



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

NÍCOLAS OLIVEIRA DE ARAÚJO

**INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA À INJURIA DO FRIO EM BANANA PELA
APLICAÇÃO DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO E ÁCIDO SALICÍLICO**

MOSSORÓ/RN

2017

NÍCOLAS OLIVEIRA DE ARAÚJO

**INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA À INJÚRIA DO FRIO EM BANANA PELA
APLICAÇÃO DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO E ÁCIDO SALICÍLICO**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como
requisito para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Vílson Alves de
Góis

Co-orientador: Prof^a Dr. Edna Maria
Mendes Aroucha

MOSSORÓ

2017

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

A658i Araújo, Nicolas Oliveira de.
Indução de tolerância à injúria do frio em banana
pela aplicação do tratamento hidrotérmico e ácido
salicílico / Nicolas Oliveira de Araújo. - 2017.
57 f. : il.

Orientadora: Vilson Alves de Góis.
Coorientadora: Edna Maria Mendes Aroucha.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Agronomia, 2017.

1. Armazenamento refrigerado. 2.
Permeabilidade de membrana. 3. Tempo de
prateleira. 4. Fenólicos totais. I. Góis, Vilson
Alves de , orient. II. Aroucha, Edna Maria
Mendes, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

NÍCOLAS OLIVEIRA DE ARAÚJO

**INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA À INJÚRIA DO FRIO EM BANANA PELA
APLICAÇÃO DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO E ÁCIDO SALICÍLICO**

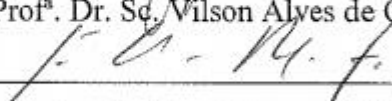
Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como
requisito para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.

Defendida em: 18 /05 / 2017.

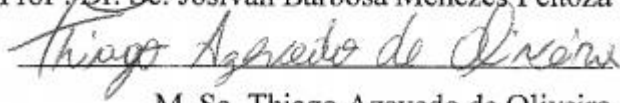
BANCA EXAMINADORA



Profª. Dr. Sc. Vilson Alves de Góis



Profª. Dr. Sc. Josivan Barbosa Menezes Feitoza



M. Sc. Thiago Azevedo de Oliveira

À minha tia, Aládia Tavares (In Memoriam), que durante sua vida terrena sempre torceu por mim e não poupava suas orações pedindo as bênçãos de Deus ao seu sobrinho.

Aos meus pais, Henrique e Raimunda, aos meus irmãos, Bruno e Vitória, e a minha avó, Izaura, por todo carinho e incentivo nessa etapa da minha vida.

Dedico e ofereço.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois diante de sua benevolência infinita pude chegar até aqui;

Ao meu orientador de monografia, Vilson Alves de Góis, pelo apoio, amizade e conhecimento transmitido. Sua sede de conhecimento sempre será fonte de inspiração para mim. Meu sincero agradecimento a você professor!

À minha orientadora de iniciação científica, Edna Maria M. Aroucha, pela amizade e pelos ensinamentos pessoais e profissionais compartilhados, os quais levarei por toda minha vida profissional. A você meu profundo agradecimento.

Aos meus pais pelo carinho, incentivo e apoio incondicional para que este sonho fosse realizado;

Ao professor Josivan Barbosa e ao Eng. Agrônomo Thiago Azevedo por aceitarem o convite para compor a banca examinadora;

À empresa Agrícola Famosa, na pessoa de Bernardo Ehle, por ter cedido gentilmente os frutos para a realização desse experimento;

Ao professor Sérgio Weine P. Chaves pelas sugestões e pela colaboração constante ao longo da minha graduação;

Ao professor Celsemy Euletério Maia, pelos conselhos, críticas e ensinamentos estatísticos indispensáveis para minha formação profissional;

Aos meus amigos de graduação, Ana Carla Rodrigues, Pedro Maurício e Francisco Diorge que sempre me aconselharam e me deram forças para superar os momentos mais difíceis nessa caminhada. Valeu quarteto, a vocês o meu sincero agradecimento;

Ainda aos meus amigos de universidade, Antonio Roberto, Francisco Linco, José Leite Neto, Henrique Campos, Isadora Medeiros e Samylla Melo pelos momentos alegres compartilhados durante esta etapa da minha vida;

Ao amigo Ítalo Arraisque não mediu esforços para me ajudar a conseguir o material analisado nesse trabalho;

Aos companheiros do Laboratório de Tecnologia de Alimentos, em especial à Cristiane Alves de Paiva e Ariel Alves pela amizade e contribuição nas análises do experimento;

Ao técnico, Gustavo Lima de Almeida, pela colaboração nas análises laboratoriais;

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido, minha segunda casa ao qual fui tão bem acolhido, e a seus professores, em especial, aos que pertencem ao Centro de Ciências Agrárias;

Enfim, meus débitos de agradecimento a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha conclusão no curso de Agronomia.

Chamar o especialista em Estatística depois que o experimento foi feito, pode ser o mesmo que pedir a ele para fazer um exame *post mortem*. Talvez ele consiga dizer do que foi que o experimento morreu.

Ronald A. Fisher

RESUMO

O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar a influência da aplicação do tratamento hidrotérmico e do ácido salicílico no alívio das injúrias do frio em banana colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento. Os frutos de banana colhidos com 11 e 13 semanas após emissão da inflorescência (SEI) foram imersos em água à $49\pm 1^\circ\text{C}$ por 10 minutos, em solução de ácido salicílico (1,5mM) por 10 minutos e em água à temperatura ambiente (controle), e posteriormente foram armazenados por três e oito dias a 6°C . Após cada período de armazenamento refrigerado, os frutos foram transferidos para temperatura ambiente (22°C) para simular o *shelf life* e em seguida foram imersos em solução de ethephon 1500 ppm para induzir o amadurecimento. Após oito dias de armazenamento à 6°C mais quatro dias à 22°C , o acúmulo de sólidos solúveis (SS) dos frutos de 13 SEI submetidos ao tratamento controle e tratamento com ácido salicílico foi inferior ao acúmulo de SS dos frutos de 13 SEI submetidos ao tratamento hidrotérmico. O teor de fenólicos totais não mostrou uma relação clara com os níveis dos danos do frio em banana. O aumento do tempo de exposição de três para oito dias à 6°C aumentou os índices de injúria pelo frio durante o *shelf life*. De modo geral, os frutos com 13 SEI se mostraram mais sensíveis ao frio, ao exibirem maior valor de índice de injúria do frio. O tratamento térmico reduziu o sintoma de injúria pelo frio, porém sua eficiência em aumentar a tolerância dos frutos ao frio foi temporária, sendo menos eficiente no frutos armazenados por oito dias a 6°C mais quatro dias a 22°C . O aumento do tempo de exposição ao frio proporcionou maior produção de CO_2 após a transferência dos frutos de 11 SEI para condições ambientes, por outro lado, a respiração em condições ambiente dos frutos colhidos com 13 SEI foi suprimida após oito dias de armazenamento refrigerado, exceto nos frutos submetidos ao tratamento hidrotérmico. O tratamento hidrotérmico reduziu a sensibilidade da membrana celular, evidenciado pelo menor percentual de vazamento de eletrólitos.

Palavras-chave: Armazenamento refrigerado. Permeabilidade de membrana. Tempo de prateleira. Fenólicos totais

ABSTRACT

The experiment was conducted aiming to evaluate the influence of hot water treatment and of salicylic acid on reducing chilling injury symptoms in banana harvested at different stages of development. Banana fruits harvested within 11 to 13 weeks after unfolding of flower (WUF) were immersed in water at $49\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 10 minutes, in salicylic acid (1.5mM) for 10 minutes and in water at room temperature (control), and posteriorly stored for three to eight days at 6°C . After each period of refrigerated storage, fruits were transferred to room temperature (22°C) to simulate the *shelf life* and immersed in 1500ppm ethephon solution to induce ripening. After eight days of storage at 6°C plus four days at 22°C , the accumulation of soluble solids (SS) of fruits of 13 SEI undergone through control and treatment with salicylic acid was lower than the SS accumulation in fruits of 13 SEI undergone through the hot water treatment. Total phenolic content did not present a clear relation with the levels of chilling injury in banana. Increase in exposition time from three to eight days at 6°C increased chilling injury rate during the shelf life. Generally, fruits of 13 SEI presented more sensible to cold temperatures, exhibiting higher values of chilling injury rate. The hot water treatment reduced the symptoms of chilling injury, however its efficiency in increasing the fruit's tolerance to cold was temporary, being less efficient in fruits stored for eight days at 6°C and four days at 22°C . The increase of exposition time to cold temperatures increased CO_2 production after the transfer to room temperature of fruits with 11 SEI, on the other side, the respiration of fruits harvested with 13 SEI drastically decreased in room temperature after eight days of refrigerated storage, except for fruits undergone through the hot water treatment. The hot water treatment reduced the sensibility of cell membrane, evidenced by the lower percentage of electrolytes leakage

.

Keywords: Refrigerated storage. Membrane permeability. Shelf life. Total phenolics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Índice de injúria pelo frio em bananas cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 8 dias de armazenamento refrigerado (6°C) em função dos tratamentos e estádios de desenvolvimento dos frutos.	33
Figura 2 - Respiração dos frutos de banana cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente(22°C) após 3 e 8 dias de armazenamento refrigerado em função dos estádios de desenvolvimento e tratamentos pós-colheita.	34
Figura 3 - Taxa de respiração dos frutos de banana cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente(22°C) após 3 e 8 dias de armazenamento refrigerado em função dos estádios de desenvolvimento e tratamentos pós-coheita.....	37
Figura 4 - Permeabilidade de membrana da casca de frutos de banana cv. 'Willians' em função dos tratamentos pós-colheita.	40
Figura 5 - Luminosidade da casca de banana cv. 'Willians' com 11 SEI (A) e 13 SEI (B) em condições de temperatura ambiente (22°C) após 3 dias de armazenamento refrigerado (6°C).	45
Figura 6 - Luminosidade da casca de bananas cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 8 dias de armazenamento refrigerado (6°C) em função dos tratamentos pós-colheitas e estádios de desenvolvimento dos frutos..	47
Figura 7 - Luminosidade da casca de banana cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 8 dias de armazenamento refrigerado (6°C) em função estádios de desenvolvimento dos frutos.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção e área colhida por país em megatoneladas (Mt) e kilohectares (kha), respectivamente, em 2014.....	15
Tabela 2 - Caracterização dos frutos de banana colhidos com 11 e 13 semanas após a emissão da inflorescência (SEI).	26
Tabela 3 - Índice de injúria pelo frio de frutos de banana cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 3 dias de armazenamento refrigerado à 6°C.....	31
Tabela 4 - Teor de sólidos solúveis (%) de banana cv. 'Willians' em função do tempo de armazenamento (refrigerado+ambiente), tratamentos pós-colheita e estágio de desenvolvimento dos frutos.....	38
Tabela 5 – Teor de fenólicos totais (mg de EAG/100g) na casca da banana cv. 'Willians' em função do tempo de armazenamento (refrigerado+ambiente), tratamentos pós-colheita e estágio de desenvolvimento dos frutos.	42
Tabela 6 - Luminosidade da casca de frutos de banana cv. 'Willians' em função dos tratamentos pós-colheita, estágio de desenvolvimento e tempo de prateleira (22°C) após 3 dias de armazenamento refrigerado (6°C).....	46

Sumário

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Importância da cultura da banana.....	15
2.2.1 Importância da cultura da banana na grande região Jaguaribe-Apodi.	16
2.2 Refrigeração e a fisiologia pós-colheita da banana.....	17
2.3 Injúria pelo frio (<i>chilling injury</i>) em banana.....	18
2.4 Resposta fisiológica e bioquímica às injúrias do frio.....	21
2.4.1 Respiração.....	21
2.4.2 Compostos fenólicos e as reações de escurecimento.....	22
2.4.2 Permeabilidade de Membrana.....	23
2.5 Estratégias para aumentar a tolerância dos frutos às injúrias por frio.....	23
2.5.1 Tratamento hidrotérmico	23
2.5.2 Ácido salicílico	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Índice de injúria pelo frio (CI).....	30
4.1.1 Experimento 01: 3 dias de armazenamento refrigerado à 6°C.....	30
4.1.2 Experimento 02: 8 dias de armazenamento refrigerado à 6°C.....	32
4.2 Respiração	34
4.3 Sólidos solúveis.....	37
4.4 Permeabilidade de membrana	39
4.5 Fenólicos totais	41
4.6 Luminosidade.....	44
4.2.1 Experimento 01: 3 dias de armazenamento refrigerado à 6 °C.....	44
4.2.2 Experimento 02: 8 dias de armazenamento refrigerado à 6°C.....	46
5 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A banana é um dos frutos tropicais mais preferido pela população mundial. Entretanto, a sua comercialização para mercados longínquos é um fator limitante dentro da sua cadeia de produção. Essa limitação se origina da rápida deterioração dos frutos, pois sua alta atividade metabólica, mediada por alteração dos níveis hormonais durante o seu amadurecimento, reduz o tempo de prateleira do produto.

Dentre as técnicas amplamente utilizadas para estender a vida pós-colheita dos produtos agrícolas, o uso da cadeia do frio, durante o transporte e armazenamento, é uma das tecnologias que mais tem mostrado efeito em diminuir o metabolismo celular dos órgãos vegetais. Entretanto, o uso da refrigeração para aumentar a vida útil dos frutos de banana é desafiador, visto que esses frutos se mostram bastante sensíveis ao frio.

Os frutos de banana normalmente armazenados sob temperaturas abaixo de 12 °C desenvolvem sintomas conhecidos como *chilling injury*, ou lesões por frio, que por sua vez compromete a sua qualidade, tornando-o impróprio para comercialização. Entretanto, algumas cultivares, como as pertencentes ao subgrupo Prata, toleram temperaturas mais baixas sem desenvolverem sintomas de injúria pelo frio. Por outro lado, as cultivares pertencentes ao subgrupo Cavendish (Nanicão, Nanica e Willians) são as mais sensíveis à temperatura de refrigeração abaixo de 13°C. Como as cultivares do subgrupo Cavendish são as que possuem maior importância mundial em relação aos demais subgrupos, a sua alta sensibilidade a baixas temperatura constitui num grande obstáculo na logística de exportação ao se fazer uso da cadeia do frio.

Os frutos, de forma geral, são mais sensíveis à baixa temperatura no estágio verde-maturo, sendo que quanto maior o tempo de exposição à temperatura abaixo da crítica mais intensas são as alterações metabólicas dos frutos quando estes são transferidos para temperatura ambiente. Embora na literatura haja muitos trabalhos envolvendo o estudo da injúria pelo frio em banana, escassos são os relatos direcionados para identificar em que estágio de desenvolvimento o fruto da banana é mais susceptível aos danos pelo frio.

Partindo de uma abordagem teórica, os efeitos da refrigeração com temperatura abaixo da crítica podem ser divididos em duas etapas: eventos primários e secundários. Acredita-se que a membrana celular é o local onde se iniciam as desordens fisiológicas

causadas pelo frio, através da peroxidação dos lipídeos de membrana. Os demais eventos subsequentes são caracterizados pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, polimerização dos fenólicos da epiderme dos frutos, amadurecimento anormal da polpa, devido à perda da função dos receptores de etileno, e estimulação da respiração após a transferência do fruto para ambiente não refrigerado.

Vários tratamentos de natureza física e química têm sido estudados para retardar os sintomas das injúrias pelo frio. O tratamento térmico, até o momento, é a tecnologia que mais tem sido empregada para induzir tolerância aos danos pelo frio nos frutos e vegetais. Entretanto, o efeito do tratamento térmico na tolerância dos frutos às injúrias pelo frio pode variar com a temperatura utilizada, o tempo de exposição ao aquecimento, bem como a espécie e a cultivar estudada.

