



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

LUANA LIMA GUIMARÃES ALENCAR

APLICAÇÃO PRÉ-COLHEITA DE CITOCININA E GIBERELINA E SUA INFLUÊNCIA
SOBRE A QUALIDADE E FISIOLOGIA DO CAJU

FORTALEZA

2024

LUANA LIMA GUIMARÃES ALENCAR

APLICAÇÃO PRÉ-COLHEITA DE CITOCININA E GIBERELINA E SUA INFLUÊNCIA
SOBRE A QUALIDADE E FISIOLOGIA DO CAJU

Tese apresentada ao Programa de pós-graduação de Bioquímica do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Bioquímica. Área de concentração: Fisiologia vegetal.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda.

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Farley Herbster Moura.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A354a Alencar, Luana Lima Guimarães.

Aplicação pré-colheita de citocinina e giberelina e sua influência sobre a qualidade e fisiologia do caju / Luana Lima Guimarães Alencar. – 2024.
93 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Maria Raquel Alcântara de Miranda.

Coorientação: Prof. Dr. Carlos Farley Herbster Moura.

1. fitorregulador. 2. *Anacardium occidentale* L. 3. metabólica. I. Título.

CDD 572

LUANA LIMA GUIMARÃES ALENCAR

APLICAÇÃO PRÉ-COLHEITA DE CITOCININA E GIBERELINA E SUA INFLUÊNCIA
SOBRE A QUALIDADE E FISIOLOGIA DO CAJU

Tese apresentada ao Programa de pós-graduação de Bioquímica do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Bioquímica. Área de concentração: Fisiologia vegetal.

Aprovada em: 11 de julho de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Raquel Alcantara de Miranda (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Enéas Gomes Filho
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Humberto Henrique de Carvalho
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Luciana Siqueira de Oliveira
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Carlos Farley Herbster Moura.
Embrapa Agroindústria Tropical

Dedico a Deus, aos meus pais, minha irmã e
ao meu marido com todo o meu amor e
gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por cuidar de cada detalhe da minha vida e me mostrar que tudo acontece na hora certa e da melhor forma possível e atender a todos os desejos do meu coração.

Aos meus pais Vera e Valderez, que nunca mediram esforços para me ver feliz e para me dar todas as possibilidades para o estudo. Agradeço por todo o amor, cuidado, proteção, dedicação e paciência comigo durante todos os dias da minha vida. Eles são a minha fortaleza, meu porto seguro. É tudo por vocês! Amo vocês incondicionalmente!

À minha irmã Lívia por fazer eu sentir que nunca estarei sozinha no mundo enquanto ela existir. Era ela que durante esses 5 anos sempre falava: não esqueça de descansar! Te amo muito!

Ao meu marido Elton, meu parceiro de vida, quem aguentou minha ausência e minha presença estressante durante esses 5 anos. Obrigada por dividir o peso dos dias difíceis comigo e por se orgulhar de mim mais do que eu mesma. Te amo muito amor!

Aos meus sogros, Rosa e Armenio, por todo o incentivo durante esses anos, por toda ajuda, carinho e amor. Amo vocês!

À minha Lua, minha filha de quatro patas, você não tem ideia o quantos seus lambeijos me acalmavam nos momentos de ansiedade! Te amo tanto filha!

À minha família, avó e avô, tios e tias, primos e primas que sempre me apoiaram.

Aos amigos que conheci ao longo da minha vida e que não largo nunca mais: Amanda, Camila Félix, Luan, Nádylla, Rachel e Vanessa, obrigada pela amizade, pelos momentos felizes, e por toda ajuda concedida. Em especial a Andressa, Bline, Cibele e Morgana por serem meu apoio e ponto de equilíbrio durante essa jornada, por escutarem meus medos, minhas reclamações, por me proporcionar momentos maravilhosos e por serem anjos na minha vida. Vocês são muito importantes para mim! Amo vocês!

Aos colegas do Labfrutos que conheci durante essa jornada, Rute, Débora, João, Luciana, Karol e Izabela. Muito obrigada pelos momentos alegres e por toda ajuda!

Às minhas parceiras e fiéis escudeiras Camila Tomé e Gabrielle, sabe aquelas pessoas que Deus coloca em seu caminho para não fazer você desistir? Foram elas que

deixava os dias de laboratório mais leves e que entendiam cada sentimento louco dessa jornada. Do Labfrutos para vida, já avisei! Amo vocês!

À minha orientadora Prof.^a Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda por toda a paciência, dedicação, sabedoria e uma verdadeira orientação durante essa jornada. Tenho certeza de que muitos acadêmicos não têm a sorte de ter uma orientadora humana como ela. Obrigada por todos os ensinamentos, puxões de orelhas, por ter confiado em mim e ter me dado a oportunidade de trabalhar com a senhora! Minha eterna gratidão!

À Embrapa Agroindústria Tropical pelo financiamento e ao pesquisador e coorientador Dr. Carlos Farley Herbster Moura pela oportunidade de fazer parte desse projeto incrível e por todos os ensinamentos.

Aos colegas e profissionais do laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical, Márcia, Ionete, Maiza e Daniel. Em especial á Ruth, a minha eterna gratidão!

Ao laboratório de Fisiologia Vegetal (Labfive) na figura do prof. Humberto Carvalho e seus alunos pela parceria nos meus experimentos e pela ajuda concedida. Em especial ao Lucas e ao Igor Rafael. Minha eterna gratidão!

Aos membros da minha banca pela participação e as contribuições para o aperfeiçoamento desse trabalho.

À Coordenação e a todos os Professores e Funcionários do programa de Pós-Graduação em Bioquímica Vegetal, ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBBM) e à Universidade Federal do Ceará.

À CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de Doutorado (código de financiamento: 001)

Por fim, a todos que de alguma forma me ajudaram, me deram força e me fizeram acreditar mais em mim. Sou eternamente grata!

“Ainda que a minha mente e o meu corpo enfraqueçam, Deus é a minha força, Ele é tudo o que eu sempre preciso (Salmos 73:26)”

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da aplicação pré-colheita de giberelina (GA3) e da citocinina benziladenina (BA) em diferentes doses (0, 90, 180 e 270 e 360 ppm), sobre as características físicas, físico-químicas, enzimáticas e no perfil metabólico dos pedúnculos de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) CCP76 cajueiro-anão-precocoe cultivados na região Nordeste do Brasil. O experimento foi conduzido na Estação Experimental da Embrapa Agroindústria Tropical em Pacajus, Ceará. Os tratamentos foram aplicados nas plantas no estágio 1 de desenvolvimento com castanha verde e pedúnculo verde, os frutos foram colhidos no ponto de colheita comercial com pedúnculo laranja escuros e então foram analisados. Os tratamentos não resultaram em diferenças estatísticas para as características físicas e nos parâmetros de cor quando comparados ao controle. O tratamento com GA3 reduziu o conteúdo de açúcares totais de forma inversa ao aumento das doses, porém não alterou significativamente a acidez titulável (AT) e a relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT). Os tratamentos com GA3 e BA reduziram o conteúdo de vitamina C significativamente, influenciando tanto a forma reduzida (o ácido ascórbico) quanto a forma oxidada (o ácido desidroascórbico). A firmeza dos pedúnculos não foi significativamente afetada pelos tratamentos, apesar do tratamento com GA3 ter induzido um aumento na atividade das enzimas PME e PG, enquanto a BA aumentou a atividade de PME e reduziu a de PG. Os tratamentos com GA3 e BA aumentaram a atividade da enzima PAL, enquanto a atividade da PPO aumentou com GA3 e diminuiu com BA sem aumentar o conteúdo de fenólicos totais. A análise metabolômica revelou alterações significativas no perfil de açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e lipídeos. Conclui-se que, mesmo sem efeitos visíveis sobre atributos físicos, os reguladores influenciaram a fisiologia e o metabolismo dos pedúnculos, reforçando o potencial dos fitormônios como estratégia de manejo pré-colheita e a utilidade da metabolômica na identificação de biomarcadores metabólicos em frutos tropicais.

Palavras-chave: fitorregulador; *Anacardium occidentale* L; metabolômica

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of pre-harvest application of gibberellin (GA₃) and the cytokinin benzyladenine (BA) at different concentrations (0, 90, 180, 270, and 360 ppm) on the physical, physicochemical, enzymatic characteristics and the metabolic profile of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) CCP76, a dwarf early-flowering genotype cultivated in the Northeast region of Brazil. The experiment was conducted at the Experimental Station of Embrapa Tropical Agroindustry in Pacajus, Ceará. Treatments were applied to plants at stage 1 of fruit development (green nut and green cashew apple), and fruits were harvested at commercial maturity (dark orange apples) and then analyzed. The treatments did not result in statistically significant differences in physical characteristics or color parameters compared to the control. GA₃ reduced the total sugar content inversely with increasing doses, but did not significantly affect titratable acidity (TA) or the soluble solids/titratable acidity ratio (SS/TA). Both GA₃ and BA significantly reduced vitamin C content, affecting both the reduced form (ascorbic acid) and the oxidized form (dehydroascorbic acid). Fruit firmness was not significantly affected by the treatments, although GA₃ induced an increase in PME and PG enzyme activity, while BA increased PME and reduced PG activity. Both GA₃ and BA increased PAL activity; PPO activity increased with GA₃ and decreased with BA, without increasing the total phenolic content. Metabolomic analysis revealed significant changes in the profiles of sugars, organic acids, amino acids, and lipids. In conclusion, even without visible changes in physical attributes, the regulators significantly influenced the physiology and metabolism of the cashew apple, reinforcing the potential of plant growth regulators as a pre-harvest management strategy and highlighting the usefulness of metabolomics in identifying metabolic biomarkers in tropical fruits.

Keywords: growth regulator; *Anacardium occidentale* L; metabolomics

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Estrutura da parede celular vegetal.....	22
Figura 2 –	Reação catalisada pela Fenilalanina amônia-liase (PAL).....	24
Figura 3 –	Reações catalisadas por cresolase (A) e catecolase (B) da polifenoloxidase (PPO).....	26
Figura 4 –	Estrutura química da giberelina GA3.....	30
Figura 5 –	Via biossintética de giberelinas.....	31
Figura 6 –	Estrutura das citocininas cinetina e zeatina.....	34
Figura 7 –	Via biossintética das citocininas.....	35
Figura 8 –	Gráficos de score PLS-DA (A) e de loadings (B) para metabólitos identificados de pedúnculos de cajueiro CCP76 tratados com ácido giberélico (GA3)	72
Figura 9 –	Gráficos de score PLS-DA (A) e de loadings (B) para metabólitos identificados de pedúnculos de cajueiro CCP76 tratados com benziladenina (BA).....	73
Figura 10 –	Pontuações de Importância de Variável na Projeção (VIP score) para metabólitos em pedúnculos de cajueiro 'CCP76' tratados com ácido giberélico (GA3)	74
Figura 11 –	Pontuações de Importância de Variável na Projeção (VIP score) para metabólitos em pedúnculos de cajueiro 'CCP76' tratados com benziladenina (BA).....	76
Figura 12 –	Heatmap dos metabólitos de pedúnculos de cajueiro 'CCP76' tratados com ácido giberélico (GA3) (A) e benziladenina (B) nas respectivas concentrações.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm nas características físicas do caju ‘CCP76’*	49
Tabela 2 –	Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm nos parâmetros de cor dos pedúnculos de cajueiro ‘CCP76’*	50
Tabela 3 –	Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm nas características físico-químicas dos pedúnculos de cajueiro ‘CCP76’*	51
Tabela 4 –	Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm nos teores de vitamina C, ácido ascórbico e ácido desidroascórbico dos pedúnculos de cajueiro ‘CCP76’*	52
Tabela 5 –	Efeito da aplicação pré-colheita de giberelina ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm, na firmeza e variáveis associadas dos pedúnculos de cajueiro ‘CCP76’*	54
Tabela 6 –	Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm, nas variáveis do metabolismo fenólico dos pedúnculos de cajueiro ‘CCP76’*	56
Tabela 7 –	Intensidades relativas* dos açúcares dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com giberelina (GA3) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*	59

