



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**

**ALINE PRISCILLA GOMES DA SILVA**

**MODIFICAÇÃO NA PAREDE CELULAR E NAS ENZIMAS OXIDATIVAS  
DURANTE A MATURAÇÃO DE FRUTOS DE GOIABEIRA 'PALUMA'  
SUBMETIDAS À ADUBAÇÃO POTÁSSICA**

**JOÃO PESSOA - PB  
2014**

**ALINE PRISCILLA GOMES DA SILVA**

**MODIFICAÇÃO NA PAREDE CELULAR E NAS ENZIMAS OXIDATIVAS  
DURANTE A MATURAÇÃO DE FRUTOS DE GOIABEIRA ‘PALUMA’  
SUBMETIDAS À ADUBAÇÃO POTÁSSICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**Orientadora Prof.<sup>a</sup> Silvanda de Melo Silva, Ph.D.**

**JOÃO PESSOA – PB**

**2014**

## FICHA CATALOGRÁFICA

S586m Silva, Aline Priscilla Gomes da.

*Modificação na parede celular e nas enzimas oxidativas durante a maturação de frutos de goiabeira "Paluma" submetidas à adubação potássica / Aline Priscilla Gomes da Silva.-- João Pessoa, 2013.*

102f. : il.

Orientadora: Silvanda de Melo Silva

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CT

1. Tecnologia de alimentos. 2. Pectina total. 3. Estádios de maturação. 4. Pectina metilesterase. 5. Poligalacturonase.

UFPB/BC

CDU: 664(043)

ALINE PRISCILLA GOMES DA SILVA

MODIFICAÇÃO NA PAREDE CELULAR E NAS ENZIMAS OXIDATIVAS  
DURANTE A MATURAÇÃO DE FRUTOS DE GOIABEIRA 'PALUMA'  
SUBMETIDAS À ADUBAÇÃO POTÁSSICA

Dissertação APROVADA em 17/01/2014.

BANCA EXAMINADORA

Silvanda de Melo Silva

Prof.<sup>a</sup> Silvanda de Melo Silva, Ph.D. – PPGCTA/CT/UFPB  
Coordenador da Banca Examinadora

Maria Auxiliadora Coelho de Lima

Pesq. Dra. Maria Auxiliadora Coelho de Lima – Embrapa Semiárido  
(CPATSA)

Examinador Externo

Rejane Maria Nunes Mendonça

Prof.<sup>a</sup> Dr. Rejane Maria Nunes Mendonça – DFCA/CCA/UFPB

Examinador Externo

Flávio Pereira de Oliveira

Prof. Dr. Flávio Pereira de Oliveira – DSER/CCA/UFPB

Examinador Externo

## DEDICATÓRIA

À minha filha Ayxa, pela oportunidade de me fazer desfrutar de algo tão lindo de que é o amor maternal. Por trazer mais alegria, felicidade e luz para todos os dias e me preencher de um amor sem igual. Você é a parte mais importante da minha vida. Amo-te.

“Você é linda demais

Perfeita aos olhos do Pai

Alguém igual a você não vi jamais

Princesa linda demais

Perfeita aos olhos do Pai

Alguém igual a você não vi jamais

Princesa, aos olhos do Pai”

Você é uma obra-prima que Deus desenhou!

## AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por me guiar em todos os meus passos.

Aos meus pais, Maria da Luz e Luis, por todo o amor a mim direcionado. Pelos ensinamentos transmitidos e por ter acreditado em mim em todos os momentos. Tudo é nosso. Sou o que sou por causa de vocês. Vocês sempre estarão eternizados no meu coração.

À minha filha Ayxa. Pelo amor puro e por trazer a minha vida uma rotina constante de alegria.

Aos meus irmãos, Immy e Bruno, pois é através de vocês que faço a ligação do passado com o presente da forma mais pura e complexa.

Ao José Maurício, pela paciência, carinho, dedicação e muito amor.

À minha orientadora, professora Silvanda, pelos ensinamentos e pela amizade. Agradeço pela contribuição na minha vida acadêmica e na vida pessoal. Lembrarei de todas as nossas conversas com enorme carinho.

Aos professores da banca, Maria Auxiliadora, Luciana Cordeiro, Rejane Mendonça e Flávio Oliveira pela contribuição nesse trabalho.

Agradeço de forma especial a equipe do laboratório de biologia e tecnologia pós-colheita e a equipe do Laboratório de tecnologia de produtos agropecuários. Muito sucesso para cada um de vocês.

Aos meus amigos, Paulo Alexandre, Amanda Kelly, Ana Isaura e Luiz Cláudio. Vocês foram muito importantes nesse processo de transição. Sempre estarão no meu coração.

Aos professores, Márcia Targino e José Barbosa pelas conversas e ensinamentos.

Por fim, agradeço a todos que torceram por mim de alguma maneira.

Do fundo do meu coração...

*Muito obrigada.*

## RESUMO

SILVA, A.P.G. da. **Modificação na parede celular e nas enzimas oxidativas durante a maturação de frutos de goiabeira ‘Paluma’ submetidas a adubação potássica.** 2014. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. Orientadora: Profa. Silvanda de Melo Silva, Ph.D.

Como um elemento essencial no metabolismo vegetal, o potássio tem importante papel como ativador ou como cofator de muitas enzimas, atuando em vários processos metabólicos. O fornecimento de potássio (K) via adubação pode induzir vários processos, dentre eles os relacionados à qualidade dos frutos. Por isso, o K é conhecido como o “elemento da qualidade”. Diante disso, avaliou-se goiabas da cultivar Paluma, submetidas a três doses de K, em três estádios de maturação, com o objetivo de determinar sua influência sobre a porcentagem de solubilização de substâncias pécticas, a atividade de enzimas parede celular e do metabolismo oxidativo. Três doses de K por plantas foram aplicadas: 50 g de  $K_2O$ ; 100 g de  $K_2O$  e 150 g de  $K_2O$ , fixando-se as doses de N e P de 150 g e 140 g, respectivamente. As avaliações foram feitas no endocarpo dos frutos. A classificação dos três estádios foi estabelecida de acordo com a coloração da casca. As variáveis analisadas foram: pectina total (PT), pectina solúvel (PS), pectina insolúvel (PI) e percentual de solubilização de substâncias pécticas (%Sol), atividade das enzimas pectinametilesterase (PME), poligalacturonase (PG) e da polifenoloxidase (POP), peroxidase (POD). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 3 x 3 (dose de K x estágio de maturação), sendo as repetições compostas por três plantas e utilizando-se 36 frutos de cada planta. A dose de 100 g de  $K.planta^{-1}$  resultou em maiores valores de PT, PI, menor atividade da PME, PG e menor atividade de enzimas oxidativas, tanto para a PPO como para a POD, refletindo na maior estabilidade da parede celular e possivelmente na maior vida útil pós-colheita do fruto.

Palavras-chave: Pectina total, estádios de maturação, pectina metilesterase, poligalacturonase, polifenoloxidase, peroxidase.

## ABSTRACT

SILVA, A.P.G. da. **Changes in cell wall and oxidative enzymes during maturation of 'Paluma' guava fruits grown under potassium fertilization.** 2014. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil. Advisor: Prof. Silvanda de Melo Silva, Ph.D.

As an essential element for plant metabolism, potassium has important role as an activator or as cofactor of many enzymes, acting in several metabolic processes. The supply of potassium (K) fertilization can induce several processes, including those related to fruit quality. Thus, K is known as the "quality element". Therefore, it was evaluated the Paluma guava cultivar, subjected to three doses of K in three maturity stages, with the objective of determining its influency on the contents of total and soluble pectins, percentage of pectin's solubilization, the activity of the enzymes of the cell wall and oxidative metabolism. Three doses of K per plants were applied: 50 g de K<sub>2</sub>O; 100 g de K<sub>2</sub>O e 150 g de K<sub>2</sub>O, fixing the doses of N and P of 150 g and 140 g per plant, respectively. The evaluations were performed in the endocarp of the fruits. The classification of the three maturity stages was established according to the skin color. The variables evaluated were: total pectin (TP), soluble pectin (SP), insoluble pectin (IP), and percentage of solubilization of pectic substances (% Sol), activity of the enzymes pectin methylesterase (PME), polygalacturonase (PG), polyphenoloxidase (PPO), peroxidase (POD). The experimental design was the completely randomized in a 3 x 3 factorial scheme (doses of K x maturity stage), with the replication of three plants and 36 fruits from each plant. The dose of 100 g K plant<sup>-1</sup> resulted in higher values of TP, IP, lower activities of PME, PG, and lowed activities of oxidative enzymes for both PPO and POD, reflecting on the greater stability of the cell wall and possibly on longer postharvest life of the fruit.

**Keywords:** Total pectin, maturity stages, total pectin, pectin methylesterase, polygalacturonase, polyphenoloxidase, peroxidase.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação dos eventos de despolimerização dos poliuronídeos e xiloglucanas da parede celular. Triângulos pretos representam a atuação das enzimas sobre as xiloglucanas e celulose e triângulos claros a atuação das hidrolases sobre os polissacarídeos pécticos.....	7
<b>Figura 2.</b> Modo de ação enzimática das pectinases em uma molécula de pectina.....	10
<b>Figura 3.</b> Estrutura da parede celular primária.....	12
<b>Figura 4.</b> Modo de ação das enzimas PME e PG no amadurecimento dos frutos.....	13
<b>Figura 5.</b> Mecanismo geral de reação da POP.....	16
<b>Figura 6.</b> Ação da POD sobre compostos fenólicos.....	17

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Classificação das enzimas pécnicas.....	11
--	----

### Artigo 1

<b>Tabela 2.</b> Pectina Total – PT (%), Pectina Insolúvel – PI (%) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K <sub>2</sub> O.....	36
--	----

<b>Tabela 3.</b> Pectina Solúvel – PS (%) e Porcentagem de pectinas (%Pec.) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K <sub>2</sub> O.....	38
--	----

<b>Tabela 4.</b> Coeficientes de correlação para as frações de pectina total, solúvel e insolúvel e Porcentagem de pectinas (%Pec.) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K <sub>2</sub> O.....	39
--	----

<b>Tabela 5.</b> Atividades da Pectinametilesterase – PME (mU/g de polpa) e Poligalacturonase – PG (U.g <sup>-1</sup> peso fresco - UAE) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K <sub>2</sub> O.....	40
---	----

<b>Tabela 6.</b> Atividade da enzima Polifenoloxidase – PPO (UAE.g <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> ) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K <sub>2</sub> O.....	42
--	----

<b>Tabela 7.</b> Atividade da peroxidase (POD) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K <sub>2</sub> O.....	42
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PPO - Polifenoloxidase

POD - Peroxidase

PME - Pectinametilesterase

PG - Poligalacturonase

PT - Pectina Total

PS - Pectina Solúvel

Pec (%) - Porcentagem de pectinas

PI - Pectina Insolúvel

N - Nitrogênio

P - Potássio

K - Fósforo

mg - Miligrama

g - Grama

Kg - Kilograma

K<sub>2</sub>O - Óxido de Potássio

Ca - Cálcio

Mg - Magnésio

S - Enxofre

Cu - Cobre

Fe - Ferro

Mn - Manganês

B - Boro

Zn - Zinco

DIC - Delineamento Inteiramente Casualizado

cv - Cultivar

IUPAC-IUB - International Union of Pure and Applied Chemistry - Combined commission on biochemical nomenclature

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	I
<b>ABSTRACT</b>	II
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	III
<b>LISTA DE TABELAS</b>	IV
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	V
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	1
<b>1.1 OBJETIVOS</b>	3
1.1.1 OBJETIVO GERAL	3
1.1.2 OBJETIVO ESPECIFICO	3
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	4
2.1 A CULTURA DA GOIABEIRA	4
2.2 MODIFICAÇÕES DURANTE O AMADURECIMENTO	6
2.3 SUBSTÂNCIAS PECTICAS	8
2.4 ENZIMAS DA PAREDE CELULAR	13
2.5 ENZIMAS DE OXIDAÇÃO DE COMPOSTOS FENOLICOS	15
2.6 NUTRIÇÃO MINERAL	17
<b>REFERÊNCIAS</b>	26
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	29
3.1 Artigo 1	29
<b>4 CONCLUSÕES</b>	49
<b>ANEXOS</b>	50

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas com uma produção de aproximadamente 42 milhões de toneladas ao ano, superado apenas pela China e Índia (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2012). O Nordeste Brasileiro destaca-se na produção de goiabas, sendo a segunda maior produtora do País, com uma produção de 130.474 t em 2010, ficando atrás apenas da região Sudeste que produziu 133.616 t. Na região Nordeste, os estados de Pernambuco, Bahia, Ceará, Sergipe e Paraíba foram os maiores produtores, com 90.496; 14.217; 9.031; 4.446 e 4.196 t, respectivamente (IBGE, 2012).

A goiabeira encontra-se distribuídas nas regiões tropicais e sub-tropicais do mundo, em virtude da adaptação a diferentes climas e da fácil propagação por sementes, da disponibilidade anual de frutos, da riqueza nutricional e valor medicinal, da adequação para transporte, manipulação e preferência do consumidor (NIMISHA et al., 2013).

A cultivar 'Paluma' é umas das cultivares mais produzidas no país. Frequentemente, seu fruto é valorizado no comércio como "super fruta" por ser rico em vitaminas (A, E, e C), em ácidos graxos (ômega -3, ômega-6 poliinsaturado) e especialmente em fibra dietética. Contém também carotenóides e polifenóis, sendo considerado uma alta fonte de pigmentos antioxidantes (SINGH, 2005).

O amadurecimento da goiaba envolve alterações na cor, sabor e textura, tornando-as mais aceitáveis para consumo (JAIN et al., 2003). Especificamente, a perda progressiva de firmeza ou amolecimento do fruto é uma consequência da decomposição dos componentes da parede celular (BU et al., 2013), envolvendo desagregação de polímeros da parede celular, tais como celulose, hemicelulose e pectina (PAYASI et al., 2009).

A celulose combinada com a pectina e hemicelulose compõem a parede celular primária dos frutos (PIRRELLO et al., 2009). Uma característica comum entre frutos durante o amadurecimento é o incremento na atividade enzimática degradativa da parede celular, responsáveis pelo amaciamento. Diferentes complexos enzimáticos atuam nas paredes celulares dos tecidos vegetais, tanto na fase de desenvolvimento como de amadurecimento, causando modificações nas propriedades texturais. Várias enzimas catalisam diferentes aspectos da degradação de pectina, as principais encontradas nos frutos são a pectinametilesterase (PME), poligalacturonase (PG) do tipo endo (EC 3.2.1.15) e tipo exo (CE 3.2.1.67) e  $\beta$ -galactosidase (EC 3.2.1.23) (ABU; BASHIR, 2003; BRUMMEL; HARPSTER, 2001). A degradação da parede celular é processo regulado no amadurecimento. Portanto, o mecanismo de deterioração deste revestimento da célula do fruto e perda de

estrutura dos seus polímeros durante o amadurecimento podem provavelmente ser semelhantes ao caracterizado para a maioria dos sistemas senescentes que envolve a acumulação de espécies reativas de oxigênio, os ROS (MONDAL et al., 2009). No contexto da evolução do amadurecimento, as enzimas relacionadas ao processo oxidativo, como a peroxidase e polifenoloxidase estão envolvidas no metabolismo dos compostos fenólicos e, por conseguinte, no escurecimento oxidativo dos frutos e hortaliças (CLEMENTE; PASTORE, 1998). Assim, a evolução destes processos está relacionado ao manejo da frutífera e, sobretudo, à nutrição mineral a que a cultura é submetida (MARSCHNER, 1995).

A produtividade e a qualidade dos frutos de um pomar resultam da interação de vários fatores, destacando-se o potencial genético e o ambiente (manejo do solo, dos nutrientes, balanço de água, entre outros). O aspecto nutricional é particularmente importante para os frutos, visto a influência que os elementos minerais exercem sobre sua qualidade. Dessa forma e considerando que inexistem trabalhos com a cultivar ‘Paluma’ no Estado da Paraíba, esse estudo vem a suprir a necessidade de informações sobre a atuação da nutrição mineral no metabolismo desse fruto.

Como um elemento essencial para todos os organismos vivos, o potássio (K) é um dos nutrientes mais requeridos pela goiabeira (FRANCO et al., 2007). É de suma importância, em vários processos metabólicos e qualitativos, sendo reconhecido como um “elemento de qualidade”. O K atua como ativador ou co-enzimas de muitas enzimas, ânion neutralizador, mecanismo celular de turgescência, transporte de hidratos de carbono e é reconhecido como determinante na qualidade do fruto (BUSSAKORN et al., 2003; BRITO et al., 2005). Promovendo, pelo transporte de assimilados, um aumento de peso do fruto, intensificação do sabor e aroma, assim como aumenta a capacidade de armazenamento (LIMA et al., 2008).

A produtividade vegetal é aumentada pelo manejo apropriado da cultura, sobretudo no que se refere à nutrição mineral. Por sua vez, em goiaba, a manutenção da estrutura da polpa é fundamental para o mercado. Assim, estudos sobre a interação da nutrição mineral com a atividade de enzimas associadas à degradação da parede celular, do endocarpo em frutos de goiabeira, podem contribuir para uma maior compreensão e controle da rápida perda de firmeza da goiaba, propiciando a adoção de tecnologias que prolonguem a vida útil pós-colheita da fruta.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar as modificações na parede celular e nas enzimas da oxidação de compostos fenólicos na polpa de frutos da goiabeira ‘Paluma’ submetidos a diferentes doses de potássio, com frutos colhidos em três estádios de maturação.

### **1.1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

- Avaliar as alterações dos conteúdos de substâncias pécticas em polpas de frutos da goiabeira ‘Paluma’ colhidos em três estádios de maturação, submetidas a três diferentes doses de potássio;
- Quantificar os teores de pectina total, pectina solúvel e pectina insolúvel, através do método de extração por etanol, em polpas de frutos da goiabeira ‘Paluma’ colhidos em três estádios de maturação, submetidas a três diferentes doses de potássio;
- Determinar a atividade das enzimas da parede celular, pectinametilesterase e poligalacturonase, em polpas de frutos da goiabeira ‘Paluma’ colhidos em três estádios de maturação, submetidas a três diferentes doses de potássio;
- Avaliar o comportamento da solubilização de pectinas de polpas de goiabas ‘Paluma’, colhidos em três estádios de maturação, submetidas a três diferentes doses de potássio;
- Avaliar a atividade das enzimas de oxidação de compostos fenólicos, polifenoloxidase e peroxidase, em frutos colhidos em três estádios de maturação, submetidas a três diferentes doses de potássio.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A CULTURA DA GOIABEIRA

A goiabeira (*Psidium guajava* L.), pertence à família Myrtaceae, cuja região de origem provavelmente está entre o sul do México e a América do Sul. A família é composta por cerca de 150 gêneros e mais de 5.650 espécies, sendo de 110 a 130 espécies são naturais da América Tropical e Subtropical (GOVAERTS et al., 2008). A goiabeira é um arbusto de pequeno porte, que, em pomares adultos, pode atingir de três a seis metros de altura. As folhas são opostas e caem após a maturação. As flores são brancas e hermafroditas. Os frutos são bagas que apresentam tamanho, forma e coloração da polpa variável em função da cultivar (MARTIN, 1967).

Segundo Medina (1988), as variedades mais conhecidas de goiabeira no Brasil, embora exista um grande número de cultivares ou seleções locais, são: IAC, Pedra Branca, Rica, Paluma e Australiana. Piza Júnior e Kavati (1994) citaram outras cultivares com importância para determinadas regiões do Brasil, como: Kumagai (branca), Kumagai (vermelha), Ogawa nº1 (branca), Ogawa nº2 (vermelha), Ogawa nº3, Pedro Sato, Sassaoka ou Cascão, Vermelha Piriforme e a Shirayama. Em 2002 foi lançada a variedade século XXI (PEREIRA et al., 2002).

A importância econômica da cultura da goiabeira se dá em virtude das várias formas de aproveitamento de seu fruto. A goiaba é considerada pelos nutricionistas um dos frutos mais completos e equilibrados no que diz respeito ao valor nutritivo e, devido às suas qualidades sensoriais, é apreciada tanto na forma fresca como industrializada em forma de doces em pasta, compotas, geleias, sorvetes e sucos. Destaca-se em sua composição os teores de fibras, açúcares totais, potássio, vitamina A, vitamina C, podendo conter 2-5 vezes mais que a vitamina C oriunda da laranja, vitaminas do complexo B,  $\beta$ -caroteno, licopeno, niacina, riboflavina (CHOUDHURY et al., 2001; VIEIRA et al., 2008). É também uma boa fonte de cálcio, fósforo e ferro (SINGH, 2005). No entanto, estas características são dependentes de condições de cultivo e outros, como variedade, nutrição mineral, estágio de maturidade, e as condições climáticas durante o desenvolvimento dos frutos (CARDOSO et al., 2002).

A cultivar Paluma foi obtida através de um clone derivado da variedade Rubi x Supreme, a partir de sementes de polinização aberta, originada na FCAV/Unesp, em Jaboticabal-SP. O fruto possui massa variável de 140 a 250 g, comprimento de 8 a 10 cm e



diâmetro de 7 a 9 cm, forma ovóide com pescoço curto, polpa de coloração vermelho intenso, 1,3 a 2,0 cm de espessura do endocarpo, pequena porcentagem de sementes (5%) e bom rendimento de polpa (94%). Adicionalmente, o fruto apresenta consistência firme, sabor agradável e boa capacidade de conservação após a colheita. São adequados para produção de polpa e consumo fresco (NATALE; PRADO, 2006). Atualmente, cerca de 70% das goiabeiras cultivadas no Brasil, com o objetivo de produção de frutos para processamento são da cultivar Paluma (PEREIRA; KAVATI, 2011).

Cada mercado apresenta uma exigência específica, ou seja, o mercado de fruta fresca busca frutas de polpa vermelha, casca corrugada, predominantemente verde, com poucas sementes, aroma doce pouco acentuado, com amarelecimento lento e frutos grandes (média de 350 g). Para a indústria, a polpa pode ser branca ou vermelha, com poucas sementes, alto teor de sólidos solúveis (8 a 12%), pH (3,8 a 4,3) e acidez variando entre 0,35 a 0,63% de ácido cítrico, frutos não verdes e com maturação homogênea, sem exigências quanto ao tamanho (NATALE; PRADO, 2006).

O fruto da cultivar 'Paluma' é freqüentemente valorizado no comércio como "super fruta", por serem ricos em vitaminas A, E, e C, com sementes ricas em ácidos graxos ômega-3, ômega-6 poliinsaturado e especialmente fibra dietética. O fruto da goiabeira, quando comparado com a maçã, contém quatro vezes a quantidade de vitamina C, equiparando-se com a quantidade de um caju, que contém de 200 mg.100 g<sup>-1</sup>. A goiaba também apresenta conteúdos significativos de minerais como potássio e magnésio. Contém também carotenóides e polifenóis, sendo considerada uma alta fonte de pigmentos antioxidantes. Como estes pigmentos produzem a coloração dos frutos, a casca ou a polpa de goiabas que apresentam coloração vermelha ou amarela são potencialmente melhores fontes de antioxidantes (SINGH, 2005).

