

FÁBIO VINÍCIUS DE SOUZA MENDONÇA

AMADURECIMENTO PÓS-COLHEITA DE BANANA 'PRATA
ANÃ' TRATADA COM 1-METILCICLOPROPENO

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte
das exigências do programa de
Pós-Graduação em Fisiologia
Vegetal, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

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

T

M539a
2003

Mendonça, Fábio Vinícius de Souza, 1978-
Amadurecimento pós-colheita de banana 'Prata-Anã'
tratada com 1-metilciclopropeno / Fábio Vinícius de
Souza Mendonça. – Viçosa : UFV, 2003.
x, 19f. : il. ; 29cm.

Orientador: Rolf Puschman.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 16-19.

1. Banana - Maturação - Efeito do 1-metilciclopropeno.
2. Banana - Fisiologia pós-colheita. 3. Banana - Qualida-
de. 4. *Musa*. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 20.ed. 634.7726

FÁBIO VINÍCIUS DE SOUZA MENDONÇA

AMADURECIMENTO PÓS-COLHEITA DE BANANA 'PRATA
ANÃ' TRATADA COM 1-METILCICLOPROPENO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 05 de dezembro de 2003.

Prof. Luiz Carlos Chamhum Salomão
(Conselheiro)

Prof. Paulo Roberto Mosquim

Prof. Fernando Luiz Finger

Dr. Ebenézer de Oliveira Silva

Prof. Rolf Puschmann
(Orientador)

À Andréia Caroline.

Aos meus avós.

Aos meus pais.

Aos meus irmãos.

Aos meus sobrinhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida, pelo incentivo e pela persistência na minha jornada.

Ao meu orientador, professor Ph.D. Rolf Pushmann, pela amizade, pela motivação à busca por conhecimento e pela honestidade no trabalho.

Ao professor Dr. Paulo Roberto Mosquim e ao pesquisador Dr. Ebenézer de Oliveira Silva, pelos aconselhamentos e pela amizade.

Aos professores Drs. José Ivo Ribeiro Júnior, Luiz Carlos Chamhum Salomão e Gerival Vieira, pela consideração, pelo apoio e pela amizade.

Aos professores do curso de Fisiologia Vegetal José Cambraia, Fábio Murilo da Matta, Fernando Luiz Finger, Juraci Alves de Oliveira, Marcelo Ehlers Loureiro, Marco Aurélio Pedron e Silva, Raimundo Santos Barros, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos companheiros de laboratório, a engenheira agrônoma Danieele Fabiola e os estagiários.

Aos amigos de república, que ainda lá estão, Franciscleudo, Marcelo, Roberto; aos que convivi por algum tempo, Sidney, Lurdinha, Tarciano e Samuel, e

ao meu irmão de casa, Adriano, pelas brigas e pelo companheirismo, que me ajudaram a crescer como pessoa.

Aos amigos da turma de 2002, Danilo, Gilberto, Laudiene, Natália e Welinton, pelo companheirismo durante o curso.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial, ao Departamento de Biologia Vegetal, pela oportunidade de realização do curso.

À CAPES, FAPEMIG, Agrofresh Inc. e ABANORTE, pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos os que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a conclusão desse curso.

BIOGRAFIA

FÁBIO VINÍCIUS DE SOUZA MENDONÇA, filho de Cledionor Francisco de Mendonça e Maria Celeste Cosme de Souza Mendonça, nasceu em Macau, Rio Grande do Norte, em 3 de julho de 1978.

Fez parte do curso primário no Colégio Salesiano São José de 1985 a 1990, compreendendo da 1ª à 6ª série, depois, no colégio Objetivo, terminou o curso de 1º Grau de 1991 e 1992, e concluiu o 2º Grau no mesmo colégio em 1995, todos localizados em Natal, Rio Grande do Norte.

Ingressou na Escola Superior de Agricultura de Mossoró (ESAM) no primeiro semestre de 1997, diplomando-se engenheiro agrônomo em janeiro de 2002.

Em abril de 2002, iniciou no Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa, em nível de Mestrado, em Fisiologia Vegetal, defendendo tese em dezembro de 2003.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	2
3. RESULTADOS.....	5
4. DISCUSSÃO.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16

RESUMO

MENDONÇA, Fábio Vinícius de Souza, M.S., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2003. **Amadurecimento pós-colheita de banana ‘Prata-Anã’ tratada com 1-metilciclopropeno.** Orientador: Rolf Puschmann. Conselheiros: Luiz Carlos Chamhum Salomão e José Ivo Ribeiro Júnior.

O amadurecimento da banana é um processo irreversível, estimulado pela produção autocatalítica do etileno e retardado pelo 1-metilciclopropeno (1-MCP), potente inibidor da ação desse regulador. Este trabalho objetivou examinar a vida útil e a qualidade de bananas (*Musa* spp. grupo AAB, subgrupo Prata, cv. Prata-Anã) após o tratamento com 1-MCP. Buquês de três frutos da segunda penca foram tratados com 0 e 60 nL L⁻¹ de 1-MCP, por 8 horas, a 20 °C, seguindo armazenamento a 20 ± 1 °C e 12 ± 1 °C. O tratamento foi realizado em, no máximo, 24 horas após a colheita. No armazenamento a 20 °C, o amarelecimento da casca, o acúmulo de sólidos solúveis totais, a degradação de clorofilas, o início da produção de etileno e a conversão de amido para açúcares solúveis totais foram retardados em cerca de 15 dias, mais que duplicando o período de conservação, em relação aos frutos não-tratados. Após o aumento da produção de etileno os frutos não-tratados e armazenados a 12 °C desenvolveram gradativamente a coloração da casca, simultaneamente

à degradação de clorofilas e à conversão de amido para açúcares solúveis totais, aumentando assim a concentração de sólidos solúveis totais. Nos frutos tratados com 1-MCP e armazenados a 12 °C foi verificado que o mesmo comportamento ocorreu, porém mais lentamente. O completo amadurecimento desses frutos ocorreu em torno de 45 dias, após transferência para 20 °C, o que aconteceu em torno dos 30 dias. Os frutos tratados, mantidos a 20 °C, e os não-tratados, a 12 °C, apresentaram resultados semelhantes; em ambos os tratamentos ocorreu retardamento do amadurecimento em cerca de 15 dias em relação aos frutos não-tratados, mantidos a 20 °C. Com base nas análises realizadas, verificou-se que o 1-MCP retardou o amadurecimento dos frutos, sem alterar a qualidade final dos mesmos, em relação aos frutos não-tratados.

ABSTRACT

MENDONÇA, Fábio Vinícius de Souza, M.S., Universidade Federal de Viçosa, december 2003. **Ripening postharvest of 'Prata-Anã' banana, treated with 1-methylcyclopropene.** Adviser: Rolf Puschmann. Committee members: Luiz Carlos Chamhum Salomão and José Ivo Ribeiro Júnior.

