



**ATIVIDADE DA ENZIMA PEROXIDASE EM FRUTOS DE MAMÃO (*Carica papaya*)
SUBMETIDOS A TRATAMENTOS FÍSICOS PÓS-COLHEITA**

Giovana **Adabo**¹; Daniel **Terao**²; Bernardo de Almeida **Halfeld-Vieira**³; Kátia de Lima **Nechet**⁴.

Nº 18405

RESUMO – *Este trabalho teve como objetivo determinar a atividade de peroxidases em frutos de mamão submetidos aos tratamentos físicos em pós-colheita, hidrotérmico e ozônio, aplicados individualmente e combinados, durante 8 dias de armazenamento. Um lote de 102 frutos de mamão do grupo Solo, proveniente de uma lavoura comercial, sem tratamento na pós-colheita, foi submetido aos tratamentos hidrotérmico (70° C/15s), ozônio (1,5 ppm), aplicados tanto individualmente quanto combinado. Frutos não submetidos aos tratamentos físicos configuraram como controle. Após os tratamentos, os frutos foram mantidos durante 7 dias em câmara fria (10 ± 2°C e 80 ± 2% de umidade relativa) e 1 dia em condição ambiente (23 ± 2°C). Para a determinação da atividade de peroxidases, amostras diárias da região do pedúnculo do fruto (casca+polpa) foram coletadas no período. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 tratamentos e seis repetições, cada repetição sendo uma amostra do fruto. Observou-se que até 6 dias de armazenamento em câmara fria, os frutos apresentaram uma atividade de peroxidases similar entre os tratamentos. Nos dias 7 e 8, observou-se o aumento da atividade de peroxidases em frutos de mamão submetidos à combinação dos tratamentos físicos. Concluiu-se que a combinação dos tratamentos hidrotérmico + ozônio interferiu no metabolismo do mamão, através da ativação da enzima de defesa, o que pode contribuir indiretamente, no controle de doença em pós-colheita.*

Palavras-chaves: Enzimas de defesa, tratamento hidrotérmico, ozônio, podridão peduncular, controle alternativo.

¹ Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, Unifaj, Jaguariúna-SP; gi.adabo@hotmail.com

² Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; daniel.terao@embrapa.com

³ Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; bernardo.halfeld@embrapa.com

⁴ Orientador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; katia.nechet@embrapa.com



ABSTRACT – *The aim of this work was to determine the activity of peroxidases on papaya fruit submitted to physical treatments with hot water and ozone, applied individually or combined throughout 8 days of storage. A lot of 102 papaya fruits (group Solo), from a commercial area, with no postharvest treatment, was submitted to the hot water (70° C/15s) and ozone (1,5 ppm) treatments, applied individually and in combination. Control treatment consisted of fruits not submitted to these physical treatments. After the treatments, the fruit were stored under refrigeration (10 ± 2 °C e 80 ± 2% of relative humidity) for 7 days and for one day in air-conditioned room (23 ± 2 °C). To determine peroxidase activities, samples of stem-end region (peel+pulp) were collected daily throughout the storage period. The experiment was conducted in a completely randomized design with four treatments and six replications, each replication being a sample from fruit. Throughout the first six days of storage under refrigeration, the enzymatic activity of peroxidases was similar among the treatments. On the 7th and 8th day, there was an increase in peroxidase activities in the fruit submitted to the physical treatments combined. The combination of hot water and ozone treatments interfered on metabolism of the fruit by activating the defense-related enzyme, which can indirectly improve the effect of physical treatments on the control of postharvest disease.*

Keywords: defense-related enzymes, hot water treatment, ozone, stem-end-rot, alternative control

1. INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya* L.) é um fruto nativo de regiões tropicais e comercializado em todo o mundo (ZILLO, 2017). O Brasil é o segundo maior produtor mundial de mamão após a Índia, sendo o sul da Bahia o maior produtor e o estado do Espírito Santo como o segundo maior produtor e principal exportador do fruto no país. O mamão é uma das cinco principais frutas comercializadas nas centrais de abastecimento do país. Em 2017, foram comercializadas em torno de 450.000 toneladas da fruta, e a exportação, destinada principalmente à União Europeia, foi de 39.118 mil toneladas que gerou uma receita em torno de 41 milhões de dólares de acordo com o Anuário Brasileiro da Fruticultura (2018).