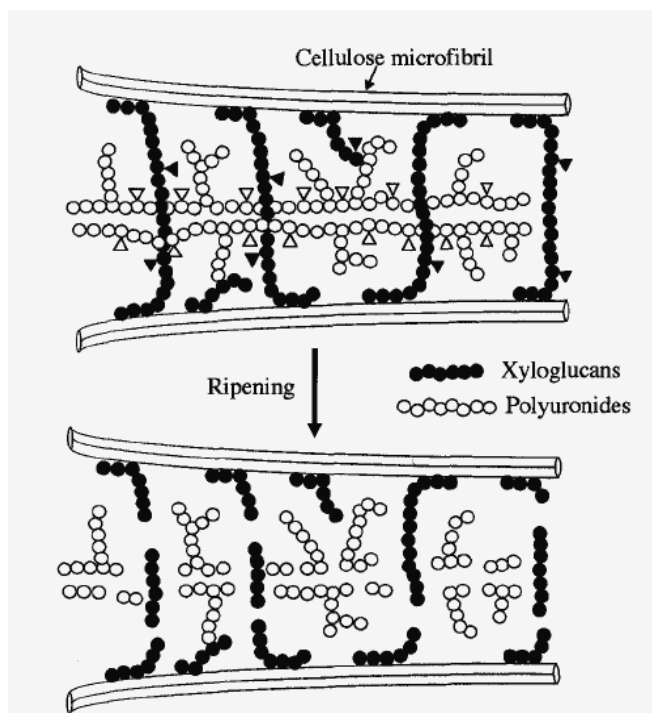
Para a região de São Manuel (SP), Souza et al. (2010) reportaram que a goiaba 'Paluma' apresentou valores médios de massa fresca de 129,02 g, com comprimento e diâmetro igual a 7,10 cm e 6,5 cm, respectivamente. Gouveia et al. (2004) quando avaliou frutos do Estado da Paraíba (na cidade de Itaporanga), encontraram valores de 161,77 g de massa média, com comprimento e diâmetro igual a 7,10 cm e 6,28 cm, respectivamente. Para as características físico-químicas os valores foram de 5,5% de sólidos solúveis, acidez de 0,8% de ácido cítrico e 3,9 de potencial hidrogeniônico.

## 2.2 MODIFICAÇÕES DURANTE O AMADURECIMENTO DOS FRUTOS

O amadurecimento consiste de um processo muito complexo, no qual vários fatores (externos e internos) são modificados na pós-colheita. Dentre esses, pode-se destacar a firmeza, porque é considerada um dos principais atributos que garantem a qualidade e a aceitabilidade de frutos frescos. Os estudos dos eventos moleculares, responsáveis pelas maiores mudanças nos frutos durante a maturação, demonstram que a firmeza pode exercer um efeito cooperativo sobre outros atributos sensoriais como: aroma, cor e sabor. Pode ainda influenciar a aceitabilidade, a vida útil pós-colheita, a capacidade de transporte, a resistência ao cisalhamento e ao ataque por insetos, bactérias e fungos (MANRIQUE; LAJOLO, 2004). Esse processo bioquímico complexo está relacionado com a ação de várias enzimas que modificam os componentes da parede celular (SPILER, 2012). Durante o crescimento do fruto, as células do mesmo resistem a fortes pressões e requerem manutenção da força da parede celular, além de um controle do afrouxamento da mesma e uma contínua integração de novos componentes estruturais polímeros à parede. Durante o amadurecimento, a degradação da arquitetura da parede celular é associada a degradação de seus polissacarídeos e modificação das ligações entre os polímeros. Além disso, a pressão de turgor decresce devido ao acúmulo de solutos na parede celular e contribui para as mudanças texturais (PONCE et al., 2010).

Durante o amadurecimento, poliuronídeos solúveis em água sofrem um acréscimo, enquanto que pectinas insolúveis e covalentemente ligadas sofrem um decréscimo (RASTEGAR et al., 2012; SPILER, 2012). Estudos têm buscado elucidar os mecanismos responsáveis pelas mudanças na firmeza que ocorrem na pós-colheita. Acredita-se que estas alterações são consequências das modificações dos polissacarídeos da parede celular, principalmente nas pectinas e nas hemiceluloses. A pectina, durante o amadurecimento, sofre solubilização, despolimerização e desmetoxilação e assim como a celulose e a hemicelulose é susceptível a hidrólise química e/ou enzimática com subsequente produção de oligossacarídeos de diferentes tamanhos e composição (YASHODA et al., 2005). Os polissacarídeos pécticos são os principais constituintes da lamela média e sua degradação resulta no amaciamento da polpa que é um dos eventos mais evidentes durante o amadurecimento dos frutos. Alguns eventos de despolimerização acontecem durante o amadurecimento dos frutos. Na Figura 1, estão representados os eventos de despolimerização dos poliuronídeos e xiloglucanas da parede celular, indicando que o aumento da solubilidade

e despolimerização das pectinas é observado durante o amadurecimento da maioria dos frutos (MANRIQUE; LAJOLO, 2004).



**Figura 1.** Representação dos eventos de despolimerização dos poliuronídeos e xiloglucanas da parede celular. Triângulos pretos representam a atuação das enzimas sobre as xiloglucanas e celulose e triângulos claros a atuação das hidrolases sobre os polissacarídeos pectícos.

**Fonte:** WAKABAYASHI (2000). Legenda: Cellulose microfibril: microfibrilas de celulose; Ripening: amadurecimento; Xyloglucans: xiloglucanos; Polyuronides: poliuronídeos.

Mondal et al. (2008) documentaram que a goiaba é um fruto climatérico com o aumento na produção de etileno na maturação. No entanto, dentre as cultivares ocorre à mudança no seu comportamento com relação às concentrações de  $CO$  e  $O_2$  durante o amadurecimento, que é concomitante com um processo que ocorre ao final da maturação, o amadurecimento, dessa forma sendo considerado um fruto climatérico atípico. Mondal et al. (2009) reportaram aumento na atividade da POD para duas variedades de goiaba com o avanço da maturação e uma posterior queda dessa oxidação, devido ao acúmulo de hidroperóxidos lipídicos e de outras espécies reativas de oxigênio durante o amadurecimento dos frutos.

Inferese-se que o amadurecimento do fruto de goiaba é acompanhado por um aumento progressivo no estresse oxidativo/peroxidativa que induz sistema antioxidante, mas não até os estágios mais avançados de maturação. A diminuição no pós-climatérico em atividade das enzimas antioxidantes pode refletir na disfunção celular ou em organelas específicas alterando a síntese ou/e degradação em resposta a supressão da ação do etileno (ZHANG et al., 2013)

Jain et al. (2003) quando analisou as atividades das enzimas hidrolíticas durante o amadurecimento de goiabas da cv. Banarsi Surkha relatou que as mudanças de textura durante a maturação é um dos processos mais cruciais, pois afeta diretamente a vida útil das frutas. A hemicelulose, celulose e lignina diminuíram continuamente durante o amadurecimento e aumentou abruptamente na fase madura, enquanto teor de pectina diminuiu ao longo de maturação. Isto era verdade mesmo quando os dados foram expressos em base seca. A hemicelulose, celulose e lignina diminuíram para 1,01, 0,77, e 3,29%, respectivamente. A diminuição nos constituintes da parede celular é atribuída ao aumento nas atividades de enzimas de hidrólise da parede celular.

Ali et al. (2004) estudando as modificações nas atividades de pectinases e teores de pectina em diferentes frutas, observaram que na goiaba 'Kampuchea' não ocorreu redução do teor de pectina, mas na 'Beaumont' ocorreu alteração nesses teores. Entretanto, ao analisarem o padrão de amadurecimento dos frutos, concluíram que a perda de firmeza das frutas não ocorre apenas pela modificação da pectina da parede celular, mas também pela degradação de outros componentes, por exemplo, amido e celulose.

As pesquisas relacionadas ao amadurecimento na pós-colheita de goiaba são de suma importância para o conhecimento dos fenômenos relacionados à maturação, como firmeza dos frutos, a perda de massa e os fenômenos bioquímicos, sendo estudos importantes para a determinação da vida útil desses frutos.

## 2.3 SUBSTÂNCIAS PECTICAS

As substâncias pecticas (às vezes chamadas apenas pectinas) foram descobertas no século XVIII, dentro de tamarindo (*Tamarindus indica* L.), como "uma substância peculiar", mas um nome específico foi dado daquele momento até o século XIX, onde uma caracterização bruta revelou seu poder de gelificação. Como consequência foi sugerido a palavra "pectina", em referência à palavra grega "pektikos", que significa congelar, solidificar. As pectinas são compostas por pelo menos 17 tipos de monossacarídeos, dos quais d-galactose e L-arabinose são tipicamente mais abundante (VINCKEN et al., 2003). Nas

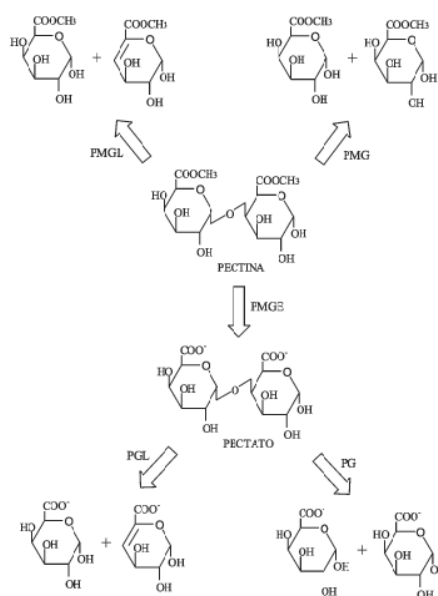
plantas, as pectinas são os principais componentes estruturais, cumprindo funções biológicas importantes, tais como a proteção das plantas contra murchamento e seca, o crescimento e o desenvolvimento de células e nas propriedades mecânicas e físicas da parede celular. Pectinas são extraídas de frutas (casca de frutas cítricas e de bagaço de maçã) e vegetais consumidos diariamente e fazem parte da fibra dietética, que pode ajudar a prevenir a ocorrência de doenças, tais como a diabetes e câncer (YAPO; KOFFI, 2008). Com relação a estruturação dos complexos das pectinas, acredita-se amplamente que três a quatro tipos de polímeros, como: homogalaturonano (HG), ramnogalacturonano-I (RG-I), ramnogalacturonano-II (RG-II) e/ou xylogalacturonan (XGA) são covalentemente ligadas entre si para formar complexos de pectina em muro, mas a forma como os vários blocos destes polissacarídeos pécticos são posicionados relativamente um ao outro é ainda matéria de controvérsia (YAPO, 2011).

As substâncias pécticas complexas neste contexto são definidas como:

Substâncias pécticas, que consistem em todos os materiais que contêm ácidos poligalacturônico em sua composição; Protopectina → consistem na forma natural da pectina, quando associada à celulose, hemicelulose e lignina. Essas substâncias são pouco solúveis em água, encontradas em tecidos de plantas em cujas substâncias pécticas solúveis são produzidas. Na presença de ácidos diluídos formam os ácidos pectínicos ou pécticos, de diferentes tamanhos moleculares e composição; Ácidos pécticos → são cadeias de ácidos galacturônicos totalmente livres de metoxilas e pouco solúveis em água. São os galacturonanos que contêm quantidades insignificantes de grupos metoxilo. São sais de ácido normais ou de ácido péctico que são chamados pectatos; Ácidos pectínicos → termo usado para designar ácidos poligalacturônicos que contém uma proporção insignificante de grupos metil éster. Estes são os galacturonanos com várias quantidades de grupos metoxilo. Pectinatos são os sais normais ou de ácidos pectínico. Ácido pectínico sozinho tem a única propriedade de formarem um gel com o açúcar e o ácido ou, se adequadamente com baixo teor de metilo, com certos outros compostos, tais como os sais de cálcio; Pectina → são ácidos pectínicos solúveis em água, com os grupos carboxilas do ácido galacturônico variavelmente esterificados com grupos metílicos. A pectina na forma nativa está localizada na parede celular e que podem ser transferidos automaticamente com outros polissacarídeos e proteínas estruturais para formar protopectina insolúvel (JAYANI et al., 2005).

As substâncias pécticas podem ser degradadas por enzimas pectinolíticas, produzidas em diferentes combinações pelas plantas e por microrganismos como fungos, leveduras e bactérias (SILVA et al., 2005). A classificação das enzimas pécticas está baseada no ataque ao

esqueleto galacturônico, pela preferência de substrato (pectina, ácido pécico ou protopectina), ação por transeliminação ou hidrólise e por clivagem randômica (enzima endo-, liquidificante ou despolimerizante) ou terminal (enzima exo- ou sacarificante) (SILVA et al., 2005). Existem basicamente três tipos de pectinases (Figura 2): pectina esterase (desesterificante ou desmetoxilante) remove os grupos metil éster; as despolimerizantes (incluem as enzimas hidrolíticas e as liases) catalisam a clivagem das ligações glicosídicas das substâncias pécicas e, as protopectinases que solubilizam protopectina para formar pectina.



**Figura 2.** Modo de ação enzimática das pectinases em uma molécula de pectina.

**Fonte:** UENOJO & PASTORE, (2007). Legenda: PMGL: polimetilgalacturonase liase. PMG: polimetilgalacturonase. PMGE: polimetilgalacturonase esterase (pectina esterase). PGL: poligalacturonase liase (pectato liase). PG: poligalacturonase.

Estas enzimas foram classificadas e nomeadas de acordo com a "Enzyme Comission" (EC), segundo as recomendações da IUPAC-IUB (JAYANI et al., 2005) (Tabela 1).

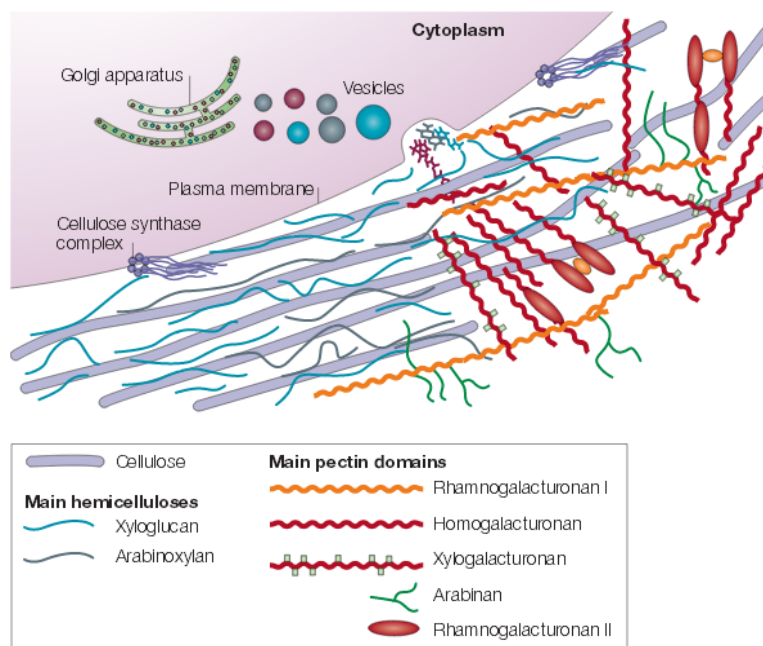
**Tabela 1.** Classificação das enzimas pécticas.

Tipo de pectinase	Nome sugerido pela EC	Sigla	Nome comum	Número EC
Desesterificante	polimetilgalacturonase esterase	PMGE	pectina esterase	3.1.1.11
Hidrolase	endo poligalacturonase 1	Endo-PG	poligalacturonase	3.2.1.15
	exo poligalacturonase 2	Exo-PG 2	poligalacturonase	3.2.1.82
	endo polimetilgalacturonase	Endo-PMG	pectina hidrolase	
	exo polimetilgalacturonase	Exo-PMG	pectina hidrolase	
Liase	endo poligalacturonase liase	Endo-PGL	pectato liase	4.2.2.2
	exo poligalacturonase liase	Exo-PGL	pectato liase	4.2.2.9
	endo polimetilgalacturonato liase	Endo-PMGL	pectina liase	4.2.2.10
	exo polimetilgalacturonato liase	Exo-PMGL	pectina liase	

Pectinases que atuam sobre oligogalacturonatos não estão incluídas na tabela porque não são muito abundantes e possuem pouco interesse.

**Fonte:** UENOJO & PASTORE, (2007).

As substâncias pécticas também são determinantes na firmeza dos frutos e hortaliças, característica que se estabelece durante o crescimento, amadurecimento, armazenamento e processamento. Naturalmente, a pectina está associada à celulose, hemicelulose e lignina (Figura 3), sendo denominada enquanto nesta forma de protopectina, podendo ser extraída com abundância do mesocarpo da maioria dos frutos cítricos (PAIVA et al., 2009).



**Figura 3.** Estrutura da parede celular primária.  
**Fonte:** COSGROVE, (2005).

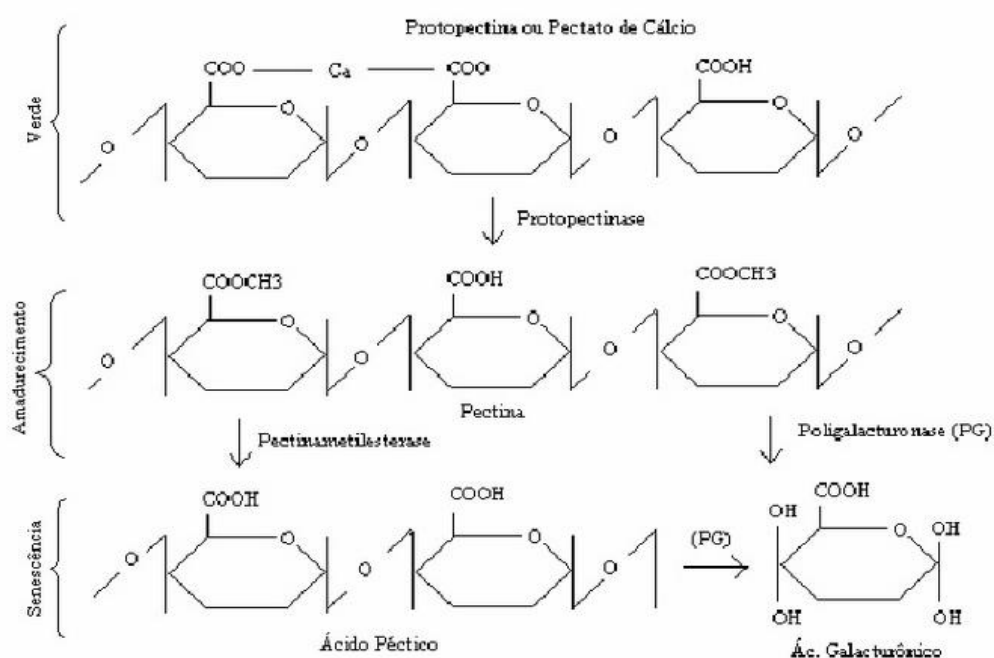
O aumento nos teores de pectina solúvel resulta no amaciamento do fruto e acontece devido ao fato das substâncias pécticas serem degradadas a ácido galacturônico solúvel. O amaciamento da goiaba é um processo que se caracteriza pela despolimerização da parede celular, acompanhado por um aumento na solubilização das mesmas e é controlado por enzimas pectolíticas (LIMA; DURIGAN, 2002).

Há vários estudos relacionados à mudança nos teores de pectina em goiaba durante o amadurecimento. E esses estudos têm mostrado que o teor de pectina total está próximo de 2,4%. BULK et al. (1997) observaram valores médios de pectina total variando de 0,6 % a 1,1 % para os cultivares de goiaba 'Shambati', 'Pakistani', 'Shendi' e 'Ganib'. Por sua vez, Mendonça et al. (2007) analisando goiabas 'Cortibel 1' e 'Cortibel 4' armazenadas em condições ambientais verificaram que os teores de pectina aumentaram de aproximadamente 1,2% para 2,3%, do 2.º ao 16.º dia após a colheita. No entanto, Linhares et al. (2007) avaliando teores de pectina total no endocarpo de goiabas Pedro Sato oriundas do estado de Minas Gerais tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e com 1-metilciclopropeno e armazenadas sob refrigeração, encontraram valores constantes, próximos de 0,80%.



## 2.4 ENZIMAS DA PAREDE CELULAR

Dentre as várias enzimas que degradam os polissacarídeos da parede celular podemos citar a poligalacturonase e a pectinametilesterase (Figura 4). A poligalacturonase (PG), do tipo endo (EC 3.2.1.15) e tipo exo (CE 3.2.1.67), é considerada enzima chave na despolimerização dos ácidos poligalacturônicos da maioria dos frutos. Ela atua clivando as ligações endo- e exo- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) dos ácidos galacturônicos, e sua atividade aumenta significativamente durante o amadurecimento levando a diminuição do tamanho e massa molecular das pectinas e ácido pécicos. A PG assume isoformas diferenciadas de acordo com o tipo de fruto e a sua atividade é bastante diferenciada dentre os vegetais. A PG pode apresentar uma intensa atividade, como no caso do tomate, ou sua atividade pode ser muito baixa ou ausente, como é o caso da maçã e da framboesa (*Rubus idaeus*), entretanto mesmo assim são verificadas a solubilização e degradação das pectinas durante o processo de maturação (HUBER et al., 2001). Na Figura 4 pode-se observar o modo de ação das enzimas PME e PG no amadurecimento dos frutos nos polímeros pécicos.



**Figura 4.** Modo de ação das enzimas PME e PG no amadurecimento dos frutos.  
**Fonte:** KLUGE, 2013.

Linhares et al. (2007) não detectaram atividade da PG em goiabas 'Pedro Sato' tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e 1-metilciclopropeno e armazenadas sob refrigeração. No entanto, Xisto et al. (2004) comparando a PG em goiabas 'Pedro Sato'

armazenadas com e sem a aplicação de cloreto de cálcio observaram que em frutos tratados com cloreto de cálcio a PG apresentaram menor atividade. Durante o armazenamento, a atividade da PG ( $\text{U.g}^{-1}$  peso fresco) variou de 147,50 a 79,42 para os frutos sem cloreto de cálcio e de 128,42 a 79,42 para os frutos com cloreto de cálcio.

A pectinametilesterase (PME, EC: 3.1.1.11), na maioria dos frutos, pode ser subdividida em dois tipos (PME I e PME II), as quais têm sido consideradas isoenzimas. Ambas atuam em pH ótimo 8,0, a 35 °C, e são ativadas por cátions, sendo os mais efetivos os cátions divalentes como  $\text{Mg}^{2+}$  (LIM; CHUNG, 1993). Tem sido proposto por WAKABAYASHI et al. (2003) que a metilesterificação pode impedir a degradação das pectinas mediadas por PG na parede celular de alguns frutos e que uma parcial desesterificação por PME é necessária para que a PG possa realizar uma contínua despolimerização. Portanto, o grau de metilesterificação das pectinas pode ser um fator de regulação do processo de maturação. No entanto, em alguns frutos não ocorre o amolecimento da polpa, sendo isso relacionado a falhas na desmetoxilação o que pode diminuir a ação da PG (JIANG et al., 2003).

Karakurt e Huber (2003) verificaram que a atividade da PG e PME do mamão papaya atuam de forma diferente no fruto inteiro ou cortado. A PG influenciou o total de pectinas hidrossolúveis e o tamanho molecular de forma mais intensa nos frutos cortados. Por outro lado, a PME em frutos inteiros ou cortados apresentou o mesmo nível de atividade e embora a metilesterificação diminua durante o amadurecimento. Estes resultados, portanto, sugerem que a atividade da PME podem ter influência indireta no amadurecimento e mudanças na firmeza do mamão papaya.

A  $\beta$ -galactosidase (EC. 3.2.1.23) e a  $\alpha$ -galactosidase (EC 3.2.1.22) vêm adquirindo destaque entre as enzimas que atuam em paralelo a ação PG e PME, já que os resíduos galactosil representam o maior conteúdo de açúcares neutros da parede celular liberados durante a maturação da maioria dos frutos. Contudo, os efeitos da desgalactosilação das pectinas ainda não estão completamente compreendidos para todos os frutos (PAIVA et al., 2009).