Além do tratamento térmico, algumas substâncias se mostram bastante eficazes na redução da injúria pelo frio. O ácido salicílico, por exemplo, é uma molécula sinalizadora que desempenha importantes funções na regulação dos mecanismos dos vegetais sob condições de estresse. Ela ativa mecanismos responsáveis por reduzir danos causados pelo frio, permitindo, portanto, o armazenamento de frutos à baixa temperatura sem desenvolvimento das injúrias pelo frio. Embora seja conhecido o papel do ácido salicílico em proporcionar aos frutos maior tolerância ao frio, seu efeito é bastante variável a depender da dose utilizada e do estágio de maturação do fruto.

Portanto, diante das informações escassas sobre qual estágio de desenvolvimento os frutos de bananas são mais sensíveis aos danos do frio e quais tratamentos pós-colheita podem mitigar esses danos, objetivou-se avaliar a influência do tratamento térmico e ácido salicílico no alívio das injúrias do frio após o armazenamento refrigerado dos frutos de banana em diferentes estágios de desenvolvimento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da cultura da banana

A bananeira é uma das espécies frutíferas mais cultivada em todo o mundo. Originária da Ásia, atualmente seu cultivo se estende por toda região tropical e subtropical do globo terrestre (SINGH et al., 2016). Em 2014, foram produzidos mundialmente mais de 114,13 Mt de banana, em uma área colhida de 5,39 Mha (FAOSTAT, 2017). Conforme a Tabela 1, entre os cinco principais países produtores de banana, quatro são asiáticos (Índia, China, Filipinas e Indonésia), que sozinhos detêm mais de 50% da produção mundial.

Tabela 1 - Produção e área colhida por país em megatoneladas (Mt) e kilohectares (kha), respectivamente, em 2014.

Países	Produção (Mt)	Área Colhida (kha)
1° Índia	29,725	802,57
2° China	12,091	405,291
3° Filipinas	8,885	442,751
4° Brasil	6,954	478,765
5° Indonésia	6,863	134,070
6° Equador	6,756	182,158
7° Guatemala	3,553	71,218
8° Angola	3,483	126,966
9° Tanzânia	3,192	505,320
10° Costa Rica	2,194	42,841
Outros	60,16	2201,861
TOTAL	114,131	5393,811

Fonte: Elaborado a partir dos dados da FAO (2017).

O Brasil, no cenário global, também se destaca na produção de frutos de banana. De acordo com a Faostat (2017), atualmente, a produção brasileira de banana (6,95 Mt) ocupa a quarta posição no ranking mundial, atrás apenas de países citados anteriormente, como a Índia (29,72 Mt), China (11,79 Mt) e Filipinas (8,88 Mt). A

banana está entre os três frutos brasileiros mais exportados. Em 2013, o Brasil exportou mais de 97,98 kt de banana, entretanto este valor é considerado baixo comparado ao volume de 5 Mt exportado pelo Equador (FAOSTAT, 2017).

Dados mais atualizados mostram redução na quantidade de banana brasileira exportada. De um total de 80,905 kt em 2015, o volume exportado de banana diminuiu para 64,361 kt em 2016, o que representa um decréscimo de 19,64%. De 1997 a 2010, a Argentina foi principal mercado importador da banana brasileira, por outro lado, a partir de 2010, o volume importado pelo mercado argentino diminuiu, sendo, atualmente, o Uruguai o principal importador dos frutos de banana do Brasil (AGROSTAT, 2017).

De acordo com Almeida (1995), a participação da banana brasileira no mercado mundial é insignificante por motivos logísticos e de qualidade do produto. Segundo o autor, o setor brasileiro não se aparelhou para exportar pois vendia apenas para a Argentina e Uruguai, e o mercado interno nunca foi exigente em qualidade do fruto. Para Fioravanço (2003), é preciso desenvolver um programa nacional que outorgue à banana a importância que ela merece, proporcionando ao setor, a construção de estruturas capazes de alcançar altos rendimentos e ofertar frutos de grande qualidade e a preços competitivos.

A nível nacional, conforme dados do Ibge (2017), o Brasil, em 2015, apresentou uma área colhida de 475.976 ha e uma produção de 6,844 Mt de frutos de banana. Seu cultivo ocorre em todos os estados da federação, ganhando destaque o Nordeste e a Bahia como a região e o estado com maior produção nacional, respectivamente (IBGE, 2017). Embora o Nordeste seja o líder em termos de produção, a região Sul supera todos os estados em termos de volume exportado e Santa Catarina se consolida como o maior estado brasileiro exportador de banana (AGROSTAT, 2017).

2.2.1 Importância da cultura da banana na grande região Jaguaribe-Apodi.

¹O cultivo da banana para exportação no Vale do Açu deu início na década de 90 com a instalação da empresa Directivos Agrícola, que por sua vez foi absorvida no início da década de 2000 pela Del Monte Fresh Produce que se encontra até hoje instalada no Vale do Açu. Entretanto, a atividade da bananicultura para exportação nesta região sofreu forte redução da área plantada nos últimos 10 anos, tendo como principais causas, a perda da cultura por problemas de ventos forte e enchentes.

¹ Informação concedida pelo professor Josivan Barbosa Menezes Feitoza – CTARN – UFERSA.

Diante dos problemas ambientais citados, a Dell Monte Fresh Produce reduziu significativamente a área plantada no Vale do Açú e passou a instalar pomares de banana no Distrito Irrigado Jaguaribe-Apodi (DIJA), instalado na Chapada do Apodi, no município de Limoeiro do Norte- CE. O início do cultivo da banana para exportação neste município ocorreu a partir do início dos anos 2000 com a instalação da Banesa, atualmente Tropical Nordeste. Estima-se que a área plantada nesta microregião seja de aproximadamente 700 ha.

Outra microrregião onde a bananicultura assume importância no setor de exportação é o Distrito Irrigado de Tabuleiro de Russas, onde se encontra uma das fazendas da Agrícola Famosa, com área estimada em 180 ha. Atualmente, a expansão da cultura da banana para exportação nesta grande região Jaguaribe-Apodi tem sido fortemente prejudicada pela limitação da água na barragem do Castanhão, que alimenta diretamente tanto o distrito irrigado de Tabuleiro de Russas como o distrito Jaguaribe-Apodi.

2.2 Refrigeração e a fisiologia pós-colheita da banana

Os frutos e hortaliças são sistemas biológicos vivos que estão sujeitos a profundas modificações metabólicas após a sua colheita, e estas alterações acarretam a rápida deterioração dos órgãos vegetais. Diante disso, a manutenção da qualidade dos produtos agrícolas por meio do manuseio cuidadoso e da aplicação de tecnologias adequadas durante sua cadeia de produção requerem o conhecimento básico, sobretudo da estrutura e das alterações fisiológicas que ocorrem durante o seu ciclo vital (PESSÔA, 2010).

Dado as características fisiológicas da banana, sua colheita pode ser realizada quando o fruto atinge a maturidade fisiológica (NANNYONGA et al., 2016), ou seja, na fase em que o fruto atinge seu pleno desenvolvimento sem impedimento ao processo de amadurecimento após a colheita (WATADA et al., 1984). A capacidade dos frutos de banana de completar seu amadurecimento após o seu desligamento da planta-mãe na maturidade fisiológica, a insere no grupo dos frutos tradicionalmente classificados como climatéricos (SEYMOR, 1993).

De acordo com essa classificação, o amadurecimento dos frutos climatéricos resulta do aumento dos níveis de etileno seguido do incremento da respiração durante a maturação, enquanto os não-climatéricos tende a apresentar níveis constantes de

respiração e etileno (OBANDO-ULLOA et al., 2008). Entretanto, essa classificação tem sido avaliada como uma simplificação excessiva diante da complexidade dos processos que regulam o amadurecimento dos frutos (OBANDO et al., 2007; PAUL et al., 2012; BRON; JACOMINO, 2006).

Durante o amadurecimento dos frutos de banana, a interação entre o ácido abscísico e etileno regulam as intensas alterações metabólicas (JIANG et al., 2000; LOHANI et al., 2004) que resultam na perda da clorofila, amaciamento, conversão do amido em açúcares solúveis e formação de compostos aromáticos no fruto (YUAN et al., 2017; HUBBARD et al., 1990). Nesse sentido, quando a produção é destinada sobretudo a mercados longínquos, é necessário fazer uso de tecnologias que reduzam a velocidade das alterações físico-químicas dos frutos e, portanto, aumente a vida útil dos produtos vegetais (JEDERMANN et al., 2014).

Dentre as tecnologias empregadas para retardar o amadurecimento e a senescência dos frutos, a refrigeração é uma tecnologia pós-colheita amplamente utilizada durante o transporte e armazenamento dos órgãos vegetais. De acordo com Pinto e Jorge (2007), o uso da cadeia do frio na preservação de frutas e hortaliças fundamenta-se no fato de que baixas temperaturas retardam a ação dos eventos metabólicos, prolongando o tempo de conservação e a qualidade do produto.

Existe uma relação inversa entre a vida útil dos frutos durante o armazenamento e a sua taxa de produção de calor. Portanto, a diminuição da temperatura dos produtos vegetais logo após a colheita é uma técnica fundamental para reduzir os principais fatores (respiração, produção de etileno e transpiração) que conduzem a rápida deterioração fisiológica dos vegetais (AGUILA, 2009). Contudo, a exposição excessiva a temperaturas muito baixas promove alterações no metabolismo normal dos frutos, acarretando o surgimento de desordens fisiológicas (WHITAKER, 1994). Neste sentido, a temperatura de 12 °C durante o transporte ou armazenamento de banana tem sido avaliada como a temperatura ideal que assegura o não surgimento de desordens fisiológicas causadas pelo frio (MCGLASSON et al., 1979).

2.3 Injúria pelo frio (*chilling injury*) em banana

O armazenamento dos produtos agrícolas à baixa temperatura constitui numa tecnologia amplamente utilizada para retardar o amadurecimento pós-colheita e prolongar a vida útil das frutas e hortaliças (SEVILLANO et al., 2009). Entretanto, a

sensibilidade dos frutos tropicais e subtropicais à baixa temperatura representa um dos principais problemas pós-colheita, que resulta nos sintomas conhecidos como injúria pelo frio (DING et al., 2001).

A banana é um típico exemplo de fruto tropical que não se recomenda o seu armazenamento sob temperaturas abaixo de 12°C, pois sua sensibilidade à baixa temperatura é considerada o maior obstáculo para a logística da cadeia do frio (HE et al., 2017). O distúrbio fisiológico causado pelo uso de temperatura de refrigeração abaixo da crítica gera consequências práticas relacionadas a perdas econômicas, redução da vida útil do produto e maior dependências de produtos importados (JACKMAN et al., 1988). Embora os mecanismos que regulam a injúria pelo frio tenham sido estudados há mais de séculos, até hoje a causa primária e o desenvolvimento dos sintomas permanecem obscuros (LUENGWILAI et al., 2012).

A injúria causada pelo frio difere dos danos causado pelo congelamento, visto que neste último há nucleação dos cristais de gelo (JACKMAN et al., 1988). Em geral, as espécies sensíveis ao frio parecem ter uma resposta semelhante a uma mesma temperatura abaixo da crítica que causa injúria, sendo a temperatura mais comum a situada entre 10 a 12°C (LYON, 1973). Entretanto essa generalização não se aplica a todos os casos, visto que a tolerância ao frio pode variar conforme a origem do produto. Em frutos temperados, como ameixa, nectarina e pêssago, é comum o surgimento dos danos pelo frio em temperaturas mais baixas, situadas entre 0 e 5°C (CRISOSTO et al., 1999), já em frutos subtropicais (limão e uva) e tropicais (banana) as lesões são evidenciadas sob temperatura entre 11,5 e 14°C (KADER; YAHIA, 2011).

Alguns trabalhos relatam que a depender do estágio de maturação, o fruto pode ser mais ou menos sensível à temperatura de refrigeração abaixo da crítica. Em manga (ZHAO et al., 2009; MOHAMMED; BRECHT, 2002), tomate (WHITAKER, 1991; WHITAKER, 1994) e pimenta (LIM et al., 2009), os frutos colhidos em estágio verde-maturo são mais sensíveis ao frio. Entretanto trabalhos que identifiquem o estágio de maturação da banana mais susceptível ao frio são escassos. O estudo realizado por Ahmad et al. (2007) evidenciou que os frutos de banana oriundos de cachos com 10 e 12 semanas após a emissão da inflorescência são mais sensíveis ao frio comparado às bananas de 14 semanas. O cloroplasto é a organela da célula mais sensível ao frio (WHITAKER, 1995) e os danos causado por baixas temperaturas aos cloroplastos através da redução dos galactolipídeos parece estar associado ao desenvolvimento de injúria do frio em frutos verdes-maturo (WHITAKER, 1994).

Conceitualmente, a injúria pelo frio é definida com um distúrbio fisiológico que resulta na redução da qualidade e na perda da utilização do produto vegetal após a sua exposição à temperatura muito baixa, mas não congelante (PARKIN et al., 1989). Raison e Lyon (1986), com objetivo de definir terminologias precisas no estudo das injúrias pelo frio, propuseram que esse distúrbio fisiológico deve ser compreendido sob duas etapas: inicia-se com danos primários que são dependentes da temperatura e são considerados reversíveis, e termina com uma série de eventos secundários irreversíveis que dependem do tempo de exposição do produto ao frio. (RAISON; ORR, 1990; WHITAKER, 1995).

A primeira fase da injúria pelo frio se inicia com a exposição do tecido vegetal a uma temperatura abaixo da temperatura crítica. Provavelmente os danos primários da refrigeração ocorra na membrana celular (ZHANG; TIAN, 2010). Nesta etapa, há alterações na organização da membrana, caracterizado por uma transição da fase de líquido para gel dos lipídios polares da membrana, proporcionando a perda da semi-permeabilidade da membrana (POMYU et al., 2008). Evidências mostram que os danos causados à membrana celular pelo frio podem ser resultado da peroxidação lipídica (WHITAKER, 1995).

O grau integridade da membrana celular e seu estado fluido desempenha um papel crítico na tolerância de frutas e vegetais (AGHDAM et al., 2013; ZHANG; TIAN, 2010). Quanto maior o nível de instauração da membrana, pela maior presença de ácidos graxos insaturados, como o ácido linolênico (18:3), maior o grau de fluidez e a integridade da membrana (AGHDAM et al., 2013). Nesse sentido, a maior proporção entre os níveis de ácido graxo insaturado e ácidos graxos saturados (AGI/AGS) implica em maior tolerância a baixas temperaturas, visto que temperaturas mais baixas serão necessárias para formação do gel (PROMYU et al., 2008).

Os sintomas característicos do *chilling injury* em banana consistem em pontuações necróticas e descolaração da casca, que por sua vez se intensificam com a exposição do fruto à temperatura ambiente (SESTARI, 2010). Como implicação direta da baixa temperatura em banana, a lesão primária da membrana resulta da peroxidação lipídica mediada pela enzima lipoxigenase e o escurecimento decorrente da atividade da polifenol oxidase (PROMYU et al., 2008). Já as lesões secundárias provêm da produção de espécies reativas de oxigênio (H_2O_2 , O_2^- , OH^- , 1O_2) que intensifica a perda da integridade da membrana celular (HUANG et al., 2016; WANG et al., 2013), aumentando a fuga de eletrólitos e a perda das funções das proteínas associada às

membranas, incluindo os receptores de etileno, o que implica em falhas no amadurecimento do fruto (JIANG et al., 2004; KAMDEE et al., 2009).

