



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

DISSERTAÇÃO

**QUALIDADE, TRANSLUCIDEZ E METABOLISMO ANTIOXIDANTE
DE INFRUTESCÊNCIAS DO ABACAXIZEIRO 'PÉROLA' SOB
ADUBAÇÃO NITROGENADA E POTÁSSICA**

RENATO PEREIRA LIMA

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**QUALIDADE, TRANSLUCIDEZ E METABOLISMO ANTIOXIDANTE DE
INFRUTESCÊNCIAS DO ABACAXIZEIRO ‘PÉROLA’ SOB ADUBAÇÃO
NITROGENADA E POTÁSSICA**

RENATO PEREIRA LIMA

Sob a Orientação da Professora

SILVANDA DE MELO SILVA, PhD

Dissertação submetida como requisito para
obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**,
no Programa de Pós-Graduação em
Agronomia.

Areia, PB
Fevereiro de 2016

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

L732q Lima, Renato Pereira.
Qualidade, translucidez e metabolismo antioxidante de infrutescências do
abacaxizeiro 'Pérola' sob adubação nitrogenada e potássica / Renato Pereira Lima. -
Areia: UFPB/CCA, 2016.
viii, 67 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias.
Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2016.

Bibliografia.
Orientadora: Silvanda de Melo Silva.

1. Abacaxi 2. Fruticultura 3. Pré-colheita I. Silva, Silvanda de Melo (Orientadora) II.
Título.

UFPB/CCA CDU: 634.774(043.3)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: QUALIDADE, TRANSLUCIDEZ E METABOLISMO ANTIOXIDANTE DE INFRUTESCÊNCIAS DO ABACAXIZEIRO 'PÉROLA' SOB ADUBAÇÃO NITROGENADA E POTÁSSICA

AUTOR: RENATO PEREIRA LIMA

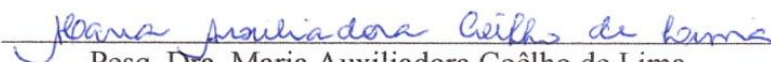
Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em AGRONOMIA (Agricultura Tropical) pela comissão Examinadora:



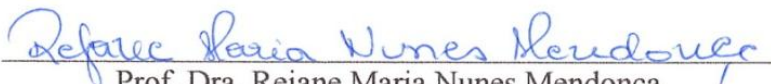
Prof. Ph.D. Silvanda de Melo Silva
Orientadora
PPGA/CCA/UFPB



Prof. Dr. Alexandre Paiva da Silva
Examinador
PPMSA/CCA/UFPB

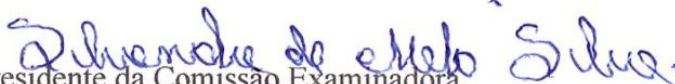


Pesq. Dra. Maria Auxiliadora Coêlho de Lima
Examinadora
Embrapa Semiárido



Prof. Dra. Rejane Maria Nunes Mendonça
Examinadora
PPGA/CCA/UFPB

Data da realização: 22 de Fevereiro de 2016.



Presidente da Comissão Examinadora
Silvanda de Melo Silva, Ph.D.
Orientadora

Aos meus pais, Paulo e Zenilda, pelos genes que determinaram meu corpo, sangue (vida) e mente, pelo amor dedicado e por todos os ensinamentos que refletiram no ser humano que sou;

A professora Silvanda Silva, que acreditou em mim, me deu a oportunidade e com muitos esforços alcançou os recursos necessários a esta pesquisa;

Aos meus irmãos, Paulo Roberto, Ricardo, Cassia, Daniel e Emanuel, pelo afeto, amizade e companheirismo em todos os momentos;

À Roberta, pelo companheirismo, amor, carinho e pela paciência nos momentos complicados;

A minha prima, Ana Dantas, e seu esposo, Renato Dantas, pela oportunidade única de convivência, aprendizado pessoal e acadêmico,

Dedico!

*A Deus, pelo sopro de vida, por me manter com sua mão poderosa e por conduzir meu destino
por caminhos repletos de alegria, realizações e conquistas.*

*Em especial à professora Silvana de Melo Silva pelo exemplo de profissionalidade e
competência, pela confiança, incentivo e orientação;*

*A Edson Almeida Cardoso por conduzir toda a fase experimental de campo (trabalho de sua
Tese) e me permitir estudar as infrutescências que resultaram neste trabalho;*

*Ao professor Walter E. Pereira, pela pessoa e profissional que muito me serve de exemplo e
pelos ensinamentos acadêmicos;*

*A Dra. Maria Auxiliadora Coêlho de Lima, Dra. Rejane Maria Nunes Mendonça e o Dr.
Alexandre Paiva da Silva pelas contribuições dadas a este trabalho, como examinadores;*

*A equipe do Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita e a Dona Rosane, agradeço a
todos os colegas de pesquisa e amigos,*

Agradeço!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	viii
GENERAL ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	4
ARTIGO I	8
Qualidade e translucidez de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ cultivado sob adubação nitrogenada e potássica	8
Resumo	9
1. Introdução	10
2. Material e Métodos	12
3. Resultados	18
4. Conclusão	29
Referências	31
ARTIGO II	36
DYNAMIC OF ANTIOXIDANT METABOLISM IN PINEAPPLE FRUITS IN RESPONSE TO NITROGEN AND POTASSIUM FERTILIZATION	36
ABSTRACT	37
INTRODUCTION	38
MATERIAL AND METHODS	40
RESULTS	44
DISCUSSION	48
REFERENCES	54
FIGURE CAPTIONS	59
TABLES	61
FIGURE GRAPHICS	63
CONCLUSÕES GERAIS	68

LIMA, R. P. **Qualidade, translucidez e metabolismo antioxidante de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ sob adubação nitrogenada e potássica.** Areia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, 2016, 67p. Trabalho de Dissertação em Agronomia. Orientadora: Silvanda de Melo Silva, Ph.D.

RESUMO GERAL

Práticas de manejo pré-colheita na cultura do abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*), a exemplo da adubação mineral, podem melhorar a qualidade na colheita e reduzir os níveis iniciais de translucidez, que alteram a coloração da polpa e conduz ao escurecimento interno. Essas práticas podem também influenciar na produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e nos conteúdos de agentes antioxidantes. Contudo, com relação à adubação nitrogenada e potássica estes efeitos ainda não estão bem caracterizados. Neste sentido, esta pesquisa está dividida em dois trabalhos. Primeiramente, objetivou-se avaliar a qualidade e translucidez de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ produzidas sob adubação nitrogenada e potássica. No segundo, o objetivou-se avaliar as mudanças no metabolismo antioxidante e no conteúdo de H_2O_2 em infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ sob adubação nitrogenada e potássica. Cinco doses de ureia (0,53; 3,20; 5,33; 7,47; 10,13) e cinco de cloreto de potássio (0,30; 1,78; 2,97; 4,15; 5,64) foram combinadas, em esquema fatorial conforme a matriz Plan Puebla III, totalizando dez tratamentos, com três repetições, em DBC. Constatou-se que a adubação nitrogenada e potássica no cultivo do abacaxizeiro ‘Pérola’ influenciam os níveis de translucidez na polpa das infrutescências, na maturidade comercial. Neste contexto, dose elevada de N (7,47 g de ureia por planta) combinada com dose baixa de K (1,78 g de KCl por planta) aumenta a translucidez da polpa e reduz o conteúdo de flavanoides amarelos. Mas, a translucidez reduziu quando K foi fornecido na dose de 4,15 g de KCl por planta com 7,47 g de ureia por planta. Assim, a combinação de 7,47 g de ureia com 4,15 g de KCl por planta no cultivo do abacaxizeiro ‘Pérola’ favorece a qualidade das infrutescências, mantendo baixos os níveis de translucidez e elevados valores de luminosidade (L^*) da polpa, conteúdos de flavanoides amarelos, dos açúcares redutores e das proteínas solúveis na polpa e no eixo central. Por sua vez, o processamento de imagens digitais demonstrou ser uma ferramenta importante na caracterização da translucidez e das mudanças na coloração da polpa associadas a este fenômeno. No segundo trabalho, notou-se que doses baixas de N e K, assim como o excesso destes nutrientes isoladamente, elevaram o conteúdo de H_2O_2 e, consequentemente, a atividade de enzimas antioxidantes. A atividade da catalase aumentou principalmente quando K estava elevado e N reduzido, enquanto a superóxido dismutase, ácido ascórbico peroxidase e peroxidase aumentaram quando ambos estavam baixos ou muito elevados. Nesta condição, o conteúdo de ácido ascórbico e polifenóis extraíveis totais também foram elevados e proporcionaram maior atividade antioxidante total. Na condição que o experimento foi realizado, a combinação de 5,33 g de ureia com 2,97 g de KCl por planta, na adubação do abacaxi ‘Pérola’, promove um equilíbrio entre o metabolismo antioxidante e os níveis de H_2O_2 na polpa e eixo central das infrutescências. Adicionalmente, uma análise de componentes principais revelou que as relações N/K são tão importantes quanto as concentrações absolutas destes nutrientes na otimização do metabolismo antioxidante e, portanto, um destes nutrientes não deve ser considerado isoladamente.

Palavras-chave: *Ananas comosus*, escurecimento interno, processamento de imagem digital, translucidez, ácido ascórbico, peróxido de hidrogênio, superóxido dismutase, ácido ascórbico peroxidase, catalase

LIMA, R. P. **Quality, translucency and antioxidant metabolism of inflorescences of 'Pérola' pineapple under nitrogen fertilization and potassium.** Areia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, 2016, 67p. Dissertation work in Agronomia. Supervisor: Silvanda de Melo Silva, Ph.D.

GENERAL ABSTRACT

Practices for pre-harvest management in the pineapple crop (*Ananas comosus* var. *comosus*), such as the mineral fertilizer, can improve the quality of the crop at harvest and reduce the initial levels of translucency, which change the color of the pulp and leads to internal browning. These practices may also influence the production of hydrogen peroxide (H_2O_2) and antioxidants content. However, in relation to nitrogen fertilization and potassium these effects are not well characterized, yet. Based on that, this research is divided into two experiments. Primarily aimed to assess the quality and translucency infructescences pineapple 'Pérola' produced under nitrogen and potassium fertilization. In the second, aimed at evaluating changes in antioxidant metabolism and H_2O_2 content in inflorescences of pineapple 'Pérola' in nitrogen and potassium fertilization. Five urea doses (0.53; 3.20; 5.33; 7.47; 10.13) and five of potassium chloride (0.30; 1.78; 2.97; 4.15; 5.64) were combined in a factorial as the Plan Puebla III matrix, totaling ten treatments, with three replicates in RBD. It was found that nitrogen and potassium fertilization in the cultivation of pineapple 'Pérola' influence translucency levels in the flesh of inflorescences, the commercial maturity. In this context, high-dose N (7.47 g urea per plant) combined with low K (1.78 g KCl per plant) increases the color of the pulp and reduces the content of flavonoids yellow. However, the translucency reduced when K was given at a dose of 4.15 g KCl per plant with 7.47 g of urea per plant. Thus, the combination of 7.47 g urea 4.15 g KCl per plant in the cultivation of pineapple 'Pérola' favors the quality of the seed heads, maintaining the low levels of translucency and high brightness values (L^*) of the pulp, yellow flavonoids content, reducing sugars and soluble proteins in the pulp and core. In turn, the digital imaging proved to be an important tool in the characterization of translucency and changes in pulp color associated with this phenomenon. In the second study, it was noted that low doses of N and K, and the excess of such nutrients individually, increased the H_2O_2 content and therefore the activity of antioxidant enzymes. The catalase activity increased especially when K was high and N reduced, while the superoxide dismutase, ascorbic acid peroxidase and peroxidase increased when both were low or too high. In this condition, the content of ascorbic acid and total extractable polyphenols were also high and provided higher total antioxidant activity. On condition that the experiment was carried out, the combination of 5.33 g urea 2.97 g KCl per plant, the fertilization of pineapple 'Pérola', promotes a balance between antioxidant metabolism and H_2O_2 levels in the pulp and core of inflorescences. In addition, a principal component analysis showed that N/K ratios are as important as the absolute concentrations of these nutrients in optimizing antioxidant metabolism and thus of these nutrients must not be considered separately.

Keywords: *Ananas comosus*, internal browning, digital image processing, ascorbic acid, hydrogen peroxide, superoxide dismutase, ascorbic acid peroxidase, catalase

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil ocupa o segundo lugar no ranking mundial de produção de infrutescências do abacaxizeiro (FAOSTAT, 2016). A produção no ano de 2014 foi de aproximadamente 1,6 milhão de infrutescências. Neste cenário, a região Nordeste é a principal produtora, com uma contribuição de aproximadamente 40% da produção total. Por sua vez, o estado da Paraíba, principal produtor na região Nordeste, contribui com aproximadamente 18% da produção nacional (IBGE, 2016). Mas o cultivo do abacaxi na região Nordeste enfrenta adversidades edafoclimáticas, com ocorrência de solos com baixa fertilidade, e baixos níveis tecnológicos nas etapas da cadeia produtiva. Neste contexto, é necessário estudos para a otimização das práticas de manejo pré-colheita, a exemplo da adubação mineral, visando assegurar a qualidade das infrutescências do abacaxi e, consequentemente, o sucesso da comercialização.

A translucidez e o escurecimento interno das infrutescências do abacaxizeiro são distúrbios fisiológicos que alteram a coloração da polpa, depreciando a qualidade e, consequentemente, prejudicando a comercialização (HOTEGNI et al., 2014). A translucidez pode iniciar duas a quatro semanas antes da colheita (CHEN & PAULL, 2001) favorecendo o posterior desenvolvimento do escurecimento interno durante o armazenamento (RAIMBAULT et al., 2011). Tais alterações envolvem mudanças na coloração da polpa (MONTERO-CALDERÓN et al., 2008), redução da firmeza (PATHAVEERAT et al., 2008), alterações no conteúdo de carboidratos (CHEN & PAULL, 2000; PATHAVEERAT et al., 2008) e degradação dos compostos fenólicos (LU et al., 2011), gerando produtos escuros.

O desenvolvimento da translucidez e do escurecimento interno durante o armazenamento do abacaxi está fortemente associado ao metabolismo de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a capacidade que os sistemas antioxidantes apresentam de modular estes agentes oxidativos (NUKUNTORNPRAKIT et al., 2015). A deficiência do potássio durante o cultivo do abacaxi favorece a incidência de escurecimento interno durante o armazenamento das infrutescências, possivelmente por elevar a atividade de enzimas oxidativas como a polifenoloxidase e peroxidase (SOARES et al., 2005), que condicionam este processo (RAIMBAULT et al., 2010). De acordo com Martins et al. (2012), infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ cultivado com os limites adequados de fertilizantes químicos, principalmente os nitrogenados, considerando análises do solo e foliar, apresentaram menor taxa de senescência e menor translucidez da polpa se comparadas às oriundas da produção convencional, durante armazenamento sob condições ambientes.

A avaliação da translucidez em abacaxi tem sido realizada por meio de escalas subjetivas, que buscam classificar a evolução da área translúcida da secção transversal da fruta (MONTERO-CALDERON et al., 2008; RUSSO et al., 2014). Mas a severidade da translucidez em infrutescências de abacaxi pode ser precisamente quantificada com o uso de processamento de imagens digitais (LIMA et al., 2015). Além disso, a medição da cor através da visão computacional fornece uma caracterização detalhada da uniformidade da cor de frutas e hortaliças (WU & SUN, 2013), através dos sistemas de cores tais como o RGB (Red, Green e Blue) (GARRIDO-NOVELL et al., 2012; ZHANG et al., 2014), podendo ser uma ferramenta importante na caracterização da translucidez.

Sabe-se que a deficiência nutricional durante o cultivo das culturas podem causar grandes oscilações no estado redox celular e favorecer o acúmulo de ROS (FOYER & NOCTOR, 2011). Neste contexto, os sistemas antioxidantes são mecanismos para que as plantas minimizem os efeitos de ROS e mantenham o estado redox fisiológico. Diferentes classes de enzimas antioxidantes catalisam reações de oxirredução, muitas vezes dependentes de elétrons fornecidos por redutores de baixo peso molecular, como ácido ascórbico e compostos fenólicos (NOCTOR et al., 2014; LATA, 2015). As enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidases (POD) e as enzimas do ciclo ácido ascórbico-glutationa como a ácido ascórbico peroxidase (APX), e glutathione redutase (GR), atuam como parte do sistema de defesa antioxidante enzimático (WU et al., 2010; NOCTOR et al., 2014; DEVI e GIRIDHAR, 2015; LIN et al., 2015). Por sua vez, os compostos fenólicos, o ácido ascórbico e a glutathione são moléculas de elevada capacidade redutora, que atuam diretamente no sistema antioxidante não enzimático (ALOTHMAN et al., 2009; HOSSAIN et al., 2011). Ambos os sistemas antioxidantes, contribuem para a eliminação do peróxido de hidrogênio com consumo reduzido de energia.

Considerando o exposto, a adequação de práticas agrícolas, como o manejo nutricional demonstra ser uma ferramenta adicional para o controle da translucidez e, consequentemente, redução da susceptibilidade ao escurecimento, promovendo um ajuste dos níveis de ROS, através do metabolismo antioxidante. Mas ainda são necessários estudos sobre a dinâmica do metabolismo antioxidante em resposta a adubação com N e K, sobretudo quando associados. A utilização de adubos nitrogenados e potássicos no cultivo do abacaxizeiro constitui-se uma prática de manejo obrigatória em decorrência das exigências nutricionais da cultura (SPIRONELLO et al., 2004; CAETANO et al., 2013; PEGORARO et al., 2014). No entanto, os estudos envolvendo adubação com nitrogênio e potássio abordam

principalmente o desempenho da cultura com relação à produtividade e os atributos básicos de qualidade das infrutescências (SPIRONELLO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2011; CAETANO et al., 2013; OMOTOSO & AKINRINDE, 2013). Diante da carência de estudos que caracterizem os processos fisiológicos ligados ao desenvolvimento da translucidez e ao metabolismo antioxidante, de controle de ROS, em resposta a adubação com N e K, esta pesquisa foi dividida em dois trabalhos. Primeiramente, objetivou-se avaliar a qualidade e translucidez de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ produzidas sob adubação nitrogenada e potássica. No segundo, o objetivou-se avaliar as mudanças no metabolismo antioxidante e no conteúdo de H_2O_2 em infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ sob adubação nitrogenada e potássica.