A cultura do mamão vem enfrentando nos últimos anos redução da área colhida, tanto em função da crise hídrica como por problemas fitossanitários. Além disso, a fruta caracteriza-se por uma vida curta em pós-colheita, amadurecendo em poucos dias e, proporcionando assim, perdas quantitativas e qualitativas na fase de comercialização (BALBINO, 2003).

As doenças pós-colheita em mamão são as principais responsáveis pelas perdas que ocorrem durante o armazenamento do produto, no transporte e na comercialização, com relatos de prejuízos de 10% a 40% em transportes terrestres e 5% a 30 % em transporte aéreo (VENTURA e REZENDE, 2017). Uma das principais doenças em pós-colheita da cultura é a podridão peduncular, causada por um complexo de espécies fúngicas. Os principais fungos associados são *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., *Stagonosporopsis caricae* (Syd. & P. Syd.) Aveskamp, Gruyter & Verkley (Sin.: *Phoma carica-papaya*), *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon&Maubl. e *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (PERES et al., 2003; LIBERATO e TATAGIBA, 2001).

O tratamento em pós-colheita com o uso da imersão em calda de fungicida é comumente usado. Porém, com a pressão do mercado consumidor por produtos sem resíduos de pesticidas, os tratamentos físicos em pós-colheita estão sendo cada vez mais estudados e apresentam bons resultados de controle das doenças em pós-colheita e reduzido impacto ambiental (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013; TERAO et al., 2017). Os principais tratamentos físicos utilizados são o térmico, pressão hipo ou hiperbárica, radiação ultravioleta-C, atmosfera controlada e modificada, e ozônio (USALL et al., 2016).

O tratamento físico atua tanto diretamente na eliminação dos propágulos dos fungos, como indiretamente por induzir o aumento de determinadas atividades enzimáticas, associadas ao mecanismo de defesa do hospedeiro contra a colonização de patógenos (URBAN et al. 2016). Dentre essas enzimas, encontram-se as peroxidases, que estão presentes nos tecidos das plantas, e participam de vários processos fisiológicos (HOAGLAND, 1990). Essa enzima oxida compostos fenólicos que se acumulam nos tecidos em resposta tanto a fatores bióticos como abióticos e, mudanças na atividade de peroxidases têm sido correlacionadas à resposta de resistência em plantas (STANGARLIN et al., 2011).

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a atividade de peroxidases, em frutos de mamão submetidos aos tratamentos físicos em pós-colheita, hidrotérmico e ozônio, aplicados individualmente e combinados, durante 8 dias de armazenamento.



2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia Ambiental da Embrapa Meio Ambiente, utilizando um lote de 102 frutos de mamão do grupo Solo, provenientes de uma lavoura comercial no município de Teixeira de Freitas, Bahia e que não receberam tratamento na pós-colheita. Os frutos foram colhidos e transportados em caminhão frigorífico para o laboratório, em um período de três dias.

Na chegada dos frutos no laboratório, realizou-se a seleção, baseada no tamanho, maturação e ausência de injúria física ou infecção por patógenos, procedendo-se à lavagem dos frutos. Os frutos permaneceram 24 horas em temperatura ambiente (23 ± 2 °C) antes da aplicação dos tratamentos físicos.

O experimento seguiu o delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 tratamentos (controle, tratamento hidrotérmico, ozônio, e hidrotérmico + ozônio) e 6 repetições, sendo cada repetição um fruto de mamão. O controle foi representado por frutos não submetidos a nenhum controle na pós-colheita.