2.4 Resposta fisiológica e bioquímica às injúrias do frio

2.4.1 Respiração

Temperatura de refrigeração abaixo de cerca 10°C a 12°C, mas acima do ponto de congelamento do tecido, tem sido relatada como a causa de alterações do metabolismo normal dos vegetais (LYONS, 1973). Entre as alterações metabólicas, a atividade respiratória tem sido utilizada como um critério para avaliar os efeitos fisiológicos das injúrias pelo frio (EAKS, 1960). Diversos trabalhos têm mostrado que quanto maior o tempo de exposição à temperatura abaixo do limiar, maior será a taxa respiratória dos produtos agrícolas quando transferidos para temperatura ambiente (CHENG;SHEWFELT, 1988; EAKS;MORRIS, 1956; EAKS, 1960; EAKS;MASIAS, 1965).

Blackman e Parija (1928) apontam três possíveis teorias para explicar o incremento da produção de CO₂ quando o vegetal é transferido para condições ambiente após ser submetido à temperatura abaixo do limiar: alteração na solubilidade do dióxido de carbono; alteração no equilíbrio entre amido e açúcar; e alteração na concentração de compostos intermediários da respiração. Em tomate, o aumento da taxa respiratória foi associado a consequência da necessidade de mais energia para reparar danos celulares causados pelo frio (LUENGWILAI et al., 2012).

Levitt (1980) defende que a respiração anaeróbica prevalece sobre a respiração aeróbica nos produtos agrícolas submetidos a temperaturas muito baixas. Segundo o autor, as reações aeróbicas da respiração são inibidas devido ao funcionamento anormal das membranas mitocondriais causada pela transição da fase de lipídeos de membrana durante a exposição ao frio excessivo. Por outro lado, a fase anaeróbica é estimulada, uma vez que suas reações acontecem livremente no citoplasma, desconectadas da membrana. Esse fenômeno corrobora com o acúmulo de produtos do metabolismo anaeróbico encontrados em banana armazenada a temperatura de 4 e 6°C (MURATA, 1969). Entretanto, estudos com banana (GEMMA et al., 1994; GOLDING et al., 1998; MURATA, 1969) e abacate (EAKS, 1983) sob condições de armazenamento refrigerado abaixo da temperatura limiar seguido da transferência para temperatura

ambiente, não evidenciaram uma tendência clara do aumento da respiração com o incremento do tempo de exposição ao frio.

2.4.2 Compostos fenólicos e as reações de escurecimento

Os frutos de bananas são altamente sensíveis à temperatura de refrigeração ($<13^{\circ}\text{C}$), desenvolvendo sintomas como descoloração da casca e amadurecimento anormal dos frutos (CHEN et al., 2008). O escurecimento induzido por baixas temperatura em banana tem sido associado com a conversão enzimática dos compostos fenólicos para quinonas, que depois se tornam polimerizado não enzimaticamente em pigmentos castanhos (NGUYEN et al., 2003).

A casca dos frutos de banana é particularmente rica em fenóis, como a dopamina, que tende a diminuir sua concentração com o amadurecimento do fruto (BONNET et al., 2013). Os compostos fenólicos são os principais substratos de enzimas como a polifenoloxidase (PPO) e peroxidases (POD), e a atividade dessas enzimas têm mostrado alta correlação com o escurecimento em banana (MAIA et al., 2014). Enquanto as reações oxidativas da PPO ocorre na presença de O_2 e com maior intensidade em temperatura ambiente, as reações da POD se dá na presença de H_2O_2 principalmente durante a exposição à temperatura muito baixa. (POURCEL et al., 2007; RAIMBAULT et al., 2011). Em tecido íntegros a enzima e o substrato permanecem em compartimentos separados (VAUGHN;DUKE, 1984), contudo, com a perda da integridade da membrana causado pela injúria do frio facilita a reação entre as enzimas oxiredutivas e seu substrato (PÉREZ-TELLO et al., 2001).

A exposição de frutos de banana a temperaturas muito baixa parece ativar uma enzima chave do metabolismo secundário dos produtos agrícolas, chamada fenil alanina amônia-liase (CHEN et al., 2008; WANG et al., 2007). Esta enzima catalisa a conversão da fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico, passo inicial para a biossíntese de diversos metabólitos secundários, incluindo as ligninas, fitoalexinas e flavonoides fenilpropanóides.

Cheng et al (2008) têm evidenciado o aumento da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) em frutos de banana sob condições excessiva de frio. Conforme os autores, o aumento da FAL desempenha papel importante nos frutos ao conferir resistência às injúrias do frio através do acúmulo de fenóis. Entretanto as informações presentes na literatura sobre o papel da FAL e o acúmulo de fenóis em promover

tolerância às injúrias do frio são ainda limitadas e conflitantes. Nguyen et al (2003) e Nguyen et al (2004) encontraram correlação inversa entre a atividade da FAL e a síntese de compostos fenólicos na casca de banana armazenada sob temperatura refrigerada ($\leq 10^{\circ}\text{C}$). Em romã, o tratamento que propiciou maior tolerância à injúria do frio foi associado à baixa atividade da FAL (SAYYARI et al., 2009) enquanto em manga, não foi encontrado nenhuma tendência clara entre a atividade da FAL e a síntese de fenólicos na casca, nem correlação entre os fenóis e o escurecimento da casca (CHIDTRAGOOL et al., 2011).

2.4.2 Permeabilidade de Membrana

Acredita-se que o sintoma primário da injúria do frio ocorre nas biomembranas celulares. De acordo com a teoria de Lyons (1973), sob condições de temperatura abaixo do limiar dos vegetais, a biomembrana perde a sua permeabilidade ao passar de uma estrutura cristalina líquida para uma estrutura sólida de gel. Entretanto, pesquisas têm mostrado que as alterações nas membranas acontecem em um pequeno percentual de lipídeos (2-5%), contudo essa mudança é considerada alta para espécies sensíveis ao frio (RAISON; ORR, 1986).

Entre outros fatores que contribuem para a perda da permeabilidade da membrana, pode ser destacado a peroxidação de ácidos graxos da membrana celular mediadas por enzimas como a lipoxigenase e por ação direta dos radicais livres produzidos em tecidos vegetais sensíveis ao frio. Nesse sentido, a desestabilização da membrana causa vazamentos de água, íons e metabólitos que pode ser determinado pela fuga de eletrólitos, medido através da condutividade elétrica (SALTVEIT, 2002). O vazamento de eletrólitos tem sido reportado em diversos frutos como um método para avaliar a intensidade das injúrias pelo frio, e sua adoção em estudos com banana se mostrou uma metodologia eficaz para identificar o seu nível de suscetibilidade aos danos por frio (JIANG et al., 2004; LI et al, 2015; WANG et al., 2013).

2.5 Estratégias para aumentar a tolerância dos frutos às injúrias por frio

2.5.1 Tratamento hidrotérmico

Várias técnicas de natureza física e química têm sido empregadas nos tecidos vegetais com objetivo de retardar, aliviar ou reduzir as injúrias causada pelo frio. O tratamento térmico é, sem dúvidas, o tratamento físico mais estudado na indução à tolerância dos produtos agrícolas ao frio (PROMYOU et al., 2008; AGHDAM et al., 2013). Pode ser aplicado na forma de imersão do fruto em água aquecida, através da exposição ao ar quente ou por meio de uma lavagem curta em água quente com escovação (LURIE;PEDRESCHI, 2014).

O aumento da tolerância dos frutos às injúrias pelo frio obtido pela aplicação do tratamento térmico, possibilita o armazenamento do produto sob temperaturas ainda mais baixas. O possível mecanismo do aquecimento sobre o alívio das injúrias pelo frio parece estar relacionado ao aumento da produção de um grupo particular de proteínas, denominadas de proteínas de choque térmico (AGHDAM et al., 2013). A resposta ao choque térmico resulta principalmente da alteração do ambiente oxidado/redutor, dos níveis de íons e da presença de proteínas desnaturadas termicamente (BRODL, 1990).

Em banana, vários estudos têm mostrado a influência do tratamento térmico sobre a redução dos sintomas da injúria pelo frio. O tratamento térmico parece aliviar os sintomas de *chilling injury* em banana por meio da indução da síntese de proteínas de choque térmico (HE et al., 2012), aumento da proporção entre os ácidos graxos insaturados e saturados (PROMYOU et al., 2008), incremento na atividade da fenilalanina amônia-liase (CHEN et al., 2008) e aumento do sistema antioxidante do fruto (UMMARAT et al., 2011). Contudo, as informações contidas na literatura sobre a variação da eficiência da aplicação do tratamento térmico conforme os estádios de maturação da banana ainda são limitadas.

2.5.2 Ácido salicílico

O ácido salicílico (AS) consiste num composto fenólico natural e seguro, produzido pelos vegetais, que participa de uma gama de respostas metabólicas, funcionando como uma molécula sinalizadora de múltiplos modos de resistência tanto a estresse biótico como abiótico (ASGHARI;AGHDAM, 2010). Sua aplicação na pós-colheita de frutas e hortaliças tem mostrado benefícios ao suprimir a síntese de etileno e o desenvolvimento de podridões (BABALAR et al., 2007). Em banana, a aplicação do ácido salicílico na concentração de 500 e 1000 μM resultou no atraso da maturação dos

frutos ao diminuir a taxa respiratória e a atividade de enzimas que aceleram o amadurecimento dos produtos vegetais (SRIVASTAVA;DWIVEDI, 2000).

Mais recentemente, estudos têm demonstrado que a aplicação exógena do AS pode ser promissor no alívio dos sintomas de injúria pelo frio em frutos sensíveis à baixa temperatura, como limão (SUPAPVANICH et al., 2015), tomate (AGHDAM et al., 2014), romã (SAYYARI et al., 2009) e abacaxi (LU et al., 2010). As informações sobre a influência do AS no alívio dos sintomas das injúrias pelo frio ainda são escassas em frutos de banana. Contudo, a aplicação de 0,5 mM em plântulas de bananeira tem proporcionado menor deterioração na ultraestrutura celular do vegetal em condições de 7 °C, portanto conferindo maior proteção ao frio (KANG et al., 2007).

Entre os principais mecanismos induzidos pelo AS, a diminuição da atividade da fosfolipase D, lipoxigenase e conteúdo de malonaldeído, bem como o aumento do conteúdo de prolina parece estar relacionado com a tolerância de tomates ao frio (AGHDAM et al., 2014). No entanto, a magnitude da resposta do vegetal à aplicação do AS varia com o estágio de maturação (Ding e Wang, 2003), a espécie (KOGEL;LANGEN, 2005) e a dose utilizada (AGHDAM et al., 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de banana (*Musa accuminata* cv. 'Willians') foram colhidos com 11 e 13 semanas após a emissão da inflorescência (SEI) no pomar comercial da empresa Agrícola Famosa, localizado no município de Russas-CE. Após a colheita dos chachos, foram feitas a despenca e imersão dos frutos em solução de sulfato de magnésio (1%). Em seguida, após a secagem dos frutos, os mesmos foram transportados imediatamente para o laboratório de Tecnologia de Alimentos, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da UFERSA, Mossoró, RN.

No laboratório, os frutos foram separados em dois grupos (11 e 13 SEI) onde foram realizadas a seleção, eliminando-se aqueles com defeitos mecânicos, e a caracterização dos frutos em cada estágio de desenvolvimento (Tabela 2). A separação das mãos em buquês foi feita e em seguida procedeu-se com a lavagem dos frutos em solução de hipoclorito de sódio (150 ppm) por 5 minutos. No dia seguinte foi realizada a imersão dos frutos em solução de fungicida Sportak® (Prochloraz) na concentração de 300 µL.L⁻¹ durante 5 minutos, com o intuito de controlar podridões fúngicas que pudessem dificultar a avaliação visual dos sintomas da injúria do frio. Posteriormente foi realizado a casualização das amostras experimentais dentro de cada estágio de maturação para em seguida proceder a aplicação dos tratamentos.

Tabela 2 - Caracterização dos frutos de banana colhidos com 11 e 13 semanas após a emissão da inflorescência (SEI).

Estádios de desenvolvimento	Diâmetro (mm)	Luminosidade (0-100)	Ângulo hue (0-360)	Sólidos Solúveis (%)
11 SEI	*42,65±0,085	58,93±0,264	110,37±0,083	3,3±0,073
13 SEI	39,90±0,134	61,47±0,161	109,67±0,109	4,07±0,012

*Valor médio±erro padrão.

Em cada grupo que constitui os estágios de desenvolvimento dos frutos (11 e 13 SEI), as bananas foram novamente separadas em três grupos. O primeiro grupo foi constituído pelos frutos imersos em água aquecida a uma temperatura de 49±1 °C por 10 minutos; no segundo grupo, os frutos foram imersos em solução 1,5 mM de ácido salicílico a 25 °C durante 10 minutos; e o terceiro grupo constituiu dos frutos imersos

apenas em água, sem aplicação do tratamento térmico e ácido salicílico (controle). Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram deixados secar em temperatura ambiente por 2 horas.

As bananas foram submetidas ao armazenamento refrigerado em câmara fria a uma temperatura de 6 °C e 92 % de umidade relativa (UR) durante três e oito dias. Ao final de cada período de armazenamento refrigerado (três e oito dias), para simular a vida de prateleira dos frutos, parte das unidades amostrais foram retiradas da câmara fria e expostas à temperatura de 22 °C e 70% de UR durante quatro dias, onde foram imersos em solução 1500 ppm de ethephon durante 5 minutos para induzir o amadurecimento.