REFERÊNCIAS

- ALOTHMAN, M., BHAT, R., & KARIM, A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 785-788, 2009.
- CAETANO, L. C. S., VENTURA, J. A., Costa, A. F. S., & GUARÇONI, R. C. Efeito da adubação com Nitrogênio, Fósforo e Potássio no desenvolvimento, na produção e na qualidade de frutos do abacaxi 'Vitória'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 883-890, 2013.
- CHEN, C. C., & PAULL, R. E. Sugar metabolism and pineapple flesh translucency. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 125, n. 5, p. 558-562, 2000.
- CHEN, C. C.; PAULL, R. E. Fruit temperature and crown removal on the occurrence of pineapple fruit translucency. **Scientia Horticulturae**, v. 88, n. 2, p. 85-95, 2001.
- DANTAS, A. L., DE MELO SILVA, S., DANTAS, R. L., PEREIRA, W. E., LIMA, R. P., MENDONÇA, R. M. N., & SANTOS, D. Influence of combined sources of nitrogen fertilization on quality of cv. Vitória pineapple. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 40, p. 3814-3824, 2015.
- DEVI, M. A., & GIRIDHAR, P. Variations in Physiological Response, Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzyme Activities, Proline and Isoflavones Content in Soybean Varieties Subjected to Drought Stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 85, n. 1, p. 35-44, 2015.
- FAOSTAT, FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em: 10 de Fevereiro de 2016.
- FOYER, C. H., & NOCTOR, G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. **Plant Physiology**, v. 155, n. 1, p. 2-18, 2011.
- GARRIDO-NOVELL, C., PÉREZ-MARIN, D., AMIGO, J. M., FERNÁNDEZ-NOVALES, J., GUERRERO, J. E., & GARRIDO-VARO, A. Grading and color evolution of apples using RGB and hyperspectral imaging vision cameras. **Journal of Food Engineering**, v. 113, n. 2, p. 281-288, 2012.
- HOSSAIN, M. A., & RAHMAN, S. M. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. **Food Research International**, v. 44, n. 3, p. 672-676, 2011.

HOTEGNI, V. N. F., LOMMEN, W. J., VAN DER VORST, J. G., AGBOSSOU, E. K., & STRUIK, P. C. Bottlenecks and opportunities for quality improvement in fresh pineapple supply chains in Benin. **International Food and Agribusiness Management Review**, v. 17, n. 3, p. 139-170, 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em: 10 de Fevereiro de 2016.

ŁATA, B. Variability in enzymatic and non-enzymatic antioxidants in red and green-leafy kale in relation to soil type and N-level. **Scientia Horticulturae**, v. 168, p. 38-45, 2014.

LIMA, R. P., SILVA, S. M., DANTAS, R. L., DANTAS, A. L., SOUSA, A. S. B., PEREIRA, W. E., MENDONÇA, R. M. N. Use of Digital Image Processing for Evaluation of Translucency in Fresh Cut 'Pérola' Pineapple Coated with Biofilms. In: **III International Conference on Fresh-cut Produce: Maintaining Quality & Safety**, September 13-18, 2015.

LIN, Y., LIN, Y., LIN, H., ZHANG, S., CHEN, Y., & SHI, J. Inhibitory effects of propyl gallate on browning and its relationship to active oxygen metabolism in pericarp of harvested longan fruit. **LWT-Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 1122-1128, 2015.

LIU, R. X., ZHOU, Z. G., GUO, W. Q., CHEN, B. L., & OOSTERHUIS, D. M. Effects of N fertilization on root development and activity of water-stressed cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants. **Agricultural water management**, v. 95, n. 11, p. 1261-1270, 2008.

LU, X., SUN, D., LI, Y., SHI, W., & SUN, G. Pre-and post-harvest salicylic acid treatments alleviate internal browning and maintain quality of winter pineapple fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 130, n. 1, p. 97-101, 2011.

MARTINS, L. P., SILVA, S. M., SILVA, A. P., CUNHA, G. A. P., MENDONÇA, R., VILAR, L. C. & LACERDA, J. T. Conservação pós-colheita de abacaxi 'Pérola' produzido em sistemas convencional e integrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 3, 2012.

MONTERO-CALDERÓN, M., ROJAS-GRAÜ, M. A., & MARTÍN-BELLOSO, O. Effect of packaging conditions on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). **Postharvest biology and technology**, v. 50, n. 2, p. 182-189, 2008.

NOCTOR, G., MHAMDI, A., & FOYER, C. H. The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. **Plant Physiology**, v. 164, n. 4, p. 1636-1648, 2014.

NUKUNTORNPRAKIT, O. A., CHANJIRAKUL, K., VAN DOORN, W. G., & SIRIPHANICH, J. Chilling injury in pineapple fruit: Fatty acid composition and antioxidant metabolism. **Postharvest Biology and Technology**, v. 99, p. 20-26, 2015.

OMOTOSO, S. O., & AKINRINDE, E. A. Effect of nitrogen fertilizer on some growth, yield and fruit quality parameters in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) plant at Ado-Ekiti Southwestern, Nigeria. **International Research Journal of Agricultural Science and soil Science**, v. 3, n. 1, p. 11-16, 2013.

PATHAVEERAT, S., TERDWONGWORAKUL, A., & PHAUNGSOMBUT, A. Multivariate data analysis for classification of pineapple maturity. **Journal of Food Engineering**, v. 89, n. 2, p. 112-118, 2008.

PEGORARO, R. F., SOUZA, B. A. M. D., MAIA, V. M., SILVA, D. F. D., MEDEIROS, A. C., & SAMPAIO, R. A. Macronutrient uptake, accumulation and export by the irrigated 'vitória' pineapple plant. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 3, p. 896-904, 2014.

RAIMBAULT, A. K., MARIE-ALPHONSINE, P. A., HORRY, J. P., FRANCOIS-HAUGRIN, M., ROMUALD, K., & SOLER, A. Polyphenol oxidase and peroxidase expression in four pineapple varieties (*Ananas comosus* L.) after a chilling injury. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 1, p. 342-348, 2010.

SOARES, A. G., TRUGO, L. C., BOTREL, N., & DA SILVA SOUZA, L. F. Reduction of internal browning of pineapple fruit (*Ananas comosus* L.) by preharvest soil application of potassium. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, n. 2, p. 201-207, 2005.

SPIRONELLO, A., QUAGGIO, J. A., TEIXEIRA, L. A. J., FURLANI, P. R., & SIGRIST, J. M. M. Pineapple yield and fruit quality effected by NPK fertilization in a tropical soil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 155-159, 2004.

TEIXEIRA, L. A. J., QUAGGIO, J. A., CANTARELLA, H., & MELLIS, E. V. Potassium fertilization for pineapple: effects on plant growth and fruit yield. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 618-626, 2011.

WU, D., & SUN, D. W. Colour measurements by computer vision for food quality control—A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 29, n. 1, p. 5-20, 2013.

WU, G. L., CUI, J., TAO, L., & YANG, H. Fluroxypyr triggers oxidative damage by producing superoxide and hydrogen peroxide in rice (*Oryza sativa*). **Ecotoxicology**, v. 19, n. 1, p. 124-132, 2010.

ZHANG, B., HUANG, W., LI, J., ZHAO, C., FAN, S., WU, J., & LIU, C. Principles, developments and applications of computer vision for external quality inspection of fruits and vegetables: A review. **Food Research International**, v. 62, p. 326-343, 2014.

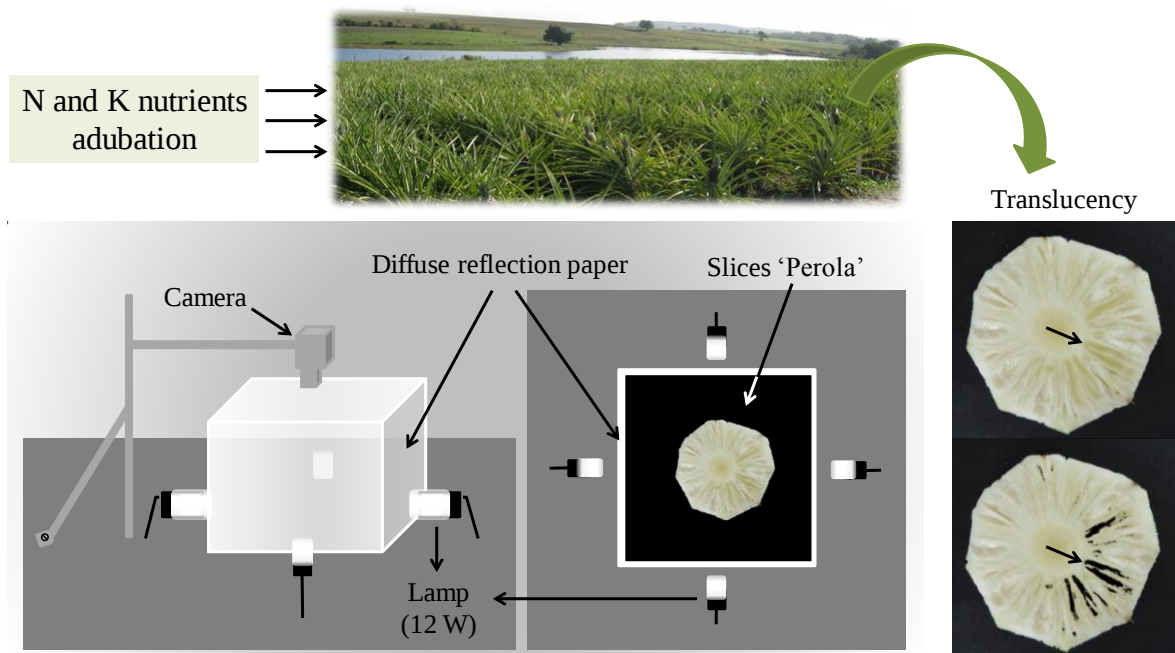
ARTIGO I

Qualidade e translucidez de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ cultivado sob adubação nitrogenada e potássica

Será submetido à Food Research International

ISSN: 0963-9969

Fator de Impacto: 2,818



¹ Tof Graf

18 **Resumo**

19 A translucidez nas infrutescências do abacaxizeiro é um distúrbio fisiológico que altera a
20 coloração da polpa e conduz ao escurecimento interno. Práticas de manejo pré-colheita
21 podem reduzir os níveis iniciais de translucidez e até o desenvolvimento do escurecimento
22 na pós-colheita, mas com relação à adubação nitrogenada e potássica estes efeitos ainda
23 não estão bem caracterizados. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade e
24 translucidez por processamento de imagem digital de infrutescências do abacaxizeiro
25 ‘Pérola’ produzidas sob adubação nitrogenada e potássica. Cinco doses de ureia (0,53;
26 3,20; 5,33; 7,47; 10,13) e cinco de cloreto de potássio (0,30; 1,78; 2,97; 4,15; 5,64) foram
27 combinadas, em esquema fatorial conforme a matriz Plan Puebla III, totalizando dez
28 tratamentos. A adubação nitrogenada e potássica no cultivo do abacaxizeiro ‘Pérola’
29 influenciam os níveis de translucidez na polpa das infrutescências, na maturidade
30 comercial. Neste contexto, dose elevada de N (7,47 g de ureia por planta) combinada com
31 dose baixa de K (1,78 g de KCl por planta) aumenta a translucidez da polpa e reduz o
32 conteúdo de flavanoides amarelos. Mas, a translucidez reduziu quando K foi fornecido na
33 dose de 4,15 g de KCl por planta com 7,47 g de ureia por planta. Nas condições em que
34 este trabalho foi realizado, a combinação de 7,47 g de ureia com 4,15 g de KCl por planta
35 no cultivo do abacaxizeiro ‘Pérola’ favorece a qualidade das infrutescências, mantendo
36 baixos os níveis de translucidez e elevados valores de luminosidade (L^*) da polpa,
37 conteúdos de flavanoides amarelos, dos açúcares redutores e das proteínas solúveis na
38 polpa e no eixo central. Por sua vez, o processamento de imagens digitais demonstrou ser
39 uma ferramenta importante na caracterização da translucidez e das mudanças na coloração
40 da polpa associadas a este fenômeno.

41 **Palavras-chave:** *Ananas comosus* var. *comosus*, distúrbios fisiológicos, sistema de cor
42 RGB, sistema CIE *Lab*, flavanoides amarelos, nutrição mineral.

1. Introdução

O abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*) é uma das frutas tropicais mais consumidas no mundo. Sua ampla aceitação pode ser atribuída as suas excelentes características sensoriais, principalmente o sabor ácido-adocicado, fonte de fibras e vitamina C. No ano de 2014, o Brasil produziu aproximadamente 2,5 milhões de toneladas de abacaxi, mantendo a segunda posição na produção mundial (FAOSTAT, 2016). O Nordeste do Brasil é a principal região produtora de abacaxi no país, com uma contribuição de 40% na produção total. Neste cenário, o estado da Paraíba, principal produtor na região Nordeste, contribui com 18,54% da produção nacional (IBGE, 2016), gerando renda e elevando a qualidade de vida das famílias de agricultores. Esta produção é destinada predominantemente ao mercado interno e em menor extensão à exportação.

Para atender as exigências de exportação, devem ser monitorados os elementos que compõem os padrões de qualidade da fruta, especialmente quanto às alterações na coloração da polpa (Hotegni et al., 2014). Estas alterações ocorrem principalmente em decorrência da translucidez e do escurecimento dos tecidos. A translucidez nas infrutescências do abacaxizeiro é um distúrbio fisiológico que pode se iniciar 2 a 4 semanas antes da colheita (Chen & Paull, 2001), deixando a polpa com aspecto aquoso. O desenvolvimento da translucidez está associado à redução da porosidade da polpa nos últimos estádios de desenvolvimento das infrutescências. Por sua vez, este evento é consequência de um maior movimento de água no apoplasto da polpa, favorecido pelo aumento de sacarose apoplástica e, subsequente, diminuição do potencial de soluto (Chen et al., 2000). Durante o armazenamento das infrutescências, a translucidez se intensifica e, posteriormente surgem manchas marrons caracterizando o escurecimento interno (Raimbault et al., 2010).

67 Tratamentos pós-colheita como a aplicação do 1-MCP (Dantas Junior et al., 2009),
68 adequação da temperatura de armazenamento (Hong et al., 2013) e tratamentos com
69 reguladores, tais como ácido salicílico (Lu et al., 2011) e ácido abscísico (Zhang et al.,
70 2015) reduzem a incidência de translucidez e o escurecimento interno em abacaxi. Mas, o
71 controle destas desordens ainda não é completamente compreendido. Também, não se
72 conhece de que forma e/ou intensidade fatores pré e pós-colheita condicionam seu
73 aparecimento e extensão. A adubação do solo com potássio no cultivo previne o
74 escurecimento interno em abacaxi durante o armazenamento por reduzir a atividade de
75 enzimas oxidativas, como a polifenoloxidase (Soares et al., 2005), que está entre as
76 principais enzimas que caracterizam o processo (Raimbault et al., 2010). A adubação com
77 nitrogênio, considerando apenas as exigências da cultura, de acordo com análise foliar e do
78 solo, associada ao manejo do solo com cobertura vegetal e o controle de pragas após
79 monitoramento, reduziu a taxa de senescência e a translucidez da polpa em abacaxi
80 ‘Pérola’, durante o armazenamento sob condições ambiente, se comparadas a
81 infrutescências oriundas da produção convencional, onde prevaleceu o manejo e práticas
82 culturais normalmente utilizadas pelos produtores (Martins et al., 2012). A pulverização
83 pré-colheita dos frutos com 1,3 g de cloreto de cálcio por fruto em três aplicações, com
84 intervalos de duas semanas, também reduz a incidência do escurecimento interno
85 (Hewajulige et al., 2006).

86 Considerando o exposto, a adequação de práticas agrícolas, como o manejo nutricional,
87 pode ser uma ferramenta adicional para o controle da translucidez e, consequentemente,
88 redução da susceptibilidade ao escurecimento interno. Possivelmente a adubação com N
89 (Martins et al., 2012) e K (Soares et al., 2005) influenciam no surgimento destes distúrbios
90 durante a pós-colheita. Adicionalmente, N e K são os nutrientes mais requeridos pela
91 cultura do abacaxizeiro (Pegoraro et al., 2014), sendo responsáveis pela alta produtividade

e qualidade das infrutescências (Spironello et al., 2004). Contudo, há uma carência de estudos que demonstrem o efeito da adubação com N e K, sobretudo de forma associada, na ocorrência de translucidez na polpa do abacaxi e seu envolvimento no comprometimento da qualidade.

A severidade da translucidez em abacaxi pode ser precisamente quantificada com o uso de processamento de imagens digitais (Lima et al., 2015). Além disso, a medição da coloração através da visão computacional fornece uma caracterização detalhada da sua uniformidade em frutas e hortaliças (Wu & Sun, 2013), podendo ser uma ferramenta importante na caracterização da translucidez. A coloração obtida por sistema de visão computacional é representada por vários sistemas de coordenadas definidos como sistemas de cores. O sistema de cor RGB (Red, Green e Blue) tem sido o mais utilizado para inspeção da qualidade em frutas e hortaliças (Garrido-Novell et al., 2012; Zhang et al., 2014). Considerando a coloração como um dos atributos determinantes para a aparência e o consumo, assim como o grande número de fatores ligados à sua modificação, o estabelecimento de relações entre práticas de cultivo e mudanças na qualidade tem sido um desafio, sobretudo quando se trata do manejo nutricional.

Este trabalho objetivou avaliar a qualidade e translucidez por processamento de imagem digital de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ produzidas sob adubação nitrogenada e potássica.

2. Material e Métodos

2.1. Material vegetal, instalação e condução do experimento

A fase experimental de campo foi conduzida no município de Alhandra, Estado da Paraíba, Brasil, em área com solo é classificado como Latossolo Amarelo Distrófico argissólico (EMBRAPA, 2013). O clima predominante na região é o As’, quente e úmido, com

temperaturas médias entre 22 e 26 °C. No ano de 2014, a precipitação foi de 1.787 mm no município (AESAs, 2016).

O abacaxizeiro da cultivar Pérola (*Ananas comosus* var. *comosus*) foi implantado em Janeiro de 2014, em leirões, no sistema de fileira simples, com espaçamento de 0,80 x 0,30 m. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC), com três repetições. Os tratamentos, dispostos em esquema fatorial conforme a matriz Plan Puebla III (Turrent & Laird, 1975), consistiram da combinação de cinco doses de N e cinco doses de K, totalizando dez combinações (Tabela 1). A dose central de N e K da matriz foi obtida a partir da média das recomendações dos Estados vizinhos, Pernambuco e Bahia, acrescida de 20%. As fontes de N, P e K utilizadas foram, respectivamente, uréia (45% N), superfosfato simples (18% P₂O₅) e cloreto de potássio (60% KCl). As doses de nitrogênio (N) e potássio (K) foram parceladas em três aplicações, realizadas aos 90, 190 e 290 dias após o plantio (DAP), aplicadas na axila das folhas basais. A adubação com fósforo (P) foi realizada em dose única (11,83 g por planta). As plantas receberam, ainda, aplicações foliares de B (4 kg.ha⁻¹ de bórax), Fe (4 kg.ha⁻¹ de sulfato ferroso), CuS (2 kg.ha⁻¹ de sulfato de cobre) e Zn (2 kg.ha⁻¹ de sulfato de zinco) a partir dos quatro meses, em intervalos de dois meses, até o décimo mês após o plantio (Oliveira et al., 2002).

A unidade experimental foi constituída por uma parcela contendo 60 plantas, sendo consideradas como área útil as 50 plantas centrais. A indução floral foi realizada aos 11 meses após o plantio. A colheita das infrutescências foi realizada aos 16 meses após o plantio, quando as infrutescências haviam atingido a maturidade fisiológica, apresentando coloração verde, com início de pintas amarelas na base e desprendimento da malha. Para cada repetição, foram colhidas 12 infrutescências que foram transportadas para o Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA/UFPB) para avaliações.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos quanto às doses de ureia e cloreto de potássio, aplicados no cultivo do abacaxizeiro ‘Pérola’. Alhandra–PB, janeiro de 2014 a abril de 2015.