Tabela 8 –	Intensidades relativas* dos açúcares dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com citocinina benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*	60
Tabela 9 –	Intensidades relativas* dos ácidos orgânicos e do ácido fosfórico dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com giberelina (GA3) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*	62
Tabela 10 –	Intensidades relativas* dos ácidos orgânicos e do ácido fosfórico dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com citocinina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*	36
Tabela 11 –	Intensidades relativas* dos aminoácidos dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com giberelina (GA3) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*	66
Tabela 12 –	Perfil de aminoácidos dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com citocinina (BA)*	67
Tabela 13 –	Intensidades relativas* dos lipídeos dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com giberelina (GA3) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*	69
Tabela 14 –	Intensidades relativas* dos aminoácidos dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com citocinina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GA3:	Ácido Giberélico
BA:	Benziladenina
SS:	Sólidos Solúveis
AT:	Acidez Titulável
SS/AT:	Relação Sólidos Solúveis/Acidez Titulável
PAL:	Fenilalanina Amônia-Liase
PPO:	Polifenoloxidase
PME:	Pectinametilesterase
PG:	Poligalacturonase
GC-MS:	Cromatografia Gasosa - Espectrometria de Massas
VIP:	Pontuação de Importância de Variável na Projeção
PLS-DA:	Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais
CCP76:	Clone do Cajueiro de Pacajus

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Cajueiro: aspectos botânicos, agrônômicos e econômicos.....	17
2.2.	Fisiologia do amadurecimento.....	20
2.2.1	<i>Amadurecimento.....</i>	20
2.2.2	<i>Alterações em firmeza durante o amadurecimento.....</i>	22
2.2.3	<i>Alterações em compostos fenólicos durante o amadurecimento.....</i>	24
2.2.4	<i>Alterações no conteúdo de vitamina C durante o amadurecimento....</i>	27
2.3	<i>Fitormônios e o desenvolvimento de frutos.....</i>	28
2.3.1	<i>Ácido giberélico, via metabólica e aplicações na pré-colheita.....</i>	28
2.3.2	<i>Citocininas, via metabólica e aplicações na pre-colheita.....</i>	33
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.1	Material vegetal, localização do experimento e tratamentos pré-colheita.....	39
3.2	Análises de qualidade pós-colheita.....	40
3.2.1	<i>Análises físicas.....</i>	40
3.2.2	<i>Cor dos frutos.....</i>	40
3.2.3	<i>Açúcares totais.....</i>	40
3.2.4	<i>Sólidos solúveis (SS)</i>	41
3.2.5	<i>Acidez titulável (AT).....</i>	41
3.2.6	<i>Relação sólidos solúveis e acidez titulável (SS/AT).....</i>	41
3.2.7	<i>Composição de açúcares.....</i>	41
3.2.8	<i>Proteínas solúveis totais.....</i>	42
3.3	Firmeza e variáveis associadas.....	42
3.3.1	<i>Peroxidação de lipídeos (Conteúdo de malonaldeído-MDA).....</i>	42
3.3.2	<i>Atividade da Enzima Pectinametilesterase (PME).....</i>	43
3.3.3	<i>Atividade da Enzima Poligalacturonase (PG).....</i>	43
3.4	Vitamina C total.....	44
3.5	Metabolismo de Fenólicos.....	45

3.5.1.	<i>Determinação de polifenóis extraíveis totais (PET)</i>	45
3.5.2.	<i>Atividade da Fenilalanina amônia liase (PAL)</i>	45
3.5.3.	<i>Atividade da Polifenoloxidase (PPO)</i>	46
3.6	Perfil metabólico.....	46
3.7	Análise estatística.....	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1	Análises associadas à qualidade pós-colheita.....	49
4.2	Perfil metabólico.....	58
5	CONCLUSÃO.....	79
	REFERÊNCIAS.....	80

1 INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma espécie nativa do nordeste do Brasil onde apresenta importância econômica e social. O caju é formado por um fruto seco, a castanha, e um pedúnculo ou pseudofruto carnoso (Padilha *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2023). Em 2022, a área ocupada com a cultura do cajueiro no país era de 425,2 mil hectares, sendo 99% da área localizada na região Nordeste nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. O Ceará contribuiu com 54,1% da produção nacional (Brainer., 2022).

A castanha, que é o verdadeiro fruto do cajueiro, representa o principal produto de exportação. Já o pedúnculo, parte polposa, fibrosa e succulenta do caju, possui grande valor nutricional e é reconhecido como um alimento funcional. O pedúnculo do cajueiro é uma importante fonte de fibras alimentares (Dakuyo *et al.*, 2022), compostos fenólicos (Vilar *et al.*, 2016; Cunha *et al.*, 2017), minerais (Rico *et al.*, 2016) e vitamina C e ácidos orgânicos (Reina *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2023). E essa combinação de nutrientes lhe confere um elevado poder antioxidante e antimicrobiano, (Baptista *et al.*, 2018); anti-inflamatório (Da Silveira *et al.*, 2015); químico (Araújo *et al.*, 2015); e antidiabético (Mohan *et al.*, 2018).

Entretanto, a baixa comercialização do pseudofruto deve-se à sua alta perecibilidade. Sua vida útil pós-colheita é inferior a 48 horas quando armazenado em temperatura ambiente, com diminuição do valor nutricional e susceptibilidade à infecção por microrganismos (Moura *et al.*, 2010; Queiroz *et al.*, 2011).

Nesse contexto, diversos estudos têm sido realizados com tecnologias de pré-colheita, incluindo a aplicação de fitormônios, para aumentar a vida útil dos frutos e, ao mesmo tempo, manter sua qualidade. Cai *et al.* (2021) observaram que GA3 em cunquate aumentou sólidos solúveis e reduziu acidez titulável e MDA durante o armazenamento. Alrashdi *et al.* (2017) mostraram que GA3 em uvas aumentou peso, tamanho, acidez, fenóis, vitamina C, e atividades enzimáticas, sem afetar a firmeza. Canli e Pektas (2015), observaram que benziladenina (BA) aumentou o peso das peras em 11,3%, com variação na firmeza e sólidos solúveis. Canli *et al.* (2015) relataram que BA aumentou peso, sólidos

solúveis e acidez das cerejas. Zhang *et al.* (2018) descobriram que 6-benzilaminopurina (BAP) retardou o escurecimento enzimático em lichia.

Apesar de todos esses benefícios, o pedúnculo não tem tanta importância comercial quanto a castanha, principalmente devido à sua alta perecibilidade. Além da grande fragilidade do caju, a época de cultivo/produção restringe-se ao segundo semestre do ano e faltam técnicas adequadas de manejo pós-colheita que, no seu conjunto, contribuem para a perda de quase 80% da produção (Souza *et al.*, 2016). Por isso, a manutenção da qualidade dos pedúnculos de cajueiro é um desafio constante para os produtores, especialmente em relação ao aumento do tamanho, firmeza, teor de nutrientes e vida útil pós-colheita

Nesse cenário, os reguladores de crescimento, como a giberelina e a citocinina, têm se mostrado alternativas potenciais para a qualidade pós-colheita do caju. Apesar disso, os efeitos desses compostos sobre a qualidade e o perfil metabólico global dos pedúnculos ainda não são completamente compreendidos. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da aplicação pré-colheita de giberelina e citocinina ambas em diferentes doses (0, 90, 180 e 270 e 360 ppm), sobre características físicas, físico-químicas, enzimáticas e no perfil metabólico dos pedúnculos de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) CCP76 cajueiro-anão-precocce cultivados na região Nordeste do Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cajueiro: aspectos botânicos, agrônômicos e econômicos

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma frutífera tropical originário do Brasil, amplamente encontrada em todo o país. Além disso essa espécie foi introduzida em mais de quarenta países devido a sua capacidade de se adaptar a diferentes condições, como variações de altitude e solos pouco férteis principalmente em climas tropicais (Barros et al., 1993; Sharma et al., 2020). Pertence à família Anacardiaceae, possui tronco curto, com uma copa muito larga e tem grande importância socioeconômica para a região nordeste do Brasil (Morton, 2003, Lopes *et al.*, 2011).

Suas folhas são simples, alternadas, coriáceas, glabras, estreitas a largamente obovadas. Sua raiz é pivotante bem desenvolvida, por vezes bifurcada, podendo, em solos arenosos, alcançar dez ou mais metros de profundidade (Lim, 2012, Barros., 1995). Esse sistema radicular do cajueiro confere tolerância a seca sendo uma espécie adaptável a uma ampla gama de solos com pH de 4,3 a 6,5. Entretanto, a má drenagem do solo, solos muito básicos, salinos ou encharcados são intolerantes para o cajueiro. Além disso, a alta pluviosidade e umidade favorecem doenças que prejudicam flores e frutos reduzindo assim o vingamento dos frutos (Lim, 2012).

As flores do cajueiro formam inflorescências organizadas em grandes panículas terminais, que geralmente incluem flores masculinas, femininas e hermafroditas. Durante a antese, essas flores apresentam coloração branca ou verde-clara com delicadas linhas vermelhas ou rosadas. Após a fertilização, elas assumem um tom de vermelho-escuro e a polinização é realizada por abelhas, vespas, formigas, moscas e beija-flores. O fruto é um aquênio reniforme (castanha), com cerca de 3 cm de comprimento por 2,5 cm de largura, pendente a um receptáculo alargado, carnoso e suculento, denominado de pedúnculo, brilhante, alaranjado, vermelho ou amarelado, em forma de pera que mede aproximadamente 10 a 20 cm de comprimento e 4 a 8 cm de largura e são dispersos principalmente por morcegos frugívoros (Lim, 2012).

A área mundial colhida de castanha de caju em 2020 foi de 7,1 milhões de hectares (2020), com maior concentração em Costa do Marfim (28,6%) e o Brasil

possuindo a sexta maior área, com a participação de 6,0% do total mundial. Em termos de produtividade, o principal produtor mundial de castanha de caju é Costa do Marfim, com 848,7 mil toneladas, ficando o Brasil em 11^a colocação, com a produção de 139,9 mil toneladas em uma área de 426,1 mil hectares (Brainer, 2022).

No Brasil, em 2022, a área ocupada com cajueiros foi estimada em 425,2 mil hectares, sendo 424,0 mil hectares (99,7% do total nacional) localizados na região Nordeste. A produção nacional foi concentrada nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, que juntos alcançaram 116,4 mil toneladas, o equivalente a 90,6% da produção total do país com destaque para o Ceará que contribuiu com 54,1% dessa parcela (Brainer, 2022).

Além da castanha do caju, o pedúnculo também tem grande importância econômica para o mundo. Produzido apenas pelo Brasil, Mali, Madagascar e Guiana, o pedúnculo do cajueiro em 2020, teve uma produção mundial de 1,35 milhão de toneladas sendo o Brasil responsável por 81,5% dessa produção. A produção do Brasil de castanha de caju representa 3,3% do total mundial em 2020, mostrando que o Brasil estava longe de competir com os principais produtores mundiais, entretanto, é o maior produtor de pedúnculo (Brainer, 2022).

O fruto do cajueiro, (pedúnculo + castanha) é vendido para o mercado de produtos in natura e a castanha é normalmente descartada pelo consumidor. O pedúnculo então é consumido fresco ou processado em mais diversos produtos como: suco, polpa, conservas, vinho, vinagre, refrigerantes e doces conferindo assim mais valor à safra de caju (Berry e Sargent, 2011).

O caju é uma importante fonte de fibras alimentares (Sucupira *et al.*, 2020), compostos fenólicos (Cunha *et al.*, 2017), minerais (Olalusi *et al.*, 2020), vitamina C e ácidos orgânicos (Reina *et al.*, 2022). E essa combinação de nutrientes lhe confere um elevado poder antioxidante e antimicrobiano, (Baptista *et al.*, 2018); anti-inflamatório (Da Silveira *et al.*, 2015); químico (Araújo *et al.*, 2015); e antidiabético (Mohan *et al.*, 2018).

