

Universidade Federal de Pelotas
Faculdade de Agronomia Elizeu Maciel
Departamento de Ciência e Tecnologia de Agroindustrial
Programa de Pós-Graduação - Mestrado



Dissertação

**EFEITO DA RADIAÇÃO UV-C DURANTE O CULTIVO DE
MORANGOS: ASPECTOS BIOQUÍMICO-FISIOLÓGICOS E
TECNOLÓGICOS**

Giseli Rodrigues Crizel
Bacharel em Química de Alimentos

Pelotas, 2012.

GISELI RODRIGUES CRIZEL

**EFEITO DA RADIAÇÃO UV-C DURANTE O CULTIVO DE MORANGOS:
ASPECTOS BIOQUÍMICO-FISIOLÓGICOS E TECNOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Ciência e Tecnologia Agroindustrial).

Comitê de orientação:
Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi
Pesq. Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano

PELOTAS
Rio Grande do Sul – Brasil

Janeiro, 2012.

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – xxx-xxx)

M929 p Crizel, Giseli Rodrigues. Efeito Da Radiação Uv-C Durante O Cultivo De Morangos: Aspectos Bioquímico-Fisiológicos E Tecnológicos / Giseli Rodrigues Crizel; Orientação Cesar Valmor Rombaldi e . Fernando Ruffino Flores Cantillano - Pelotas, 2012. xxf.- Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2012.

1.xxx 2.xxx 3.xxx 4.xxx 5.xx I. .Rombaldi, Cesar Rombaldi (orientador) II. Fernando Ruffino Flores Cantillano (orientador)
III. Título.

CDD 664.8

Banca Examinadora

Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano – EMBRAPA-CPACT- ORIENTADOR

Prof. Dr^a. Carla Rosane Barboza Mendonça (CCRFA/UFPeI) - EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Barbosa Malgarim – (UFPEL) – EXAMINADOR

Prof. Dr. Valdecir Carlos Ferri (CCRFA/UFPeI) – EXAMINADOR

*Dedico à família que sempre
me deu apoio.*

Agradeço...

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial e a Capes pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pelo estímulo e ensinamentos, em especial ao Dr. César Valmor Rombaldi.

À Embrapa Clima Temperado pela oportunidade na realização de meus experimentos, aos pesquisadores pelos ensinamentos e apoio, em especial ao Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano pela inestimável orientação, confiança e incentivo na realização deste trabalho.

Aos colegas dos Laboratórios de Ciência e Tecnologia de Alimentos e Pós-colheita da Embrapa, pelo companheirismo, amizade e colaboração, em especial Sr. Luiz Fernando Volcan e Jussara Xavier dos Santos pela incansável paciência comigo.

A todos os meus amigos (as), que apesar da distância me acompanharam nesta jornada, em especial a Taisa Bandeira Leite, que além de amiga, colaborou com toda sua dedicação na última etapa deste trabalho, pela força e incentivo em todas as horas em que necessitei.

Aos meus pais, José Luiz e Ivone, que ajudaram a construir a pessoa que sou hoje e direcionaram com afeto e dedicação a minha formação.

À minha segunda família, Adarque, Elizabete e Marcio, que me “adotaram” e me ampararam em todos os momentos da minha vida acadêmica, a minha eterna gratidão.

À Rosane Lopez Crizel, quem eu “adotei” neste ano de 2011, que com sua atenção e paciência me ouviu e auxiliou em todas as horas em que necessitei.

Á todos que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

RESUMO

CRIZEL, G. R. **Efeito da radiação uv-c durante o cultivo de morangos: aspectos bioquímico-fisiológicos e tecnológicos.** 2012. 72f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Em um primeiro experimento se objetivou estudar alterações decorrentes do efeito da radiação UV-C (comprimento de onda de 100-280 nm) aplicada durante o cultivo de morangueiros cvs. Aromas e Albion e no segundo experimento objetivou-se estudar a aplicação de radiação UV-C durante o período vegetativo (estolonamento) de morangueiros cv. Aromas avaliaram-se para ambos os experimentos: firmeza de polpa, teor de fenóis totais, antocianinas totais, carotenóides totais, ácido L-ascórbico, atividade antioxidante e atividade da enzima fenilalanina amonioliase, textura da polpa e cor da epiderme. A radiação UV-C aplicada durante o cultivo não alterou a firmeza na cv. Aromas, já para os frutos da cv. Albion resultou em menor firmeza dos frutos. A aplicação da radiação UV-C originou na cv. Aromas frutos com massa média superior, sendo que para a cv. Albion não houve diferença entre os tratamentos. Um incremento no teor de ácido ascórbico, teor de compostos fenólicos, no teor de antocianinas totais e atividade antioxidante, assim como uma maior atividade da PAL foram verificados para os frutos tratados. As 24 aplicação de radiação UV-C durante o cultivo de morangos promove maturação antecipada de 4 dias, a indução da síntese de moléculas antioxidantes, como compostos fenólicos e antocianinas, possivelmente como consequência da maior atividade de enzima PAL. A radiação UV-C aplicada 34 vezes durante o ciclo vegetativo de formação de estolões, no segundo experimento, obteve-se mudas que produzem frutos com maturação antecipada em 8 dias, com maior teor de ácido L-ascórbico, antocianinas e carotenóides, sem alterar a produção por planta nem o peso médio dos frutos. Com esses resultados, pode-se concluir que a aplicação de radiação UV-C durante o ciclo de cultivo precedente afeta a qualidade dos frutos do cultivo sucessivo. A explicação mais plausível para a elevação dos compostos fitoquímicos é de que o estresse causado pela radiação UV-C na planta geram espécies reativas de oxigênio (ERO), que estimulam respostas de defesa através do aumento da atividade da PAL, enzima responsável pela síntese de compostos fenólicos.

Palavras-chave: Radiação Ultravioleta. Estresse abiótico. Metabolismo secundário. Fitoquímicos. Capacidade antioxidante.

ABSTRACT

CRIZEL, G. R. **Effect of UV-C radiation during cultivation of strawberries: biochemical and physiological aspects and technological.** 2012. 71f. Dissertation (Master Degree in Agroindustrial Science and Technology) Federal University of Pelotas, Pelotas.

In order to study the effect of changes resulting from UV-C radiation (254 nm) applied during the cultivation of strawberry cv. Aromas and cv. Albion and during the growing season of strawberry cv. Aromas were evaluated: firmness, content of total phenols, total anthocyanins, carotenoids, ascorbic acid, antioxidant activity and phenylalanine amonioliase enzyme activity, texture and superficial color. The UV-C applied during the going don't changed the firmness of cv. Aromas, but the fruits of cv. Albion treated with UV-C resulted in lower firmness. The UV-C tratament in cv. Aromas resveted in fruits with higher weight, and for cv. Albion no diference were found. An increase in ascorbic acid, phenolic content, anthocyanins and antioxidant activity, as well as an increase in PAL activity was observed in the treated fruits. Thus, the UV-C application during cultivation promotes the induction of antioxidant molecules synthesis, such as phenolic compounds and anthocyanins possibly as a result of increased PAL enzyme activity. Evaluating the application of UV-C during the vegetative cycle of stolon formation, was obtained that plants produce fruits withearly maturity the 8 days, with higher content of L-ascorbic acid, anthocyanins and carotenoids, without affecting the yield per plant or the weight of fruit. With these results, it can be concluded that the application of UV-C radiation during the previous crop cycle affects the quality of the fruits of continuous cultivation.

Keywords: Ultraviolet. Abiotic stress. Secondary metabolism. Phytochemicals. Antioxidant capacity.

LISTA DE FIGURAS

Revisão bibliográfica

Figura 1 Vista externa e interna do pseudofruto e o aquênio.....	17
Figura 2 Mecanismo de proteção das plantas frente radiação UV.....	21
Figura 3 Atuação da PAL no aminoácido L-fenilalanina.....	23
Figura 4 Estrutura genérica das antocianinas a partir do esqueleto das.....	24
Figura 5 Síntese de carotenóides.....	25
Figura 6 Via Smirnoff-Wheeler de formação do ácido L-ascórbico a partir da D-glicose.....	26

Artigo 1

Figura 1 Morangueiros em canaletas, do lado A com lâmpadas de luz UV-C e do lado B os controles.....	32
Figura 2 - Estados fenológicos em que os morangos serão submetidos ao tratamento com luz UV-C durante o cultivo.....	33
Figura 3 Teor de ácido L-ascórbico (AA), compostos fenólicos totais (CA), antocianinas totais (AT) e capacidade antioxidante de morangos cv. Aromas e Albion tratados com luz UV-C durante o cultivo e controle.....	35
Figura 4 Atividade enzimática da PAL em morangos cvs. Aromas e Albion, tratados e não tratados com UV-C durante a pré-colheita.....	36

Artigo 2

Figura 1 Esquema ilustrando as etapas da obtenção de mudas de morangueiros provenientes de matrizes cultivadas com tratamento UV-C.....	47
---	----

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1. Massa média do fruto, firmeza de polpa e cor (°H) em morangos cv. Aromas e Albion, com e sem tratamento com UV-C durante o cultivo. FAEM/UFPel, Pelotas, 2011.....	35
---	----

Artigo 2

Tabela 1. Principais características (massa média do fruto (MF), produção por planta (P/P), de textura e cor (°H) dos morangos, cv. Aromas, colhidos de plantas provenientes de matrizes não tratadas (T1) e tratadas (T2) com radiação UV-C. FAEM/UFPel, Pelotas, 2011.....	51
Tabela 2. Teor de antocianinas totais, compostos fenólicos totais, ácido ascórbico, carotenóides totais e capacidade antioxidante de morangos cv. Aromas. FAEM/UFPel, Pelotas, 2011.....	51

Lista de Abreviaturas

°C – Graus Celsius

°H - Ângulo Hue

B-gal – β -galactosidase

AA – Ácido Ascórbico

AT - Antocianinas Totais

BHT - Di-terc-butil metil fenol (Butylated hydroxytoluene)

CA - Capacidade antioxidante

CFT - Compostos fenólicos totais

CT - Carotenóides Totais

cv. - Cultivar

cvs. - Cultivares

DHA - Ácido dehidroascórbico

DNA - Ácido desoxiribulcléico

g - Gramas

MF- Massa do fruto

mL – Mililitro

N -Newton

nm - Nanômetro

PAL – Fenilalanina amônio-liase

ROS – Espécies reativas de oxigênios

RPM - Rotações por minuto

TE – Equivalente Trolox

UV - Radiação ultravioleta

UV-C - Radiação ultravioleta de 100-280 nm

Sumário

1 Introdução e Justificativa.....	15
1.1 Hipótese.....	16
1.2 Objetivo	16
2 Revisão Bibliográfica.....	17
2.1 Morango.....	17
2.1.1 A incidência de radiação uv sobre a fisiologia de morangos.....	19
2.1.2 Metabólitos secundários.....	21
2.1.2.1 Compostos fenólicos	22
2.1. 2.2 Carotenóides.....	24
2.1.2.3 Ácido ascórbico.....	26
2.1.2.4 Atividade Antioxidante.....	27
3 Artigo 1 Indução Da Síntese De Compostos Fitoquímicos Em Morangos Pela Aplicação De Uv-C Durante O Cultivo.....	29
1 Introdução.....	29
2 Material e Métodos.....	31
2.2 Análises.....	32
2.2.1. Coloração da epiderme.....	32
2.2.2. Firmeza de Polpa.....	32
2.2.3 Antocianinas totais.....	32
2.2.4 Compostos fenólicos totais.....	32
2.2.5 Capacidade antioxidante.....	33
2.2.6 Acido ascórbico.....	33
2.2.7 A atividade da fenilalanina amônia liase (PAL E.C 4.3.1.24).....	33
2.2.8.Delineamento experimental e análise estatística.....	33
3 Resultados.....	34
3.1 Alterações fenotípicas.....	34
3.2 físico-químicas.....	34
3.3 Atividade da Fenilalanina Amônia Liase.....	36
4.Discussão	36
5 Conclusão.....	38
6 Referências.....	39

4 Artigo 2 - alterações das características físico-químicas de morangos produzidos a partir de mudas provenientes de matrizes radiadas com uv-c.....	45
1 Introdução.....	45
2 Material E Métodos.....	47
2.1 Material vegetal.....	47
2.2 Análises.....	48
2.2.1 Aspectos das plantas e Produtividade	48
2.2.2. Textura de Polpa.....	48
2.2.3. Coloração da epiderme.....	48
2.2.4 Antocianinas totais.....	48
2.2.5 Compostos fenólicos totais.....	49
2.2.6 Ácido ascórbico.....	49
2.2.7 Carotenóides totais.....	49
2.2.8 Capacidade antioxidante.....	50
2.2.9 Desenho experimental e análise Estatística.	50
3 Resultados	50
4 Discussão.....	51
5 Conclusão.....	53
6 Referências.....	53
5 Considerações Finais.....	57
6 Referências.....	59
7 Apêndices.....	67

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A procura por alimentos ricos em compostos funcionais se deu a partir da década de 90, quando a população começou a se preocupar mais com uma dieta a base de vegetais, buscando uma alimentação livre de agroquímicos, priorizando a qualidade de vida e a saúde. Fato este que resultou na forte demanda por alimentos com alto teor de substâncias como vitaminas, pigmentos e compostos fenólicos que possuem capacidade antioxidante. Estes compostos estão presentes em maior quantidade nas pequenas frutas, sendo o morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) a espécie de maior expressão econômica dentre as pequenas frutas, e a mais amplamente consumida, em função do seu sabor pronunciado e por apresentar elevados teores de compostos fitoquímicos.

O morango é um fruto não climatérico, entretanto apresenta alta perecibilidade pós-colheita devido a sua alta atividade metabólica se tornando um fruto de difícil conservação e de vida de prateleira reduzida. Apesar dos esforços técnicos na seleção de novas cultivares de morangos, na forma de cultivo e manejo de culturas, uma parte significativa da safra se perde tanto quantitativamente como qualitativamente entre o campo e a chegada na mesa do consumidor. Desta forma, se faz necessário aprimorar técnicas aplicáveis na pré-colheita com intuito de tornar esta cultura mais resistente à doenças e patógenos, reduzindo as perdas através de métodos que não afetem o meio ambiente nem a saúde do consumidor e que sejam capazes de elevar e/ou preservar ao máximo os compostos funcionais presentes no fruto.

Nos vegetais vários fatores influenciam a biossíntese dos compostos provenientes do metabolismo secundário, dentre estes fatores têm-se o teor de macro e micronutrientes no solo, o clima, o fotoperíodo, tratamentos culturais e a incidência de radiação ultravioleta. Sabendo-se que estresses moderados como a incidência de radiação UV podem ativar mecanismos de defesa nos vegetais, o uso da radiação UV-C na pré-colheita surge como hipótese de uma técnica promissora, que ajudaria estimular a resistência da planta e a potencializar compostos benéficos para saúde, além de poder reverter o conceito de que o morango é um fruto com alto índice de contaminação por agrotóxicos, aplicando-se através de uma tecnologia

limpa e saudável.

No entanto, faltam estudos que visem elucidar o benefício da sua aplicação durante o cultivo. Desse modo, este estudo visa avaliar a possível indução ao metabolismo secundário e o incremento do teor de compostos fitoquímicos através do uso da radiação UV-C, aplicada durante a fase de crescimento e desenvolvimento dos morangos.

1.1 HIPÓTESE

A radiação UV-C aplicada durante o cultivo do morangueiro ativa a biossíntese de metabólitos secundários, eleva os teores de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e de ácido ascórbico em morangos.

A radiação UV-C aplicada durante o ciclo vegetativo de formação de estolões, em matrizes de morangueiros resulta em mudas que produzem frutos com maiores teores de compostos provenientes do metabolismo secundário.

1.2 OBJETIVO

Estudar a influência da radiação UV-C aplicada durante o cultivo de morangos da cvs. Aromas e Albion no que se refere a compostos fitoquímicos provenientes do metabolismo secundário.

