

ESTÍMULO DO PROCESSO DA MATURAÇÃO DOS FRUTOS DE TOMATEIRO PELA ENZIMA PECTINAMETILESTERASE^{1/}

Paulo V.L. Medina^{2/}

1. INTRODUÇÃO

Enquanto foram estudadas as mudanças que ocorrem com a atividade da pectinametilesterase (PME) durante o desenvolvimento e maturação dos frutos de tomateiro (12), nenhuma evidência há, ainda, da influência direta dessa enzima, como causa desse processo. Já se demonstrou que a atividade da PME aumenta linearmente durante o desenvolvimento dos frutos, atingindo uma estabilização quando o tamanho máximo de crescimento é completo (8).

Apesar de haver quatro frações isoenzimáticas da PME desde o início da formação do fruto, o aparecimento de uma forma especial e que precede o início da maturação foi notado por MEDINA (6).

BURG e BURG (2) verificaram a influência direta do etileno na aceleração do processo de maturação e, por essa razão, consideraram-no o hormônio responsável por esse processo. Uma relação bastante estreita entre a atividade da PME e o etileno foi estabelecida por MEDINA e DOSTAL (7) e MEDINA *et alii* (9, 10). Baseado nessas informações, este trabalho teve por finalidade verificar o papel da PME como agente participante das transformações bioquímicas que têm como consequência a maturação dos frutos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de tomateiro, cultivar 'Veegan', foram produzidos em casa de vegetação. A idade dos frutos na época de colheita foi expressa em percentagem do período total de crescimento, sendo 100% a média do tempo, depois da antese, para que os frutos atingissem o tamanho máximo (5). Os frutos foram colhidos com 60% de desenvolvimento. Os frutos recém-colhidos receberam três tratamentos diferentes,

^{1/} Recebido para publicação em 10-03-1981.

^{2/} Departamento de Fitotecnia da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

que consistiam na aplicação de soluções (1 ml/100 g de tecido) na superfície do ponto de interseção do pedúnculo. Por meio do abaixamento da pressão atmosférica do ambiente no qual os frutos tratados foram acondicionados e pela retomada da condição natural de pressão, foi possível conseguir que as soluções penetrassem com uniformidade no interior dos frutos.

O tratamento considerado controle consistiu na aplicação de uma solução enzimática comercial da pectinametilesterase (Worthington Biochemical Corp.), cuja atividade foi anulada pelo processo de fervura. O segundo tratamento consistiu na aplicação da mesma solução anterior, com uma atividade de 22 unidades por ml de solução. O terceiro tratamento consistiu na extração e purificação da enzima pectinametilesterase (PME) dos frutos de tomateiro do mesmo cultivar utilizado no experimento e sua aplicação nos frutos, nas mesmas proporções utilizadas no tratamento anterior.

A extração da PME foi realizada homogeneizando 100 g de frutos maduros, durante 5 min, na presença de 100 ml de água a 3°C e 2 ml de bissulfito de sódio 0,8 M. Após a homogeneização, o material foi centrifugado (8.000 x g) durante 30 min. O sobrenadante foi descartado e ao precipitado foram adicionados 100 ml de cloreto de sódio 1,0 M, que aí permaneceram em constante agitação, durante 12h, a 3°C. A suspensão colhida após a centrifugação foi precipitada com sulfato de amônio a 50%. As proteínas precipitadas foram centrifugadas, para eliminação das impurezas, e, em seguida, dissolvidas em cloreto de sódio 0,15 M. O material dissolvido sofreu diálise durante 74h, contra cloreto de sódio 0,15 M. O volume do extrato final foi ajustado e a atividade da PME foi determinada segundo o processo de HILLS e MOTTERN (4).

Os frutos, após as infiltrações, foram armazenados em jarras, à temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$, e ventilados com um suprimento de ar umidificado e livre de CO₂, numa vazão de 6 l/h. A respiração desses frutos foi determinada, diariamente, por um analisador de gás infravermelho; a produção de etileno, por cromatografia gasosa (8). Todas as taxas foram calculadas tomando como base o peso fresco original.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados apresentados na Figura 1, pode-se verificar o perfil do climatério dos frutos sob o efeito dos diferentes tratamentos. O início deu-se aos 19, 17 e 14 dias após os tratamentos controle, PME (extrato) e PME (comercial), respectivamente. Na Figura 2 pode-se verificar a evolução interna de etileno dos mesmos frutos, verificando-se um aumento da concentração interna de etileno aos 19, 17 e 14 dias após os tratamentos controle, PME (extrato de fruto) e PME (comercial), respectivamente. Pode-se notar, também, nas duas figuras, a concomitância entre a produção de etileno e o início da respiração, nos diferentes tratamentos; na Figura 2, o início das mudanças de coloração está em concordância com a produção de etileno e com a respiração. Esses dados estão também de acordo com os de PRATT e GOESCHL (13), que salientaram ser o climatério a reflexão da exigência integrada de energia para os diversos processos, que ocorrem simultaneamente, porém são independentes, durante a maturação. Verifica-se, dessa maneira, a efetividade dos tratamentos em acelerar o processo de maturação, em relação ao controle.