2.1 Tratamentos físicos

Os tratamentos físicos utilizados foram tratamento hidrotérmico e ozônio, tanto aplicados individualmente como combinados.

O tratamento hidrotérmico foi realizado em um Banho Dubnoff SL – 157 e, cada fruto teve a sua região peduncular submersa em torno de aproximadamente 7 cm em água a 70°C, por 15 segundos, e, em seguida submerso novamente em água gelada, por 2 minutos, para o choque térmico (Figura 1A e Figura 1B).



Figura 1. Tratamento hidrotérmico (70 °C por 15 s) da região peduncular de frutos de mamão (A) seguido de banho de gelo (B).

O tratamento ozônio foi realizado com auxílio de um ozonizador comercial (Biozozone ambiental). Cada fruto teve a sua região peduncular submersa em torno de aproximadamente 7 cm em água ozonizada com concentração aproximada de 1,5 ppm de ozônio, durante 2 minutos (Figura 2A e Figura 2B).



Figura 2. Ozonizador comercial utilizado no tratamento ozônio (A) e frutos de mamão submetidos à água ozonizada (B).

O tratamento combinado foi a aplicação do tratamento hidrotérmico seguido do tratamento com ozônio. Após os tratamentos, os frutos foram armazenados por 7 dias em câmara fria ($10 \pm 2^\circ\text{C}$ e $80 \pm 2\%$ de umidade relativa) (Figura 3) e depois mantidos em temperatura ambiente ($23 \pm 2^\circ\text{C}$).



Figura 3. Frutos de mamão armazenados em câmara fria ($10 \pm 2^\circ\text{C}$ e $80 \pm 2\%$ de umidade relativa).

Para a determinação da atividade de peroxidases, amostras de cascas de frutos foram coletadas durante 8 dias consecutivos, com auxílio de um furador de alumínio padrão com 5 cm de diâmetro, na região peduncular dos frutos. Após a coleta, as amostras foram imediatamente armazenadas a 4°C . Na chegada dos frutos ao laboratório foram tomadas amostras para representar o tempo zero e, em cada coleta, foi verificada a incidência de frutos com sintoma de podridão peduncular.

2.2 Determinação da atividade da enzima peroxidase

O preparo do extrato seguiu a metodologia de Baracat-Pereira et al. (2001). Amostras de 1 g da casca + polpa do fruto foram trituradas em almofariz com nitrogênio líquido para obtenção de um pó. Após isso, foi realizada a homogeneização de cada amostra com 6,0 mL de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 6,5), contendo 1% de polivinilpirrolidona e fluoreto de fenilmetilsulfonila. A solução obtida foi centrifugada a 2000 rpm, 4°C por 20 min, e o sobrenadante coletado e armazenados em ultra-freezer (-80°C) até a realização das análises.

A atividade de peroxidases foi determinada pela reação de 10 μ L do extrato, 80 μ L de tampão fosfato de sódio 0,1 mM (pH 6,5), 80 μ L de peróxido de hidrogênio 3 mmol. L⁻¹ e 80 μ L guaiacol 15 mmol. L⁻¹. A reação foi mantida a 30°C em banho-maria e a leitura de absorbância a 470 nm feita a cada 20 s por 2 min (HAMMERSCHMIDT et al.,1982). Os resultados foram expressos em unidades de peroxidases.min⁻¹.g⁻¹ tecido.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 4 representa a atividade de peroxidases em frutos de mamão submetidos ou não aos tratamentos físicos em pós-colheita durante o período de 8 dias, sendo 7 dias em câmara fria e 1 dia em temperatura ambiente.