Avaliar aspectos funcionais e de qualidade de morangos produzidos por plantas provenientes de matrizes radiadas com UV-C.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MORANGO

O morango é um pseudofruto resultante do crescimento do receptáculo de um conjunto de flores fertilizadas, sendo o fruto verdadeiro o aquênio, também conhecido popularmente como semente (Fig.1). O morango é proveniente da cultura do morangueiro, botanicamente é classificado como uma hortaliça pertencente à família *Rosaceae*, subfamília *Rosoidea* e gênero *Fragaria* (SANHUEZA et al., 2005), é uma planta herbácea, rasteira, com características de cultura perene, porém é cultivada como cultura anual. Originou-se do cruzamento entre *Fragaria chiloensis* e *F. virginiana*, ocorrido espontaneamente na França, por volta de 1750 (SANTOS 1999).

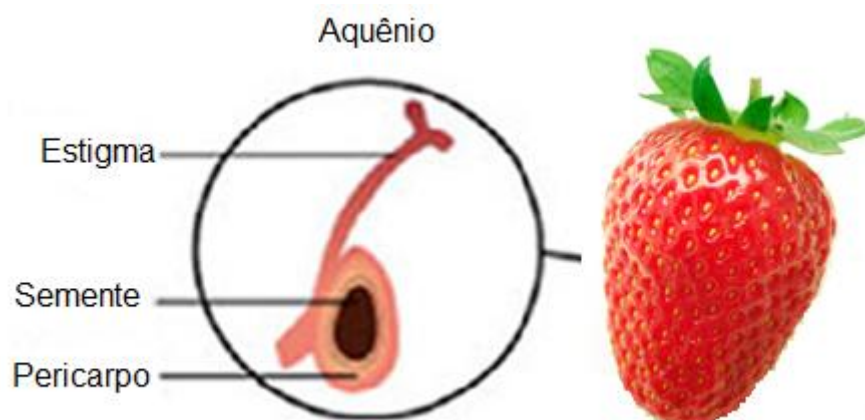


Figura 1. Vista externa e interna do pseudofruto e o aquênio.

Fonte:Embrapa, 2010.

O morangueiro geralmente é reproduzido assexuadamente através de hastes rastejantes que crescem horizontalmente, e produzem por meio de brotações denominadas estolões mudas geneticamente idênticas à planta-mãe (RAVEN et al. 2007). Aproximadamente 80 dias após o plantio das mudas se inicia a colheita dos frutos, dependendo das condições climáticas, tipo de solo, tratamentos culturais, método de produção de mudas e cultivar, pode-se prolongar por quatro a seis meses, em função do fotoperíodo, disponibilidade de água e qualidade fitossanitária (CANTILLANO; SILVA, 2010).

Apreciado no mundo inteiro, o morango tem um grande mercado na economia mundial (MADAIL et al., 2007). Os principais países produtores são o Estados Unidos, Espanha, Coréia, Rússia, Polônia, Japão e Turquia (ARAUJO, 2011). Embora o Brasil não se encontre entre os maiores produtores, sua produção vem crescendo nos últimos anos (PAGOT; HOFFMANN, 2003). Atualmente a produção brasileira de morango atinge 133 mil toneladas, obtida em uma área de aproximadamente 3.718 hectares, sendo os principais produtores os Estado de Minas Gerais com a maior produção, seguido por São Paulo e Rio Grande do Sul (RADIN et al., 2011). As principais cultivares utilizadas no país provém da Universidade da Califórnia no Estados Unidos, e podem ser classificadas em cultivares de dias curto, neutros e longos (WREGE et al. 2007) dentre elas destacam-se as cultivares (cvs.) “Aromas”, “Camarosa” e “Oso Grande” (OLIVEIRA et al., 2007).

No Brasil, o morango é a espécie do grupo das pequenas frutas com maior expressão econômica e tradição no cultivo, especialmente nas regiões Sudeste e Sul. Apresenta grande adaptabilidade, razão pela qual se difundiu nas regiões de clima temperado a subtropical (PAGOT & HOFFMANN, 2003), onde se produz morango para consumo *in natura* e também para industrialização, contribuindo como uma importante atividade econômica, principalmente em pequenas propriedades rurais que utilizam mão-de-obra familiar (RADIN et al., 2011).

O morango é amplamente consumido em função do seu aspecto atraente, sabor pronunciado e por apresentar elevados teores de compostos antioxidantes, que são capazes de neutralizar a ação dos radicais livres (KHANIZADEH, 2009). A coloração vermelha forte é um fator importante na qualidade dos frutos e seus subprodutos, sendo afetada pelo conteúdo total de antocianinas e sua distribuição (BOBBIO & BOBBIO, 1992). Segundo Silva et al. (2006), este fruto apresenta teores de antocianinas altamente expressivas quando comparado aos obtidos para espécies como o mirtilo, que são conhecidos por exibirem elevada capacidade antioxidante.

Apesar da grande produção e dos inegáveis avanços tecnológicos da cultura do morango, alguns gargalos permanecem limitando a produtividade e a realidade da cultura (PAGOT & HOFFMANN, 2003). Outro fator limitante é o uso de inúmeras

pulverizações com agrotóxicos durante o ciclo, com o intuito de produzir fruto aparentemente saudável. No entanto, devido a este fato que o fruto se encontra na lista dos alimentos com altos teores de resíduos químicos, como consequência disso, produtores, consumidores e o meio ambiente, correm riscos de contaminação com reflexos negativos na cadeia produtiva (MADAIL, 2007). Diante disso, faz-se necessário o aprimoramento da tecnologia de manejo da fruta visando produzir um fruto com menos contaminação, prolongar sua vida útil e manter os compostos de interesse presentes no fruto (PAGOT & HOFFMANN, 2003).

2.1.1 A INCIDÊNCIA DE RADIAÇÃO UV SOBRE A FISIOLOGIA DE MORANGOS

A qualidade fisiológica dos morangos está condicionada a fatores de pré-colheita. Assim, as práticas culturais, como adubação, tratamentos fitossanitários, qualidade das mudas, as características genótípicas, condições edafoclimáticas e disponibilidade de água e de macro e micro nutriente são fatores de pré-colheita primordiais para obter um produto com uma qualidade aceitável (CANTILLANO & SILVA, 2010). Apesar do morango ser uma das espécies mais estudadas do ponto de vista genômico (SHULAEV, et al. 2010; BAPAT et al., 2010), agrônomo (ANTUNES et al., 2010) e na pós-colheita (ERKAN, et al., 2008), este ainda enfrenta desafios devido a sua elevada perecibilidade (POMBO, et al., 2011).

O morango é denominado não climatérico, porém altamente perecível devido ao seu alto metabolismo e alto teor de água, resultando em uma vida de prateleira limitada pela perda de massa, alteração de textura e deterioração microbiológica, principalmente por fungos, tanto na pré como na pós-colheita (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Dependendo das condições climáticas e do manejo da planta no campo as perdas tanto quantitativas como qualitativas podem ser mais ou menos severas. Os protagonistas responsáveis pelas podridões mais comuns são *Botrytis cinérea* responsável pelo mofo cinzento e o *Rhizopus stolonifer* e *Mucor spp* pela podridão Mole (CANTILLANO; SILVA, 2010).

Estes problemas têm incentivado a busca por métodos alternativos para o controle da vida útil dos frutos, como utilização de revestimentos ou coberturas comestíveis, refrigeração, irradiação gama, radiação UV e uso de atmosfera controlada (WSZELAKI; MITCHAM, 2003; ALLENDE, et al., 2007). Dentre estes a

radiação UV tem se mostrado bastante eficiente.

Com intuito de reduzir à incidência de podridões a radiação UV-C tem sido usada na pós-colheita de frutos com resultados promissores, pois esta radiação possui ação germicida e tem como alvo principal o material genético (DNA/RNA) de bactérias, fungos e vírus. Age penetrando na célula, onde provoca um rearranjo da informação genética, interferindo na capacidade de reprodução da célula por dano fotoquímico, podendo haver a formação de dímeros de timina que irão bloquear a ação da DNA *polimerase*, impedindo que a célula possa se replicar, ocasionando a morte celular (ZAHA, 2003). Este tratamento também pode induzir inúmeras mudanças, incluindo produção de componentes anti-fúngicos ocasionando o prolongamento da vida pós-colheita (SHAMA & ALDERSON, 2005).

A utilização da UV-C tem sido preconizada como tratamento físico na pós-colheita de frutos, não somente visando prevenir podridões (VICENTE et. al., 2005; COSTA et. al., 2006 e POMBO et. al. 2011), mas também retardar a senescência de diferentes espécies de frutas e vegetais (ERKAN et. al., 2001; COSTA et. al., 2006; POMBO et. al., 2009), aumentar a produção de compostos fenólicos e capacidade antioxidante (ERKAN, WANG, S. e WANG, C. 2008; SEVERO, 2009), podendo também estar relacionada com a inativação de enzimas que atuam na hidrólise de hemiceluloses e pectinas (POMBO, et al., 2011). Outros estudos durante cultivo vêm sendo publicados com o objetivo de induzir a resistência de plantas de amendoim (TANG et. al.. 2009), videira (WANG, et al. 2010) e macieira (KONDO, et al. 2011), durante o ciclo vegetativo com resultados promissores.

A exposição de um tecido vegetal fisiologicamente ativo a radiação UV eleva o nível de espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidroxila (OH) e pode causar danos oxidativos à proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, causar efeitos sobre a atividade enzimática e expressão gênica, o que levaria ao dano celular e morte celular programada (MACKERNESS et al., 2001). Com isso, plantas desenvolveram mecanismos de defesa incluindo antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos e produção de metabólitos secundários para neutralizar o efeito destrutivo de ROS (fig. 2) (JANSEN et al., 2008). Ao ser detectado um incremento no nível de ROS o sistema de sinalização da planta ativa enzimas responsáveis pelas vias de

transdução de sinais que manifestam mudanças celulares e fisiológicas com a finalidade de proteger a planta contra este estresse (SEVERO, 2009).

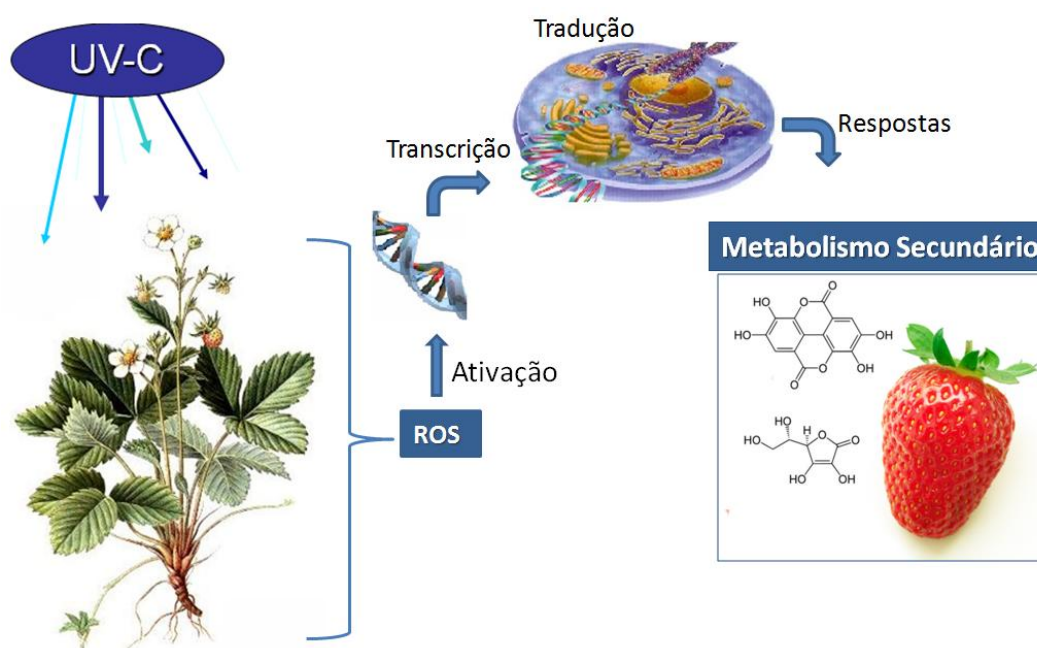


Figura 2. Mecanismo de proteção das plantas frente radiação UV-C;

Fonte: Acervo do autor. FAEM/UFPEL, 2011.

A proteção duradoura ou não contra estresses depende de vários agentes que podem induzir “sinais” no tecido vegetal que desencadeiam respostas de resistência. Estes sinais promovem a ativação de mensageiros secundários como ácido salicílico e jasmônico, levando a síntese subsequente da PAL, peroxidases e fitoalexinas (RESENDE, 2002), através do metabolismo secundário.

2.1.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

As plantas possuem um metabolismo extremamente eficiente no que diz respeito a sua defesa, este se subdivide em duas partes: metabolismo primário e metabolismo secundário (TAIZ & ZEIGER, 2009). No metabolismo primário são encontradas as moléculas básicas para o funcionamento da célula como aminoácidos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Já no metabolismo secundário, são produzidas outras substâncias que não são consideradas básicas na estrutura das células, mas que normalmente aparecem em tecidos e órgãos específicos da planta, ou ainda, em diferentes estádios de desenvolvimento da planta (HOPKINS & HUNER, 2004).

Os metabólitos secundários podem ser sintetizados por todas as plantas, esta característica se desenvolveu durante a evolução, quando as plantas tiveram a necessidade de usar um mecanismo de adaptação para competir com outras, assegurando sua sobrevivência (SOUZA FILHO & ALVES, 2002), para auxiliar na defesa e proteção contra estresses bióticos ou abióticos (TAIZ; ZEIGER, 2009; ERKAN, 2008; KEUTGEN; PAWELZIK, 2007).

Os compostos do metabolismo secundários nas plantas podem ser divididos em três grupos distintos quimicamente: terpenos, compostos fenólicos e componentes contendo nitrogênio (SHAHIDI; HO, 2005). Este metabolismo tem sido responsável pelos altos níveis e a grande variedade de compostos com capacidade de neutralizar os radicais livres, como os de origem fenólica (ácidos fenólicos, flavonóis, antocianinas) e/ou a combinação destes compostos e o sinergismo com outros, como vitamina C, que também podem ser os responsáveis pela atividade antioxidante dos frutos (ZAICOVSKI, 2008).

2.1.2.1 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos englobam uma gama enorme de substâncias, entre elas os ácidos fenólicos, os quais, por sua constituição química, possuem propriedades capazes de inativar radicais livres. Os compostos fenólicos são substâncias químicas que apresentam no mínimo, uma hidroxila diretamente ligada a um anel aromático (HARBONE, 1997; YAMADA, 2004). Alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, enquanto outros são solúveis em água. Estas substâncias agem na planta como compostos de defesa contra herbívoros e patógenos, possuem ação alelopática e atraem polinizadores e dispersores de sementes, além de proteger as plantas frente aos raios UV (TAIZ & ZEIGER, 2009; KEUTGEN & PAWELZIK, 2007).

Para a formação destes compostos fenólicos estão envolvidas duas rotas metabólicas, a rota do ácido malônico e a rota do ácido chiquímico. Sendo que a classe mais abundante de compostos fenólicos em plantas é derivada da rota do ácido chiquímico (TAIZ & ZEIGER, 2009). Isto ocorre através da eliminação da amônia do aminoácido fenilalanina pela ação da enzima fenilalanina amônio-liase (PAL, E.C 4.3.1.24) (fig. 3), ocorrendo a formação do ácido cinâmico precursor da formação de muitos compostos fenólicos vegetais, incluindo fenilpropanóides,

cumarinas, lignina, antocianina, isoflavonas, taninos, flavonóides, entre outros (YAMADA, 2004).