Apesar da diversidade de fitoquímicos e constituintes nutricionais, ainda há muitas razões que impedem a plena utilização dos frutos de caju como, o curto prazo de validade, a baixa capacidade de armazenamento e a falta de tecnologias de processamento apropriadas (Das e Arora, 2017).

O Clone de Cajueiro de Pacajus 76 (CCP 76) foi lançado em 1983 pela Embrapa Agroindústria Tropical. A planta matriz que deu origem a esse clone foi o cajueiro CCP 76. As características desse clone são bem semelhantes ao tipo de cajueiro-anão como: porte baixo, altura média de 2,68 m e diâmetro médio da copa de 4,98 m no sexto ano de idade. Em média, a massa da castanha é de 8,60 g e a do pedúnculo, que tem a coloração laranja, pesa 135 g (Paiva e Barros., 2004).

Sendo o clone mais cultivado pelos produtores do Nordeste, o clone CCP 76 é adaptado para o cultivo de sequeiro, e irrigado. A produtividade estimada do pedúnculo é de 13700 kg/ha. Esse clone é o mais aceito e recomendado para o consumo in natura, ou seja, para o mercado de mesa. Além disso é mais utilizado na fabricação de doces e cajuína e suas amêndoas são bem aceitas no mercado (EMBRAPA, 2020).

De Figueiredo *et al.* (2002), descrevem sete estádios de maturação para o clone CCP 76 de acordo com a cor do pedúnculo e da castanha: 1) pedúnculo verde com castanha verde; 2) pedúnculo verde com castanha seca madura; 3) pedúnculo verde-claro; 4) pedúnculo com início de coloração amarela; 5) pedúnculo amarelo mudando para cor laranja; 6) pedúnculo laranja-claro e 7) pedúnculo laranja-escuro.

Lopes *et al.* (2011) caracterizaram fisicamente pedúnculos de quatro clones de cajueiro anão precoce (CCP 76, CCP 09, BRS 189 e BRS 265) em diferentes estádios de maturação e indicaram o CCP 76 para o consumo e comercialização in natura. Esses autores verificaram que o clone CCP 76 foi o que teve os melhores parâmetros físicos (média de 53,73 mm de diâmetro basal, 40,81 mm de diâmetro apical, 67,24 mm de comprimento do pedúnculo, 113,27 g de massa total e 101,03 g de massa do pedúnculo). Entretanto a firmeza de valor 16,19 N foi a menor entre os clones analisados.

No estudo de Freitas *et al.* (2020) foram avaliadas as qualidades químicas de pedúnculos de novos clones de cajueiro (SLC 12-20, CAPI 17, PRO 555/2, HAC 276/1 e PRO 805/4) e comparados com clones comerciais. O clone comercial CCP 76, utilizado como referência para boa qualidade, apresentou acidez titulável (AT) em termos de % de ácido málico de 0,16%, e sólidos solúveis (SS) de 11,17 °Brix, relação SS/AT de 68,84 e pH 4,66. Além disso ainda apresentou polifenóis totais de 237,95 mg EAG.100 g⁻¹ e Vitamina C de 247,20 mg.100 g⁻¹ MF. Dessa forma um dos principais resultados do estudo foi que o clone de cajueiro PRO 555/2 apresentou pedúnculos com características

químicas e sensoriais semelhantes ao clone comercial de referência CCP 76, com baixa acidez titulável, alta relação SS/AT, sabor doce, sabor e aroma característicos do caju, além ser macio e succulento, comercialmente adequado para consumo à mesa.

2.2 Fisiologia do amadurecimento

2.2.1 Amadurecimento

O amadurecimento é um conjunto de processos que resultam nas características estéticas e qualitativas do fruto evidenciadas por mudanças na composição, coloração, textura, sabor e aroma o que tornam o fruto aceitável para o consumo. Durante esse processo ocorre muitas mudanças bioquímicas tanto de síntese como de degradação sendo a energia liberada utilizada para várias atividades fisiológicas e para a manutenção da integridade celular. Uma vez iniciado o amadurecimento o fruto é conduzido ao envelhecimento e à morte dos tecidos (Chitarra e Chitarra, 2005).

As principais transformações que ocorrem no fruto durante o amadurecimento são: síntese de proteínas/enzimas, síntese de etileno, modificação da textura através da solubilização das pectinas e hidrólise de polissacarídeos estruturais da parede celular, modificação do sabor e do aroma através da hidrólise de reservas; interconversão de açúcares; síntese e/ou degradação de ácidos orgânicos; polimerização de fenólicos e síntese de compostos voláteis e modificação na pigmentação através da degradação da clorofila e aparecimento de pigmentos pré-existentes como carotenoides e flavonoides. Essas transformações parecem estar sincronizadas e encontram-se, provavelmente, sob controle genético (Chitarra e Chitarra, 2005).

Durante o amadurecimento do caju, a acidez e a adstringência tendem a diminuir enquanto os sólidos solúveis, os açúcares redutores e o ácido ascórbico tendem a aumentar. Além disso, ocorre a mudança da cor do fruto decorrente da degradação da clorofila e da síntese de pigmentos como carotenoides e antocianinas (Berry e Sargent, 2011, Figueiredo *et al.*, 2002).

O primeiro relato sobre a fisiologia do caju foi realizado por Biale e Barcus (1970), que verificaram uma aceleração do metabolismo do caju devido à alta taxa de

respiração, a 20 °C. Pratt e Mendoza (1980), estudando a maturação do caju, observaram taxas de respiração em torno de 50 ml/kg⁻¹ e taxa de etileno baixa, em torno de 400 ml/kg⁻¹, sendo essa baixa produção de etileno a melhor evidência de que o caju tem um padrão respiratório não climatérico.

O pedúnculo do cajueiro deve ser colhido maduro e tem alta perecibilidade. Sua vida útil pós-colheita dura no máximo 48 h a 24°C. A qualidade do fruto é limitada pelo amaciamento rápido, diminuição do valor nutricional e suscetibilidade à infecção por microrganismos quando armazenados em temperatura ambiente levando a uma vida de armazenamento curta (Moura *et al.*, 2010, Queiroz *et al.*, 2011).

2.2.2 Alterações na firmeza durante o amadurecimento

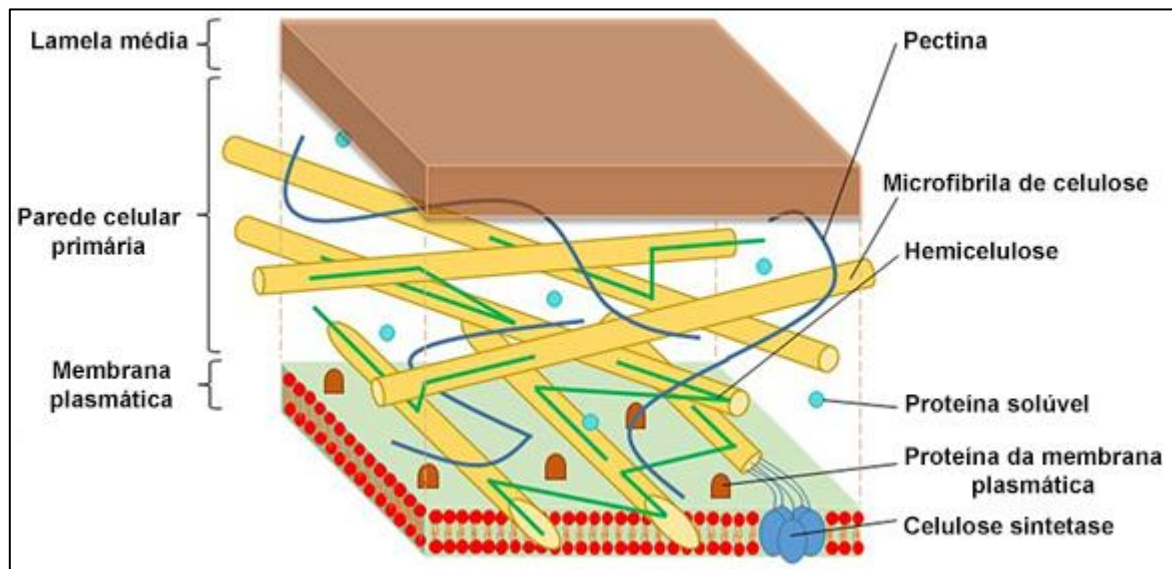
Com o amadurecimento dos frutos, ocorre a solubilização das substâncias pécticas pela ação de duas enzimas específicas: a poligalacturonase (PG) e pectinametilesterase (PME) contribuindo assim para o amaciamento dos tecidos em decorrência da redução da força de coesão entre as células (Chitarra e Chitarra, 2005). Essas substâncias constituem a lamela média das células, estrutura que as mantém unidas através de uma rede tridimensional de ligações de grupos carboxílicos livres com as cadeias de celulose formando a protopectina (insolúvel) que é predominante nos tecidos vegetais imaturos.

A PME catalisa a desmetilação da pectina, danificando as ligações horizontais de cálcio da cadeia polissacarídica ácida e levando à separação celular, bem como à geração de um substrato adequado para PG (Brummell *et al.*, 2004). A PG hidrolisa o ácido da pectina junto com a cadeia principal do ácido poligalacturônico, causando degradação da pectina, dissolução da parede celular e, finalmente, amolecimento do fruto (Wakabayashi *et al.*, 2000; Brummell *et al.*, 2004).

Dessa forma, como uma das funções das pectinas é a resistência mecânica da parede celular, qualquer modificação na sua estrutura resulta em alterações na textura dos frutos. Entretanto além das pectinas, a decomposição de outros componentes da parede celular como as celulosas e as hemicelulosas bem como a turgescência celular

(hidratação) e a hidrólise do amido influenciam o processo de amaciamento durante a maturação (Chitarra e Chitarra, 2005) (Figura 1).

Figura 1 – Estrutura da parede celular vegetal



Fonte: Loix *et al.*, 2017 (adaptado)

A membrana plasmática das células vegetais separa o citoplasma do ambiente externo. Todas as membranas biológicas são constituídas de uma dupla camada lipídica e os lipídeos mais abundantes nas membranas da célula vegetal são os fosfolipídios e os esteróis. Além disso, a fluidez da membrana que é influenciada pela temperatura é decorrente da presença de ácidos graxos insaturados como o ácido oléico, o ácido linoléico e o ácido linolênico (Taiz *et al.*, 2017).

A morte celular pode ser desencadeada por espécies reativas de oxigênio (ROS) que são responsáveis por romper a membrana celular ocasionando o extravasamento do conteúdo citoplasmático através de um processo químico chamado de peroxidação lipídica (PL) (Thomas *et al.*, 2015)

A PL das membranas vegetais é mediadora de eventos críticos durante o armazenamento pós-colheita pois é consequência natural dos processos metabólicos do fruto. Diante disso, os antioxidantes desempenham um papel importante na manutenção da integridade física de frutos pois fornecem um ambiente saudável para as enzimas ligadas à membrana funcionarem (Shewfelt e Rosario, 2000)

O escurecimento de frutos está relacionado ao metabolismo de lipídeos de membranas e compostos fenólicos. A ruptura da membrana celular, ocasionada pela peroxidação lipídica, reduz os teores de ácidos graxos insaturados e aumenta os de ácidos graxos saturados, aumentando também a permeabilidade da membrana. Além disso, a peroxidação lipídica causa perda da compartimentalização celular o que pode levar a enzima polifenoloxidase (PPO), que fica localizada no plastídeo, a entrar em contato com substratos fenólicos localizados no vacúolo e daí promover a ocorrência de escurecimento nos frutos (Lin *et al.*, 2016).