De fato uma única enzima não parece ser responsável pela degradação da parede celular e, com o advento da biologia molecular, um número considerável de genes tem sido recentemente identificados, demonstrando o papel de algumas das famílias de enzimas relacionadas ao amaciamento dos frutos. Estes estudos estabelecem correlações entre o acúmulo de RNAm e o estado fisiológico e fenótipo do fruto. A combinação destas

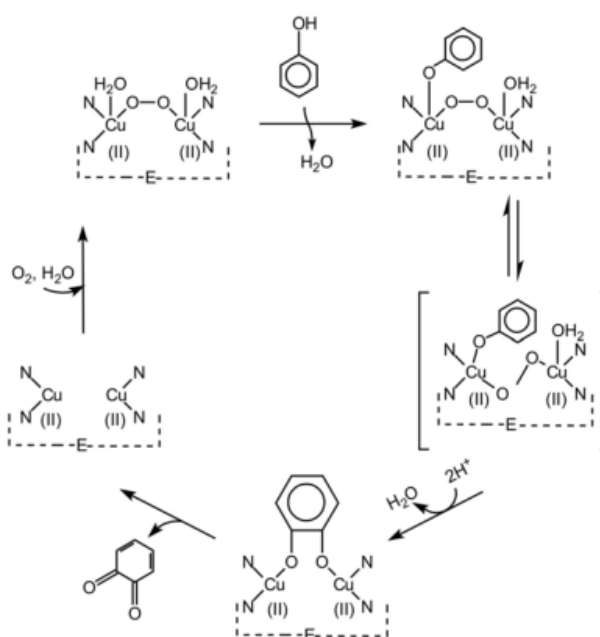
informações moleculares têm sido usadas para gerar dados sobre papel fisiológico de cada enzima, seja bloqueando-a ou exacerbando sua expressão. Entretanto, o fato das mudanças no RNA poderem prever as modificações em nível enzimático, não garante que o transcrito será necessariamente traduzido e as proteínas detectadas podem não ser necessariamente modificadas por mecanismos pós-traducionais e/ou podem não ser totalmente ativas. Além disso, o papel de cada enzima não é totalmente explicado pelos estudos de uma única isoforma (como ocorre na maioria dos estudos), já que existe a presença de diversas isoformas com distintos padrões de expressão, o que pode mascarar as atividades individuais em um determinado estágio do desenvolvimento (GOULAO et al., 2007). Outros fatores específicos, também podem influenciar a atividade enzimática, entre estes pH e a composição iônica do fluido apoplástico dependendo do vegetal em questão. Adicionalmente, estudos têm mostrado que essas enzimas não são as causadoras primárias do amolecimento, no entanto, sua participação nas mudanças da textura durante os estádios finais do amolecimento parecem evidentes (HUBER et al., 2001).

Vila et al. (2007) reportaram valores de 218,67 a 497,33 U.g<sup>-1</sup> peso fresco para PME em frutos da cultivar 'Pedro Sato' oriundos do estado de Minas, armazenados a 9° C ± 1° C e 90% UR ± 5%, por 20 dia. Karakurt e Huber (2003) verificaram que a atividade da PME do mamão papaya aumenta durante o armazenamento no fruto inteiro e cortado. Resultados sobre as atividades das enzimas PG e PME são bastante contraditórias, havendo tanto o aumento da PME e ausência da PG (LINHARES et al., 2007), como a diminuição da PG (XISTO et al., 2004).

## 2.5 ENZIMAS DE OXIDAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

A polifenoloxidase (PPO), monofenol oxidase (PPO; EC 1.10.3.1), catecol oxidase ou o-difenol oxigênio redutase são algumas das diferentes nomenclaturas para uma enzima responsável pela oxidação de fenóis (MAYER, 2006). As suas designações são fornecidas devido ao tipo de substrato catalisado; e/ou devido à atividade da enzima (cresolase, catecolase, difenolase e fenolase) (RICHARD-FORGET; GAUILLARD, 1997). A PPO é a principal enzima responsável pelo escurecimento enzimático da maioria dos vegetais e está localizada no citosol das células. A ação dessa enzima se dá pela oxidação de compostos fenólicos liberados dos vacúolos e da parede celular, pela degradação das membranas celulares, havendo a formação de melanina (RUPASINGHE, 2008). Existindo 10 em

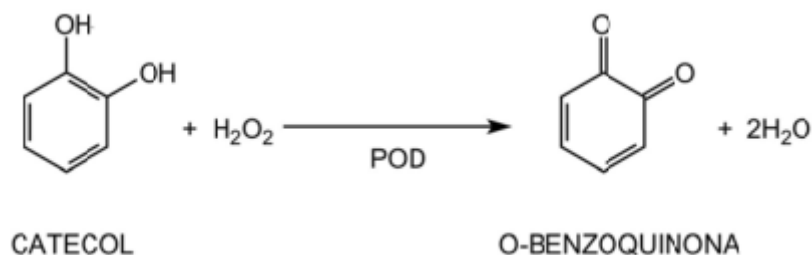
múltiplas isoformas, como imaturas, maduras e latentes e ativas (FARIA et al., 2007). Na Figura 5, demonstra-se o mecanismo de ação da reação geral da POP nas plantas. A atividade da PPO aumenta com a maturação dos frutos, manifestando-se com maior intensidade quando esses se aproximam da senescência (DUARTE et al., 2005).



**Figura 5.** Mecanismo geral de reação da POP.  
**Fonte:** BELITZ e GROSCH (1997).

Cheng et al. (2007) estudando os efeitos da sonicação e carbonatação na qualidade do suco de goiaba, relataram que não houve diferenças significativas na atividade da PPO para o controle e amostras carbonatadas. No entanto, as amostras sonicadas e combinadas mostraram relativamente maior atividade de PPO, quando comparadas ao controle e as amostras carbonatadas.

A peroxidase (POD) (POD; EC 1.11.1.7) é uma oxidoreductase capaz de catalisar um grande número de reações oxidativas em plantas usando peróxido como substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um aceptor de hidrogênio. Na figura 6, ilustra-se a ação da POD sobre os compostos fenólicos. Em vegetais, a peroxidase induz a mudanças de sabor, conteúdos de vitamina C, dentre outros durante o armazenamento. A POD é considerada a enzima vegetal mais estável ao calor e sua inativação tem sido convencionalmente usada como indicador de adequação da etapa de branqueamento no processamentos vegetais (FREITAS et al., 2008).



**Figura 6.** Ação da POD sobre compostos fenólicos.  
**Fonte:** CHITARRA (2002).

Zanatta et al. (2006) encontraram os seguintes valores para a atividade da peroxidase, fração solúvel (PSG) e peroxidase ionicamente ligada (PIG), bem como a atividade da polifenoloxidase (PPO) em polpa de goiaba de 1,15, 2,90, 1,51  $\Delta DO/min.mL$ , respectivamente. Mondal et al. (2009) reportaram aumento na atividade da POD para duas variedades de goiaba com o avanço da maturação e atribuíram ao acúmulo de hidroperóxidos lipídicos e de outras espécies reativas de oxigênio durante o amadurecimento dos frutos.

As enzimas peroxidase e polifenoloxidase são responsáveis pelo escurecimento em frutas, hortaliças e seus produtos processados, por isso o conhecimento das atividades destas enzimas é de grande importância durante a transformação dessas matérias-primas para a obtenção de produtos processados (CLEMENTE; PASTORE, 1998).

## 2.6 NUTRIÇÃO MINERAL

A produtividade e a qualidade dos frutos de um pomar resultam da interação de vários fatores, destacando-se o potencial genético e o ambiente (manejo do solo, dos nutrientes, disponibilidade de água, entre outros). O aspecto nutricional é particularmente importante para os frutos, visto a influência que os elementos minerais exercem sobre sua qualidade. Com uma nutrição adequada, mudas e plantas em produção ficam menos suscetíveis ao ataque de pragas e doenças, toleram melhor períodos de seca e outros estresses, além de elevar a produtividade e a qualidade dos frutos (DIAS et al., 2012). As plantas frutíferas são altamente responsivas à adição de fertilizantes, especialmente dos nitrogenados. Em muitos casos, a adubação e o estado nutricional das culturas podem afetar não apenas a produtividade, mas o tamanho e a massa do fruto, a cor, a conservação pós-colheita, a resistência a pragas e doenças e a presença de compostos bioativos (NATALE; PRADO, 2006).

A deficiência ou excesso de nutrientes, durante o desenvolvimento da planta, pode ocorrer sem que haja manifestação visual da desordem nutricional, que é uma das últimas etapas de um desencadeamento metabólico na planta, já causando danos à produtividade (MALAVOLTA et al., 1989; 2006).

Como um elemento essencial para todos os organismos vivos, o potássio (K) é um dos nutrientes mais requeridos pela goiabeira (FRANCO et al., 2007). Atua como ativador ou co-enzimas de muitas enzimas, ânion neutralizador, mecanismo celular de turgescência, transporte de hidratos de carbono e é reconhecido como determinante na qualidade do fruto (BRITO et al., 2005; BUSSAKORN et al., 2003).

Uma função importante do potássio é para ajustar a pressão osmótica das células, sendo, então, diretamente relacionada com o crescimento da planta. Depois de se completar a extensão da célula, para a manutenção da turgescência destas células o K pode ser facilmente substituídos nos vacúolos por outros solutos tais como sais de sódio (MARSCHNER, 1995). Este elemento promove, pelo transporte de assimilados, um aumento de massa do fruto, sabor e capacidade de armazenamento (LIMA et al., 2008). Sabe-se que o potássio é um elemento presente na forma iônica nos tecidos vegetais, e diretamente envolvidos na fisiologia da planta (PALLARDY, 2008). O excesso de potássio no meio pode causar deficiência de cálcio e magnésio (MALAVOLTA et al., 2006; MARSCHNER, 1995). Malavolta et al. (2006) discorrendo sobre efeitos interiônicos, afirmaram que a presença de  $\text{Ca}^{2+}$  em alta concentração tem efeito de inibição competitiva sobre o íon  $\text{K}^+$ , enquanto em baixas concentrações tem ação de sinergismo sobre o íon  $\text{K}^+$ . A presença do íon  $\text{K}^+$  tem efeito de inibição competitiva sobre os íons  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$ .

Em condições de sua falta as plantas são incapazes de completar o seu ciclo de vida (VELASCO et al., 2012). No entanto, o fornecimento de potássio em excesso pode causar impacto negativo sobre a qualidade dos frutos. O aumento das doses de potássio provocou a diminuição do teor de alguns nutrientes como de: Cu, Fe, Zn e B, podendo provocar redução na qualidade do fruto, afetando o tamanho, a resistência ao transporte e armazenamento em frutos do maracujazeiro (NATALE et al., 2006).

Krauss (2005) citou vários exemplos do efeito do potássio na qualidade do produto, como aumento do valor nutritivo (quantidade de proteína em trigo, concentração de óleo em canola); aumento nas propriedades funcionais (porcentagem de sacarose em cana-de-açúcar e beterraba e de carboidratos em batata); aumento nas propriedades organolépticas (conteúdo de aminoácidos, cafeína e compostos aromáticos em chá; coloração e sabor em batata chips);

aumento na sanidade (síntese de compostos repelentes de pragas e doenças, como fenóis e quinonas); aumento no conteúdo de compostos funcionais (vitamina C em repolho, isoflavonas em soja) e aumento na conservação pós-colheita (maior tempo de vida dos produtos nas prateleiras, maior resistência de batata e tomate ao armazenamento mais prolongado). Além dessas, citou exemplos da melhor eficiência no uso de nitrogênio pelas plantas quando há adubação balanceada com potássio, incluindo efeitos sobre o ambiente, com menores perdas de nitrato por lixiviação.

Natale (1993) avaliando a exportação de nutrientes pelos frutos da goiabeira (polpa e semente) nas cultivares Rica e Paluma em Piracicaba-SP, encontrou que, para a primeira, as quantidades exportadas de macro nutrientes pelos frutos da goiabeira em plena produção, em ordem decrescente são:  $K > N > P > S > Mg = Ca$  e de micronutrientes são:  $Mn > Fe > Zn > Cu > B$ . Para a cv. Paluma, a ordem tanto para o macro como para os micronutrientes são ligeiramente distintos no que diz respeito à exportação de nutrientes constatando variações em função da cultivar, quando comparado com a cv. Rica. Para os macronutrientes a ordem é a seguinte:  $K > N > P > S = Mg > Ca$ , e para micronutrientes  $Zn > Mn = Fe > Cu > B$ . Sabe-se que, as exigências nutricionais são diretamente correlacionadas com a fisiologia, e que isso pode está diretamente correlacionado com a qualidade do fruto. Nota-se variação maior para os teores de nitrogênio (N) e potássio (K), principais macronutrientes contidos nos frutos, com a cultivar Rica apresentando  $15,7 \text{ g kg}^{-1}$  de K e  $9,8 \text{ g kg}^{-1}$  de N na matéria seca, e a cv. Paluma valores mais baixos,  $12,4 \text{ g kg}^{-1}$  de K e  $8,6 \text{ g kg}^{-1}$  de N, na matéria seca dos frutos. Assim, o conhecimento da composição química mineral dos frutos proporciona subsídios, não só para um programa de adubação e restituição ao solo, como também para a manutenção de sua fertilidade, bem como estabelece uma relação custo-benefício para a qualidade (NATALE; PRADO, 2006).

Maia et al. (2007), quando analisou os teores de macronutrientes e micronutrientes em quatro fases fenológicas, P1, P2, P3 e P4, (em pomar jovem de goiabeiras ‘Paluma’, irrigado e devidamente adubado), encontrou em P1 concentrações elevadas de K e N nos frutos, quando comparados aos demais nutrientes encontrados no desenvolvimento e na colheita, em seguida apresentaram uma suave diminuição ao longo da estação de crescimento. Em P2, todas as concentrações de macronutrientes nos frutos diminuíram, e o Ca apresentou uma nítida queda. Em P3, as variações foram pequenas, sendo ascendente para o S e P, e descendente de Ca e Mg. Uma produção média de 623 frutos por planta foi observada, com peso médio do fruto de 116 g, e um rendimento de 24,097 kg por planta. Com base na

concentração de nutrientes de frutos maduros em 166, 173, 180 e 187 dias após a colheita, a quantidade de macronutrientes (g) e micronutrientes (mg) removidos por planta foi : 92,0 g de N, 14,6 g de P, 137,2 g de K, 5,0 mg de Ca, 6,0 mg de Mg, 16,7 mg de S, 81,6 mg de Cu, 179,0 mg de Fe, 104,3 mg de Mn, 82,0 mg de B, e 113,3 mg de Zn.

Lima et al. (2008), avaliando quatro doses de nitrogênio e de potássio (1 - 67 kg N + 33 kg de K<sub>2</sub>O; 2-133 kg N + 67 kg de K<sub>2</sub>O, 3 - 200 kg N + 100 kg de K<sub>2</sub>O e, 4 - 267 kg N + 133 kg de K<sub>2</sub>O por hectare) na produtividade e na maturidade de goiabas irrigadas no Vale do São Francisco, encontrou que altos valores de nitrogênio e de K<sub>2</sub>O aumentaram o rendimento na primeira estação de crescimento da goiaba, devido ao aumento do número de frutos. No entanto, a taxa de fertilizantes de 200 kg de N + 100 kg de K<sub>2</sub>O por hectare melhorou a qualidade dos frutos, como consequência da menor degradação do ácido ascórbico e da manutenção da firmeza da polpa. As alterações mais significativas em goiabas ‘Paluma’ ocorreram entre os estádios 4 e 5, quando os frutos apresentam as características apropriadas para o consumo, isto é, conteúdos adequados de sólidos solúveis (9,7-11,0% de brix) e acúmulo de açúcares solúveis.

Embora a literatura reporte resultados para as alterações das características físicas e químicas de frutos da goiabeira mediante a adubação mineral, ainda são inexistentes trabalhos que remetam a utilização da adubação para avaliar as modificações na parede celular. Diante disso, esse trabalho vem a suprir informações iniciais sobre o metabolismo de goiabas sob diferentes doses de adubações potássicas durante a maturação.



## REFERÊNCIAS

- ABU-GOUKH, A. A.; BASHIR, H. A. Changes in pectic enzymes and cellulase activity during guava fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 83, p. 213-218, 2003.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2010. **Santa Cruz do Sul**: Editora Gazeta, 2012. 129 p.
- AVILAN, L. El ciclo de vida productivo de los frutales de tipo arbóreo em médio tropical y SUS consecuencias agroeconómicas. **Fruits**, v.43, p. 517-529, 1988.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acríbia, 1997. p. 119-120.
- BITTER, T.; MUIR, H. M. A modified uronic acid carbazole reaction. **Analytical Chemistry**, New York, v. 4, p. 330-334, 1962.
- BRITO, M.E.B.; MELO, A.; LUSTOSA, J.P.O.; ROCHA, M.B.; VIÉGAS, P.R.A.; HOLANDA, F.S.R. Rendimento e qualidade da fruta de maracujazeiro-amarelo adubado com potássio, esterco de frango e de ovino. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, p. 260-263, 2005.
- BRUMMELL, D. A.; HARPSTER, M. H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. In: **Plant Cell Walls**. Springer Netherlands, p. 311-340, 2001.
- BU, J.; YU, Y.; AISIKAER, G.; YING, T. Postharvest UV-C irradiation inhibits the production of ethylene and the activity of cell wall-degrading enzymes during softening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 377-345, 2013.
- BUSSAKORN, S.M.; DANIEL, P.S.; MICHAEL, T.T.; MARK, R.T.. A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 9, p. 154-168, 2003.
- CARDOSO, E. de A.; ALVES, R. E.; MOURA, C. F. H.; ALMEIDA, A. da S.; PEREIRA, M. E. C. Frutos de goiabeira Paluma colhidos em diferentes estádios de maturação na Região do Vale do Curu, Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém, PA. **Anais..** Belém-PA: SBF, 2002. CD-ROM.
- CARVALHO, H.A. de.; CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B.; MENEZES, J.B. Eficiência da concentração de cloreto de cálcio e do tempo de imersão no tratamento pós-colheita de goiaba branca cv. Kumagai. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 20, p. 375-381, 2001.

- CHENG, L.H. .; SOH, C.Y.; LIEW, S.C.; THE, F.F. Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1396–1401, 2007.
- CHITARRA, A. B.; PRADO, M. E. T. **Utilização de atmosfera modificada e controlada em frutos e hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. p. 13-15, 23-25, 40-42.
- CHOUDHURY, M. M.; COSTA, T. S.; ARAÚJO, J. L. P. **Agronegócio da goiaba**. In: CHOUDHURY, M. M. (Ed.) *Goiaba. Pós-colheita*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 9 (Frutas do Brasil, 19).
- CLEMENTE, E.; PASTORE, G. M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, p. 167-171, 1998.
- DIAS, M. J. T.; SOUZA, H da S.; NATALE, W.; MODESTO, V.C.; ROZANE, D.E.; . Adubação com nitrogênio e potássio em mudas de goiabeira em viveiro comercial. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 2837-2848, 2012.
- DUARTE, L. E. B.; RIVERA, J. A. C.; CUENCA, C. E. N. Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): maduración y senescencia. **Acta Biológica Colombiana**, v. 10, p. 49-59, 2005.
- EL BULK, E.; BABIKER, E. F. E.; EL TINAY, A. H. Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. **Food chemistry**, v. 59, p. 395-399, 1997.
- FARIA, R.O.; MOURE, V.R.; AMAZONAS, M.A.L.; KRIEGER, N.; MITCHELL, FRANCO, F. C.; PRADO, R. M.; BRACHIROLLI, L. F.; ROZANE, D. E. Curva de crescimento e marcha de absorção de macronutrientes em mudas de goiabeira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1429-1437, 2007.
- FREITAS, A. A. de.; FRANCELIN, M. F.; HIRATA, G. F.; CLEMENTE, E.; SCHMIDT, F.L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 172-177, 2008.
- GIANNONI, J. A. **Efeito da radiação gama e do cálcio na conservação pós-colheita da goiaba-branca armazenada sob refrigeração**. 2000. 181 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.
- GOULAO, L. F.; SANTOS, J.; SOUSA, de I, OLIVEIRA, C.M. Patterns of enzymatic activity of cell wall-modifying enzymes during growth and ripening of apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 43, p. 307-318, 2007.

- GOUVEIA, J. P. G.; ALMEIDA, F. A. C.; MEDEIROS, B. G. S.; RIBEIRO, C. F. A.; DUARTE, S. M. A. Determinação de características físico-químicas da goiaba: goiabeiras adubadas no semi-árido da Paraíba. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 6, p. 35-38, 2004.
- GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B.K.; LANDRUM, L.L.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F.F.; LUGHADHA, E.N.; PROENCA, C.; SOARES S. L.H.; WILSON, P.G.; LUCAS, E. 2008. **World checklist of Myrtaceae The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens**, Kew. <http://www.kew.org/wcsp/> (accessed: 26.06.12).
- HONG K.; XIE, J.; ZHANG, L. SUN, D.; GONG, D. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 144, p. 172-178, 2012.
- HUBER, D. J.; KARAKURT, Y.; JEONG, J. Pectin degradation in ripening and wounded fruits. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 224-241, 2001.
- IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: LSPA, 2012. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/cgi-bin/prtabl>. Acesso em: 24 maio 2013.
- IPA - Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações de Adubação para o Estado de Pernambuco (2ª aproximação)**. 2.ed. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, 2008. 198p.
- JAIN, N.; DHAWAN, K.; MALHOTRA, S.; SINGH, R. Biochemistry of fruit ripening of guava (*Psidium guajava* L.): compositional and enzymatic changes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 58, p. 309-315, 2003.
- JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2931-2944, 2005.
- JIANG, Y.M.; LI, Y.B.; LI, J.R. Effects of low temperature acclimation on browning of litchi fruit in relation to shelf life. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.78, p. 437-440, 2003.
- KARAKURT, Y.; HUBER, D. J. Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p. 219-229, 2003.
- KRAUSS A. Potassium effects on yield quality. In: YAMADA, T.; ROBERTS, T.L. **Potássio na agricultura brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2005. Cap. 11, p.239-256.

- LAZAN, H.; ALI, Z. M. Cell wall hydrolases and their potential in the manipulation of ripening of tropical fruits. **Asean Food Journal**, Singapore, v. 8, p. 47-53, 1993.
- LIM, YIN-MEI; CHUNG, M. C. M. Isolation and characterization of pectin methylesterase from papaya. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 307, p. 15-20, 1993.
- LIMA, A. V. **Qualidade pós-colheita da goiaba “Pedro Sato” tratada com cloreto de cálcio e 1-MCP em condições ambiente**. 2004. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- LIMA, M. A. C.; BASSOI, L. H.; SILVA, D. J.; SANTOS, P. S.; PAES, P. C.; RIBEIRO, P. R. A.; DANTAS, B. F. Effects of levels of nitrogen and potassium on yield and fruit maturation of irrigated guava trees in the São Francisco valley. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 246-250, 2008.
- LIMA, M.A.C.; ASSIS, J.S.; GONZAGA NETO, L. Caracterização dos frutos de goiabeira e seleção de cultivares na Região do Submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p. 273-276, 2002.
- LINHARES, L.A.; SANTOS, C. D. D.; ABREU, C. M. P. D.; CORRÊA, A. D. Transformações químicas, físicas e enzimáticas de goiabas “Pedro Sato” tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e 1-metilciclopropeno e armazenados sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p. 829-841, 2007.
- LIM, Y. M.; CHUNG, M. C. M. Isolation and characterization of pectin methylesterase from papaya. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 307, p. 15-20, 1993.
- MAIA, J. L. T.; BASSOI, L. H.; SILVA, D. J.; LIMA, M. A. C. D.; ASSIS, J. S. D.; MORAIS, P. L. D. D. Assessment on nutrient levels in the aerial biomass of irrigated guava in São Francisco Valley, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, p. 705-709, 2007.
- MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba, POTAFOS, 1989. 201p.
- MANRIQUE, G. D.; LAJOLO, F. M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, p. 11-26, 2004.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd ed. London: Academic Press, 1995. 889p.