Ripening of banana is an irreversible process, stimulated by autocatalytic ethylene production of and delayed by the inhibitor action of 1-metilcyclopropene (1-MCP). This work aimed to examine the shelf life and the quality of bananas (*Musa sp.* AAB group, Prata subgroup, cv. Prata-Anã) after the treatment with 1-MCP. Clusters of three by fruits from the second hand, of bananas, were harvested and submitted to 0 and 60 nL L⁻¹ 1-MCP, for 8 hours, at 20 °C, followed by storage at 20 ± 1 °C and 12 ± 1 °C. The treatment was applied in the first 24 hours after harvest. Fruits treated with 1-MCP followed by storage at 20 °C, delayed the changes in skin color, chlorophylls degradation, total soluble solids accumulation, the start of ethylene production and conversion of starch to total soluble sugars, at about 15 days, duplicating your conservation, in relation the non-treated fruits. After the increase in the ethylene production, the non-treated fruit stored at 12 °C, shared and gradual raise in skin color, chlorophylls degradation, soluble solids accumulation and conversion of starch for total soluble sugars. A similar pattern, but in a slowed down

occurrence has presented for the 1-MCP treated fruits at 12 °C. Complete ripening of the treated fruits occurred at about 45 days, or after transferring to 20 °C by 30 days at 20 °C. Treated fruits, maintained at 20 °C, presented similar results in relation to non-treated fruits, maintained at 12 °C; the treatments delayed the ripening in about 15 days. Based on data, 1-MCP treated fruits delayed ripening, maintaining final quality, in relation the non-treated fruits.

Amadurecimento pós-colheita de banana ‘Prata Anã’ tratada com 1-metilciclopropeno

1. Introdução

A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mundialmente mais consumidas, devido ao seu sabor e grande valor nutritivo. É um fruto que tem no seu amadurecimento um processo irreversível, caracterizado por um padrão respiratório climatérico, que é estimulado pela produção autocatalítica de etileno (Biale e Young, 1981). O etileno regula uma série de alterações fisiológicas durante o amadurecimento, como a mudança de coloração da casca, o amolecimento da polpa e o aumento no conteúdo de sólidos solúveis (Domingues e Vendrell, 1993). Devido ao incremento no teor de açúcares solúveis totais, em função da hidrólise do amido (Prabha e Bhagyalakshmi, 1998) e de outras substâncias, como os componentes da parede celular, também ocorre o desenvolvimento de *flavor* (Li *et al.*, 1997) e o aumento nos níveis de ácidos orgânicos, com predominância do ácido málico, levando ao abaixamento do pH (Villas-Boas *et al.*, 2001). Os estudos em fisiologia pós-colheita são direcionados para a busca de novas alternativas que aumentem a vida de prateleira dos produtos, com o objetivo de retardar as alterações fisiológicas que ocorrem no amadurecimento sem modificar sua qualidade final.

Uma das alternativas atualmente empregada para aumentar a vida de prateleira dos frutos é a refrigeração. A redução da temperatura pode retardar o início do amadurecimento e, assim, manter os frutos em condições de transporte e comercialização para mercados distantes. No entanto, dependendo do tempo de exposição a baixas temperaturas, podem ocorrer injúrias por frio, fenômeno

denominado de friagem ou “chilling”, cujos sintomas são evidenciados pelas cores amarelo-cinza ou marrom da casca (Bleinroth, 1992).

O aumento da vida de prateleira e no armazenamento refrigerado, também pode ser conseguido pela utilização do 1-metilciclopropeno (1-MCP), um composto que atua sobre os sítios receptores do etileno, bloqueando deste modo, os efeitos desse gás, quer seja de origem endógena ou exógena. Sisler e Serek (1999) relatam que o 1-MCP apresenta uma cinética competitiva com o etileno em relação ao sítio receptor, mas Jiang *et al.* (1999b), trabalhando com banana ‘Williams’, relataram que o 1-MCP atua de maneira não-competitiva, devido a sua maior afinidade pelo sítio receptor, evidenciado pelo menor *km* em relação ao do etileno.

O 1-MCP se mostrou efetivo em retardar o amadurecimento de frutos de bananas ‘Williams’ (Golding *et al.*, 1998; Jiang *et al.*, 1999a, b; Harris *et al.*, 2000; Pelayo *et al.*, 2003) e bananas ‘Prata-Anã’ (Botrel *et al.*, 2002). No entanto, pouco ainda se conhece acerca dos efeitos desse gás sobre os frutos de banana ‘Prata-Anã’, que possuem alto valor comercial devido ao seu sabor e aparência. Vê-se no 1-MCP uma alternativa à refrigeração e uma possível associação com a mesma para a exportação. O trabalho teve como objetivo verificar o efeito do 1-MCP em diferentes estádios de coloração da casca, associado ou não à refrigeração, na vida útil pós-colheita e nas mudanças químicas no amadurecimento de bananas ‘Prata-Anã’.

2. Material e Métodos

2.1. Material vegetal e tratamentos

Frutos de banana (*Musa* spp., grupo AAB, subgrupo Prata, cv. Prata-Anã) da segunda penca do cacho, com massa entre 400 e 500 g e diâmetro entre 35 e 45 mm, foram colhidos no primeiro semestre de 2003, em campos de produção comercial no

município de Janaúba, norte de Minas Gerais, Brasil. As pencas foram acondicionadas em caixas de papelão, revestidas internamente com filmes plásticos perfurados e transportadas para a Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG. As pencas foram divididas em buquês compostos por três frutos, lavados em uma solução de sulfato de alumínio e detergente (aproximadamente $0,3 \text{ g L}^{-1}$ e $0,3 \text{ mL L}^{-1}$, respectivamente), selecionados, visando obter amostras homogêneas para posterior tratamento. Os buquês de banana 'Prata-Anã', no estágio de coloração 1 (fruto verde), foram tratados com 1-MCP (Smartfresh™, Agrofresh Inc.) (0 e 60 nL L^{-1}), pelo período de 8 horas, a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$; melhor concentração, retirada de tratamentos com 60 , 120 e 180 nL L^{-1} e tempo de exposição de 4, 8 e 12 horas encontrados em experimentos anteriores (dados não-mostrados). Em seguida, os buquês foram armazenados em câmaras a $20 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e a $12 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. O tempo entre a colheita e o tratamento com 1-MCP foi de, no máximo, 24 horas.

2.2. *Cor da casca*

Foi avaliada a cada quatro dias conforme a escala de cores descrita por Burg e Burg (1962), sendo cada valor representativo de nove frutos.

2.3. *Sólidos solúveis totais*

Foi determinado em extrato obtido por meio de prensa manual, a partir de aproximadamente 10 g de polpa. Os valores, em porcentagem, foram obtidos com o auxílio de um refratômetro de mesa tipo Abbé.

2.4. *Clorofilas a, b e totais*

Duas amostras compostas (2 g) da casca de cada buquê, obtidas na região mediana dos frutos, foram retiradas nos tempos em que os frutos atingiram os

estádios de coloração 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7.

As extrações das clorofilas foram feitas segundo a metodologia utilizada por Salomão (1995). Para a determinação das absorvâncias a 644 e 662 nm, utilizou-se um extrato etéreo. Os níveis de clorofila foram, então, quantificados conforme Smith e Benitez (1955).

2.5. Produção de etileno

Os frutos foram acondicionados, individualmente, em recipientes de vidro (1,6 L) hermeticamente fechados. Alíquotas de 1,0 mL foram retiradas de sua atmosfera e injetadas em cromatógrafo a gás HP 5890 série II (EUA), equipado com coluna de alumínio empacotada com Porapak-N (80 – 100 mesh), e detector de ionização de chama. As condições de trabalho foram: fluxo do gás de arraste 30 cm³ min⁻¹; temperaturas da coluna, do detector e do injetor de 60, 150 e 110 °C, respectivamente. A quantificação foi feita pela comparação das áreas dos picos das amostras, com aquelas produzidas pelas alíquotas-padrão. Cada valor foi representativo de 12 amostras retiradas de seis frutos.