Rabelo *et al.* (2016) avaliaram a estabilidade térmica da PG e da PME em suco de caju. Inicialmente, a atividade da PME foi de 501,8 UAE min⁻¹.mg⁻¹ P aumentando até 10 vezes a 55 °C. Em temperaturas de 65 °C e 85 °C, a atividade apresentou um comportamento dinâmico: houve um aumento inicial seguido de declínio, até estabilizar-se após 15 e 20 minutos, respectivamente, quando a atividade voltou a aumentar. Quanto à PG, a atividade inicial foi de 50,4 UAE min⁻¹.mg⁻¹ de proteína. Os tratamentos térmicos a 55 °C e 65 °C resultaram em um aumento inicial da atividade após 3 e 1 minuto, respectivamente; entretanto, após esses períodos, a atividade decaiu de forma contínua.

Souza *et al.* (2016) avaliaram os efeitos do tratamento pré-colheita com ácido giberélico (GA3) (concentração de 180 ppm aplicado no estágio 1) na qualidade e vida pós-colheita (estádio 7) do pedúnculo do cajueiro de duas cultivares (CCP 76 e BRS 189), durante o armazenamento refrigerado. Os reguladores de crescimento afetaram significativamente ($p < 0,01$) a firmeza do pedúnculo, embora não tenha havido influência do período de armazenamento. Para ambas as variedades, o tratamento com GA3 resultou em frutos mais firmes. Na cultivar CCP 76, a firmeza das amostras tratadas com GA3 foi 15,40 N e 11,38 N, para controle. A firmeza do caju foi associada às enzimas da parede celular e ao grau de peroxidação lipídica das membranas celulares. No CCP 76, GA3 apresentou um pico de peroxidação lipídica maior e mais precoce aos 5 dias de armazenamento (87,81 nmol MDA.g⁻¹ MF), quando comparados ao controle que atingiu o pico aos 10 dias de armazenamento de 71,68 nmol MDA.g⁻¹ MF. Os reguladores de crescimento também influenciaram as enzimas PG e PME. O pico de atividade da PG no tratamento GA3 ocorreu aos 20 dias de armazenamento (29,97 UAE min⁻¹.mg⁻¹ P) enquanto no controle esse pico ocorreu aos 15 dias de armazenamento (28,01 UAE min⁻¹.

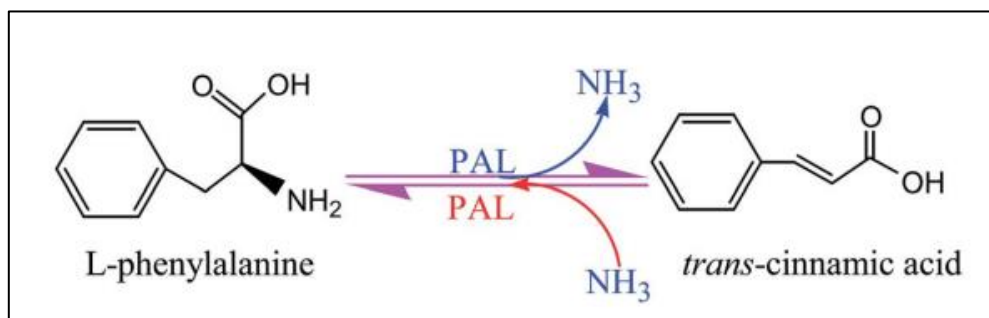
$1.\text{mg}^{-1}\text{ P}$). Para o CCP 76, no início do armazenamento, as amostras tratadas com GA3 apresentaram atividade de PME significativamente maior, que declinou e não diferiu do controle após 10 dias de armazenamento, com valor igual a $1780,27\text{ UAE min}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{ P}$.

2.2.3 Alterações em compostos fenólicos durante o amadurecimento

Compostos fenólicos são compostos químicos com estrutura contendo um anel aromático (benzeno) com pelo menos uma hidroxila (OH) e que formam pontes de hidrogênio com outras moléculas notadamente com as proteínas. Esses compostos têm participação no “flavor” (percepção de adstringência, acidez ou sabor amargo dos frutos), na coloração, na vida de prateleira e na ação como antioxidante. Sua concentração é correlacionada com a capacidade antioxidante, podendo ser utilizada para acompanhamento da perda de qualidade do produto na fase pós-colheita (Chitarra e Chitarra, 2005).

A fenilalanina amônia-liase (do inglês *Phenylalanine ammonia-lyase*, PAL) é uma enzima chave na síntese de compostos fenólicos. Essa enzima catalisa a desaminação da fenilalanina produzindo ácido t-cinâmico, que é o primeiro passo na via dos fenilpropanóides sendo um importante ponto de regulação entre o metabolismo primário e o secundário (Figura 2) (Huang *et al.*, 2010)

Figura 2 – Reação catalisada pela fenilalanina amônia-liase (PAL)



Fonte: Kong, 2015.

Estudos têm demonstrado que a atividade da PAL pode ser influenciada por diferentes tratamentos pré-colheita. Attia e Adss. (2021), estudando o efeito do

brassinosteróide aplicado na pré-colheita de maçã "Anna" e em diferentes concentrações, verificaram que todos os tratamentos com BRs aumentaram significativamente a atividade da enzima PAL e a expressão dos genes PAL, em comparação com o tratamento controle.

De forma semelhante, no estudo de Muengkaew *et al.* (2016), mangas da cv. Manhachanok foram pulverizadas na pré-colheita com metil jasmonato em diferentes concentrações (20000, 40000, 80000 e 120000 ppm). Os autores verificaram que o tratamento com 80000 ppm com metil jasmonato apresentou atividade significativamente maior de PAL e maior concentração de compostos fenólicos do que no tratamento controle.

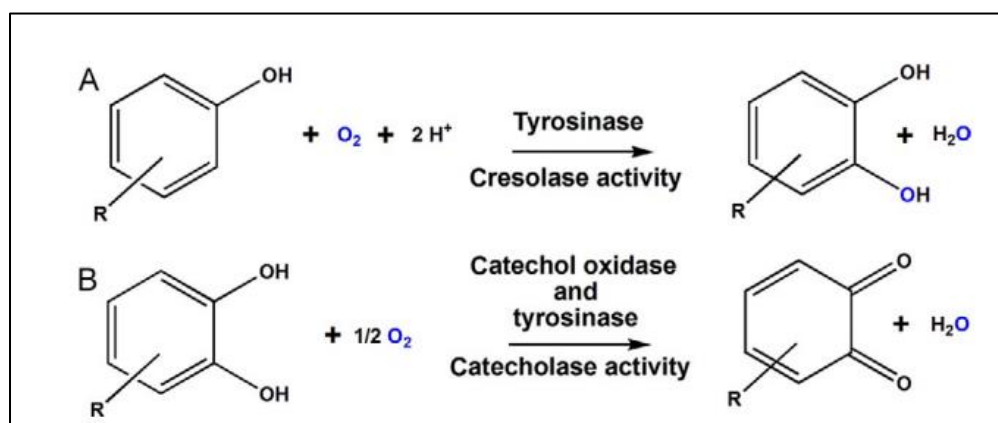
Outro estudo relevante foi realizado por Martínez-Camacho *et al.* (2022) onde, avaliaram o efeito do ácido salicílico e da quitosana como tratamentos pré-colheita em amora-preta. No estudo, foi verificado que a atividade da PAL aumentou significativamente com os tratamentos de quitosana na concentração de 0,25% bem como no tratamento com ácido salicílico na concentração de 3 mM em relação ao controle. Os autores relataram os resultados como promissores para melhorar a vida útil da amora-preta, mantendo as propriedades físico-químicas dela, retardando os processos de decomposição e ativando a atividade da PAL.

No caso dos cajueiros, Cunha *et al.* (2017) traçaram o perfil fenólico baseado em UPLC–qTOF-MS/MS e a atividade enzimática da PAL em pedúnculos dos clones CCP 76 e BRS 189. Foi observado que a atividade da PAL diminuiu significativamente durante o amadurecimento, com reduções de 70% no BRS 189 ($8.5 \times 10^{-2} \mu\text{mol ac.transc.h}^{-1}.\text{mg}^{-1} \text{ P}$) e 66% no CCP 76 ($2.49 \times 10^{-1} \mu\text{mol ac.transc.h}^{-1}.\text{mg}^{-1} \text{ P}$). O produto da atividade da PAL, o ácido transcinâmico foi identificado apenas como um éster, cinamoil glicosídeo, do pedúnculo maduro de ambos os clones.

A degradação dos fenólicos está associada à PPO que é uma enzima localizada nas membranas dos tilacóides do cloroplasto, enquanto seus substratos fenólicos se localizam nos vacúolos. Dessa forma, quando ocorre alguma alteração celular, ou seja, algum dano à estrutura da célula, o substrato e a enzima entram em contato ocorrendo oxidação dos compostos fenólicos e desencadeando o escurecimento enzimático pela formação gradual de melaninas de cor marrom-avermelhada (Tang *et al.*,

2020, Deutch, 2018). A PPO tem em seu sítio ativo o íon Cu^{2+} e na presença de oxigênio essa enzima catalisa duas reações distintas: 1) hidrolisa monofenóis a o-difenóis (atividade de cresolase) e 2) oxidação dos o-difenóis a o-quinonas (atividade de catecolase) (Figura 3) (Kaintz, 2014).

Figura 3 – Reações catalisadas pelas atividades cresolase (A) e catecolase (B) da polifenoloxidase (PPO).



Fonte: Kaintz, 2014

Estudos também destacam estratégias para minimizar a ação da PPO e retardar o escurecimento. Sinha *et al.* (2021) avaliaram como os revestimentos das frutas de peras com ácido salicílico (AS) enriquecidos com quitosana (Q) influenciavam nas propriedades antioxidantes e o escurecimento interno dessas frutas durante o armazenamento a frio simulando as condições de supermercado. Nesse estudo foi aplicado os seguintes tratamentos: Q 1,0%, Q 2,0%, CH 1,0% + AS 2,0 mM e Q 2,0% + A 2,0 mM, AS 2,0 mM e água destilada (controle). Como resultado, aos 67 dias de armazenamento em baixa temperatura nos tratamentos de Q 2,0 % + AS 2,0 mM e Q 1,0 % + AS 2,0 mM foram registrados valores mínimos de atividade da PPO: 1.9630×10^{-2} e 2.2200×10^{-2} UAE $\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ P, respectivamente; enquanto e nos tratamentos com Q 2,0 % e Q 1,0 %, os frutos apresentaram maior atividade de PPO: 2.4185×10^{-2} e 2.5085×10^{-2} UAE $\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ P, respectivamente

Outrossim, Kumari *et al.* (2015) avaliaram o escurecimento pós-colheita do pericarpo de lichia sob tratamento combinado de ácido salicílico e quitosana. Com isso, puderam verificar que no último dia de armazenamento, o tratamento controle apresentou

valores de fenólicos totais mais baixos enquanto os frutos tratados com ácido salicílico 1,0 mM + quitosana 2% apresentaram valores maiores de fenólicos totais. Os autores discutem que independentemente dos tratamentos, o teor de fenólicos totais da lichia declinou continuamente, com o avanço do período de armazenamento. Isso pode ser atribuído à maior atividade das enzimas PPO e peroxidase (POD) nas frutas controle, o que causou uma rápida diminuição nos fenólicos totais na fruta. Ao contrário, a maior retenção de compostos fenólicos em frutas tratadas com ácido salicílico e quitosana pode ser devido a atividades mais baixas das enzimas PPO e POD, retardando a oxidação de compostos fenólicos.

Já Sena *et al.* (2019) submeteram pedúnculos de cajueiro (CCP 76) ao hidroresfriamento (HC) e refrigeração em câmara fria (CR) verificaram que a atividade da PPO foi cerca de 67% maior em caju sob CR, em comparação com HC em 20 dias de armazenamento, e sugeriram que isto estava relacionado com a redução nos fenólicos.