A maturação dos frutos de tomateiro envolve alterações químicas e físicas, que os transformam numa forma apreciada pelo consumidor. Essas transformações podem ser resumidas, segundo alguns autores (3, 8, 14), em aumento da concentração de etileno, aparecimento do climatério (aumento de CO₂) e mudanças na

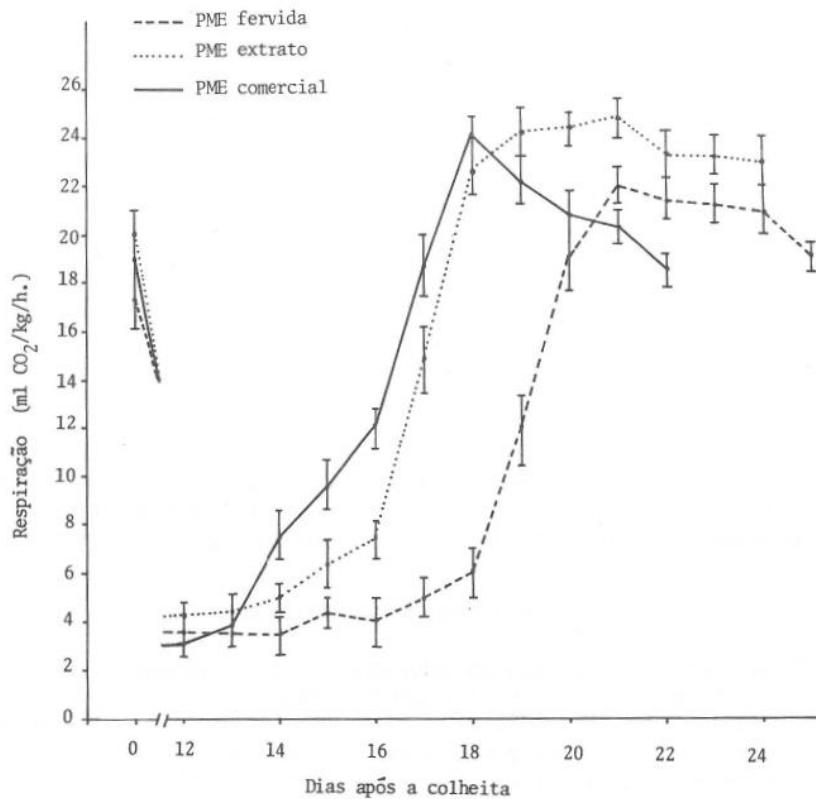


FIGURA 1 - Média da taxa de produção de CO₂ pelos frutos de tomateiro tratados com solução fervida de PME, extrato de PME e solução comercial de PME. A barra vertical representa o desvio-padrão de uma população ($n=8$).