2.6. Açúcares solúveis totais e amido

Amostras compostas da polpa dos frutos foram retiradas, nos tempos em que elas atingiram os estádios de coloração da casca 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, e armazenadas em freezer a -15 °C.

Os açúcares solúveis totais foram extraídos em etanol 80 %, a partir de 200 mg de amostras, segundo a metodologia de Hodge e Hofreiter (1962), adaptada por Salomão (1995). A partir da reação do extrato com o reagente de antrona foi determinada a absorvância a 620 nm.

O amido foi quantificado a partir do resíduo remanescente das extrações etanólicas, mediante a metodologia descrita por McCready *et al.* (1950), e modificada por Patel (1970).

2.7. Delineamento experimental

Os experimentos foram montados em esquema fatorial 2 (concentrações) x 2 (temperaturas), segundo o delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os frutos de banana foram analisados até o seu completo amadurecimento, em intervalos de quatro dias, iniciando no tempo 0 (dia de aplicação do 1-MCP e montagem do experimento). Foram realizadas análises de variância com aplicação do teste F, a 5 % de probabilidade, dentro de cada tempo de avaliação ou estágio de coloração da casca, para a comparação das médias das concentrações dentro de cada temperatura e das médias das temperaturas dentro de cada concentração. Também foram construídos gráficos de linhas para cada um dos quatro tratamentos ao longo do tempo ou do estágio de coloração, com base nas médias de todas as características avaliadas.

3. Resultados

3.1. Coloração da casca e sólidos solúveis totais

Os frutos tratados com 60 nL L⁻¹ de 1-MCP e armazenados a 20 °C, retardou em mais de duas vezes o tempo para o amarelecimento da casca, em relação aos frutos não-tratados armazenados na mesma temperatura (Figura 1). A 12 °C os frutos tratados permaneceram com coloração da casca no estágio 3 até cerca de 32 dias após o armazenamento. Após 32 dias de armazenamento a 12 °C, os frutos tratados foram transferidos para 20 °C, completando seu amadurecimento em cerca

de 15 dias após essa a transferência. A dose de 60 nL L⁻¹ de 1-MCP foi eficiente em retardar o amadurecimento dos frutos (Figuras 1 e 2), além disso, observou-se também semelhanças no tempo necessário para o completo amarelecimento da casca entre os frutos tratados com 1-MCP, mantidos a 20 °C e os frutos não-tratados mantidos a 12 °C.

As alterações da coloração da casca e dos sólidos solúveis totais apresentaram alto coeficiente de correlação $r = 0,96$ ($P < 0,01$). Os frutos tratados com 1-MCP e armazenados a 20 e 12 °C apresentaram atraso na evolução do teor de sólidos solúveis totais, sendo que, ao completarem o amadurecimento, atingiram valores semelhantes aos dos frutos não-tratados quando maduros, da ordem de 22 a 23 % (Figuras 1 e 2). Comparando os sólidos solúveis totais dos frutos não-tratados e tratados com 1-MCP, armazenados a 20 e 12 °C respectivamente, observaram-se semelhanças entre os tratamentos, como verificado para a coloração da casca (Figuras 1 e 2).

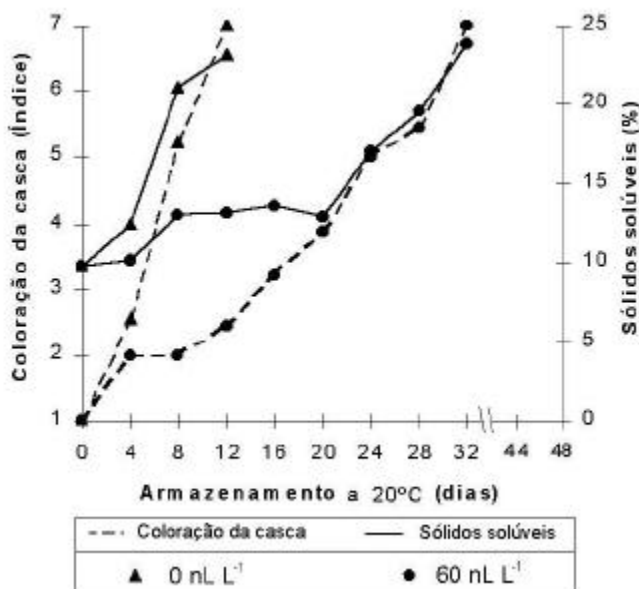


Figura 1. Coloração da casca (índice) e sólidos solúveis totais da polpa (%), para frutos tratados ou não com 60 nL L⁻¹ de 1-MCP e armazenados a 20 °C.

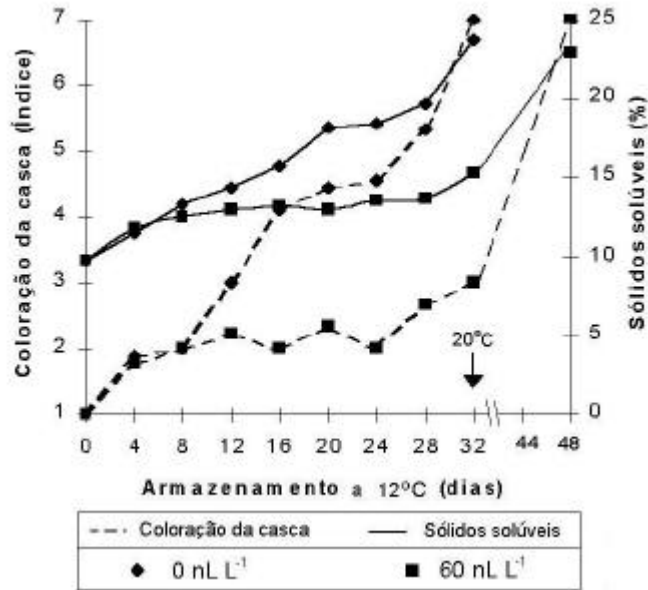


Figura 2. Coloração da casca (índice) e sólidos solúveis totais da polpa (%), para frutos tratados ou não com 60 nL L⁻¹ de 1-MCP e armazenados a 12 °C.

3.2. Clorofilas *a*, *b* e totais

Os frutos apresentaram decréscimo nos teores de clorofilas *a*, *b* e totais, sendo mais acentuado para os valores de clorofila *a*, em função do tempo de armazenamento (Figura 3). Os frutos tratados com 1-MCP apresentaram degradação mais lenta das clorofilas do que os não-tratados e armazenados a 20 e 12 °C. Os frutos tratados com 1-MCP atingiram a maturação completa com teores de clorofilas semelhantes aos frutos não-tratados. A partir do estágio de coloração da casca 5, os níveis de clorofilas permaneceram constantes até o completo amadurecimento dos frutos (dados não-mostrados).

