGSC) INFORMATION SYSTEM. Providing information for the Flavor, Fragrance, Food and Cosmetic industries. 1980-2018, Disponível: <http://www.thegoodscentscompany.com/search2.html>

TREBITSH, T.; GOLDSCHMIDT, E. E.; RIOV, J. Ethylene induces de novo synthesis of chlorophyllase, a chlorophyll degrading enzyme, in Citrus fruit peel. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, [S. l.], v. 90, n. 20, p. 9441 LP – 9445, 1993. DOI: 10.1073/pnas.90.20.9441. Disponível em: <http://www.pnas.org/content/90/20/9441.abstract>.

WANG, JN., KUANG, JF., SHAN, W. Perfis de expressão do gene *MaHIS1* da histona H1 de um ligante de banana e sua interação com um fator de transcrição WRKY. *Plant Cell Rep* 31, 1485–1494; <https://doi.org/10.1007/s00299-012-1263-7>, Abril. 2012.

YING-YING WU; XIAO-FEN LIU; BEI-LING FU; QIU-YUN ZHANG; YANG TONG; JIAN WANG; WEN-QIU WANG; DONALD GRIERSON; XUE-REN YIN. Methyl Jasmonate Enhances Ethylene Synthesis in Kiwifruit by Inducing NAC Genes That Activate ACS1; *J. Agric. Food Chem.* 2020, 68, 10, 3267–3276; <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07379>; Publication Date: February 26, 2020.

YAMAMOTO, R .; MA, G .; ZHANG, L .; HIRAI, M .; YAHATA, M .; YAMAWAKI, K .; SHIMADA, T .; FUJII, H .; ENDO, T .; KATO, M. Effects of Salicylic Acid and Methyl Jasmonate Treatment on Flavonoid and Carotenoid Accumulation in the Juice Sacs of Satsuma Mandarin In Vitro. *Appl. Sci.* 2020 , 10 , 8916. <https://doi.org/10.3390/app10248916>

YU-FAN GUO, YUN-LIANG ZHANG, WEI SHAN, YONG-JIAN CAI, SHU-MIN LIANG, JIAN-YE CHEN, WANG-JIN LU E JIAN-FEI KUANG. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 66 (24), 6142-6150 DOI: 10.1021 / acs.jafc.8b01435; 2018

XIAO-CHEN YIN, SHU-JUAN JI, SHUN-CHANG CHENG, QIAN ZHOU, XIN ZHOU, MAN-LI LUO, MING-JIE MA, MEI-SI HU, BAO-DONG WEI;. Methyl jasmonate alleviates the reduced release of aroma-related esters in ‘Nanguo’ pears by regulating ethylene biosynthesis and signal transduction; <https://doi.org/10.1111/ijfs.14725>; 16 July 2020.

WANLITANG; SHIJIANGZHU; LINGLINGLI; DUJUANLIU; DONALD E.IRVING. Differential expressions of *PR1* and chitinase genes in harvested bananas during ripening, and in response to ethephon, benzothiadizole and methyl jasmonate. Guangdong Province Key Laboratory of Postharvest Physiology and Technology of Fruits and Vegetables, College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, PR China; 8 April 2010.

WUST, M. Biosynthesis of plant-derived odorants. In Springer;Handbook of Odor, 9–10. Cham: Springer International Publishing.; doi: 10.1007/978-3-319-26932-0_2.,Yamaguchi, T., J. Caldwell, and P. B. Farmer; 2017

XIAOFENG YUE,PENGBAO SHI,YALI TANG,HUAIXIN ZHANG,XIN MA,YANLUN JU, ZHENWEN ZHANG. Effects of methyl jasmonate on the monoterpenes of Muscat Hamburg grapes and wine; First published: 06 December 2020; <https://doi.org/10.1002/jsfa.10996>

XU, Y., TIE, W., YAN, Y., XU, B., LIU, J., LI, M. Identification and expression of the BAHD family during development, ripening, and stress response in banana. Mol. Biol. Rep. 48, 1127–1138. doi: 10.1007/s11033-020-06132-9; 2021