Durante os quatro dias em temperatura ambiente (22 °C) foram determinados os parâmetros de cor luminosidade e respiração. Ao final da vida de prateleira (quatro dias à 22 °C), após ambos tempos de armazenamento refrigerado, foram realizadas as análises de sólidos solúveis e fenólicos totais, sendo que a permeabilidade de membrana foi realizada apenas ao final do *shelf life*, após oito dias de armazenamento refrigerado.

a) Coloração do fruto: a cor superficial dos frutos foi mensurada usando o colorímetro Minolta CR-300, determinando-se o parâmetro de cor luminosidade (L^*) em pontos da região equatorial do fruto. ($L^* - 0$ = escuro e 100 = branco).

b) Respiração: a quantificação de CO_2 liberado pela banana foi determinada pelo acondicionamento em recipientes hermeticamente fechado, conforme a adaptada metodologia de Isemeyer (1952). Para isso pesou-se aproximadamente 500 gramas de frutos, os quais foram dispostos em recipientes hermeticamente fechados durante 3 horas contendo 40 mL de NaOH (0,5 N) para capturar o CO_2 liberado. Também se determinou o CO_2 presente no recipiente preparado sem frutos, denominando de prova em branco. Utilizou-se coolers em cada recipiente para acelerar o contato do CO_2 com o NaOH. Após o período de incubação, procedeu-se com a quantificação da massa do CO_2 através da titulação da solução de NaOH, contendo de duas a três gotas de fenolftaleína, com HCl (0,5 N). No ponto de viragem (rosa-incolor), registrou-se o volume gasto de HCl e em seguida adicionou-se quatro a cinco gotas do indicador misto (0,1% de verde de bromocresol mais 0,1% de vermelho de metila) para realizar novamente a titulação com HCl (0,5 N) até a solução mudar da cor verde para vermelho. Para determinar a massa de CO_2 usou-se a seguinte fórmula:

$$CO_2(g) = (MM_{CO_2} \cdot [HCl] \cdot f_{HCl} \cdot V_{misto}) - m_{CO_2}$$

Onde:

MM_{CO_2} =massa molecular do CO_2 em gramas/mol

$[HCl]$ = concentração de HCl em mol/L

f_{HCl} = fator de correção do HCl

V_{misto} = volume gasto de HCl usando o indicador misto

m_{CO_2} = massa de CO_2 da prova em branco

c) Índice de injúria: foi determinado logo após a retirada dos frutos da câmara fria e ao final do tempo de prateleira seguindo a metodologia descrita por Promyou et al. (2008). A severidade dos danos do frio foi avaliada visualmente através da escala: 1= ausência de injúria pelo frio; 2= 1-20% da superfície com injúria pelo frio; 3= 21-50% da superfície com injúria pelo frio; 4= 51-80% da superfície com injúria pelo frio; 5= 81-100% da superfície com injúria pelo frio.

d) Sólidos solúveis: determinado em refratômetro digital da marca Tecnal, a partir da polpa da banana processada, homogeneizada e filtrada em tecido de nylon, sendo os dados expresso em %.

e) Fenólicos totais: foi determinado conforme o método descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999) utilizando o reagente Folin-Ciocalteu com algumas adaptações. Aproximadamente, 1g da casca da banana foi pesado e colocado em erlenmeyer com aproximadamente 40 mL de metanol, deixando sob agitação em mesa agitadora orbital por 1h a 260 rpm. A solução foi filtrada em papel de filtro qualitativo e aferida em balão volumétrico de 50 mL. Desta solução (0,02g/mL), foi retirada uma alíquota de 0,5 mL e misturada com 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após cinco minutos, adicionou-se 2 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3 , 75 g/L) e a solução foi deixado em repouso por duas horas. A absorbância foi medida em espectrofotômetro Gehaka modelo UV-340G com comprimento de onda de 760 nm, usando como branco o metanol. Para os cálculos de fenólicos totais, utilizou-se uma curva padrão de ácido gálico (20 a 200 mg/L), os resultados foram expressos em mg equivalente ácido gálico (EAG)/100g de amostra.

f) Vazamento de eletrólitos: determinado conforme a metodologia de Vieira Santos et al. (2011). Aproximadamente 6 a 8 discos da casca da banana foram lavados três vezes em água destilada e acondicionados em erlenmeyer contendo 50 mL da solução 0,4M de manitol e em seguida foram submetidos a agitação moderada por 3 horas, quando então foi medida a condutividade elétrica da solução (L_1). Os

erelenmeyer contendo a solução foi congelada por 18 horas e após descongelada mediu-se novamente a condutividade elétrica a 25 °C (L_2). O vazamento de eletrólitos foi calculado a partir da seguinte fórmula:

$$VE = \left(\frac{L_2 - L_1}{L_2} \right) * 100$$

Para análise de coloração dos frutos, optou-se por analisar os tempos de armazenamento refrigerado (três e oito dias) como experimentos distintos, assim adotou-se o delineamento inteiramente causalizado, com 9 repetições, em esquema de parcela subdividida, tendo nas parcelas o fatorial dois estádios de desenvolvimento (11 e 13 SEI) x três tratamentos (controle, ácido salicílico e hidrotérmico), e na subparcela o tempo de prateleira (0, 1, 2, 3 e 4 dias). Para os dados de respiração, utilizou-se análise descritiva.

Para as variáveis como sólidos solúveis e fenólicos totais, adotou-se o delineamento inteiramente causalizado (DIC), em esquema de parcela subdividida, tendo nas parcelas o fatorial dois estádios de desenvolvimento (11 e 13 SEI) x três tratamentos (controle, ácido salicílico e hidrotérmico) e na subparcela o tempo de armazenamento refrigerado (três e oito dias). Para a variável vazamento de eletrólitos, adotou-se o DIC, em esquema fatorial 2x3, sendo dois estádios de desenvolvimento e três tratamentos, com quatro repetições. De posse dos dados, esses foram submetidos a ANOVA pelo *software* estatístico Sisvar 5.6 (Ferreira, 2011). Verificada significância das interações, realizou-se os desdobramentos e comparou-se as médias dos estádios de desenvolvimento e tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Índice de injúria pelo frio (CI)

4.1.1 Experimento 01: 3 dias de armazenamento refrigerado à 6°C

Houve efeito isolado dos tratamentos, estádios de desenvolvimento e tempo de prateleira para o índice de injúria do frio (CI) determinado em condições ambientes (22°C) após 3 dias de armazenamento refrigerado à 6°C (Anexo A).

Todos os frutos, independentemente dos tratamentos aplicados, desenvolveram sintomas de injúria do frio, manifestado pelo escurecimento da superfície da casca, após 3 dias de armazenamento refrigerado, porém, a aplicação do ácido salicílico e o tratamento hidrotérmico reduziram significativamente o desenvolvimento dos sintomas (Tabela 3).

O nível de escurecimento nos frutos controle foi 26,77% mais elevado que os frutos condicionados em água a 49 °C durante 10 minutos. Do mesmo modo, a aplicação do ácido salicílico também reduziu a severidade dos sintomas de injúria pelo frio, de modo que o valor médio do CI foi 9,58% inferior aos valores obtidos nos frutos controle (Tabela 3). Esses resultados sugerem que o tratamento hidrotérmico ou o ácido salicílico são tecnologias pós-colheita capazes de reduzir as lesões do frio após armazenamento refrigerado curto.

O tratamento hidrotérmico e a aplicação do ácido salicílico têm sido relatados como tecnologias pós-colheitas eficazes no alívio das injúrias do frio (WU et al., 2011; HUAJAIKAEW et al., 2005; SUPAPVANICH et al., 2015; AGHDAM et al., 2014). Em banana, a indução da tolerância ao frio com a aplicação do tratamento térmico é atribuída ao aumento da atividade da FAL e impedimento do vazamento de eletrólitos e de malonaldeído (CHEN et al., 2008). Outros estudos evidenciam que a aplicação do tratamento térmico na banana diminui a sensibilidade ao frio excessivo por meio da indução da síntese de proteínas de choque térmico (HE et al., 2012), aumento da proporção entre os ácidos graxos insaturados e saturados (PROMYOU et al., 2008) e aumento do sistema antioxidante do fruto (UMMARAT et al., 2011). Por outro lado, em relação ao ácido salicílico, este é o primeiro trabalho que evidencia o potencial dessa substância em reduzir as injúrias do frio em banana. Possivelmente, o mecanismo de

redução dos sintomas em banana pode ser semelhante ao evidenciado em tomate, que foi associado a diminuição de fosfolipase D, lipoxigenase, conteúdo de malonaldeído, bem como aumento do teor de prolina (AGHDAM et al, 2014).

Tabela 3 - Índice de injúria pelo frio de frutos de banana cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 3 dias de armazenamento refrigerado à 6°C.

Níveis dos Fatores	Índice de Injúria (0-5)
Controle	*3,13 a
Ácido Salicílico	2,83 b
Hidrotérmico	2,47 c
11 SEI	2,15 b
13 SEI	3,13 a
3+0	2,61 b
3+4	3,02 a

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Em relação ao estágio de desenvolvimento, os frutos com estágio de maturação mais avançado (13 SEI) foram mais sensíveis ao frio, apresentando CI 1,25 vezes maior que os frutos colhidos com 11 SEI (Tabela 3). Na grande maioria das espécies frutíferas, a sensibilidade dos frutos ao frio é maior no estágio verde-maturo, como manga (ZHAO et al., 2009; MOHAMMED;BRECHT, 2002), tomate (WHITAKER, 1991; WHITAKER, 1994), pimenta (LIM et al., 2009) e abacate (WU et al., 2011). Por outro lado, esse fenômeno não é observado em todos os frutos. Algumas exceções como frutos de maçã 'Jonathan' (BLANPIED, 1991) e mangostão (DANGCHAM;KETSA, 2007), a susceptibilidade ao frio se dá em estádios de maturação mais avançado.

Em relação à sensibilidade ao frio nos frutos de banana, os relatos presentes na literatura ainda são contrastantes e escassos. Ahmad et al., (2007) verificaram que bananas colhidas com 10 e 12 SEI eram mais sensíveis ao frio comparado as colhidas com 14 SEI. Em contraste, Hashim et al., (2014) reportam que a sensibilidade dos frutos de bananas ao frio se intensifica em estádios de maturação mais avançado.

O tempo de exposição do fruto a temperatura ambiente após o armazenamento refrigerado também é um fator que influencia no grau de severidade da injúria do frio. Conforme a Tabela 1, logo após a retirada dos frutos da câmara fria para condições

ambiente à 22°C (3+0 dias) o CI foi de 2,61 (Tabela 3). Por outro lado, ao fim do *shelf life* (3+4 dias), houve aumento de 15,71% na escala de lesão dos danos do frio, o que demonstra que a injúria pelo frio se intensifica durante a exposição dos frutos a condições de temperatura ambiente. A intensificação dos sintomas de injúria pelo frio em temperatura ambiente, após o armazenamento refrigerado, parece estar associada a estimulação da síntese de etileno a partir de metabólitos acumulados durante o armazenamento refrigerado (SESTARI, 2010; LEDERMAN et al., 1997).

4.1.2 Experimento 02: 8 dias de armazenamento refrigerado à 6°C

Em relação aos frutos condicionados à 22°C após 8 dias de armazenamento refrigerado (6°C), o CI dependeu da interação entre estádios de desenvolvimento e tratamentos pós-colheita estudados (Anexo A). Os sintomas de injúria pelo frio nos frutos controle colhidos com 13 SEI foi consideravelmente mais intenso comparados aos frutos controle colhidos com 11 SEI (Figura 1). Nesse sentido, também sob condições de armazenamento prolongado à temperatura de 6°C, os frutos do tratamento controle colhidos em estágio de maturação mais avançado apresentaram maior sensibilidade à exposição prolongada ao frio, comparado aos frutos menos maduro.

Nos frutos submetidos ao tratamento térmico e ao ácido salicílico, a incidência dos sintomas de injúria pelo frio foram estatisticamente iguais entre os dois estádios de desenvolvimento (Figura 1). Portanto, esses resultados sugerem que a aplicação do ácido salicílico e do tratamento térmico foi fundamental para diminuir a diferença na sensibilidade ao frio dos frutos de 11 e 13 SEI.

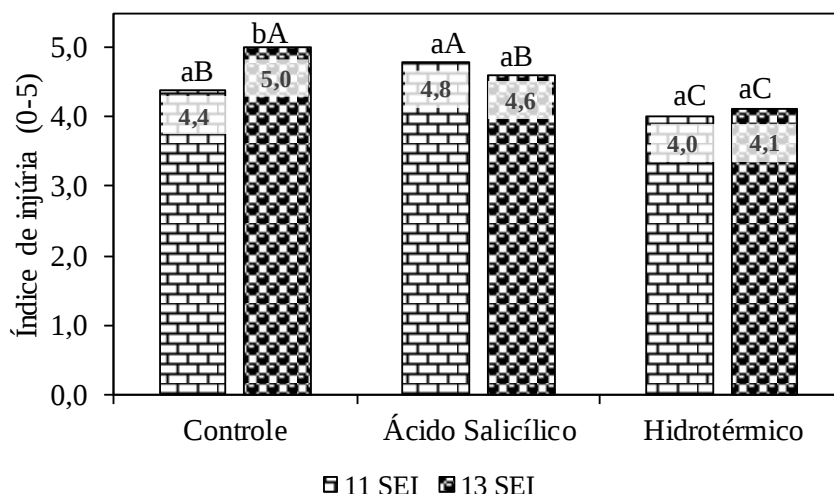


Figura 1 - Índice de injúria pelo frio em bananas cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 8 dias de armazenamento refrigerado (6°C) em função dos tratamentos e estádios de desenvolvimento dos frutos. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Letras minúsculas comparam os estádios de desenvolvimento dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada estágio de desenvolvimento

Por outro lado, comparando os tratamentos dentro de cada estágio de desenvolvimento, verifica-se que nos frutos colhidos com 11 SEI, a aplicação do ácido salicílico não foi eficiente em aliviar os sintomas dos danos do frio, diferentemente da aplicação do tratamento térmico que reduziu em 8,88 % a incidência das injúrias do frio em comparação aos frutos controle (Figura 1). Entretanto, nos frutos colhidos em estágio mais avançado de amadurecimento (13 SEI), tanto as aplicações do tratamento hidrotérmico como do ácido salicílico foram eficientes no aumento da tolerância dos frutos à refrigeração por 8 dias, reduzindo em 17,8 e 7,8%, respectivamente, a incidência de injúria do frio em relação aos frutos controle (Figura 1). Nesse sentido, fica evidente que a imersão dos frutos em água sob temperatura de 49°C durante 10 minutos foi satisfatório ao aliviar os sintomas de injúria do frio em ambos estádios de desenvolvimento. Contudo, a concentração de 1,5 mM de ácido salicílico usada parece ter sido eficiente em reduzir os sintomas apenas nos frutos colhidos com maturação mais avançada, de modo que sua aplicação nos frutos de 11 SEI favoreceu o desenvolvimento dos sintomas de danos pelo frio. Esses resultados corroboram com os encontrados por Ding e Wang (2013), os quais verificaram que a resposta da aplicação do ácido salicílico varia conforme o estágio de maturação dos frutos de tomate.

4.2 Respiração

A diferença entre os estádios de desenvolvimento bem como o tempo de exposição ao frio e os tratamentos aplicados causaram alterações nas taxas respiratórias dos frutos de banana armazenados em condições ambientes. De maneira geral, a produção de CO_2 acumulada durante o amadurecimento à 22°C aumentou até o final dos 4 dias do *shelf life* para ambos tempos de armazenamento refrigerado (3 e 8 dias). Por outro lado, a diferença da produção acumulada de CO_2 foi bastante evidente entre os estádios de desenvolvimento (Figura 2). Ao final do período de *shelf life* à 22°C , após 3 dias de exposição ao frio, independentemente dos tratamentos pós-colheita, os frutos colhidos com estágio de maturação mais avançado (13 SEI) apresentaram as maiores taxas acumuladas de CO_2 ($\approx 790 \text{ mg CO}_2 \text{ kg.h}^{-1}$) em relação ao valor máximo ($\approx 619 \text{ mg CO}_2 \text{ kg.h}^{-1}$) obtido pelos frutos colhidos mais precocemente (11 SEI) (Figura 2).

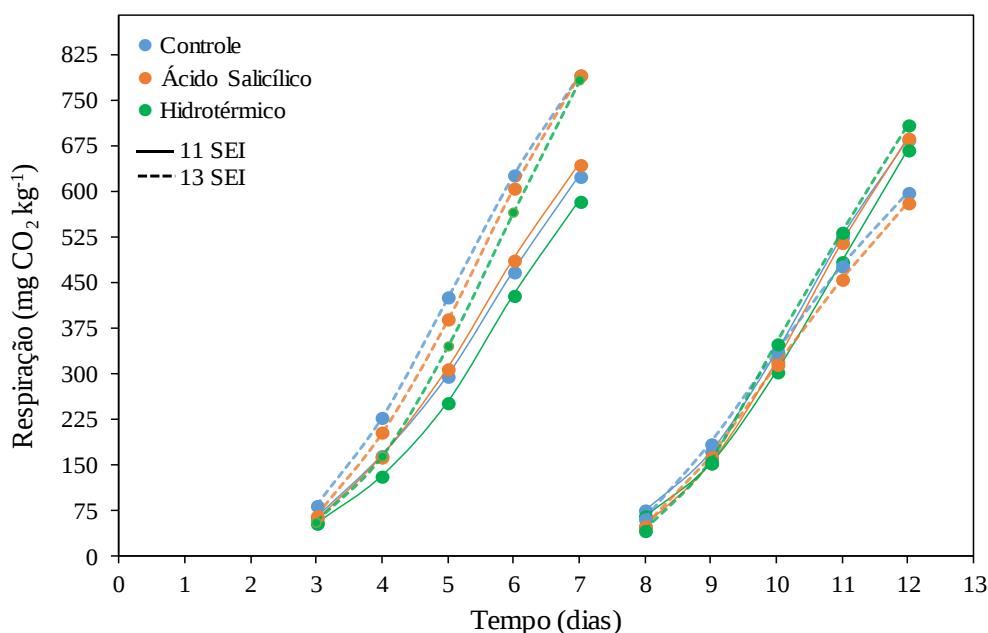


Figura 2 - Respiração dos frutos de banana cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 3 e 8 dias de armazenamento refrigerado em função dos estádios de desenvolvimento e tratamentos pós-colheita.