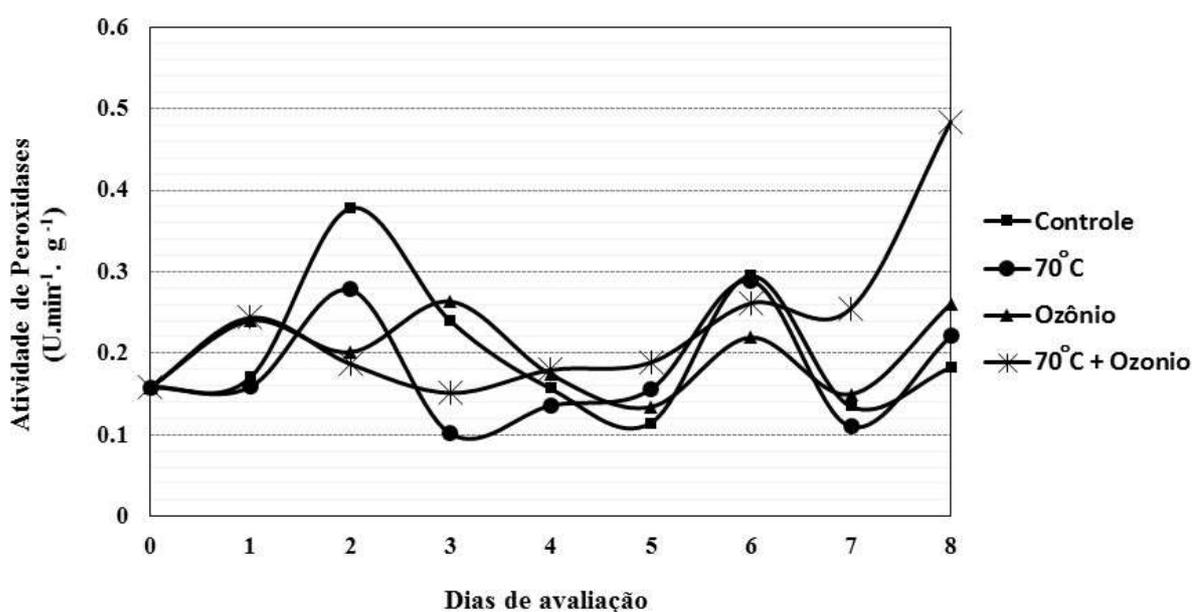


Figura 4. Atividade das peroxidases em frutos de mamão submetidos aos tratamentos físicos hidrotérmico (70°C por 15s) e ozônio (1,5 ppm), individuais e combinados, em pós-colheita, durante 8 dias de armazenamento, sendo 7 dias em câmara fria (10 \pm 2°C e 80 \pm 2% de umidade relativa) e 1 dia em temperatura ambiente (23 \pm 2°C).

A atividade enzimática das peroxidases foi observada nos frutos de mamão em todos os tratamentos pós-colheita utilizados, incluindo o controle. Porém, o período de pico da detecção da enzima foi diferente entre os tratamentos. O tratamento controle apresentou um pico de atividade



das peroxidases aos 2 dias de armazenamento ($0,37 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) e após esse período, os valores de atividade variaram de $0,18$ a $0,23 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. O tratamento hidrotérmico a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ apresentou dois picos de atividade das peroxidases, aos 2 dias e 6 dias de armazenamento, com valores de $0,27$ e $0,28 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente. Nos demais períodos, os valores variaram de $0,1$ a $0,22 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ para esse tratamento. Para o tratamento ozônio, o pico de atividade enzimática foi observado aos 3 dias de armazenamento ($0,26 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) e nos demais período, a atividade variou de $0,13$ a $0,26 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. O tratamento combinado $70 \text{ }^\circ\text{C} + \text{Ozônio}$ apresentou até os 7 dias de armazenamento valores de atividade enzimática variando de $0,15$ a $0,25 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. O pico de atividade foi observado aos 8 dias ($0,48 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$), sendo esse o maior valor observado de atividade enzimática nesse ensaio.