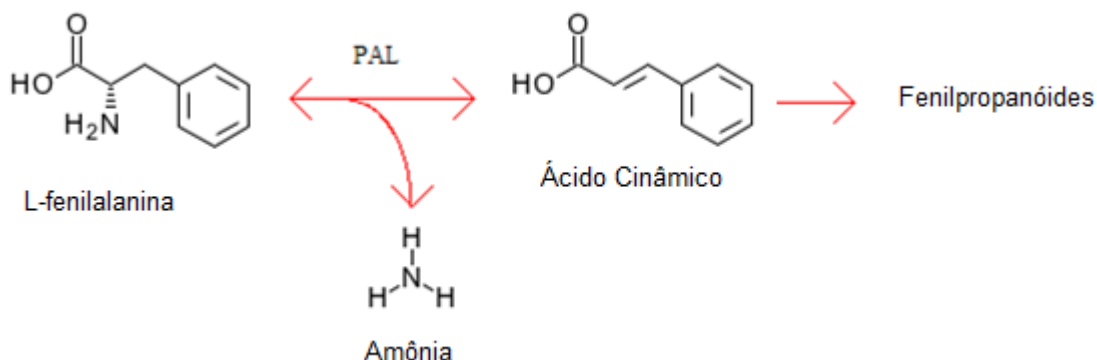


Figura 3 - Atuação da PAL no aminoácido L-fenilalanina.

Fonte: Adaptado do KEGG, 2009.

São várias as espécies de plantas que possuem constituintes fenólicos na sua composição química (RICE-EVANS, 2001; STAHL; SIES, 2007). Dentre estes compostos encontram-se as antocianidinas, flavonas, flavonóis e, com menor frequência, as auronas e isoflavonas. Os flavonóides possuem um núcleo básico flavílio, que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um átomo de oxigênio (MEYERS et al., 2003; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009), sendo os compostos mais diversificados do reino vegetal.

As antocianinas são flavonóides amplamente distribuídos na natureza (MALACRIDA & MOTTA, 2006) principais responsáveis pela coloração da maioria dos frutos, podendo colorir frutos numa faixa que varia entre o vermelho e o azul, esta cor é influenciada por muitos fatores, incluindo o número de grupos hidroxila e metoxila no anel B da antocianidina (TAIZ; ZEIGER, 2009) e o pH em que esses pigmentos estão armazenados no vacúolo celular (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). A molécula de antocianina é constituída por duas ou três porções, uma de aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, freqüentemente, um grupo de ácidos orgânicos (NYMAN; KUMPULAINEN, 2001).

Estudos mais avançados mostraram que essas estruturas antociânicas agem reparando e protegendo a integridade genômica do DNA, são benéficas em reduzir estresse oxidativo decorrentes da ação de radicais livres que podem ocasionar sérios impactos na saúde humana (BAGCHI et al., 2004; DIMITRIUS, 2006). Seu

potencial antioxidante é dependente das diferenças na sua estrutura química, variando com a posição, os tipos de grupos químicos nos anéis aromáticos (fig. 4), a capacidade de aceitar elétrons desemparelhados, o número e a posição dos grupos hidroxilas e sua conjugação.

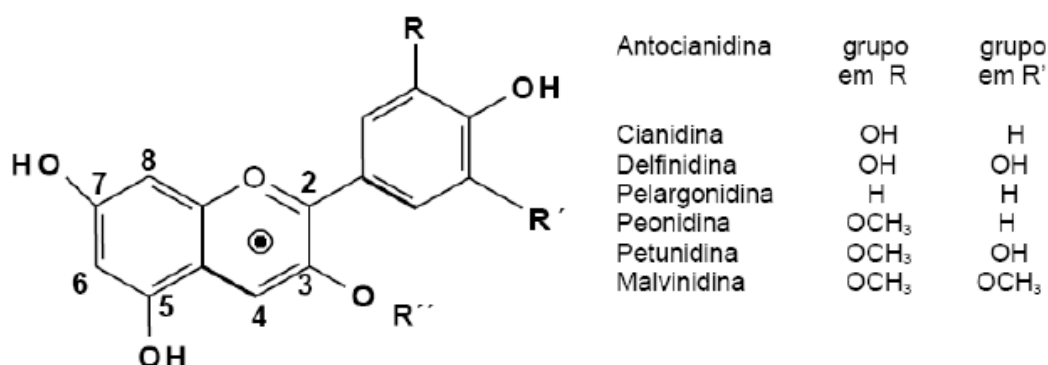


Figura 4 - Estrutura genérica das antocianinas a partir do esqueleto das antocianidinas.

Fonte: LIMA; GUERRA, 2003.

2.1. 2.2 CAROTENÓIDES

Os carotenóides representam um grupo de pigmentos naturais lipossolúveis com tonalidades que variam do amarelo ao vermelho, mudando para o azul, sendo amplamente encontrados em frutos (IBDAH et al., 2006). São formados por unidades de isopreno, derivados da rota metabólica de produção de terpenos e esteróis pela via do mevalonato, através do acetil CoA, que forma o pirofosfato de isopentânila (IPP) e seu isômero pirofosfato de dimetilalila (DMAPP) e que darão origem ao geranyl geranyl difosfato (GGPP), que pela ação da fitoeno sintase, formará fitoeno dando origem aos politerpenos, alguns deles como o β -caroteno, o licopeno, a zeaxantina, a criptoxantina e a luteína (Fig.5), (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Nas plantas, são encontrados nos plastídios, absorvendo e transferindo luz para a clorofila, além de oferecer proteção aos tecidos fotossintéticos contra a fotoxidação (TAIZ; ZEIGER, 2009). A biossíntese de carotenóides é essencial para a proteção contra estragos causados pela luz e o oxigênio atmosférico resultando em uma maior produção deste pigmento nos tecidos fotossintéticos das plantas (FARIA, et al., 2008). Estes pigmentos, como o β -caroteno, atuam em diversos processos vitais dos animais, como na manutenção da visão, na integridade do sistema

imunológico, na formação e manutenção do tecido epitelial, nas estruturas ósseas e dentes, na diferenciação, proliferação celular e na reprodução e crescimento (GERMANO; CANNIATTI BRAZACA, 2004).

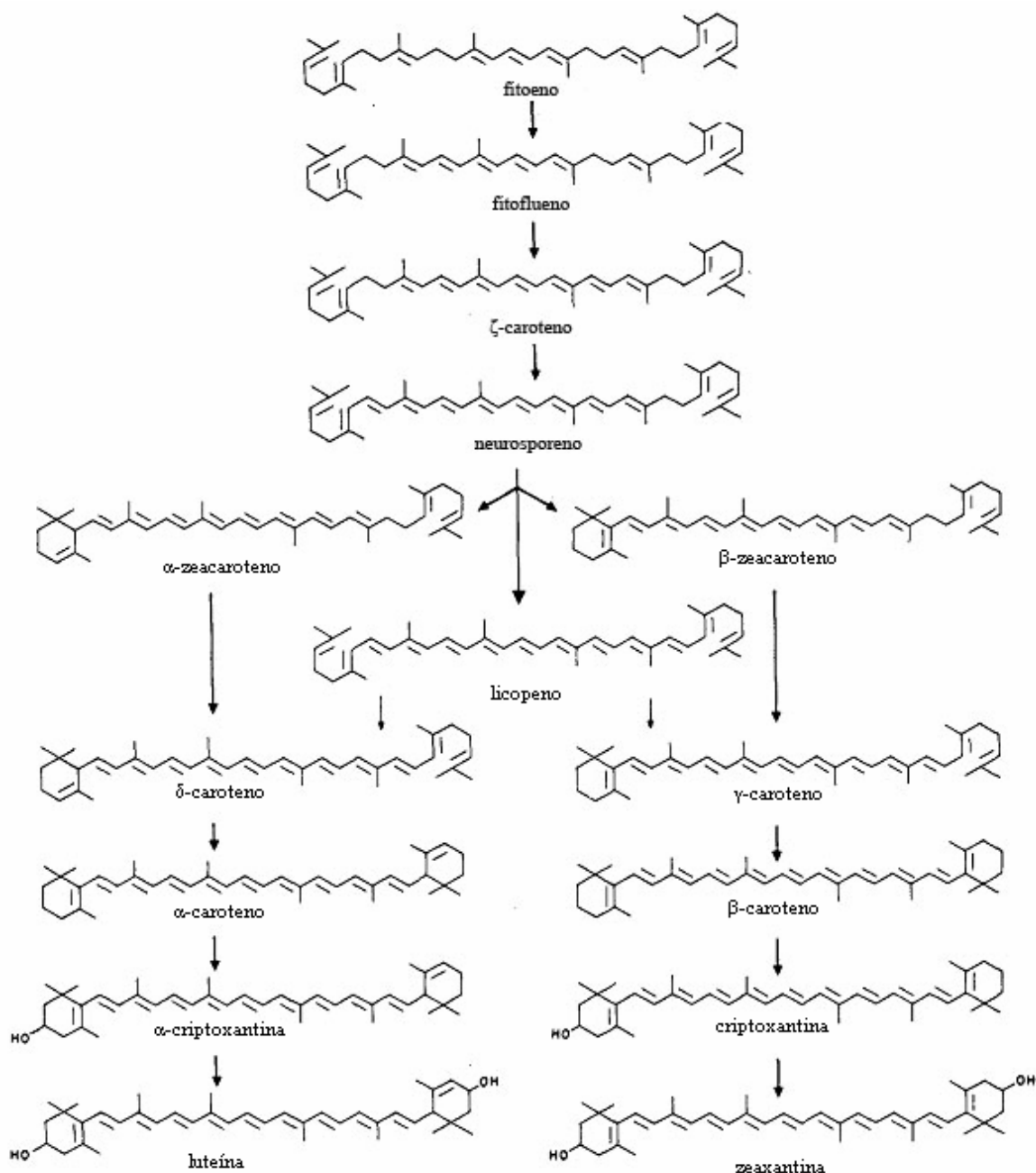


Figura 5. Síntese de carotenóides

Fonte: AMBRÓSIO et al, 2006.

2.1.2.3 ÁCIDO ASCÓRBICO

A biossíntese do ácido L-ascórbico denominada via de Smirnof-Wheeler tem como precursor imediato a L-galactono-1,4-lactona (L-GL) e os intermediários envolvidos são açúcares fosforilados e nucleotídeos ligados a açúcares (fig. 6). Vários estudos têm confirmado este mecanismo (GATZEK et al, 2002)

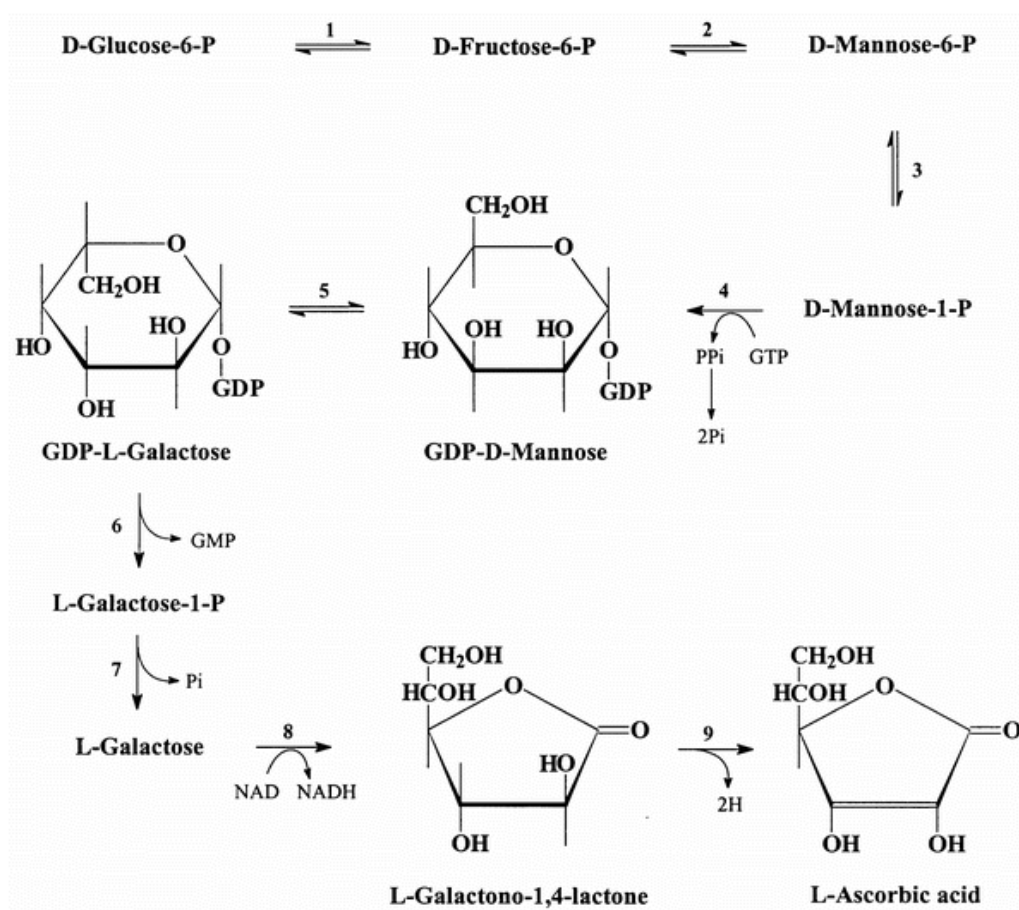


Figura 6. Via Smirnof-Wheeler de formação do ácido L-ascórbico a partir da D-glicose.

Fonte: LINSTER, 2007.

O ácido ascórbico (AA) e o ácido dehidroascórbico (DHA) possuem importante atividade biológica sob as reações de stress oxidativo, sendo o ácido L-ascórbico o principal composto com atividade vitamínica (CORDENUNSI et al., 2005). O AA possui um grupo ene-diol nos átomos de carbono 2 e 3 que são responsáveis por sua propriedade ácida e redutora, pois ele pode se ionizar e doar elétrons. Dessa forma, o AA reage com ROS tais como H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$ e $^1\text{O}_2$, inativando-

as devido a sua capacidade antioxidante (ASARD; MAY; SMIRNOFF, 2004).

No organismo humano o AA atua na formação do tecido conjuntivo, na biossíntese de colágeno, na regulação de vários genes responsáveis pelo metabolismo energético, no controle de infecções e inflamações e contra danos causados pelo estresse oxidativo celular (TRABER; STEVENS, 2011). Nas plantas, participa de uma variedade de processos, incluindo fotossíntese, fotoproteção, crescimento da parede celular, expansão celular, resistência a estresses ambientais e síntese de etileno, giberelina, antocianinas e hidroxiprolina (CONKLIN; BARTH, 2004).

O teor de AA nas plantas varia com mudança de luz (BADEJO et al., 2009. LI et al, 2009), hora do dia (CHEN & GALLIE, 2004), idade da planta (BARTOLI et al., 2000), tecido da planta, (LORENCE et al., 2004), e compartimento celular (ZECHMANN et al., 2011). Isso ocorre, pois o AA é uma parte do sistema antioxidante vital para desintoxicar os radicais livres gerados como produtos colaterais, é também um co-fator para muitas enzimas (ARRIGONI; DE TULLIO, 2000) e controla a divisão celular (PASTORI et al., 2003; SMIRNOFF; WHEELER, 2000). Podendo ser importante na senescência das plantas, defesa e respostas ao estresse (LOPEZ-CARBONELL et al., 2006).

2.1.2.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os alimentos com atividade antioxidante são denominados de funcionais e apresentam diferentes constituintes químicos na sua maioria provenientes do metabolismo secundário (BAGCHI et al., 2004; AABY et al., 2005). A atividade antioxidante de um determinado fruto é resultante da interação de seus compostos, os quais podem propiciar efeitos sinérgicos (KUSKOSKI et al. 2006). Tais compostos incluem os da classe de fenóis (ácidos fenólicos e seus derivados, flavonóides, tocoferóis), aminoácidos, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis (ROESLER et al., 2007).

Os antioxidantes são capazes de inibir e/ou retardar a velocidade de reações oxidativas de diversos substratos, de moléculas simples até polímeros e de biosistemas complexos, através de dois mecanismos: o primeiro envolve a inibição de radicais livres que possibilitam a etapa de iniciação; o segundo abrange a eliminação de radicais importantes na etapa de propagação, como alcóxila e

peroxila, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (SOARES, 2002; ROESLER et al., 2007). A eficiência do antioxidante é determinada pelos grupos funcionais presentes e pela posição que ocupam no anel aromático, bem como, pelo tamanho da cadeia desses grupos (MELO & GUERRA, 2002).