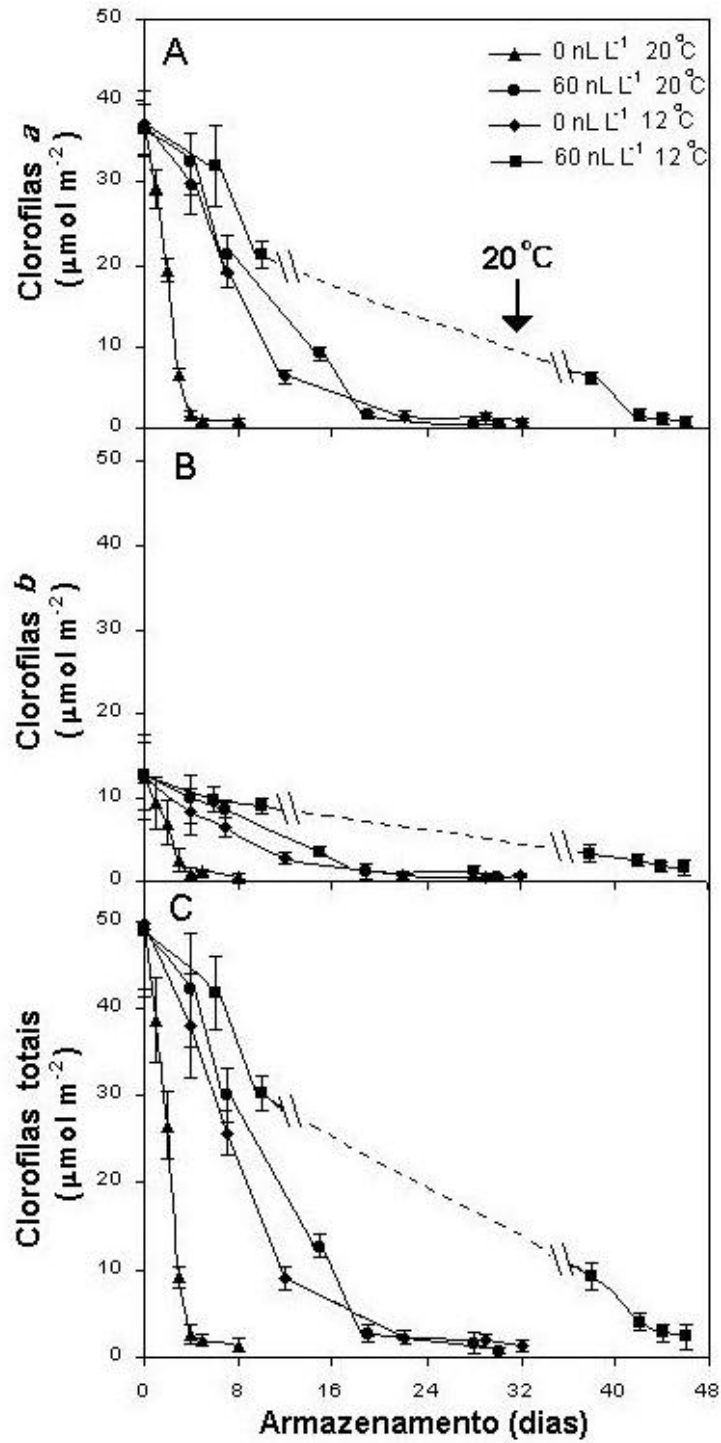


Figura 3. Teores de clorofilas *a* (A), *b* (B) e totais (C) da casca, para frutos tratados ou não com 60 nL L⁻¹ de 1-MCP e armazenados às temperaturas de 20 e 12 °C. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

3.3. Produção de etileno

Nos frutos não-tratados e armazenados à temperatura de 20 °C, a produção de etileno foi aproximadamente quatro vezes maior que nos frutos armazenados a 12 °C (Figura 4A). A 20 °C os frutos tratados com 1-MCP apresentaram o mesmo comportamento que os frutos não-tratados (Figura 4B), onde o início do aumento na produção de etileno foi retardado (Figura 4A). A taxa máxima de produção de etileno para os frutos não-tratados e tratados com 1-MCP e mantidos a 20 °C foram, respectivamente, de 6,7 e 6,5 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, atingida no estágio de coloração 6 (Figura 4B). Quando comparados os frutos não-tratados com os frutos tratados com 1-MCP, armazenados à temperatura de 20 °C, verificou-se um retardamento no tempo necessário para o início do aumento da produção de etileno em cerca de 5 dias (Figura 4A).

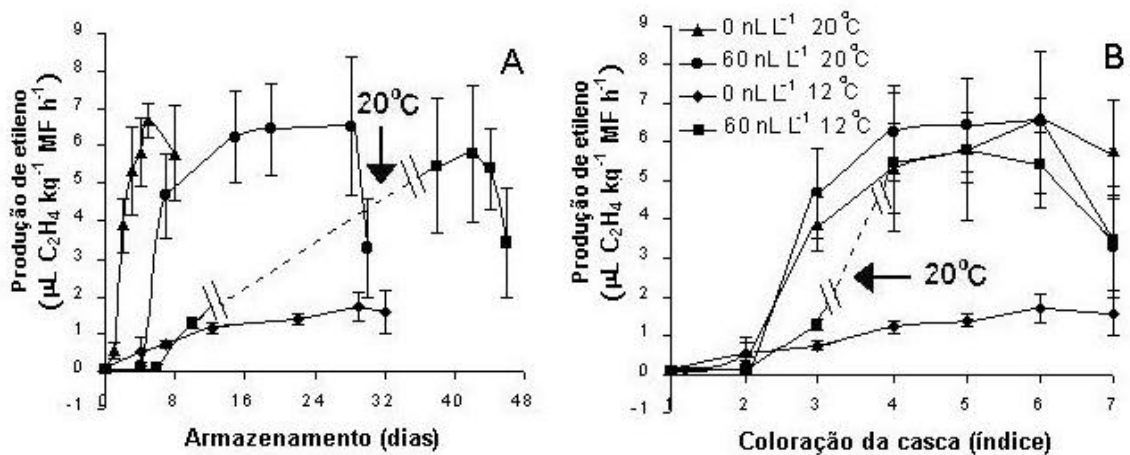


Figura 4. Produção de etileno para frutos tratados ou não com 60 nL L⁻¹ de 1-MCP, armazenados a temperaturas de 20 e 12 °C, em função do tempo de armazenamento (A) e do estágio de coloração da casca (B). As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

3.4. Açúcares solúveis totais e amido

No tempo zero, ou seja, dia da aplicação do 1-MCP e armazenamento dos frutos que se encontravam com coloração da casca no estágio 1, não havendo efeito

da concentração e da temperatura, as médias dos teores de açúcares solúveis totais e amido foram, respectivamente, de 1,05 % e 27,48 %.

As alterações do conteúdo de açúcares solúveis totais e do amido apresentaram um alto coeficiente de correlação, que foi de $r = -0,98$ ($P < 0,01$), e inversamente proporcionais (Figura 5). Os teores de açúcares solúveis totais aumentaram durante o armazenamento dos frutos, cujos valores foram maiores no estágio de coloração da casca 7 em relação ao 3 (Tabela 1). Esses valores nos frutos tratados com 60 nL L^{-1} de 1-MCP e armazenados a 20 e a 12 °C não diferiram dos valores obtidos pelos tratamentos com 0 nL L^{-1} de 1-MCP nos diferentes estádios de coloração da casca (Tabela 1). O aumento no teor de açúcares aconteceu a partir do estágio de coloração 3, coincidindo com o decréscimo no teor de amido. Observando-se a Figura 5, pode-se notar o efeito do uso do 1-MCP nos frutos de banana, que retardaram o início do aumento no teor de açúcares sem, no entanto, alterar as concentrações finais.