Os valores da atividade das peroxidases no tratamento combinado que foi observado nos dias 7 ($0,26 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) e 8 ($0,48 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) foi maior que os valores observados para os demais tratamentos nesse mesmo período ($0,11$ a $0,15 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) aos 7 dias e $0,18$ a $0,25 \text{ U. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ aos 8 dias). Esse incremento da atividade das peroxidases no tratamento combinado foi observado no período de saída dos frutos da câmara fria (dia 7) e exposição à temperatura ambiente (dia 8) que representa o período do transporte e exposição dos frutos em prateleira para o consumidor. Esse período é considerado crítico, pois coincide com a aceleração do processo de maturação dos frutos e o desenvolvimento de fitopatógenos nos tecidos dos frutos.

Embora não tenha sido observado durante o período de coleta, sintoma de podridão peduncular nos frutos amostrados, a avaliação continuada da eficiência dos tratamentos no controle da podridão peduncular indicou que o tratamento combinado foi o tratamento que retardou o aparecimento dos primeiros sintomas da doença nos frutos (dados não publicados). Isso indica que o aumento da atividade de peroxidases em frutos submetidos ao tratamento combinado nesse período de exposição dos frutos à temperatura ambiente pode estar contribuindo indiretamente através da ativação do mecanismo de defesa do fruto contra fitopatógenos, resultando no controle da doença.

De modo geral, vários estudos demonstram o aumento da atividade de peroxidases em determinado período de armazenamento, quando frutos são submetidos a tratamentos físicos em pós-colheita (DAIUTO e VIEITES, 2008; RESENDE, 2016). Ong et al (2014) observaram o aumento da atividade das peroxidases em frutos de mamão submetidos a diferentes concentrações de ozônio e os picos de atividade foram associados a altas concentrações de ozônio e ao período de armazenamento em temperatura ambiente. Shadmani et al. (2015) relataram a correlação de aumento de atividade de peroxidases com baixa incidência de perda em pós-colheita em frutos de



mamão submetidos a tratamento hidrotérmico. Em frutos de manga submetidos à radiação UV-C, o aumento da atividade enzimática foi observado apenas aos 5 dias de armazenamento (TERAO et al., 2018). Segundo Li (2003) os tratamentos físicos induzem um estresse oxidativo nos frutos de forma moderada, o que os torna tolerante às subseqüentes exposições aos estresses de origem abióticas e/ou bióticas.

O tratamento físico em pós-colheita é seguro para os consumidores e não existe normas e restrições para seu uso. Outro ponto a destacar nesse trabalho é a aplicação do tratamento, através da submersão da região peduncular do fruto, diretamente na região do fruto em que se inicia o processo de infecção causado pelos fitopatógenos associados a podridão neste local. Além de promover o aumento da eficiência do tratamento, atuando na região alvo, este procedimento tem como vantagem a utilização de reduzido volume de água necessário para o tratamento hidrotérmico quando comparado ao tratamento convencional em que se mergulham os frutos por inteiro.

A determinação da atividade das peroxidases em frutos de mamão submetidos a tratamentos físicos complementa a elucidação dos mecanismos de ação envolvidos no controle de patógenos e reforça o benefício do uso do controle alternativo em pós-colheita.

4. CONCLUSÃO

Frutos de mamão submetidos ou não aos tratamentos físicos, hidrotérmico (70° C por 15s) e ozônio (1,5 ppm), em pós-colheita apresentaram aumento da atividade das peroxidases em períodos diferentes de armazenamento. O maior aumento da atividade enzimática foi observado aos 8 dias nos frutos submetidos aos tratamentos combinados (hidrotérmico+ozônio) e quando expostos à temperatura ambiente. O incremento das peroxidases nesse período reforça o mecanismo de defesa dos frutos, via indução de resistência, contra o desenvolvimento de fitopatógenos.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão da bolsa de Iniciação Científica e à Embrapa Meio Ambiente pelo apoio logístico.



6. REFERÊNCIAS

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2018 / Benno Bernardo Kist... [et al.].– Santa Cruz do Sul : Editora Gazeta Santa Cruz, 2018.88 p

BALBINO, J. M. S. Colheita, pós-colheita e fisiologia do amadurecimento do mamão. In: MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F. S. da. (Ed.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: Incaper, 2003. pp. 405-439.