- MAYER, A. M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. **Phytochemistry**, v. 67, p. 2318-2331, 2006.
- McCREADY, R. M.; McCOMB, E. A. Extraction and determination of total pectic materials in fruit. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 24, p. 1586-1588, June 1952.
- MENDONÇA, R.D.; FERREIRA, K.S.; SOUZA, L.M.; MARINHO, C.S.; TEIXEIRA, S.L. Características físicas e químicas de goiabas ‘Cortibel 1’ e ‘Cortibel 4’ armazenadas em condições ambientais. **Bragantia**, v.66, p.685-692, 2007.
- MONDAL, K.; MALHOTRA, S. P.; JAIN, V.; SINGH, R. Oxidative stress and antioxidant systems in grava (*Psidium guajava* L.) fruits during ripening. **Physiology Molecular Biology Plants**, v. 15, 2009.
- MONDAL, K.; SINGH, A. P.; SAXENA, N.; MALHOTRA, S. P.; DHAWAN, K.; SINGH, R. Possible interactions of polyamines and ethylene during ripening of guava (*Psidium guajava* L.) fruits. **Journal of Food Biochemistry**, v. 32, p. 46-59, 2008.
- NATALE, W. 1993. **Diagnose da nutrição nitrogenada e potássica em duas cultivares de goiabeira (*Psidium guajava* L.), durante três anos. Piracicaba. 149p.** Tese (Doutorado em Solos e nutrição de plantas). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP.
- NATALE, W.; PRADO, R. de M. **Fertirrigação em goiabeira.** In: Antônio Enedi Boaretto; Roberto Lyra Villas Boas; Valdemicio Ferreira de Souza; Ivan Ranon Vidal. (Org.). *Fertirrigação/Fertirrigación: teoria e prática*. 1ed. Piracicaba: CENA/USP, 2006, v. 1, p. 494-535.
- NATALE, W.; PRADO, R. DE M, ALMEIDA, E.V. DE.; BARBOS, J.C. Adubação nitrogenada e potássica no estado nutricional de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 28, p. 187-192, 2006.
- NIMISHA, S.; KHERWAR, D.; AJAY, K. M.; SINGH, B.; USHA, K. Molecular breeding to improve guava (*Psidium guajava* L.): Current status and future prospective. **Scientia Horticulturae**, v. 164, p. 578-588, 2013.
- OSHIRO, A. M.; DRESCH, D. M.; SCALON, S. D. P. Q. Preservação de goiabas ‘Pedro Sato’ armazenadas sob atmosfera modificada em refrigeração. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, p. 213-221, 2012.
- PAIVA, E. P.; LIMA, M. S.; PAIXÃO, J. A. Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 10, p. 196-211, 2009.
- PALLARDY, S. **Physiology of woody plants**. San Diego: Academic Press, 2008. 454p.

- PAYASI, A.; MISHRA, N. N.; CHAVES, A. L. S.; SINGH, R. Biochemistry of fruit softening: an overview. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 15, p. 103-113, 2009.
- PEREIRA, F.M.; CARVALHO, C.A.; NACHTIGAL, J.C. Século XXI: Novo Cultivar de Goiabeira de Dupla Finalidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17. 2002. **Resumos**. Belém. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura/ Embrapa oriental, 2002.
- PEREIRA, F.M.; KAVATI, R. Contribution of Brazilian scientific research in developing some of subtropical fruit. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, p. 92-108, 2011.
- PIRRELLO, J.; REGAD, F.; LATCHÉ, A.; PECH, J. C.; BOUZAYEN, M. Regulation of tomato fruit ripening. **CAB Reviews**, v. 4, p. 1-14, 2009.
- PONCE, N. M.; ZIEGLER, V. H.; STORTZ, C. A.; SOZZI, G. O. Compositional changes in cell wall polysaccharides from Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) during growth and on-tree ripening. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, p. 2562-2570, 2010.
- RASTEGAR, S.; RAHEMI, M.; BAGHIZADEH, A.; GHOLAMI, M. Enzyme activity and biochemical changes of three date palm cultivars with different softening pattern during ripening. **Food Chemistry**, v.134, p. 1279-1286, 2012.
- RICHARD-FORGET, F.C.; GAUILLARD, F.A. Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*Pyrus communis* Cv. *Williams*) polyphenol oxidase and peroxidase; a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 45, p. 2472-2476, 1997.
- RUPASINGHE, H. P. V. The role of polyphenols in quality, postharvest handling, and processing of fruits In: PALIYATH, G.; MURR, D. P.; HANDA, A. K.; LURIE, S. (eds) **Postharvest Biology and Technology of Fruits, Vegetables and Flowers**. Wiley-Blackwell Publishing, cap 12, p. 260-281, 2008.
- SILVA, D.; TOKUIOSHI, K.; DA SILVA MARTINS, E.; DA SILVA, R.; GOMES, E. Production of pectinase by solid-state fermentation with *Penicillium viridicatum* RFC3. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2885-2889, 2005.
- SILVA, E. G.; BORGES, M. F.; MEDINA, C.; PICCOLI, R. H.; SCHWAN, R. F. Pectinolytic enzymes secreted by yeasts from tropical fruits. **FEMS Yeast Research**, v.5, p.859-865, 2005.
- SINGH, G. High density planting in guava application of canopy architecture ICAR News, v. 11, pp. 9–10, 2005.

- SOUZA, M. E. D.; SILVA, A. C. D.; SOUZA, A. P. D.; TANAKA, A. A.; LEONEL, S. Influence of the precipitations pluviometrics in physical-chemical attributes of the fruits of the guajava tree 'Paluma' in different stadiums of ripening. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 637-646, 2010.
- SPILLER, S. H. **Pectina de goiaba: avaliação de métodos de extração e análise de esterases durante o amadurecimento (solubilização de membranas e eletroforese)**. 2012.
- UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, p. 388, 2007.
- VARMUDY, V. Guava: potential untapped. Facts For You. [http://www.ffymag.com/admin/issuepdf/Guava\\_FFYApril-13.pdf](http://www.ffymag.com/admin/issuepdf/Guava_FFYApril-13.pdf), 2013.
- VELASCO, H.; CID, A. S.; ANJOS, R. M.; ZAMBONI, C. B.; RIZZOTTO, M.; VALLADARES, D. L.; JURI AYUB, J. Variability of  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{40}\text{K}$  soil-to-fruit transfer factor in tropical lemon trees during the fruit development period. **Journal of environmental radioactivity**, v. 104, p. 64-70, 2012.
- VIEIRA, M. J. S.; COUTO, S. M.; CORRÊA, P. C.; DOS SANTOS, A. E.; CECOM, P. R.; DA SILVA, D. J. Características físicas de goiabas (*Psidium guajava* L.) submetidas a tratamento hidrotérmico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, p. 408-414, 2008.
- VINCKEN, J. P.; SCHOLS, H. A.; OOMEN, R. J.; MCCANN, M. C.; ULVSKOV, P.; VORAGEN, A. G.; VISSER, R. G. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. **Plant Physiology**, v. 132, p. 1781-1789, 2003.
- WAKABAYASHI, K. Changes in cell wall polysaccharides during fruit ripening. **Journal of Plant Research**, v. 113, p. 231-237, 2000.
- WAKABAYASHI, K.; HOSON, T.; HUBER, D. J. Methyl de-esterification as a major factor regulating the extent of pectin depolymerization during fruit ripening: a comparison of the action of avocado (*Persea americana*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) polygalacturonases. **Journal of plant physiology**, v. 160, p. 667-673, 2003.
- XISTO, A. L. R. P.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D. Textura de goiabas "Pedro Sato" submetidas à aplicação de cloreto de cálcio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 113-118, 2004.

ZHANG, Z.; HUBER, D. J.; RAO, J. Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea Americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, v. 76, p. 58-64, 2013.

YAPO, B. M. Pectic substances: From simple pectic polysaccharides to complex pectins—A new hypothetical model. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 373-385, 2011.

YAPO, B. M.; KOFFI, K. L. The polysaccharide composition of yellow passion fruit rind cell wall: chemical and macromolecular features of extracted pectins and hemicellulosic polysaccharides. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 2125-2133, 2008.

YASHODA, H. M.; PRABHA, T. N.; THARANATHAN, R. N. Mango ripening—chemical and structural characterization of pectic and hemicellulosic polysaccharides. **Carbohydrate research**, v. 340, p. 1335-1342, 2005.



### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Artigo 1**

##### **‘MODIFICAÇÃO NA PAREDE CELULAR E NAS ENZIMAS DO METABOLISMO OXIDATIVO EM FRUTOS DA GOIABEIRA ‘PALUMA’ DURANTE A MATURAÇÃO SUBMETIDA À ADUBAÇÃO POTÁSSICA’**

**‘MODIFICAÇÃO NA PAREDE CELULAR E NAS ENZIMAS DO METABOLISMO  
OXIDATIVO EM FRUTOS DA GOIABEIRA ‘PALUMA’ DURANTE A  
MATURAÇÃO SUBMETIDA À ADUBAÇÃO POTÁSSICA’**

**‘Modification In The Cell Wall And In The Enzymes Of Oxidative Metabolism In  
‘Paluma’ Guava Fruits During Maturation Under Potassium Fertilization’**

**Aline Priscilla Gomes da Silva<sup>1</sup>, Silvanda de Melo Silva<sup>2</sup>**

**ABSTRACT:** The guava is an important fruit tree in Brazil, for which the soil fertility is directly implicated in the quality and postharvest life of its fruits. In this sense, it was evaluated 'Paluma' guava cultivar subjected to three doses of K in three maturity stages, with the objective of determining the changes in the pectin contents (Total Pectin, Soluble Pectin, and Insoluble Pectin), and percentage of pectins (% pec), the activity of the cell wall enzymes (PME and PG), and in oxidative metabolism enzymes (PPO and POD). Fruits were evaluated in three maturity stages based on the coloration of the skin. The dose of 100 g K per plant showed higher contents of PT, PI, lower activity of PME, PG, and lower oxidative enzyme activity were observed, reflecting the greater resistance of the cell wall and possibly the maintenance of postharvest life of the fruit.

**KEYWORDS:** *Cell wall metabolism, quality, maturity stages, oxidation enzymes*

<sup>1</sup>Engenheira Agrônoma. Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos, PPGCTA/CT/UFPB, alinepgsilva@gmail.com.<sup>2</sup>Ph.D., Prof Assoc. IV, Lab. Biologia e Tecnologia Pós-Colheita, DCFS/CCA/UFPB, Areia – PB, silvasil@cca.ufpb.br

## INTRODUÇÃO

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma frutífera largamente difundida em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo<sup>1</sup>, com destaque para o Brasil, México, Tailândia, Peru e Filipinas, que são os maiores exportadores de frutas frescas e dos produtos processados<sup>2</sup>. É popularmente conhecida devido a sua disponibilidade anual, sua riqueza nutricional e valor medicinal, adequação para transporte, manipulação e preferência do consumidor<sup>3</sup>. Este fruto possui grande aceitação nos mercados interno e externo, em função do sabor agradável, aroma forte e qualidade nutraceutica reconhecida<sup>4</sup>.

O amadurecimento da goiaba envolve alterações na cor, sabor e textura, tornando-as mais aceitáveis para fins comestíveis<sup>5</sup>, envolvendo desagregação de polímeros da parede celular, tais como celulose, hemicelulose e pectina<sup>6</sup>. Várias enzimas são conhecidas por catalisar diferentes aspectos da degradação de pectina, as principais encontradas em frutas são a pectinametilesterase (PME), poligalacturonase (PG), dos tipos endo (EC 3.2.1.15) e exo (EC 3.2.1.67) e  $\beta$ -galactosidase (EC 3.2.1.23)<sup>7,8</sup>. A pectinametilesterase (PME) prepara o substrato para a ação da poligalacturonase (PG). A PME catalisa a desmetilação do C6 do grupo carboxílico dos resíduos de galacturosil, desesterificando-o. Assim, a PG somente catalisa a hidrólise das ligações  $\alpha$ -1,4 de ácido galacturônico quando desesterificado<sup>9</sup>. O mecanismo de deterioração da membrana e perda de estrutura do tecido durante o amadurecimento, também podem ser considerados similares ao caracterizados nos sistemas senescentes verdadeiros envolvendo a acumulação de ROS e aumento da atividade das enzimas do metabolismo oxidativo<sup>10</sup>.

Como um elemento essencial para todos os organismos vivos, o potássio (K) é um dos nutrientes mais requeridos pela goiabeira<sup>11</sup>. É de suma importância, em vários processos metabólicos e qualitativos, sendo reconhecido como um “elemento de qualidade”. O K atua como ativador ou co-enzimas de muitas enzimas, ânion neutralizador, mecanismo celular de turgescência, transporte de hidratos de carbono e é reconhecido como determinante na qualidade do fruto<sup>12,13</sup>. Promovendo, pelo transporte de assimilados, um aumento de peso do fruto, intensificação do sabor e aroma, assim como aumenta a capacidade de armazenamento<sup>4</sup>. Na goiabeira ‘Paluma’, as doses de K induziram produtividade mais elevada, mas, em geral, não influenciaram nos níveis de açúcar e conteúdos de proteínas nas suas folhas<sup>14</sup>.

A maior parte dos estudos sobre goiabeiras reportam mudanças nos parâmetros físicos, físico-químicos, compostos bioativos, armazenamento e o perfil do amadurecimento

<sup>15,16,17</sup>. Diante disso, esse trabalho vem suprir a falta de informação sobre a utilização da adubação e seu efeito na pós-colheita dos frutos.

Estudos sobre a interação da nutrição mineral com a atividade de enzimas associadas à degradação da parede celular do endocarpo e metabolismo oxidativo em frutos de goiabeira podem contribuir para uma maior compreensão da rápida perda de firmeza, podendo subsidiar ajustes na adubação que permitam reduzir as taxas de amaciamento da polpa da goiaba, bem como minimizar a suscetibilidade ao escurecimento, dessa forma, facilitando a adaptação de tecnologias que prolonguem a vida pós-colheita do fruto e mantenham a qualidade de produtos processados.

Sendo assim, objetivou-se avaliar as modificações na parede celular e nas enzimas da oxidação de compostos fenólicos em polpa de frutos da goiabeira ‘Paluma’ colhidos em três estádios de maturação sob influência de doses de potássio.

## **MATERIAIS E METODOS**

### **Obtenção dos frutos**

Goiabeiras (*Psidium guajava* L.) da cv. ‘Paluma’ foram cultivadas em um solo Argissolo Vermelho Amarelo Distrófico de textura média em um espaçamento de 5 m x 6, sem irrigação, situado no município de Alhandra, Estado da Paraíba, Brasil. Foram submetidas a três doses diferentes de potássio em nível de campo, sendo aplicadas as seguintes doses de K: 1- 50 g de K<sub>2</sub>O por planta; 2- 100 g de K<sub>2</sub>O por planta; 3- 150 g de K<sub>2</sub>O por planta, para doses de N e P de 150 g e 140 g por planta, respectivamente. As fontes de N, K e P foram uréia, cloreto de potássio e MAP, respectivamente. Foram aplicadas na fase de crescimento dos frutos. As doses utilizadas estão de acordo com o proposto com Silva (2013)<sup>18</sup>.

Os frutos foram colhidos quando as plantas apresentavam 16 meses de idade, no início da manhã, de forma manual, acondicionadas em caixas de polietileno previamente sanitificadas e transportadas ao Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-colheita da Universidade Federal da Paraíba. A maturação dos frutos foi avaliada em três estádios de maturação, segundo Cavalini et al.<sup>19</sup>: 1 (verde amarelado (VA)), 2 (amarelo esverdeado(AE)) e 3 (amarela (A)).

### **Preparo das amostras**

Para a realização das análises laboratoriais, 36 frutos de cada tratamento foram retirados e picados, o endocarpo (polpa com sementes) foi removido, em seguida, estes foram homogeneizados em liquidificador tomando-se o cuidado para não triturar as sementes. A polpa com sementes homogeneizada foi filtrada em peneira de náilon (poro de aproximadamente 1mm<sup>2</sup>) para remoção das sementes e foi armazenada em freezer a -18 °C até a realização das análises.

### **Pectina total e solúvel**

A extração das substâncias pécticas foi realizada segundo a técnica descrita por McCready; McComb<sup>20</sup>. A determinação colorimétrica foi feita por meio da reação com carbazol, segundo a técnica de Bitter; Muir<sup>21</sup>. Os resultados foram expressos em % de ácido galacturônico por 100 g de polpa. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540 nm.

### **Porcentagem de solubilização de pectinas**

O cálculo da porcentagem de solubilização foi feito de acordo Segundo Vila et al.<sup>16</sup> a partir dos dados de pectina total e solúvel, por meio da seguinte equação: % de solubilização = (pectina solúvel/pectina total) X 100.

### **Atividades enzimáticas:**

#### **Atividade da Pectinametilesterase (PME)**

Foi determinada segundo Jen; Robinson<sup>22</sup>, utilizando-se como substrato uma solução de pectina cítrica a 1% em NaCl 0,2 mol.L<sup>-1</sup> pH 7,0 a temperatura de 30°C. Uma unidade de PME foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação de pectina correspondente ao consumo de 1 nmol de NaOH por minuto, por grama de tecido, sob as condições do ensaio. Os resultados foram expressos em mU/g de polpa.

#### **Atividade de poligalacturonase (PG)**

A atividade enzimática da PG foi determinada segundo Markovic et al.<sup>23</sup>, e consiste na hidrólise de substâncias pécticas e, conseqüentemente, na liberação de grupos redutores.

Esses foram doseados pela técnica de Somogyi, adaptada por Nelson<sup>24</sup>. Uma unidade de atividade de PG foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar formação de 1 nmol de açúcar redutor por minuto por grama de tecido, sob as condições de ensaio.

#### **Extração da Peroxidase (POD) e Polifenoloxidase (PPO):**

Foram elaborados segundo a metodologia de Zanatta et al.<sup>25</sup>, com as seguintes modificações: os extratos de goiaba foram preparados pesando-se 5 g de polpa, que foi homogeneizada com 10 mL de tampão fosfato de sódio 100 mM em pH 6,3 para a peroxidase e pH 6,8 para a polifenoloxidase. Foram adicionados, antes da homogeneização, polivinilpirrolidone (PVPP) 5% e cloreto de cálcio, para evitar a ação de fenóis e da pectina. A solução foi filtrada em papel de filtro e o filtrado foi recolhido em becker em banho de gelo. O filtrado foi centrifugado a 9.000 rpm, a 4 °C por 20 min. O sobrenadante foi congelado a -18 °C e os resíduos foram descartados.

#### **Atividade da Polifenoloxidase (PPO)**

A atividade da PPO foi determinada de acordo com o método descrito por Fujita et al.<sup>26</sup> Os resultados foram expressos em  $\text{UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , calculados pela seguinte fórmula:  $((\text{Abs}/T)/0,001)/(P \times A/V)$ , onde Abs = absorvância do filtrado a 395 nm; T = tempo de incubação; 0,001 fator de conversão para UAE; P = peso de polpa utilizado para obtenção do extrato enzimático; A = alíquota do extrato utilizado; e V = volume do tampão fosfato utilizado na obtenção do extrato. Todo procedimento foi realizado a 4 °C.

#### **Atividade da Peroxidase (POD)**

A atividade da POD foi determinada pelo método descrito por Campos e Silveira<sup>27</sup>. A atividade da enzima é expressa em unidade enzimática (UE). A leitura de absorvância foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 450 nm. A atividade enzimática foi calculada através da mesma fórmula utilizada para a polifenoloxidase e todo procedimento foi realizado a 4°C.

#### **Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em um esquema fatorial 3 x 3 (dose de potássio x estágio de maturação), sendo as repetições compostas por três plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias

comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. A correlação foi feita apenas entre os dados referentes às substâncias pécnicas. Os testes de média foram feitos pelo procedimento PROC GLM e a correlação pelo PROC CORR, ambos realizados através do software estatístico SAS 9.1<sup>28</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar o desdobramento da pectina total foram verificadas interação entre os estádios e as doses de K<sub>2</sub>O aplicadas (Tabela 2). Nota-se que o estágio de maturação AE é o ponto de controle dessas doses, pois acontecem efeitos distintos dentre as doses aplicadas, pois, foi nesse estágio que se observou eventos enzimáticos distintos. Para a dose de 50 g de K<sub>2</sub>O houve uma diminuição nesses teores, indicando mais elevado metabolismo na parede celular desses frutos. A dose de 100 g de K<sub>2</sub>O para o estágio AE apresentou maiores teores de pectina (3,69%), demonstrando que houve a saturação dessas enzimas, isso pode ser indicado que nesta dose houve um bloqueio celular da ativação das enzimas de parede celular. Portanto, verifica-se que a dose de 100 g de K<sub>2</sub>O apresentou frutos com maior porcentagem de substâncias pécnicas, e que o comportamento da sua solubilização foi menor no estágio A, quando o fruto apresenta-se completamente maduro, isto é, quando atingiu sua maturação fisiológica propriamente dita. Na dose de 150 g de K<sub>2</sub>O os teores apresentaram constante até o estágio de maturação A. Diante dos resultados obtidos, pode-se afirmar que frutos colhidos no estágio de maturação amarelo e submetidos à adubação de 50 e 150 g de K<sub>2</sub>O apresentaram maior solubilização das substâncias pécnicas o que implica em frutos mais maduros e com um menor prazo de vida útil pós-colheita.

**Tabela 2. Pectina total (%), Pectina insolúvel (%) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K<sub>2</sub>O.**

		Estádio		
Pectina		VA	AE	A
PT				
Doses	<sup>1</sup> 50	2,52Aa	1,55Bc	2,39Aa
	100	2,62Ba	3,69Aa	2,09Ca
	150	2,33Aa	2,34Ab	2,18Aa
PI				
Doses	50	1,41Aa	0,48Bc	1,31Aa
	100	1,78Ba	2,58Aa	1,33Ba
	150	1,59Aa	1,21Ab	0,67Bb

Letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Legenda: <sup>1</sup>Doses: K<sub>2</sub>O: 1- 50 g de K<sub>2</sub>O; 2- 100 g de K<sub>2</sub>O; 3- 150 g de K<sub>2</sub>O, para doses de N e P de 150 g e 140 g, respectivamente.

Quando avaliados os frutos colhidos no estágio AE e adubados com 100 g de K<sub>2</sub>O, foram obtidos com maiores teores de pectina, o que pode implicar em uma maior manutenção da firmeza, possivelmente devido a uma maior deposição de sub-camadas de K<sup>29,30</sup> por um aumento do potencial de pressão fruto - tecido, resultantes de uma maior acumulação de K e outros osmoeletrólitos<sup>31</sup>.

Mendonça et al.<sup>17</sup> encontrou teores que corroboraram com os citados no presente trabalho, no entanto, o comportamento foi distinto, onde goiabas 'Cortibel 1' e 'Cortibel 4' armazenadas em condições ambientais apresentaram aumento nos teores de pectina de aproximadamente 1,2% para 2,3%, do 2.º ao 16.º dia após a colheita. Por sua vez, BULK et al.<sup>32</sup> observaram valores médios de pectina total variando de 0,6 % a 1,1 % para os cultivares de goiaba 'Shambati', 'Pakistani', 'Shendi' e 'Ganib'.