É denominado radical livre qualquer átomo ou molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais externos. Isto pode torná-lo altamente reativo, capaz de reagir com qualquer espécie situada próxima a sua orbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora de elétrons (STOKER & KEANEY, 2004), sendo altamente instáveis com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas, gerando reações em cadeia (SOARES, 2002).

Há evidências que a propriedade antioxidante se deve, principalmente, a estrutura fenólica (MELO; GUERRA, 2002). A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos vem sendo relacionada à presença de grupos hidroxila em sua estrutura química, fator considerado crítico para a neutralização de radicais livres (ELISIA; POPOVICH & KITTS, 2007). Essa neutralização é primariamente atribuída à alta reatividade dos substituintes hidroxilas (OH-) que neutralizam os radicais livres. O grupamento hidroxila cede um átomo de hidrogênio e um elétron para o radical livre, estabilizando-o. Devido à capacidade do grupo aromático presente na estrutura dos compostos fenólicos se reestruturarem frente ao desemparelhamento de elétrons, a estrutura do mesmo se mantém estável (KUSKOSKI et al., 2004) sem que seja formado um novo radical livre na célula.

3 ARTIGO 1 – INDUÇÃO DA SÍNTESE DE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS EM MORANGOS PELA APLICAÇÃO DE UV-C DURANTE O CULTIVO

Resumo: Estudaram-se respostas bioquímico-fisiológicas induzidas pela aplicação de radiação UV-C na pré-colheita de morangos cv. Aromas e Albion. Foram avaliados os compostos fenólicos totais, ácido ascórbico, firmeza da polpa, massa fresca, antocianinas totais, capacidade antioxidante e atividade da enzima fenilalanina amônio-liase (PAL). Para isso, aplicaram-se 2 tratamentos: T1- plantas sem aplicação de radiação UV-C (controle) e T2 plantas radiadas com a aplicação de UV-C. Para o tratamento com UV-C, as plantas foram tratadas durante 10 minutos em todo o ciclo com aplicações a cada 72 horas, numa intensidade de $3,7\text{kJ.m}^{-2}$. Até a colheita as plantas foram radiadas 24 vezes com UV-C. A aplicação de luz UV-C durante o cultivo promove a indução da síntese de moléculas antioxidantes, como compostos fenólicos e antocianinas, possivelmente como consequência da maior atividade de enzima PAL.

Palavras-chave: Radiação Ultravioleta. PAL. Metabolismo secundário. Capacidade antioxidante.

1 Introdução

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) é um pseudofruto (doravante denominado fruto) amplamente consumido em função do seu aspecto atraente, sabor pronunciado e por apresentar elevados teores de compostos antioxidantes, que são capazes de neutralizar a ação dos radicais livres (ZHANG et al., 2008). De modo geral, a composição fitoquímica dos morangos é fortemente afetada pelas características genótípicas, pelas condições de cultivo, de conservação das condições nutricionais e de manejo (KOLEVA et al., 2002; KEUTGEN & PAWELZIK, 2007), havendo assim, significativa possibilidade de alterações nos teores de compostos antioxidantes.

A alta capacidade antioxidante dos morangos se deve principalmente aos compostos fenólicos, que provêm da via do ácido chiquímico nos plastídios (BARSAN et al. 2010) e que continua no citosol, com a participação da enzima fenilalanina amônio-liase (PAL) (ALMEIDA et al., 2007). Esta enzima destaca-se como uma enzima regulatória da rota de biossíntese dos fenilpropanóides e seus derivados, catalisando a desaminação do aminoácido L-fenilalanina a ácido trans-cinâmico, que será precursor dos ácidos fenólicos, flavonóis, isoflavonóis, ligninas e antocianinas (TOMÁSBARBERÁN, ESPÍN, 2001; RAES et al., 2003). Estes metabólitos antioxidantes são majoritariamente resultantes do metabolismo secundário, freqüentemente sintetizados como respostas a estresses abióticos (ERKAN, et al., 2008).

Embora seja uma das espécies mais estudadas do ponto de vista genômico (BAPAT et al., 2010), agrônômico (ANTUNES et al., 2010), e na pós-colheita (ERKAN, et al., 2008). O morango ainda enfrenta desafios devido a sua elevada perecibilidade (SEVERO, et al., 2011). Além disso, é sabido que o morango é um fruto sensível a estresses bióticos e abióticos.

Baseando-se nesses conhecimentos, e sabendo-se que estresses moderados podem ativar mecanismos de defesa nos vegetais (MERCIR; KÚC, 1997) lançou-se a hipótese de que o uso da radiação UV-C poderia na pós-colheita estimular o metabolismo secundário, aumentando o acúmulo de metabólitos de importância alimentar. O uso dessa radiação na pós-colheita de frutos confirmou esta hipótese, com excelente resultado (HEMMATY et al., 2006). Dentre os aspectos mais observados, destaca-se a prevenção de podridões (POMBO et. al, 2011), retardamento da maturação (LÓPEZ-MALO E PALOU, 2005) e a ativação de mecanismos de defesa celular de morangos (ALOTHMAN et al., 2009). Em outros vegetais também se observou o aumento de atividades antioxidante, o que poderia incentivar o potencial funcional dos vegetais (ERKAN, et al., 2008). No entanto, a totalidade dos trabalhos propõe o uso da radiação UV-C após a colheita dos frutos.

Diferentemente da maioria dos trabalhos, este estudo parte da hipótese de que a aplicação de doses moderadas de luz UV-C durante o ciclo de crescimento e desenvolvimento das plantas e dos frutos, pode ativar o metabolismo secundário e gerar morangos ricos em moléculas fitoquímicas. O objetivo deste trabalho foi aplicar doses moderadas de luz UV-C em plantas de morangueiro durante o cultivo com a

finalidade de aumentar o potencial funcional de seus frutos.

2 Material e Métodos

2.1 Material vegetal

O experimento foi conduzido no ano de 2010, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, (latitude 31°41' Sul e longitude 52°21' Oeste), localizada a 60 m de altitude, sendo a incidência de radiação UV-C solar no local, em média de 1,42 kJ m⁻² ao meio-dia.

As mudas de morangueiros das cultivares Aromas e Albion, foram cultivadas com espaçamento de 20 x 20 cm entre plantas, em sistema hidropônico (Apêndice A). Foi efetuada a fertirrigação, adotando-se para a adubação, fertilizante mineral misto comercializado como “Kristalon Laranja[®]” com 6 % de nitrogênio sendo 4,5 % de nitrogênio nítrico e 1,5 de nitrogênio amoniacal, 12 % de fósforo (P₂O₅), 36 % de potássio (K₂O) e micronutrientes.

Dois tratamentos foram aplicados: T1- controle (sem aplicação de luz UV-C, artificial); T2 – aplicação de luz UV-C durante 10 minutos a cada 72 horas (fig. 1). Para a aplicação de UV-C utilizaram-se lâmpadas UV-C “Phillips[®]” 30 W. A distância entre as lâmpadas e a parte superior das plantas foi de aproximadamente 1 metro, sendo a intensidade da radiação emitida pelas lâmpadas quantificada com um medidor de luz UV digital (RS-232 Modelo MRUR-203, “Instrutherm”), resultando em uma intensidade de 3,7 kJ.m⁻² por aplicação.

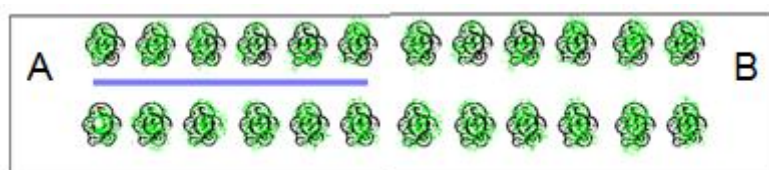


Figura 1- Morangueiros em canaletas, do lado A com lâmpadas de luz UV-C e do lado B os controles.

A aplicação do tratamento ocorreu a partir do aparecimento das flores até a colheita dos morangos, totalizando 24 radiações na planta (fig. 2). Durante o desenvolvimento do experimento foi realizada uma avaliação do aspecto visual das plantas. A colheita dos frutos foi realizada quando esses estavam completamente avermelhados.



Figura 2- Estados fenológicos em que os morangos foram submetidos ao tratamento com luz UV-C durante o cultivo.

2.2 Análises

2.2.1 Massa média do fruto

A massa média por fruto foi derivada da razão entre a produção por planta e o número de frutos por planta e foi expressa em gramas de massa fresca.

2.2.2. Coloração da epiderme

A coloração da superfície foi medida com duas leituras em faces opostas na região equatorial das frutas. As leituras foram realizadas através de colorímetro (Minolta Chromometer Modelo CR 300, D65, Osaka, Japan) padronizado com calibração placa set CR-A47 contra um fundo branco. Com leituras das coordenadas L^* , a^* e b^* , calculou-se o ângulo de cor (h°), pela fórmula $h = \tan^{-1} (b^*/a^*)$ (SEVERO, et al., 2011).

2.2.3. Firmeza de Polpa

A firmeza de polpa dos frutos foi determinada através de penetrômetro do modelo FT011 (0-11 Lbs.), com ponteira de 6 mm, e o valor da leitura expresso em Newton.

2.2.4 Antocianinas totais

O teor de antocianinas totais foi determinada através de espectrofotometria, de acordo com metodologia de Severo, et al., (2011). Cinco gramas de morango macerados foram adicionados de 15 ml de etanol ácido (0,01% HCl) e centrifugados a 4.000 RPM, a uma temperatura de 4 °C por 15 minutos. Do sobrenadante, foi retirado 1 mL e adicionado de 11,5 mL de etanol acidificado. As amostras foram mantidas no escuro por 30 minutos e então as leituras foram realizadas em

espectrofotômetro em comprimento de onda de 520 nm. O teor de antocianinas foi expresso em mg de cianidina-3- glucoside por 100 g de fruta fresca.

2.2.5 Compostos fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos totais foi realizada utilizando reagente Folin-Ciocalteu, conforme método adaptado de Swain e Hillis (1959). Para extração, 5 g de polpa de morango foram suspensos em 15 ml de metanol e centrifugados a 4.000 RPM, a uma temperatura de 4 °C por 15 minutos. Foram retirados do sobrenadante 15 µl e adicionados de 235 µl de metanol, 4.000 µl de água deionizada e 250 µl de Folin-Ciocalteu, após 3 minutos, a solução foi neutralizada com 500 µl de uma solução saturada de carbonato de sódio e mantida no escuro por 2 h. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 725 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de fruta fresca.

2.2.6 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada utilizando metodologia baseada na captura do radical DPPH conforme Fetter et al. (2010). A extração realizada foi igual àquela utilizada para os compostos fenólicos, sendo retirado 20 µl do sobrenadante que foi adicionado de 180 µl de metanol (P.A.) e 3.800 µl de DPPH diluído. Após 24 horas foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 515 nm e a atividade antioxidante foi expressa em µg equivalente de trolox/g de fruta fresca.

2.2.7 Ácido ascórbico

A determinação de ácido ascórbico (AA) foi realizada pelo método titulométrico. Foram adicionados 25 ml do suco extraído do morango em 25 ml do ácido metafosfórico acético, 2 ml desta solução foi adicionada de 5 ml de ácido metafosfórico acético, titulou-se com solução de 2,6-diclorofenolindofenol (DCFI), e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de fruta fresca.

2.2.8 A atividade da fenilalanina amônia liase (PAL E.C 4.3.1.24).

A PAL foi determinada através dos procedimentos descritos por Civello et al. (1997), a partir da produção de cinamato, após 60 min a 36°C, sob agitação

contínua, medida pela variação da absorbância a 290nm. A atividade enzimática foi expressa em mmoles de ácido cinâmico. $\text{min}^{-1}.\text{g}^{-1}$.

2.2.9 Delineamento experimental e análise estatística

O desenho experimental seguiu um modelo inteiramente casualizado, com a unidade experimental composta de 12 plantas com duas parcelas totalizando 48 plantas por cultivar. As médias das variáveis dependentes foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

3 Resultados

3.1 Alterações fenotípicas

De modo geral observou-se que a evolução da maturação foi mais rápida em morangos da cultivar Aromas tratados com UV-C, com precocidade de 4 dias em relação aos não tratados.

3.2 Caracterização Físico-química

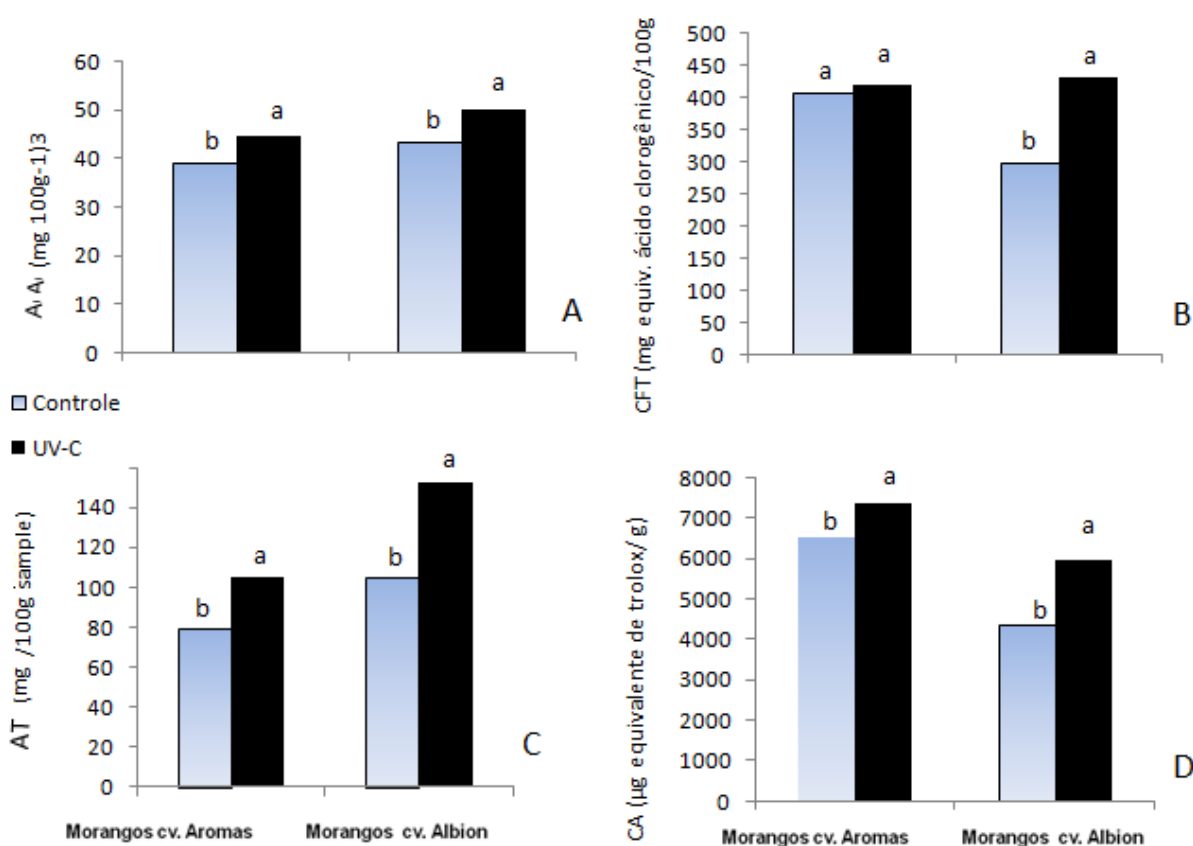
Ao se avaliar a firmeza da polpa dos morangos cv. Aromas os resultados não diferiram entre os frutos tratados e os controles. Na cv. Albion os frutos tratados com UV-C resultaram em menor firmeza em relação aos frutos não tratados (controle). A aplicação de UV-C na cv. Aromas originou frutos com massa média superior a massa dos frutos controles (Tabela 1).

Tabela 1- Firmeza de polpa, massa média do fruto e cor ($^{\circ}\text{H}$) em morangos cv. Aromas e Albion, com e sem tratamento com UV-C durante o cultivo.