Observa-se que os valores de amido no fruto maduro foram semelhantes para os frutos não-tratados e tratados com 1-MCP (Figura 5), verificando-se um decréscimo na concentração de amido em função do tempo de armazenamento (Figura 5) e em função do estágio de coloração da casca, como pode ser observado pela diferença entre os valores que ocorreram no estádios 3 e 7, respectivamente (Tabela 1). Nos frutos tratados com 1-MCP houve retardamento no declínio do teor de amido da polpa dos frutos em função do tempo, sem alterar a concentração dentro de cada estágio de coloração da casca, quando comparado aos tratamentos com 0 nL L^{-1} de 1-MCP (Tabela 1).

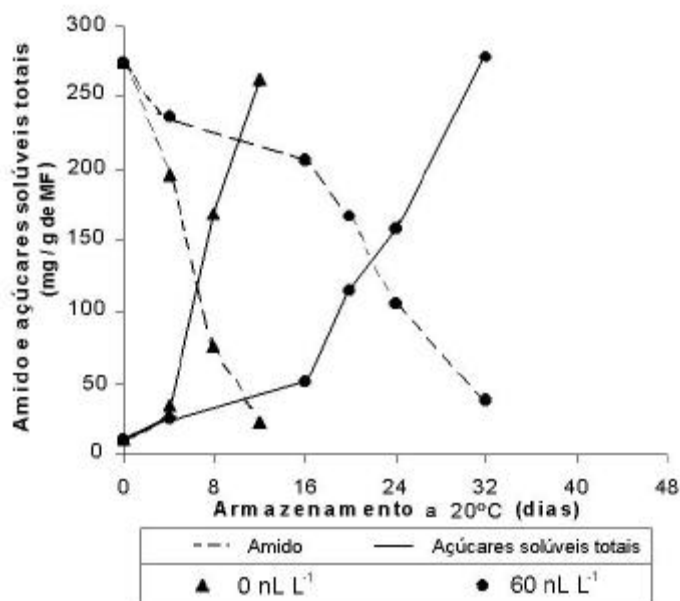


Figura 5. Teores de açúcares solúveis totais e amido, para frutos tratados ou não com 60 nL L⁻¹ de 1-MCP e armazenados à temperatura de 20 °C.

Tabela 1

Médias dos teores de açúcares solúveis totais e amido (mg/g de MF), para frutos tratados com 60 nL L⁻¹ de 1-MCP ou não e armazenados às temperaturas de 12 e 20 °C, nos estádios 3 e 7 de coloração da casca

1-MCP	Coloração da casca (Índice)			
	3		7	
	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C
Amido				
0 nL L ⁻¹	203,8 aA	195,8 aA	28,4 aA	21,6 aA
60 nL L ⁻¹	204,8 aA	205,7 aA	39,7 aA	38,4 aA
Açúcares				
0 nL L ⁻¹	65,0 aA	33,9 aA	244,0 aA	262,1 aA
60 nL L ⁻¹	52,4 aA	51,1 aA	252,8 aA	278,1 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste F (P>0,05), para cada característica e estágio, respectivamente.

4. Discussão

Pode-se verificar uma semelhança entre os efeitos da refrigeração a 12 °C e o uso de 1-MCP comparando com o armazenamento a 20 °C (Figuras 1 e 2). Nos frutos tratados com 1-MCP, observou-se aumento na preservação da cor verde dos

frutos, principalmente quando armazenado a 12 °C, onde as bananas permaneceram cerca de 30 dias ainda verdes (Figura 2), sendo essa condição revertida após transferência para 20 °C. A intensidade do retardamento do amadurecimento é variável e parece ser fortemente dependente da pré-colheita dos frutos da concentração do 1-MCP e do tempo de exposição (dados não-publicados). Pelayo *et al.* (2003) verificaram que a exposição ao 1-MCP retardou as alterações na coloração da casca e que a magnitude desse efeito depende do tempo de exposição e da concentração. Foi verificado nos frutos tratados com 1-MCP, perda no brilho, um amarelecimento desuniformidade na coloração da casca e um escurecimento na superfície dos frutos, mais presente nos frutos mantidos a 12 °C e transferidos para 20 °C, durante o amadurecimento. Esse comportamento foi também verificado por Golding *et al.* (1998) e Harris *et al.* (2000), trabalhando com bananas ‘Williams’ armazenadas a 20 °C, que as classificaram como sem condições aceitáveis para a comercialização. Foi observado, também, que nos frutos tratados, devido ao retardamento no amadurecimento apresentaram uma maior incidência de fungos na “almofada” e perda de umidade. Alguns fatores observados, como o escurecimento, a perda de brilho e a presença de fungos causam empecilho numa possível comercialização desses frutos.

O 1-MCP é um antagonista da ação do etileno por se ligar irreversivelmente ao sítio receptor desse fitorregulador (Sisler *e al.*, 1996). Todavia, a síntese de novos sítios receptores, esses não ocupados pelo 1-MCP, é responsável pelos sintomas de senescência em flores (Serek e Sisler, 2001), e pelo amadurecimento normal dos frutos de banana (Jiang *et al.*, 1999a). A desigualdade no amadurecimento dos frutos de banana tratados com 1-MCP, possivelmente é devido à localização de novos sítios receptores de etileno (Blankenship e Dole, 2003).

A coloração da casca é um bom indicador do amadurecimento da banana (Li *et al.*, 1997), e a sua evolução do verde para o amarelo foi acompanhada pelo aumento no teor de sólidos solúveis (Figuras 1 e 2), pois essas duas características são altamente correlacionadas. Nos frutos verdes foram obtidos altos valores de sólidos solúveis totais, superiores aos encontrados na literatura, podendo ser devido à grande presença de fenóis, nos estádios iniciais de maturação, que estariam interferindo nas determinações. No estágio de coloração 6, os frutos atingiram valores médios de sólidos solúveis totais em torno de 22 e 23 % (Figuras 1 e 2), semelhantes aos encontrados por Domingues e Vendrell (1993) e Bagnato *et al.* (2003), que trabalharam com banana Cavendish cv. 'Williams' tratadas com o 1-MCP.

A degradação das clorofilas pode ser verificada visualmente pela perda da cor verde na casca dos frutos de banana, indicando, assim, o amadurecimento (Domingues e Vendrell 1993; Li *et al.* 1997). Nos frutos maduros, os níveis de clorofilas são praticamente nulos (Figura 3), sendo o amarelecimento uma resposta à degradação de clorofilas e à maior visualização dos carotenóides. O 1-MCP retardou a degradação das clorofilas, tanto a 20 como a 12 °C (Figura 3), possivelmente devido ao mais lento aumento da produção de etileno causado pelo 1-MCP (Figura 4).

Quando os frutos de banana tratados com 1-MCP e armazenados a 20 °C, foram comparados aos não-tratados, dentro de cada estágio de coloração da casca, não se verificou variação na produção de etileno (Figura 4B). O pico de produção de etileno se aproximou do relatado por Villas-Boas *et al.* (2001) em banana 'Prata', que foi de 10 uL de etileno kg⁻¹ h⁻¹. Pelayo *et al.* (2003) e Golding *et al.* (1998) verificaram aumento na produção de etileno dos frutos de banana 'Williams' tratados

com 1-MCP em relação aos frutos não-tratados. Golding *et al.* (1998) sugeriram que o 1-MCP bloqueia a regulação normal da produção de etileno, podendo acentuar a produção do regulador por estimular a transcrição da ACC (Ácido 1-Aminociclopropano 1-Carboxílico) sintase. Pelayo *et al.* (2003), trabalhando com bananas ‘Williams’, verificaram aumento na atividade da ACC sintase, apenas aos seis dias de armazenamento nos frutos tratados com 1-MCP, sendo que, para a atividade da ACC oxidase, foi verificado aumento significativo a partir dos seis dias. Durante o amadurecimento normal dos frutos, o aumento da produção de etileno está associado ao estímulo na transcrição e atividade da ACC oxidase (López-Gómez *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 1999), e o declínio na produção de etileno, do estágio de coloração 6 para o 7 (Figura 4B), pode ser explicado, segundo Liu *et al.* (1999), pela diminuição na transcrição e atividade da ACC oxidase.