Os teores de PT os teores de PI em plantas submetidas à dose de 100 g de K<sub>2</sub>O resultou em frutos do estágio de maturidade AE com maiores teores de PI, que diminuiu nos frutos amarelos, sendo concordante com o comportamento da PT. Para a dose de 50 g de K<sub>2</sub>O, frutos do estágio de maturação AE apresentaram o menor teor de PI dentre todas as doses aplicadas, que aumentou nos frutos amarelos. Isso pode ter acontecido pelo fato de que as protopectinases não agissem da maneira esperada dentre as doses aplicadas. A tendência é que



os teores de pectina insolúvel diminuíam com o passar do amadurecimento por causa da solubilização péctica, nesse estudo apenas os frutos da dose de 150 g de  $K_2O$  apresentaram a tendência de diminuição da pectina insolúvel em frutos de goiabas 'Paluma'. Vários são os fatores que podem influenciar, dentre eles, a cultivar e as condições de cultivo.

Tanto para a PT como a PI pode-se observar que os frutos da dose 100 g de  $K_2O$ , demonstrando que esses frutos possuíam maiores teores, podendo-se deduzir que esses frutos apresentavam maiores teores de substâncias pécticas. Dessa forma, pode-se sugerir que frutos adubados com esses teores seriam suficientes para produzir frutos mais firmes e que a dose de 150 g de  $K_2O$  poderia ser evitada diminuindo os gastos na produção desses frutos. O aumento de componentes da parede celular na fase madura pode ser devido à perda de umidade ou de amolecimento da fruta, resultando no aumento da proporção<sup>5</sup>.

Esses valores são concordantes com os encontrados por Tsai et al.<sup>33</sup> quando analisaram a fração insolúvel de frutos de goiabas da variedade Jen-Ju-Bar, onde foram obtidos teores de 1,83%. Ali et al.<sup>34</sup> estudando as modificações nas atividades de pectinases e teores de pectina, observaram que na goiaba 'Kampuchea' não ocorreu redução do teor de pectina, mas na 'Beaumont' ocorreu alteração nesses teores. Entretanto, ao analisarem o padrão de amadurecimento dos frutos, concluíram que a perda de firmeza das frutas não ocorre apenas pela modificação da pectina da parede celular, mas também pela degradação de outros componentes, tais como amido e celulose.

A fração solúvel da pectina (PS) não diferiu entre os estádios de maturação nem entre as doses de potássio aplicadas. Os teores apresentaram valores médios que oscilaram de 1,00 a 1,19% para os estádios e de 0,91 a 1,22% dentre as diferentes doses de  $K_2O$  (Tabela 3). Dentre os estádios, os teores de pectina solúvel aumentaram até o estágio AE e diminuíram nos frutos que apresentaram a coloração amarela. Nas doses, observa-se que houve uma diminuição na dose 100 g e um aumento da solubilização nos frutos amarelos. Demonstrando que nessa dose os frutos apresentaram teores mais baixos e solubilização mais lenta, aumentando no estágio A, o que possivelmente contribuiu para que o amaciamento desses frutos fossem mais acentuados. Das e Majumder<sup>35</sup> relataram o mesmo comportamento em goiaba cv. Allahabad Safeda, a fração solúvel das substâncias pécticas aumentou durante o amadurecimento, num processo atribuído à ação de enzimas pectolíticas. A fração de pectina solúvel indica o amaciamento do fruto que é decorrente do fato das substâncias pécticas serem degradadas a ácido galacturônico solúvel.

**Tabela 3. Pectina Solúvel (%) e porcentagem de solubilização de pectinas (%Pec.) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K<sub>2</sub>O.**

Pectina	Estádio			Dose			<sup>2</sup> E X D	CV%
	VA	AE	A	<sup>1</sup> 50	100	150		
PS	1,05a	1,19a	1,00a	1,22a	0,91a	1,11a	ns	31,03
%Pec.	42,0a	55,3a	45,1a	59,2a	34,0b	49,2ab	ns	32,80

Letras distintas minúsculas nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Legenda: <sup>1</sup>Doses: K<sub>2</sub>O: 1- 50 g de K<sub>2</sub>O; 2- 100 g de K<sub>2</sub>O; 3- 150 g de K<sub>2</sub>O, para doses de N e P de 150 g e 140 g, respectivamente. <sup>2</sup>Efeito de interação estágio x doses, ns=não significativo, \*\*=significativo a 1% pelo teste F.

A porcentagem de solubilização de pectinas não diferiu entre os estádios de maturação. Quando analisado o comportamento da pectina solúvel e do percentual de solubilização, nota-se que ambas as características apresentam um comportamento similar. No que diz respeito às doses, o percentual de solubilização apresentou uma maior variação dentre elas, com uma oscilação de 34% para a dose de 150 g e 59,2% na dose de 50 g, caracterizando assim um comportamento de decréscimo e posterior aumento de solubilização (Tabela 3).

A diminuição do pH apoplástico é necessário para ativar as enzimas envolvidas na degradação da parede celular. Portanto, a maior estabilidade da parede celular pode ser devida a acumulação de potássio nas células, o que é necessário para ao estabilizar o pH no apoplasto e citoplasma, consequentemente, aumentando o potencial osmótico nos vacúolos<sup>36</sup>. Adicionalmente, o potássio é também necessário para contrabalançar electroquimicamente as enzimas ATPase para dar suporte energético ao metabolismo da parede da célula<sup>37</sup>.

Quando correlacionado as frações pecticas, pode-se observar que a fração total foi correlacionada com a fração insolúvel (Tabela 4). Assim como, a fração solúvel foi correlacionada positivamente com a porcentagem pectica, demonstrando que quanto maiores as frações totais e solúveis, maiores serão as de insolúvel e a porcentagem de solubilização das substâncias pecticas, respectivamente. Em contrapartida, quando correlacionado a porcentagem de solubilização das substâncias pecticas com os teores de pectina total e insolúvel observou-se uma correlação significativa negativa, indicando que, pelo menos em parte, quanto maiores os teores destes polissacarídeos pecticos menores serão os percentuais de solubilização. Um vez que com o avanço da maturidade o conteúdo de pectina solúvel aumenta<sup>36</sup>, isso resulta em aumento do percentual de solubilização, explicando esta correlação negativa.

**Tabela 4. Coeficientes de correlação para as frações pectina total, solúvel e insolúvel e porcentagem de solubilização das substâncias pécicas na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K<sub>2</sub>O.**

	PT	PS	PI
OS	-0,08 <sup>NS</sup>		
PI	0,87 **	-0,30 <sup>NS</sup>	
%Pec	-0,56 **	0,82 **	-0,66 **

Legenda: PT=Pectina total; PS=Pectina Solúvel; PI= Pectina Insolúvel;

%Pec= Porcentagem de pectinas; <sup>NS</sup> (P > 0,05); \* (P ≤ 0,01).

Houve interação entre os estádios de maturação e as dose de K<sub>2</sub>O para as atividades PME (Tabela 5). Para a PME, a atividade não diferiu entre estádios para a dose de 50 g K<sub>2</sub>O planta<sup>-1</sup>. Entretanto, para as doses de 100 e 150 g K<sub>2</sub>O planta<sup>-1</sup>, a atividade desta enzima foi maior para frutos no estágio VA, declinando em seguida nos estádios AE e A, sugerindo que as taxas de degradação dos polissacarídeos pécicos foram reduzidas nestas doses de potássio.

Nota-se que para os estádios de maturação AE e A os frutos provenientes da dose 100 g de K<sub>2</sub>O apresentaram a menor atividade da PME (Tabela 5). Além de sua função de desmetilação das pectinas, a PME pode também contribuir para o processo de amolecimento dos frutos<sup>16</sup>. Assim, a menor atividade da PME resulta na redução da desmetilação do polímero pécico e, portanto, diminuindo a disponibilidade do substrato para a PG<sup>36</sup>. Consequentemente, isto resulta em diminuição da ação subsequente da poligalacturonase, refletindo na estabilização da parede celular pela redução da taxa de degradação das substâncias pécicas e, portanto, na manutenção da firmeza dos frutos. A PME apresentou, notadamente, menos atividade na interação do estágio de maturação AE na dose de 100 g de K<sub>2</sub>O planta<sup>-1</sup>, indicando que este nível de nutrição potássica associada aos níveis de N e P exerceu um papel de estabilização da parede celular. Portanto, estes resultados sugerem que a dose 100 g de K<sub>2</sub>O planta<sup>-1</sup> associados aos níveis de N e P nas condições edafoclimáticas do estado da Paraíba tornam a parede celular dos frutos da goiabeira ‘Paluma’ no estágio AE mais estabilizada, propiciando frutos mais firmes, com vida útil pós-colheita mais extensa.

**Tabela 5. Atividades da pectinametilesterase (mU/g de polpa) e poligalacturonase (U.g<sup>-1</sup> peso fresco - UAE) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K<sub>2</sub>O.**

		Estádio		
Enzima		VA	AE	A
PME				
Doses	<sup>1</sup> 50	472,9Ab	387,9Aa	538,8Aab
	100	583,5Aab	370,9Ba	425,9Bb
	150	617,8Aa	459,2Ba	575,2ABa
PG				
Doses	50	116,8Aa	107,0Aa	55,9Ba
	100	113,1Aa	110,1Aa	57,8Ba
	150	111,8Aa	65,3Bb	46,5Ba

Letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Legenda: <sup>1</sup>Doses: K<sub>2</sub>O: 1- 50 g de K<sub>2</sub>O; 2- 100 g de K<sub>2</sub>O; 3- 150 g de K<sub>2</sub>O, para doses de N e P de 150 g e 140 g de K<sub>2</sub>O, respectivamente.

Nota-se interação significativa entre os fatores estágio x dose para a PG (Tabela 5). Independentemente da dose de K<sub>2</sub>O, a atividade da PG foi menor em frutos do estágio A. Para as doses de 50 e 100 g de K<sub>2</sub>O planta<sup>-1</sup> a atividade da PG não diferiu entre os estádios VA e AE. Entretanto, a polpa de frutos oriundos da dose de 150 g de K<sub>2</sub>O planta<sup>-1</sup> apresentaram redução da atividade da PG do estágio VA para o AE e posteriormente para o A, indicando uma possível redução do substrato para a PG.

Os frutos oriundos de plantas adubadas com a dose de 100 g de K<sub>2</sub>O apresentaram com menores atividades de PME no estágio AE, o qual é reconhecido por apresentar atividade metabólica elevada em decorrência do amadurecimento<sup>16</sup>. Menores atividades desta enzima implicam diretamente no retardo da maturidade dos frutos. Em geral, frutos que apresentam um equilíbrio nutricional, são menos susceptíveis ao estresse oxidativo e apresentam atividades reduzidas das enzimas degradativas da parede celular. Portanto, os resultados indicam que a dose de 100 g de K<sub>2</sub>O planta<sup>-1</sup> supre a demanda necessária de K que resulta em maior estabilidade da parede celular e, conseqüentemente, produz frutos mais firmes. Dessa forma, pode-se sugerir que frutos adubados com esses teores seriam suficientes para produzir frutos mais firmes e que provavelmente poderia manter um maior período pós-colheita. Na

maior dose de 150 g de  $K_2O$ , este maior abastecimento resultou em as taxas de captação mais elevadas, denominada ‘absorção de luxo’<sup>38</sup>, que eleva os custos da produção e reduz a qualidade e vida útil pós-colheita dos frutos.

Esse comportamento mostrou que a PME agiu, desesterificando os ácidos poligalacturônicos, ao mesmo tempo possibilitou a ação hidrolítica da PG pela disponibilização do seu substrato. Ainda assim, a pectina continuou sendo solubilizada, após a diminuição da atividade enzimática, indicando que outras enzimas podem estar envolvidas no processo de amaciamento da polpa de goiabas, tais como as celulasas e as  $\beta$ -galactosidases<sup>39</sup>. Tem sido proposto<sup>40</sup> que a metilesterificação pode impedir a degradação das pectinas mediada por PG na parede celular de alguns frutos e que uma parcial desesterificação pela PME é necessária para que a PG possa realizar uma contínua despolimerização. Portanto, o grau de metilesterificação das pectinas pode ser um fator de regulação do processo de maturação. Adicionalmente, em alguns frutos, nos quais não ocorre o amolecimento da polpa, isso tem sido relacionado a falhas na desmetoxilação o que, mais uma vez, diminuiu a ação da PG<sup>41</sup>.

Entretanto, Ali et al.<sup>34</sup>, avaliando a PG com o avanço da maturidade das cultivares de goiaba Beaumont e Kampuchea, reportaram um aumento da atividade, ao contrário do observado na goiaba ‘Paluma’ deste trabalho. No entanto, como esta enzima degradativa da parede celular, provavelmente não seja a principal fator responsável pelo amolecimento e em sendo a sua estrutura complexa, é provável que outras enzimas atuem em conjunto para modificar a textura do fruto.

A atividade da PPO foi acentuando-se à medida que sucederam-se os estádios de maturação (Tabela 6). Já com relação às doses, a 100 g apresentou menor atividade, mostrando que nessa dose houve a menor conversão dos compostos fenólicos em melanina, evidenciando assim o menor escurecimento oxidativo. Valores próximos foram reportados por Cheng et al. (2007), que ao estudar os efeitos da sonicação e carbonatação na qualidade do suco de goiaba, relataram que não houve diferença significativa na atividade de PPO para o controle e amostras carbonatadas. Baixos valores de oxidação, segundo esses autores, podem ser provenientes do desvio da rota do ácido chiquímico de produção de fenólicos, a partir de intermediários da glicólise para a síntese do ácido ascórbico. As oxidases, tais como a PPO, apresentam maior atividade em tecidos deficientes de K, nos quais se observa acúmulo de compostos nitrogenados solúveis, como aminoácidos, diaminas e nitrato<sup>38</sup>. Isso pode explicar a baixa atividade desta enzima, pois estas mudanças na atividade das enzimas em tecidos com suprimento adequado de potássio levam a mudanças típicas do conteúdo de metabólito,

sobretudo no aumento de carboidratos solúveis, reduzindo os teores de aminoácidos carregados positivamente, nitrato, ácidos orgânicos, aminoácidos carregado negativamente e piruvato <sup>42</sup>. Zanatta et al. <sup>25</sup> reportaram atividade da PPO na polpa de goiaba próximos de 1,51  $\Delta$ DO/min.mL, na variedade Paluma, derivada da variedade Rubi-Supreme produzidas na Região do Paraná.

**Tabela 6. Atividade da enzima polifenoloxidase (UAE.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K<sub>2</sub>O.**

Enzima	Estádio			Dose			<sup>2</sup> E X D	<sup>3</sup> CV %
	VA	AE	A	<sup>1</sup> 50	100	150		
PPO	0,46c	0,93b	1,27a	0,85ab	0,78b	1,03a	ns	20,25

Letras distintas, minúsculas nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Legenda: Legenda: <sup>1</sup>Doses: K<sub>2</sub>O: 1- 50 g de K<sub>2</sub>O; 2- 100 g de K<sub>2</sub>O; 3- 150 g de K<sub>2</sub>O, para doses de N e P de 150 g e 140 g de K<sub>2</sub>O, respectivamente. <sup>2</sup>Efeito de interação estágio x doses, ns=não significativo, \*\*=significativo a 1% pelo teste F; CV= Coeficiente de variação.

Ao avaliar o desdobramento dos teores de POD (Tabela 7) foram verificadas diferenças entre as atividades nos estádios e nas doses aplicadas.

**Tabela 7. Atividade da peroxidase na polpa de goiabas ‘Paluma’ colhidas nos estádios de maturação verde amarelo (VA), amarelo esverdeado (AE) e amarelo (A), de plantas submetidas a diferentes doses de K<sub>2</sub>O.**

Dose	Estádio de Maturação		
	VA	AE	A
<sup>1</sup> 50	1226,7Aa	1132,3Aa	1079,1Aa
100	920,7Aa	1000,2Aa	316,5Ba
150	1438,3Aa	1167,3Aa	105,1Bb

Letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Legenda: <sup>1</sup>Doses: K<sub>2</sub>O: 1- 50 g de K<sub>2</sub>O; 2- 100 g de K<sub>2</sub>O; 3- 150 g de K<sub>2</sub>O, para doses de N e P de 150 g e 140 g de K<sub>2</sub>O, respectivamente.

Ao avaliar o desdobramento dos estádios de maturação e doses de K em relação à atividade da POD, observou-se menor atividade em frutos do estágio amarelo (Tabela 7). Já com relação às doses, de maneira geral, a menor atividade da enzima foi observada na dose de 100 g de K<sub>2</sub>O, demonstrando que, frutos adubados com esta dose apresentaram um menor teor de oxidação da POD. Isso implica dizer que provavelmente houve um bloqueio a nível celular

no processo de oxidação dessa enzima. Sabe-se que o potássio é cofator de diversas enzimas, dentre elas, a peroxidase. Ele atua também como ativador da enzima fenilalanina amônio liase (PAL), que desencadeia reações levando à produção de vários compostos fenólicos<sup>42</sup> e, posteriormente, participa como cofator da enzima peroxidase, associada à polimerização de álcoois para a formação da lignina no final da rota do ácido chiquímico<sup>43</sup>. Quando uma planta submetida à estresses é adequadamente suprida de K, esta passa a apresentar maior resistência à tensão. Assim, um dos mecanismos para diminuição da resistência ao estresse sob deficiência de K é um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que resultam em estresse oxidativo<sup>43</sup>. Por sua vez, esses compostos estão relacionados à maior resistência das plantas aos patógenos<sup>44</sup>, o que confere maior estabilidade aos tecidos. Apesar de tal eficiente sistema de defesa, as células de plantas sofrem de dano oxidativo sob condições de estresse biótico e abiótico<sup>45</sup>. A acumulação de ROS ocorre tanto devido o excesso de produção<sup>46</sup> ou devido a disfunção do sistema de defesa antioxidante tornando os tecidos incapaz de removê-los completamente<sup>47,48</sup>. Portanto, isto pode ser um indicativo de que frutos do orindos de plantas adubados com 100 g de K<sub>2</sub>O, independente do estágio de maturação, apresentaram um menor estresse oxidativo.

Mondal et al.<sup>10</sup> reportaram aumento na atividade da POD para duas variedades de goiaba com o avanço da maturação e um posterior declínio dessa oxidação, devido ao acúmulo de hidroperóxidos lipídicos e de outras espécies reativas de oxigênio durante o amadurecimento dos frutos. Assim, os resultados apontam que o amadurecimento de goiaba pode ser acompanhado por um aumento progressivo estresse oxidativo/peroxidativo que induz sistema antioxidante, mas que não se prolonga até os estádios mais avançados de maturação. Por sua vez, a diminuição no pós-climatérico na atividade das enzimas antioxidantes pode refletir na disfunção celular ou em organelas específicas alterando a síntese ou/e degradação em resposta a supressão da ação do etileno<sup>49</sup>.

Em conjunto, estes resultados apontam que a dose de 100 g por planta de K<sub>2</sub>O resultou em maiores conteúdos de PT, PI, menor atividade das enzimas PME, PG e menor atividade das enzimas oxidativas PPO e POD, refletindo em maior estabilidade da parede celular e, possivelmente, em frutos da goiabeira 'Paluma' mais firmes e, portanto, como vida útil pós-colheita mais extensa. Adicionalmente, os resultados apresentados neste trabalho podem ser explorados como uma alternativa estratégia para ajustes das recomendações nutricionais para a cultura da goiabeira no estado da Paraíba, visando à produção de frutos mais resistentes ao manuseio na colheita, cuja consequente manutenção da qualidade e

aumento da vida útil resulte em redução das perdas pós-colheita e, portanto, no aumento do retorno financeiro para o produtor.

#### INFORMAÇÃO DO AUTOR

Corresponding Author: Silvanda de Melo Silva, Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita, CCA/UFPB, Caixa Postal 04, CEP 58397-000, Areia – PB, Brasil.

#### ABREVIATURAS USADAS

PT, pectina total; PI, pectina insolúvel; PS, pectina solúvel; %pec, porcentagem de solubilização de substâncias pécticas; PME, pectinametilesterase; PG, poligalacturonase; PPO, polifenoloxidase; POD, peroxidase.

#### REFERÊNCIAS

- <sup>(1)</sup>Hong, K.; Xie, J.; Zhang, L.; Sun, D.; Gong, D. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage. *Sci. Horticult.* **2012**, 144, 172–178.
- <sup>(2)</sup>Varmudy, V. Guava: potential untapped. Facts For You. [http://www.ffymag.com/admin/issuepdf/Guava\\_FFYApril-13.pdf](http://www.ffymag.com/admin/issuepdf/Guava_FFYApril-13.pdf), 2013.
- <sup>(3)</sup>Nimisha, S.; Kherwar, D.; Ajay, K. M.; Singh, B.; Usha, K. Molecular breeding to improve guava (*Psidium guajava* L.): Current status and future prospective. *Sci. Horticult.* **2013**, 164, p. 578–588.
- <sup>(4)</sup>LIMA, M. A. C.; BASSOI, L. H.; SILVA, D. J.; SANTOS, P. S.; PAES, P. C.; RIBEIRO, P. R. A.; DANTAS, B. F. Effects of levels of nitrogen and potassium on yield and fruit maturation of irrigated guava trees in the São Francisco valley. *Rev. Bras. Frutic.* **2008**, 30, 246–250.
- <sup>(5)</sup>Jain, N.; Dhawan, K.; Malhotra, S.; Singh, R. Biochemistry of fruit ripening of guava (*Psidium guajava* L.): compositional and enzymatic changes. *Plant. Food. Hum. Nutr.* **2003**, 58, 309–315.
- <sup>(6)</sup>Payasi, A.; Mishra, N. N.; Chaves, A. L. S.; Singh, R. Biochemistry of fruit softening: an overview. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* **2009**, 15, 103–113.



- <sup>(7)</sup>Brummell, D. A.; Harpster, M. H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. In: Plant Cell Walls. 6st ed.; Carpita, N. C., Campbell, M., M. Tierney., Eds.; Elsevier: Netherlands, 2001; Vol. 47, pp 311–340.
- <sup>(8)</sup>Abu-goukh, A. A.; Bashir, H. A. Changes in pectic enzymes and cellulase activity during guava fruit ripening. Food. Chem. **2003**, 83, 213–218.
- <sup>(9)</sup>Assis, S. A.; Lima, D. C.; Oliveira, O. M. M. F. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. Food Chem. **2001**, 74, 133–137.
- <sup>(10)</sup>Mondal, K.; Malhotra, S. P.; Jain, V.; Singh, R. Oxidative stress and antioxidant systems in grava (*Psidium guajava* L.) fruits during ripening. Physiol. Mol. Biol. Plants. **2009**, 15, 327–334.
- <sup>(11)</sup>Franco, F. C.; Prado, R. M.; Brachirolli, L. F.; Rozane, D. E. Curva de crescimento e marcha de absorção de macronutrientes em mudas de goiabeira. Rev. Bras. Ciênc. Solo. **2007**, 31, 1429–1437.
- <sup>(12)</sup>Bussakorn, S.M.; Daniel, P.S.; Michael, T.T.; Mark, R.T.. A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. Aust. J. Grape. Wine. Res. **2003**, 9, 154–168.
- <sup>(13)</sup>Brito, M.E.B.; Melo, A.; Lustosa, J.P.O.; Rocha, M.B.; Viégas, P.R.A.; Holanda, F.S.R. Rendimento e qualidade da fruta de maracujazeiro-amarelo adubado com potássio, esterco de frango e de ovino. Rev. Bras. Frutic. **2005**, 27, 260–263.
- <sup>(14)</sup>Dantas, B.F.; Pereira, M.P.; Ribeiro, L.S.; Maia, J.L.T.; Silva, D.J.; Duenhas, L.H.; Lima, M.A.C.; Bassoi, L.H. Metabolic responses of guava trees irrigated with different N and K levels in São Francisco Valley. Rev. Bras. Frutic. **2007**, 29, 323–328.
- <sup>(15)</sup>Linhares, L.A.; Santos, C. D. D.; Abreu, C. M. P. D.; Corrêa, A. D. Transformações químicas, físicas e enzimáticas de goiabas “Pedro Sato” tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e 1-metilciclopropeno e armazenados sob refrigeração. Ciênc. Agrotec. **2007**, 31, 829–841.
- <sup>(16)</sup>Vila, M. T. R.; Lima, L. C. D. O.; Vilas Boas, E. V. D. B.; Doll Hojo, E. T.; Rodrigues, L. J.; Paula, N. R. F. D. Chemical and biochemical characterization of guavas stored under refrigeration and modified atmosphere. Ciênc. Agrotec. **2007**, 31, 1435–1442.