Tratamentos	MF	Firmeza (N)	$^{\circ}\text{H}$
Aromas T1	33,93b	4,98a	27,97a
Aromas T2	36,01a	4,94a	24,66b
Albion T1	27,87a	3,78a	27,68a
Albion T2	28,05a	3,29b	25,96b

T1 - frutos controle T2 – frutos tratados com UV-C. MF- massa média do fruto, $^{\circ}\text{H}$ – Hue ou matiz. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, na mesma cultivar, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os morangos tratados com UV-C (T2) apresentaram um maior teor de ácido ascórbico do que os frutos não tratados (T1), para ambas as cultivares estudadas (Fig. 3 A). Em média, os morangos das cvs. Aromas e Albion apresentaram respectivamente um aumento no teor de AA de 13 % e 15 % em relação aos frutos não tratados. Em relação aos compostos fenólicos totais, as respostas fisiológicas foram distintas entre as cultivares (Fig. 3 B). Para a cv. Albion a radiação UV-C estimulou o maior acúmulo desses compostos, com teores de 44 % acima dos observados nos frutos não tratados. Já, para a cv. Aromas não se detectaram diferenças significativas.



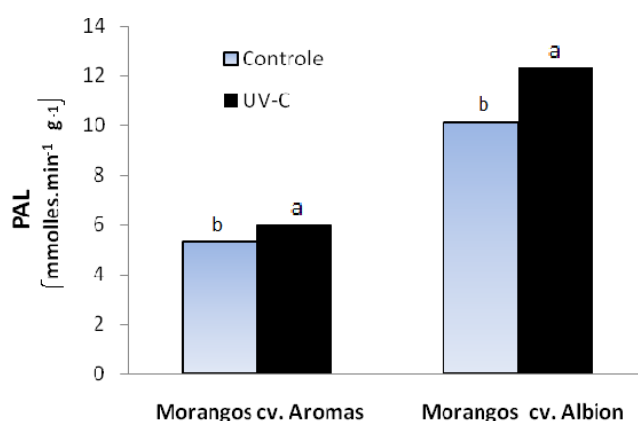
CFT- Compostos fenólicos totais, AT – Antocianinas totais, CA- Capacidade antioxidante. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si dentro da mesma cultivar pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Figura 3- Teor de ácido L-ascórbico (AA), compostos fenólicos totais (CFT), antocianinas totais (AT) e capacidade antioxidante (CA) de morangos cv. Aromas e Albion tratados com UV-C durante o cultivo e o seu controle, sem aplicação de UV-C.

Os teores de antocianinas totais foram fortemente influenciados pela radiação UV-C (Fig. 3 C). Foi verificado um aumento no teor de antocianinas dos frutos tratados em relação aos do tratamento controle de 32,5 % para a cv. Aromas e 45 % para a cv. Albion. Em ambas cultivares, os frutos tratados com UV-C também apresentaram maior capacidade antioxidante (Fig. 3 D). Os frutos da cv. Aromas tiveram um acréscimo de 12,7 % na capacidade antioxidante em relação aos não tratados enquanto que os da cv. Albion obtiveram um incremento de 35,8 % em relação ao controle (Apêndice B).

3.3 Atividade da Fenilalanina Amônia Liase

O aumento do teor de fitoquímicos nos frutos tratados está relacionado com o aumento da atividade enzimática da PAL (figura 4). Ao se avaliar a atividade enzimática da enzima PAL, foi observado que frutos tratados com UV-C apresentaram atividade enzimática mais elevada que os frutos controle em ambas as cultivares.



Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si dentro da mesma cultivar pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Figura 4 - Atividade enzimática da PAL em morangos cvs. Aromas e Albion, tratados e não tratados com UV-C durante o cultivo.

4 Discussão

Existem poucas informações publicadas descrevendo respostas moleculares, bioquímico-fisiológicas ou tecnológicas de frutos ou hortaliças tratados com radiação UV-C durante o cultivo. Por consequência, não há elucidações de como se comportam os frutos em relação aos compostos fitoquímicos e à capacidade

antioxidante frente à aplicação de UV-C nessas condições. Por isso, neste estudo, diferentemente da maioria dos trabalhos com UV-C (ERKAN, et al., 2008; POMBO et al., 2011), aplicou-se esse agente estressor na pré-colheita, durante todo o ciclo de cultivo e desenvolvimento dos frutos.

Observou-se que 24 aplicações de UV-C durante o cultivo de morangos contribuíram para acentuar a coloração da epiderme. Em relação à massa média dos frutos, o comportamento foi diferenciado, ou seja, a radiação UV-C afetou significativamente o crescimento de frutos da cv. Aromas, mas não interferiu no crescimento da cv. Albion. A causa exata desse comportamento ainda não foi elucidada. A explicação mais plausível para este fato seria à relação fonte e dreno, pois ao se ter menos frutos por planta, os frutos tendem a serem maiores (KRÜGER, et al, 2009).

Como a radiação UV-C atua como agente estressor e ativador do metabolismo secundário (POMBO et al., 2011) além de ser um método físico de desinfecção (PERKINS-VEAZIE et al. 2008), se esperava que as plantas tratadas produzissem frutos mais ricos em compostos do metabolismo secundário. Essa hipótese foi confirmada. Assim como se observou que a radiação UV-C promoveu uma maior coloração avermelhada (tabela1), o que estaria relacionado com o maior teor de antocianinas (Fig. C). Desse modo, se pode atribuir a estes compostos a maior intensidade de coloração, tendo em vista serem os principais promotores da coloração desse fruto (SEVERO, et al. 2011).

À semelhança do que ocorreu com antocianinas totais, o teor de compostos fenólicos totais também foi maior nos frutos tratados com UV-C independente da cultivar avaliada. É amplamente demonstrado que em vegetais, as variações de temperatura, anoxia (WONG, et al 2010), falta de água (ZUSHI & MATSUZOE, 2007), altas concentrações salinas (KEUTGEN & PAWELZIK, 2008), dentre outras, podem promover a indução da síntese de compostos fenólicos. Desse modo, o aumento, em ambas as cultivares, nos teores de antocianinas totais, ácido ascórbico, atividade antioxidante (fig. 1) e atividade da enzimática da PAL (Fig 2), é decorrente desse estresse oxidativo. Segundo Pombo et al, (2011) o tratamento UV-C aplicado na pós-colheita induz o acúmulo de genes transcritos da PAL, com conseqüente aumento da atividade enzimática e o acúmulo de compostos fenólicos. O mesmo evento poderá ter ocorrido neste estudo quando se aplicou tratamento

com luz UV-C na pré-colheita.

O teor de ácido L-ascórbico também foi mais elevado em morangos tratados com UV-C. O ácido ascórbico (Fig. 1 A) ainda não tem sua via de biossíntese totalmente elucidada, mas sabe-se que o aumento deste composto pode estar relacionado com a redução da firmeza do fruto, pois segundo Agius et al. (2003), existem evidências de que a biossíntese do ácido L-ascórbico, em morango, ocorre através do ácido D-galacturônico das pectinas da parede celular, estas duas variáveis parecem ser inversamente proporcionais. Neste estudo, observou-se que os frutos (cv. Albion) com maior teor de AA apresentaram menor firmeza.

O aumento dos compostos fenólicos (Fig. 1B) é de acordo com De Wit, (2007), uma forma de proteção que as células demonstram contra a radiação UV-C. A explicação mais plausível para a elevação dos compostos fitoquímicos é de que o estresse causado pela radiação UV-C na planta geram espécies reativas de oxigênio (ERO), que estimulam respostas de defesa através do aumento da atividade da PAL, enzima responsável pela síntese de compostos fenólicos. Segundo Eaux and Toledano (2007), isso ocorre através da ativação de sinais incluindo H_2O_2 , etileno, jasmônato que vão regular genes envolvidos na produção de compostos antioxidantes, que conforme Ajay et al.,(2002) são capazes de combater ERO protegendo as células.

No experimento com morangos, comprovou-se que a radiação UV-C provocou aumento da atividade da PAL, o que pode explicar ao menos em parte, o maior teor de compostos fenólicos e de antocianinas totais nesses frutos. Como consequência do aumento do teor de antocianinas totais e compostos fenólicos totais, também observou-se o aumento na capacidade antioxidante dos frutos. Assim, o uso da UV-C durante o cultivo se apresenta como um tratamento físico que contribui significativamente para a melhora da aparência dos frutos (coloração) e dos teores de compostos benéficos à saúde, como é o caso do ácido L-ascórbico (ULLAH, et al., 2011), antocianinas totais (ZHENG et al., 2011) e compostos fenólicos totais (SAXENA, et al., 2011). Essa técnica poderia ter uma adesão rápida de produtores e comerciantes, pois ambos os fatores (aparência e propriedades funcionais) influenciam em grande medida a decisão de compra dos consumidores. Além disso, é plausível se lançar a hipótese de que esse tratamento aplicado na pré-colheita pode atuar na defesa contra patógenos na pós-colheita.

5 Conclusão

Diante do exposto, aplicação de luz UV-C durante o cultivo de morangueiros tanto da cv. Aromas como a cv. Albion é um tratamento que melhora a aparência e estimula o acúmulo de compostos fitoquímicos nos frutos.

6 REFERÊNCIAS

AGIUS F, GONZÁLEZ-LAMOTHE R, CABALLERO JI, MUÑOZ-BLANCO J, BOTELLA MA, VALPUESTA V. Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a Dgalacturonic acid reductase. **Nature Biotechnol.** V. 21, p.177-181, 2003.

AJAY A, S. R. K, SRIVASTAVA G. C. Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Curr Sci.** v.82, p.1227, 2002.

ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, n. 4, p. 512-516, 2009.

ALMEIDA, J. R.; D'AMICO, E.; PREUSS, A.; CARBONE, F.; DE VOS, R. C. H; DEIML, B.; MOURGUES, F.; PERROTTA, G.; FISCHER, T. C.; BOVY, A. G.; MARTENS, S.; ROSATI, C. Characterization of major enzymes and genes involved in flavonoid and proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Biochemistry and Biophysics**, v. 465, p. 61 – 71, 2007

ANTUNES, L. E. C.; RISTOW N. C; KROLOW A.C.R; CARPENEDO S; REISSER JÚNIOR C. Yield and quality of strawberry cultivars. **Horticultura Brasileira** v. 28, p. 222-226, 2010.

BAGCHI, D.; SEN, C.K.; BAGCHI, M.; ATALAY, M., Antiangiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. **Biochemistry**, Moscou, v.69, n.1, p.75-80, 2004.

- BAPAT, S. A.; JIN, V.; BERRY, N.; CURT BALCH, NEETI SHARMA, NAWNEET KURREY, SHU ZHANG, FANG FANG, XUN LAN, MENG LI, KENNEDY, B.; BIGSBY, R. M.; TIM H.M. Huang and Nephew, K. P. Multivalent epigenetic marks confer microenvironmentresponsive epigenetic plasticity to ovarian cancer cells. **Epigenetics**, v. 5, p. 716–729, 2010.
- BARSAN, C.; SANCHEZ-BEL, P.; ROMBALDI, C.; EGEA, I.; ROSSIGNOL, M.; KUNTZ, M.; ZOUINE, M.; LATCHÉ, A.; BOUZAYEN, M.; PECH, J. C. Characteristics of the tomato chromoplast revealed by proteomic analysis. **Journal of Experimental Botany**. v. 61, p. 2413-2431, 2010.
- CIVELLO, P.M., MARTÍNEZ, G.A., CHAVES, A.R., ANÓN, M.C. Heat treatments delay ripening and postharvest decay of strawberry fruit. **J. Agric. Food Chem.** V. 45, p. 4589–4594, 1997.
- DE WIT, P.J. How plants recognize pathogens and defend themselves. **Cellular and Molecular Life Science**, V. 64, N. 21, 2726-2732, 2007.
- EAUX, B.; TOLEDANO, M.B. Ros as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, p. 813 – 824, 2007.
- EL GHAOUTH, A. E.; WILSON, C. L.; CALLAHAN, A. M. Induction of Chitinase, B-1,3-Glucanase, and Phenilanine Ammonia Lyase in Pech Fruit by UVC Treatment. **Biological Control**, v. 93, p. 349 - 355, 2003.
- ERKAN, M., WANG, S. Y., WANG, C. Y. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme and decay in strawberries fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v.48, n.2, p.163 – 171, 2008.
- FETTER, M. R. ; VIZZOTTO, MARCIA ; CORBELINI, D. ; GONZALEZ, T. N. Compostos Bioativos E Atividade Antioxidante Em Araçá Amarelo, Araçá

Vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) E Araçá-Pêra (*P. Acutangulum* D.C.) Cultivados Em Pelotas, Rs. **Brazilian Journal of Food Technology** (Online) ^{JCR}, v. IISSA, p. 92-95. 2010.

FLORES, F., EL YAHYAOU, F., DE BILLERBECK, G., ROMOJARO, F., LATCHÉ, A., BOUZAYEN, M., PECH, J.C., AND AMBID, C. Role of ethylene in the biosynthetic pathway of aliphatic ester aroma volatiles in Charentais Cantaloupe melons. **J. Exp. Bot.** 53, 201-206, 2002.

HEMMATY, S.; MOALLEMI, N.; NASERI, L. Shelf-life and quality of apple fruits in response to postharvest application of UV-C radiation. **Journal of Applied Horticulture**, v. 8, n. 2, p. 114-116, 2006.

KEUTGEN, A.J.; PAWELZIK, E. Modifications of Strawberry fruit antioxidant pools and fruit quality under NaCl stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.55, n.10, p.4066- 4072, 2007.

KEUTGEN, A. J. AND PAWELZIK, E. Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress, **Food Chemistry**, v. 107, n. 4, p. 1413-1420, 2008.

KOLEVA, L.I.; VAN BEEK, T.A.; LINSEN, J.P.H.; DE GROOT, A.; EVSTATIEVA, L. N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, n. 1, p. 8-17, 2002.

KRÜGER, E., JOSUTTIS, M. AND DIETRICH, H. Effect Of Pre-Harvest Temperature, Photoactive Radiation And Fruit Thinning On Strawberry Bioactive Compounds. **Acta Hort.** (ISHS) v.838, p. 199-204, 2009.

LOPEZ-MALO, AURELIO; PALOU, ENRIQUE. Ultraviolet Light and Food Preservation. In: BARBOSÁ-CÁNOVAS, G.V.; TAPIA, M.S.; CANO, M.P. **Novel Food Processing Technologies**. CRC Press, New York, Cap. 18, p. 405–421, 2005.

- MERCIER, J; KÚC, J. Elicitation of 6-methoxymellein in carrot leaves by cercospora Carotae. **Journal of de science of Food and Agriculture**, V. 73, P. 60-62, 1997.
- PINELI, L. L. O., MORETTI, C. L., SANTOS, M. S., CAMPOS, A. B., BRASILEIRO, A. V., C´ORDOVA, A. C., & CHIARELLO, M. D. Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages, **Journal of Food Composition and Analysis**. V.24, N.1, p. 11-16, 2010.
- PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K.; HOWARD, L. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. **Postharvest Biology and Technology**, n. 47, p. 280-285, 2008.
- POMBO, M. A.; ROSLI, H. G.; MARTINEZ, G. A. ; CIVELLO, P. M. UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (Fragaria x ananassa, Duch.) **Postharvest Biology and Technology**. v.59, P. 94-102, 2011.
- RAES, J; ROHDE, A; CHRISTENSEN, J. H; VAN DE PEER, Y; BOERJAN, W. Genome-Wide Characterization of the Lignification Toolbox in Arabidopsis. **Plant Physiology**, V.133, n.3, p.1051-1071, 2003.
- RHOADES, J. D.; KANDIAH, A.; MASHAL, A. M. The use of saline water for crop production. Rome: FAO. Irrigation and Drainage Paper, v. 48, p. 133, 1992.
- SAXENA, S.; HAJARE, S. N; MORE,V.; KUMAR. S.; WADHAWAN, S.; MISHRA, B.B.; PARTE, GAUTAM, S.; SHARMA, A. Antioxidant and radioprotective properties of commercially grown litchi (Litchi chinensis) from India. **Food chemistry**. Saxena. v. 126, n.1 p. 39 -45, 2011.
- SEVERO, J., TIECHER, A., CHAVES F.C., SILVA, J.A., ROMBALDI, C.V. Gene transcript accumulation associated with physiological and chemical changes during developmental stages of strawberry cv. Camarosa. **Food Chemistry**, v. 126, p. 995-1000, 2011.