2.2.4 Alterações no conteúdo de vitamina C durante o amadurecimento

A vitamina C ou ácido ascórbico e suas formas oxidadas não são sintetizadas pelo organismo humano, sendo necessários e adquiridos por meio da dieta (Chitarra e Chitarra, 2005). A vitamina C exerce um excelente papel antioxidante e sua forma ionizada, o ascorbato, serve de substrato para a ascorbato peroxidase (APX) que juntamente com as catalases participam na eliminação do excesso de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) (Wheeler *et al.*, 2015, Mhamdi *et al.*, 2010, Mhamdi *et al.*, 2012)

Nos frutos, a vitamina C está presente principalmente na forma reduzida, ácido ascórbico, que pode ser oxidado a ácido desidroascórbico (DHA) pela ação da oxidase do ascorbato (Eskin e Hoehn, 2013). No entanto a degradação do DHA para ácido 2,3-dicetogulônico leva à perda da atividade biológica produzindo pigmentos escuros que depreciam a aparência do produto (Chitarra e Chitarra, 2005).

Gordon *et al.* (2012) analisaram o conteúdo de ácido ascórbico em pedúnculos do cajueiro CCP 76 em três estádios de maturação (verde, maduro médio e maduro) e relataram conteúdos de 1038 mg.100 g⁻¹ de matéria seca (MS) para os verdes, de 1392

mg.100 g⁻¹ MS para frutos meio maduros e de 1731 mg.100 g⁻¹ MS para frutos maduros indicando um aumento no conteúdo de ácido ascórbico durante o amadurecimento.

Lopes *et al.* (2012) avaliando o conteúdo de vitamina C no desenvolvimento de caju, observou que este aumentou, sendo os maiores valores encontrados nos pedúnculos maduro do estágio 7 do clone BRS 265 com 279,37 mg.100 g⁻¹ MF e do clone CCP 76 com 248,00 mg.100 g⁻¹ MF

Reina *et al.* (2022) analisaram o perfil de ácidos orgânicos do suco e bagaço de caju de duas variedades colombianas Mapiria e Regional 8315. Os sucos das variedades Regional 8315 e Mapiria apresentaram diferenças significativas entre os teores de ácidos ascórbico, oxálico e fumárico. A quantidade de ácido ascórbico observado no suco de Mapiria foi de 70,5 mg.100 g⁻¹, sendo superior ao da variedade Regional 8315 que foi de 51,8 mg.100 g⁻¹ de suco. Já no bagaço de caju, os ácidos ascórbico, cítrico e láctico foram os principais ácidos orgânicos nas variedades sendo o conteúdo de ácido ascórbico de Mapiria igual a 204 mg.100 g⁻¹ MF e do Regional 8315, sendo de 188 mg.100 g⁻¹ MF

2.3 Fitormônios e o desenvolvimento de frutos

Os fitormônios controlam diferentes aspectos da fisiologia vegetal como, por exemplo, o desenvolvimento dos frutos, desde seu estabelecimento até a senescência. Após a polinização, o fruto jovem passa por um estágio de divisão celular com um aumento do número de células que é regulado por auxinas e citocininas e depois, seguido por expansão e alongamento celular regulado por giberelinas até atingir a maturidade fisiológica e iniciar o amadurecimento (Liu *et al.*, 2022; Serrani *et al.*, 2007). A indução da divisão celular e da expansão celular contribuem para a translocação dos fotoassimilados de outras partes da planta pois aumentam a força do dreno (Srivastava, 2002).

2.3.1 Ácido giberélico, via metabólica e aplicações na pré-colheita

As giberelinas (GAs) foram isoladas na década de 1930 como produtos naturais do fungo atualmente chamado de *Fusarium fujikuroi*. A giberelina mais

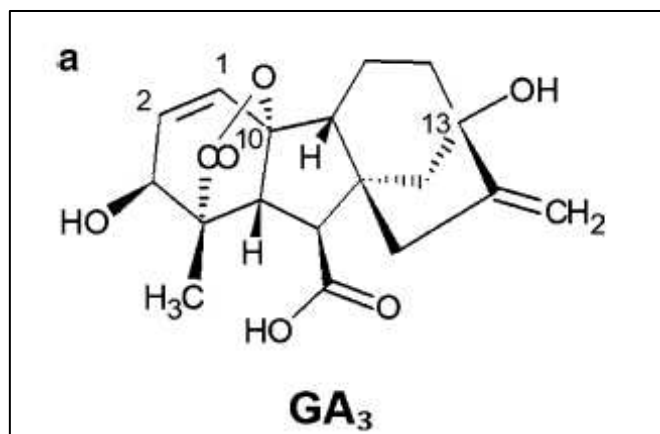
abundante produzida por esse fungo é o GA3, chamada de ácido giberélico, o qual é utilizado comercialmente na agronomia e na horticultura. Entretanto, a primeira giberelina a ser identificada em plantas foi a GA1, que juntamente com a GA4 são as giberelinas mais presentes na maioria das plantas (Taiz *et al.*, 2017).

As GAs são ácidos carboxílicos diterpenóides, podendo ser ativas ou inativas. As inativas são formadas por seus precursores ou os produtos da desativação das formas bioativas. As principais GAs biologicamente ativas são GA1, GA3, GA4 e GA7. Um dos principais papéis das GAs biologicamente ativas é a indução do alongamento do entrenó em plântulas promovido pelo alongamento celular. Além desse papel, as GAs desempenham efeitos no ciclo de vida dos vegetais participando na germinação, florescimento, desenvolvimento do pólen, crescimento do tubo polínico e no desenvolvimento do fruto (Taiz *et al.*, 2017)

Todas as GAs de ocorrência natural apresentam um esqueleto tetracíclico ent-giberelano derivado de enantiômeros do caureno que é um composto de ocorrência natural. Além disso, de acordo com o número de carbonos, as GAs podem ser divididas em dois grupos: 1) GAs que apresentam 20 átomos de carbono como por exemplo GA12 e GA53; 2) GAs que apresentam 19 átomos de carbono como por exemplo GA3 e GA1. Vale ressaltar ainda que as concentrações de GAs nas plantas são extremamente baixas semelhantes de outras classes de fitormônios (Tarkowská *et al.*, 2014).

O GA3 ($C_{19}H_{22}O_6$) é um ácido diidroxil- γ -lactona tetracíclico com uma dupla ligação entre os carbonos C1–C2, um anel γ -lactona no C10 e um grupo OH no C13 (Figura 4). Como reagente, se apresenta na forma de pó cristalino branco, e sua capacidade de dissolução em água é baixa, sendo de apenas 5000 ppm. Apresenta um ponto de fusão de cerca de 233 a 235 °C, sendo solúvel, por exemplo, em álcool e acetona (Camara *et al.*, 2018)

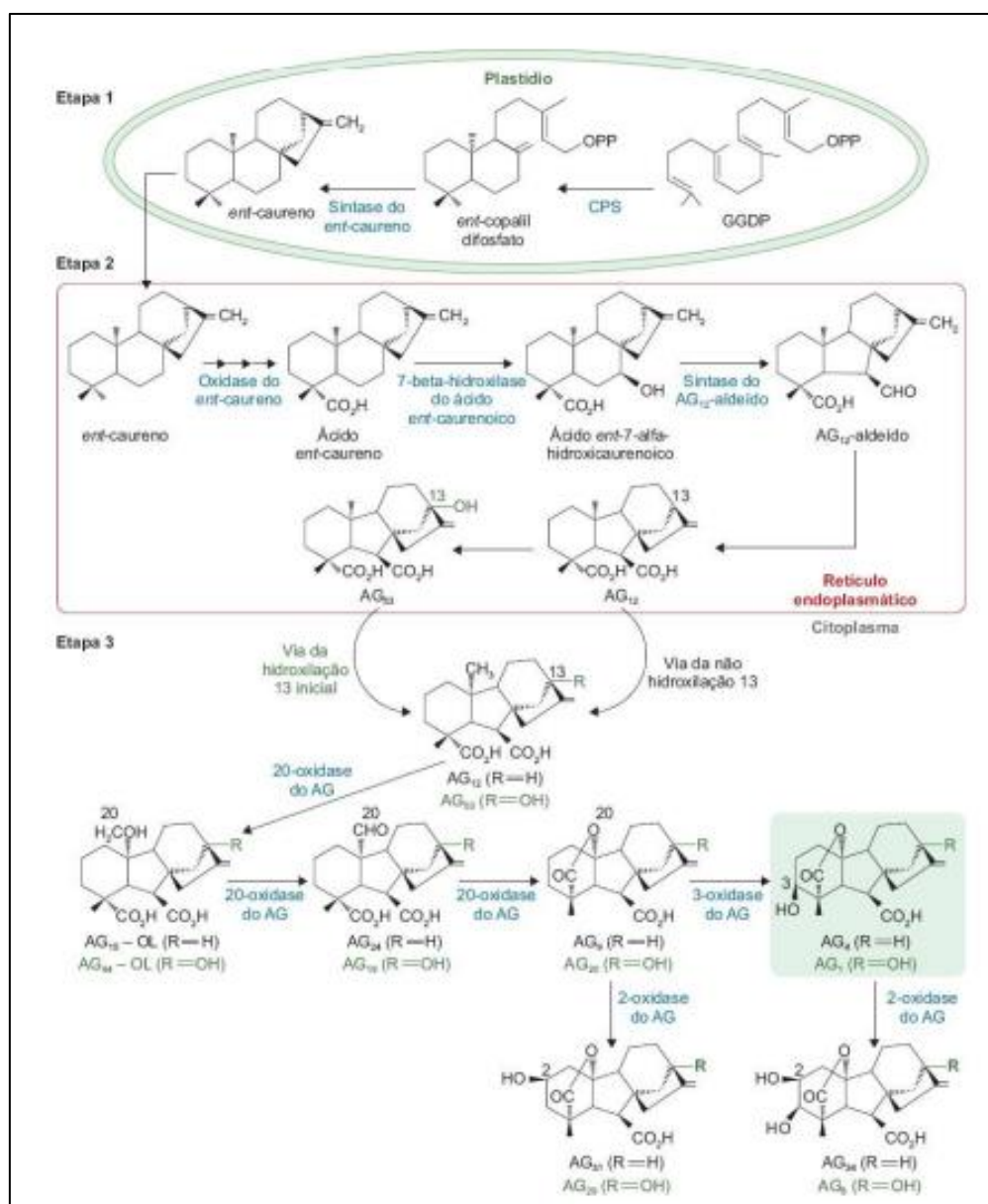
Figura 4 - Estrutura química da giberelina GA3



Fonte: Camara *et al.*, 2018

As GAs são sintetizadas em várias partes do vegetal como folhas, entrenós e sementes. A sua síntese ocorre por meio da oxidação do diterpeno ent-caureno e pode ser dividida em três etapas. A primeira etapa ocorre nos plastídeos, quando o geranylgeranildifosfato (GGPP) é convertido em ent-caureno, através de uma reação de ciclização de duas etapas pela ação enzimática da ent-copalil difosfato sintase (CPS) e da ent-caureno sintase (KS). A segunda etapa ocorre no retículo endoplasmático, havendo a oxidação do ent-caureno em GA12-aldeído e GA12, reação essa catalisada pelas enzimas ent-caureno oxidase (KO) e ent-caurenóico oxidase (KAO). A terceira etapa ocorre no citosol, onde enzimas dioxigenases oxidam o GA12 em todas as outras giberelinas via rotas paralelas. Por meio da hidroxilação do carbono 13, GA12 e GA53 são então convertidas em vários intermediários inativos e em GAs bioativas como GA1, GA3, GA4 e GA7, as quais contêm um grupo 3-β-hidroxila. Ademais, a hidroxilação no carbono 2 converte GA4 e GA1 nas formas inativas GA34 e GA8, respectivamente (Taiz *et al.*, 2017; Camara *et al.*, 2018) (Figura 5).