Tratamentos	Níveis		Ureia	KCl
	N	K	(g. planta ⁻¹)	
1	-0,4	-0,4	3,20	1,78
2	-0,4	0,4	3,20	4,15
3	0,4	-0,4	7,47	1,78
4	0,4	0,4	7,47	4,15
5	0,0	0,0	5,33	2,97
6	-0,9	-0,4	0,53	1,78
7	0,9	0,4	10,13	4,15
8	-0,4	-0,9	3,20	0,30
9	0,4	0,9	7,47	5,64
10	-0,9	-0,9	0,53	0,30

2.2. Variáveis analisadas

2.2.1 Avaliação da translucidez, coloração da polpa e firmeza

Após o descascamento de cada infrutescência, uma fatia, com espessura de aproximadamente 2 cm, foi retirada transversalmente na região mediana. Imediatamente, foram capturadas imagens de 36 fatias de cada tratamento, utilizando-se uma câmara fotográfica Nikon Coolpix P5020 com resolução de 12.1 megapixel, sobre fundo preto. Para controle da iluminação, foram utilizadas quatro lâmpadas de 12 W, dispostas distalmente (10 cm) nas laterais de uma caixa especialmente desenvolvida, a partir de papel difuso branco, como representado na Figura 1A.

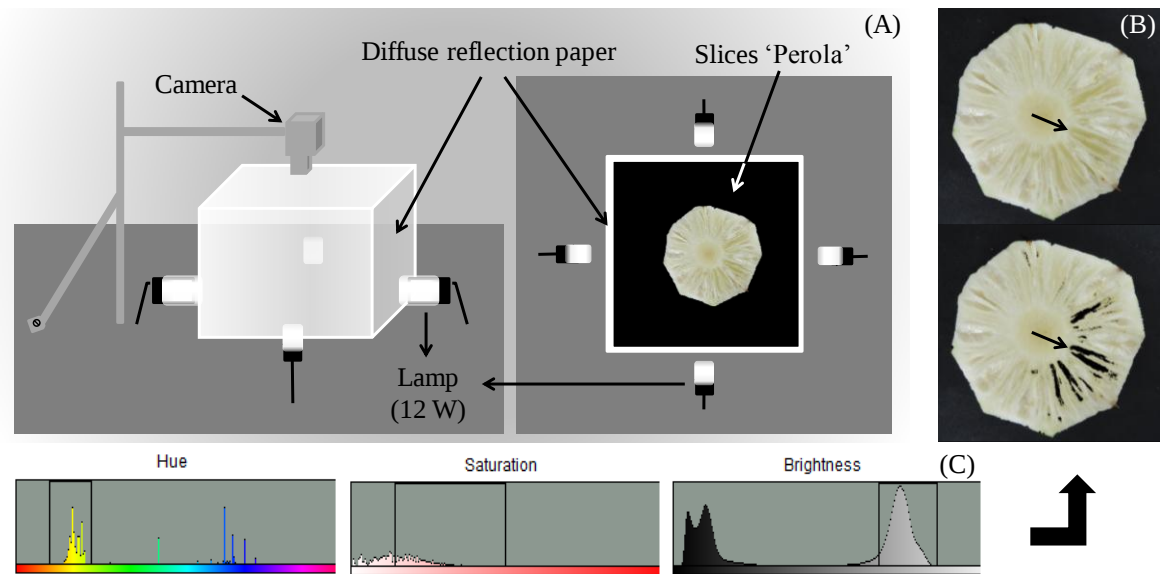


Figura 1. Esquema de controle de iluminação e captura de imagens de abacaxi 'Pérola' (A) e etapa de seleção da área translúcida da fatia (B) por Visão Computacional, utilizando o programa ImageJ®, através da ferramenta *Threshold Color space HSB* (Hue, Saturation e Brightness) (C).

A medição da área translúcida das fatias foi realizada através do processamento das imagens, utilizando o programa ImageJ®. Para a seleção da região de interesse (área translúcida na fatia), utilizou-se a ferramenta *Threshold Color space HSB* (Hue, Saturation e Brightness), ajustando-se os valores correspondentes a área translúcida em cada parâmetro de cor, como representado na Figura 1B e 1C. A área translúcida das fatias e também da área total foram obtidas através do comando *Analyze Particles*.

Os valores de translucidez foram expressos em porcentagem como segue:

$$AT (\%) = (ATP / AFP) * 100$$

em que: AT = área translúcida; ATP = área translúcida em pixel e AFP = área total da fatia em pixel.

A coloração da polpa nas fatias foi avaliada através de leitura direta com o colorímetro Minolta CM-508d, o qual expressa a cor no sistema CIE Lab e, utilizando visão computacional, sistema RGB. Efetuaram-se duas leituras por fatia, com o colorímetro, alternando a posição de leitura. Os valores médios de cada canal RGB (Red, Green e Blue) foram obtidos computacionalmente, medindo-se as imagens das fatias através do comando *Measure RGB* do programa ImageJ®.

A firmeza da polpa foi determinada através de penetrômetro digital Fruit Hardness tested nas fatias do abacaxi, realizando-se duas leituras alternando a posição nas fatias, sendo os resultados expressos em Newton (N).

2.2.2. Flavonoides amarelos

Foram determinados na polpa e no eixo central, separadamente, de acordo com metodologia de Francis (1982), utilizando uma mistura de 85 ml de Etanol PA com 15 mL de solução de HCl (1,5 M) para a extração. Em seguida, a centrifugação foi realizada a 9000 rpm durante 5 minutos, removendo-se o sobrenadante e completando o volume final para 15 ml com a solução de extração. Leitura espectrofotométrica a 374 nm foi realizada em cubetas de quartzo usando o espectrofotômetro, Genesys 10S UV-VIS. Os resultados foram expressos em $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$.

2.2.3. Carboidratos

Os teores de açúcares foram determinados na polpa e no eixo central utilizando o ácido dinitrosalicílico (DNS), de acordo com Miller (1959). O extrato foi preparado na proporção 1:50 (g de amostra:mL de água destilada), colocado em “banho-maria” (70°C) por cinco minutos, esfriado em banho de gelo. Após a filtração, foi realizada a determinação dos açúcares redutores (AR). Para a determinação dos açúcares solúveis totais (AST), foi retirado 25 mL do extrato anterior e adicionado 2 mL de HCl PA., seguido de “banho-maria” (70°C) por 30 minutos, banho de gelo e neutralização do pH com NaOH (2 M). O

volume final foi aferido em 50 mL com água destilada. Foram utilizadas alíquotas de até os 1,5 mL dos extratos juntamente com 1 mL da solução de DNS. A reação foi iniciada com “banho-maria” a 70 °C e cessada com banho de gelo após 5 minutos. O volume final do tubo foi aferido em 10 mL com água destilada e a absorbância determinada em espectrofotômetro (Geneses™ 10s UV VIS) a 540 nm. Foi utilizado uma curva padrão de glicose variando de 0 a 1801,6 µg.

2.2.4. Proteínas solúveis

Os conteúdos de proteínas solúveis na polpa e no eixo central, separadamente, foram determinados utilizando método descrito por Bradford (1976). Para extração, 2 g de amostra foram homogeneizados juntamente com 10 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), contendo 0,1 mM de EDTA e 0,1g de PVP. Após filtrado, foi centrifugado a 9000 rpm durante 25 min a 4 °C. O sobrenadante foi utilizado como extrato proteico. Alíquotas de 200 µL foram homogeneizadas por agitação juntamente com 2 ml do reagente de Bradford e mantido em repouso por 5 minutos. Procedeu-se a leitura das amostras em espectrofotômetro (Geneses™ 10s UV VIS) a 595 nm. Utilizou-se uma curva padrão com Gama-globulina bovina (0,23 a 1,6 mg mL⁻¹).

2.3. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância. Para avaliar o efeito da interação das doses foi utilizada a técnica de superfície de resposta, realizando análise de regressão polinomial para o efeito (efeito principal), testando-se até nível quadrático. Considerou-se a significância de até 5% de probabilidade e coeficiente de determinação (R^2) acima de 50%. Nos casos em que os ajustes não foram significativos ou os valores de R^2 foram baixos, os valores médios foram representados juntamente com desvios-padrões. Utilizou-se os softwares SAS 9.3 (2011) para as análises. Realizou-se, ainda, análise de correlação de Pearson utilizando-se o JMP® 10.0.0.

3. Resultados

3.1. A translucidez da polpa

A severidade da translucidez da polpa do abacaxi ‘Pérola’ no momento da colheita foi influenciada pela adubação com N e K. Contudo, não houve ajuste a nenhum modelo de superfície de resposta ou de regressão polinomial com R^2 satisfatório ($>50\%$). Entretanto, a combinação de 7,47 g de ureia por planta com 1,78 g de KCl por planta resultou em maior percentual de translucidez (Tabela 2). Notou-se que esta combinação resulta em elevada concentração do N em relação à concentração do K, com relação $N/K > 4$. Em contrapartida, quando 7,47 g de ureia por planta foram combinadas com 4,15 g de KCl por planta praticamente não houve incidência de translucidez. Apesar destas diferenças na severidade da translucidez, não foi verificado efeito significativo da adubação com N e K sobre a incidência em infrutescências apresentando sintomas de translucidez. Estudos sobre a influência de N ou K sobre a severidade da translucidez em abacaxi, no período de colheita, são escassos. Entretanto, Soares et al. (2005) relataram que a adubação com K no cultivo de abacaxizeiro ‘Smooth Cayenne’ reduziu a incidência de escurecimento interno durante o armazenamento, por 15 dias a 7 °C, seguidos por 5 dias a 25 °C, simulando a condição de distribuição. O sistema de produção integrada, caracterizado por manejo do solo com cobertura vegetal, roçadas nas entrelinhas, adubação das plantas com base na análise do solo e análise foliar, respeitando os limites máximos de fertilizantes químicos, principalmente os nitrogenados, também reduziu a severidade da translucidez em infrutescências de abacaxizeiro ‘Pérola’, durante o armazenamento sob condições ambiente, se comparadas àquelas oriundas da produção convencional, em que prevalece o manejo e práticas culturais normalmente utilizadas pelos produtores (Martins et al., 2012). De acordo com Chen & Paull (2001), maior severidade da translucidez em abacaxi pode

estar associada às alterações na permeabilidade da membrana, que é favorecida por um aumento da temperatura no último estágio de desenvolvimento das infrutescências.

3.2. O conteúdo de flavanoides amarelos

A adubação com N e K também influenciou o conteúdo de flavanoides amarelos na polpa, mas não houve ajuste a um modelo de regressão com R^2 satisfatório. Contudo, a combinação de 7,47 g de ureia por planta com 1,78 g de KCl por planta resultou em menor conteúdo desses compostos (Tabela 2). Em abacaxi ‘Vitória’, a adubação com doses elevadas de ureia, a partir de 10 g por planta, também reduziu o conteúdo de flavanoides amarelos na polpa (Dantas et al., 2015). Outros fatores proporcionam respostas semelhantes à da adubação potássica no que se refere à redução do escurecimento interno em abacaxi. Infrutescências do abacaxizeiro ‘Comte de Paris’ tratadas com ácido salicílico na pré e pós-colheita apresentaram menor escurecimento interno e, conseqüentemente, preservaram o conteúdo de fenólicos totais quando comparadas às infrutescências do controle (Lu et al., 2011). Segundo esses autores, os compostos fenólicos são degradados no processo de escurecimento enzimático através da atividade da polifenoloxidase. A adubação com K reduziu a atividade da polifenoloxidase em infrutescências do abacaxi ‘Smooth Cayenne’ (Soares et al., 2005). Por sua vez, neste trabalho, a adubação com N e K não influenciou a concentração de flavanoides amarelos na porção do eixo central do abacaxi ‘Pérola’.

Tabela 2. Translucidez na polpa e conteúdo de flavanoides amarelos na polpa e do eixo central de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ cultivados sob diferentes doses de nitrogênio (ureia) e potássio (KCl) combinadas.

Ureia (g.planta-1)	KCl	Translucidez (%)		Flav. amarelos (mg.100g-1)	
		Severidade	Incidência	polpa	eixo central
3,2	1,78	0,35± 0,24	8,89±0,96	0,80±0,05	1,03±0,12
3,2	4,15	1,14± 0,53	19,44±9,62	0,78±0,05	1,00±0,05
7,47	1,78	2,06± 0,86	36,11±13,97	0,73±0,07	1,04±0,16
7,47	4,15	0,07± 0,07	5,56±4,81	0,82±0,06	0,94±0,14
5,33	2,97	0,22± 0,34	13,89±11,35	0,93±0,06	1,06±0,08
0,53	1,78	0,32± 0,41	13,89±10,73	0,83±0,01	1,00±0,16
10,13	4,15	0,86± 0,58	13,89±9,62	0,82±0,07	1,15±0,14
3,2	0,3	0,24± 0,15	13,89±9,62	0,89±0,05	0,97±0,08
7,47	5,64	0,18± 0,24	8,33±6,33	0,90±0,04	1,05±0,09
0,53	0,3	0,17± 0,15	5,56±4,81	0,81±0,04	0,99±0,12
F-test, Model probability		0,034	0,204	0,003	0,357

Médias±Desvio Padrão

3.3. Coloração da polpa

O aumento nas doses de N, independentemente do K, promoveu uma pequena redução nos valores de L^* (Figura 2A). Por sua vez, o efeito combinado de altas doses de ureia e baixas de KCl e vice-versa elevou os valores de *blue* nas imagens das fatias. Mas, quando ambos os nutrientes foram fornecidos em doses elevadas, houve redução nos valores de *blue* (Figura 2B). Os parâmetros a^* e b^* , assim como *Red* e *Green*, não foram influenciados pela adubação combinando diferentes doses de nitrogênio e potássio (Tabela 3). De acordo com Hotegni et al. (2014), a coloração da polpa do abacaxi é um dos atributos de qualidade mais valorizado na comercialização. Embora, nas condições deste experimento, as respostas das variáveis objetivas de cor tenham sido pouco expressivas, as alterações na coloração da polpa do abacaxi estão associadas ao desenvolvimento da translucidez (Montero-Calderón et al., 2008; Lima et al., 2015) que posteriormente contribuem no

escurecimento interno (Raimbault et al., 2010). Lima et al. (2015) avaliaram as mudanças na coloração da polpa do abacaxi ‘Pérola’ minimamente processado, tanto no sistema CIE *Lab* como *RGB*, obtendo forte correlação da coloração com a evolução da translucidez.

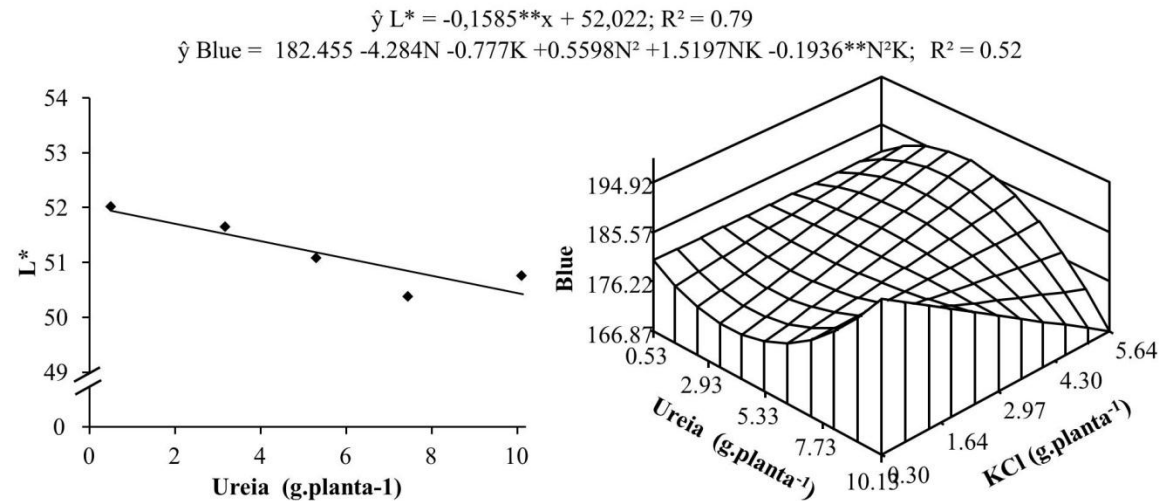


Figura 2. Efeito isolado das doses de nitrogênio sobre o parâmetro de cor *L** (A) e superfície de resposta com o efeito combinado de nitrogênio (Ureia) e potássio (KCl) sobre o parâmetro de cor *Blue* (B) de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’. **Significativo até 1%.

Tabela 3. Parâmetros de coloração (L^* , a^* e b^* ; RGB) da polpa de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ cultivados sob diferentes doses de nitrogênio (ureia) e potássio (KCl) combinadas, obtidos por colorímetro e por sistema de visão computacional.

Ureia KCl		Colorímetro			Sistema de visão computacional		
(g.planta ⁻¹)		L	a^*	b^*	<i>Red</i>	<i>Green</i>	<i>Blue</i>
3,2	1,78	52,46±1,8	4,19±0,5	26,79±1,6	189,96±10,4	191,44±9,3	176,45±11,2
3,2	4,15	51,27±2,8	4,07±0,3	26,23±1,3	197,56±10,6	197,91±9,5	184,01±11,1
7,47	1,78	49,94±2,5	3,88±0,4	26,50±1,7	195,65±9,3	196,29±8,3	181,52±9,9
7,47	4,15	50,26±2,1	3,95±0,4	25,74±1,1	196,35±8,9	196,40±7,8	181,63±8,1
5,33	2,97	51,08±2,0	3,91±0,4	25,47±1,0	192,96±9,7	193,51±9,0	179,61±9,8
0,53	1,78	51,43±2,3	3,90±0,4	25,90±1,7	192,94±11,6	193,84±10,6	180,52±12,6
10,13	4,15	50,76±2,6	3,94±0,5	26,19±1,1	189,55±10,6	190,68±9,7	174,39±10,7
3,2	0,3	51,22±1,7	3,87±0,3	26,08±1,3	189,70±11,1	190,77±10,4	176,56±10,8
7,47	5,64	50,94±2,8	3,93±0,5	26,06±1,4	193,33±11,2	194,08±10,3	180,41±10,8
0,53	0,3	52,60±1,6	4,12±0,3	25,98±0,8	192,69±9,6	193,62±8,8	180,10±9,1
<i>F</i> -test, Model probability		0,022	0,067	0,241	0,115	0,072	0,036

Médias±Desvio Padrão

Adicionalmente, o processamento de imagens digitais permitiu não somente a avaliação da severidade da translucidez nas fatias de abacaxi ‘Pérola’, nas condições deste experimento, como demonstrou ser uma ferramenta importante na caracterização das mudanças na coloração da polpa associadas a este fenômeno, através da intensidade dos valores de *Blue* nas imagens das fatias. Neste contexto, os valores de *RGB* de imagens, juntamente com os valores de L^* , foi demonstrado como ferramenta capaz de caracterizar a evolução da cor durante o armazenamento de abacaxi ‘Pérola’ minimamente processado (Lima et al., 2015) e de maçãs integras (Garrido-Novell et al., 2012), além de diferenciar a qualidade em muitas frutas e hortaliças (Zhang et al., 2014). Assim, o sistema de visão computacional apresenta elevada precisão associada a baixos custos, podendo ser uma ferramenta capaz de substituir o trabalho humano na inspeção da qualidade (Quevedo et al., 2010).