Pode-se verificar acentuado aumento na produção de etileno a partir do estágio de coloração 3 (Figura 4), acentuado, a partir dele, todas as alterações químicas e físicas estudadas relacionadas ao amadurecimento dos frutos. Foi verificado que a degradação de clorofilas e a hidrólise do amido ocorrem simultaneamente após o aumento da produção de etileno (Figuras 3, 4 e 5). Domingues e Vendrell (1993), trabalhando com bananas, também verificaram essa condição. O etileno está relacionado ao sinal da transcrição ou ao do silenciamento de genes relacionados à codificação de enzimas relacionadas ao amadurecimento. Deste modo, promove-se maior expressão diferencial nos genes transcritos durante o amadurecimento da banana, como decréscimo da enzima amido sintase e aumento na ascorbato peroxidase (Cledennen e May, 1997).

O aumento no teor de açúcares solúveis totais deve-se, em grande parte, à hidrólise do amido, presente na polpa dos frutos, sendo essa conversão acentuada a

partir do estágio de coloração 3, coincidindo com o aumento da produção de etileno (Figura 4 e 5), estágio esse considerado limite para importadores, por permitir que os mesmos tenham uma margem de segurança, em tempo, para poder comercializar o produto sem que ele se deteriore. Verifica-se uma mudança no conteúdo de carboidratos durante o amadurecimento dos frutos de banana, por incremento das concentrações de sacarose, frutose e glicose (Arêas e Lajolo, 1981; Prabha e Bhagyalakshmi, 1998). Golding *et al.* (1998) verificaram que o 1-MCP não alterou as concentrações de açúcares dos frutos ao final do amadurecimento, os quais apresentaram níveis similares aos de sacarose, frutose, glicose e açúcares totais, nos frutos não-tratados.

O decréscimo no teor de amido acompanhou o aumento na produção de etileno (Figuras 4 e 5), semelhante ao observado por Arêas e Lajolo (1981) e Prabha e Bhagyalakshmi (1998), que relatam decréscimo no teor de amido durante o amadurecimento, e pelo quase desaparecimento em frutos maduros. A degradação do amido, durante o amadurecimento do fruto de banana, ocorre por meio da hidrólise catalisada por enzimas, que têm sua atividade aumentada durante esse período, como α -amilase, β -amilase, α -1-6 glicosidase (Seymour, 1993) e fosforilase do amido (Arêas e Lajolo, 1981). Durante o amadurecimento há decréscimo na transcrição e na ação de enzimas relacionadas à síntese e acúmulo de amido nos amiloplastos da polpa (Cledennen e May, 1997).

Com base nos resultados e discussões, pode-se concluir que os frutos de banana tratados com o 1-MCP tiveram seu amadurecimento retardado em relação aos frutos não-tratados. Quando os frutos foram tratados com 1-MCP e armazenados a 20 °C, apresentaram uma vida de prateleira semelhante aos frutos não-tratados e armazenados a 12 °C. A qualidade dos frutos tratados com 1-MCP foi semelhante à

dos frutos não-tratados, quando avaliados nos mesmos estádios de coloração da casca. Os frutos tratados mantidos a 12 °C, mantiveram-se verdes por, cerca de 30 dias, tempo suficiente para a exportação marítima e distribuição no mercado Europeu, sendo que, o tempo prolongado de exposição ao frio provocou o escurecimento da casca.

Agradecimento

Os autores agradecem o apoio financeiro da CAPES, FAPEMIG, Agrofresh Inc. e ABANORTE.

Referências Bibliográficas

Arêas, J. A. G.; Lajolo, F. M., 1981. Starch transformation during banana ripening: I – the phosphorylase and phosphatase behavior in *Musa acuminata*. *Journal of Food Biochemistry*. 5, 19-37.

Bagnato, N.; Barrett, R.; Sedgley, M.; Klieber, A., 2003. The effects on the quality of Cavendish bananas, which have been treated with ethylene, of exposure to 1-methylcyclopropane. *International Journal of Food Science and Technology*. 38, 745 - 750.

Biale, J. B. & Young, R. E., 1981. Respiration and ripening in fruits - retrospect and prospect. In: Friend, J. & Rhodes, M. J. C. (Eds.), *Recent Advances in the Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Academic Press, pp. 1-39.

Blankenship, S. M.; Dole, J. M., 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biology and Technology*. 1 – 25.

Bleinroth, E. W., 1992. *Tecnologia pós-colheita de frutas tropicais*. Campinas: ITAL, pp. 203.

- Botrel, N.; Freire Júnior, M.; Vasconcelos, R. M. de; Barbosa, H. T. G., 2002. Inibição do amadurecimento da banana 'Prata-Anã' com aplicação do 1-Metilciclopropeno. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 24, 53 – 56.
- Burg, S. P.; Burg, E. A., 1962. Role of ethylene in fruit ripening. *Plant Physiology*. 37, 179 - 189.
- Cledennen, S. K.; May, G. D., 1997. Differential gene expression in ripening banana fruit. *Plant Physiology*. 115, 463 - 469.
- Domingues, M.; Vendrell, M., 1993. Ethylene biosynthesis in banana fruit: evolution of EFE activity and ACC levels in peel and pulp during ripening. *Journal of Horticultural Science*. 68, 63 – 70.
- Golding, J. B.; Shearer, D.; Wyllie, S. G.; McGlasson, W. B., 1998. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 14, 87 – 98.
- Harris, D. R.; Seberry, J. A.; Wills, R. B. H.; Spohr, L. J., 2000. Effect of fruit on efficiency of 1-methylcyclopropene to delay the ripening of bananas. *Postharvest Biology and Technology*. 20, 303 – 308.
- Hodge, J. E.; Hofreier, B. T., 1962. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: Whistler, R. L.; Wolfrom, M. L. (Eds.), *Methods in carbohydrates chemistry*, New York, Academic press. 1, 380 – 394.
- Jiang, Y.; Joyce, D. C.; Macnish, A. J., 1999a. Extension of the shelf life of banana fruit by 1-methylcyclopropene in combination with polyethylene bags. *Postharvest Biology and Technology*. 16, 187 – 193.
- Jiang, Y.; Joyce, D. C.; Macnish, A. J., 1999b. Responses of banana fruit to treatment with 1-methylcyclopropane. *Plant Growth Regulation*. 28, 77 – 82.