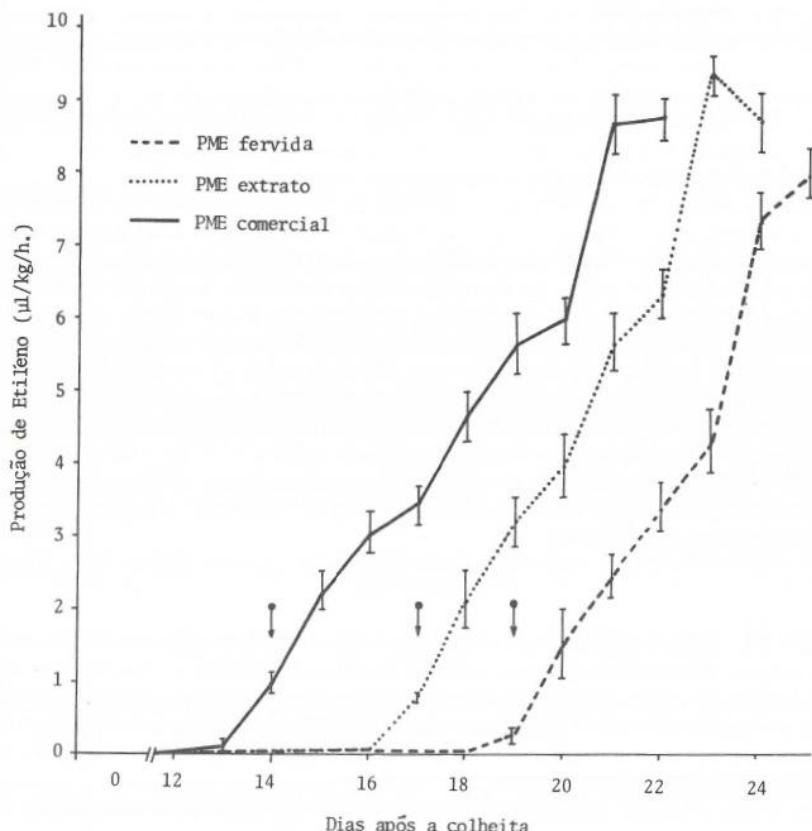


FIGURA 2 - Média da taxa de produção de etileno pelos frutos de tomateiro tratados com solução fervida de PME, extrato de PME e solução comercial de PME. A barra vertical representa o desvio-padrão de uma população ($n'=8$). A seta representa a média dos dias para o aparecimento da primeira mudança de pigmentos.

atividade das enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG), ambas responsáveis pelo amolecimento dos tecidos dos frutos e pelas mudanças na síntese de pigmentos e substâncias, que dão origem ao aroma e ao sabor. Segundo RHODES (14), aumentada a concentração interna de etileno, as outras transformações ocorrem concomitantemente, compreendendo a faixa do pré-climatério ao pós-climatério, o intervalo mais importante para o estudo da maturação.

O aumento da concentração do etileno, depois de atingido o nível necessário, é considerado mais consequência, não tendo, a partir desse ponto, nenhum efeito na maturação, segundo BIALE (1). É de real importância, então, comparar os primeiros níveis acumulados desse gás no interior dos frutos no primeiro dia de maturação, 0,3, 0,8, e 1,0 μ l/kg/h, como elemento de controle, PME (extrato dos frutos) e PME (comercial), respectivamente (Figura 2). Pode-se demonstrar, desse modo, que as formas aplicadas de PME tiveram efeito acelerador no processo de maturação, em consequência do aumento interno da concentração de etileno. A forma comercial, entretanto, foi mais efetiva que a extraída dos frutos.

Muitas evidências sugerem que a hidrólise da pectina através da poligalacturonase (PG) pode desempenhar, durante o desenvolvimento, papel vital, predispondo os frutos à maturação (11, 17). TIGCHELAAR *et alii* (18), utilizando os mutantes *Rin* e *Nor*, afirmaram que a falta de maturação desses mutantes foi causada pela não detecção da atividade da PG, em todas as idades desses frutos. Recentes observações mostraram também que a PG induz o desprendimento de muitas outras enzimas, presas às paredes celulares, e que essa liberação estaria associada ao controle da respiração, à produção de etileno e à síntese de pigmentos carotenóides (15, 16). Pelo fato de a PG utilizar o substrato preparado por meio de atividades da PME (6), somado às evidências da associação da PME e do etileno (7, 9, 10) e da eficácia da aplicação exógena no controle da maturação, supõe-se que a PME esteja diretamente associada com os eventos condicionadores, que iniciam o processo de maturação dos frutos de tomateiro.

4. RESUMO

Não há, ainda, evidências que caracterizem a pectinametilesterase (PME) como fator indutor do processo de maturação de frutos de tomateiro, muito embora sua participação no crescimento e no desenvolvimento dos frutos seja conhecida. O uso de aplicações de extrato de frutos maduros ou soluções comerciais de PME sobre os frutos imaturos levou a um exame mais preciso do efeito de PME sobre os padrões de maturação dos frutos de tomateiro.

Os frutos tratados com diferentes soluções de PME foram individualmente armazenados em jarras ventiladas continuadamente com ar umidificado e livre de CO₂. Diariamente, foram efetuadas análises de etileno, por cromatografia gasosa, e de CO₂, por analisador infravermelho. O tratamento dos frutos com PME induziu o aparecimento do climatério aos 19, 17 e 14 dias no controle (PME fervida), PME extraída dos frutos e PME comercial, respectivamente. Os dados referentes à produção de etileno fazem paralelo com a produção de CO₂. Foi mostrado que o início da maturação dos frutos, causado pelos tratamentos, foi ocasionado pelo aumento da concentração endógena do etileno. Sugere-se que a PME pode representar uma condição que predispõe os frutos para o amadurecimento.