3.4. Carboidratos da polpa e do eixo central

Com relação aos carboidratos, a adubação com N e K não influenciou os teores de açúcares solúveis totais e de açúcares não redutores em ambas as porções avaliadas, polpa e eixo central (Tabela 4). Os teores de açúcares solúveis totais variaram de 8,52 a 11,84 g.100 g⁻¹ na polpa e 8,76 a 11,95 g.100 g⁻¹ no eixo central. Os teores de açúcares não redutores no eixo central foram ligeiramente superiores aos observados para a polpa, 5,64 e 4,78 g.100 g⁻¹, respectivamente. Em abacaxi ‘Vitória’, Dantas et al. (2015) relataram que o aumento nas doses de N, fornecido tanto na forma de ureia como na forma orgânica (cama de frango), reduziram os teores de açúcares solúveis totais e não redutores. Entretanto, os teores de sólidos solúveis de abacaxi variedade N36 não foram influenciados por doses crescentes de adubação nitrogenada, segundo Arshad e Armanto (2012). Da mesma forma, a adubação com doses crescentes de cama de frango contendo quantidades significativas de N (1,97%) não influenciou os teores de sólidos solúveis e de açúcares solúveis totais do abacaxi ‘Pattavia’ (Isuwan, 2013).

Tabela 4. Teores de açúcares solúveis totais (AST) e de açúcares não redutores (ANR) da polpa e eixo central de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ cultivados sob diferentes doses combinadas de nitrogênio (ureia) e potássio (KCl).

T	Ureia	KCl	AST (g.100g ⁻¹)		ANR (g.100g ⁻¹)	
	(g.planta ⁻¹)		polpa	eixo central	polpa	eixo central
1	3,2	1,78	11,84±0,9	9,86±0,6	6,88±1,0	5,46±0,5
2	3,2	4,15	10,24±0,7	9,34±1,3	4,86±0,5	5,42±1,2
3	7,47	1,78	10,09±0,6	11,70±2,3	4,68±0,3	6,95±1,7
4	7,47	4,15	9,91±1,0	11,89±1,4	4,34±1,5	6,84±0,7
5	5,33	2,97	8,52±1,3	9,60±1,9	3,64±0,6	5,25±1,3
6	0,53	1,78	10,57±0,3	11,95±3,4	4,68±0,8	6,22±1,9
7	10,13	4,15	9,52±0,9	10,09±2,9	4,58±0,4	4,87±1,6
8	3,2	0,3	8,68±0,8	9,47±2,2	4,02±0,4	4,62±0,8
9	7,47	5,64	9,68±1,5	9,86±0,8	5,05±0,7	5,70±1,3
10	0,53	0,3	9,85±0,5	8,76±0,7	5,08±0,3	5,08±0,3
<i>F</i> -test, Model probability			0,164	0,096	0,059	0,063

Médias±Desvio Padrão; T = tratamentos

O aumento nas doses de K em até 2,97 g de KCl por planta elevaram os teores de açúcares redutores (AR) na polpa e no eixo central quando N foi fornecido em doses baixas ou em até 5,33 g de ureia por planta (Figura 3A e B). Por sua vez, o aumento no fornecimento de N, principalmente quando combinado com 2,97 g de KCl por planta, reduziu os AR. Na polpa, elevadas doses de N combinadas com doses baixas de K resultaram no acúmulo de AR, embora doses mais altas de N e K reduziram os teores deste carboidrato. Na porção do eixo central, os menores conteúdos de AR ocorreram quando potássio estava muito elevado, em doses acima de 4,30 g de KCl por planta, combinado com doses baixas de N.

$$\hat{y} \text{ AR polpa} = 4.86 - 0.527N + 0.923**K + 0.0822**N^2 - 0.1668**K^2 + 0.0087*NxK - 0.0179**N^2xK + 0.0194*NxK^2; R^2 = 0.72$$

$$\hat{y} \text{ AR talo} = 3.364 - 0.1135**N + 2.094K + 0.04423**N^2 - 0.4498**K^2 - 0.2696NK - 0.00347**N^2K + 0.060**NK^2; R^2 = 0.78$$

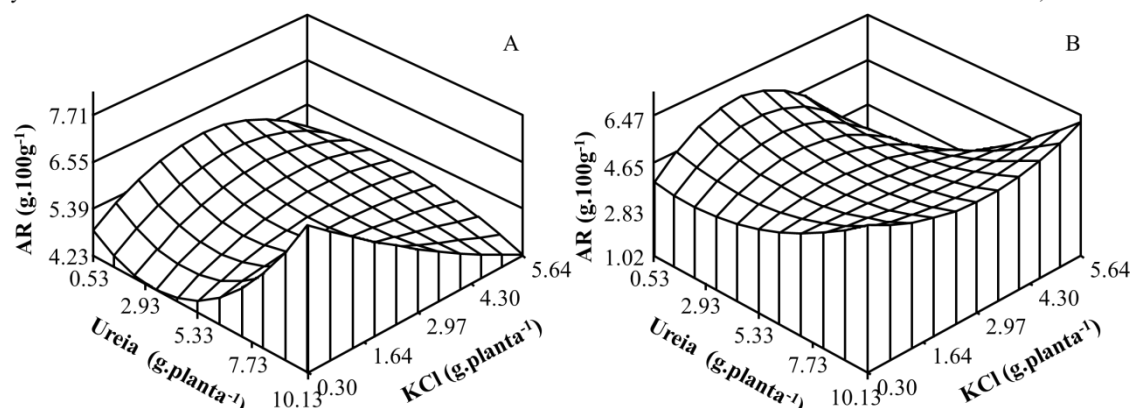


Figura 3. Superfície de resposta com o efeito combinado de nitrogênio (ureia) e potássio (KCl) sobre o conteúdo de açúcares redutores na polpa (A) e eixo central (B) de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’. **Significativo até 1%, *Significativo até 5%.

O efeito conhecido de altas doses de adubação nitrogenada, independentemente do K, na cultura do abacaxizeiro é o de reduzir os conteúdos de açúcares nas infrutescências (Omotoso & Akinrinde, 2013; Dantas et al., 2015). Da mesma forma, o efeito positivo que a adubação com K promove sobre os conteúdos de açúcares em abacaxi já foram relatados (Spironello et al., 2004; Caetano et al., 2013). Contudo, combinando diferentes doses de N e K na adubação do abacaxizeiro ‘Pérola’, observou-se que o máximo conteúdo de açúcares da polpa quando K estava deficiente e N elevado. Possivelmente, N favoreceu a fotossíntese e, portanto, a produção de carboidratos, mas o K é necessariamente importante na redistribuição dos foto-assimilados (Alemán et al., 2011) e estava deficiente.

3.4. Proteínas solúveis e firmeza da polpa

O conteúdo de proteínas solúveis na polpa do abacaxi ‘Pérola’ aumentou à medida em que as doses de N e K aumentaram (Figura 4A). Mas quando K estava baixo, em doses

inferiores a 1,64 g de KCl por planta, doses muito elevadas de N, superiores a 5,33 g de ureia por planta, reduziram o conteúdo de proteínas na polpa. O aumento nas doses de N em até 5,58 g de ureia por planta, independentemente do K, também aumentou o conteúdo de proteínas solúveis na porção do eixo central, que sofreu redução a partir desta dose (Figura 4B). O N é um dos principais constituintes de aminoácidos e proteínas. Sob deficiência de N, a síntese de aminoácidos é direcionada para a produção de compostos do metabolismo secundário, relacionados com a defesa vegetal, favorecendo a redução do conteúdo de proteínas solúveis (Ibrahim et al., 2011). O K também é, necessariamente, importante na síntese de proteínas (Chérel et al., 2014). Assim, o menor conteúdo de proteínas quando N estava elevado e K reduzido pode ser atribuído à deficiência do K nos tecidos, favorecida pela diluição deste nutriente em decorrência do excesso de N (Marschner, 2012).

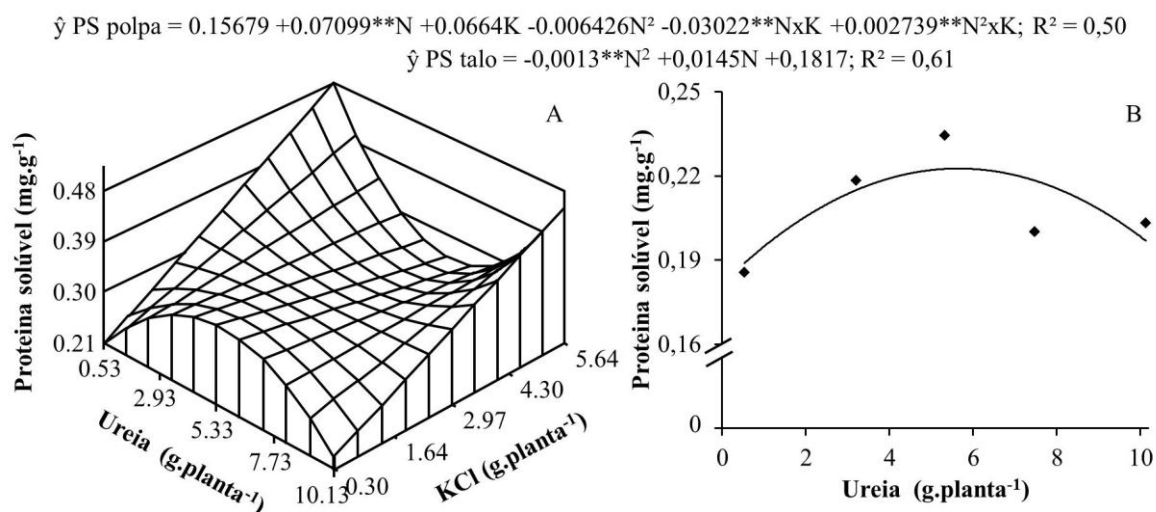


Figura 4. Superfície de resposta com o efeito combinado de nitrogênio (ureia) e potássio (KCl) sobre conteúdo de proteínas solúveis na polpa (A) e efeito isolado de nitrogênio sobre o conteúdo de proteínas solúveis no eixo central (B) de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’. **Significativo até 1%.

O aumento nas doses de N até 6,08 g de ureia por planta e K até 3,13 g de KCl por planta reduziu a firmeza da polpa do abacaxi ‘Pérola’ (Figura 5A e B). Provavelmente, por que a adubação nitrogenada aumenta o tamanho e peso das infrutescências de abacaxi (Caetano et al., 2013) principalmente se combinada com K (Spironello et al., 2004), favorecendo o aumento do volume celular e a menor área de contato célula-a-célula, tornando os tecidos menos firmes (Toivonen & Brummell, 2008). Contudo, a partir destas doses, o fornecimento de ambos os nutrientes resultou no aumento de firmeza da polpa, principalmente o K, mas este efeito foi observado para cada nutriente isoladamente.

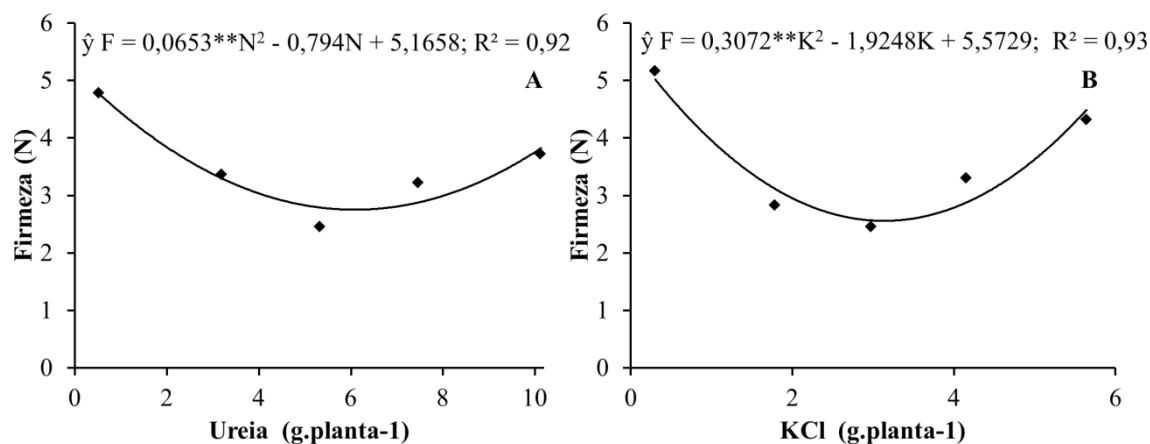


Figura 5. Efeito isolado de ureia (A) e KCl (B) sobre firmeza da polpa de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’. **Significativo até 1%.

3.5. Correlação da translucidez da polpa com as mudanças na qualidade

O conteúdo de flavanoides amarelos na polpa foi correlacionado negativamente com a translucidez ($r = -0,72$), indicando que o desenvolvimento da translucidez em abacaxi ‘Pérola’, cultivado sob adubação nitrogenada e potássica, está associada com a degradação dos flavanoides amarelos, possivelmente, devido a maior atividade da polifenoloxidase favorecida pela deficiência de K (Soares et al., 2005).

O parâmetro de cor L^* apresentou correlação moderada negativa com a translucidez da polpa ($r = -0,48$), mas esta correlação não foi significativa. Contudo, Montero-Calderón et al. (2008) observaram diminuição nos valores de L^* em decorrência do desenvolvimento da translucidez em abacaxi ‘Gold’ minimamente processado e armazenados em diferentes condições de embalagens durante 20 dias a 5 °C. As correlações com sistema de cor RGB também foram caracterizadas por coeficientes de valores baixos e não significativas. Da mesma forma, a firmeza demonstrou baixa correlação negativa, enquanto os conteúdos de carboidratos demonstraram baixa correlação positiva com a translucidez, mas todos não significativos. De acordo com Pathaveerat et al. (2008), a firmeza da polpa de abacaxi ‘Pattavia’ foi menor em infrutescências com maior grau de translucidez, em decorrência da maturidade avançada, enquanto o conteúdo de sólidos solúveis foi mais elevado. De fato, o metabolismo de carboidratos é positivamente relacionado com o desenvolvimento da translucidez, pois o aumento de sacarose no apoplasto da polpa reduz o potencial de soluto, favorecendo um maior fluxo de água, que conduz a redução da porosidade e a translucidez da polpa (Chen & Paull, 2000).

As infrutescências avaliadas neste trabalho apresentavam-se na maturidade fisiológica, ponto de colheita comercial, portanto, com níveis iniciais de translucidez, como pode ser confirmado na Tabela 2. Consequentemente, isso pode explicar os valores de correlação entre a translucidez e as alterações na coloração, firmeza e os conteúdos de açúcares que foram baixos. Outros trabalhos são necessários para se compreender melhor o possível efeito da adubação nitrogenada e potássica no desenvolvimento da translucidez e a relação desta com as alterações na qualidade do abacaxizeiro ‘Pérola’. Novos trabalhos devem levar em conta as mudanças no período pós-colheita, quando a translucidez pode se intensificar e os sintomas de escurecimento interno se sobressaírem (Raimbault et al., 2010; Zhou et al., 2014; Nukuntornprakit et al., 2015). Adicionalmente, é preciso

esclarecer como estes distúrbios fisiológicos podem ser minimizados pela adubação potássica (Soares et al., 2005) e como, de acordo com este trabalho, a adubação nitrogenada e potássica influenciam a incidência no momento da colheita.

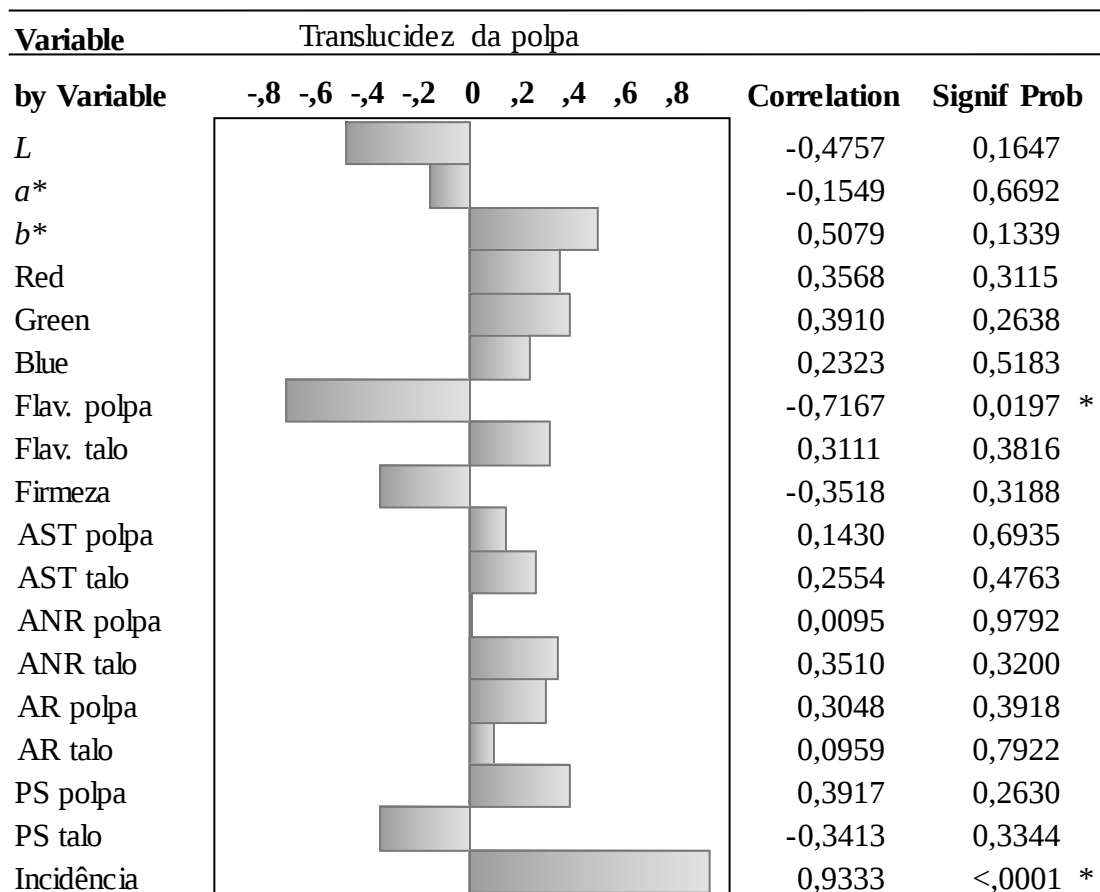


Figura 6. Correlação da translucidez da polpa com as mudanças nos atributos de qualidade de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ produzidas sob diferentes combinações de adubação nitrogenada e potássica.

4. Conclusão

Nas condições em que este trabalho foi realizado, a combinação de 7,47 g de ureia com 4,15 g de KCl por planta no cultivo do abacaxizeiro ‘Pérola’ favorece a qualidade das infrutescências, mantendo baixos os níveis de translucidez e elevados valores de

luminosidade (L^*) da polpa, conteúdos de flavanoides amarelos, dos açúcares redutores e das proteínas solúveis na polpa e no eixo central. Por sua vez, o processamento de imagens digitais demonstrou ser uma ferramenta importante na caracterização da translucidez e das mudanças na coloração da polpa associadas a este fenômeno.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro (Processo: 131608/2015-0) e pela concessão da bolsa de mestrado ao primeiro autor.