- <sup>(17)</sup>Mendonça, R.D.; Ferreira, K.S.; Souza, L.M.; Marinho, C.S.; Teixeira, S.L. Características físicas e químicas de goiabas ‘Cortibel 1’ e ‘Cortibel 4’ armazenadas em condições ambientais. *Bragantia*. **2007**, 66, 685–692.
- <sup>(18)</sup> Silva, G.C. Qualidade de frutos da goiabeira ‘Paluma’ sob adubação nitrogenada e potássica. UFPB, CT, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. João Pessoa-PB, 2013. 102 fl.
- <sup>(19)</sup>Cavalini, F. C.; Jacomino, A. P., Lochoski, M. A., Kluge, R. A.; Ortega, E. M. M. Maturity indexes for 'Kumagai' and 'Paluma' guavas. *Rev. Bras. Frutic.* **2006**, 28, 176–179.
- <sup>(20)</sup>Mccready, R. M.; Mccomb, E. A. Extraction and determination of total pectic materials in fruit. *Anal. Chem.* **1952**, 24, 1586–1588.
- <sup>(21)</sup>Bitter, T.; Muir, H. M. A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal. Chem.* **1962**, 4, 330–334.
- <sup>(22)</sup>Jen, J. J.; Robinson, M. L. P. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *J. Food. Sci.* **1984**, 49, 1085–1087.
- <sup>(23)</sup>Markovic, O.; Heinrichová, K.; Lenkey, B. Pectolytic enzymes from banana. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1975**, 40, 769–774.
- <sup>(24)</sup>Nelson, N. A. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* **1944**, 135, 136–175.
- <sup>(25)</sup>Zanatta, C. L.; Zotarelli, M. F.; Clemente, E. Peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em polpa de goiaba (*Psidium guajava* R.). *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2006**, 26, 705–708.
- <sup>(26)</sup>Fujita, S.; Saari, N.; Maegawa, M.; Tetsuka, T.; Hayashi, N.; Tono, T. Purification and properties polyphenol oxidase from cabbage (*Brassica oleracea* L.). *J. Agric. Food Chem.* **1995**, 43, 1138–1142.
- <sup>(27)</sup>Campos, A. D.; Silveira, E. M. L. Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. Pelotas: Embrapa, 2003, 3p. Comunicado Técnico, 87.
- <sup>(28)</sup>SAS. 2007. SAS 9.1.3 (TS1M3) for Windows Microsoft. SAS Institute Inc., Cary, USA, sem paginação.
- <sup>(29)</sup>Beringer, H.; Haeder, H.; Lindhauer, M. Water relationships and incorporation of <sup>14</sup>C assimilates in tubers of potato differing in potassium nutrition. *Plant. Physiol.* **1983**, 73, 956–960.
- <sup>(30)</sup>Tong, C.; Krueger, D.; Vickers, Z.; Bedford, D.; Luby, J.; El-Shiekh, A.; Shackel, K.; Ahmadi, H. Comparison of softening-related changes during storage of ‘Honeycrisp’ apple, its parents and ‘Delicious’. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **1999**, 124, 407–415.

- <sup>(31)</sup>Lester, G. E.; Jifon, J. L.; Makus, D. J. Supplemental foliar potassium applications with or without a surfactant can enhance net-ted muskmelon quality. *Hort. Sci.* **2006**, 41, 741–744.
- <sup>(32)</sup>El Bulk, E.; Babiker, E. F. E.; El Tinay, A. H. Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. *Food chem.* **1997**, 59, 395–399.
- <sup>(33)</sup>Tsai, P. J.; Sun, Y.F.; Hsiao, S. M. Strengthening the texture of dried guava slice by infiltration of phenolic compounds. *Food. Res. Int.* **2010**, 43, 825–830.
- <sup>(34)</sup>Ali, Z. M.; Chin, L. H.; LAzan, H. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. *Plant Sci.* **2004**, 167, 317–327.
- <sup>(35)</sup>Das, A.; Majumder, K. Fractional changes of pectic polysaccharides in different tissue zones of developing guava (*Psidium guajava* L.) fruits. *Sci. Horticult.* **2010**, 125, 406–410.
- <sup>(36)</sup>Hager, A. Role of the plasma membrane H1-ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects. *J. Plant. Res.* **2003**, 116, 483–505.
- <sup>(37)</sup>Stiles, K. A.; Van Volkenburgh, E. Role of K1 in leaf growth: K1 uptake is required for light-stimulated H1 efflux but not solute accumulation. *Plant. Cell. Environ.* **2004**, 27, 315–325.
- <sup>(38)</sup>Marschner, P. Functions of Macronutrients. In: *Mineral nutrition of higher plants*, 3rd ed.; Petra Marschner, Ed.; Elsevier: Academic Press, New York, 2012; Vol. 89, pp 134–189.
- <sup>(39)</sup>Lazan, H.; Ali, Z. M. Cell wall hydrolases and their potential in the manipulation of ripening of tropical fruits. *Asean. Food. J.* **1993**, 8, 47–53.
- <sup>(40)</sup>Wakabayashi, K.; Hoson, T.; Huber, D. J. Methyl de-esterification as a major factor regulating the extent of pectin depolymerization during fruit ripening: a comparison of the action of avocado (*Persea americana*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) polygalacturonases. *J. Plant. Physiol.* **2003**, 160, 667–673.
- <sup>(41)</sup>Jiang, Y.M.; Li, Y.B.; Li, J.R. Effects of low temperature acclimation on browning of litchi fruit in relation to shelf life. *J. Hortic. Sci. Biotech.* **2003**, 78, 437–440.
- <sup>(42)</sup>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, 772–785.
- <sup>(43)</sup>Cakmak, I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2005**, 168, 521–530.

- <sup>(44)</sup> Thompson, Ian A.; Huber, Don M. Manganese and plant disease. In: Mineral nutrition and plant disease, 1st ed.; Elmer, Wade. H.; Hubert, Don M, Ed.; Elsevier: St. Paul, Minn.: American Phytopathological Society, 2007; Vol. 17, pp 139–153.
- <sup>(45)</sup> Apel, K.; Hirt, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2004**, 55, 373–399.
- <sup>(46)</sup> Del Rio, L.A; Pastori, G.M.; Palma, J.M.; Sandalio, L.M.; Sevilla, F.; Corpas, F.J.; Jimenez, A. Lopez-Huertas. F.; Hernandez. J.A. The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. *Plant. Physiol.* **1998**, 116, 1195–1200.
- <sup>(47)</sup> Kanazawa, S., Savo, S.; Koshiba, T.; Ushimaru, T. Changes in antioxidative enzymes in cucumber cotyledons during natural senescence: comparison with those during dark induced senescence. *Physiol. Plant.* **2000**, 109, 211–216
- <sup>(48)</sup> Palma, J.M.; Jimenez, R.; Sandalio, L.M.; Corpas, F.J.; Lundquist, M.; Gomez, M.; Sevilla, F.; Del Rio, L.A. Antioxidant enzymes from chloroplasts, mitochondria and peroxisomes during leaf senescence of pea plants. *J. Expt. Bot.* **2006**, 57, 1747–1753.
- <sup>(49)</sup> Zhang, Z.; Huber, D. J.; Rao, J. Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea Americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol. Technol.* **2013**, 76, 58-64.

#### **4 CONCLUSÕES**

A dose de 100 g de  $K_2O$  no estágio de maturação verde amarelo resultou em:

- Maiores teores de pectina total e pectina insolúvel no estágio AE;
- Menor atividade da PME no estágio AE e possivelmente frutos mais firmes;
- Menor atividade de PG no estágio A;

A dose de 100 g de  $K_2O$  no estágio de maturação amarelo resultou em:

- Menor atividade das enzimas POD e menor da PPO.

## **ANEXOS**

## 1 Analise estatística

### 1.1 Tukey

Dependent Variable: PPO PPO

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	3.40866119	0.42608265	13.23	<.0001
Error	18	0.57976280	0.03220904		
Corrected Total	26	3.98842398			

Dependent Variable: POD POD

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	4582778.826	572847.353	8.73	<.0001
Error	18	1180839.309	65602.184		
Corrected Total	26	5763618.135			

Dependent Variable: PT PT

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	7.77846952	0.97230869	30.16	<.0001
Error	18	0.58025496	0.03223639		
Corrected Total	26	8.35872448			

Dependent Variable: PS PS

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	1.43841633	0.17980204	1.59	0.1956
Error	18	2.03086717	0.11282595		
Corrected Total	26	3.46928349			

Dependent Variable: PI PI

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	8.99147506	1.12393438	39.62	<.0001

Error	18	0.51068537	0.02837141
Corrected Total	26	9.50216044	

Dependent Variable: PME PME

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	193815.3619	24226.9202	14.69	<.0001
Error	18	29694.9084	1649.7171		
Corrected Total	26	223510.2704			

Dependent Variable: PG PG

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	21268.53882	2658.56735	44.59	<.0001
Error	18	1073.27103	59.62617		
Corrected Total	26	22341.80985			

Dependent Variable: Psolubil Psolubil

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	6368.26148	796.03269	3.28	0.0173
Error	18	4366.82343	242.60130		
Corrected Total	26	10735.08491			

#### Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PPO

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05

Error Degrees of Freedom 18

Error Mean Square 0.032209

Critical Value of Studentized Range 3.60930

Minimum Significant Difference 0.2159

Means with the same letter are not significantly different.



Tukey Grouping	Mean	N	Est
A	1.26700	9	5
B	0.93166	9	4
C	0.45890	9	3

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for POD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	18
Error Mean Square	65602.18
Critical Value of Studentized Range	3.60930
Minimum Significant Difference	308.15

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Est
A	1195.2	9	3
A			
A	1099.9	9	4
B	500.2	9	5

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PT

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	18
Error Mean Square	0.032236
Critical Value of Studentized Range	3.60930
Minimum Significant Difference	0.216

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping		Mean	N	Est
----------------	--	------	---	-----

A	2.52642	9	4	
---	---------	---	---	--

A				
---	--	--	--	--

A	2.48795	9	3	
---	---------	---	---	--

B	2.22000	9	5	
---	---------	---	---	--

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PS

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
-------	------

Error Degrees of Freedom	18
--------------------------	----

Error Mean Square	0.112826
-------------------	----------

Critical Value of Studentized Range	3.60930
-------------------------------------	---------

Minimum Significant Difference	0.4041
--------------------------------	--------

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping		Mean	N	Est
----------------	--	------	---	-----

A	1.1935	9	4	
---	--------	---	---	--

A				
---	--	--	--	--

A	1.0500	9	3	
---	--------	---	---	--

A				
---	--	--	--	--

A	1.0035	9	5	
---	--------	---	---	--

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
-------	------

Error Degrees of Freedom	18
--------------------------	----

Error Mean Square	0.028371
-------------------	----------

Critical Value of Studentized Range 3.60930

Minimum Significant Difference 0.2026

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Est
A	1.59457	9	3
A			
A	1.42710	9	4
B	1.10572	9	5

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PME

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05

Error Degrees of Freedom 18

Error Mean Square 1649.717

Critical Value of Studentized Range 3.60930

Minimum Significant Difference 48.866

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Est
A	558.06	9	3
A			
A	513.28	9	5
B	406.00	9	4

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PG

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05

Error Degrees of Freedom 18  
 Error Mean Square 59.62617  
 Critical Value of Studentized Range 3.60930  
 Minimum Significant Difference 9.2901

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Est
A	114.160	9	3
B	94.153	9	4
C	53.411	9	5

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Psolubil

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05  
 Error Degrees of Freedom 18  
 Error Mean Square 242.6013  
 Critical Value of Studentized Range 3.60930  
 Minimum Significant Difference 18.739

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Est
A	55.334	9	4
A			
A	45.062	9	5
A			
A	42.040	9	3

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PPO

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05  
 Error Degrees of Freedom 18  
 Error Mean Square 0.032209  
 Critical Value of Studentized Range 3.60930  
 Minimum Significant Difference 0.2159

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Trat
A	1.02930	9	11
A			
B A	0.84915	9	9
B			
B	0.77912	9	10

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for POD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05  
 Error Degrees of Freedom 18  
 Error Mean Square 65602.18  
 Critical Value of Studentized Range 3.60930  
 Minimum Significant Difference 308.15

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Trat
A	1146.0	9	9
A			
B A	903.5	9	11
B			
B	745.8	9	10

The SAS System

### The GLM Procedure

#### Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PT

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	18
Error Mean Square	0.032236
Critical Value of Studentized Range	3.60930
Minimum Significant Difference	0.216

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Trat
A	2.79804	9	10
B	2.28366	9	11
B			
B	2.15267	9	9

### The SAS System

#### The GLM Procedure

#### Tukey's Studentized Range (HSD) Test for OS

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	18
Error Mean Square	0.112826
Critical Value of Studentized Range	3.60930
Minimum Significant Difference	0.4041

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Trat
A	1.2193	9	9
A			
A	1.1127	9	11

A

A 0.9149 9 10

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05

Error Degrees of Freedom 18

Error Mean Square 0.028371

Critical Value of Studentized Range 3.60930

Minimum Significant Difference 0.2026

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Trat
A	1.89783	9	10
B	1.15974	9	11
B			
B	1.06981	9	9

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PME

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05

Error Degrees of Freedom 18

Error Mean Square 1649.717

Critical Value of Studentized Range 3.60930

Minimum Significant Difference 48.866

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Trat
----------------	------	---	------

A	550.72	9	11
B	466.52	9	9
B			
B	460.11	9	10

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PG

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	18
Error Mean Square	59.62617
Critical Value of Studentized Range	3.60930
Minimum Significant Difference	9.2901

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Trat
A	93.949	9	10
A			
A	93.244	9	9
B	74.530	9	11

The SAS System

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Psolubil

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	18
Error Mean Square	242.6013
Critical Value of Studentized Range	3.60930
Minimum Significant Difference	18.739



Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Trat
A	59.155	9	9
A			
B A	49.212	9	11
B			
B	34.070	9	10

## 1.2 Desdobramento de PT e PI

The SAS System

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Est	3	3 4 5
Trat	3	9 10 11
Number of Observations Read		27
Number of Observations Used		27

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: PT PT

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	7.77846952	0.97230869	30.16	<.0001
Error	18	0.58025496	0.03223639		
Corrected Total	26	8.35872448			

Dependent Variable: PI PI

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	8.99147506	1.12393438	39.62	<.0001
Error	18	0.51068537	0.02837141		
Corrected Total	26	9.50216044			

## The SAS System

## The GLM Procedure

## Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

## LSMEAN

Est	Trat	PT LSMEAN	Number
3	9	2.51738019	1
3	10	2.62088536	2
3	11	2.32558510	3
4	9	1.54966671	4
4	10	3.68611827	5
4	11	2.34346510	6
5	9	2.39095561	7
5	10	2.08710882	8
5	11	2.18193481	9

Least Squares Means for effect Est\*Trat

Pr &gt; |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: PT

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		0.9980	0.9161	<.0001	<.0001	0.9495	0.9925	0.1444	0.3968
2	0.9980		0.5531	<.0001	<.0001	0.6267	0.8091	0.0382	0.1300
3	0.9161	0.5531		0.0013	<.0001	1.0000	0.9999	0.7793	0.9832
4	<.0001	<.0001	0.0013		<.0001	0.0010	0.0005	0.0363	0.0097
5	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
6	0.9495	0.6267	1.0000	0.0010	<.0001		1.0000	0.7117	0.9665
7	0.9925	0.8091	0.9999	0.0005	<.0001	1.0000		0.5184	0.8736
8	0.1444	0.0382	0.7793	0.0363	<.0001	0.7117	0.5184		0.9989
9	0.3968	0.1300	0.9832	0.0097	<.0001	0.9665	0.8736	0.9989	

## LSMEAN

Est	Trat	PI LSMEAN	Number
3	9	1.40816304	1
3	10	1.78336299	2
3	11	1.59217612	3

4	9	0.48281470	4
4	10	2.58377517	5
4	11	1.21472452	6
5	9	1.31846348	7
5	10	1.32636547	8
5	11	0.67232189	9

The SAS System

The GLM Procedure

Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

Least Squares Means for effect Est\*Trat

Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: PI

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		0.2052	0.9064	<.0001	<.0001	0.8813	0.9989	0.9994	0.0011
2	0.2052		0.8876	<.0001	0.0004	0.0140	0.0635	0.0709	<.0001
3	0.9064	0.8876		<.0001	<.0001	0.1998	0.5676	0.6023	<.0001
4	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	0.0012	0.0003	0.0002	0.8922
5	<.0001	0.0004	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
6	0.8813	0.0140	0.1998	0.0012	<.0001		0.9969	0.9949	0.0208
7	0.9989	0.0635	0.5676	0.0003	<.0001	0.9969		1.0000	0.0044
8	0.9994	0.0709	0.6023	0.0002	<.0001	0.9949	1.0000		0.0039
9	0.0011	<.0001	<.0001	0.8922	<.0001	0.0208	0.0044	0.0039	

### 1.3 Desdobramento da PME e PG

The SAS System

The GLM Procedure

Class Level Information

Class      Levels   Values

Est            3   3 4 5

Trat           3   9 10 11

Number of Observations Read      27

Number of Observations Used      27

The SAS System  
The GLM Procedure

Dependent Variable: PME PME

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	193815.3619	24226.9202	14.69	<.0001
Error	18	29694.9084	1649.7171		
Corrected Total	26	223510.2704			

Dependent Variable: PG PG

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	21268.53882	2658.56735	44.59	<.0001
Error	18	1073.27103	59.62617		
Corrected Total	26	22341.80985			

Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

LSMEAN

Est	Trat	PME LSMEAN	Number
3	9	472.918285	1
3	10	583.492278	2
3	11	617.776409	3
4	9	387.853491	4
4	10	370.924370	5
4	11	459.229692	6
5	9	538.793112	7
5	10	425.904977	8
5	11	575.153122	9

Least Squares Means for effect Est\*Trat

Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: PME

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		0.0694	0.0087	0.2662	0.1124	1.0000	0.5699	0.8769	0.1109

2	0.0694		0.9768	0.0004	0.0001	0.0309	0.9030	0.0039	1.0000
3	0.0087	0.9768		<.0001	<.0001	0.0037	0.3490	0.0005	0.9233
4	0.2662	0.0004	<.0001		0.9998	0.4719	0.0059	0.9579	0.0006
5	0.1124	0.0001	<.0001	0.9998		0.2282	0.0021	0.7626	0.0002
6	1.0000	0.0309	0.0037	0.4719	0.2282		0.3405	0.9804	0.0508
7	0.5699	0.9030	0.3490	0.0059	0.0021	0.3405		0.0607	0.9674
8	0.8769	0.0039	0.0005	0.9579	0.7626	0.9804	0.0607		0.0066
9	0.1109	1.0000	0.9233	0.0006	0.0002	0.0508	0.9674	0.0066	

## LSMEAN

Est	Trat	PG LSMEAN	Number
3	9	116.756239	1
3	10	113.918893	2
3	11	111.803778	3
4	9	107.026787	4
4	10	110.122892	5
4	11	65.307851	6
5	9	55.949235	7
5	10	57.805592	8
5	11	46.478463	9

The SAS System

The GLM Procedure

Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

Least Squares Means for effect Est\*Trat

Pr &gt; |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: PG

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		0.9999	0.9959	0.8215	0.9743	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
2	0.9999		1.0000	0.9680	0.9994	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
3	0.9959	1.0000		0.9968	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
4	0.8215	0.9680	0.9968		0.9999	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
5	0.9743	0.9994	1.0000	0.9999		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

6	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.8487	0.9487	0.1318
7	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.8487	1.0000	0.8407
8	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9487	1.0000	0.6839
9	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1318	0.8407	0.6839

#### 1.4 Desdobramento da POD

The SAS System

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
-------	--------	--------

Est	3	3 4 5
-----	---	-------

Trat	3	9 10 11
------	---	---------

Number of Observations Read	27
-----------------------------	----

Number of Observations Used	27
-----------------------------	----

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: PPO PPO

Sum of

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	3.40866119	0.42608265	13.23	<.0001
Error	18	0.57976280	0.03220904		
Corrected Total	26	3.98842398			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	PPO Mean		
0.854639	20.25939	0.179469	0.885855		

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: POD POD

Sum of

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	4582778.826	572847.353	8.73	<.0001
Error	18	1180839.309	65602.184		
Corrected Total	26	5763618.135			

The SAS System

## The GLM Procedure

## Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

## LSMEAN

Est	Trat	PPO LSMEAN	Number
3	9	0.33795380	1
3	10	0.44910103	2
3	11	0.58964143	3
4	9	0.96456502	4
4	10	0.69194943	5
4	11	1.13846923	6
5	9	1.24492191	7
5	10	1.19630258	8
5	11	1.35978836	9

Least Squares Means for effect Est\*Trat

Pr &gt; |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

## Dependent Variable: PPO

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		0.9968	0.7295	0.0105	0.3325	0.0009	0.0002	0.0004	<.0001
2	0.9968		0.9853	0.0487	0.7629	0.0043	0.0010	0.0019	0.0002
3	0.7295	0.9853		0.2688	0.9982	0.0310	0.0070	0.0139	0.0014
4	0.0105	0.0487	0.2688		0.6459	0.9494	0.6141	0.8026	0.2159
5	0.3325	0.7629	0.9982	0.6459		0.1183	0.0293	0.0564	0.0059
6	0.0009	0.0043	0.0310	0.9494	0.1183		0.9976	1.0000	0.8370
7	0.0002	0.0010	0.0070	0.6141	0.0293	0.9976		1.0000	0.9960
8	0.0004	0.0019	0.0139	0.8026	0.0564	1.0000	1.0000		0.9640
9	<.0001	0.0002	0.0014	0.2159	0.0059	0.8370	0.9960	0.9640	

## LSMEAN

Est	Trat	POD LSMEAN	Number
3	9	1226.64567	1
3	10	920.67748	2
3	11	1438.22443	3

4	9	1132.26437	4
4	10	1000.13123	5
4	11	1167.28517	6
5	9	1079.08497	7
5	10	316.46904	8
5	11	105.09804	9

The SAS System

The GLM Procedure

Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

Least Squares Means for effect Est\*Trat

Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: POD

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		0.8581	0.9796	0.9999	0.9696	1.0000	0.9980	0.0090	0.0011
2	0.8581		0.3051	0.9796	1.0000	0.9511	0.9968	0.1564	0.0227
3	0.9796	0.3051		0.8581	0.5053	0.9201	0.7297	0.0011	0.0001
4	0.9999	0.9796	0.8581		0.9991	1.0000	1.0000	0.0226	0.0028
5	0.9696	1.0000	0.5053	0.9991		0.9954	1.0000	0.0785	0.0104
6	1.0000	0.9511	0.9201	1.0000	0.9954		1.0000	0.0161	0.0020
7	0.9980	0.9968	0.7297	1.0000	1.0000	1.0000		0.0377	0.0048
8	0.0090	0.1564	0.0011	0.0226	0.0785	0.0161	0.0377		0.9797
9	0.0011	0.0227	0.0001	0.0028	0.0104	0.0020	0.0048	0.9797	

## 1.5 Correlação

The SAS System

The CORR Procedure

4 Variables: PT OS PI Psolubil

Simple Statistics

Variable	N	Mean	Std Dev	Sum	Minimum	Maximum	Label
PT	27	2.41146	0.56700	65.10930	1.39799	3.88374	PT
OS	27	1.08231	0.36529	29.22225	0.51213	1.94833	OS
PI	27	1.37580	0.60454	37.14650	0.31089	2.64544	PI



Psolubil      27    47.47871    20.31964      1282    22.23559    93.84313    Psolubil

Pearson Correlation Coefficients, N = 27

Prob > |r| under H0: Rho=0

	PT	OS	PI	Psolubil
PT	1.00000	-0.08341	0.87179	-0.56444
PT		0.6791	<.0001	0.0022
OS	-0.08341	1.00000	-0.30220	0.82802
OS	0.6791		0.1255	<.0001
PI	0.87179	-0.30220	1.00000	-0.66901
PI	<.0001	0.1255		0.0001
Psolubil	-0.56444	0.82802	-0.66901	1.00000
Psolubil	0.0022	<.0001	0.0001	

## 2 Artigo em inglês

### **‘MODIFICAÇÃO NA PAREDE CELULAR E NAS ENZIMAS DO METABOLISMO OXIDATIVO EM FRUTOS DA GOIABEIRA ‘PALUMA’ DURANTE A MATURAÇÃO SOB A ADUBAÇÃO POTÁSSICA’**

**‘Modification in the cell wall and in the enzymes of oxidative metabolism in ‘Paluma’ guava fruits during maturation under potassium fertilization’**

**Aline Priscilla Gomes da Silva<sup>1</sup>, Silvanda de Melo Silva<sup>2</sup>**

#### **Resumo**

A goiabeira é uma importante frutífera no Brasil, cuja fertilidade do solo tem implicação direta com a qualidade e vida útil pós-colheita de seus frutos. Neste sentido, avaliou-se goiabas da cultivar ‘Paluma’ submetidas a três doses de K, em três estádios de maturação, com o objetivo de determinar as mudanças nos conteúdos de substâncias pécicas (PT; PS; PI) e porcentagem de pectinas (%pec), nas atividades da parede celular (PME e PG) e das enzimas oxidativas (PPO e POD). Os frutos foram avaliados em estádios estabelecidos de acordo com a coloração da casca durante o seu amadurecimento. A dose de 100 g por planta de K apresentou maiores conteúdos de PT, PI, menor atividade da PME, PG e menor atividade das enzimas oxidativas, refletindo em maior resistência da parede celular e, possivelmente, em maior vida útil pós-colheita dos frutos.