- Li, M.; Slaughter, D. C.; Thompson, J. F., 1997. Optical chlorophyll sensing for banana ripening. *Postharvest Biology and Technology*. 12, 273 - 283.
- Liu, X.; Shiomi, S.; Nakatsuka, A.; Kubo, Y.; Nakamura, R.; Inaba, A., 1999. Characterization of ethylene biosynthesis associated with ripening in banana fruit. *Plant Physiology*. 121, 1257 – 1265.
- López-Gómez, R.; Campbell, A.; Dong, J-G.; Yang, S-F.; Gómez-Lim, M. A., 1997. Ethylene biosynthesis in banana fruit: isolation of a genomic clone to ACC oxidase and expression studies. *Plant Science*. 123, 123 – 131.
- McCready, R. M.; Guggolz, J.; Silveira, V.; Owens, H. S., 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. *Analytical Chemistry*. 22, 1156 - 1158.
- Patel, R. Z., 1970. A note on the seasonal variations in starch content of different parts of coffee arabica trees. *East African Agricultural and Forestry Journal*. 36, 1 - 6.
- Pelayo, C.; Vilas-Boas, E. V. B.; Benichou, M.; Kader, A. A., 2003. Variability in responses of partially ripe bananas to 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*. 28, 75 - 85.
- Prabha, T. N.; Bhagyalakshmi, N., 1998. Carbohydrate metabolism in ripening banana fruit. *Phytochemistry*. 48, n. 6, 915 - 919.
- Salomão, L. C. C., 1995. *Efeitos do envoltório plástico no desenvolvimento e na maturação pós-colheita de frutos de banana (Musa AAB) 'Mysore'*. Viçosa – MG, pp. 104. (Tese D.S.).
- Seymour, G. B., 1993. Banana. In: Seymour, G. B.; Taylor, J. E.; Tucker, G. A. (Eds.), *Biochemistry of Fruit Ripening*. London: Chapman and Hall. pp. 83 – 106.
- Sisler, E. C.; Serek, M.; Dupille, E., 1996. Comparison of cyclopropene, 1-

methylcyclopropene, and 3,3-dimethylcyclopropene as ethylene antagonists in plants. *Plant Growth Regulation*. 18, 169-174.

Sisler, E. C.; Serek, M., 1999. Compounds controlling the ethylene receptor: Invited review paper. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. 40, 1 – 7.

Sisler, E. C.; Serek, M., 2001. Efficacy of inhibitors of binding in improvement of the postharvest characteristics of potted flowering plants. *Postharvest Biology and Technology*. 23, 161 – 166.

Smith, J. H. C.; Benitez, A., 1955. Chlorophylls: analysis in plant materials. In: Paech, K. & Tracey, M. V. (Eds.) *Modern methods of plant analysis*. Berlin, Springer-Verlag. pp. 142-196.

Villas-Boas, E. V. B.; Alves, R. E.; Filgueiras, H. A. C.; Menezes, J. B., 2001. Características da fruta. In: Matsuura, F. C. A. U.; Folegatti, M. I. S. (Eds), *Frutas do Brasil: Banana, pós-colheita*. Brasília – DF. Embrapa Informação Tecnológica. pp. 15 – 19.

Tabela 2

Médias da coloração da casca, de frutos tratados (60 nL L⁻¹) e não-tratados, com 1-MCP, armazenados às temperaturas de 12 e 20°C

	Armazenamento (dias)								
	0	4	8	12	16	24	20	28	32
0 nL L ⁻¹ 12 °C	1,00 a	2,22 a	2,00 b	3,33 b	4,11 a	4,44 a	4,56 a	5,33 a	7,00 a
0 nL L ⁻¹ 20 °C	1,00 a	2,56 a	5,22 a	7,00 a	-	-	-	-	-
60 nL L ⁻¹ 12 °C	1,00 a	1,89 a	2,00 b	2,22 c	2,00 b	2,34 b	2,00 b	2,67 b	3,00 b
60 nL L ⁻¹ 20 °C	1,00 a	2,00 a	2,00 b	2,44 bc	3,22 ab	3,89 a	5,00 a	5,44 a	7,00 a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste tukey (P>0,05).

Tabela 3

Médias do conteúdo de sólidos solúveis, de frutos tratados (60 nL L⁻¹) e não-tratados, com 1-MCP, armazenados às temperaturas de 12 e 20°C

	Armazenamento (dias)								
	0	4	8	12	16	24	20	28	32
0 nL L ⁻¹ 12 °C	9,78 a	11,44 a	13,33 b	14,33 b	15,78 a	18,22 a	18,39 a	19,67 a	23,72 a
0 nL L ⁻¹ 20 °C	9,78 a	12,61 a	21,11 a	23,11 a	-	-	-	-	-
60 nL L ⁻¹ 12 °C	9,78 a	11,78 a	12,56 b	13,00 b	13,22 b	12,94 b	13,50 b	13,67 b	15,22 b
60 nL L ⁻¹ 20 °C	9,78 a	10,11 a	12,89 b	13,44 b	13,56 b	12,94 b	17,06 ab	19,56 a	23,83 a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste tukey (P>0,05).

Tabela 4

Médias da produção de etileno, de frutos tratados (60 nL L^{-1}) e não-tratados, com 1-MCP, armazenados às temperaturas de 12 e 20°C, e nos estádios 2, 3, 4, 5, 6 e 7 de coloração da casca

1-MCP	Coloração da casca (Índice)											
	2		3		4		5		6		7	
	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C
0 nL L^{-1}	0,55 aA	0,58 aA	0,99 aB	3,88 aA	1,23 bB	5,33 aA	1,40 bB	5,83 aA	1,72 bB	6,69 aA	1,59 bB	5,79 aA
60 nL L^{-1}	0,12 aA	0,16 aA	1,29 aB	4,66 aA	5,46 aA	6,27 aA	5,78 aA	6,43 aA	5,38 aA	6,52 aA	3,43 aA	3,29 bA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste F ($P>0,05$), para cada característica e estágio, respectivamente.

Tabela 5

Médias da o teor de clorofilas *a*, *b* e totais, de frutos tratados (60 nL L⁻¹) e não-tratados, com 1-MCP, armazenados às temperaturas de 12 e 20°C, e nos estádios 2, 3, 4, 5, 6 e 7 de coloração da casca

1-MCP	Coloração da casca (Índice)											
	2		3		4		5		6		7	
	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C	12 °C	20 °C
Clorofila <i>a</i>												
0 nL L ⁻¹	29,78 aA	29,27bA	19,28 aA	19,47 aA	6,30 aA	6,70 aA	1,53 aA	1,75 aA	1,39 aA	0,86 aA	0,61 aA	0,87 aA
60 nL L ⁻¹	32,02 aA	32,35 aA	21,28 aA	21,34 aA	6,09 aB	9,16 aA	1,58 aA	1,55 aA	1,07 aA	0,53 aA	0,80 aA	0,38 aA
Clorofila <i>b</i>												
0 nL L ⁻¹	8,24 aA	9,35 aA	6,38 bA	6,99 aA	2,82 aA	2,55 aA	0,73 aA	0,85 aA	0,52 aA	1,08 aA	0,66 aA	0,55 aA
60 nL L ⁻¹	9,73 aA	9,80 aA	8,98 aA	8,61 aA	3,32 aA	3,54 aA	2,53 aA	1,18 aA	1,77 aA	1,05 aA	15,9 aA	0,39 aA
Clorofilas totais												
0 nL L ⁻¹	38,02 aA	38,63 aA	25,66 aA	26,46 aA	9,12 aA	9,25 aA	2,27 aA	2,60 aA	1,91 aA	1,94 aA	1,27 aA	1,42 aA
60 nL L ⁻¹	41,75 aA	42,15 aA	30,26 aA	29,96 aA	9,41 aA	12,71 aA	4,11 aA	2,73 aA	2,84 aA	1,59 aA	2,39 aA	0,77 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste F (P>0,05), para cada característica e estágio, respectivamente.