Figura 5 - Via biossintética de giberelinas



Fonte: Kerbaudy, 2019

As proteínas DELLAs são as principais controladoras negativas da sinalização de giberelinas reprimindo o crescimento do fruto. Por isso, as giberelinas ativam a via de degradação das proteínas DELLAs estimulando assim o crescimento do fruto (Penchovsky e Kaloudas, 2022). Em ameixa, dois dos três fatores de transcrição DELLA (PsIGAI e PsIRGL) codificam proteínas sensíveis a GA mostrando assim que estão envolvidos no controle e crescimento desse fruto (El-Sharkawy *et al.*, 2017).

Gao et al. (2020) investigaram os efeitos da pulverização de diferentes concentrações de ácido giberélico (GA3: 5, 10, 20, 50 e 100 ppm) sobre o alongamento da ráquis e a qualidade das bagas em uvas das cultivares Cabernet Franc (CF) e Cabernet Sauvignon (CS) antes da floração. Em 2015, o tratamento com 50 ppm de GA3 aumentou significativamente o comprimento da ráquis em comparação com o controle, enquanto, em 2016, o mesmo efeito foi observado com o tratamento de 100 ppm. No caso da CF, a massa de 100 bagas foi influenciada pelos tratamentos com GA3: as concentrações de 20 e 50 ppm (84,3 g e 85,6 g, respectivamente) reduziram significativamente a massa das bagas em relação ao controle (112,5 g). Embora concentrações de GA3 inferiores a 50 ppm tenham tido efeito mínimo sobre os flavonoides, os tratamentos alteraram os perfis de aroma das bagas.

Ozkan et al. (2016) verificaram os efeitos de tratamentos pré-colheita com GA3 (0, 30 e 60 ppm) em frutos de cerejeira. Foi observado que os frutos tratados com 60 ppm de GA3 apresentaram maior valor de firmeza de polpa do que os frutos controle. Cerejas sob tratamento com GA3 em ambas as concentrações apresentaram valores de conteúdo de sólidos solúveis mais baixos do que os frutos controle. Além disso, os fenólicos totais dos frutos tratados com 30 e 60 ppm de GA3 foram significativamente menores 23% e 25% respectivamente do que os frutos de controle.

Cai et al. (2021) avaliaram os efeitos da pulverização pré-colheita de ácido giberélico (10, 20 e 30 ppm) sobre a qualidade dos frutos de kumquat (*Citrus japonica* 'Jindan'). Os frutos pulverizados com GA3 apresentaram conteúdo de sólidos solúveis totais significativamente maior (23,5%) do que o grupo controle (21%) durante os primeiros 30 dias de armazenamento. Já a acidez titulável dos frutos, tanto nos tratamentos com GA3 como no controle diminuíram gradualmente no decorrer dos 60 dias de armazenamento. Entretanto, os frutos sob influência de GA3 apresentaram diminuição mais rápida no conteúdo de acidez titulável conforme o tempo de armazenamento aumentou. O conteúdo de vitamina C dos frutos aumentaram ligeiramente nos primeiros 10 dias de armazenamento e depois diminuíram após 10 dias de armazenamento. Ademais, o conteúdo de malondialdeído (MDA) nos frutos pulverizados com GA3 e no controle tendeu a aumentar com o tempo de armazenamento.

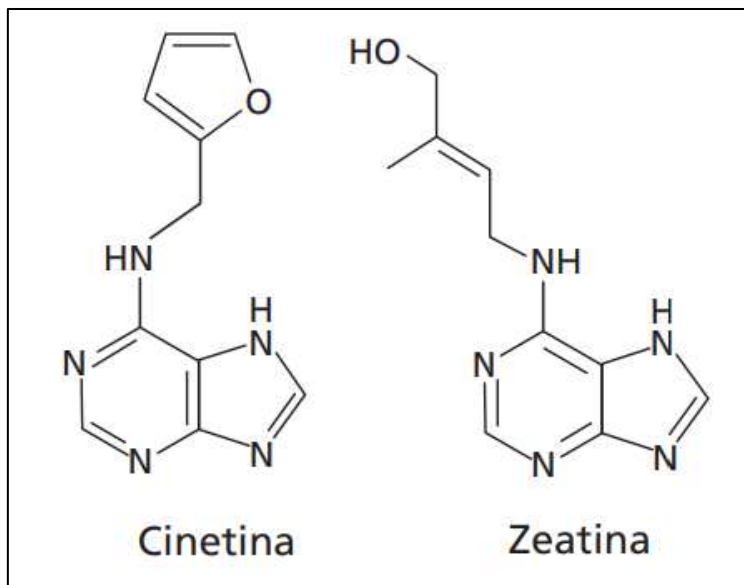
O conteúdo de MDA nos frutos pulverizados com GA3 foi 27,7% menor do que no fruto controle do dia 10 até o final do armazenamento.

Alrashdi *et al.* (2017) avaliaram a qualidade e atividade enzimática de uvas após tratamento pré-colheita com giberelina (GA3) na concentração de 30 ppm em dois anos consecutivos (2014 e 2015). As bagas de uva sob tratamento com GA3 aumentaram significativamente a massa, o comprimento e a largura em comparação ao tratamento controle. A acidez titulável (AT) foi maior no tratamento com GA3 comparado ao controle. Entretanto, o teor de sólidos solúveis totais (SS) e a relação SS/AT não foram afetados pelo tratamento. A firmeza das bagas não diferiu estatisticamente entre os tratamentos com GA3 e o controle, mas diferiram entre os anos, sendo que o ano de 2014 apresentou bagas com maior firmeza. A concentração de fenóis totais e de vitamina C aumentaram sob GA3 (119 mg EAG.100 g⁻¹ e 2,11 mg.100 g⁻¹ MF respectivamente) em relação ao controle (101 mg EAG.100 g⁻¹ e 1,67 mg.100 g⁻¹ MF respectivamente). A atividade da PPO foi maior no tratamento com GA3 do que no controle e o mesmo acontecendo para a atividade da PG que mostrou um nível mais alto na temporada de 2015 do que na de 2014.

2.3.2 Citocininas, via metabólica e aplicações na pré-colheita

As citocininas foram descobertas após a busca por um composto que pudesse promover a divisão celular. Assim, em 1955, um indutor de divisão celular foi isolado do DNA do esperma de arenque (peixe) autoclavado, sendo a primeira citocinina a ser conhecida, sendo denominada de cinetina (Figura 6). Entretanto, como a cinetina não foi encontrada em plantas vivas, acreditava-se que ela seja fosse um subproduto artificial da degradação do DNA. Em 1963, a primeira citocinina de ocorrência natural foi identificada por Stuart Letham. Ele extraiu e identificou o composto conhecido como zeatina (Figura 6) de grãos de milho (*Zea mays*). Então, em 2001 foi descoberta uma família de genes que codificam para a principal enzima da via biossintética da citocinina, a isopentenil transferase (IPT), como também foi identificado um gene que codifica para um receptor de citocinina, o qual é semelhante ao receptor de etileno (Jameson, 2017).

Figura 6 – Estrutura das citocininas cinetina e zeatina



Fonte: Taiz *et al.*, 2017

As citocininas são derivadas da adenina e se classificam em três categorias.

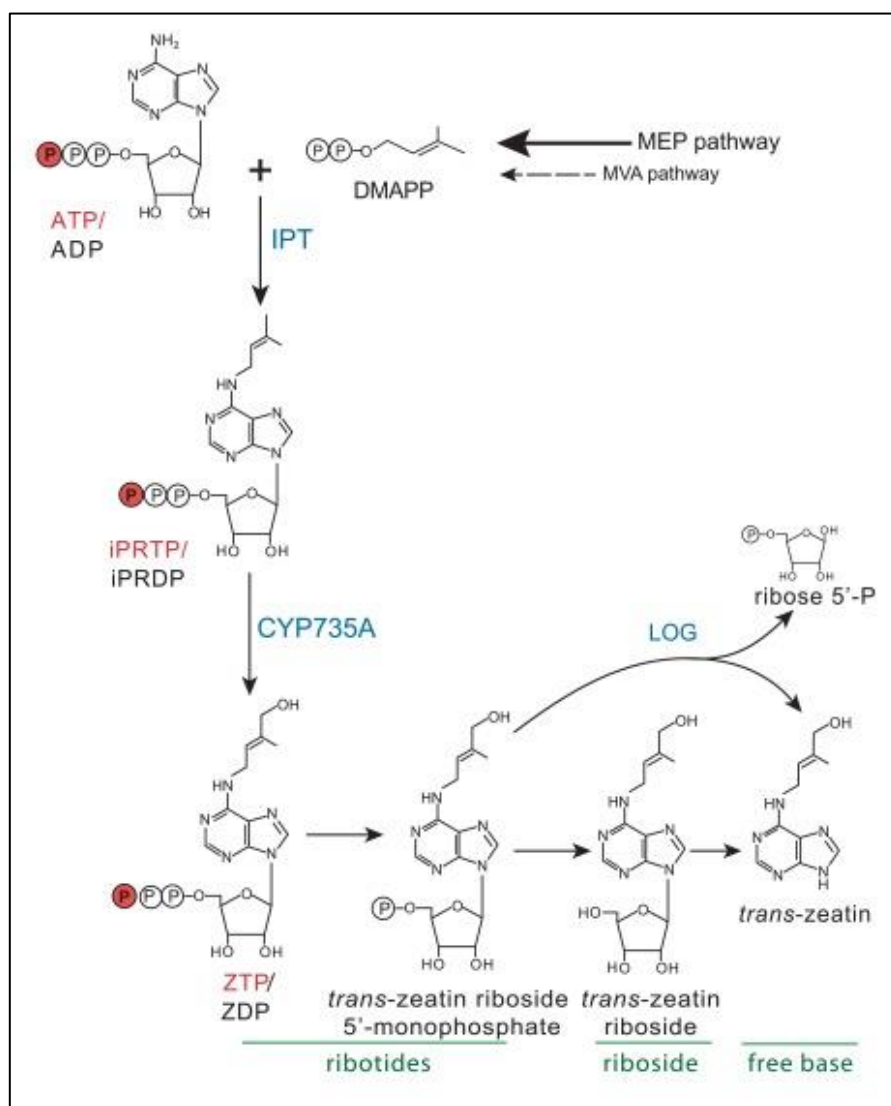
1. As isoprenóides - têm uma cadeia lateral derivada do isopreno e é a classe mais comum das citocininas, incluindo a zeatina; 2. As aromáticas - possuem cadeias laterais aromáticas, como as benziladeninas hidroxiladas; e 3. As difenilureias sintéticas (DPU). Além disso, as citocininas são formadas de ADP/ATP e dimetilalildifosfato (DMAPP), e ocorre principalmente nos plastídios. Elas podem estar presentes nas plantas na sua forma ativa (bases livres) como na forma de ribosídeos, ribotídeos ou glicosídeos (Taiz *et al.*, 2017, Jameson, 2017). As bases livres, isopenteniladenina (iP), trans-zeatina (t-Z) e di-hidrozeatina (diHZ), são capazes de se ligarem a receptores e desencadear uma resposta fisiológica. As citocininas ribosídicas são consideradas formas de transporte e são encontradas no xilema. Já as formas glicosídicas se encontram nos vacúolos de células maduras por serem mais solúveis. Todas as outras formas devem ser hidrolisadas primeiro antes de se ligarem ao receptor (Kerbaui, 2019).

A biossíntese das citocininas se inicia com a adição da cadeia lateral do DMAPP para o difosfato de adenosina (ADP) ou o trifosfato de adenosina (ATP) (Figura 7). A enzima que catalisa essa reação é a isopentenil transferase (IPT) que forma isopenteniladenina ribosídeo 5'-difosfato (iPRDP) ou isopenteniladenina ribosídeo 5'-trifosfato (iPRTF). Após isso, a cadeia lateral isopentenil é hidroxilada para formar

citocininas do tipo zeatina ou a trans-zeatina pode ser formada a partir do ribotídeo pela família Lonely Guy (LOG) das enzimas citocinina nucleosídeo 5'-monofosfato fosfoidrolases (Taiz *et al.*, 2017) (Figura 7).