Referências

- AESA. (2016). Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba. <http://www.aesa.pb.gov.br/>.
- Alemán, F., Nieves-Cordones, M., Martínez, V., & Rubio, F. (2011). Root K⁺ acquisition in plants: the *Arabidopsis thaliana* model. *Plant and Cell Physiology*, 52(9), 1603-1612.
- Arshad, A. M., & Armanto, M. E. (2012). Effect of nitrogen on growth and yield of pineapple grown on BRIS Soil. *Journal of Environmental Science and Engineering. B*, 1(11B), 1285.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1), 248-254.
- Caetano, L. C. S., Ventura, J. A., Costa, A. F. S., & Guarçoni, R. C. (2013). Efeito da adubação com Nitrogênio, Fósforo e Potássio no desenvolvimento, na produção e na qualidade de frutos do abacaxi 'Vitória'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(3), 883-890.
- Chen, C. C., & Paull, R. E. (2000). Sugar metabolism and pineapple flesh translucency. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125(5), 558-562.
- Chen, C. C., & Paull, R. E. (2001). Fruit temperature and crown removal on the occurrence of pineapple fruit translucency. *Scientia Horticulturae*, 88(2), 85-95.
- Chérel, I., Lefoulon, C., Boeglin, M., & Sentenac, H. (2014). Molecular mechanisms involved in plant adaptation to low K⁺ availability. *Journal of experimental botany*, 65(3), 833-848.
- Dantas Júnior, O. R., Silva, S. D. M., Alves, R. E., & Silva, E. D. O. (2009). Suscetibilidade a dano pelo frio em abacaxi 'Pérola' tratado com 1-metilciclopropeno. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 31(1), 135-144.

499 Dantas, A. L., de Melo Silva, S., Dantas, R. L., Pereira, W. E., Lima, R. P., Mendonça, R.
 500 M. N., & Santos, D. (2015). Influence of combined sources of nitrogen fertilization on
 501 quality of cv. Vitória pineapple. *African Journal of Agricultural Research*, 10(40), 3814-
 502 3824.
 503 EMBRAPA. (2013). Sistema brasileiro de classificação de solos. Centro Nacional de
 504 Pesquisa de Solos: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 3º ed., 353p.
 505 FAOSTAT, FAO. (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations
 506 Statistics Division. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>.
 507 Francis F. J. (1982). Analysis of anthocyanins. In: Markakis P (Ed.), *Anthocyanins as Food*
 508 *Colors*. New York: Academic Press. pp.181-207.
 509 Garrido-Novell, C., Pérez-Marin, D., Amigo, J. M., Fernández-Novales, J., Guerrero, J. E.,
 510 & Garrido-Varo, A. (2012). Grading and color evolution of apples using RGB and
 511 hyperspectral imaging vision cameras. *Journal of Food Engineering*, 113(2), 281-288.
 512 Hewajulige, I. G., Wilson Wijeratnam, S., & Wijesundera, R. L. (2006). Pre-harvest
 513 application of calcium to control black heart disorder in Mauritius pineapples during low-
 514 temperature storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(3), 420-424.
 515 Hong, K., Xu, H., Wang, J., Zhang, L., Hu, H., Jia, Z., ... & Gong, D. (2013). Quality
 516 changes and internal browning developments of summer pineapple fruit during storage at
 517 different temperatures. *Scientia Horticulturae*, 151, 68-74.
 518 Hotegni, V. N. F., Lommen, W. J., van der Vorst, J. G., Agbossou, E. K., & Struik, P. C.
 519 (2014). Bottlenecks and opportunities for quality improvement in fresh pineapple supply
 520 chains in Benin. *International Food and Agribusiness Management Review*, 17(3), 139-
 521 170.
 522 IBGE. (2016). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
 523 <http://www.ibge.gov.br/home/>.

524 Ibrahim, M. H., Jaafar, H. Z., Rahmat, A., & Rahman, Z. A. (2011). Effects of nitrogen
525 fertilization on synthesis of primary and secondary metabolites in three varieties of kacip
526 Fatimah (*Labisia pumila* Blume). *International journal of molecular sciences*, 12(8), 5238-
527 5254.

528 Isuwan A. (2014). Agronomic traits and fruit quality of pineapple with different levels of
529 chicken manure application. *Silpakorn Univ. Sci. Technol. J.* 8(1):67-73.

530 Khan, S. A., Mulvaney, R. L., & Ellsworth, T. R. (2014). The potassium paradox:
531 Implications for soil fertility, crop production and human health. *Renewable Agriculture*
532 *and Food Systems*, 29(01), 3-27.

533 Lima, R. P., Silva, S. M., Dantas, R. L., Dantas, A. L., Sousa, A. S. B., Pereira, W. E.,
534 Mendonça, R. M. N. (2015). Use of Digital Image Processing for Evaluation of
535 Translucency in Fresh Cut 'PÉROLA' Pineapple Coated with Biofilms. III International
536 Conference on Fresh-cut Produce: Maintaining Quality & Safety, September 13-18.

537 Lu, X., Sun, D., Li, Y., Shi, W., & Sun, G. (2011). Pre-and post-harvest salicylic acid
538 treatments alleviate internal browning and maintain quality of winter pineapple fruit.
539 *Scientia Horticulturae*, 130(1), 97-101.

540 Marschner, H. (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press.

541 Miller G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing
542 sugars. *Anal. Chem.* 31(3):426-8.

543 Martins, L. P., Silva, S. M., Silva, A. P., Cunha, G. A. P., Mendonça, R., Vilar, L. C.,
544 Mascena, J., & Lacerda, J. T. (2012). Conservação pós-colheita de
545 abacaxi 'Pérola' produzido em sistemas convencional e integrado. *Rev. Bras. Frutic.*,
546 Jaboticabal, 34(3), 695-703.

547 Mohammad Sokri, S., Babalar, M., Barker, A. V., Lesani, H., & Asgari, M. A. (2015).
548 Fruit Quality and Nitrogen, Potassium, and Calcium Content of Apple as Influenced by

549 Nitrate: Ammonium Ratios in Tree Nutrition. *Journal of Plant Nutrition*, 38(10), 1619-
550 1627.

551 Montero-Calderón, M., Rojas-Graü, M. A., & Martín-Belloso, O. (2008). Effect of
552 packaging conditions on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*).
553 *Postharvest biology and technology*, 50(2), 182-189.

554 Nukuntornprakit, O. A., Chanjirakul, K., van Doorn, W. G., & Siriphanich, J. (2015).
555 Chilling injury in pineapple fruit: Fatty acid composition and antioxidant metabolism.
556 *Postharvest Biology and Technology*, 99, 20-26.

557 Oliveira, E. D., Carvalho, R. A., Lacerda, J. D., Choairy, S. A., & Barreiro Neto, M.
558 (2002). *Abacaxi: sistema de cultivo para o tabuleiro paraibano*. João Pessoa: EMEPA,
559 2002, 38p.

560 Omotoso, S. O., & Akinrinde, E. A. (2013). Effect of nitrogen fertilizer on some growth,
561 yield and fruit quality parameters in pineapple (*Ananascomosus* L. Merr.) plant at Ado-
562 Ekiti Southwestern, Nigeria. *Int. Res. J. Agric. Sci. Soil Sci*, 3(1), 11-16.

563 Pathaveerat, S., Terdwongworakul, A., & Phaungsombut, A. (2008). Multivariate data
564 analysis for classification of pineapple maturity. *Journal of Food Engineering*, 89(2), 112-
565 118.

566 Pegoraro, R. F., Souza, B. A. M. D., Maia, V. M., Silva, D. F. D., Medeiros, A. C., &
567 Sampaio, R. A. (2014). Macronutrient uptake, accumulation and export by the
568 irrigated'vitória'pineapple plant. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38(3), 896-904.

569 Quevedo, R. A., Aguilera, J. M., & Pedreschi, F. (2010). Color of salmon fillets by
570 computer vision and sensory panel. *Food and Bioprocess Technology*, 3(5), 637-643.

571 Raimbault, A. K., Marie-Alphonsine, P. A., Horry, J. P., Francois-Haugrin, M., Romuald,
572 K., & Soler, A. (2010). Polyphenol oxidase and peroxidase expression in four pineapple

573 varieties (*Ananas comosus* L.) after a chilling injury. *Journal of agricultural and food*
574 *chemistry*, 59(1), 342-348.

575 Soares, A. G., Trugo, L. C., Botrel, N., & da Silva Souza, L. F. (2005). Reduction of
576 internal browning of pineapple fruit (*Ananas comosus* L.) by preharvest soil application of
577 potassium. *Postharvest Biology and Technology*, 35(2), 201-207.

578 Spironello, A., Quaggio, J. A., Teixeira, L. A. J., Furlani, P. R., & Sigrist, J. M. M. (2004).
579 Pineapple yield and fruit quality effected by NPK fertilization in a tropical soil. *Revista*
580 *Brasileira de Fruticultura*, 26(1), 155-159.

581 Toivonen, P. M., & Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture
582 changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 1-
583 14.

584 Turrent, A. & Laird, R. J. (1975). La matriz experimental Plan Puebla, para ensayos sobre
585 prácticas de producción de cultivos. *Agrociencia*, 19, 117-143.

586 Wu, D., & Sun, D. W. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality
587 control—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 29(1), 5-20.

588 Zhang, B., Huang, W., Li, J., Zhao, C., Fan, S., Wu, J., & Liu, C. (2014). Principles,
589 developments and applications of computer vision for external quality inspection of fruits
590 and vegetables: A review. *Food Research International*, 62, 326-343.

591 Zhang, Q., Liu, Y., He, C., & Zhu, S. (2015). Postharvest Exogenous Application of
592 Absciscic Acid Reduces Internal Browning in Pineapple. *Journal of agricultural and food*
593 *chemistry*, 63(22), 5313-5320.

594 Zhou, Y., Pan, X., Qu, H., & Underhill, S. J. (2014). Low temperature alters plasma
595 membrane lipid composition and ATPase activity of pineapple fruit during blackheart
596 development. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 46(1), 59-69.

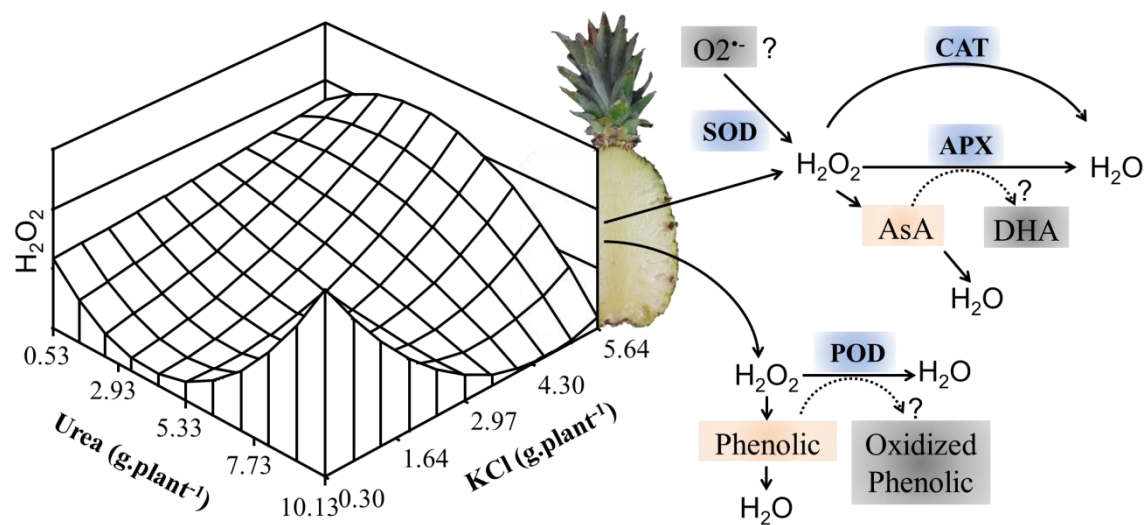
ARTIGO II

DYNAMIC OF ANTIOXIDANT METABOLISM IN PINEAPPLE FRUITS IN RESPONSE TO NITROGEN AND POTASSIUM FERTILIZATION

Submetido à Journal of Agricultural and Food Chemistry (ACS Publications)

ISSN: 0021-8561

Fator de Impacto: 2.912



² Tof Graf

ABSTRACT

Nitrogen and potassium fertilization affects the production of H_2O_2 and the antioxidant compounds, but these effects are not well characterized for pineapples. This research aimed to evaluate the changes in the enzymatic antioxidant systems, and the content of H_2O_2 in infructescences of 'Pérola' pineapple plants grown under nitrogen (N) and potassium (K) fertilization. Five doses of urea (0.53, 3.20, 5.33, 7.47, and 10.13) and five of KCl (0.30, 1.78, 2.97, 4.15, and 5.64) were combined according to the Plan Puebla III matrix, totaling 10 treatments. Low combinations of N and K were used, as their individual higher levels increased H_2O_2 content and the activity of antioxidant enzymes. Catalase activity mainly increased when K was higher and N was lower, while superoxide dismutase, ascorbic acid peroxidase, and peroxidase had their activities increased when both nutrients were in lower or in very high levels. In this condition, the ascorbic acid and total extractable polyphenols were higher as well, leading to a higher total antioxidant activity. Considering experimental conditions herein, the combination of 5.33g of urea and 2.97 g of KCl per plant for 'Pérola' pineapple plants promoted a balance between the antioxidant metabolism and the H_2O_2 levels in both pulp and core of fruits.

KEYWORDS: ascorbic acid, hydrogen peroxide, superoxide dismutase, ascorbic acid peroxidase, catalase

INTRODUCTION

Pineapple (*Ananas comosus* var. *comosus*) is a crop with remarkable performance in tropical and subtropical countries where it is widely cultivated and has a consolidated consumption. Brazilian pineapple production was around 2.4 million tons in 2013, ranking in second place among the world producers.¹ Nutritional status was certainly one of the factors contributing to this performance, considering that nitrogen and potassium are the most required nutrients by pineapple plants,^{2,3} also being responsible for the high yield and quality of the fruit.⁴ Although increasing the yield and weight of fruit, much higher levels of N decrease quality features, such as sugars, vitamin C,⁵ and yellow flavonoids content.⁶ On the other hand, K promotes increased contents of vitamin C and sugars⁷, in addition to improving the production.⁸

Abiotic stresses, such as nutritional deficiency and water deficit, trigger the synthesis of reactive oxygen species (ROS), such as superoxide radical ($O_2^{\bullet-}$), hydrogen superoxide (H_2O_2), and hydroxyl radical ($\bullet OH$) that participate in physiological responses to different kinds of stresses.^{9,10,11} When K^+ deficiency is sensed in the soil by the plant cells, its acquisition mechanism is mediated by an increase in ROS, which is mediated by Ca^{2+} -dependent signaling pathway for the uptake of this nutrient, mainly in osmotic metabolism.^{12,13} In turn, higher levels of N can increase the activity of enzymes related to ROS scavenging,¹⁴ or even reduce the activity of some antioxidant enzymes¹⁵ and the total antioxidant activity.¹⁶ H_2O_2 plays an important role in the signaling and signal transduction of responses to oxidative stress in plants,^{17,18} but its excess leads to cell damage, such as lipid peroxidation in the membrane and protein degradation.¹⁹ As an example, ROS metabolism in pineapple was strongly correlated to pulp browning.²⁰ However, it seems that this event is dependent on the biochemical status of the tissue, as it starts in the juicy

pulp and later expands to the core, conditioning an unpleasant appearance in the whole infructescence.^{20,21}

The cell antioxidant systems include molecules with high reducing capacity that act directly in the non-enzymatic antioxidant system, such as phenolic compounds and ascorbic acid,^{22,23} as well as antioxidant enzymes, which include superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and ascorbic acid peroxidase (AAP),^{14,24,25} capable of reducing the ROS levels in living organisms. The enzymatic antioxidant system comprises one of the main mechanisms developed by plants to minimize ROS effects and to maintain a physiological redox state in the cells. SOD plays a central role in the elimination of $O_2^{\bullet-}$, generating H_2O_2 and O_2 .^{18,20,24} CAT, APX, and peroxidase (POD) are mainly responsible for the elimination of H_2O_2 and release H_2O e O_2 as products.^{18,26}

These antioxidant systems must be efficient in maintaining low levels of ROS and guaranteeing the cell function,²⁷ mainly under stress conditions. In this context, Liu et al.²⁸ reported that adequate N supply (240 kg N ha^{-1}) in cotton grown under water stress contributed to the drought tolerance of plants, providing a proper adjustment of antioxidant enzymes in roots, thus reducing lipid peroxidation. However, an oversupply of N (480 kg N ha^{-1}) had a harmful effect on plants' tolerance to drought. Bioactive compounds and the total antioxidant activity in 'Vitória' pineapples were affected by nitrogen fertilization.⁶ In addition, potassium fertilization prevents browning in pineapple pulp by reducing the activity of oxidative enzymes, such as polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia-lyase.²⁹ However, the dynamic of antioxidant metabolism in response to N and K fertilization is not clear, mainly when combined.

Based on this, this research aimed to evaluate the changes in the enzymatic antioxidant systems and the H_2O_2 content in both the pulp and core of 'Pérola' pineapples under nitrogen and potassium fertilization.

MATERIAL AND METHODS

Plant material and setting the experiment. The experimental step in the field was carried out in the municipality of Alhandra, Paraíba state, Brazil, where the soil is classified as an argisolic Dystrophic Yellow Latosol.³⁰ The predominant climate is As', hot and humid, with mean temperatures between 22 and 26°C.³¹ In 2014, the average precipitation was 1.787 mm in the municipality. The cultivated Pérola pineapple (*Ananas comosus* var. *comosus*) was planted in a single row system with spacing of 0.80 x 0.30 m.

The sources used for N, P, and K were urea (45% N), single superphosphate (18% P₂O₅), and potassium chloride (60% KCl), respectively. The fertilizations with nitrogen (N) and potassium (K) were divided into three applications, and phosphorus (P) was applied once (11.83g of single superphosphate per plant). The doses of nitrogen (N) and potassium (K) were divided in three applications, which were made at 90, 190 and 290 days after planting (DAP), applied in the axils of the basal leaves. The phosphorus (P) fertilization was made in a single dose (11.83 g per plant). Pineapple plants also had B (4 kg ha⁻¹ boron), FeSO₄ (4 kg ha⁻¹ iron sulphate), CuSO₄.5H₂O (2 kg ha⁻¹ copper sulphate), and ZnSO₄.7H₂O (2 kg ha⁻¹ zinc sulphate) applied to their leaves from the fourth month, continuing every two months until the tenth month after planting.³²

The experiment followed a randomized blocks design (RBD) with three repetitions. Treatments were organized in factorial design according to the Plan Puebla III matrix³³ consisting of the combination of five doses of both N and K, totaling ten combinations (Table 1). Sixty pineapple plants composed the experimental unit, however, just the 50 central plants were taken as the effective area. Floral induction was performed 11 months after planting, and the harvest was performed 16 months after planting when fruits reached physiological maturity, characterized by a green color with yellow spots in the base and fruitlet detachment. Each replication was composed of 12 fruits, which were transported to

the Postharvest Biology and Technology laboratory of the Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Brazil, for evaluations. Pulp (fruitlet) and the core (central peduncle of the fruit) were studied individually.