5. SUMMARY

Although the changes which occur in pectinmethylesterase (PME) in developing and ripening tomato fruits have been studied, no evidence exists which directly

implicates the enzyme as a causal factor in ripening. Studies using the application of ripe tomato fruit homogenates and commercial solutions of PME into immature green tomato fruits led to a closer examination of the effect of PME on the ripening behavioral patterns of tomato fruits harvested at 60 per cent of development.

The fruits were treated with different PME solutions and then individually enclosed in glass jars which were ventilated continuously with humidified CO₂ — free air. The ethylene evolution was measured by gas chromatography, and CO₂ levels were determined with an infra-red gas analyzer. The treatment of tomato fruit with PME caused the fruit to initiate a climacteric rise at 19, 17 and 14 days after treatment in the control (boiled PME, extractable PME and commercial PME, respectively). The data on ethylene production parallel those for CO₂ production. The findings have shown that the acceleration of the onset of ripening by the treatments is through the elevation of the endogenous ethylene production level. It is suggested that the PME represents the conditioning event which plays a vital role in predisposing fruit to ripen.

6. LITERATURA CITADA

1. BIALE, J.B. Synthetic and degradative processes in fruit ripening In: HAARD, N.F. & SALUNKHE, D.K., ed. *Symposium: Postharvest biology and handling of fruits and vegetables*. Westport. The AVI Publishing Company. Inc., 1975. p. 5-18.
2. BURG, S.P. & BURG, E.A. Ethylene action and the ripening of fruits. *Science*, 148:1190-1196. 1965.
3. DOSTAL, H.C. The biochemistry and physiology of ripening. *HortScience*, 5: 36-37. 1970.
4. HILLS, C. & MOTTERN, H.H. Preparation of tomato pectase. *J. Biol. Chem.*, 168: 651-655. 1947.
5. McGLASSON, W.B. DOSTAL, H.C. & TIGCHELAAR, E.C. Comparison of propylene induced responses of immature fruit of normal and RIN mutant tomatoes *Plant Physiol.*, 55 218-222. 1975.
6. MEDINA, P.V.L. *Pectinmethyl esterase as a factor in tomato fruit ripening*. West Lafayette, Purdue University, 1977. 101 p. (Tese de Ph.D.).
7. MEDINA, P.V.L. & DOSTAL, H.C. Stabilization of tomato pectinmethyl esterase by incubation in ethylene. *HortScience*, 12: 406. 1977.
8. MEDINA, P.V.L. & MEDINA, R.M.T. Descrição bioquímica e fisiológica da maturação dos frutos de tomate. *Rev. Ceres*, 28:1-7. 1981.
9. MEDINA, P.V.L., DOSTAL, H.C. & MEDINA, R.M.T. Stabilization of pectinmethyl esterase (PME) of tomato fruit caused by ethylene at different temperatures. *Rev. Ceres*. 28:425-434. 1981.
10. MEDINA, P.V.L., DOSTAL, H.C. & MEDINA, R.M.T. Specific inhibition of pectinmethyl esterase (PME) isozymes by ethylene during tomato fruit ripening. *Rev. Ceres*, 28:435-443. 1981.

11. NG, T.J. & TIGCHELAAR, E.C. Action of the non — ripening (nor) mutant on fruit ripening of tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 102: 504-509. 1977.
12. PRESSEY, R. & AVANTS, J.K. Multiple forms of pectinmethyl esterase in tomatoes. *Phytochemistry*, 11:3139-3142. 1972.
13. PRATT, H.K. & GOESCHL, J.D. Physiological roles of ethylene in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 20:541-584. 1969.
14. RHODES, M.J.C. The climacteric and ripening of fruits. In: HULME, A.C. ed. *The biochemistry of fruits and their products*. Vol. 1. N. York, Academic Press, 1970. p. 521-533.
15. STRAND, L.L. & MUSSELL, H. Release of cell-wall bound peroxidases and indole acetic acid oxidases by endopolygalacturonase. *Plant Physiol.*, 56:S-83. 1975.
16. STRAND, L.L., RECHTORIS, C. & MUSSELL, H. Polygalacturonases release cell-wall bound proteins. *Plant Physiol.*, 58: 722-725. 1976.
17. TIGCHELAAR, E.C. & McGLOSSON, W.B. Tomato ripening mutants: a key role for polygalacturonase in fruit ripening? *Plant Physiol.*, 59:S-655. 1977.
18. TIGCHELAAR, E.C., McGLOSSON, W.B. & BUESCHER, R.W. Genetic regulations of tomato fruit ripening. *HortScience*, 13:508-513. 1978.