O etileno tem sido relatado com uma substância importante que regula a respiração dos frutos climatéricos (SEYMOR, 1983). Portanto, o menor nível de respiração dos frutos colhidos com estágio de maturação mais precoce pode estar

relacionado a menor sensibilidade desses frutos ao etileno, visto que o número de receptores presentes em seus tecidos é menor (YANG, 1985). Em pêsego, os níveis mais baixos de respiração observados nos frutos colhidos precocemente têm sido atribuídos a menor quantidade de substrato para respiração (PÉREZ-LÓPEZ et al., 2014).

Por outro lado, após o armazenamento refrigerado por 8 dias, a respiração à 22°C dos frutos colhidos com 13 SEI foi profundamente afetada ao exibir valores inferiores aos dos frutos colhido com 11 SEI em todos tratamentos estudados, com exceção dos frutos de 13 SEI aquecidos à 49°C, os quais apresentaram uma produção de CO₂ semelhantes aos frutos de 11 SEI (Figura 2).

Comparando o efeito do tempo de exposição ao frio nos frutos colhidos com 11 SEI, verifica-se que a taxas absolutas obtidas ao final do *shelf life* foi superior nos frutos após 8 dias de armazenamento refrigerado, em comparação ao armazenamento refrigerado por 3 dias (Figura 2). Nos frutos colhidos com 11 SEI, os valores de respiração obtidos ao final dos 7 dias (3+4) foram de aproximadamente 626, 665 e 585 mg CO₂ kg.h⁻¹, enquanto que ao final dos 12 dias (8+4), verificou-se valores em torno de 685, 687 e 668 mg CO₂ kg.h⁻¹ para os frutos submetidos ao tratamento controle, ácido salicílico e hidrotérmico, respectivamente (Figura 2). Esses resultados sugerem que o aumento do tempo de exposição ao frio aumentou as taxas respiratórias dos frutos colhidos com 11 SEI, sendo evidenciado maior acréscimo nos frutos submetidos ao tratamento hidrotérmico, porém esse tratamento proporcionou os menores valores das taxas de respiração entre os tratamentos aplicados.

A correlação positiva entre o tempo de exposição ao frio excessivo e a taxa respiratória tem sido avaliada como uma das causas das injúrias do frio (CHENG;SHEWFELT, 1988; EAKS, 1960; EAKS;MASIAS, 1965). Eaks e Morris (1956) reportam que a exposição de pepinos ao frio excessivo por 8 dias, em comparação a exposição por 4 dias, propiciou maior pico de respiração quando transferidos para condições de temperatura ambiente. O acúmulo de compostos oxidáveis tem sido a hipótese mais usada para explicar esse fenômeno (EAKS, 1980; CHENG;SHEWFELT, 1988; SALTVEIT, 2000). Outra hipótese que pode ser atribuída a esse fenômeno está relacionada ao papel do ortofosfato (Pi) na respiração. Como, o acúmulo do Pi se dá no vacúolo, a perda da seletividade da membrana da organela causada pela exposição ao frio excessivo, propicia o vazamento do Pi para o citosol. O

transporte do Pi do vacúolo para o citoplasma pode ser uma das causas do aumento da respiração devido a estimulação da enzima fosfofrutoquinase.

Por outro lado, nos frutos com 13 SEI, o prolongamento do tempo de exposição ao frio por 8 dias exerceu forte influência na respiração, resultando em valores inferiores ao obtidos durante o armazenamento refrigerado por 3 dias. Os valores obtidos ao final dos 12 dias (8+4) nos frutos colhidos com 13 SEI e submetidos ao tratamento controle, ácido salicílico e hidrotérmico foram 24,55 %, 26,64 %, e 9,49 % inferior, respectivamente, aos valores obtidos ao final dos 7 dias (3+4) de armazenamento (Figura 2). Esses resultados indicam que o aquecimento à 49°C dos frutos com 13 SEI parece ter aliviado os danos ao aparelho respiratório, mantendo as taxas mais ou menos em níveis normais, possivelmente para metabolizar os compostos tóxicos do metabolismo anaeróbico acumulados durante o armazenamento sob temperatura abaixo da crítica (EAKS, 1980; MURATA, 1969).

Em relação a taxa de respiração à 22°C, verifica-se que sob menor tempo de exposição ao frio (3 dias), o climatério respiratório ocorreu no terceiro dia de *shelf life*, independentemente do estágio de maturação e tratamentos aplicados (Figura 3). Entretanto, após 8 dias de armazenamento refrigerado, houve diferença no tempo necessário para atingir o climatério respiratório entre os estágios de maturação. Os frutos colhidos com 13 SEI tiveram o climatério respiratório antecipado, ocorrendo no segundo dia de *shelf life*, enquanto o pico climatério dos frutos colhidos com 11 SEI foi observado no terceiro dia de armazenamento à 22°C.

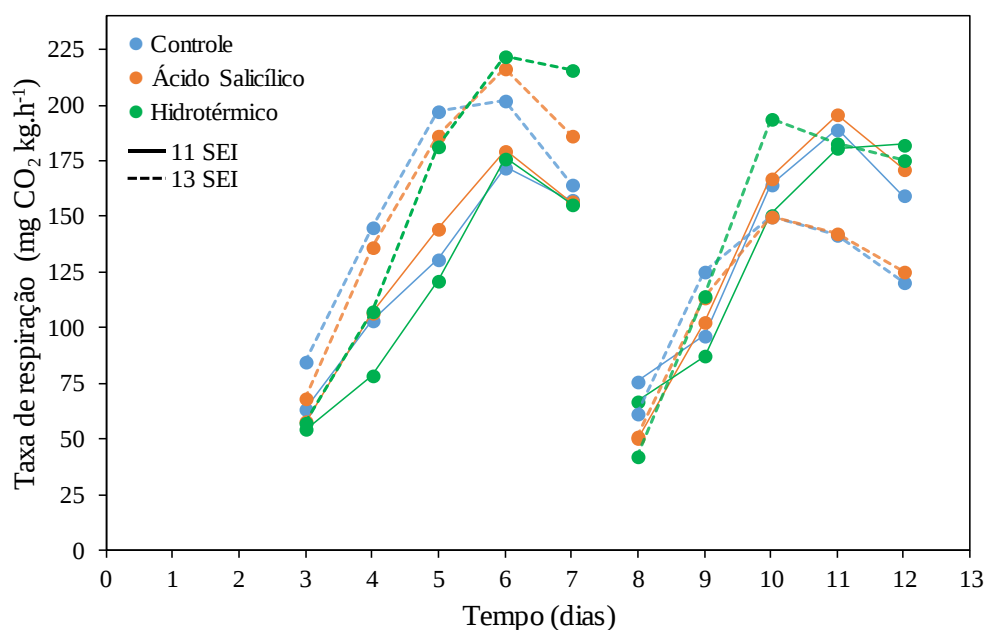


Figura 3 - Taxa de respiração dos frutos de banana cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 3 e 8 dias de armazenamento refrigerado em função dos estádios de desenvolvimento e tratamentos pós-coleita.

4.3 Sólidos solúveis

Verificou-se interação tripla entre os fatores tratamentos, tempo de armazenamento (refrigerado mais ambiente) e estágio de desenvolvimento sobre o teor de sólidos solúveis (SS) dos frutos de banana (Anexo B). De acordo com Rocha et al. (2012), uma vez verificado o efeito da interação dos fatores, o procedimento do desdobramento dos graus de liberdade é fundamental para obter melhor inferência estatística.

Ao analisar o desdobramento do tempo de armazenamento (refrigerado+ambiente) dentro de cada nível dos fatores estádios de desenvolvimento e tratamentos, verifica-se que os SS dos frutos colhidos com 11 semanas após a inflorescência (SEI), independentemente dos tratamentos, não diferiu com o prolongamento do tempo de 3+4 para 8+4 dias (Tabela 4). Contudo, o armazenamento por 8+4 dias dos frutos de 13 SEI não submetidos aos tratamentos pós-colheita (controle) resultou em menor teor de SS comparado ao armazenamento por 3+4 dias. Isto indica claramente que o aumento do tempo de exposição ao frio interferiu no acúmulo de SS durante o amadurecimento dos frutos controle de 13 SEI em temperatura ambiente. Possivelmente, o aumento do tempo de exposição ao frio excessivo impediu

parcialmente o amadurecimento dos frutos controle de 13 SEI ao reduzir a taxa respiratória desses frutos em condições ambiente. De acordo com Narayana et al. (2005), menores taxas de respiração compromete a conversão do amido em açúcares, levando a baixo acúmulo de sólidos solúveis. Observações semelhantes foram obtidas por Purwanto et al. (2013), os quais verificaram que o armazenamento de manga sob temperatura de refrigeração abaixo da crítica resultou em amadurecimento anormal evidenciado pelo menor acúmulos de sólidos solúveis ao final do amadurecimento.

Os SS dos frutos de 13 SEI tratados com ácido salicílico não variaram com o tempo de exposição ao frio, enquanto que nos frutos de 13 SEI tratados termicamente, houve aumento dos SS com o incremento do tempo de exposição ao armazenamento refrigerado (Tabela 4). Provavelmente, a aplicação desses tratamentos pós-colheita aumentou a tolerância dos frutos de banana ao frio excessivo, permitindo que as reações bioquímicas que levam ao acúmulo de SS ocorressem normalmente durante o amadurecimento à 22°C.

Tabela 4 - Teor de sólidos solúveis (%) de banana cv. 'Willians' em função do tempo de armazenamento (refrigerado+ambiente), tratamentos pós-colheita e estágio de desenvolvimento dos frutos.

Tempo	Controle		Ácido Salicílico		Hidrotérmico	
	11 SEI	13 SEI	11 SEI	13 SEI	11 SEI	13 SEI
3+4	*18,94 aA α	19,16 aA α	19,61 aA α	19,31 aA α	19,87 aA α	18,93 bA α
8+4	19,99 aA α	17,22 bB β	20,11 aA α	18,24 aB β	20,52 aA α	20,87 aA α

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam o tempo de armazenamento dentro de cada nível de estágio de desenvolvimento-tratamentos; letras maiúsculas comparam os estágios de desenvolvimento dentro cada nível tempo de armazenamento-tratamento; letras gregas comparam os tratamentos dentro de cada nível tempo de armazenamento-estádio de desenvolvimento.

O desdobramento do estágio de desenvolvimento dentro do tempo de armazenamento e tratamento evidencia que durante o armazenamento por 3+4 dias não houve diferença significativa dos SS entre os frutos de 11 e 13 SEI, independentemente do tratamento aplicado. Contudo, após 8+4 dias de armazenamento, os SS dos frutos colhidos com 13 SEI foram significativamente inferiores aos dos frutos colhidos com 11 SEI em todos os tratamentos estudados, exceto para tratamento hidrotérmico, no qual não se evidenciou diferença significativa entre os estágios (Tabela 4). Os menores teores de SS verificado após 8+4 dias de armazenamento nos frutos de 13 SEI sem

aplicação de tratamentos pós-colheitas (controle) e tratados com ácido salicílico possivelmente podem ser atribuído aos baixos níveis de respiração desses frutos que não foi suficiente para converter moléculas complexas (amido) em açúcares simples (NGUYEN;KETSA, 2009). Por outro lado, mesmo após a exposição prolongada ao frio excessivo, a alta taxa respiratória dos frutos de 13 SEI submetidos ao tratamento hidrotérmico parece ter sido suficiente para propiciar acúmulo de açúcares simples, levando a um maior teor de SS.

Comparando os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento e estágio de desenvolvimento, verifica-se que após 3+4 dias, os SS dos frutos com 11 e 13 SEI não variaram significativamente entre os tratamentos estudados (Tabela 4). Do mesmo modo, os SS não diferiram entre os tratamentos estudados quando os frutos com 11 SEI foram armazenados por 8+4 dias. Portanto, igualmente aos frutos expostos à temperatura de 6°C por 3 dias, independentemente dos tratamentos e estádios de desenvolvimento, o armazenamento à 6°C por 8 dias não retardou o acúmulo de SS nos frutos de 11 SEI, independentemente dos tratamentos aplicados, permitindo o incremento da doçura durante o amadurecimento à 22°C.

Por outro lado, nas bananas colhidas com 13 SEI, os SS diferiram entre os tratamentos após 8+4 dias de armazenamento, de modo que o valor obtido nos frutos tratados com água à 49°C foi estatisticamente superior ao valor encontrado nos frutos controle e nos tratados com ácido salicílico (Tabela 4). Esses resultados evidenciam a implicação direta do armazenamento refrigerado à 6°C por 8 dias em suprimir o amadurecimento, levando ao baixo acúmulo de SS nos frutos de 13 SEI não submetido a tratamentos pós-colheita ou tratados com ácido salicílico. Nguyen e Ketsal (2009) também relataram falhas no amadurecimento de banana em condições ambiente após o armazenamento refrigerado sob temperaturas abaixo da crítica.

4.4 Permeabilidade de membrana

A permeabilidade da membrana, medida através do vazamento de eletrólitos, foi apenas afetada isoladamente pelos tratamentos pós-colheita (Anexo C). Os percentuais de permeabilidade de membrana de 35,76 e 33,9%, obtidos nos frutos controle e nos frutos tratados com ácido salicílico, não diferiram entre si, porém foram superiores ao

valor de 18,48% verificado nos frutos submetidos ao tratamento hidrotérmico (Figura 4).

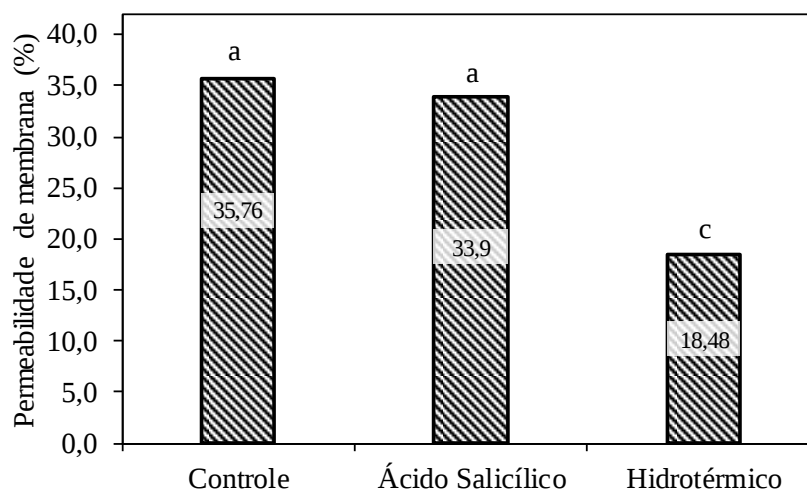


Figura 4 - Permeabilidade de membrana da casca de frutos de banana cv. 'Willians' em função dos tratamentos pós-colheita.