Ascorbic Acid and Total Extractable Polyphenols. Ascorbic acid content ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) was obtained by titration with DFI (0,002% 2,6- dichlorophenolindophenol) until permanent light pink color in the extract according to AOAC.³⁴

Total extractable polyphenols were performed according to Dantas et al.⁶ Five grams of sample were homogenized with 4 mL of 50% methanol, holding for 1 h, and centrifuged for 20 min at 9000 rpm. Supernatant was stored and 4 mL of 70% acetone were added to the residue remained, homogenized, holding 1 h more, and following centrifugation for 20 min at 9000 rpm. The recovered supernatants were combined, and the final volume completed to 10 mL with distilled water. An aliquot of 0.2 mL of the extract was diluted with 1 mL with distilled water. Afterwards, 1 mL of Folin-Ciocalteu reagent, 2 mL of 20% sodium carbonate, and 2 mL of distilled water were added. The mixture assay remained for 30 min in darkness. Readings were performed in spectrophotometer (GenesysTM 10S UV-VIS) at 700 nm. A standard curve of gallic acid ($0 \text{ to } 50 \text{ mg g}^{-1}$) was used, and the total extractable polyphenols (TEP) content was presented as mg of gallic acid 100 g^{-1} of fresh sample.

Total Antioxidant Activity (DPPH[•] radical). Total antioxidant activity (TAA) was performed through capturing the free radical DPPH[•].⁶ Three dilutions ($400, 700, \text{ and } 1000 \mu\text{L mL}^{-1}$) were prepared in triplicate based on preliminary assays, and a standard curve of DPPH[•] (final concentration ranging from 0 to 60 μM in pure methanol). An aliquot of 100 μL was taken from each dilution and added to 3.9 mL of DPPH[•] radical (60 μM). The control solution was made of 4 mL of 50% methanol, 4 mL of 70% acetone, and 2 mL of distilled water. From this solution, 100 μL was used. The absorbance was read at 515 nm

in spectrophotometer (GenesysTM 10S UV-VIS). Results were presented as EC₅₀, which reports the quantity of fresh material capable of providing antioxidants able to scavenge the DPPH[•] radical (g de DPPH[•]).

Extraction and activities of SOD, POD, APX, and Catalase. All enzymatic assays were performed from the same crude extract. Two grams of the sample were taken, homogenized with 10 mL of 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), 0.1 mM EDTA, and 0.1 g of PVP. After filtered, centrifuged at 9,000 rpm for 25 min at 4 °C, the supernatant was used as enzymatic extract. The protein concentration of extract was measured at 595 nm by Bradford assay.³⁵ A standard curve with bovine gammaglobulin was used (0.23 to 1.6 mg mL⁻¹).

Catalase activity (CAT, EC 1.11.1.6) was assayed following recommendations of Yang et al.³⁶ The reaction mixture (1.5 mL) was composed by 1.29 ml of 100 mM potassium phosphate buffer, 60 uL of 0.5 M H₂O₂, and 150 uL of crude enzymatic extract. The decrease in the absorbance at 240 nm resulting from the hydrogen peroxide consumption was monitored for 3 minutes. One unit of CAT activity is defined as the amount of enzyme which decomposes 1 µmol of H₂O₂ per minute per milligram of protein (U mg⁻¹ protein), considering the conditions of the assay and the extinction coefficient 39.4 mM⁻¹ cm⁻¹.

The superoxide dismutase activity (SOD, EC 1.15.1.1) was assayed to quantify the ability to inhibit the photochemical reduction of nitroblue tetrazolium (NBT), according to Lv et al.³⁷ The reaction mixture (1.5 mL) contained 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7,8), 13 mM methionine, 2.0 mM riboflavin, 50 mM EDTA, 75 mM NBT, and 50 µL of crude enzymatic extract. After adding riboflavin, the reaction was triggered by turning on two 30 W fluorescents lights, remaining so for 10 minutes, and then lights were turned off. The absorbance of the assay mixture was recorded at 560 nm. One unit of SOD was defined as

the necessary amount of enzyme that inhibits the photoreduction of NBT in 50 % under the assay conditions.

Ascorbic Acid Peroxidase activity (APX, EC 1.11.1.11) was performed according to Nukuntornprakit et al.²⁰ with some modifications. The reaction mixture contained 1.3 mL of 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), 50 μ L of 30 mM H₂O₂, 50 μ L of 9.0 mM ascorbic acid, and 100 μ L of the enzymatic extract. The decrease in the absorbance was recorded for 3 min at 290 nm, and the enzymatic activity was calculated according to the extinction coefficient 2.8 mM⁻¹ cm⁻¹. One unit of APX activity was defined as the amount of the enzyme that oxidizes 1.0 μ mol of ascorbic acid per milligram of protein per min (U mg⁻¹ protein).

Peroxidase activity (POD, EC 1.11.1.7) was assayed based on the guaiacol oxidation using H₂O₂ and a extinction coefficient 26.6 mM⁻¹ cm⁻¹, following method of Wu et al.²⁶ The reaction mixture contained 1.2 ml of 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), 0.1 mL of 0.5 M hydrogen peroxide, 0.1 ml of 3% guaiacol, and 0.1 ml the enzymatic extract. The increase in absorbance was monitored for 60 seconds at 470 nm. One unit of POD activity was defined as the amount of enzyme that catalyzes the peroxidation of 1.0 μ mol of guaiacol per milligram of protein per minute (U mg⁻¹ protein).

H₂O₂ Levels. The hydrogen peroxide content was assayed according to Nukuntornprakit et al.²⁰ Five grams of sample were homogenized in a mortar previously cooled in ice with 5 ml of 0.1% trichloroacetic acid (w/v). The homogenate was centrifuged at 9,000 rpm for 20 min at 4 °C. One milliliter of the supernatant was added to 1.0 ml of 5.0 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), and 1 mL of 1.0 M potassium iodide. The absorbance of the final mixture was measured at 390 nm using a spectrophotometer GenesysTM (10S UV-VIS). The hydrogen peroxide content was determined using an H₂O₂ standard curve

prepared from a stock solution of 10 mM, and the results were expressed as μmol of H_2O_2 g^{-1} of fresh pulp.

Statistical Analysis. Data were subjected to analysis of variance. To evaluate the effect of the doses, we applied the response surface technique and performed a polynomial regression analysis of the isolated effect of the sources (main effect), testing up to a quadratic level. Significance was considered up to 5% probability and coefficient of determination (R^2) greater than 60%. Principal component analysis (PCA) was performed and an hierarchical clustering analysis with an algorithm based closely on the Sokal and Michener method.³⁸ SAS 9.3 (2011) and JMP® 10.0.0 programs were used for all analysis.

RESULTS

H_2O_2 levels. H_2O_2 content in pineapple pulp was higher when N was supplied at low doses, up to 5.33g of urea per plant, combined with very high doses of K, from 4.30 to 5.64g of KCl per plant. However, the combination of 5.33 g of urea and 2.97 g of KCl reduced the H_2O_2 in the pulp (Figure 1A). An increase of H_2O_2 was observed when K was lower than 2.97g of KCl, and in combinations with lower and higher doses of urea. In contrast, no significant K effect on H_2O_2 levels in the core portion was observed. However, N supply, regardless of K, increased H_2O_2 levels (Figure 1B).

Enzymatic Antioxidant Activity. Data for K and N effects on superoxide dismutase activity (SOD) was not adjusted to any surface response model or polynomial regression curve with a satisfactory R^2 ($> 60\%$), therefore the average values are presented in Table 2. However, combinations between lower doses of N and K (0.53g of urea and 0.30g of KCl per plant) enhanced SOD activity in the pulp, while the combinations of N and K (3.2 and 4.15, 7.47 and 1.78, respectively) provided lower activity. Unlike in the core portion,

decreased SOD activity appeared for combinations between lower doses of N e K (0.53g of urea and 0.30g of KCl per plant), together with the combination of 3.2 and 0.3.

Results for ascorbic acid peroxidase activity (APX) in fruit pulp showed interaction between N and K. The activity in the core only had activity for isolated doses of N (Figures 2A and B). From the surface response plot, it can be noticed that combinations with higher doses of N and K, as well as their higher doses increase APX activity in the pulp. Thus, if K is provided at lower rates (0.3 g of KCl per plant), N supplied at up to 5.33g of urea per plant tends to reduce the APX activity, but if N supply increases from that dose, APX tends to increase its activity. However, the activity may decrease again if K is supplied to 2.97g of KCl per plant. Still, K supply in higher doses reduces APX activity even more if combined with 5.33g of urea per plant. In fruit core, N ranging up to 5.33g of urea per plant, regardless of K, also reduces APX activity. Similar to that observed in the pulp, higher doses increase its activity.

Peroxidase (POD) was assayed with guaiacol, which has been widely used as a non-specific electron donor in enzymatic assays, and hydrogen peroxide as the electron acceptor molecule. POD activity showed similar behavior to APX. The higher POD activity was observed when N and K combinations were applied with the highest doses (10.13g of urea and 5.64g of KCl per plant) (Figure 2C). However, when low doses of N were supplied ranging from 0.54 to 5.33g of urea per plant, higher doses of K reduced POD activity. Similarly, combinations of higher doses of N with doses of K lower than 2.97g of KCl per plant reduce POD activity. In the core, the activity was not adjusted to any regression model with satisfactory R^2 , but the highest value of activity was observed for the combination between 3.2 g of urea and 0.3g of KCl per plant (Table 2).

The activity of catalase (CAT) was only determined in the fruit pulp. Overall, the activity of CAT showed different behavior than that observed for the other antioxidant

enzymes herein in response to N and K combinations (Figure 2D). Its greatest activity was observed for the highest dose of K in combination with lowest dose of N (5.64g of KCl and 0.53g of urea per plant). On the other hand, the combination of the lowest doses of N and K (0.53g of urea and 0.30g of KCl per plant) resulted in reduced CAT activity. The increase in N levels when K was deficient (0.30g of KCl per plant) also enhanced CAT activity, but when K was high in concentration (5.64g of KCl per plant), the addition of N reduces its activity. Furthermore, it was observed that increasing K combined with N levels from 5.33g of urea per plant virtually does not affect CAT activity.

Ascorbic acid content and Total extractable polyphenols. The increase in nitrogen (N) linearly reduced ascorbic acid content (AA) in the pulp of the ‘Pérola’ pineapple fruit, while no significant effects for the levels of potassium (K) were observed (Figure 3A). For the portion of the core, the increase in N and K rates promoted a mutual effect in increasing levels of AA (Figure 3B). When combined with lower doses of K, the increase in N reduces the AA content from the dose of 5.33g of urea per plant. Conversely, an increase in the K levels linearly increases AA content when combined with higher levels of N. Thus, the positive effect of K on AA content is necessarily dependent on N application, meaning that at low doses of N, K fertilization does not respond satisfactorily in increasing the AA content.

The combined effect of N and K on the total extractable polyphenols (TEP) content was similar in the pulp and core (Figure 3C and D). TEP values and AA in the core were always lower than those observed in the pulp. In general, low doses of these nutrients as well as their very high doses simultaneously promoted an increase in the TEP content. On the other hand, when one nutrient is at lower doses, the increase in the other reduces the TEP content, especially K.

Total antioxidant activity (DPPH[•] radical). In the fruit pulp, low doses of N and K resulted in higher total antioxidant activity (TAA). The increase in K levels combined with low doses of N continuously reduced the TAA, but when K was associated with high doses of N, antioxidant capacity was highly maintained. In turn, the increase in N levels up to the dose of 5.33g of urea per plant reduced TAA when K was low, but it increased again from this dose (Figure 4A). High TAA was also observed in the core with the highest combinations of N and K (Figure 3B).

Principal component analysis. The principal component analysis (PCA) explained 72.80% of the variability among treatments with three principal components, being CP1 (44.00%), CP2 (15.85%), and CP3 (13.05%), respectively. Table 3 contains a description of variable contributions for the three first principal components, which reflect the good overall similarity of the grouped treatments (Figure 5 and 6). Yet the dendrogram in Figure 6 with a color map describes the contribution of the variables for each group.

The first two principal components CP1 and CP2 cover nearly 60% of the total variance. The axes of these treatment components converge forming two groups, Group A and Group B (Figure 5A), where the combinations of N and K showed elevated and opposite scores, mainly in the CP1 axis. Group A presented positive value in the PC1 axis, and reunited combinations of N and K, namely 0.53 with 0.30, 5.33 with 2.97, 7.47 with 5.64, and 3.2 with 1.78g of urea and KCl per plant, respectively. In turn, Group B is related to negative values in the PC1 axis, and grouped the combinations 3.20 with 0.30, 10.13 with 4.15, 7.47 with 4.15, and 7.47 with 1.78g of urea and KCl per plant, respectively. Combinations of N and K, which comprised Group C (3.20 with 4.15, and 0.53 with 1.78g of urea and KCl per plant, respectively) showed high positive scores, mainly in the axis of components CP2 and CP3 (Figure 5B).

Variables with significant contribution according to the criterion of Jolliffe³⁸ were PET content in the core and the enzymatic activities of APX, SOD, and POD in the pulp, which were positively related to CP1 (Table 3), indicating respectively high content and activities as a result of N and K combinations for Group A. In turn, TAA and CAT activity in the pulp together with the POD activity in the core exhibited a strong negative contribution to CP1. However, it must be considered that smaller values for TAA through the DPPH assay indicate the highest antioxidant activity. Thus, combinations of N and K in Group A also promoted higher TAA in the pulp. The POD activity in the core was also important for CP2. In contrast, TEP and H₂O₂ content in the pulp together with TAA, H₂O₂ content, and activities of SOD and APX in the core exhibited a strong contribution to PC2 and weak to PC1. In turn, the AA content and SOD activity in the core were the variables with the greatest contribution in CP3. The AA and H₂O₂ content in the core showed negative loading values in CP2 and CP3, indicating that combinations of N and K in Group C promoted reduction in both compounds. The AA content in the pulp did not show any relative importance to explain the variability among treatments within the first three CPs.

DISCUSSION

It was demonstrated that very low and very high concentrations of nitrogen and potassium may favor the accumulation of hydrogen peroxide in ‘Pérola’ pineapples (Figure 1). H₂O₂ is one of the main compounds belonging to the ROS group, causing oxidative chain reactions.¹⁷ The production of H₂O₂ in K-deficient plants can be directly induced as a coping mechanism for stress to favor the acquisition of K,¹² or as a result of physiological disorders linked to photosynthetic processes, acquisition and redistribution of photo-assimilated by intensifying the transfer of electrons to the O₂.^{9,40} But if K is provided, the H₂O₂ content tends to decline.⁴¹ Therefore, the results in this study confirm that the K

supply minimizes the accumulation of ROS, considering H_2O_2 in this case, since N is combined in suitable doses. On the other hand, if N is very low, at doses lower than 5.33g of urea per plant, the addition of K tends to raise the H_2O_2 content. In wheat, N deficiency also induced ROS production, which in parallel resulted in callose deposition in the vascular bundles of the stems and reduced filling rate of grains.⁴²

The antioxidant enzymes had higher activity when K and N were simultaneously elevated, or in very low levels, or when K and N presented opposite concentrations, except for CAT that had opposite behavior. Potassium deficiency significantly increased the activity of SOD, POD, and APX in roots of tomato plants cultivated in a hydroponic system, whereas CAT activity was reduced in the K-deficient treatment compared with the control.⁴¹ According to Shin et al.,⁴³ the expression of different peroxidases in Arabidopsis is induced by a deficiency of nitrogen, phosphorus, and potassium, but the intensity and duration of expression vary according to the deficient nutrient. Zhang et al.¹⁴ performed a study with nitrogen fertilization on the antioxidant enzymes in leaves of Populous (*Populus deltoides* × *P. nigra*) under cadmium stress, and observed that SOD activity slightly increased with the addition of N compared to controls (without N and without stress by Cd), but the activity was even greater when plants were Cd-stressed and fertilized with N. In the same study, the activity of APX increased with the increase of N, but with lower intensity. On the other hand, the addition of N alone had no effect on CAT activity compared with control.

In addition, the increase of ROS in plants under nutritional stress has been correlated with an increase in the activity of enzymes involved in detoxification of H_2O_2 , and its use in oxidative processes.^{9,41,13} Herein, an increase in APX activity was paralleled to the increased levels of H_2O_2 when K was reduced and N was high, or when both N and K are low-supplied. However, when N was reduced and K increased, there was an enhancement

in the CAT activity along with H₂O₂ levels. In that condition, the activity of APX, POD, and SOD was reduced. Thus, the activity of enzymes involved in the antioxidant metabolism of 'Pérola' pineapple under nitrogen and potassium fertilization varies in intensity, depending on what nutrient is deficient or in excess, as well as its combinations. It was observed that K increased the contents of AA in 'Pérola' pineapples, while N levels tended to reduce (Figure 2). The positive effect of K fertilization on AA content reported herein is according to Spironello et al.⁴ for 'Smooth Cayenne' pineapple. In contrast, Omotoso & Akinrinde⁵ reported a negative effect of nitrogen fertilization on AA content. Herein, different doses of N and K were combined and showed that its effects on AA as well as on TEP vary according to the nutrient concentration in the combination. This means that one nutrient concentration also influenced the response of the increasing doses of the other, and thus, the best K effect was associated with higher doses of N. In 'Vitória' pineapples, Dantas et al.⁶ reported that organic fertilization with chicken manure containing expressive amounts of K promoted an increase in the AA content, which was even more favored when there were combinations with high doses of urea (17.66g per plant).

According to Zhang & Liu,⁴⁴ at least two isoforms of phenylalanine ammonia-lyase (PAL1 and PAL2) have their expression enhanced by low levels of N, which play important specialized functions in phenolic compounds synthesis triggered by abiotic stress. In addition, low levels of K also stimulate PAL activity in 'Smooth Cayenne' pineapples.²⁸

According to Marschner,¹⁹ the increase in secondary metabolism metabolites, such as ascorbic acid and phenolic compounds when plants are deficient in nutrients is related to plants' defense mechanisms to stress. Based on this hypothesis, it could be considered that the accumulation of AA and TEP in 'Pérola' pineapples was favored by nutritional stress, and not only occurred when K and N were deficient, but also when they appeared

combined in higher doses. In this direction, the accumulation of AA and TEP coincided normally with the lowest H₂O₂ content. However, Vissotto et al.⁴⁵ reported that AA and TEP presented a good capacity to eliminate peroxy radical (O₂[•]), but this capacity is very low for fruit pulps.

In this study, the TAA was higher when pineapples accumulated increased AA and TEP content. Moreover, the TAA in the core was lower than in the pulp, in concordance with the antioxidant potential of these compounds, which were also lower in the core portion. For 'Vitória' pineapples, the fertilization combined with elevated doses of chicken manure with urea resulted in higher antioxidant activity according to the ABTS^{•+} method, and this increase occurred due to the ascorbic acid content.⁶ According to Nukuntornprakit et al.,²⁰ higher antioxidant activity in pineapple can indicate less susceptibility to internal browning.