- SHALIT, M., KATZIR, N., TADMOR, Y., LARKOV, O., BURGER, Y., SCHALECHET, F., LASTOCHKIN, E., RAVID, U., AMAR, O., EDELSTEIN, M., KARCHI, Z., LEWINSOHN, E. Acetyl-CoA: alcohol acetyl transferase activity and aroma formation in ripening melon fruits. **J. Agric. Food Chem.** v. 49, p. 794-799, 2001.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. T. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.10, p.135-144, 1959.
- TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C.. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 853 – 876, 2001.
- ULLAH, M. F.; KHAN, H. Y.; ZUBAIR, H.; SHAMIM U.; AND HADI. S. M. The antioxidant ascorbic acid mobilizes nuclear copper leading to a prooxidant breakage of cellular DNA: implications for chemotherapeutic action against cancer. **Cancer chemotherapy and pharmacology** Ullah v.67 n.1 p.103 -110, 2011.
- WONG, D., NOCK, J. F., WATKINS, C. B.. γ -Aminobutyric acid (GABA) accumulation in four strawberry cultivars in response to elevated CO₂ storage Rujira. **Postharvest Biology and Technology**. v. 57, p. 92–96, 2010.
- ZHANG, Y., SEERAM, N. P.; LEE, R.; FENG, L.; HEBER, D. Isolation and identification of strawberry phenolics with antioxidant and human cancer cell antiproliferative properties. **Journal Agriculture Food Chem.** v. 56 p. 670-675, 2008.
- ZHENG, J.; DING, C.; WANG, L.; LI, G.; SHI, J.; LI, H.; WANG, H.; SUO, Y. Anthocyanins composition and antioxidant activity of wild *Lycium ruthenicum* Murr. from Qinghai-Tibet Plateau. v. 126, p. 859-865, 2011.
- ZUSHI, K., MATSUZOE, N. Salt stress-enhanced γ -aminobutyric acid (GABA) in tomato fruit. **Acta Hort.** v. 761, p. 431–435, 2007.

4 ARTIGO 2 - ALTERAÇÕES DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE MORANGOS PRODUZIDOS A PARTIR DE MUDAS PROVENIENTES DE MATRIZES RADIADAS COM UV-C

Resumo: Em estudos anteriores nosso grupo de pesquisa observou que a aplicação de radiação UV-C durante o cultivo de morangueiros afeta a qualidade dos frutos. No entanto, ainda não se sabe se a radiação UV-C aplicada durante o ciclo de cultivo pode ou não resultar em alterações nos frutos do ciclo sucessivo. Para se testar essa hipótese, estudaram-se as alterações físico-químicas de frutos colhidos de morangueiros provenientes de matrizes cultivadas sem aplicação artificial de radiação UV-C (T1) e de morangueiros que tiveram suas matrizes radiadas 34 vezes com UV-C 3,7 kJ/m² (T2). Foram avaliados o aspecto visual das plantas, a produtividade, a textura, a cor da epiderme, o teor de antocianinas, os compostos fenólicos totais, o teor de ácido ascórbico, os carotenóides totais, e a capacidade antioxidante. A aplicação de radiação UV-C durante o ciclo vegetativo de formação de estolões, resulta em mudas que produzem frutos com maturação antecipada em 8 dias, com maior teor de ácido L-ascórbico, antocianinas e carotenóides, sem alterar o peso médio dos frutos.

Palavras-chave: Radiação UV. Estolonamento. Metabólitos secundários.

1 INTRODUÇÃO

O morangueiro é uma espécie (*Fragaria x ananassa* Duch.) que produz frutos (botanicamente classificados como pseudofrutos) que se situam dentre os mais apreciados pelo mercado consumidor (FAN, et al., 2012). Além, das características sensoriais, os morangos se destacam pela riqueza em compostos fitoquímicos e reconhecidos pela capacidade de inativar radicais livres (KHANIZADEH, 2009), reparar e proteger a integridade do material genético (BAGCHI et al., 2004). Esses compostos, na sua grande maioria, são produzidos como mecanismo de defesa e de proteção das células vegetais contra estresses bióticos e abióticos (FAN, et al., 2012), como é o caso do excesso de radiação solar (raios UV), falta de água,

excesso de sais, variações de temperatura, incidência de patógenos, dentre outros (ERKAN, et al., 2008).

Como a radiação UV-C é um agente estressor oxidante, é possível que uma cascata de sinais induzidos pela síntese de H_2O_2 e outros, possa induzir genes reguladores da síntese de compostos do metabolismo secundário (ERKAN, et al., 2008). Vários estudos utilizando esse agente estressor na pós-colheita vêm sendo realizados com o intuito de alterar o metabolismo de frutos, como em tomate (LIU et al., 1993), pêssego (EL GHAOUTH et al., 2003), brócolis (COSTA, et al., 2006), pimenta (VICENTE et al., 2005) e morango (POMBO et al., 2011). Esses estudos obtiveram resultados promissores, com destaque para a prevenção de podridões (POMBO et. al., 2011), retardo na maturação (LÓPEZ-MALO & PALOU, 2005) e o incremento do potencial funcional (ERKAN, et al., 2008).

A aplicação da UV-C em plantas de amendoim (TANG et. al.. 2009), videira (WANG, et al. 2010) e macieira (KONDO, et al., 2011) durante o ciclo vegetativo, elevou o teor de resveratrol endógeno, a capacidade antioxidante e a atividade de enzimas do sistema antioxidante, como a superóxido dismutase, a glutathione redutase e a catalase nas folhas destes vegetais. No entanto, faltam estudos que visem elucidar o benefício da aplicação UV-C nos frutos provenientes dessas plantas. Esse aspecto é importante, pois há evidências de que há aumento da incidência da radiação UV em várias regiões do planeta, em particular naqueles localizadas baixo do paralelo 30 (KUMARI; SINGH; & AGRAWAL, 2010; GAO & ZHANG, 2008).

Em trabalho preliminar realizado por nossa equipe de pesquisa foi observado que morangueiros radiados com UV-C durante o cultivo produzem frutos com maiores teores de compostos provenientes do metabolismo secundário, tais como compostos fenólicos, ácido L-ascórbico e um conseqüentemente aumento na atividade antioxidante (CRIZEL, et al., 2011). Como se trata de um agente estressor potente lançou-se a hipótese de que a radiação UV-C aplicada durante o ciclo de cultivo, além de afetar a qualidade dos produtos naquele ciclo, pode resultar em alterações nos frutos do ciclo sucessivo. Para se testar essa hipótese, foram produzidas mudas a partir de plantas tratadas e não tratadas com UV-C e avaliou-se a qualidade dos frutos provenientes desse material.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL

O experimento foi conduzido no ano de 2011, em Pelotas, RS, Brasil, em casa de vegetação (latitude 31°41' Sul e longitude 52°21' Oeste), a 60 m de altitude, sendo a incidência de radiação UV-C solar média no local de 1,42 kJ m⁻². As plantas matrizes de morangueiros cv. Aromas foram cultivadas em sistema hidropônico, sendo efetuada a fertirrigação, usando-se, fertilizante mineral misto comercializado como “Kristalon Laranja[®]” com 6 % de nitrogênio sendo 4,5 % de nitrogênio nítrico e 1,5 de nitrogênio amoniacal, 12 % de fósforo (P₂O₅), 36 % de Potássio (K₂O) e micronutrientes (Apêndice A).

Dois tratamentos foram aplicados: T1- controle, mudas provenientes de matrizes que não sofreram aplicação de luz UV-C durante o ciclo vegetativo; T2 – mudas de matrizes com aplicação de luz UV-C artificial, com uma incidência de 3,7 kJ.m⁻² a cada 72 horas por 10 minutos (Apêndice C). Nesse segundo caso após 34 aplicações do tratamento, os estolões emitidos pelas plantas-mãe foram transplantados, constituindo-se em mudas do tratamento T2 (Figura 1).

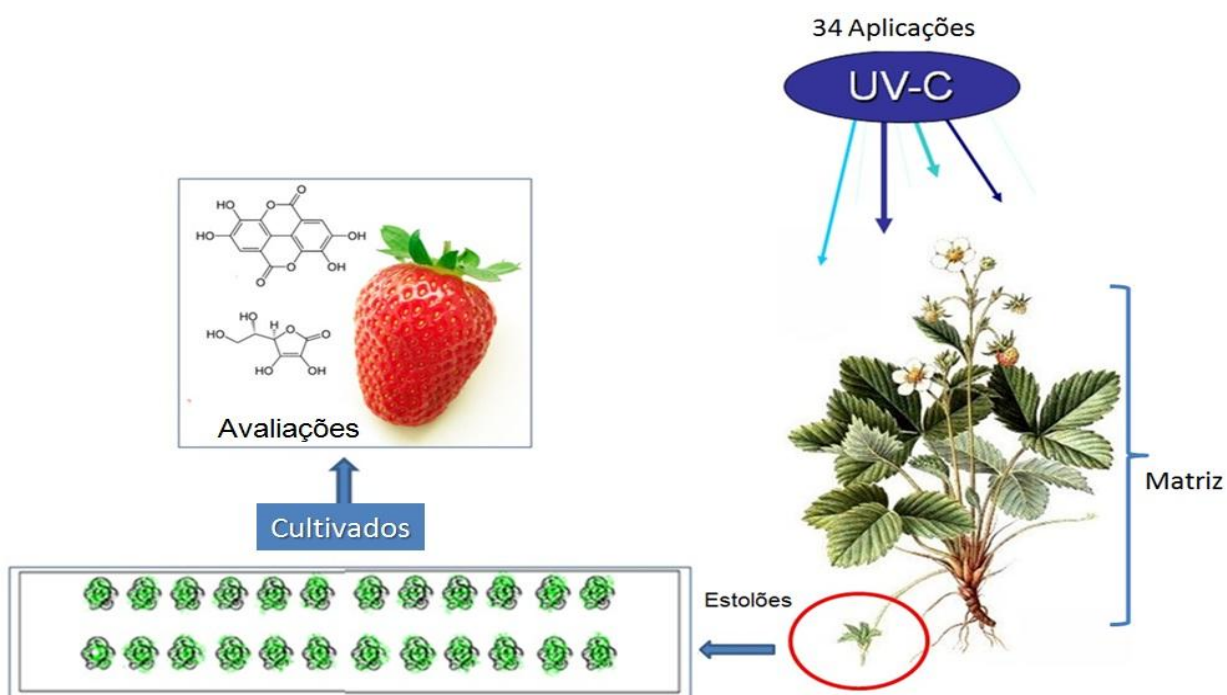


Figura 1 - Esquema ilustrando as etapas da obtenção de mudas de morangueiros provenientes de matrizes cultivadas com tratamento UV-C. FAEM/UFPel, 2011.

As mudas foram cultivadas com espaçamento de 20 x 20 cm entre as plantas, em sistema hidropônico sendo efetuada a fertirrigação conforme citado anteriormente para as matrizes. Durante a floração, foi realizada a polinização de forma manual. Quando os frutos das plantas, de ambos os tratamentos, atingiram 100% de coloração avermelhada, foram coletados e armazenados em ultra-freezer até o momento das análises.

2.2 ANÁLISES

2.2.1 ASPECTOS DAS PLANTAS E PRODUTIVIDADE

O aspecto das plantas foi avaliado de forma visual, observando-se vigor, morfologia geral e ocorrência de fungos durante o cultivo. Para avaliação da produtividade, os frutos foram colhidos e pesados. A produção por planta foi expressa em gramas de massa fresca de frutos por planta. A massa média por fruto foi derivada da razão entre a produção por planta e o número de frutos por planta foi expressa em gramas de massa fresca.

2.2.2. TEXTURA DE POLPA

A firmeza foi mensurada utilizando texturometro (Texture Analyzer, TA.XT plus®, Stable Micro Technologies Texture Systems) com ponteira de 2 mm, penetração de 50% e velocidade de 1 mm s⁻¹. Foram utilizados 15 morangos de cada unidade experimental, foram realizadas duas leituras em lados opostos de cada fruto. Os resultados foram expressos em Newton (N) (SEVERO, et al. 2011).

2.2.3. COLORAÇÃO DA EPIDERME

A coloração da superfície foi medida com duas leituras em lados opostos na região equatorial de 15 frutos. As leituras foram realizadas através de colorímetro (Minolta Chromometer Modelo CR 300, D65, Osaka, Japan) padronizado com calibração placa set CR-A47 contra um fundo branco. Com leituras das coordenadas L^* , a^* e b^* , com os resultados expressos em Luminosidade (L^*) e ângulo de cor (h°), calculado pela fórmula $h = \tan^{-1} (b^*/a^*)$ (SEVERO, et al. 2011).

2.2.4 ANTOCIANINAS TOTAIS

A análise do teor de antocianinas totais foi realizada através de espectrofotometria, de acordo com metodologia de Severo, et al. (2011). Cinco gramas de morango foram suspensos em 15 mL de etanol ácido (0,01% HCl) e centrifugados a 4.000 RPM, à temperatura de 4 °C por 15 minutos. Um mililitro do sobrenadante foi retirado e adicionado a 11,5 mL de etanol acidificado, se repousou as amostras no escuro por 30 minutos e então as leituras foram realizadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 520 nm. O teor de antocianinas foi expresso em mg de cianidina-3- glucoside por 100 g de fruta fresca.

2.2.5 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Quantificação de compostos fenólicos totais foi realizada utilizando reagente Folin-Ciocalteu conforme metodologia adaptada de Swain e Hillis (1959). Para extração, 5 gramas de polpa de morango foram suspensos em 15 ml de metanol e centrifugados a 4.000 RPM, à temperatura de 4 °C por 15 minutos. Foram retirados do sobrenadante 15 µL do extrato fenólico e adicionados de 235 µL de metanol, 4.000 µL de água deionizada e 250 µL de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos, a solução foi neutralizada com 500 µL de uma solução saturada de carbonato de sódio e mantida no escuro por 2 h. A leitura da absorbância foi medida em espectrofotômetro a 725 nm. Os resultados foram expressos como mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de fruta fresca.

2.2.6 ÁCIDO ASCÓRBICO

A determinação de ácido ascórbico foi realizada pelo método titulométrico. Foram adicionados 25 mL do suco extraído do morango em 25 mL do ácido metafosfórico acético, 2 mL desta solução foi adicionada de 5 mL de ácido metafosfórico acético e titulou-se com solução de 2,6-diclorofenolindofenol (DCFI), e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de fruta.

2.2.7 CAROTENÓIDES TOTAIS

O teor de carotenóides totais foi realizado segundo método descrito por Vizzotto et al. (1999), onde 2,5g de polpa foram adicionadas de 15ml de acetona/BHT e triturados em ultra-turax após a solução foi filtrada, e o residual

contido no filtro foi adicionado novamente de 15 ml de acetona/BHT (esta etapa foi repetida três vezes) e o filtrado dessas etapas foi adicionado de 50 ml de hexano e 25ml de água. Após 30 minutos em repouso o sobrenadante da solução bifásica foi submetido à leitura em espectrofotômetro, utilizando cubeta de cubeta de quartzo e comprimento de onda de 470 nm. Para os cálculos, uma curva padrão com β -caroteno foi construída.

2.2.8 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A capacidade antioxidante foi determinada utilizando método baseado na captura do radical DPPH, segundo Brand-Williams et al. (1995). A extração realizada foi igual àquela utilizada para os compostos fenólicos, sendo retirados 20 μ L do sobrenadante do extrato fenólico e adicionado 180 μ L de metanol (P.A.) e 3.800 μ L de DPPH diluído. Após 24 horas no escuro foi realizada a leitura em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 515 nm, sendo a atividade antioxidante expressa em μ g equivalente de trolox/g.