BARACAT-PEREIRA, M.C.; OLIVEIRA, M.G.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A.; SANTORO, M.M. Biochemical properties of soybean leaf lipoxygenases: presence of soluble and membrane-bound forms. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.39, n.2, p. 91-98, 2001.

BAUTISTA-BANÓS, S.; SIVAKUMAR, D.; BELLO-PÉREZ, A.; VILLANUEVA-ARCE, R.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. A review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. **Crop Protection**, v. 49, p. 8- 20, 2013.

DAIUTO, E.R.; VIEITES, R.L. Atividade da peroxidase e polifenoloxidase em abacate da variedade Hass, submetido ao tratamento térmico. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha**, v.9, n.2, p.106-112. 2008.

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v.20, p.73-80, 1982.

HOAGLAND, R. E. Biochemical responses of plants to pathogens. In: HOAGLAND, R.E. (Ed.). **Microbes and microbial products as herbicides**. Washington: American Chemical Society, 1990. pp.87-113.

Li, M.H. Peroxidase and superoxide dismutase activities in fig leaves in response to ambient air pollution in a subtropical city. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 45, p. 168–176, 2003.

LIBERATO, J. R.; TATAGIBA, J. S. Avaliação de fungicidas *in vitro* e em pós-colheita para o controle da antracnose e da podridão em frutos de mamão. **Summa Phytopathologica**, v. 27, n. 4, p. 409-414, 2001.

ONG, M.K.; ALIA, A.; ALDERSONA, P.G.; FORNEYD, C.F. Effect of different concentrations of ozone on physiological changes associated to gas exchange, fruit ripening, fruit surface quality and defence-related enzymes levels in papaya fruit during ambient storage. **Scientia Horticulturae**, v. 179, p. 163-169, 2014.

PERES, Â. P.; SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M. G. G.; MACHADO, J. C. Variabilidade morfocultural e genética de fungos associados a podridão peduncular do mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p.1053-1062, 2013.

RESENDE, E. C. O. **Efeito do tratamento hidrotérmico quarentenário na pós-colheita de mamão**. 2016. 83 f. Tese (Doutorado) - Curso de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

SHADMANIA, N.; AHMADA, S.H.; SAARIB, N.; DINGA, P.; TAJIDINAA, N.E. Chilling injury incidence and antioxidant enzyme activities of *Carica papaya* L. ‘Frangi’ as influenced by postharvest hot water treatment and storage temperature. **Postharvest Biology and Technology**, v.99, p. 114-119, 2015.



12º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2018
01 a 03 de agosto de 2018 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-145-5

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, p. 18-46, 2011.

TERAO, D.; NECHET, K. L.; FRIGHETTO, R.T.S.; ANJOS, V. D.de A.; BENATO, E.A.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Physical postharvest treatments in the control of stem-end rot of mango. **Journal of Phytopathology**, v.166, p.1-9, 2018.

TERAO, D.; NECHET, K. L.; PONTE, M. S.; MAIA, A. de H. N.; ANJOS, V. D. A.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Physical postharvest treatments combined with antagonistic yeast on the control of orange green mold. **Scientia Horticulturae**, v. 224, p. 317-323, 2017.

URBAN, L.; CHARLES, F.; MIRANDA, M.R.A.; ARROUF, J. Understanding the physiological effects of UV-C light and exploiting its agronomic potential before and after harvest. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 105, p. 1-11, 2016

USALL, J.; IPPOLITO, A.; SISQUELLA, M.; NERI, F. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 122, p. 30-40, 2016.

VENTURA, J.A.; REZENDE, J.A.M. Doenças do Mamoeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia**, volume 2, Doenças das plantas cultivadas. Ouro Fino: Editora Agronômica Ceres, 2017. pp. 497-514.

ZILLO, R. R. **Óleo essencial associado à película de carboximetilcelulose no controle da antracnose e seu efeito na vida útil de mamão (*Carica papaya* L.)**. 2017. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.