Adicionalmente, há o envolvimento de sete genes na síntese de IPT (AtIPT1, AtIPT3–AtIPT8) que são expressos em tecidos específicos da raiz e parte aérea indicando assim que a biossíntese desse hormônio ocorre em todos os principais órgãos do vegetal (Schmülling, 2013).

Figura 7 – Via biossintética das citocininas.



Fonte: Kieber e Schaller, 2014

O metabolismo das citocininas, além da biossíntese, ainda conta com outras etapas de degradação e conjugação das moléculas bioativas. A degradação ocorre pela enzima citocinina oxidases/desidrogenases (CKX), a inativação reversível por conjugação catalisada pela zeatina O-glucosil transferases (ZOG), a reativação ocorre pela ação das β -glicosidases (GLUs) e a N-glicosilação irreversível ocorre pela UDP glicosiltransferases (UGTs) (Jameson e Song, 2016).

Dentre os processos controlados pelas citocininas está o estabelecimento de drenos do floema, os quais atuam diretamente no descarregamento apoplástico com participação de duas proteínas: a invertase e o transportador de hexoses. Enquanto a invertase diminui o potencial químico da sacarose na região do descarregamento, o transportador de hexose permite que os açúcares entrem nas células do dreno (Kerbaudy, 2019).

Böttcher, Boss e Davies *et al.* (2013), trouxeram evidências do papel das citocininas no amadurecimento de frutos. Eles verificaram que, em uva (*Vitis vinifera* cv. Bagas Shiraz), durante o amadurecimento, havia aumento em isopenteniladenina, uma citocinina biologicamente ativa, enquanto no final do amadurecimento prevalecia em maior quantidade a t-ZOG, uma forma glicosilada de citocinina inativa.

Canli e Pektas (2015), determinaram os efeitos da citocinina no tamanho e qualidade dos frutos de pera (*Pyrus communis*). Aplicaram benziladenina (BA) em três concentrações (50, 100 e 150 ppm) mais o tratamento controle. Os autores verificaram que frutos sob tratamento com 100 ppm de BA renderam fruto com peso 11,3% maior que o do controle. Em relação à firmeza, foi observado que o único tratamento que diferiu do controle foi o de 50 ppm, apresentando 9,49 lb enquanto o controle apresentou 10,97 lb. Na avaliação de sólidos solúveis (SS), os autores verificaram que em todos os tratamentos com BA (50 ppm - 14,53%; 100 ppm - 15,57% e 150 ppm - 15,47%) tiveram concentrações maiores de SS, comparado com o controle (13,59%).

Canli *et al.* (2015), determinaram os efeitos da citocinina sobre o tamanho dos frutos da cereja 'Noir de Guben'. Eles aplicaram benziladenina (BA) em três concentrações (50, 100 e 150 ppm) mais o tratamento controle. O peso do fruto, a acidez titulável e os sólidos solúveis totais apresentaram diferenças significativas em relação ao tratamento controle. Entretanto a firmeza do fruto não apresentou diferença significativa.

Os frutos mais pesados foram obtidos nos tratamentos com 50 e 150 ppm de BA (6,33 g e 6,38 g, respectivamente), enquanto no controle os frutos apresentaram peso de 5,46 g. Os frutos do tratamento com 50 ppm apresentaram um teor de 18,26% de sólidos solúveis total (SS), enquanto o controle apresentou o teor de 15,87%. Em todos os tratamentos com BA, os frutos apresentaram concentrações (%) maiores de acidez titulável: em 50 ppm – 0,95%; em 100 ppm – 0,88% e em 150 ppm – 0,86%, comparado ao controle, que apresentou valor de 0,77%.

Zhang *et al.* (2018), investigaram os efeitos da 6-benzilaminopurina (BAP), uma citocinina sintética, no escurecimento enzimático de lichia. Os frutos foram mergulhados por 10 min em 100 ppm de BAP, enquanto os frutos controle foram mergulhados em água destilada, depois foram armazenados por 8 dias a 25 °C. A quantidade de compostos fenólicos totais nos frutos controle diminuiu durante o armazenamento enquanto os frutos tratados com BAP apresentaram um rápido aumento nos teores de compostos fenólicos totais (2º dia), seguido de uma diminuição mais lenta. A atividade da PPO no fruto controle aumentou com dois dias de armazenamento e depois diminuiu. A atividade da PPO foi significativamente menor no fruto tratado com BAP em comparação com o fruto controle, exceto após o dia 8º dia de armazenamento. A atividade da PAL no tecido do pericarpo do fruto controle tendeu a aumentar nos primeiros 6 dias de armazenamento e, subsequentemente, diminuiu. A atividade de PAL na fruta tratada com BAP mostrou uma tendência semelhante, mas foi significativamente maior do que na fruta controle ao longo do armazenamento. Por fim, o conteúdo de MDA no fruto controle aumentou ligeiramente nos primeiros 4 dias de armazenamento e, subsequentemente, aumentou rapidamente. O fruto tratado com BAP mostrou um aumento lento no conteúdo de MDA durante o armazenamento.

Li *et al.* (2016) investigaram a resposta do morangueiro à aplicação pré-colheita da citocinina exógena forclorfenuron (CPPU). As plantas foram pulverizadas com CPPU nas concentrações de 5, 10 e 15 ppm no sétimo dia após a antese. A aplicação do regulador de crescimento resultou em um aumento significativo na massa dos frutos, variando entre 21,0% e 42,9% em comparação aos frutos não tratados. Além disso, a quantidade de sólidos solúveis totais (SST) também foi incrementada. Durante o amadurecimento, os valores iniciais de SST de 5,3 °Brix (amostras controle) e 7,0 °Brix

(amostras tratadas com 5 ppm de CPPU) aumentaram para 7,5 °Brix e 11,3 °Brix, respectivamente. Os autores discutem que o crescimento dos frutos, induzido pela aplicação de CPPU em concentrações maiores (10 e 15 ppm), retardou a capacidade de transporte de carboidratos, resultando na diminuição da quantidade de açúcares nos frutos. A acidez titulável no morango aumentou gradualmente durante o amadurecimento precoce e atingiu o valor mais alto 24 dias após a antese e depois diminuiu ao longo do processo de amadurecimento demonstrando assim que doses de CPPU podem diminuir significativamente a quantidade de acidez titulável em morango durante a maturação. A aplicação de CPPU a 10 ppm aumentou o teor de ácido ascórbico quase duas vezes em relação ao controle 24 dias após a antese.

Jiang *et al.* (2020) investigaram a influência da aplicação pré-colheita de forclorfenuron (CPPU) na pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) no inverno e no verão. Os frutos foram submetidos à solução de CPPU 100 ppm e água destilada foi utilizada como controle. Os frutos tratados com CPPU não apresentaram diferença significativa na largura do fruto, peso fresco, quantidade de sólidos solúveis totais, e acidez titulável, em comparação com o controle em ambas as estações. Por outro lado, o CPPU diminuiu efetivamente a taxa de queda dos frutos e aumentou significativamente a espessura das brácteas e a firmeza dos frutos em ambas as estações.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal, localização do experimento e tratamentos pré-colheita

O experimento foi conduzido no período de agosto a dezembro de 2021 na Estação Experimental da Embrapa Agroindústria Tropical em Pacajus, distante 55 km de Fortaleza-CE, com coordenadas geográficas de 4° 10' S de latitude e 38° 27' O de longitude. A região possui clima tropical com inverno seco (Aw), segundo a classificação de Köppen (Aguiar *et al.*, 2002), e a precipitação anual registrada em 2021 foi em torno de 882,8 mm (FUNCEME., 2023). Os tipos predominantes de solo são os Argissolos Vermelho-Amarelos e Neossolos Quartzarênicos (Lima *et al.*, 2002).

As plantas de aproximadamente 30 anos do clone CCP76 de cajueiro-anão (*Anacardium occidentale* L.) cultivadas em condições de sequeiro foram submetidas à tratamentos pré-colheita com a aplicação dos reguladores de crescimento citocinina ou giberelina em diferentes doses 0, 90, 180 e 270 e 360 ppm. O lote experimental consistiu de 81 plantas divididas em três blocos em que cada bloco tinha três repetições (plantas) para cada um dos nove tratamentos (controle, quatro doses de cada regulador). Os tratamentos consistiam no uso de fitoreguladores: ácido giberélico (GA3), e Citocinina sendo o princípio ativo a benziladenina (BA). Para ambos, as soluções foram preparadas em água destilada com a adição do espalhante adesivo Tween 20 a 0,5%, para facilitar a absorção dos reguladores do crescimento. Os reguladores do crescimento, foram aplicados manualmente, com um pulverizador costal na copa das árvores.

Os reguladores foram aplicados quando os pseudofrutos estavam no estágio 1 de desenvolvimento (castanha verde com pedúnculo verde) correspondendo a 33 dias após a antese, sendo ao todo 615 pseudofrutos marcados e depois colhidos manualmente quando atingiram o ponto de colheita comercial com o pedúnculo com a coloração laranja escuro. Após serem colhidos, os cajuas foram levados para o Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical em Fortaleza-CE onde foram submetidos às análises físicas e depois, o pedúnculo foi processado em um centrifuga doméstica Walita® e a polpa foi armazenada a -18 °C até realização das

análises químicas e bioquímicas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Frutos Tropicais da Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza-CE.

3.2 Análises de qualidade pós-colheita

3.2.1 Análises físicas

O caju íntegro teve sua massa total determinada em uma balança semianalítica sendo os resultados expressos em gramas (g). Após isso, a castanha foi separada do pedúnculo e ambos foram pesados.

O comprimento do pedúnculo, assim como seu diâmetro basal medido próximo à castanha e o apical, medido no lado oposto à castanha, foram determinados com o auxílio de um paquímetro e os resultados foram expressos em milímetros (mm).

3.2.2 Cor dos frutos

A cor da película do pedúnculo foi medida no colorímetro digital Konica Minolta CHROMA METER CR-400/410 (Osaka, Japão) e expressa nos parâmetros L que representa a luminosidade, C a cromaticidade e H o ângulo Hue. As medições foram feitas tomando-se duas medidas por frutos. Esses parâmetros juntos mostram no espaço a coloração do fruto.

3.2.3 Açúcares totais

A determinação dos açúcares totais seguiu o método da antrona, segundo Yemn e Willis (1954). Inicialmente, foram pesados 2 g da polpa em um béquer de 50 mL sendo adicionado água destilada. A mistura foi agitada até a completa dissolução da amostra. Em seguida, a mistura foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL sendo o volume aferido com água destilada, e então filtrada em papel de filtro. Alíquotas de 100 μ L do filtrado foram adicionadas de 900 μ L de água destilada, colocadas em banho de gelo e então, adicionadas de 2 mL de antrona. Em seguida, os tubos foram

agitados e colocados em banho-maria por 8 min. Após esse período, foram resfriados em banho de gelo e depois, deixados em temperatura ambiente quando a absorbância foi monitorada em espectrofotômetro a 620 nm. A quantificação dos açúcares foi realizada com base em uma curva padrão construída com soluções de glicose em concentrações conhecidas. Os resultados foram expressos em percentual de açúcares totais (% m/m), com base na massa fresca (MF) da amostra.

3.2.4 Sólidos solúveis (SS)

Para o conteúdo de sólidos solúveis totais (SS), a polpa dos frutos foi filtrada em papel de filtro e o conteúdo de SS foi medido em um refratômetro digital Atago Pocket PAL⁻¹ (USA), sendo os resultados expressos em °Brix.

3.2.5 Acidez titulável (AT)

A acidez titulável (AT) foi determinada em titulador automático Hanna Instruments HI 901. Inicialmente, 1 g de polpa foi diluída em 50 mL de água destilada e titulada com uma solução de NaOH a 0,1 M (IAL., 2008), sendo a AT expressa em porcentagem (%) de ácido málico.

3.2.6 Relação sólidos solúveis e acidez titulável (SS/AT)

A relação SS/AT foi obtida através da divisão do conteúdo de sólidos solúveis pela acidez titulável.