2.2.9 DESENHO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O desenho experimental seguiu um modelo inteiramente casualizado, com a unidade experimental composta de 12 plantas, com duas parcelas totalizando 48 plantas. As médias das variáveis dependentes foram comparadas pelo teste de Tukey ($P=0,05$).

3 RESULTADOS

Ao se analisar o efeito da radiação UV-C nas mudas sobre potenciais alterações nas características físico-químicas gerais dos frutos, verificou-se que as respostas obtidas não deferiram daquelas produzidas por plantas não tratadas em relação à incidência de fungos, massa média dos frutos, textura e coloração. A diferença observada nesse grupo de variáveis foi a produção de frutos por planta. Nesse caso, a produção foi maior em plantas provenientes de matrizes não tratadas com UV-C (T1-controle), com 400 g por planta, enquanto nas plantas de matrizes tratadas (T2) foi de 340 g por planta. Outro aspecto observado foi a antecipação da maturação dos frutos de plantas provenientes de matrizes tratadas com UV-C. Em média os frutos dessas plantas (T2) amadureceram oito dias antes do que aqueles

oriundos das plantas de matrizes não tratadas (T1).

Tabela 1 – Principais características (massa média do fruto (MF); produção por planta (P/P); de textura e cor (°H) dos morangos, cv. Aromas, colhidos de plantas provenientes de matrizes não tratadas (T1) e tratadas (T2) com radiação UV-C

Tratamentos	MF (g fruto-1)	P/P (gramas)	Textura (N)	°H
T1	25,62a	400a	0,95a	32,60a
T2	25,68a	340b	1,09a	31,58a

T1 - frutos controle T2 – frutos clones de matrizes tratadas com UV-C. MF- massa do fruto, Produção por planta-P/P. °H – Hue ou matiz. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p=0,05).

No que se concerne aos principais compostos fitoquímicos, observou-se que o teor de antocianinas totais e carotenóides diferem entre os frutos dos tratamentos, se obtendo valores mais elevados para os frutos do tratamento T2. Já em relação ao teor de compostos fenólicos e à capacidade antioxidante não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2 - Teor de antocianinas totais, compostos fenólicos totais, ácido ascórbico, carotenóides totais e capacidade antioxidante de morangos cv. Aromas.

Tratamentos	AT (mg equivalente cianidina-3- glicosídeo/ 100g)	CFT (mg do equivalente ácido clorogênico /100g)	AA (mg/100g)	CT (mg equivalente β- caroteno/100g)	CA (µg TE/g)
T1	104, 343b	388,34a	31,35b	4,14b	5351,13a
T2	130, 625a	376,31a	35,75a	6,45a	5482,64a

T1 – frutos controle. T2 – frutos clones de matrizes tratadas com UV-C. AT – Antocianinas totais, CFT- Compostos fenólicos totais, AA- ácido ascórbico, CT-Carotenóides totais, CA-Capacidade antioxidante. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p=0,05).

4 DISCUSSÃO

Neste estudo, diferentemente da maioria dos trabalhos com a aplicação de radiação UV-C artificial (TANG, et. al.. 2009; WANG, et al. 2010; KONDO, et al. 2011), esse agente estressor foi usado durante o ciclo de vegetativo e avaliaram-se

as respostas bioquímico-fisiológicas em frutos de mudas provenientes de matrizes radiadas. As plantas geradas de matrizes tratadas com UV-C (T2) apresentaram morfologia similar àquela de plantas provenientes de matrizes não tratadas (T1), e os frutos, em ambos os casos, apresentaram incidência de podridão por *B. Cinerea*. Porém, frutos de morangueiros tratados com UV-C na pós-colheita (POMBO et al., 2011) adquiriram resistência contra o ataque do *B. Cinerea*. Isso significa que a aquisição da resistência não foi transferida para o material propagado vegetativamente.

Por outro lado, foi observada a antecipação do início da maturação dos frutos de plantas provenientes de matrizes tratadas com UV-C (T2). Em média os frutos do tratamento T2 apresentaram uma precocidade em relação aos frutos do tratamento T1 de 08 dias. Tal fato provavelmente ocorreu em resposta ao estresse causado pela incidência de radiação oxidante nas plantas matrizes, podendo ter afetado a síntese de reguladores de crescimento, que poderiam ser responsáveis pela quebra da dormência e uma consequente precocidade (PATTLAK & SING, 1971).

Observou-se, também, que aplicação de UV-C durante o cultivo das plantas matrizes, apesar de reduzir a produção por planta, não afetou a massa média dos frutos, nem a textura e a coloração (ângulo Hue) (tabela 1), nem o teor de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante (tabela 2) dos frutos. No entanto, contribuiu para elevar os teores de ácido L-ascórbico, antocianinas totais e carotenóides totais (tabela 2).

O aumento no teor de ácido L-ascórbico e de pigmentos provavelmente foi estimulado pela radiação ionizante, pois estes pigmentos são moléculas que fornecem proteção ao órgão vegetal e possuem capacidade de inativar radicais livres permanecendo estáveis (KHANIZADEH, 2009). A radiação UV-C, ao incidir sobre o órgão vegetal, gera espécies reativas, como H_2O_2 , 1O_2 , OH e O_2^- , fazendo com que as células acionem mecanismos de proteção, seja por sistemas enzimáticos antioxidantes e/ou pela produção de moléculas com potencial antioxidante (compostos terpênicos e fenólicos, ácido ascórbico, entre outros) (KUMARI; SINGH & AGRAWAL, 2010). Nos morangos, houve maior síntese de ácido ascórbico, antocianinas totais e carotenóides totais. É sabido, por exemplo, que os carotenóides agem auxiliando na proteção da clorofila para que o processo da fotossíntese não seja afetado frente à incidência de luz ultravioleta

(MAISUTHISAKUL et al., 2007; FARIA ET al., 2008).

Desse modo, pode-se considerar que a aplicação de UV-C em matrizes de morangueiros durante o estolonamento, estimula o acúmulo de compostos fitoquímicos nos frutos das plantas-filhas. Esses dados sugerem que matrizes de morangueiros podem ser tratadas com radiação UV-C com intuito de que suas mudas produzam frutos com maiores teores de compostos fitoquímicos, o que proporciona a produção de morangos com teores mais elevados de pigmentos, sem a necessidade ou complementando a aplicação de luz UV C durante o cultivo.

5 CONCLUSÃO

A aplicação de radiação UV-C durante o ciclo vegetativo de formação de estolões resulta em mudas que produzem frutos com maturação antecipada, com maiores teores de ácido L-ascórbico, antocianinas totais e carotenóides totais e apesar de reduzir a produtividade por planta não alterou o peso médio dos frutos.

6 REFERÊNCIAS

- AGIUS, F.; GONZÁLEZ-LAMOTHE, R.; CABALLERO J.; MUÑOZ-BLANCO J.; BOTELLA M.; VALPUESTA V.; Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a Dgalacturonic acid reductase. **Nature Biotechnol.** v. 21, p.177-181, 2003.
- BAGCHI, D.; SEN, C.K.; BAGCHI, M.; ATALAY, M. Antiangiogenic, Antioxidant, And Anti-Carcinogenic Properties Of A Novel Anthocyanin-Rich Berry Extract Formula. **Biochemistry**, Moscou, v.69, n.1, p.75-80, 2004.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.
- COSTA, L., VICENTE, A. R., CIVELLO, P. M., CHAVES, A. R., MARTINEZ, G. A. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v.39, p.204–210, 2006.

- CRIZEL, G. R.; ANTES, S.; CANTILLANO, R. F. F.; ÁVILA, J.M.M; SILVA, J. A.; MEDEIROS, C. A.; ROMBALDI, C. V. 2011. Aplicação de uv-c durante o cultivo no acúmulo de compostos fitoquímicos em morangos, cv. aromas. **Anais do 9º SLACA**. Campinas-SP, 2011
- ERKAN, M.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme and decay in strawberries fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, n.2, p.163 – 171, 2008.
- EL GHOUTH, A. E.; WILSON, C. L.; CALLAHAN, A. M. Induction of Chitinase, B-1,3-Glucanase, and Phenilanine Ammonia Lyase in Pech Fruit by UVC Treatment. **Biological Control**, v. 93, p. 349 - 355, 2003.
- FAN, L.; DUBÉ, C.; FANG, C. ROUSSEL, D. CHARLES, M. T.; DESJARDINS, Y.; KHANIZADEH. S. Effect of production systems on phenolic composition and oxygen radical absorbance capacity of 'Orléans' strawberry. **LWT - Food Science and Technology**, Volume 45, Issue 2, P. 241-245, 2012.
- FARIA, J.P.F., A.F. , SILVA, L.C.R., VIEIRA,R.F.V., AGOSTINI-COSTA, T.S. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var. *capitata*). **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.3, p.820-822, 2008.
- GAO, Q.; ZHANG. L. Ultraviolet-B-induced oxidative stress and antioxidant defense system responses in ascorbate-deficient *vtc1* mutants of *Arabidopsis thaliana*. 2008. **Journal of Plant Physiology**, V. 165, n. 2, p. 138-148, 2008.
- KONDO, S.; FIEBIG, A.; OKAWA, K.; OHARA, H.; KOWITCHAROEN, L.; NIMITKEATKAI, H.; KITTIKORN, M. Jasmonic acid, polyamine, and antioxidant levels in apple seedlings as affected by Ultraviolet-C irradiation. **Plant Growth Regul.** v.64, p.83–89, 2011.
- KUMARI, R.; SINGH, S.; AND. AGRAWAL, S. B. Response of ultraviolet-B induced antioxidant defense system in a medicinal plant, *Acorus calamus*. **Journal of**

Environmental Biology. v.31, n.6, p. 907-911, 2010.

KHANIZADEH, S.; REKIKA, D.; EHSANI-MOGHADDAM, B.; TSAO, R.; YANG R. AND CHARLES, M.T. Horticultural Characteristics And Chemical Composition Of Advanced Raspberry Lines From Quebec And Ontario. *Lwt - Food Science And Technology*, v.42, n. 4, p. 893–898, 2009.

LIU, J.; STEVENS, C.; KHAN, V.A.; LU, J.Y.; WILSON, C.L.; ADEYEYE, O.; KABWE, M.K.; PUSEY, P.L.; CHALUTZ, E.; SULTANA, T.; DROBY, S. Application of ultraviolet-C light on storage roots and ripening of tomatoes. **Journal of Food Protection**, v. 56, p. 868 - 872, 1993.

LOPEZ-MALO, A.; PALOU, E. Ultraviolet Light and Food Preservation. In: BARBOSÁ-CÁNOVAS, G.V.; TAPIA, M.S.; CANO, M.P. **Novel Food Processing Technologies**. CRC Press, New York, Cap. 18, p. 405–421, 2005.

MAISUTHISAKUL, P.; PONGSAWATMANIT, R. GORDON, M. H. "Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants", **Food Chemistry**. v. 100, p.1409-1418, 2007.

NASIBI, F. AND K.M. KALANTARI: The effects of UV-A, UV-B and UV-C on protein and ascorbate content, lipid peroxidation and biosynthesis of screening compounds in *Brassica napus*. Iran. J. **Science And Technology**. Transaction A-Science Winter, v. 29, p.39-48, 2005.

PATTLAK, R. K. & SING, R. Effect of some external, factors on the growth and fruiting of strawberry. II. Effect of GA, growth retardants and cloching on flowering and yield. **Progressive Horticulture**, Ranikhet, v. 3, n. 3, p. 53-63, 1971.

PINELI, L. L. O., MORETTI, C. L., SANTOS, M. S., CAMPOS, A. B., BRASILEIRO, A. V., C´ORDOVA, A. C., & CHIARELLO, M. D. Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages, **Journal of Food Composition and Analysis**. v.24, N.1, p. 11-16, 2010.

- POMBO, M. A.; ROSLI, H. G.; MARTINEZ, G. A. ; CIVELLO, P. M. UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*, Duch.) **Postharvest Biology and Technology**. v.59, P. 94-102, 2011.
- SEVERO, J., TIECHER, A., CHAVES F.C., SILVA, J.A., ROMBALDI, C.V. Gene transcript accumulation associated with physiological and chemical changes during developmental stages of strawberry cv. Camarosa. **Food Chemistry**, v.126, p.995-1000, 2011.
- STAHL, W.; SIES, H. Carotenoids and Protection against Solar UV Radiation. **Skin Pharmacol Appl Skin Physiol** v. 15, p.291-296, 2002.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. T. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. **Science of Food and Agriculture**, London, v.10, p.135-144, 1959.
- TANG, K., ZAHN, C., YANG, H. R., HUANG, W. D. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defense response in peanut seedlings. **Journal of Plant Physiology**. v. 167, n. 2, p.95-102, 2009.
- VICENTE, A. R., PINEDA, C., LEMOINE, L., CIVELLO, P. M., MARTINEZ, G. A., CHAVES, A. R. UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. **Postharvest Biology and Technology**, v.35, p.69–78, 2005.
- VIZZOTTO, M., CISNEROS-ZEVALLOS, L., BYRNE, D., OKIE, W.R., RAMMING, D.W. Total phenolic, carotenoids, and anthocyanin content and antioxidant activity of peach and plum genotypes. **Acta Horticulturae**. v.713, p. 453-455, 2006.
- WANG, W.; TANG, K.; YANG, H.; WEN, P.; ZHANG, P.; WANG, H.; HUANG, W. Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p.142-152, 2010.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No artigo 1 - A radiação UV-C aplicada durante o cultivo de morangos gerou um aumento no potencial antioxidante, provavelmente pelo incremento dos compostos fenólicos, ácido ascórbico e antocianinas totais, uma consequência da maior atividade da enzima PAL. Com isso, este tratamento gera um produto diferenciado com maior valor agregado, justificado pela crescente demanda por produtos funcionais. Essa técnica poderia ter uma adesão rápida de produtores e comerciantes, pois ambos os fatores (aparência e propriedades funcionais) influenciam em grande medida a decisão de compra dos consumidores. Além disso, é plausível supor que esse tratamento aplicado na pré-colheita pode atuar na defesa contra patógenos na pós-colheita.

No artigo 2 - A radiação UV-C aplicada durante o ciclo vegetativo de formação de estolões em matrizes de morangueiros, resultou em mudas que produzem frutos com maturação antecipada, e com maior teor de ácido L-ascórbico, compostos fenólicos e pigmentos, apesar de alterar a produção por planta, não interferiu no peso médio dos frutos. Esta técnica deve ser mais estudada, a fim de verificar a resposta varietal.

O estudo traz como contribuição científica a elucidação do comportamento de morangos durante o cultivo frente à radiação UV-C, além de correlacionar a produção de compostos bioquímicos e a incidência de radiação UV-C, e demonstra que plantas radiadas com UV-C originam mudas capazes de produzirem frutos com maior teor de alguns compostos fitoquímicos.

Como contribuição tecnológica o estudo traz uma nova opção para o incremento de compostos funcionais em morangos, com a possibilidade de implantação de lâmpadas germicidas (UV-C) em estufas, que possibilitarão obter um produto com maior valor agregado que o convencional. Com isso, o conceito de que o morango é um fruto com alto índice de agrotóxicos poderá ser revertido, através de uma tecnologia limpa e saudável, com agregação de valor, sempre que os produtores respeitarem as Boas Práticas Agrícolas no campo.

No entanto, fazem-se necessários estudos complementares visando um maior avanço do conhecimento, avaliando a expressão transcricional dos genes

codificadores para as enzimas do sistema antioxidante, de compostos fenólicos, biossíntese de poliaminas, biossíntese de etileno e de ácido L-ascórbico nas principais cultivares comerciais de morangos tratados e não tratados com UV-C na pré-colheita.