#### **Abstract**

The guava tree is an important fruit tree in Brazil, whose soil fertility is directly implicated in the quality and postharvest life of its fruits. In this sense, ‘Paluma’ guava cultivar was evaluated and subjected to three doses of K in three maturity stages, with the goal of determining the changes in pectin contents (Total Pectin, Soluble Pectin, and Insoluble Pectin), and percentage of pectins (%pec), in the activity of the cell wall enzymes (PME and PG), and in oxidative metabolism enzymes (PPO and POD). Fruits were evaluated in three maturity stages based on the coloration of the skin. The dose of 100 g of K per plant showed higher contents of PT, PI, lower activity of PME, PG, and lower oxidative enzyme activity, reflecting the greater resistance of the cell wall and possibly the maintenance of postharvest life of the fruit.

**Index terms:** Cell wall metabolism, quality, maturity stages, oxidation enzymes.

<sup>1</sup>Agronomist. Master’s student of the Graduate Studies Program in Food Science and Technology, PPGCTA/CT/UFPB, alinepgsilva@gmail.com.<sup>2</sup>Ph.D., Assoc.Prof IV, Lab. Of Biology e Postharvest Technology, DCFS/CCA/UFPB, Areia – PB, silvasil@cca.ufpb.br.

## INTRODUCTION

The guava tree (*Psidium guajava* L.) is a fruit tree widespread in tropical and subtropical regions around the world (HONG et al., 2012), with particular attention being given to Brazil, Mexico, Thailand, Peru and the Philippines, which are the largest exporters of fresh fruit and processed products (VARMUDY, 2013). It is popularly known because of their yearly availability, their nutritional value and medicinal value, suitability for transport, handling and consumer preference (NIMISHA et al., 2013). This fruit has a wide acceptance in domestic and foreign markets, due to the pleasant flavor, strong aroma and quality recognized nutraceuticals (LIMA et al., 2008).

The guava ripening involves changes in color, taste and texture, making them more acceptable for edible purposes (JAIN et al. 2003), involving disaggregation of cell wall polymers, such as cellulose, hemicellulose and pectin (PAYASI et al., 2009). Several enzymes are known for catalyzing different aspects of pectin degradation, the main fruits are found in the pectin methylesterase (PME), polygalacturonase (PG) of endo (EC 3.2.1.15) and exo (CE 3.2.1.67) types and  $\beta$ -galactosidase (EC 3.2.1.23) (BRUMMEL; HARPSTER, 2001; ABU-GOUKH; BASHIR, 2003). Pectinmethylesterase (PME) prepares the substrate for the action of polygalacturonase (PG). PME catalyzes the demethylation of the C6 from carboxylic group of waste galacturosyl, de-esterifying it. Thus, PG only catalyzes the hydrolysis of  $\alpha$ -1,4 bonds of galacturonic acid when it is de-esterified (ASSIS et al., 2001). The mechanism of membrane damage and loss of tissue structure during ripening may also be considered similar to the characterized ones in real senescent systems involving the accumulation of ROS and increased activity of the enzymes of oxidative metabolism (MONDAL et al., 2009).

As an essential element for all living organisms, potassium (K) is one of the nutrients most needed by guava (FRANCO et al., 2007). It is of utmost importance in many metabolic and quality processes and it is recognized as a “quality element”. K acts as an activator or co-enzymes of many enzymes, neutralizing anion, cell swelling mechanism, transport of carbohydrates and it is recognized as a determinant of fruit quality (BUSSAKORN et al., 2003; BRITO et al., 2005), by increasing, through the transport of assimilates, fruit weight, intensifying the taste and aroma as well as increasing the storage capacity (LIMA et al., 2008). In guava 'Paluma', K rates induced higher productivity, but in general, it did not affect the levels of sugar and protein contents in their leaves (DANTAS et al., 2007).

Most research on guava reports changes in physical, physico-chemical, chemical parameters, bioactive compounds and storage during ripening relating to the quality of the

fruit. Santos et al. (2011) analyzed 59 fruits of guava trees (*Psidium guajava*) arising out of the germplasm bank access, experimental field of the Brazilian Agricultural Research Agency (EMBRAPA/Semi-arid). Several parameters such as physical, physico-chemical, chemical and bioactive compounds were evaluated. Therefore, this work has to meet, at least at the initial level, the lack of information on the use of fertilizers and their behavior in the postharvest fruits.

Research which studies the interaction of mineral nutrition with the enzymes activity associated with cell wall and the endocarp degradation, in guava fruits may contribute to a greater understanding of the rapid loss of firmness, and it may subsidize fertilizer adjustments in order to reduce softening rates of guava and susceptibility to browning, thus facilitating the adoption of technologies that extend the postharvest life of the fruit.

Therefore, we aimed to evaluate the changes in cell walls and oxidation enzymes of phenolic compounds in fruit pulp of 'Paluma' guava tree harvested at three maturity stages under the influence of potassium doses.

## METHODOLOGY

### Obtaining fruits

Guava trees (*Psidium guajava* L.) from cultivar 'Paluma' were grown in a red-yellow podzolic loam soil of medium texture at a spacing of 5 m x 6 m without irrigation, located in the city of Alhambra, Paraíba State, Brazil. They were subjected to three different doses of potassium at the field level, and the following doses of K were applied: 1-50 g of K<sub>2</sub>O; 2-100 g of K<sub>2</sub>O, 3-150 g of K<sub>2</sub>O at doses of N and P of 150 g and 140 g, respectively. The sources of N, P and K were urea, potassium chloride and MAP, respectively. They were applied at the stage of fruit growth. The doses used are in accordance with the method proposed by Smith (2013). By the absence of information with regard to fertilization rates in Paraíba state, these values are used according to the manual of fertilization of Pernambuco.

The fruits were harvested when the plants were 16 months of age, early in the morning, manually, placed in polyethylene boxes previously sanitized and transported to the Laboratory of Biology and Postharvest Technology, at Federal University of Paraíba. Fruit maturation was evaluated in three maturity stages, according Cavalini et al. (2004) 1 (green yellow (VA)), 2 (greenish yellow (AE)) and 3 (yellow (A)).

### **Preparing the samples**

In order to carry out the laboratory tests, nine fruits of each treatment were removed and separated into groups of three fruits. All fruits were chopped, the endocarp (pulp with seeds) has been removed, then they were homogenized in a blender by taking care not to grind the seeds. The homogenized pulp with seeds was filtered through a nylon sieve (with pores of approximately 1mm<sup>2</sup>) for removal of the seeds and it was stored at -18 °C until the time of analysis.

### **Total and soluble pectin**

The extraction of pectic substances was performed according to the technique described by McCready; McComb (1952). The colorimetric determination was performed by reaction with carbazole, by using the technique of Bitter; Muir (1962). The results were expressed in % of galacturonic acid per 100 g of pulp. The absorbance reading was performed in a spectrophotometer at a wavelength of 540 nm.

### **Percentage of solubilization**

The calculation of the percentage of solubilization was made from the data of total and soluble pectin, from the following equation: % solubilization = (soluble pectin / total pectin) x 100.

### **Enzymatic activities:**

#### **Activity of pectin methylesterase (PME)**

It was determined according to Jen, Robinson (1984), by using as substrate a solution of citrus pectin at 1% in NaCl 0.2 mol.L<sup>-1</sup>, pH 7.0 at 30 ° C. One unit of PME was defined as the amount of enzyme capable of catalyzing the demethylation of pectin corresponding to the consumption of 1 nmol of NaOH per minute, per gram of tissue, under the test conditions. The results were expressed in mU/g of pulp.

#### **Polygalacturonase Activity (PG)**

The enzymatic activity of PG was determined by Markovic et al. (1975), and consists of the hydrolysis of pectic substances and, consequently, the release of reducing groups.

These were dosed by the technique of Somogyi adapted by Nelson (1944). One activity unit of PG was defined as the amount of enzyme able to catalyze the formation of 1 nmol of reducing sugar per minute per gram of tissue under test conditions.

### **Extraction of peroxidase (POD) and polyphenol (PPO):**

They were prepared according to the methodology Zanatta et al. (2006) with the following changes: guava extracts were prepared by weighing 5 g of pulp, which was homogenized with 10 mL of sodium phosphate buffer 100 mM in pH 6.3 for peroxidase and pH 6.8 for the polyphenol oxidase. Before homogenization, polyvinylpyrrolidone (PVPP) and 5% calcium chloride were added to prevent the action of phenols and pectin. The solution was filtered through filter paper and the filtrate was collected in beaker in an ice bath. The filtrate was centrifuged at 9,000 rpm at 4 °C for 20 min. The supernatant was frozen at -18 °C and the residues were discarded.

### **Polyphenol oxidase activity (PPO)**

The activity of the PPO was determined according to the method described by Fujita et al. (1995). The results were expressed in  $\text{UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , calculated by the following formula:  $((\text{Abs}/T)/0.001)/(P \times A/V)$ , where Abs = absorbance of the filtrate at 395 nm; T = incubation time; 0.001 conversion factor for UAE, P = weight of pulp used for obtaining enzyme extract, A = aliquot of the extract used, and V = volume of phosphate buffer used to obtain the extract. All procedures were performed at 4 °C.

### **Peroxidase Activity (POD)**

The activity of POD was determined by the method described by Fields and Silveira (2003). Enzyme activity is expressed in enzymatic units (EU). The absorbance reading was performed in a spectrophotometer at a wavelength of 450 nm. The enzyme activity was calculated by using the same formula used for the polyphenol oxidase and the whole procedure was performed at 4 °C.

### **Statistical analysis**

The experimental design was completely randomized in a factorial scheme 3 x 3 (potassium dose x maturity stage), and the replication is composed by three plants. Data were

subjected to analysis of variance (ANOVA), and means were compared by Tukey test at 5% significance level, using the SAS statistical package version 9.1.

## RESULTS AND DISCUSSION

The contents of pectin in guava fruits during ripening that are mentioned in the literature are the order ranging from 0.34% to 2.4% (EL BULK et al., 1997; CARVALHO et al., 2001; LINHARES et al., 2007; MENDONÇA et al., 2007).

When the split of total pectin was evaluated, differences between the stages and the doses (Table 2) were observed. All three doses showed different behavior between them. Except for the dose of 150 kg ha<sup>-1</sup>, whose contents of PT remained constant (2.33% in the stage VA and 2.34% in the stage AE and 2.18% in stage A). The dose of 50 g showed 2.52% in the stage VA, 1.55% in the stage AE and 2.39% in stage A. As for the dose of 100 g all stages had distinct behavior, where the stage AE showed higher content of pectin (3.69%), followed of 2.62% in VA and 2.09% in the stage A. What we can say is that the dose of 100 g had fruits with higher percentage of pectic substances, and the behavior of its solubilization was lower in stage A, when the fruit has become fully mature, i.e., when it reached its physiological maturity itself.

However, when the stages within doses are analyzed, it is possible to see that the percentage of PT for the stage VA and the stage A did not differ, and average values of 2.39 and 2.22% were found, respectively. However, the PT stage AE was above the other, with mean values of 3.69, 2.34 and 1.55% for doses 100, 150, and 50 g, respectively. However, the PT stage AE was above the others, with mean values of 3.69, 2.34 and 1.55% for doses of 100, 150, and 50 g, respectively. By demonstrating that fruit harvested at stage AE and fertilized with 150 g of K yielded fruits with higher content of pectin, which implies a greater maintenance of firmness, which consists mainly due to the polymers of pectin, which can be methylated, with varying methylation degrees, and it consequently can provide a greater postharvest of fruit. The levels found in the present studies are corroborating the findings of Mendonça et al. (2007) when by analyzing guavas 'Cortibel 1' and 'Cortibel 4' stored in environmental conditions, they found that pectin levels increased from approximately 1.2 % to 2.3%, from 2nd to 16th day after harvest. In turn, BULK et al. (1997) observed average values of total pectin ranging from 0.6% to 1.1% for genotypes 'Shambati', 'Pakistani', 'Shendi' and 'Ganib'.

**Table 2.** Total Pectin – PT (%), Insoluble Pectin – PI (%) in the pulp of ‘Paluma’ guavas harvested at maturity green yellow (VA), greenish yellow (AE) and yellow (A) stages, of plants subjected to different doses of K.

		Stage		
Pectin		VA	AE	A
PT				
Doses	<sup>1</sup> 50	2.52Aa	1.55Bc	2.39Aa
	100	2.62Ba	3.69Aa	2.09Ca
	150	2.33Aa	2.34Ab	2.18Aa
PI				
Doses	50	1.41Aa	0.48Bc	1.31Aa
	100	1.78Ba	2.58Aa	1.33Ba
	150	1.59Aa	1.21Ab	0.67Bb

Different letters, with capital letters in the lines and lower case letters in the columns, are different through Tukey test at 5% of probability. Caption: <sup>1</sup>Doses: 1-150 g of N + 50 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 2-150 g of N + 100 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 3-150 g of N + 150 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

In the analysis of variance of the levels of insoluble pectin, differences between the stages and the doses (Table 2) were observed. For doses 50 g or 100 g we can observe that there was an inverse behavior. The one containing 50 g showed 1.41% in the stage VA and 0.48% in the stage AE and showed higher contents (1.31%) in stage A, thus, the stages VA and A were statistically equal, being different from stage AE. As for the one containing 100 g, the highest levels of PI were observed in stage AE, being statistically different from the others. The stages VA and A were statistically equal to that dose, and showed levels of 1.78 and 1.33%, respectively. However, when the behavior for fruit fertilized with 150 g was assessed, we can see that its PI content was decreasing over the following maturity stages, and verifying that the stage VA showed mean values of 1.59% and stage A of 0.67%. Just in the dose of 50 g PI levels have not reduced over ripening, according to the literature, the tendency is that the levels of insoluble pectin decrease, however, there are several factors that may influence, among them, the cultivar and growing conditions. This may have also happened because the protopectinases not act properly among the doses.

When the stages within doses were evaluated, it is possible to see that there was no significant statistical difference in stage VA when compared with the doses, with values of average contents of 1.59%. In stage AE, the one containing 100 g presented higher



concentrations (2.58%) when evaluated with the VA (0.48%) and A (1.21%) stages. As for stage A, it is observed that the stages VA and LA showed average values of 1.33%, being statistically equal and distinct from stage A (0.67%). Both for PT and PI it can be observed that the fruits of the dose containing 100 g of K, demonstrating that these fruits had higher levels, and it can be deduced that these fruits had higher levels of pectin. The increase of cell wall components in the mature phase may be due to moisture loss or softening of the fruit, resulting in an increased proportion (JAIN et al., 2003). These values are consistent with those found by Tsai et al. (2010) when they analyzed the insoluble fraction of Jen-Ju-Bar guava fruit, where levels of 1.83% were obtained. When Ali et al. (2004) studied the changes in levels of pectinases activities and pectin contents in different fruits, they observed that there was no reduction in pectin content in 'Kampuchea' guava, but they did in 'Beaumont' and other fruits studied (bananas, tomatoes, starfruit and papaya). However, when they have analyzed the pattern of fruit ripening, they concluded that the loss of firmness of the fruits does not only occur by changing pectin cell wall, but also by degradation of other components, e.g., starch and cellulose.

By analyzing the doses regarding the pectic fractions, it can be stated that the dose referred to 100 g of K produced fruits with higher levels of PT and PI. Thus, one may suggest that fruits fertilized with these levels would be sufficient to produce firmer fruits and that the dose of 150 g of K could be avoided by decreasing spending on production of these fruits.

The soluble fraction of pectin (PS) did not differ between maturation stages or between K rates applied. The levels showed mean values that ranged from 1.00 to 1.19% for stages and 0.91 to 1.22% among the different doses of K. It can be stated, therefore, that the soluble pectin content did not change during the maturation and among K rates applied (Table 3), indicating a dynamics of soluble and insoluble fractions. Among the stages, the levels of soluble pectin increased until the stage AE and decreased in fruits which showed yellow color. It is noted that there was saturation solubility in the stage AE and a decrease in stage A. It is observed in the doses that there was a decrease in the dose of 100 g and an increase of solubilization in yellow fruit. By demonstrating that in this dose the fruits showed lower and slower solubilization levels, increasing in stage A, which possibly contributed to the higher softening of these fruits. Das and Majumder (2010) reported that in guava cv. Allahabad Safeda the soluble fraction of pectin increases during ripening, in a process attributed to the action of pectolytic enzymes. The fraction of soluble pectin indicates the softening of the

fruit, which is due to the fact that the pectic substances are degraded at soluble galacturonic acid.

**Table 3.** Total Pectin – PT (%) and Pectin percentage (%Pec.) in the pulp of ‘Paluma’ guavas harvested at green yellow (VA), greenish yellow (AE) and yellow (A) maturity stages, of plants subjected to different doses of K.

Pectin	Stage			Dose			<sup>2</sup> E X D	CV%
	VA	AE	A	<sup>1</sup> 50	100	150		
PS	1.05a	1.19a	1.00a	1.22a	0.91a	1.11a	ns	31.03
%Sol.	42.0a	55.3a	45.1a	59.2a	34.0b	49.2ab	ns	32.80

Different lower case letters are statistically different through Tukey test at 5% of probability. <sup>1</sup>Doses: <sup>1</sup>1-150 g of N + 50 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 2-150 g of N + 100 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 3-150 g of N + 150 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; <sup>2</sup>Interaction effect stage x doses, ns=not significant, \*\*=significant at 1% by F test.

The percentage of pectin solubilization did not differ between the maturation stages. When the behavior of soluble pectin and the percentage of solubilization were analyzed, we note that both characteristics show a similar behavior. Regarding the dose, the solubilization percentage showed a higher distinct variation between them, their values showed an oscillation of 34% for the dose of 150 g and 59.2% for the dose of 50 g, characterizing a decreasing behavior and subsequent solubilization increase (Table 3).

When the pectic fractions are correlated, it is possible to observe that the total fraction was correlated with the insoluble fraction (Table 4), as well as the soluble fraction was positively correlated with the percentage pectin. So, it was showed that the higher the total and soluble fractions, the larger will be the insoluble ones and the pectic percentage, respectively. However, when the percentage of pectin with the fraction of the total and insoluble pectin was analyzed, there was a significant negative correlation, indicating that the higher the levels of total pectin and insoluble pectin, the largest percentage of pectins will be. It is known that over the period of maturity, the fractions will be reducing, becoming insoluble and soluble fraction, then this correlation is quite consistent, since this is calculated by solubilization of these soluble fractions.

**Table 4.** Correlation coefficients for the fractions of the total, soluble and insoluble pectin and pectin percentage (%Pec.) in the pulp of 'Paluma' guavas harvested at green yellow (VA), greenish yellow (AE) and yellow (A) maturity stage of plants subjected to different doses of K.

	PT	PS	PI
PS	-0.08 <sup>NS</sup>		
PI	0.87 **	-0.30 <sup>NS</sup>	
%Pec	-0.56 **	0.82 **	-0.66 **

Caption: PT=Total pectin; PS=Soluble pectin; PI= Insoluble pectin; %Pec= Pectin percentage;

<sup>NS</sup> ( $P > 0.05$ ); \* ( $P \leq 0.01$ ).

There was interaction between factors stages x doses for PME (Table 5). Regardless of dose, during the course of PME activity, stage VA shows a greater activity than the stage AE, where there was a decrease and an increase at the end of ripening, suggesting that these doses caused an increase in the metabolism of 'Paluma' guavas exposed to different doses of potassium. Ali et al. (1997) reported an increase in PME during ripening. In table 5 we can evaluate the stages when compared with the doses for PME. We note that regardless of the stage, the fruits with dose of 100 g were those with the lowest enzyme activity.

The highest enzyme activity of PME promotes the maintenance of the degree of esterification, increasing demethylation of pectic polymer. Consequently, it reduces the subsequent action of polygalacturonase, reflecting in the control of degradation of pectic substances, therefore, solubilization of pectins and maintaining the firmness of the fruit. Besides its function of demethylating pectins, PME can also contribute to the process of fruit softening. PME showed different behaviors when doses and stages were individually analyzed; before it, it is possible to say that the mineral nutrition has played a unique role for this enzyme activity. From the results presented here, we may suggest that the stage AE at a dose of 100 g is a good place for the harvest of fruits, because they present a low PME activity, demonstrating a steady maintenance of these fruits.

**Table 5.** Pectinmethylesterase activities – PME (mU/g of pulp) and Polygalacturonase – PG (U.g<sup>-1</sup> fresh weight – UAE) in the pulp of 'Paluma' guavas harvested at green yellow (VA), greenish yellow (AE) and yellow (A) maturity stages of plants subjected to different doses of K.

		Stage		
		VA	AE	A
<b>PME</b>				
<b>Doses</b>	<sup>1</sup> 50	472.9Ab	387.9Aa	538.8Aab
	100	583.5Aab	370.9Ba	425.9Bb
	150	617.8Aa	459.2Ba	575.2ABa
<b>PG</b>				
<b>Doses</b>	50	116.8Aa	107.0Aa	55.9Ba
	100	113.1Aa	110.1Aa	57.8Ba
	150	111.8Aa	65.3Bb	46.5Ba

Different letters, with capital letters in the lines and lower case letters in the columns, are different through Tukey test at 5% of probability. Caption: <sup>1</sup>Doses: 1-150 g of N + 50 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 2-150 g of N + 100 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 3-150 g of N + 150 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

It is noted interaction between stages x doses for PG (Table 5) factors. When doses are compared, it can be concluded that there was a similar pattern of PG activity in doses 50 g and 100 g, in which stages VA and AE were statistically similar and different from stage A whose pulps showed a lower activity. As for the 150 g, we can note a higher activity in the stage VA and a marked decrease in the stage AE and subsequently to A.