Through PCA and hierarchical clustering analysis, three distinguishable groups were formed and revealed important aspects of the ratios of nitrogen and potassium fertilization on antioxidant metabolism (Figures 5 and 6; Table 3). The main differences among groups are linked to the applied N:K ratios. Group A grouped the combinations of N and K (0.53 with 0.30, 5.33 with 2.97, 7.47 with 5.64, and 3.2 with 1.78g of urea and KCl per plant, respectively) as the N:K ratio values ranged from 1.32 to 1.8. These combinations together promoted higher PET and TAA in the pulp and core, and enhanced activities of SOD, APX, and POD in the pulp, and lower CAT activity (Figures 6). There was a noted H₂O₂ content in the pulp, excepted for the ratio 3.2:1.78. On the other hand, if the N:K ratio was high, ranging from 1.8 to 10.67, the combinations in Group B (3.20:0.30, 10.13:4.15, 7.47:4.15, and 7.47:1.78) provided a lower content of H₂O₂ and lower activity of SOD, APX, and POD in the pulp, while CAT activity was high. For the core, H₂O₂ levels and the activities of SOD, APX, and POD were high.

Efficient fertilizations should consider the interaction among nutrients, such as the DRIS (Diagnosis and Recommendation Integrated System) recommendations.⁴⁶ According to Marschner,¹⁹ these interactions are important, mainly when the concentration of both nutrients are equal or close to the deficiency limits, and the excessive increase of just one nutrient can cause deficiency of the other by dilution resultant from overgrowth. Furthermore, K deficiency induces, e.g., an increase in N-rich amino acids, and may affect the activity of several enzymes involved in assimilation of N, such as reducing activity of nitrate reductase (NR).⁴⁷ Another aspect that should be considered is that ROS accumulation as a result of nutritional deficiency may occur in specific tissues in accordance with the deficient nutrient concerned.⁴⁵ Thus, the lowest content of H₂O₂ and the enzymatic activity obtained with the highest N:K ratio may be due to the dilution of these nutrients favored by the excess of N in relation to K. Furthermore, there was a greater accumulation of H₂O₂ and enzymatic activity in the core portion, which is a less succulent tissue rich in fiber, indicating some level of stress. Group C consisted of treatments with higher K than N doses, and therefore there was N:K ratio values lower than 1 (0.77 and 0.30 for the combinations of 3.20 with 4.15, and 0.53 with 1.78g of urea and KCl per plant, respectively). These treatments mostly had low H₂O₂, AA, and TEP content in the core, combined with a moderate activity of APX and SOD (Figure 6). The pulp showed a moderate content of H₂O₂ and low activity of APX, POD, and SOD.

Overall, the results suggest that low doses of N and K, as well as the excess of these nutrients individually increase the content of H₂O₂, and therefore the activity of antioxidant enzymes. CAT activity increases mainly when K is high and N is reduced, while SOD, APX, and POD have higher activity when both N and K are low or too high, indicating the ability of these enzymes to modulate oxidative stress. In turn, the content of AA and TEP are less correlated with the increase in H₂O₂, compared to the enzymatic antioxidant

activity, but promote greater TAA when both N and K are low or too high. The ACP showed that N:K ratios are as important as the absolute concentrations of these nutrients in optimizing antioxidant metabolism, and therefore one of these nutrients must not be considered individually. Thus, the fertilization with 5.33g of urea with 2.97g of KCl per plant of ‘Pérola’ pineapple promoted a balance between antioxidant metabolism and H₂O₂ levels in the pulp and cores of pineapple.

ABBREVIATIONS USED

ACP, principal component analysis; AA, ascorbic acid; TEP, total extractable polyphenols; TAA, total antioxidant activity; PAL, phenylalanine ammonia-lyase; SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; APX, ascorbic acid peroxidase; POD, peroxidase; ROS, reactive oxygen species; O₂⁻, superoxide radical; H₂O₂, hydrogen peroxide;

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank CNPq for the research financial support and for granting the first author a Master’s degree scholarship.

REFERENCES

1. FAOSTAT, FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. (2015).
2. Rodrigues, A. A.; Mendonça, R. M. N.; Silva, A.; Silva, S.. Nutrição mineral e produção de abacaxizeiro 'Pérola', em função das relações K/N na adubação. *Rev. Bras. Frutic.* **2013**, 35(2), 625-633.
3. Pegoraro, R. F.; Souza, B. A. M. D.; Maia, V. M.; Silva, D. F. D.; Medeiros, A. C.; Sampaio, R. A. Macronutrient uptake, accumulation and export by the irrigated 'vitória' pineapple plant. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* **2014**, 38(3), 896-904.
4. Spironello, A.; Quaggio, J. A.; Teixeira, L. A. J.; Furlani, P. R.; Sigrist, J. M. M. Pineapple yield and fruit quality effected by NPK fertilization in a tropical soil. *Rev. Bras. Frutic.* **2004**, 26(1), 155-159.
5. Omotoso, S. O.; Akinrinde, E. A. Effect of nitrogen fertilizer on some growth, yield and fruit quality parameters in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) plant at Ado-Ekiti Southwestern, Nigeria. *Int. Res. J. Agric. Sci. Soil Sci.* **2013**, 3(1), 11-16.
6. Dantas, A. L.; de Melo Silva, S.; Dantas, R. L.; Pereira, W. E.; Lima, R. P.; Mendonça, R. M. N.; Santos, D. Influence of combined sources of nitrogen fertilization on quality of cv. Vitória pineapple. *Afr. J. Agric. Res.* **2015**, 10(40), 3814-3824.
7. Caetano, L. C. S.; Ventura, J. A.; Costa, A.; Guarçoni, R. C. Efeito da adubação com Nitrogênio, Fósforo e Potássio no desenvolvimento, na produção e na qualidade de frutos do abacaxi 'Vitória'. *Rev. Bras. Frutic.* **2013**, 35(3), 883-890.
8. Teixeira, L. A. J.; Quaggio, J. A.; Cantarella, H.; Mellis, E. V. Potassium fertilization for pineapple: effects on plant growth and fruit yield. *Rev. Bras. Frutic.* **2011**, 33(2), 618-626.
9. Cakmak, I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2005**, 168(4), 521-530.

- 458 10. Jaspers, P.; Kangasjärvi, J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiol.*
459 *Plant.* **2010**, 138(4), 405-413.
- 460 11. Suzuki, N.; Koussevitzky, S.; Mittler, R. O. N.; Miller, G. A. D. ROS and redox
461 signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant. Cell. Environ.* **2012**, 35(2), 259-
462 270.
- 463 12. Coskun, D.; Britto, D. T.; Kronzucker, H. J. The physiology of channel-mediated K⁺
464 acquisition in roots of higher plants. *Physiol. Plant.* **2014**, 151(3), 305-312.
- 465 13. Chérel, I.; Lefoulon, C.; Boeglin, M.; Sentenac, H. Molecular mechanisms involved in
466 plant adaptation to low K⁺ availability. *J. Exp. Bot.* **2014**, 65(3), 833-848.
- 467 14. Zhang, F.; Wan, X.; Zheng, Y.; Sun, L.; Chen, Q.; Zhu, X.; Guo, Y.; Liu, M. Effects of
468 nitrogen on the activity of antioxidant enzymes and gene expression in leaves of *Populus*
469 plants subjected to cadmium stress. *J. Plant. Interact.* **2014**, 9(1), 599-609.
- 470 15. Łata, B. Variability in enzymatic and non-enzymatic antioxidants in red and green-
471 leafy kale in relation to soil type and N-level. *Sci. Hortic.* **2014**, 168, 38-45.
- 472 16. Stefanelli, D.; Winkler, S.; Jones, R. Reduced nitrogen availability during growth
473 improves quality in red oak lettuce leaves by minimizing nitrate content, and increasing
474 antioxidant capacity and leaf mineral content. *Agricultural Sciences*, **2011**, 2(04), 477.
- 475 17. Inzé, A.; Vanderauwera, S.; Hoeberichts, F. A.; Vandorpe, M.; Van Gaeve, T. I. M.;
476 Van Breusegem, F. A subcellular localization compendium of hydrogen peroxide-induced
477 proteins. *Plant. Cell. Environ.* **2012**, 35(2), 308-320.
- 478 18. Noctor, G.; Mhamdi, A.; Foyer, C. H. The roles of reactive oxygen metabolism in
479 drought: not so cut and dried. *Plant Physiol.* **2014**, 164(4), 1636-1648.
- 480 19. Marschner, H. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press, 2011.

- 481 20. Nukuntornprakit, O. A.; Chanjirakul, K.; van Doorn, W. G.; Siriphanich, J. Chilling
482 injury in pineapple fruit: Fatty acid composition and antioxidant metabolism. *Postharvest*
483 *Biol. Technol.* **2015**, 99, 20-26.
- 484 21. Raimbault, A. K.; Marie-Alphonsine, P. A.; Horry, J. P.; Francois-Haugrin, M.;
485 Romuald, K.; Soler, A. Polyphenol oxidase and peroxidase expression in four pineapple
486 varieties (*Ananas comosus* L.) after a chilling injury. *J. Agr. Food Chem.* **2010**, 59(1), 342-
487 348.
- 488 22. Hossain, M. A.; Rahman, S. M. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of
489 tropical fruit pineapple. *Food Res. Int.* **2011**, 44(3), 672-676.
- 490 23. Alothman, M.; Bhat, R.; Karim, A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of
491 selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*,
492 **2009**, 115(3), 785-788.
- 493 24. Dourado, M. N.; Franco, M. R.; Peters, L. P.; Martins, P. F.; Souza, L. A.; Piotto, F.
494 A.; Azevedo, R. A. Antioxidant enzymes activities of *Burkholderia* spp. Strains-oxidative
495 responses to Ni toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, **2015**, 22(24),
496 19922-19932.
- 497 25. Zhang, Q.; Liu, Y.; He, C.; Zhu, S. Postharvest Exogenous Application of ABA
498 Reduces Internal Browning in Pineapple. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, 63, 5313–5320.
- 499 26. Wu, G. L.; Cui, J.; Tao, L.; Yang, H. Fluroxypyr triggers oxidative damage by
500 producing superoxide and hydrogen peroxide in rice (*Oryza sativa*). *Ecotoxicology*, **2010**,
501 19(1), 124-132.
- 502 27. Foyer, C. H.; Shigeoka, S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to
503 enhance photosynthesis. *Plant Physiol.* **2011**, 155(1), 93-100.

- 504 28. Liu, R. X.; Zhou, Z. G.; Guo, W. Q.; Chen, B. L.; Oosterhuis, D. M. Effects of N
505 fertilization on root development and activity of water-stressed cotton (*Gossypium*
506 *hirsutum* L.) plants. *Agricultural water management*, **2008**, 95(11), 1261-1270.
- 507 29. Soares, A. G.; Trugo, L. C.; Botrel, N.; da Silva Souza, L. F. Reduction of internal
508 browning of pineapple fruit (*Ananas comusus* L.) by preharvest soil application of
509 potassium. *Postharvest biology and technology*, **2005**, 35(2), 201-207.
- 510 30. EMBRAPA SOLOS. Sistema brasileiro de classificação de solos. Centro Nacional de
511 Pesquisa de Solos: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013; 3° ed., 353p
- 512 31. AESA - Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba.
513 <http://www.aesa.pb.gov.br/>. (2016).
- 514 32. Oliveira, E. D.; Carvalho, R. A.; Lacerda, J. D.; Choairy, S. A.; Barreiro Neto, M.
515 Abacaxi: sistema de cultivo para o tabuleiro paraibano. João Pessoa: EMEPA, **2002**, 38p.
- 516 33. TURRENT, A.; LAIRD, R. J. La matriz experimental Plan Puebla, para ensayos sobre
517 prácticas de producción de cultivos. *Agrociencia*, 1975; n.19, p.117-143.
- 518 34. AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis of
519 the association of Official Analytical Chemistry. Washington, WA, 2005; 17th edn.
- 520 35. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
521 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*,
522 **1976**, 72(1), 248-254.
- 523 36. Yang, Z.; Zheng, Y.; Cao, S. Effect of high oxygen atmosphere storage on quality,
524 antioxidant enzymes, and DPPH-radical scavenging activity of Chinese bayberry fruit.
525 *Journal of agricultural and food chemistry*, **2008**, 57(1), 176-181.
- 526 37. Lv, W. T.; Lin, B.; Zhang, M.; Hua, X. J. Proline accumulation is inhibitory to
527 *Arabidopsis* seedlings during heat stress. *Plant Physiol.* **2011**, 156(4), 1921-1933.

- 528 38. Sokal, R. R.; Michener, C. D. "A Statistical Method for Evaluating Systematic
529 Relationships," University of Kansas Science Bulletin, **1958**, 38, 1409–1438.
- 530 39. Jolliffe, I. T. Discarding variables in a principal component analysis. I: Artificial data.
531 J. R. Stat. Soc. Serie C: Appl. Stat. **1972**, 21(1):160-173.
- 532 40. Alemán, F.; Nieves-Cordones, M.; Martínez, V.; Rubio, F. Root K⁺ acquisition in
533 plants: the *Arabidopsis thaliana* model. Plant and Cell Physiology, **2011**, 52(9), 1603-
534 1612.
- 535 41. Hernandez, M.; Fernandez-Garcia, N.; Garcia-Garma, J.; Rubio-Asensio, J. S.; Rubio,
536 F.; Olmos, E. Potassium starvation induces oxidative stress in *Solanum lycopersicum* L.
537 roots. Journal of plant physiology, **2012**, 169(14), 1366-1374.
- 538 42. Kong, L.; Wang, F.; Si, J.; Feng, B.; Zhang, B.; Li, S.; Wang, Z. Increasing in ROS
539 levels and callose deposition in peduncle vascular bundles of wheat (*Triticum aestivum* L.)
540 grown under nitrogen deficiency. Journal of Plant Interactions, **2013**, 8(2), 109-116.
- 541 43. Shin, R.; Berg, R. H.; Schachtman, D. P. Reactive oxygen species and root hairs in
542 *Arabidopsis* root response to nitrogen, phosphorus and potassium deficiency. Plant and
543 Cell Physiology, **2005**, 46(8), 1350-1357.
- 544 44. Zhang, X.; Liu, C. J. Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine
545 ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. Molecular plant, **2015**, 8(1), 17-
546 27.
- 547 45. Vissotto, L. C.; Rodrigues, E.; Chisté, R. C.; Benassi, M. D. T.; Mercadante, A. Z.
548 Correlation, by multivariate statistical analysis, between the scavenging capacity against
549 reactive oxygen species and the bioactive compounds from frozen fruit pulps. Food
550 Science and Technology (Campinas), **2013**; 33, 57-65.
- 551 46. DRIS - Sistema Integrado de Diagnose e Recomendação. <http://www.dris.com.br/>.
552 2016.

47. Armengaud, P.; Sulpice, R.; Miller, A. J.; Stitt, M.; Amtmann, A.; Gibon, Y. Multilevel analysis of primary metabolism provides new insights into the role of potassium nutrition for glycolysis and nitrogen assimilation in *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol.* **2009**, 150(2), 772-785.

FIGURE CAPTIONS

Figure 1. Surface response of the combined effect of nitrogen (N) and potassium (K) fertilization on the H₂O₂ content in the pulp (A), and individual effect of N in the core (B) of infructescences of the ‘Pérola’ pineapple. *Significant at 5%. **Significant at 1%.

Figure 2. Individual effect of nitrogen on the activity of ascorbic acid peroxidase (APX) in the core (B), and response surface for the combined effect of nitrogen (N) and potassium (K) on the APX (A), peroxidase (POD) (C), and catalase (CAT) (C) in the pulp of infructescences of the ‘Pérola’ pineapple. *Significant at 5%. **Significant at 1%.

Figure 3. Individual effect of nitrogen on the ascorbic acid content (AA) in the core (A), response surface for the combined effect of nitrogen (N) and potassium (K) on ascorbic acid content in the core (B), and total extractable polyphenols (TEP) in the pulp (C) and core (D) of infructescences of the ‘Pérola’ pineapple. *Significant at 5%. **Significant at 1%.

Figure 4. Surface response for the combined effect of nitrogen (N) and potassium (K) on the total antioxidant activity in the pulp (A) and core (B) of infructescences of the ‘Pérola’ pineapple. *Significant at 5%. **Significant at 1%.

Figure 5. Biplots based on loading values of variables and score for treatments of the first three principal components: (A) PC1 and PC2, (B) PC2 and PC3, and (C) PC1 and PC3. Treatments (1-10) correspond to combinations of urea and KCl (g per plant) applied as follows, respectively T1 = 3.2:1.78, T2 = 3.2: 4.15, T3 = 7.47:1.78, T4 = 7.47:4.15, T5 =

578 5.33: 2.97, T6 = 0.53: 1.78, T7 = 10.13: 4.15, T8 = 3.2:0.3, T9 = 7.47: 5.64, and T10 =
579 0.53:0.30.

580 **Figure 6.** Hierarchical clustering sequence detailing the N (urea) and K (KCl)
581 combinations in the fertilization of 'Pérola' pineapple, and color map showing the relative
582 effect of groups on the antioxidant metabolism.

583

TABLES

Table 1. Nitrogen (N) and potassium (K) fertilization using combinations of urea and potassium chloride (KCl) sources organized according to the Plan Puebla III matrix applied on the soil top and split in three applications during the cultivation of ‘Pérola’ pineapple.

Treatments	Levels		Urea	KCl	N:K
	N	K	(g. plant ⁻¹)		
1	-0.4	-0.4	3.20	1.78	1.80
2	-0.4	0.4	3.20	4.15	0.77
3	0.4	-0.4	7.47	1.78	4.20
4	0.4	0.4	7.47	4.15	1.80
5	0.0	0.0	5.33	2.97	1.79
6	-0.9	-0.4	0.53	1.78	0.30
7	0.9	0.4	10.13	4.15	2.44
8	-0.4	-0.9	3.20	0.30	10.67
9	0.4	0.9	7.47	5.64	1.32
10	-0.9	-0.9	0.53	0.30	1.77

Table 2. Effect of nitrogen and potassium combinations on the peroxidase activity (POD) in the core, and superoxide dismutase (SOD) in both pulp and core of the infructescences of ‘Pérola’ pineapple.

Treatments	Urea (g.plant ⁻¹)	KCl (g.plant ⁻¹)	N:K	SOD pulp (U.mg ⁻¹ protein)	SOD core (U.mg ⁻¹ protein)	POD core (U.mg ⁻¹ protein)
1	3.2	1.78	1.80	189.17±11.53	277.89±10.01	7.59±1.11
2	3.2	4.15	0.77	60.75±1.85	230.08±11.68	11.39±0.84
3	7.47	1.78	4.20	86.56±6.13	270.59±11.94	9.89± 0.24
4	7.47	4.15	1.80	132.32±11.83	204.43±24.00	11.32± 0.56
5	5.33	2.97	1.79	276.11±24.08	181.23±25.99	3.90± 0.32
6	0.53	1.78	0.30	144.62±14.71	216.82±20.86	8.68± 0.19
7	10.13	4.15	2.44	152.34±20.26	188.85±7.49	7.37± 0.52
8	3.20	0.30	10.67	164.59±5.49	154.10±8.81	12.22± 0.45
9	7.47	5.64	1.32	207.67±2.19	194.58±16.71	6.57± 0.25
10	0.53	0.30	1.77	318.64±33.56	154.28±11.19	6.61± 0.73

Means ± standard error; n=3.