A desestabilização das membranas celulares tem sido considerada o evento primário dos efeitos deletérios das injúrias pelo frio (ZHANG;TIAN, 2010). Durante ou após a exposição de órgãos vegetais sensíveis ao frio, a membrana perde a sua capacidade seletiva de controlar a entrada e a saída de substâncias da célula, acarretando a perda da homeostasia e consequentemente o aparecimento das injurias pelo frio (SESTARI, 2010).

Nesse sentido, a aplicação do tratamento térmico possivelmente possibilitou maior integridade da membrana em relação aos frutos do tratamento controle e ácido salicílico, pois reduziu o vazamento de íons. Os resultados do presente trabalho corroboram com os encontrados por Wang et al. (2008), ao qual verificaram que a imersão dos frutos de banana em água à 52°C durante 3 minutos resultou em menor vazamento de eletrólitos. O aumento da proporção entre ácidos graxos insaturados e saturados, bem como redução da atividade da enzima lipoxigenase são mecanismos induzidos pelo tratamento térmico para aumentar a integridade da membrana dos frutos de banana expostos ao frio, reduzindo, portanto, a sensibilidade ao frio excessivo (PROMYOU et al., 2008). Conforme Shewfelte Rosario (2000), a peroxidação lipídica tem papel crucial no desenvolvimento do distúrbio fisiológico em plantas, e quanto mais rico em ácidos graxos insaturados for o órgão vegetal, maior a sua suceptibilidade aos danos do frio. De acordo com Sestari (2010), o tratamento térmico reduz a produção de

espécies reativas de oxigênio, responsáveis pelos processos não enzimático da peroxidação lipídica, conferindo maior integridade à bicamada lipídica das membranas.

4.5 Fenólicos totais

Houve interação significativa dos fatores tempo de armazenamento (refrigerado + ambiente), tratamento e estágio de desenvolvimento sobre o teor de fenólicos totais na casca da banana (Anexo D)

Analisando o desdobramento do tempo de armazenamento em cada nível dos fatores tratamentos e estágios de desenvolvimento, verificou-se que o teor de fenólicos dos frutos colhidos com 11 SEI foi inferior durante o armazenamento por 8+4 dias em relação aos 3+4 dias de armazenamento, em todos os tratamentos estudados, exceto para os frutos tratados com ácido salicílico, ao qual não se evidenciou diferença significativa entre os tempos de armazenamento (Tabela 5). Como o ácido salicílico é um fenol, é possível que essa substância tenha sido absorvida pelo epicarpo da banana e assim tenha sido dosada como fenol dos frutos, impedindo o decréscimo dos fenóis totais como observado nos demais tratamentos.

Nos frutos de 11 SEI, a redução do teor de FT com o aumento de 3+4 para 8+4 dias de armazenamento foi superior à 29,8% e 16,0% para os frutos aquecidos à 49°C e para os frutos controle, respectivamente (Tabela 5). Por outro lado, os FT dos frutos colhidos com 13 SEI não variaram com o tempo de exposição ao frio, independentemente dos tratamentos pós-colheita aplicados (Tabela 5).

Sob condições de temperatura abaixo da crítica, os vegetais acumulam mais fenólicos para suportar o estresse do frio através do incremento da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL). Portanto, como os frutos de 11 SEI são menos sensíveis ao frio, a maior redução dos FT obtido com o tratamento hidrotérmico sugere que, possivelmente, os danos do frio foi menos acentuado nos frutos submetidos ao aquecimento à 49°C por 10 minutos, não necessitando acumular fenóis para se adaptar à condição adversa. Entretanto, diante da maior sensibilidade dos frutos de 13 SEI ao frio, é provável que a FAL tenha sido estimulada para aumentar a concentração dos compostos fenólicos após a exposição prolongada por 8 dias à temperatura de 6°C.

Tabela 5 – Teor de fenólicos totais (mg de EAG/100g) na casca da banana cv. ‘Willians’ em função do tempo de armazenamento (refrigerado+ambiente), tratamentos pós-colheita e estágio de desenvolvimento dos frutos.

Tempo	Controle		Ácido Salicílico		Hidrotérmico	
	11 SEI	13 SEI	11 SEI	13 SEI	11 SEI	13 SEI
3+4	*161,83aA α	117,47aB α	130,73aA β	128,47aA α	156,44aA α	121,21aA α
8+4	135,62bA α	100,58aB β	137,77aA α	114,56aB β	109,71bB β	137,12aA α

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam o tempo de armazenamento dentro de cada nível de estádios de desenvolvimentos-tratamentos; letras maiúsculas comparam os estádios de desenvolvimento dentro cada nível tempo-tratamento; letras gregas comparam os tratamentos dentro de cada nível tempo-estádio de desenvolvimento.

De acordo com Kamdee et al. (2009), o escurecimento característico das injúrias do frio em banana resulta das reações enzimáticas e não enzimáticas, nas quais os FT são considerados o substrato mais importante. Nesse caso, essa hipótese pode ser aplicada aos frutos colhidos com 11 SEI, pois com o aumento do tempo de exposição ao frio, houve redução do teor FT devido provavelmente a sua conversão em compostos escurecidos. Entretanto, nos frutos de 13 SEI, independentemente do tratamento aplicado, o avanço do escurecimento característico da injúria pelo frio com o aumento do tempo de exposição ao armazenamento refrigerado não parece estar associado com o teor de compostos fenólicos, visto que esses não variam com o tempo de armazenamento. Em trabalhos com banana (NGUYEN et al., 2003; NGUYEN et al., 2004), romã (SAYYARI et al., 2009) e manga (CHIDTRAGOOL et al., 2011) também não foram observados uma relação clara entre o teor de FT e os sintomas de injúria do frio.

O desdobramento do estágio de desenvolvimento dentro dos níveis tempo de armazenamento e tratamentos revelou que no tratamento controle, independentemente dos tempos de armazenamento, as bananas colhidas com 11 SEI acumularam mais compostos fenólicos ao final do amadurecimento do que os frutos colhidos com 13 SEI. De modo semelhante, no tratamento com ácido salicílico, ao final de 8+4 dias de armazenamento, houve maior acúmulo de FT nos frutos com 11 SEI comparado aos frutos colhidos com 13 SEI (Tabela 5). O menor teor de FT nas bananas com 13 SEI pode estar relacionado a maior sensibilidade desses frutos ao frio, de modo que os FT podem ter sido utilizados como substratos das enzimas PPO e POD (MAIA et al., 2014).

Já nos frutos submetidos ao tratamento hidrotérmico, verificou-se que após 3+4 dias de armazenamento, o teor de FT manteve-se semelhante entre os frutos colhidos com 11 e 13 SEI. Por outro lado, após 8+4 dias de armazenamento, possivelmente as reações que utilizam os compostos fenólicos como substrato foram mais intensas nos frutos de 11 SEI, levando ao menor acúmulo de FT nesses frutos comparado aos frutos colhidos com 13 SEI (Tabela 5).

Comparando-se os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento e estágio de desenvolvimento, verifica-se que ao final de 3+4 dias de armazenamento, os FT dos frutos colhidos com 13 SEI não diferiram entre os tratamentos estudados, por outro lado, nos frutos colhidos com 11 SEI, a aplicação do tratamento com ácido salicílico reduziu os FT em relação ao tratamento controle e hidrotérmico (Tabela 5). O menor teor de FT obtido com a aplicação do ácido salicílico pode estar relacionado com a função dessa substância em reduzir a atividade de fenil alanina amônia-liase (FAL), uma enzima importante na biossíntese dos compostos fenólicos (Han et al., 2017; Sayyari et al., 2009). De acordo com Lu et al. (2010), quanto menor a atividade da FAL, maior a tolerância dos frutos às injúrias do frio.

Ao final dos 8+4 dias de armazenamento, o tratamento térmico parece ter influenciado nos mecanismos de síntese dos compostos fenólicos, propiciando menor acúmulo nos frutos de 11 SEI em relação ao tratamento controle e com ácido salicílico (Tabela 5). Assim, o acúmulo de fenóis em resposta a aplicação ao tratamento térmico antes do armazenamento refrigerado (CHEN et al., 2008) parece ser menos eficiente em frutos com estágio de maturação precoce que são expostos ao frio por tempo mais prolongado. Jacobi et al. (2001) relata que os benefícios proporcionados pela aplicação do tratamento térmico são inerentes ao estágio de maturação do fruto, de modo que, eficiência do tratamento térmico é reduzida quando aplicado em frutos menos maduro. Em partes, esse mesmo fenômeno foi observado no presente trabalho ao levar em consideração o teor de FT. Por outro lado, após 8+4 dias de armazenamento, o menor teor de FT nos frutos de 11 SEI tratados com ácido salicílico não foi um fator limitante para esse tratamento aliviar as injúrias do frio.

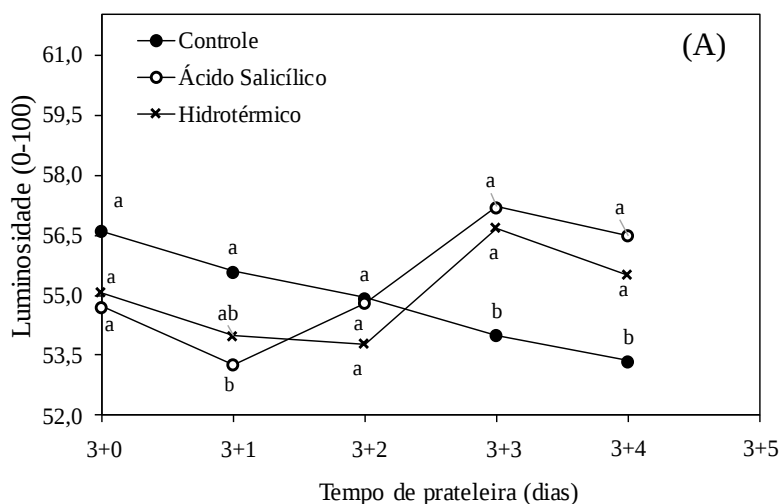
Por outro lado, após o armazenamento por 8+4 dias, o tratamento térmico induziu um maior acúmulo de FT nos frutos de maturação mais avançada (13 SEI) comparado ao tratamento controle e com ácido salicílico (Tabela 5). Portanto, o maior acúmulo de FT pode estar associado a maior atividade da FAL com a aplicação do tratamento térmico (CHEN et al., 2008)

4.6 Luminosidade

4.2.1 Experimento 01: 3 dias de armazenamento refrigerado à 6 °C

A influencia dos tratamentos estudados no parâmetro de cor luminosidade (L^*) dependeu do tempo de prateleira e os estádios de desenvolvimento dos frutos (Anexo E). Os valores de L^* dos frutos controle de 11 SEI diminuíram consideravelmente durante os quatro dias de *shelf life* (Figura 5A). Contudo, os valores de L^* dos frutos de 11 SEI tratados com ácido salicílico ou aquecidos à 49°C aumentaram a partir do primeiro e segundo dia de *shelf life*, respectivamente, sendo que ao final do amadurecimento, os valores obtidos com ácido salicílico e tratamento hidrotérmico foram estatisticamente iguais entre si, porém foram superiores ao do tratamento controle (Figura 5A).

O parâmetro L^* está associado ao brilho do produto, ou seja, se o fruto possui coloração mais clara ou mais escura (CRUZ, 2010). Neste sentido, a tendência de aumento dos valores de L^* dos frutos tratados hidrotêrmicamente e com ácido salicílico, em ambos estádios de desenvolvimento, indica que esses tratamentos pós-colheita permitiram o amadurecimento do fruto com uma coloração amarela mais clara ou mais brilhosa, contrastando com o ocorrido nos frutos controle. Possivelmente, aplicação do do tratamento hidrotérmico e do ácido salicílico reduziu atividades de enzimas como as peroxidases e as polifenoloxidasas (SOUZA et al., 2010; ZISHENG; CHEN; XIE, 2011) diminuindo o nível de escurecimento características das injúrias do frio em banana (Maia et al., 2014).



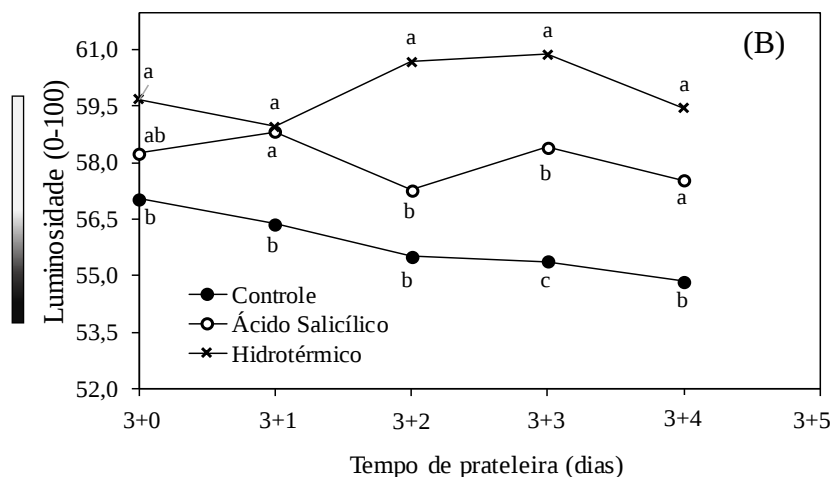


Figura 5 - Luminosidade da casca de banana cv. 'Willians' com 11 SEI (A) e 13 SEI (B) em condições de temperatura ambiente (22°C) após 3 dias de armazenamento refrigerado (6°C). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras comparam os tratamentos dentro de cada nível dos estádios de desenvolvimento e tempo de prateleira.

Em relação aos frutos com 13 SEI, o sintoma de escurecimento característico da injúria pelo frio em banana aumentou durante o amadurecimento dos frutos controle, indicado pelo decréscimo constante dos valores de L^* (Figura 5 - B). Por outro lado, o valor de L^* dos frutos do tratamento hidrotérmico aumentou a partir do 3+1 dia, enquanto o valor de L^* do tratamento com ácido salicílico pouco variou, ficando em torno de 58,06. Conforme Fattahi et al. (2010), a diminuição do valor de L^* representa a formação da cor escura devido ao escurecimento oxidativo ou aumento das concentrações de pigmentos castanhos. Portanto, os resultados do presente trabalho confirmam que aplicação do tratamento térmico ou ácido salicílico foram eficientes em retardar o desenvolvimento de manchas escuras na superfície durante o amadurecimento de banana em condições ambiente após 3 dias à 6°C. Durante o armazenamento refrigerado abaixo da temperatura crítica, a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) acima da capacidade de remoção dos tecidos provoca uma série de reações bioquímicas que culminam com a exteriorização dos sintomas de injúria pelo frio (SESTARI, 2010). Nesse sentido, o tratamento hidrotérmico e a aplicação do ácido salicílico podem ter aumentado a atividade de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, responsáveis pela eliminação das EROs, diminuindo assim as reações de escurecimento na superfície dos frutos (AMBUKO et al., 2013; CAO et al., 2009).

Tabela 6 - Luminosidade da casca de frutos de banana cv. 'Willians' em função dos tratamentos pós-colheita, estágio de desenvolvimento e tempo de prateleira (22°C) após 3 dias de armazenamento refrigerado (6°C).