When stages are compared within doses, we can confirm that there was no statistical difference in stages VA and A with average values of 113.9 and 53.4 U.g<sup>-1</sup> fresh weight, respectively. However, in the stage AE, there was no statistical difference of 50 g and 100 g doses of K, when compared with the dose of 150 g, with average activity values of 110.1 to 65.3 U.g<sup>-1</sup> fresh weight. Regardless of the dose, it was observed that the peak of PG activity was obtained at the stage VA, over ripening enzyme activity was decreasing.

This behavior showed that PME acted de-esterifying the polygalacturonic acids, while facilitated the hydrolytic action of PG. Yet, pectin remained solubilized after lowering of the enzymatic activity, indicating that other enzymes may be involved in the softening process of guava pulp, namely cellulases and beta-galactosidases (LAZAN and ALI, 1993). It has been proposed (WAKABAYASHI et al., 2003) that methylesterification can prevent the

degradation of pectins mediated by PG in the cell wall of some fruit, and a partial de-esterification by PME is required in order to PG perform continuous depolymerization. Therefore the degree of methylesterification of pectins can be a factor in regulating the maturation process. However, in some fruits there is no softening of the fruit pulp, and this has been related to failures in the demethoxylation, which, again, decreased action of PG (JIANG et al., 2003).

Ali et al. (2004), when evaluated cultivars Guava cv. Beaumont and Guava cv. Kampuchea, found a different behavior of guava cultivar 'paluma' that was analyzed in this work, over the maturity stage its activity increased in both cultivars, which differs from the cultivar analyzed in this research, because the activity decreases dramatically in the later stage of maturation. Almeida and Huber (2011) propose that, in tomato fruits, correlation between the enzyme activity of PG and pectin solubilization can happen. Observing the data relating to the two variables analyzed in the present study, we observed a positive correlation between the lower activity of PG and low solubility. Based on these results, it was noted that the underlying mechanisms of pectic metabolism in mature fruits remain unclear and non-enzymatic processes cannot be excluded. The fruits that have been fertilized with the dose referred to 100 g of K produced fruits with lower activities of PME and PG. It is known that lower activities of these enzymes directly affect the maturity of the fruit. Thus, one may suggest that fruits fertilized with these levels would be sufficient to produce firmer fruits and it could probably keep a larger postharvest period and that the dose of 150 g of K could be avoided by decreasing spending in the production of these fruits.

The activity of PPO was increased proportionally as the ripening stages were appearing (Table 6). Now with regard to the doses, the one containing 100 g had lower activity, indicating that, in this dose, there was the lowest conversion of phenolic compounds on melanin, thus showing the lowest browning. According to Marschner (1995), oxidases such as PPO show greater activity in deficient tissues of K, where it is observed accumulation of soluble nitrogen compounds such as amino acids, diamines and nitrate. Background values were reported by Cheng et al. (2007), who, when studied the effects of sonication and carbonation on guava juice quality, reported no significant difference in the activity of PPO for the control and carbonated samples. Low values of oxidation may be originated by deviation from the synthesis route of PPO for the synthesis of ascorbic acid. Ascorbic acid and its various neutral salts, recognized by their reducing action and nutritional contribution (vitamin C), are the main antioxidants for use on fruits and vegetables and their juices, aiming

to prevent browning and other oxidative reactions (WILEY, 1997). It acts by sequestering the copper, prosthetic group of PPO, and reducing quinones back to phenols, before forming dark pigments. (SAPPERS; MILLER, 1998).

**Table 6.** Enzyme Polyphenoloxidase activity – PPO (UAE.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) in the pulp of 'Paluma' guavas harvested at green yellow (VA), greenish yellow (AE) and yellow (A) maturity stages, of plants subjected to different doses of K.

Enzyme	Stage			Dose			<sup>2</sup> E X D	CV%
	VA	AE	A	<sup>1</sup> 50	100	150		
PPO	0.46c	0.93b	1.27a	0.85ab	0.78b	1.03a	ns	20.25

Different letters, with lower case letters in the lines, are different through Tukey test at 5% of probability. Caption: <sup>1</sup>Doses: 1-150 g of N + 50 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 2-150 g of N + 100 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 3-150 g of N + 150 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. <sup>2</sup>Interaction effect stage x doses, ns=not significant, \*\*=significant at 1% by F test.

In assessing the unfolding of the levels of POD (Table 7) differences were found between the activities in the stages and applied doses.

**Table 7.** Peroxidase activity (POD) in the pulp of 'Paluma' guavas harvested at green yellow (VA), greenish yellow (AE) and yellow (A) maturity stages, of plants subjected to different doses of K.

Dose	Maturation stage		
	VA	AE	A
<sup>1</sup> 50	1,226.7Aa	1,132.3Aa	1,079.1Aa
100	920.7Aa	1,000.2Aa	316.5Ba
150	1,438.3Aa	1,167.3Aa	105.1Bb

Different letters, with capital letters in the lines and lower case letters in the columns are different through Tukey test at 5% of probability. Caption: <sup>1</sup>Doses: 1-150 g of N + 50 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 2-150 g of N + 100 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 3-150 g of N + 150 g of K<sub>2</sub>O + 140 g of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

The lower POD activity was observed in fruits of yellow stage (Table 7). In relation to the dose in general, the lowest enzyme activity was observed at the dose of 100 g, showing that fruit fertilized with 100 g of K showed a lower content of such enzyme oxidation. This implies that there was probably a blockage at the cellular level in the production of this enzyme oxidation. It is known that potassium is the cofactor of several enzymes, among which peroxidase. It also acts as activator of the enzyme phenylalanine ammonia lyase (PAL), which triggers reactions leading to the production of various phenolic compounds

(HAMMERSCHMIDT, 1999) and then participate as a cofactor of the enzyme peroxidase, coupled to polymerization of alcohols for the formation of lignin in the end of the shikimic acid route (LEINA et al., 1996). These compounds are related to the increased resistance of plants to pathogens (THOMPSON; HUBER, 2007).

Mondal et al. (2009) reported an increase in POD activity for two varieties of guava with advancing maturity and they attributed it to the accumulation of lipid hydroperoxides and other reactive oxygen species during ripening of fruits. The decrease in post-climacteric in antioxidant enzyme activity may reflect in cell dysfunction or in specific organelles by changing the synthesis and/or degradation in response to suppression of ethylene action (ZHANG et al., 2013).

Together, these results indicate that the dose of 100 g per plant of K resulted in higher contents of PT, PI, lower activity of enzymes PME, PG and lower oxidative enzyme activity, resulting in a higher resistance of the cell wall and possibly in a longer postharvest life of 'Paluma' fruits.

## REFERENCES

- <sup>(1)</sup>Hong, K.; Xie, J.; Zhang, L.; Sun, D.; Gong, D. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage. *Sci. Horticult.* **2012**, 144, 172–178.
- <sup>(2)</sup>Varmudy, V. Guava: potential untapped. Facts For You. <http://www.ffymag.com/admin/issuepdf/Guava FFYApril-13.pdf>, 2013.
- <sup>(3)</sup>Nimisha, S.; Kherwar, D.; Ajay, K. M.; Singh, B.; Usha, K. Molecular breeding to improve guava (*Psidium guajava* L.): Current status and future prospective. *Sci. Horticult.* **2013**, 164, p. 578–588.
- <sup>(4)</sup>LIMA, M. A. C.; BASSOI, L. H.; SILVA, D. J.; SANTOS, P. S.; PAES, P. C.; RIBEIRO, P. R. A.; DANTAS, B. F. Effects of levels of nitrogen and potassium on yield and fruit maturation of irrigated guava trees in the São Francisco valley. *Rev. Bras. Frutic.* **2008**, 30, 246–250.
- <sup>(5)</sup>Jain, N.; Dhawan, K.; Malhotra, S.; Singh, R. Biochemistry of fruit ripening of guava (*Psidium guajava* L.): compositional and enzymatic changes. *Plant. Food. Hum. Nutr.* **2003**, 58, 309–315.

- <sup>(6)</sup>Payasi, A.; Mishra, N. N.; Chaves, A. L. S.; Singh, R. Biochemistry of fruit softening: an overview. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. **2009**, 15, 103–113.
- <sup>(7)</sup>Brummell, D. A.; Harpster, M. H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. In: *Plant Cell Walls*. 6th ed.; Carpita, N. C., Campbell, M., M. Tierney., Eds.; Elsevier: Netherlands, 2001; Vol. 47, pp 311–340.
- <sup>(8)</sup>Abu-goukh, A. A.; Bashir, H. A. Changes in pectic enzymes and cellulase activity during guava fruit ripening. *Food. Chem.* **2003**, 83, 213–218.
- <sup>(9)</sup>Assis, S. A.; Lima, D. C.; Oliveira, O. M. M. F. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. *Food Chem.* **2001**, 74, 133–137.
- <sup>(10)</sup>Mondal, K.; Malhotra, S. P.; Jain, V.; Singh, R. Oxidative stress and antioxidant systems in grava (*Psidium guajava* L.) fruits during ripening. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. **2009**, 15, 327–334.
- <sup>(11)</sup>Franco, F. C.; Prado, R. M.; Brachirolli, L. F.; Rozane, D. E. Curva de crescimento e marcha de absorção de macronutrientes em mudas de goiabeira. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. **2007**, 31, 1429–1437.
- <sup>(12)</sup>Bussakorn, S.M.; Daniel, P.S.; Michael, T.T.; Mark, R.T.. A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. *Aust. J. Grape. Wine. Res.* **2003**, 9, 154–168.
- <sup>(13)</sup>Brito, M.E.B.; Melo, A.; Lustosa, J.P.O.; Rocha, M.B.; Viégas, P.R.A.; Holanda, F.S.R. Rendimento e qualidade da fruta de maracujazeiro-amarelo adubado com potássio, esterco de frango e de ovino. *Rev. Bras. Frutic.* **2005**, 27, 260–263.
- <sup>(14)</sup>Dantas, B.F.; Pereira, M.P.; Ribeiro, L.S.; Maia, J.L.T.; Silva, D.J.; Duenhas, L.H.; Lima, M.A.C.; Bassoi, L.H. Metabolic responses of guava trees irrigated with different N and K levels in São Francisco Valley. *Rev. Bras. Frutic.* **2007**, 29, 323–328.
- <sup>(15)</sup>Linhares, L.A.; Santos, C. D. D.; Abreu, C. M. P. D.; Corrêa, A. D. Transformações químicas, físicas e enzimáticas de goiabas “Pedro Sato” tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e 1-metilciclopropeno e armazenados sob refrigeração. *Ciênc. Agrotec.* **2007**, 31, 829–841.
- <sup>(16)</sup>Vila, M. T. R.; Lima, L. C. D. O.; Vilas Boas, E. V. D. B.; Doll Hojo, E. T.; Rodrigues, L. J.; Paula, N. R. F. D. Chemical and biochemical characterization of guavas stored under refrigeration and modified atmosphere. *Ciênc. Agrotec.* **2007**, 31, 1435–1442.



- <sup>(17)</sup>Mendonça, R.D.; Ferreira, K.S.; Souza, L.M.; Marinho, C.S.; Teixeira, S.L. Características físicas e químicas de goiabas ‘Cortibel 1’ e ‘Cortibel 4’ armazenadas em condições ambientais. *Bragantia*. **2007**, 66, 685–692.
- <sup>(18)</sup> Silva, G.C. Qualidade de frutos da goiabeira ‘Paluma’ sob adubação nitrogenada e potássica. UFPB, CT, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. João Pessoa-PB, 2013. 102 fl.
- <sup>(19)</sup>Cavalini, F. C.; Jacomino, A. P., Lochoski, M. A., Kluge, R. A.; Ortega, E. M. M. Maturity indexes for 'Kumagai' and 'Paluma' guavas. *Rev. Bras. Frutic.* **2006**, 28, 176–179.
- <sup>(20)</sup>Mccready, R. M.; Mccomb, E. A. Extraction and determination of total pectic materials in fruit. *Anal. Chem.* **1952**, 24, 1586–1588.
- <sup>(21)</sup>Bitter, T.; Muir, H. M. A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal. Chem.* **1962**, 4, 330–334.
- <sup>(22)</sup>Jen, J. J.; Robinson, M. L. P. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *J. Food. Sci.* **1984**, 49, 1085–1087.
- <sup>(23)</sup>Markovic, O.; Heinrichová, K.; Lenkey, B. Pectolytic enzymes from banana. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1975**, 40, 769–774.
- <sup>(24)</sup>Nelson, N. A. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* **1944**, 135, 136–175.
- <sup>(25)</sup>Zanatta, C. L.; Zotarelli, M. F.; Clemente, E. Peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em polpa de goiaba (*Psidium guajava* R.). *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2006**, 26, 705–708.
- <sup>(26)</sup>Fujita, S.; Saari, N.; Maegawa, M.; Tetsuka, T.; Hayashi, N.; Tono, T. Purification and properties polyphenol oxidase from cabbage (*Brassica oleracea* L.). *J. Agric. Food Chem.* **1995**, 43, 1138–1142.
- <sup>(27)</sup>Campos, A. D.; Silveira, E. M. L. Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. Pelotas: Embrapa, 2003, 3p. Comunicado Técnico, 87.
- <sup>(28)</sup>SAS. 2007. SAS 9.1.3 (TS1M3) for Windows Microsoft. SAS Institute Inc., Cary, USA, sem paginação.
- <sup>(29)</sup>Beringer, H.; Haeder, H.; Lindhauer, M. Water relationships and incorporation of <sup>14</sup>C assimilates in tubers of potato differing in potassium nutrition. *Plant. Physiol.* **1983**, 73, 956–960.
- <sup>(30)</sup>Tong, C.; Krueger, D.; Vickers, Z.; Bedford, D.; Luby, J.; El-Shiekh, A.; Shackel, K.; Ahmadi, H. Comparison of softening-related changes during storage of ‘Honeycrisp’ apple, its parents and ‘Delicious’. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **1999**, 124, 407–415.

- <sup>(31)</sup>Lester, G. E.; Jifon, J. L.; Makus, D. J. Supplemental foliar potassium applications with or without a surfactant can enhance net-ted muskmelon quality. *Hort. Sci.* **2006**, 41, 741–744.
- <sup>(32)</sup>El Bulk, E.; Babiker, E. F. E.; El Tinay, A. H. Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. *Food chem.* **1997**, 59, 395–399.
- <sup>(33)</sup>Tsai, P. J.; Sun, Y.F.; Hsiao, S. M. Strengthening the texture of dried guava slice by infiltration of phenolic compounds. *Food. Res. Int.* **2010**, 43, 825–830.
- <sup>(34)</sup>Ali, Z. M.; Chin, L. H.; LAzan, H. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. *Plant Sci.* **2004**, 167, 317–327.
- <sup>(35)</sup>Das, A.; Majumder, K. Fractional changes of pectic polysaccharides in different tissue zones of developing guava (*Psidium guajava* L.) fruits. *Sci. Horticult.* **2010**, 125, 406–410.
- <sup>(36)</sup>Hager, A. Role of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects. *J. Plant. Res.* **2003**, 116, 483–505.
- <sup>(37)</sup>Stiles, K. A.; Van Volkenburgh, E. Role of K<sup>+</sup> in leaf growth: K<sup>+</sup> uptake is required for light-stimulated H<sup>+</sup> efflux but not solute accumulation. *Plant. Cell. Environ.* **2004**, 27, 315–325.
- <sup>(38)</sup>Marschner, P. Functions of Macronutrients. In: *Mineral nutrition of higher plants*, 3rd ed.; Petra Marschner, Ed.; Elsevier: Academic Press, New York, 2012; Vol. 89, pp 134–189.
- <sup>(39)</sup>Lazan, H.; Ali, Z. M. Cell wall hydrolases and their potential in the manipulation of ripening of tropical fruits. *Asean. Food. J.* **1993**, 8, 47–53.
- <sup>(40)</sup>Wakabayashi, K.; Hoson, T.; Huber, D. J. Methyl de-esterification as a major factor regulating the extent of pectin depolymerization during fruit ripening: a comparison of the action of avocado (*Persea americana*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) polygalacturonases. *J. Plant. Physiol.* **2003**, 160, 667–673.
- <sup>(41)</sup>Jiang, Y.M.; Li, Y.B.; Li, J.R. Effects of low temperature acclimation on browning of litchi fruit in relation to shelf life. *J. Hortic. Sci. Biotech.* **2003**, 78, 437–440.
- <sup>(42)</sup>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, 772–785.
- <sup>(43)</sup>Cakmak, I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2005**, 168, 521–530.

- <sup>(44)</sup> Thompson, Ian A.; Huber, Don M. Manganese and plant disease. In: Mineral nutrition and plant disease, 1st ed.; Elmer, Wade. H.; Hubert, Don M, Ed.; Elsevier: St. Paul, Minn.: American Phytopathological Society, 2007; Vol. 17, pp 139–153.
- <sup>(45)</sup> Apel, K.; Hirt, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2004**, 55, 373–399.
- <sup>(46)</sup> Del Rio, L.A; Pastori, G.M.; Palma, J.M.; Sandalio, L.M.; Sevilla, F.; Corpas, F.J.; Jimenez, A. Lopez-Huertas. F.; Hernandez. J.A. The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. *Plant. Physiol.* **1998**, 116, 1195–1200.
- <sup>(47)</sup> Kanazawa, S., Savo, S.; Koshiba, T.; Ushimaru, T. Changes in antioxidative enzymes in cucumber cotyledons during natural senescence: comparison with those during dark induced senescence. *Physiol. Plant.* **2000**, 109, 211–216
- <sup>(48)</sup> Palma, J.M.; Jimenez, R.; Sandalio, L.M.; Corbas, F.J.; Lundquist, M.; Gomez, M.; Sevilla, F.; Del Rio, L.A. Antioxidant enzymes from chloroplasts, mitochondria and peroxisomes during leaf senescence of pea plants. *J. Expt. Bot.* **2006**, 57, 1747–1753.
- <sup>(49)</sup> Zhang, Z.; Huber, D. J.; Rao, J. Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea Americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol. Technol.* **2013**, 76, 58-64.

### 3 Normas para publicação na revista Journal of Agricultural and Food Chemistry.

#### IMPORTANT MANUSCRIPT SUBMISSION REQUIREMENTS

Manuscripts and revised manuscripts must be submitted via the ACS Paragon Plus Web site (<http://paragonplus.acs.org/login>). E-mailed submissions and hardcopy submissions will not be processed. An overview of and complete instructions for the Web submission process are available at the ACS Paragon Plus Web site.

The Paragon Plus Web site employs state-of-the-art security mechanisms to ensure that all electronically submitted papers are secure. These same security mechanisms are also utilized throughout the peer-review process, permitting access only to editors and reviewers who are assigned to a particular paper.

When submitting, please be aware of the following requirements.

- All manuscripts must be accompanied by a cover letter that includes an explanation of the manuscript's significance, including its originality, its contribution to new knowledge in the field, and its relevance to research in agricultural and food chemistry.
- The system requires authors to supply the names, e-mail addresses, and affiliations of at least four recommended reviewers. The recommended reviewers should be experts in the subject matter of the manuscript and not be anyone who is or has been a former adviser/advisee, colleague in the same institution, research collaborator, and/or coauthor of papers and patents or in any other way has a conflict of interest.
- The author's preference for manuscript category is indicated during the submission process. However, the final decision on the category under which the manuscript will be listed lies with the Editor.
- The manuscript abstract and text must appear in a single, double-spaced column; lines in the abstract and text must be numbered consecutively from beginning to end in a separate column at the left.
- All coauthors listed on the title page of the manuscript must be entered into the Paragon Plus System at step 2 in the manuscript submission process. Only one corresponding author is allowed for each manuscript in Paragon Plus. Additional corresponding authors may be designated on the manuscript title page.

- Authors selecting the Just Accepted manuscript option when submitting should be sure that the form of author and coauthor names as entered into the Paragon Plus System is identical to the form on the manuscript title page.
- References must be numbered in the order in which they appear in the text.
- All of the text (including the title page, abstract, all sections of the body of the paper, figure captions, scheme or chart titles and footnotes, and references) and tabular material should be in one file, with the complete text first followed by the tabular material. A separate conclusion section is not to be used. Conclusions should be incorporated into the results and discussion section.

Complete instructions for manuscript preparation and a Journal Publishing Agreement form are updated frequently and are available at the Journal's Web site. Please conform to these instructions when submitting manuscripts.

Authors whose manuscripts are published in the Journal will be expected to review manuscripts submitted by other researchers from time to time.

#### JOURNAL SCOPE

The Journal of Agricultural and Food Chemistry publishes high-quality, cutting edge original research representing complete studies and research advances dealing with the chemistry and biochemistry of agriculture and food. The Journal also encourages papers with chemistry and/or biochemistry as a major component combined with biological/sensory/nutritional/toxicological evaluation related to agriculture and/or food. As a general rule, manuscripts dealing with herbal remedies or those testing specific compounds in cell-based assays related to disease states (e.g., "anticancer" activity) will no longer be considered within the scope of the Journal and should be submitted elsewhere. Manuscripts describing properties of extracts, without detailing the chemical composition of the extracts responsible for the described properties, will generally not be accepted for review. The Journal is organized into the following sections:

- **Agricultural and Environmental Chemistry:** crop protection chemistry, addressing synthesis combined with testing of new materials, environmental behavior and fate, residues, and mechanism of effects on both target and nontarget organisms.
- **Analysis and Chemosensory Perception of Flavor:** chemistry of flavor (i.e., smell, aroma, taste, texture, and color) of foods and associated with plant and animal production of foods. Analytical Methods: new analytical method development using chemical, physical, and

biological methods. When a manuscript describes the application of an existing method, even when modified, the category selected should be driven by the application (e.g., Agricultural and Environmental Chemistry, Analysis and Chemosensory Perception of Flavor, Bioactive Constituents and Functions, etc.).

- **Bioactive Constituents and Functions:** identification and characterization of bioactive constituents (e.g., antioxidants and other phytonutrients and nutraceuticals) in foods and how they function to affect health status of consumers, including molecular nutrition aspects. Manuscripts describing work with traditional medicines, herbal remedies, etc., will not normally be considered. We also urge authors to evaluate bioactives in animal models or clinical human trials and not rely solely on cell-based or other in vitro assays.
- **Biofuels and Biobased Products:** chemistry of biofuel and biobased products, including feedstocks, conversion, refining, waste utilization, disposal, and sustainability, and environmental emissions and effects associated with these processes.
- **Chemical Aspects of Biotechnology and Molecular Biology:** processes and underlying chemical science involving classical and modern aspects of biotechnology applicable to food and agricultural systems; to include proteomic and genomic techniques applicable to measurement and evaluation in food production and metabolism.
- **Food and Beverage Chemistry/Biochemistry:** chemistry and biochemistry associated with food and beverage production, processing, preparation, composition, packaging and storing, including both naturally occurring and added components.
- **Food Safety and Toxicology:** chemical aspects of toxicology of crop protection, contaminants, and related chemicals and the design and action of chemically related processes that enhance food safety.

**Targeted Metabolomics Applied to Agriculture and Food** (new in 2013; see more details on p18): applications of metabolomics as related to research topics in agriculture, food, and nutrition, in particular metabolite-targeted analysis and progress in the development of analytical platforms for metabolomics approaches.