8 REFERÊNCIAS

- AABY, K.; EKEBERG, D.; SKREDE, G. Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.55, n.11, p.4395-4406, 2007.
- AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. S.; FARO, C. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista Nutrição**, Campinas, v.19, n.2, p. 233-243, mar./abr. 2006.
- ALLENDE, A. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O₃, super atmospheric O₂ and high CO₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, n. 3, p. 201-211, 2007.
- ARAUJO, V. F. Utilização de subprodutos de xisto na produção e qualidade de morangos. 2011. 93 f. **Dissertação** (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.
- ARRIGONI, O.; DE TULLIO M. C. The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions. **Journal of Plant Physiology**. v.157, p. 481-488, 2000.
- ASARD, H.; MAY, J.M.; SMIRNOFF, N. Ascorbate as an antioxidant. In: BUETTNER, G.R.; SCHAFER, F.Q. **Vitamin C – Functions and Biochemistry in animals and Plants**, London: Taylor & Francis Group, p.173-188, 2004.
- BAGCHI, D.; SEN, C.K.; BAGCHI, M.; ATALAY, M. Antiangiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. **Biochemistry**, Moscou, v.69, n.1, p.75-80, 2004.

- BARTOLI, C.G., PASTORI, G.M. AND FOYER, C.H. Ascorbate biosynthesis in mitochondria is linked to the electron transport chain between complexes III and IV. *Plant Physiol.* v. 123, p.335-343, 2000.
- CANTILLANO, R. F.F E SILVA, M. M.. **Manuseio pós-colheita de morangos** – Pelotas: Embrapa Clima Temperado, (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 318), p. 36, 2010.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859 – 871, 2009.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA,.p.783, 2005.
- COSTA, L., VICENTE, A. R., CIVELLO, P. M., CHAVES, A. R., MARTINEZ, G. A. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v.39, p. 204–210, 2006.
- CONKLIN, P. L.; BARTH, C. Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. **Plant Cell Environment**, v.27, p. 959–970, 2004.
- CORDENUNSI, B. R.; GENOVESE, M. I; NASCIMENTO, J. R. O.; HASSIMOTTO, N. M. A.; SANTOS, R. J.; LAJOLO, F. M. Effect of temperature on the chemical composition and antioxidant activity on three strawberry cultivars. **Food chemistry**, v. 91, p. 113 - 121, 2005.
- DIMITRIUS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science e Technology**, v. 17, p. 505 – 512, 2006.
- ELISIA, I.; HU, C.; POPOVICH, D.G.; KITTS, D.D. Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. **Food Chemistry**, v.101, n.3, p.1052-

1058, 2007.

ERKAN, M., WANG, S. Y., WANG, C. Y. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme and decay in strawberries fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, n.2, p.163-171. 2008.

ERKAN, M., WANG, C. Y., KRIZEK, D. T. UV-C irradiation reduces microbial populations and deterioration in *Cucurbita pepo* fruit tissue. **Environmental and Experimental Botany**, v. 45, p.1-9, 2001.

FARIA, J.P.F., A.F. , SILVA, L.C.R., VIEIRA,R.F.V., AGOSTINI-COSTA, T.S. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var. *capitata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30 ,n.3, p.820-822, 2008.

GERMANO, R. M. A.; CANNIATTI BRAZACA, S. G. Vitamin A – significance for human nutrition. **J. Brazilian Soc. Food Nutr.** v.27, p.55-68, 2004.

GATZEK, S, WHEELER, GL, SMIRNOFF, N. Antisense suppression of L-galactose dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana* provides evidence for its role in ascorbate synthesis and reveals light modulated L-galactose synthesis. **Plant Journal**. v.30, p.541-553, 2002.

HARBONE, J.B. **Plant Biochemistry**. Academic Press. EUA, p. 387-437, 1997.

HOPKINS, W. G.; HUNER, N. P. A . **Introduction to Plant Physiology**. 3º ed.United States of America, p.493-513, 2004.

IBDAH, M.; AZULAY, Y.; PORTNOY, V.; WASSERMAN, B.; BAR, E.; MEIR, A.; BURGER, Y.; HIRSCHBERG, J.; SCHAFFER, A. A.; KATZIR, N.; TADMOR, Y.; LEWINSOHN, E. Functional characterization of CmCCD1, a carotenoid cleavage dioxygenase from melon. **Phytochemistry**, v. 67, n. 15, p. 1579 – 1589, 2006.

JANSEN, M.A.K., K. HECTORS, N.M. O'BRIEN, Y. GUISEZ AND G. Potters: Plant

stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B acclimated crops? A review. **Plant Sci.** v. 175, p. 449-458, 2008.

KEUTGEN, A.J.; PAWELZIK, E. Modifications of Strawberry fruit antioxidant pools and fruit quality under NaCl stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.55, n.10, p.4066- 4072, 2007.

KHANIZADEH, S.; REKIK, D.; EHSANI-MOGHADDAM, B.; TSAO, R.; YANG R. AND CHARLES, M.T. Horticultural Characteristics And Chemical Composition Of Advanced Raspberry Lines From Quebec And Ontario. *Lwt - Food Science And Technology*, v.42, ed. 4, p. 893–898. 2009.

KONDO, S.; FIEBIG, A.; OKAWA, K.; OHARA, H.; KOWITCHAROEN, L.; NIMITKEATKAI, H.; KITTIKORN, M. Jasmonic acid, polyamine, and antioxidant levels in apple seedlings as affected by Ultraviolet-C irradiation. **Plant Growth Regul** v.64, p.83–89. 2011.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1283-1287, 2006.

LINSTER, C. L.; GOMEZ, T. A.; CHRISTENSEN, K. C.; ADLER, L. N.; YOUNG, B. D.; BRENNER, C.; CLARKE, S. G. Arabidopsis VTC2 Encodes a GDP-L-Galactose Phosphorylase, the Last Unknown Enzyme in the Smirnoff-Wheeler Pathway to Ascorbic Acid in Plants. **Journal Biol. Chemistry**. V. 282, p.18879-18885, 2007.

LORENCE A, CHEVONE BI, MENDES P, LOPEZ-CARBONELL M, MUNNE-BOSCH S, ALEGRE L. The ascorbate-deficient vtc-1 Arabidopsis mutant shows altered ABA accumulation in leaves and chloroplasts. **Journal of Plant Growth Regulation**. v.25, p. 137–144, 2006.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: Composição e Estabilidade. **Boletim do CEPPA**, v. 21, n. 1, p. 59 - 82, 2006.

- MACKERNESS SAH, JOHN CF, JORDAN B, THOMAS B. Early signaling components in ultraviolet-B responses: Distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. *FEBS Lett* v.489, p. 237-242, 2001.
- MADAIL, J.C.M., ANTUNES, L. E., BELARMINO, L.C., SILVA, B. A., GARDIN, J.A., Avaliação Econômica dos Sistemas de Produção de Morango: Convencional, Integrado e Orgânico (**Comunicado Técnico, 181**). Pelotas, 2007.
- MELO, E., A.; GUERRA, N., B. Acao Antioxidante de Compostos Fenolicos Naturalmente Presentes em Alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, n.36, p.1-11, 2002.
- MEYERS, K.J.; WATKINS, C.B.; PRITTS, M.P.; LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.51, n.23, p.6887-6892, 2003.
- NYMAN, N.A.; KUMPULAINEN, J.T. Determination of anthocyanidins in berries and red wine by high-performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.49, n.9, p.4183-4187, 2001.
- OLIVEIRA, R. P., SCIVITTARO, W. B.; CASTRO; Luis A. S. Novas Cultivares de Morangueiro para a Região de Pelotas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 55**. 2007.
- PASTORI G. M, KIDDLE G, ANTONIW J, BERNARD S, VELJOVIC-JOVANOVIC S, VERRIER PJ, NOCTOR G, FOYER CH. Leaf vitamin C contents modulate plant defense transcripts and regulate genes that control development through hormone signaling. **The Plant Cell** v.15, p. 939–951, 2003.
- PAGOT, E.; HOFFMANN, A. **Produção de pequenas frutas no Brasil**. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1, 2003, Vacaria. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p.9-17, 2003.

- POMBO, M. A., DOTTO, M. C., MARTINEZ, G. A., CIVELLO, P. M. UV-C irradiation delays strawberry fruit expression of genes involved in cell wall degradation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, p. 141-148, 2009.
- POMBO, M. A; ROSLI, H. G.; MARTINEZ, G. A. ; CIVELLO, P. M. UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (Fragaria x ananassa, Duch.) **Postharvest Biology and Technology**. v.59, P. 94-102, 2011.
- RAVEN, P. H; EVERT, R. F; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal** 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 830, 2007.
- RESENDE, M.L.V. Aspectos moleculares envolvendo o fenômeno da indução de resistência. In REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTENCIA EM PLANTAS CONTRA FITOPATÓGENOS, São Pedro. Anais.Piracicaba: FAELQ, v. 202, p.35-36, 2002.
- RICE-EVANS, C.A. Flavonoid antioxidants. **Current Medicinal Chemistry**, Amsterdam, v.8, n.7, p.797-807, 2001.
- RADIN, B.; Lisboa, B. B; Witter, S.; Barni, V.; Reisser Júnior, C.; Matzenauer, R.; Fermino, M. H. Desempenho de quatro cultivares de morangueiro em duas regiões ecoclimáticas do Rio Grande do Sul. **Horticultura Brasileira**. vol.29, n.3, pp. 287-291. 2011.
- ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade Antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p.53-60, 2007.
- SANTOS, A. M. dos. Melhoramento genético do morangueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.27, n.198, p.24-29, 1999.
- SEVERO, J., 2009. Maturação e UVC na expressão transcricional de genes

envolvidos nas rotas metabólicas de parede celular, compostos fenólicos e aromas em morango. 94f. **Dissertação de Mestrado**, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

SANHUEZA, R. M. V.; HOFFMANN, A.; ANTUNES, L.E.C.; FREIRE, J. M. **Sistema de produção de morango para mesa na região da serra gaúcha e encosta superior do nordeste**. 2005. Disponível em:
<<http://sistemasdeprodução.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MesaSeraGaucha/index.htm>> . Acesso em: 10 jun. 2011.

SHAHIDI, F; HO, C. T. (Ed.). Phenolic compounds in foods and natural health products. Washington, DC.: **American Chemical Society**, 320 p., 2005 (ACS Symposium Series, 909).

SHULAEV, V.; D. J. SARGENT; R. N. CROWHURST; T. C. MOCKLER; O. FOLKERTS; A. L. DELCHER; P. JAISWAL, K. MOCKAITIS; A. LISTON; S. P. MANE, P. BURNS, T. M. DAVIS; J. P. SLOVIN; N. BASSIL; R. P. HELLENS; C. EVANS; T. HARKINS; C. KODIRA; B. DESANY; O. R. CRASTA; R. V. JENSEN; A. C. ALLAN; T. P. MICHAEL; J. C. SETUBAL; JEAN-MARC CELTON; D. J. G. REES, K. P. WILLIAMS; S. H. HOLT; J. J. R. ROJAS; M. CHATTERJEE; B. LIU; H. SILVA; L. MEISEL; A. ADATO, S. A. FILICHKIN; M. TROGGIO, R. VIOLA; T. ASHMAN, H. WANG; P. DHARMAWARDHANA; J. ELSE, R. RAJA, H. D. PRIEST; D. W. BRYANT JR; S. E. FOX, S. A. GIVAN, L. J. WILHELM, S. NAITHANI; A. CHRISTOFFELS; D. Y. SALAMA, J. CARTER; E. L. GIRONA, A. ZDEPSKI; W. WANG, R. A. KERSTETTER; W. SCHWAB, S. S. KORBAN; J. DAVIK, A. MONFORT; B. DENOYES-ROTHAN; P. ARUS; R. MITTLER, B. FLINN; A. AHARONI; J. L. BENNETZEN; S. L. SALZBERG; A. W. DICKERMAN; R. VELASCO; M. BORODOVSKY; VEILLEUX, R. E. & FOLTA, K. M.. The genome of woodl and strawberry (*Fragaria vesca*). **Nature Genet.** v. 43, p.109–116, 2010.

SOARES, S.E. Phenolic acids as antioxidants. **Revista de Nutrição**, Campinas,

v.15, ed.1, p. 71-81, jan./abr., 2002.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia**: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p. 260, 2002.

SHAMA, G., ALDERSON, P. UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialisation. Trends in Food **Science & Technology**, v. 16, p.128-136, 2005.

SMIRNOFF, N.; WHEELER, G. L. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. **Biochemistry and Molecular Biology** v. 35, p. 291–314, 2000.

STAHL, W.; SIES, H. Carotenoids and flavonóides contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. **Molecular Biotechnology**, Totowa, v.37, n.1, p.26-30, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 4.ed. p.819, 2009.

TANG, K., ZAHN, C., YANG, H. R., HUAN, GUANG, W. D. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defense response in peanut seedlings. **Journal of Plant Physiology**. v. 167, n. 2, p.95-102, 2009.

TRABER, M. G.; STEVENS, J. F. Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. Free Radical **Biology & Medicine**, v.51, p. 1000–1013, 2011.

VICENTE, A. R., PINEDA, C., LEMOINE, L., CIVELLO, P. M., MARTINEZ, G. A., CHAVES, A. R., UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. **Postharvest Biology and Technology**, v.35, p.69–78, 2005.

WSZELAKI, A.L.; MITCHAM, E.J. Effect of combinations of hot water dips, biological control and controlled atmospheres for control of gray mold on harvested

strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v. 27, p.255-264, 2003.

WANG, W.; TANG, K.; YANG, H.; WEN, P.; ZHANG, P.; WANG, H.; HUANG, W.
Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation.
Plant Physiology and Biochemistry, v. 48, P.142-152, 2010.

WREGE, M. S.; JÚNIOR C. R.; ANTUNES L. E. C.; OLIVEIRA R. P.; HERTER F. G.;
STEINMETZ S.; GARRASTAZU M. C.; MATZENAUER R.; JOÃO P. L.; SANTOS
A. M.; **Zoneamento agroclimático para produção de mudas de morangueiro
no Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 27, 2007.
Documento 187.

YAMADA, T. Resistência de plantas às pragas e doenças: pode ser afetada pelo
manejo da cultura? *Informações Agronômicas*, Piracicaba: **Ceres/Potafos**. n.108,
dez. 2004.

ZAHA, A. **Biologia Molecular Básica**. 3º ed. Porto Alegre: mercado aberto, 2003.

ZAICOVSKI, C. Caracterização de frutas nativas da Região Sul da América do Sul
quanto à presença de compostos bioativos da atividade antioxidante e da
atividade anti proliferativa frente a células tumorais. 2008. 91f. **Tese** (Doutorado
em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu
Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

APÊNDICES

Artigo 1- INDUÇÃO DA SÍNTESE DE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS EM MORANGOS PELA APLICAÇÃO DE UV-C DURANTE O CULTIVO



Apêndice A- Estrutura com lâmpadas de radiação UV-C, lado “A” estrutura sem lâmpadas e do lado “B” estrutura com lâmpadas UV-C. EMBRAPA CLIMA TEMPERADO; FAEM-UFPel, Pelotas, 2011.

Apêndice B- Tabela 1. Atividade da enzima PAL, teores de ácido ascórbico, compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante de morangos cv. Aromas e Albion. FAEM-UFPeI, Pelotas, 2011.

Tratamentos	Atividade PAL (mmolles min⁻¹/g)	AA (mg 100g)	CFT (mg equiv. ácido clorogênico/100g)	AT (mg cyanidin 3- glucoside/100g)	CA (µg TE/ g)
AR UV-C	6,005a	44,4a	418,13a	104,73a	7343,62 a
AR CONT	5,330b	39,22b	408,51a	79,05b	6516,18 b
ALB UV-C	12,33 a	49,94a	429,78a	152,08a	5948,46a
ALB CONT	10,16b	43,29b	298,73b	80,42b	4380,80b

AT – Antocianinas totais, CFT- Compostos fenólicos totais, AA- ácido ascórbico, CT-Carotenóides totais, CA-Capacidade antioxidante. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p=0,05).

Artigo 2 - ALTERAÇÕES DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE MORANGOS PRODUZIDOS A PARTIR DE MUDAS PROVENIENTES DE MATRIZES RADIADAS COM UV-C



Apêndice C. Etapas da obtenção de mudas de morangueiros provenientes de matrizes cultivadas com tratamento UV-C. EMBRAPA CLIMA TEMPERADO; FAEM - UFPel, Pelotas, 2011.