Tempo	Controle		Ácido Salicílico		Hidrotérmico	
	11 SEI	13 SEI	11 SEI	13 SEI	11 SEI	13 SEI
0	56,60 a	57,04 a	54,72 b	58,25 a	55,06 b	59,68 a
1	55,60 a	56,37 a	53,28 b	58,85 a	53,98 b	58,97 a
2	54,93 a	55,51 a	54,81 b	57,27 a	53,75 b	60,69 a
3	54,01 a	55,38 a	57,21 a	58,40 a	56,68 b	60,88 a
4	53,37 a	54,85 a	56,48 a	57,52 a	55,50 b	59,44 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras comparam os estádios de desenvolvimento dentro de cada nível dos tratamentos e tempo de prateleira.

Em relação aos estádios de desenvolvimento, verifica-se que o grau de escurecimento, indicado pelos valores de L^* , foi estatisticamente semelhante entre os estádios de 11 e 13 SEI (Tabela 6). Em contraste, nos frutos submetidos ao tratamento hidrotérmico, os valores de L^* obtidos no estágio de 13 SEI foi significativamente superior ao estágio de 11 SEI, enquanto que com a aplicação do ácido salicílico, verificou-se valores de L^* superiores nos frutos de 13 SEI até o terceiro de *shelf life*, não diferindo a partir de então (Tabela 6).

De modo geral, os menores valores de L^* obtido nos frutos de 11 SEI tratados com ácido salicílico e tratamento hidrotérmico em comparação aos de 13 SEI indica um amadurecimento com coloração mais escura. Entretanto, esses resultados contrastam com os índices de injúria, visto que a extensão da injúria do frio na superfície dos frutos mostrou-se maior nas bananas colhidas com 13 SEI. Possivelmente, embora a lesão do frio abrangesse menor área da superfície dos frutos com 11 SEI, indicado pelo seu menor índice de injúria, essas lesões se mostraram mais enegrecida o que justifica os menores valores de L^* .

4.2.2 Experimento 02: 8 dias de armazenamento refrigerado à 6°C

Em relação aos valores L^* dos frutos armazenados durante 8 dias à 6°C, seguido da exposição à temperatura ambiente (22°C), verifica-se interação significativa entre

tratamento x estágio de desenvolvimento bem como entre estágio de desenvolvimento x tempo de prateleira. (Anexo E).

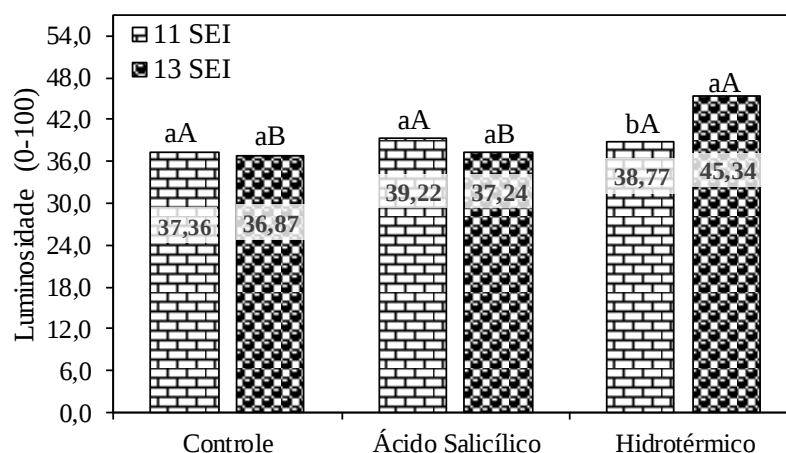


Figura 6 - Luminosidade da casca de bananas cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 8 dias de armazenamento refrigerado (6°C) em função dos tratamentos pós-colheitas e estádios de desenvolvimento dos frutos. Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Letras minúsculas comparam os estádios de desenvolvimento dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada estágio de desenvolvimento.

Comparando os estádios de desenvolvimento dentro de cada tratamento, observa-se que a L^* dos frutos submetidos ao tratamento hidrotérmico foi significativamente superior nas bananas colhidas com 13 SEI, cujos valor foi 1,16 vezes maior aos das bananas colhidas com 11 SEI (Figura 6). Esses resultados evidenciam que os frutos colhidos menos maduro desenvolveram lesões de injúria pelo frio mais escuras quando comparados aos frutos colhidos em estágio de maturação mais avançado. Como os tecidos dos frutos menos maduros são mais sensíveis ao tratamento hidrotérmico (JACOBI et al., 2001), possivelmente, o aquecimento a 49°C por 10 minutos pode ter causado microdanos às células dos frutos de 11 SEI, contribuindo com desenvolvimento de lesões do frio mais escurecidas. Esses resultados reforçam os resultados do armazenamento refrigerado durante 3 dias, ao indicar que o tratamento térmico parece tornar os frutos com 11 SEI mais sensíveis ao desenvolvimento de lesões do frio mais escuras, porém abrangendo menor área da superfície do fruto.

Por outro lado, comparando os tratamentos dentro de cada estágio de desenvolvimento, verifica-se que os valores de L^* dos frutos colhidos com 11 SEI

foram estatisticamente iguais entre os tratamentos (Figura 6). Por outro lado, nos frutos com 13 SEI, o tratamento hidrotérmico proporcionou valores significativamente mais alto de L^* em comparação aos valores de L^* dos frutos controle e tratado com ácido salicílico (Figura 6). Esses resultados indicam que o tratamento hidrotérmico minimizou os sintomas de injúria pelo frio, tornando as manchas menos escuras.

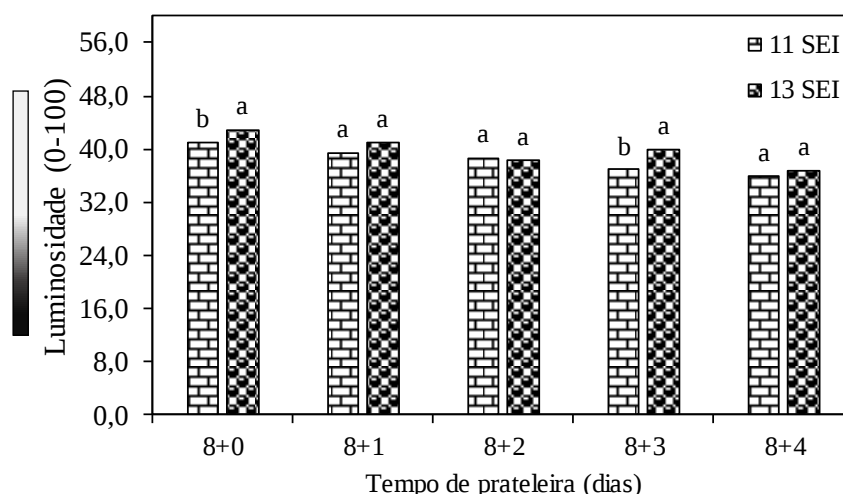


Figura 7 - Luminosidade da casca de banana cv. 'Willians' em condições de temperatura ambiente (22°C) após 8 dias de armazenamento refrigerado (6°C) em função estádios de desenvolvimento dos frutos. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras comparam os estádios de desenvolvimento dentro de cada nível do tempo de prateleira.

Em relação a interação tempo de prateleira e estágio de desenvolvimento, verifica-se uma tendência de redução dos valores de L^* ao longo amadurecimento a 20 °C, para ambos estádios de desenvolvimento, de modo que no momento da retirada dos frutos da câmara fria (8+0 dias) os sintomas de injúria do frio nos frutos de 11 SEI apresentavam-se mais escuros em comparação aos frutos de 13 SEI (Figura 7). Por outro lado, ao fim do armazenamento, a L^* da superfície dos frutos mantiveram-se estatisticamente semelhante entre os estádios de desenvolvimento.

5 CONCLUSÕES

O tratamento hidrotérmico foi eficiente em reduzir os sintomas das injúrias do frio e permitiu o amadurecimento normal dos frutos de banana;

O ácido salicílico reduziu moderadamente as injúrias pelo frio em bananas armazenadas por 3 dias à 6°C, porém acentuou os sintomas após 8 dias de armazenamento à 6°C;

Os frutos colhidos com estágio de maturação mais avançada são mais sensíveis as injúrias do frio.

REFERÊNCIAS

- AGHDAM, M. S. et al. Alleviation of postharvest chilling injury of tomato fruit by salicylic acid treatment. **Journal of Food Science and Technology**, v.51, n. 10, p. 2815-2820, 2014.
- AGHDAM, M. S. et al. Heat shock proteins as biochemical markers for postharvest chilling stress in fruits and vegetables. **Scientia Horticulturae**, v. 160, p.54-64, 2013.
- AGROSTAT-Estatísticas de Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro. Disponível em: <http://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm>. Acesso em 05/05/17.
- AGUILA, J. S. **Conservação pós-colheita de lichia (*Litchi chinensis* Sonn.)**. 2009 163 f. Tese (Doutorado em Agronomia), ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2009.
- AHMAD, S.; THOMPSON, A. K.; PERVEZ, M. A. Effect of harvest maturity stage and position of hands on the ripening behavior and quality of banana fruit. **Acta Horticulture**, v. 741, p. 117-123, 2007.
- ALMEIDA, F. R. F. Yes, nós temos banana. **Conjuntura Econômica**, v. 49, n. 10, p. 54-55, 1995.
- AMBUKO, J. et al. Reactive oxygen species (ROS) scavenging in hot air preconditioning mediated alleviation of chilling injury in banana fruits. **Journal of Agricultural Science**, v. 5, n. 1, 2013.
- ASGHARI, M.; AGHDAM, M. S. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. **Trends in Food and Technology**, v. 21, n. 10, p. 502-509, 2010.
- BABALAR, M. et al. Effect of pre and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. **Food Chemistry**, v. 105, p. 449-453, 2007.
- BLACKMAN, F. F.; PARIJA, P. **Analytical studies in plant respiration**. I. The respiration of a population of senescent ripening apples. Royal Society (London), p. 412-445, 1928.
- BLANPIED, G. D. Relationships among bloom dates, ethylene climacteric initiation dates, and maturity-related storage disorders of Jonathan apples grown in Australia. **Postharvest Biology and Technology**, v. 1, n. 1, p. 3-10, 1991.
- BONNET, C. B. et al. Effects of physiological harvest stages on the composition of bioactive compounds in Cavendish bananas. **Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology)**, v. 14, n. 4, p. 270-279, 2013.
- BRODL, M. R. **Biochemistry of heat shock responses in plants**. 1990. Environmental injury to plants. Academic Press, San Diego.

BRON, I. U.; JACOMINO, A. P. Ripening and quality of 'Golden' papaya fruit harvested at diferente maturity stages. **Brasilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 3, p. 389-396, 2006.

CAO; S. F.; HU, Z.; C.; WANG, H. O. Effect of salicylic acid on the activities of anti-oxidant enzymes and phenylalanine ammonia-lyase in cucumber fruit in relation to chilling injury. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 84, n. 2, p. 125-130, 2009.

CHEN, J. et al. Role of phenylalanine ammonia-lyase in heat pretreatment-induced chilling tolerance in banana fruit. **Physiologia Plantarum**, v. 132, p. 318-328, 2008.

CHENG, T. S.; SHEWFELT, R. L. Effect of chilling exposure of tomates during subseguente ripening. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 4, 1988.

CHIDTRAGOOL, S. et al. Chilling injury in mango fruit peel: cultivar differences are related to the activity of phenylalanine ammonia lyase. **Postharvest Biology and Techonology**, v. 62, p. 59-63, 2011.

CRISOSTO, C. H.; MITCHELL, F. G.; JU, Z. Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine, and plum cultivars grown in California. **HortScience**, v. 34, n. 6, 1999.

CRUZ, J. N. **Estudo de tratamentos fitossanitários na manga (Mangífera indica L.) para exportação**. 2010. 88f. Dissertação. (Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

DANGCHAM, S.; KETSA, S. Relationship between maturity stages and low temperature involved in the pericarp hardening of mangosteen fruit after storage. **Thai Journal of Agricultural Science**, v. 40, n. 3-4, p. 143-150, 2007.

DING, C.; WANG, C. Y. The dual effects of methyl salicylate on ripening and expression of ethylene biosynthetic genes in tomato fruit. **Plant Science**, v.164, n. 4, p. 589-596, 2003.

DING, C. et al. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. **Plant Science**, v. 161, n. 6, p. 1153-1159, 2001.

EAKS, I. L. Effect of chilling on respiration and volatiles of california lemon fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 105, n. 6, p. 865-869, 1980.

EAKS, I. L. Physiological studies of chilling injury in citrus fruits. **Plant Physiology**, v. 35, n. 5, p. 632-636, 1960.

EAKS, I. L.; Effects of chilling on respiration and ethylene production of 'Hass' avocado fruit at 20°C. **Horscience**, v. 18, n. 2, p. 235-237, 1983.

EAKS, I. L.; MASIAS, E. Chemical and physiological changes in lime fruits during and after storage. **Journal of Food Science**, v.30, n. 3, p. 509-515, 1965.

EAKS, I. L.; MORRIS, L. L. Respiration of cucumber fruits associated with physiological injury at chilling temperatures. **Plant Physiology**, v. 31, n. 4, 308-314, 1956.

FAOSTAT/FAO (2015). **Divisão de Estatística da FAO**/Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>. Acesso em 05/05/17.

FERREIRA, D. F. (2011). **Sisvar: SISVAR - Sistema de análise de variância**. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA.

FIORAVANÇO, C. Mercado mundial de banana: produção, comercio e participação brasileira. **Informações Econômicas**, SP, v. 33, n. 10, 2003.

GEMMA, H.; MATSUYAMA, Y.; WANG, H. Ripening characteristics and chilling injury of banana fruit. I. Effects of storage temperature on respiration, ethylene production and membrane permeability of peel and pulp tissues. **Japanese Journal of Tropical Agriculture**, v. 38, n. 3, p. 216-220, 1994.

GOLDING, J. B. et al. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening process in mature banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 14, n. 1, p. 87-98, 1998.

HAN, C. et al. Salicylic acid alleviates postharvest chilling injury of sponge gourd (*Luffa cylindrica*). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, n. 3, p. 735-741, 2017.

HASHIM, N. et al. Changes of backscattering parameters during chilling injury in bananas. **Journal of Engineering Science and Technology**, v. 9, n. 3, p. 314-325, 2014.

HE, L. et al. Expression of three Shsp genes involved in heat pretreatment-induced chilling tolerance in banana fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 1924-1930, 2012.

HE, X. et al. Adenylate quantitative method analyzing energy change in postharvest banana (*Musa acuminata* L.) fruits stored at different temperatures. **Scientia Horticulturae**, v. 129, n. 17, p. 118-124, 2017.

HUAJAIKAEW, L. et al. Effect of heat treatment on antioxidants and quality changes in papaya fruit stored at low temperatures. **Acta Horticulturae**, 682, p.1063-1068, 2005.

HUANG, H. et al. Enhanced chilling tolerance of banana fruit treated with malic acid prior to low-temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 209-213, 2016.

HUBBARD, N. L.; PHARR, D. M.; HUBER, S. C. Role of sucrose phosphate synthase in sucrose biosynthesis in ripening bananas and its relationship to the respiratory climacteric. **Plant Physiology**, v. 94, p. 201-208, 1990.

IBGE – Instituto Brasileira de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acessado em 05/07/17.

ISERMEYER, H. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. *Z Pflanzenernäh Bodenk*, v. 56, p. 26–38, 1952.

JACKMAN, R. L. et al. Chilling injury. A review of quality aspects. **Journal of Food Quality**, n. 11, p. 253-278, 1988.