Table 3. Eigenvectors of three principal components (CP1, CP2, and CP3) of variables related to the non-enzymatic and enzymatic antioxidant metabolism, and H₂O₂ content in the pulp and core of infructescences of the ‘Pérola’ pineapple fertilized with nitrogen and potassium combinations.

Variables	CP 1 (44.00%)	CP 2 (15.85%)	CP 3 (13.05%)
AA pulp	0.194	0.067	0.320
AA core	-0.188	-0.125	<u>-0.561</u>
TEP pulp	0.212	<u>0.296</u>	-0.278
TEP core	<u>0.251</u>	0.161	-0.258
TAA pulp	<u>-0.340</u>	0.071	-0.137
TAA core	-0.227	<u>-0.261</u>	0.096
APX pulp	<u>0.341</u>	-0.097	0.034
APX core	-0.149	<u>0.365</u>	0.108
CAT pulp	<u>-0.348</u>	0.141	-0.180
SOD pulp	<u>0.348</u>	-0.086	-0.229
SOD core	-0.143	<u>-0.260</u>	<u>0.499</u>
POD pulp	<u>0.348</u>	-0.145	0.036
POD core	<u>-0.311</u>	<u>0.294</u>	0.095
H ₂ O ₂ pulp	0.163	<u>0.327</u>	0.187
H ₂ O ₂ core	-0.075	<u>-0.584</u>	-0.142

AA = ascorbic acid; TEP = total extractable polyphenols; TAA = total antioxidant activity;

APX = ascorbic acid peroxidase; CAT = catalase; SOD = superoxide dismutase; POD =

peroxidase; H₂O₂ = hydrogen peroxide.

FIGURE GRAPHICS

Figure 1.

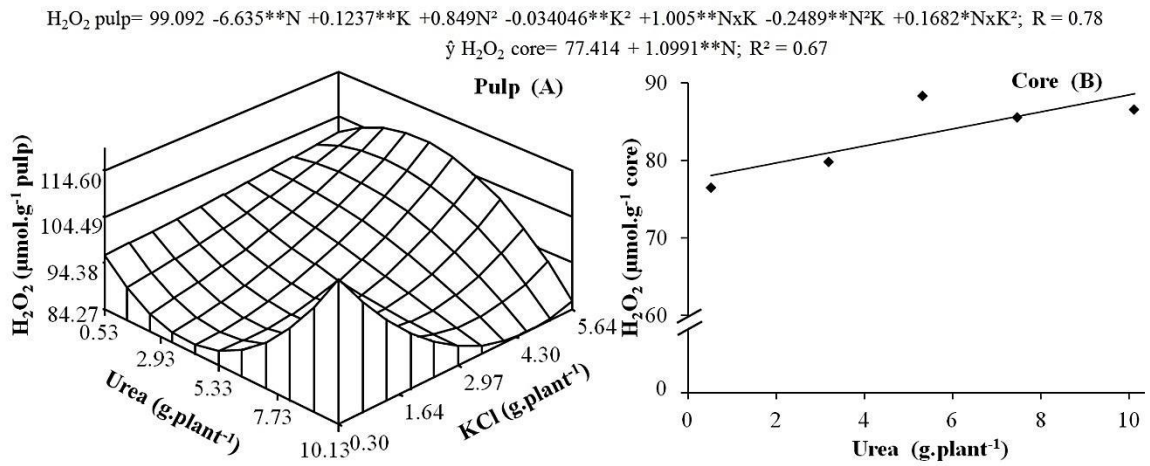
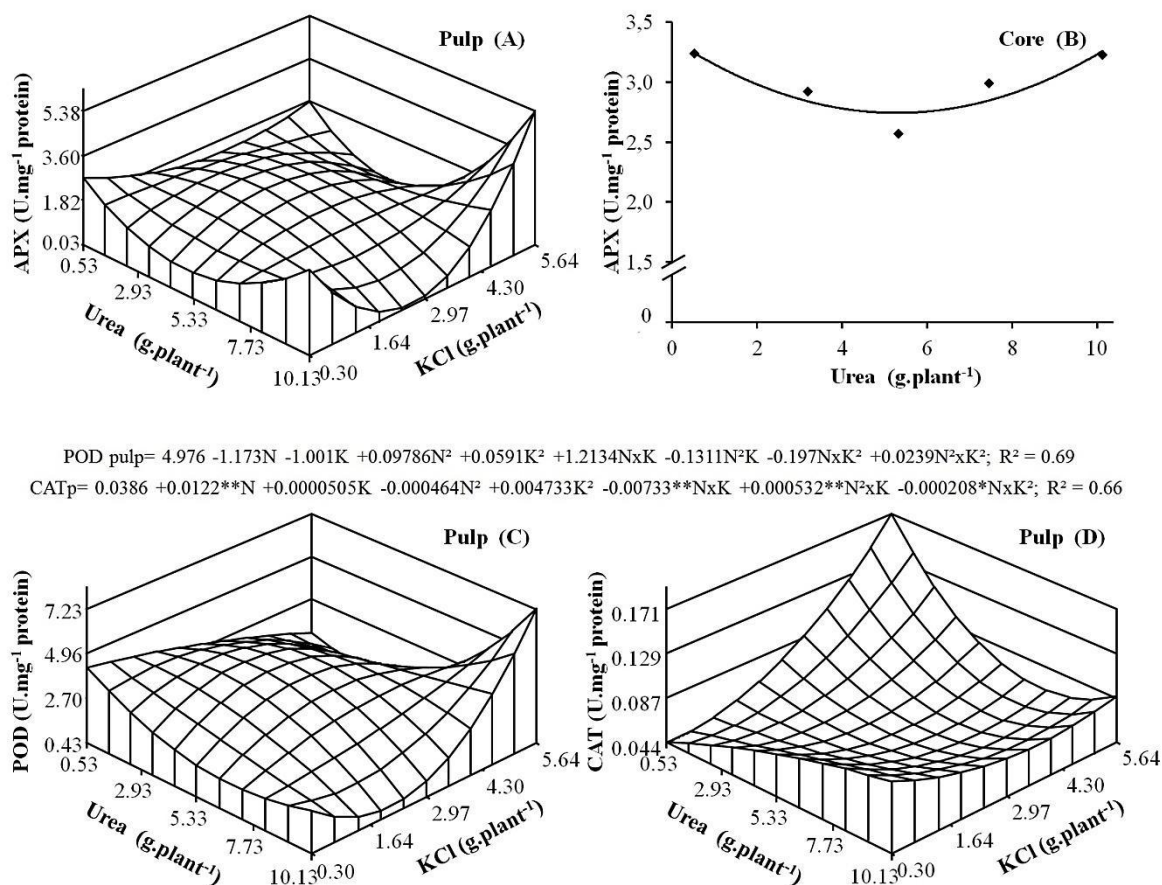


Figure 2.

$$\text{APX pulp} = 3.583 - 1.200^{**}N - 1.522K + 0.1246N^2 + 0.232K^2 + 1.221^{**}NxK - 0.136^{**}N^2xK - 0.216NxK^2 + 0.02477^{**}N^2K^2; R^2 = 0.70$$

$$\hat{y} \text{ APX core} = 3.36 - 0.2329N + 0.022^{**}N^2; R^2 = 0.81$$



$$\text{POD pulp} = 4.976 - 1.173N - 1.001K + 0.09786N^2 + 0.0591K^2 + 1.2134NxK - 0.1311N^2K - 0.197NxK^2 + 0.0239N^2xK^2; R^2 = 0.69$$

$$\text{CATp} = 0.0386 + 0.0122^{**}N + 0.0000505K - 0.000464N^2 + 0.004733K^2 - 0.00733^{**}NxK + 0.000532^{**}N^2xK - 0.000208^{*}NxK^2; R^2 = 0.66$$

Figure 3.

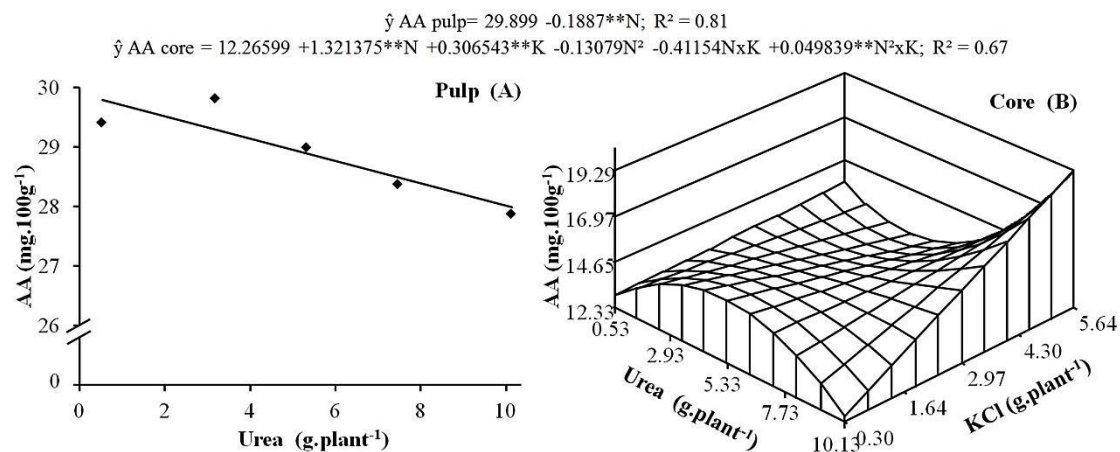
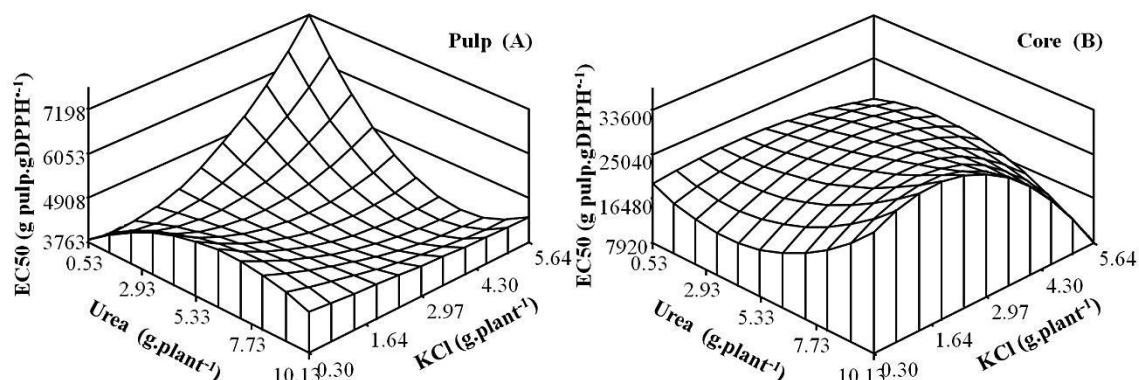
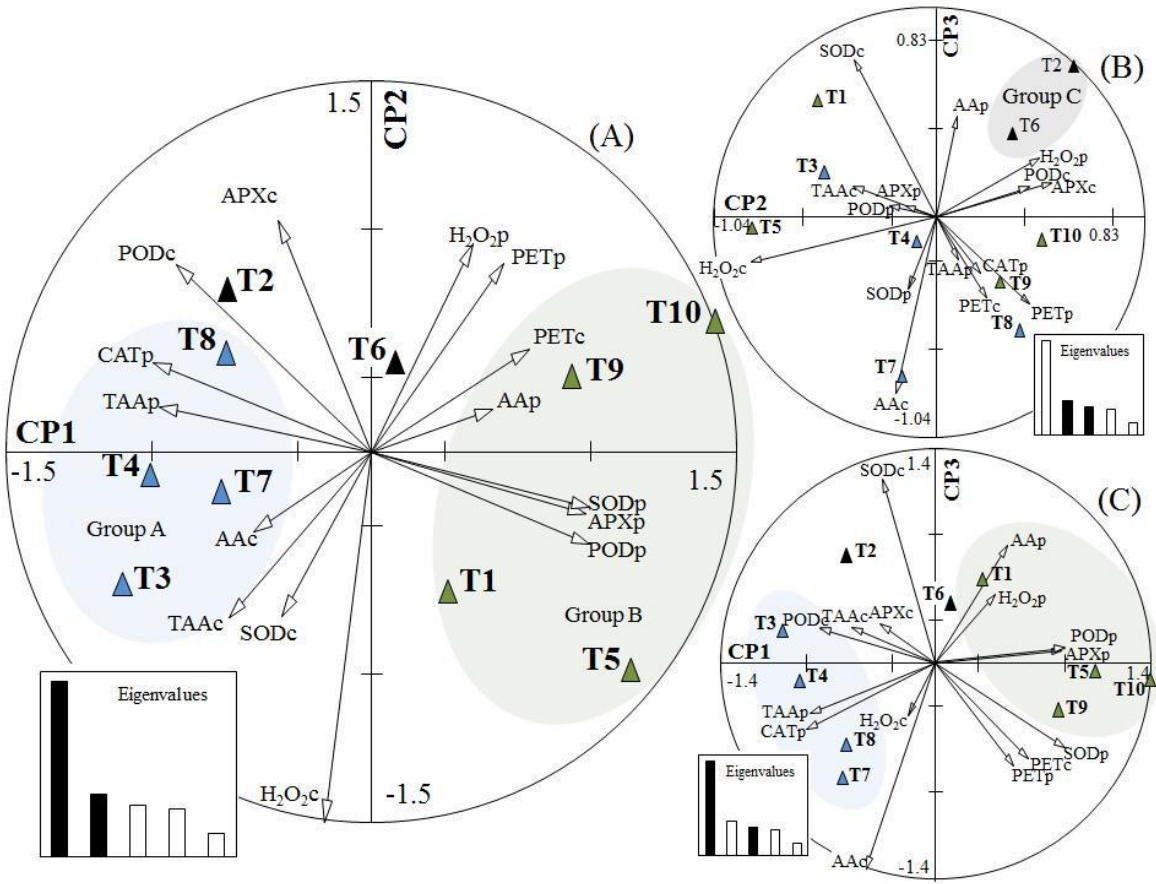


Figure 4.

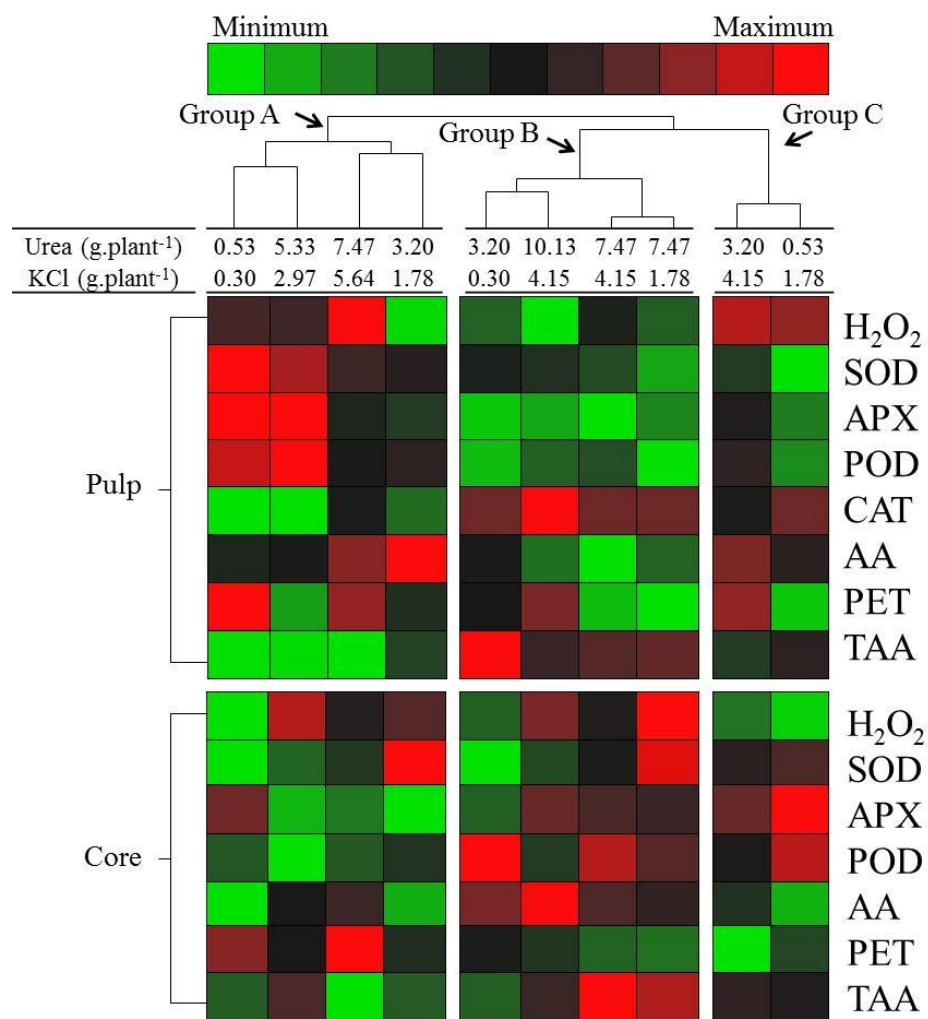
EC_{50} pulp = 3638.0127 + 549.2390**N - 217.5980**K - 42.7954**N² + 167.7769K² - 199.7346**NxK + 20.657**N²xK - 15.692**NxK²; $R^2 = 0.63$
 EC_{50} core = 20513.164 - 3030.334**N + 560.648**K + 377.398N² - 243.127**K² + 1656.319NxK - 111.751**N²xK - 142.772**NxK²; $R^2 = 0.76$



618 **Figure 5.**



621 **Figure 6.**



CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que este trabalho foi realizado, a combinação de 7,47 g de ureia com 4,15 g de KCl por planta no cultivo do abacaxizeiro ‘Pérola’ favorece a qualidade das infrutescências, mantendo baixos os níveis de translucidez e elevados valores de luminosidade (L^*) da polpa, conteúdos de flavanoides amarelos, dos açúcares redutores e das proteínas solúveis na polpa e no eixo central.

O processamento de imagens digitais permitiu não somente a avaliação da severidade da translucidez nas fatias de abacaxi ‘Pérola’ como demonstrou ser uma ferramenta importante na caracterização das mudanças na coloração da polpa associadas a este fenômeno, através da intensidade dos valores de *Blue* nas imagens das fatias.

Doses baixas de N e K, assim como o excesso destes nutrientes isoladamente, elevaram o conteúdo de H_2O_2 e, conseqüentemente, a atividade de enzimas antioxidantes. A atividade da catalase aumentou principalmente quando K estava elevado e N reduzido, enquanto a superóxido dismutase, ácido ascórbico peroxidase e peroxidase aumentaram quando ambos estavam baixos ou muito elevados. Nesta condição, o conteúdo de ácido ascórbico e polifenóis extraíveis totais também foram elevados e proporcionaram maior atividade antioxidante total.

A combinação de 5,33 g de ureia com 2,97 g de KCl por planta, na adubação do abacaxi ‘Pérola’, promoveu um equilíbrio entre o metabolismo antioxidante e os níveis de H_2O_2 na polpa e eixo central das infrutescências. Adicionalmente, uma análise de componentes principais revelou que as relações N/K são tão importantes quanto as concentrações absolutas destes nutrientes na otimização do metabolismo antioxidante e, portanto, estes nutrientes não devem ser considerados isoladamente.