Tabela 6

Estimativas dos contrastes estabelecidos entre as médias nos estádios de coloração da casca, para cada tratamento

Tratamentos	Açúcares		Amido	
	1	2	1	2
0 nL L ⁻¹ 12 °C	-28,79*	-17,91*	31,66*	17,54*
0 nL L ⁻¹ 20 °C	-27,49*	-22,82*	33,14*	17,43*
60 nL L ⁻¹ 12 °C	-28,41*	-20,04*	30,42*	16,51*
60 nL L ⁻¹ 20 °C	-30,82*	-22,69*	30,47*	16,73*

$$1 = 2m_1 - m_3 - m_7.$$

$$2 = m_3 - m_7.$$

*Significativo pelo teste de Scheffé (P < 0,05).

Tabela 7

Estimativas dos contrastes estabelecidos entre as médias nos tempos de avaliação, para cada tratamento

	Coloração da casca							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0 nL L ⁻¹ 12 °C	- 4,56*	- 0,89	- 1,33*	- 8,78*	- 4,89	- 3,56	- 3,22*	- 1,67*
0 nL L ⁻¹ 20 °C	-11,78*	- 4,56*	- 1,78*	-	-	-	-	-
60 nL L ⁻¹ 12 °C	- 3,11	- 0,44	- 0,22	- 0,90	- 2,00	- 0,68	- 1,67	- 0,33
60 nL L ⁻¹ 20 °C	- 3,44*	- 0,44	- 0,44	- 12,35*	- 8,45*	- 5,77*	- 2,44	- 1,56*

$$1 = 3m_0 - m_4 - m_8 - m_{12}.$$

$$2 = 2m_4 - m_8 - m_{12}.$$

$$3 = m_8 - m_{12}.$$

$$4 = 5m_{12} - m_{16} - m_{20} - m_{24} - m_{28} - m_{32}.$$

$$5 = 4m_{16} - m_{20} - m_{24} - m_{28} - m_{32}.$$

$$6 = 3m_{20} - m_{24} - m_{28} - m_{32}.$$

$$7 = 2m_{24} - m_{28} - m_{32}.$$

$$8 = m_{28} - m_{32}.$$

*Significativo pelo teste de Scheffé (P < 0,05).

Tabela 8

Estimativas dos contrastes estabelecidos entre as médias nos tempos de avaliação, para cada tratamento

	Sólidos solúveis totais							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0 nL L ⁻¹ 12 °C	- 9,77*	- 4,76	- 1,00	- 24,19*	- 16,94*	- 7,18	- 6,67	- 4,11
0 nL L ⁻¹ 20 °C	- 27,49*	- 19,00*	- 2,00	-	-	-	-	-
60 nL L ⁻¹ 12 °C	- 8,00	- 2,00	- 0,44	- 3,55	- 2,45	- 3,57	- 1,89	- 1,55
60 nL L ⁻¹ 20 °C	- 6,77	- 5,78	- 0,22	- 21,40*	- 19,15*	- 21,63*	- 9,27*	- 4,27*

$$1 = 3m_0 - m_4 - m_8 - m_{12}.$$

$$2 = 2m_4 - m_8 - m_{12}.$$

$$3 = m_8 - m_{12}.$$

$$4 = 5m_{12} - m_{16} - m_{20} - m_{24} - m_{28} - m_{32}.$$

$$5 = 4m_{16} - m_{20} - m_{24} - m_{28} - m_{32}.$$

$$6 = 3m_{20} - m_{24} - m_{28} - m_{32}.$$

$$7 = 2m_{24} - m_{28} - m_{32}.$$

$$8 = m_{28} - m_{32}.$$

*Significativo pelo teste de Scheffé (P < 0,05).

Tabela 9
 Estimativas dos contrastes estabelecidos entre as médias nos estádios de coloração da casca, para cada tratamento

Tratamentos	Etileno					
	1	2	3	4	5	6
0 nL L ⁻¹ 12 °C	-6,94	-4,19	-2,01	-1,03	-0,51	0,13
0 nL L ⁻¹ 20 °C	-27,55*	-24,63*	-8,12	-2,31	-0,81	0,90
60 nL L ⁻¹ 12 °C	-20,94*	-20,73*	-14,90*	1,78	2,76	1,95
60 nL L ⁻¹ 20 °C	-26,73*	-26,34*	-3,83	2,42	3,06	3,22

$$1 = 6m_1 - m_2 - m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$2 = 5m_2 - m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$3 = 4m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$4 = 3m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$5 = 2m_5 - m_6 - m_7.$$

$$6 = m_6 - m_7.$$

*Significativo pelo teste de Scheffé (P < 0,05).

Tabela 10

Estimativas dos contrastes estabelecidos entre as médias nos estádios de coloração da casca, para cada tratamento

Tratamentos	Clorofila <i>a</i>					
	1	2	3	4	5	6
0 nL L ⁻¹ 12 °C	162,09*	119,79*	67,29*	15,37*	1,06	0,78
0 nL L ⁻¹ 20 °C	162,06*	117,70*	67,70*	16,62*	1,77	-0,01
60 nL L ⁻¹ 12 °C	158,14*	129,28*	75,58*	14,82*	1,29	0,27
60 nL L ⁻¹ 20 °C	155,68*	128,80*	73,75*	25,03*	2,20	0,16

$$1 = 6m_1 - m_2 - m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$2 = 5m_2 - m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$3 = 4m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$4 = 3m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$5 = 2m_5 - m_6 - m_7.$$

$$6 = m_6 - m_7.$$

*Significativo pelo teste de Scheffé ($P < 0,05$).

Tabela 11

Estimativas dos contrastes estabelecidos entre as médias nos estádios de coloração da casca, para cada tratamento

Tratamentos	Clorofila <i>b</i>					
	1	2	3	4	5	6
0 nL L ⁻¹ 12 °C	58,17*	30,23*	20,79*	6,55	0,28	-0,14
0 nL L ⁻¹ 20 °C	56,15*	34,73*	22,93*	5,17	0,07	0,53
60 nL L ⁻¹ 12 °C	49,61*	30,41*	26,71*	4,07	1,70	0,18
60 nL L ⁻¹ 20 °C	52,95*	34,23*	28,33*	8,01	0,90	0,66

$$1 = 6m_1 - m_2 - m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$2 = 5m_2 - m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$3 = 4m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$4 = 3m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$5 = 2m_5 - m_6 - m_7.$$

$$6 = m_6 - m_7.$$

*Significativo pelo teste de Scheffé ($P < 0,05$).

Tabela 12

Estimativas dos contrastes estabelecidos entre as médias nos estádios de coloração da casca, para cada tratamento

Tratamentos	Clorofilas totais					
	1	2	3	4	5	6
0 nL L ⁻¹ 12 °C	217,68	149,88	88,08	21,92	1,34	0,64
0 nL L ⁻¹ 20 °C	215,62	151,48	99,88	21,79	1,84	0,52
60 nL L ⁻¹ 12 °C	205,81	160,39	102,94	16,82	3,05	0,45
60 nL L ⁻¹ 20 °C	206,01	162,99	102,04	33,04	3,10	0,82

$$1 = 6m_1 - m_2 - m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$2 = 5m_2 - m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$3 = 4m_3 - m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$4 = 3m_4 - m_5 - m_6 - m_7.$$

$$5 = 2m_5 - m_6 - m_7.$$

$$6 = m_6 - m_7.$$

*Significativo pelo teste de Scheffé ($P < 0,05$).