JACOBI, K. K.; HETHERINGTON, S. E.; MACRAE, E. Effect of fruit maturity on the response of ‘Kensington’ mango fruit to heat treatment. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 41, n. 6, p. 793-803, 2001.

JEDERMANN, R. et al. Remote quality monitoring in the banana chain. **Philosophical Transactions of the Royal a Society**, v. 372, p. 1-21, 2014.

JIANG, Y. et al. Effects of chilling temperatures on ethylene binding by fruit. **Plant Growth Regulation**, v. 43, p. 109-115, 2004.

JIANG, Y.; JOYCE, D. C.; MACNISH, A. J. Effect of abscisic acid on banana fruit ripening in relation to the role of ethylene. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 19, p. 106-111, 2000.

KADER, A.A. y E.M. YAHIA. 2011. **Postharvest biology of tropical and subtropical fruits**. pp. 79-111. En: Yahia, E.M. (ed.). *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits*. Vol. 1. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK.

KAMDEE, C.; KETSA, S.; DOORN, W. G. Effect of heat treatment on ripening and early pell spotting in cv. Sucrier banana. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, n. 3, p. 288-293, 2009.

KANG, G. et al. Protection of ultrastructure in chilling-stressed banana leaves by salicylic acid. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 8, n. 4, p. 277-282, 2007.

KOGEL, K. H.; LANGEN, G. Induced disease resistance and gene expression in cereals. **Cell Microbiology**, Oxford, v. 7, p. 1555-1564, 2005.

LEDERMAN, I. E. et al. Ethylene forming capacity during cold storage and chilling injury development in ‘Keitt’ mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 10, p. 107-112, 1997.

LEVITT, J. **Chilling injury and resistance in responses of plants to enviromental stress**. Academic Press, New York, 1980.

LI, T. et al. Proteomic analysis of differentially expressed proteins involved in ethylene-induced chilling tolerance in harvested banana fruit. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1-16, 2015.

- LIM, C. S. et al. Antioxidizing enzyme activities in chilling-sensitive and chilling-tolerant pepper fruit as affected by stage of ripeness and storage temperature. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 134, n. 1, p. 156-163, 2009.
- LOHANI, S.; TRIVEDI, P. K.; NATH, P. Changes in activities of cell wall hydrolases during ethylene-induced ripening in banana: effect of 1-MCP, ABA and IAA. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31, n. 2, p. 119-126, 2004.
- LU, X. H. et al. Effects of post-harvest salicylic acid treatment on fruit quality and antio-oxidant metabolism in pineapple during cold storage. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 85, n. 5, p. 454-458, 2010.
- LUENGWILAI, K.; BECKLES, D. M.; SALTVEIT, M. E. Chilling-injury of harvested tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Micro-Tom fruit is reduced by temperature pre-treatments. **Postharvest Biology Technology**, v. 63, n. 1, p. 123-128, 2012.
- LURIE, S.; et al. Heat treatments to decrease chilling injury in tomato fruit. Effects on lipids, pericarp lesions and fungal growth. **Physiologia Plantarum**, v. 100, p. 297-302, 1997.
- LURIE, S.; PEDRESCHI, R. Fundamental aspects of postharvest heat treatments. **Horticulture Research**, v. 30, p. 1-7, 2014.
- LYONS, J. M. Chilling injury in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 24, p. 445-466, 1973.
- MAIA, V. M. et al. Physical and metabolic changes induced by mechanical damage in 'dwarf-prata' banana fruits kept under cold storage. *Australian Journal of Crop Science*, v. 8, n. 7, p. 1029-1037, 2014.
- MCGLASSON, W. B.; SCOTT, K. J.; MENDONZA, J. D. B. The refrigerated storage of tropical and subtropical products. **International Journal of Refrigeration**, v. 2, p. 199-206, 1979.
- MOHAMMED, M.; BRECHT, J. K. Reduction of chilling injury in 'Tommy Atkins' mangoes during ripening. **Scientia Horticulturae**, v. 95, p. 297-308, 2002.
- MURATA, T. Physiological and biochemical studies of chilling injury in bananas. **Physiologia plantarum**, v. 22, p. 401-411, 1969.
- NANNYONGA, S. et al. Mathematical modelling of color, texture kinetics and sensory attributes characterisation of ripening bananas for waste critical point determination. **Journal of Food Engineering**, v. 190, p. 205-210, 2016.
- NAYARA, C. K.; MUSTAFFA, M. M.; SATHIAMOORTHY, S. Chilling injury and quality changes in Pachanadan (Pome, AAB group) banana during storage at low temperatures. **Indian Journal of Horticulture**, v. 62, n. 3, p. 241-243, 2005.
- NGUYEN, T. B. T.; KETSA, S.; VAN DOORN, W. G. Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana

peel during low temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, n. 2, p. 187-193, 2003.

NGUYEN, T. B. T.; KETSA, S.; VAN DOORN, W. G. Effect of modified atmosphere packaging on chilling-induced peel browning in banana. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31, p. 313-317, 2004.

OBANDO-ULLOA, J. M. et al. Climateric or non-climateric behavior in melon fruit: 1. Aroma volatiles. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 27-37, 2008.

PARKIN, K. L. et al. Chilling injury. A review of possible mechanisms. **Journal of Food Biochemistry**, v. 13, p. 127-153, 1989.

PAUL, V.; PANDEY, R.; SRIVASTAVA, G. C. The fading distinctions between classical patterns of ripening in climateric and non-climateric fruit and the ubiquity of ethylene – An overview. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 1, p. 1-21, 2012.

PÉREZ-LÓPEZ, A. et al. Respiration rate and mechanical properties of peach fruit during storage at three maturity stages. **Journal of Food Engineering**, v. 142, p. 11-117, 2014.

PÉREZ-TELLO, G. O. et al. Effect of temperature on enzymatic and physiological factors related to chilling injury in carambola fruit (*Averrhoa carambola* L.). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 287, p. 846-851, 2001.

PESSÔA, P. M. **Estudo teórico do resfriamento de frutas com forma arbitrária usando o método integral baseado em Galerkin**. 2010. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola), UFCG, Campina Grande - PB.

PINTO, L. C. B.; JORGE, J. T.; Utilização de 1-metilciclopropeno e resfriamento rápido na conservação de pêssegos. **Engenharia Agrícola**, v. 27, n. 1, p. 238-246, 2007.

POURCEL, L. et al. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical proprieties to physiological functions. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 1, p. 29-36, 2007.

PROMYOU, S.; KETSA, S.; VAN DOORN, W. G. Hot water treatments delay cold-induced banana peel blackening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 132-138, 2008.

PURWANTO, Y. A. et al. Chilling injury in green mature 'Gedong Gincu' mango fruits based on the changes in ion leakage. **Acta Horticulturae**, v. 1011, p. 219-226, 2013.

RAIMBAULT, A. et al. Polyphenol oxidase and peroxidase expression. In four pineapple varieties (*Ananas comosus* L.) after a chilling injury. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, -. 342-448, 2011.

RAISON, J. K.; LYONS, J. M. Chilling injury a plea for uniform terminology. **Plant, Cell and Environment**, v. 9, p. 685-686, 1986.

RAISON, J. K.; ORR, G. R. 1990. **Proposals for a better understanding of the molecular basis of chilling injury**, p. 145–164. In: C.Y. WANG (ed.). Chilling injury of horticultural crops. CRC Press, Boca Raton, FL.

ROCHA, F. et al. An approach to the decomposition of interaction in a factorial experiment with five factors. **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 1, p. 51-59, 2012.

SALTVEIT, M. E. **Discovery of chilling injury**. In: Kung, S. D.; Yang, S. F. (eds). Discovery in Plant Biology. World Scientific Publishing Co., Singapore, v. 3, p.423-448.

SALTVEIT, M. E. The rate of ion leakage from chilling-sensitive tissue does not immediately increase upon exposure to chilling temperatures. **Postharvest Biology and Technology**, v. 26, p. 295-304.

SAYYARI, M. et al. D. Effects of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. **Postharvest Biology and Technology**, v. 53, p. 152-154, 2009.

SESTARI, I. **Indução de tolerância de frutos às injúrias de frio: aspectos fisiológicos e bioquímicos**. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas), ESALQ/USP, Piracicaba- SP.

SEVILLANO, L. et al. Physiological hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, p. 555-573, 2009.

SEYMOR, G. B. **Banana**. In: Seymour, G. B; Taylor, J. E.; Tucker, G. A. (eds.). Biochemistry of fruit ripening. Netherlands: Springer, 1993: 83-106.

SHEWFELT, R. I.; ROSÁRIO, B. A. The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. **HortScience**, v. 35, n. 4, p. 575-579, 2000.

SINGH, B. et al. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – A review. **Food Chemistry**, v. 206, p. 1-11, 2016.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, v.299, p.152-178, 1999.

SOUZA, A. V. et al. Tratamento térmico na manutenção da coloração de lichias. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 67-73, 2010.

SRIVASTAVA, M. K.; DWIVEDI, U. N. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. **Plant Science**, v. 158, n. 1-2, p. 87-96, 2000.

SUPAPVANICH, S.; PHONPAKDEE, R.; WONGSUWAN, P. Chilling injury alleviation and quality maintenance of lemon basil by preharvest salicylic acid treatment. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 27, n. 11, p. 801-807, 2015.

NGUYEN, T. B.T; KETSA, S. Physical and biochemical changes in cool-stored ripening bananas of two different dessert cultivars. **Journal of Science and Development**, v. 7, n. 2, p. 230-238, 2009.

UMMARAT, N. et al. Changes in antioxidants and fruit quality in hot water-treated 'Hom Thong' banana fruit during storage. **Scientia Horticulturae**, v. 130, p.801-807, 2011.

VAUGH, K. C.; DUKE, S. O. Function of polyphenol oxidase in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 60, p. 106-112, 1984.

WANG, H. et al. Hot water dipping induced chilling resistance of harvested banana fruit. **Acta Horticulturae**, v. 804, p. 513-522, 2008.

WANG, Y. et al. Cloning and expression analysis of phenylalanine ammonia-lyase in relation to chilling tolerance in harvested banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 44, n. 1, p. 34-41, 2007

WANG, Y. et al. Effect of nitric oxide on antioxidative response and proline metabolism in banana during cold storage. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.61, p. 8880-8887, 2013.

WATADA, A. E. et al. Terminology for the description of developmental stages of horticultural crops. **HostScience**, v. 19, n. 1, p. 20-21, 1984.

WHITAKER, B. Changes in lipids of tomato fruit stored at chilling and non-chilling temperatures. **Phytochemistry**, v. 30, n. 3, p. 757-761, 1991.

WHITAKER, B. D. Lipid changes in mature-green bell pepper fruit during chilling at 2°C and after transfer to 20°C subsequent to chilling. **Physiologia Plantarum**, v. 93, p. 683-688, 1995.

WHITAKER, B. Lipid changes in mature-green tomatoes during ripening, during chilling, and after rewarming subsequent to chilling. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 119, n. 5, p. 994-999, 1994.

WU, C. et al. Effect of harvest maturity and heat pretreatment on the quality of low temperature storage avocados in Taiwan. **Journal of the Faculty of Agriculture**, v. 56, n. 2, p. 255-262, 2011.

YANG, S. F. Biosynthesis and action of ethylene. **Hortscience**, v. 20, n. 1, 1985.

YUAN, Y. et al. Metabolomic analyses of banana during postharvest senescence by H-high resolution-NMR. **Food Chemistry**, v. 218, p. 406-412, 2017.

ZHANG, C.; TIAN, S. Peach fruit acquired tolerance to low temperature stress by accumulation of linolenic acid and N-acylphosphatidylethanolamine in plasma membrane. **Food Chemistry**, v. 120, n.3, p. 864-872, 2010.

ZHAO, Z. et al. Maturity-related chilling tolerance in mango fruit and the antioxidante capacity involved. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, p. 304-309, 2009.

ZISHENG, L.; CHEN, C.; XIE, J. Effect of salicylic acid treatment on alleviating postharvest chilling injury of 'Qingnai' plum fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, n. 2, p. 115-220, 2011.

ANEXOS

Anexo A – Valores de F da ANOVA da injúria do frio determinada à 22°C após 3 e 8 dias de armazenamento à 6°C.

FV	GL	Valores de F	
		Injúria do frio	
		Após 3 dias à 6°C	Após 8 dias à 6°C
Estádio (E)	1	40,92 ^{**}	8,163 ^{**}
Tratamento (T)	2	15,33 ^{**}	43,184 ^{**}
E x T	2	0,035 ^{ns}	12,327 ^{**}
Resíduo (a)	48		
Tempo de prateleira (TP)	1	24,51 ^{**}	2,306 ^{ns}
E x TP	1	0,00 ^{ns}	1,297 ^{ns}
T x TP	2	1,570 ^{ns}	0,685 ^{ns}
E x T x TP	2	3,190 ^{ns}	0,757 ^{ns}
Resíduo (b)	48		
CV (a)		18,17	7,52
CV (b)		15,19	11,31
Média geral		2,81	4,48

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação em percentagem.

Anexo B – Resumo da ANOVA da variável sólidos solúveis.

FV	GL	Valores de F
		Sólidos solúveis
Estádio (E)	1	10,091 ^{**}
Tratamento (T)	2	6,525 ^{**}
E x T	2	1,163 ^{ns}
Resíduo (a)	24	
Tempo Refrigerado (TR)	1	0,608 ^{ns}
E x TR	1	5,100 [*]
T x TR	2	5,288 [*]
E x T x TR	2	6,795 ^{**}
Resíduo (b)	24	
CV (a)		5,55
CV (b)		4,82
Média geral		19,40

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação em percentagem.

Anexo C – Resumo da ANOVA da variável vazamento de eletrólitos.

FV	GL	Valores de F
		Vazamento de eletrólitos
Estádio (E)	1	1,898 ^{ns}
Tratamento (T)	2	13,934 ^{**}
E x T	2	0,098 ^{ns}
Resíduo	18	
CV (%)		29,73
Média geral		29,38

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação em percentagem.

Anexo D – Resumo da ANOVA da variável fenólicos totais.

FV	GL	Valores de F
		Fenólicos totais
Estádio (E)	1	31,78 ^{**}
Tratamento (T)	2	0,33 ^{ns}
E x T	2	10,44 ^{**}
Resíduo (a)	12	
Tempo Refrigerado (TR)	1	15,512 ^{**}
E x TR	1	6,181 [*]
T x TR	2	2,420 ^{ns}
E x T x TR	2	12,771 ^{**}
Resíduo (b)	12	
CV (a)		7,73
CV (b)		7,93
Média geral		129,9

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação em percentagem.

Anexo D – Resumo da ANOVA da variável de cor luminosidade determinada à 22°C após 3 e 8 dias de armazenamento à 6°C.

FV	GL	Valores de F	
		Luminosidade	
		Após 3 dias à 6°C	Após 8 dias à 6°C
Estádio (E)	1	30,489 ^{**}	3,003 ^{ns}
Tratamento (T)	2	5,546 ^{**}	14,412 ^{**}
E x T	2	4,944 ^{ns}	11,168 ^{**}
Resíduo (a)	48		
Tempo de prateleira (TP)	4	3,11 [*]	27,129 ^{**}
E x TP	4	1,808 ^{ns}	2,608 [*]
T x TP	8	4,496 ^{**}	1,277 ^{ns}
E x T x TP	8	2,317 [*]	1,361 ^{ns}

Resíduo (b)	192		
CV (a)		7,56	16,56
CV (b)		3,33	7,69
Média geral		56,50	39,14