3.2.7 Composição de açúcares

A composição em açúcares (sacarose, glicose e frutose) da polpa de caju foi avaliada através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a um detector de índice de refração (RID – 10 A). Para o preparo das amostras utilizou-se a seguinte metodologia com pequenas modificações, onde utilizou-se 0,1 g de amostra

diluídas em 50 mL de água MiliQ, e em seguida uma alíquota de 10mL foi colocada em tubo falcon de 15 mL onde foi centrifugado a 6000 rpm por 10 minutos (Asikin *et al.*, 2014). Posteriormente as amostras e os padrões dos respectivos açúcares foram injetados no sistema de HPLC-Shimadzu, equipado com uma bomba quaternária, detector de índice de refração (RID – 10 A) e coluna Luna Rezex RCM-monossacarídeos Ca^{2+} 300 x 7,8 mm e temperatura de 80 °C. Para a determinação dos açúcares, utilizou-se como fase móvel água milli-Q a um fluxo de 0,6 mL.min⁻¹ e tempo de corrida de 17 minutos. Os resultados foram expressos em mg.100 g⁻¹ MF.

3.2.8 Proteínas solúveis totais

O conteúdo de proteínas solúveis totais foi determinado segundo Bradford (1976) utilizando a albumina sérica bovina como padrão. Para uma alíquota de 100 µL de polpa foram adicionados 2,5 mL de reagente de Bradford sob agitação, e depois, a absorbância foi lida a 595 nm em uma leitora de microplacas Biotek Synergyx Mx (EUA). Os resultados foram expressos em mg.g⁻¹ MF e utilizados para o cálculo das atividades enzimáticas específicas.

3.3 Firmeza e variáveis associadas

A firmeza foi determinada nos pedúnculos íntegros com a utilização de um penetrômetro manual da Instrutherm PTR300 com ponteira de 8 mm de diâmetro. Duas leituras foram realizadas em lados opostos na parte mediana de cada pedúnculo e os resultados foram expressos em Newtons (N).

3.3.1 Peroxidação de lipídeos (Conteúdo de malonaldeído-MDA)

O grau de peroxidação de lipídeos de membranas foi mensurado a partir da quantidade de malondialdeído (MDA), segundo o método descrito por Heath e Packer (1968) e adaptado por Peixoto *et al.* (1999). Em almofariz, 1 g da polpa de caju foi macerado em 5 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) a 5%, por 2 min, seguido

de agitação por 1 min e centrifugação à 12.000 x g por 15 minutos, à temperatura ambiente (25 °C). O sobrenadante foi coletado e alíquotas de 1 mL foram adicionadas à 1 mL de reagente contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,5% dissolvido em TCA a 20%. A mistura foi incubada por 1 hora a 85 °C, sendo em seguida resfriada em banho de gelo. As amostras foram centrifugadas à 10.000 x g por 10 min a 25 °C a. A absorbância dos sobrenadantes foi monitorada a 532 e 660 nm, sendo a segunda leitura subtraída da primeira para obtenção da leitura específica e a quantidade do complexo MDA-TBA formado e calculado através do coeficiente de extinção ($\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Os resultados foram expressos em nmol MDA.g⁻¹ MF.

3.3.2 Atividade da Enzima Pectinametilesterase (PME)

A atividade da enzima pectinametilesterase (PME, E.C 3.1.1.11) foi determinada seguindo o método de Jen e Robinson (1984). Para a extração, 5 g da polpa foram homogeneizados em 20 mL de NaCl 0,2 N, sendo todas as etapas realizadas a 4 °C. A mistura foi filtrada em papel de filtro e o filtrado utilizado como extrato. O ensaio foi feito com 5 mL do extrato enzimático, ressuspensionado em 30 mL do substrato pectina cítrica 1% em NaCl 0,2 N e pH 7, sob agitação. Então, NaOH 0,01 N foi adicionado até o pH permanecer em 7,0 durante 10 min. O volume gasto de NaOH foi utilizado nos cálculos de modo que uma unidade de enzima (UAE) foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação da pectina correspondente ao consumo de 1 nmol de NaOH min⁻¹.mg⁻¹ e os resultados foram expressos como UAE min⁻¹. mg⁻¹ de proteína (P).

3.3.3 Atividade da Enzima Poligalacturonase (PG)

A determinação da atividade da enzima poligalacturonase (PG, E.C 3.2.1.15) seguiu o protocolo de Pressey e Avants (1973), sendo todas as etapas realizadas a 4 °C. Inicialmente, 12,5 g da amostra foram homogeneizados com 25 mL de água destilada e depois centrifugada a 5000 rpm por 10 min a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e 10 mL de água destilada foram adicionados ao precipitado, seguindo-se de uma nova

centrifugação a 5000 rpm por 10 min a 4 °C. Esse procedimento foi realizado mais duas vezes, sendo o precipitado ressuspenso em 25 mL de solução de NaCl 1 M, homogeneizado por 1 min e o pH ajustado para 6 com NaOH 1 N, seguido de incubação a 4 °C por 1 h. Após a incubação, a solução foi centrifugada a 5000 rpm por 20 min a 4 °C, sendo o sobrenadante utilizado como extrato. A atividade da PG foi determinada pela quantidade de açúcar redutor formado, como descrito por Miller (1959), sendo a diferença entre os açúcares redutores determinada na segunda etapa e aqueles obtidos na primeira etapa, através da leitora de absorbância a 540 nm. Uma unidade de enzima (UAE) foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a formação de 1 nmol de açúcares redutores.mg⁻¹.min⁻¹. Os resultados foram expressos em UAE min⁻¹. mg⁻¹ P.

3.4 Vitamina C total

O conteúdo de ácido ascórbico e de ácido desidroascórbico (DHA) foram determinados por HPLC segundo Sánchez Mata *et al.* (2000). Inicialmente, foram pesados 5 g da polpa, nos quais foram adicionados 20 mL de solução extratora (ácido acético 8% v/v + ácido metafosfórico 3% m/v), sendo a mistura homogeneizada. Em seguida, o volume foi ajustado para 50 mL com água destilada e novamente a mistura foi homogeneizada, quando, então, foi deixada em repouso por 5 min até precipitação dos sólidos em suspensão, sendo finalmente retirada uma alíquota de 3 mL, que foi filtrada em membrana de Nylon de 0,45 µm. Então, as amostras assim preparadas, foram injetadas no HPLC, equipado com coluna tipo C18 Hypersil ODS stainless de dimensões 25 cm, 4,6 mm de diâmetro interno e tamanho de partículas 5 µm. O volume injetado da amostra no HPLC foi de 10 µL e a corrida cromatográfica ocorreu a um fluxo de 1 mL.min⁻¹ e forno a 30 °C. A eluição da amostra foi realizada no modo isocrático com o solvente A (água miliQ com ácido sulfúrico 0,01% grau HPLC) como fase móvel, por 10 min, seguida do solvente B (metanol, grau HPLC), por 5 min e finalizando com o reequilíbrio da coluna por mais 5 minutos. O tempo de corrida de cada amostra foi de 17 minutos. Os resultados foram obtidos por comparação dos tempos de retenção e as áreas dos picos de absorção a 245 nm com os valores obtidos através de curvas padrão,

construídas com ácido ascórbico e ácido desidroascórbico, e expressos em $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ MF.

3.5 Metabolismo de Fenólicos

3.5.1 Determinação de polifenóis extraíveis totais (PET)

O conteúdo de Polifenóis extraíveis totais (PET) foi determinado pelo método do Folin-Ciocalteu (Obanda e Owuor, 1997), adaptado por Rufino *et al.* (2006).

Para preparação do extrato, foram pesados 1,0 g de polpa de caju e suspensos em 4 mL de metanol a 50%, sendo a mistura homogeneizada, e depois, deixada em repouso por 1 h, no escuro, a 26 °C. Após esse período, a mistura foi centrifugada a 15.000 rpm por 15 min, sendo o sobrenadante recolhido e separado. Ao precipitado, foram adicionados 4 mL de acetona a 70%, sendo a mistura homogeneizada e deixada em repouso por 60 min, no escuro e à temperatura ambiente (25 °C). Após esse tempo, uma nova centrifugação a 15.000 rpm, por 15 min, foi realizada e o sobrenadante recolhido foi adicionado ao primeiro sobrenadante. O volume final foi completado para 10 mL com água destilada, a solução foi homogeneizada e transferida para um frasco de plástico escuro, sendo considerado o extrato. Para determinação dos PETs, 150 μL do extrato (protegidos da luz) foram adicionados a 850 μL de água destilada, 1 mL do reativo de Folin-Ciocalteu e 2 mL de carbonato de sódio anidro 20% (m/v). Após homogeneização, os tubos ficaram em repouso por 30 min e a absorbância foi monitorada a 700 nm. O conteúdo dos PETs foi calculado com base em uma curva padrão construída com concentrações crescentes (0 até 50 μg) de ácido gálico a 98%. Os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico (EAG). 100 g^{-1} MF.

3.5.2 Atividade da Fenilalanina amônia liase (PAL)

A atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL, E.C. 4.3.1.5) foi determinada segundo o método proposto por Mori, Sakurai e Sakuta (2001) e El-Shora (2002), sendo todas as etapas da extração realizadas a 4 °C. Para a preparação do

extrato enzimático, 1 g de polpa de caju foi homogeneizado manualmente, durante 3 min, em banho de gelo, com 4 mL de solução extratora (cada 100 mL continha 2,45 g de Tris e 0,037 g de EDTA em pH 8,0) adicionada de 0,02 g de polivinilpirrolidona (PVP). Em seguida, a mistura foi centrifugada a 10.000 x g durante 10 min a 4 °C, sendo o sobrenadante separado e utilizado como extrato enzimático. O ensaio procedeu em um meio de reação contendo: 25 µL de extrato, 5 µL de β-mercaptoetanol, 145 µL de tampão Tris-HCl 100 mM (pH 8,4) e 50 µL de L-fenilalanina a 40 mM; após 1 h de incubação a 30 °C, a reação foi parada pela adição de 25 µL de HCl a 6 M. A absorbância foi determinada a 290 e uma curva padrão foi construída com base na quantidade de ácido transcinâmico formado. Os resultados foram expressos em µmol ac.transc.h⁻¹.mg⁻¹ P.

3.5.3 Atividade da Polifenoloxidase (PPO)

A atividade da enzima polifenoloxidase (PPO, E.C. 1.10.3.1) foi determinada segundo o método descrito por Sojo *et al.* (1998), com modificações, sendo todas as etapas da extração realizadas a 4 °C. Inicialmente, foi pesado 1,0 g de polpa de caju, que foi homogeneizado com 10 mL do tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,0) contendo 4% de Triton X-100 e 0,1 g de PVPP, durante 5 min em banho de gelo. A mistura foi centrifugada a 5000 x g por 40 min a 4 °C, o precipitado foi descartado, e o sobrenadante foi incubado durante 10 min em banho-maria, a 37 °C. Uma nova centrifugação a 2000 x g foi feita, durante 20 min a 4 °C, sendo o sobrenadante utilizado como extrato enzimático. A mistura reacional consistiu de 100 µL do extrato, 80 µL de tampão fosfato de potássio a 0,1 M (pH 6,0), e 5 µL de substrato pirocatecol 0,1 M, a qual foi incubada por 30 min a 30 °C e sua absorbância foi monitorada a 395 nm. Uma unidade de atividade enzimática (UAE) foi definida como uma variação de 0,001 na absorbância da mistura a 395 nm. Os resultados foram expressos em UAE min⁻¹.mg⁻¹ P.

3.6 Perfil metabolômico

A extração dos metabólitos polares foi realizada conforme Lisec *et al.* (2006) com algumas alterações, sendo utilizada a polpa liofilizada de cada tratamento. Inicialmente, 25 mg do liofilizado de polpa de caju foram adicionados de 150 µL de água

miliQ, sob agitação até total dissolução. Em seguida, 50 µL dessa solução foram transferidos para um novo tubo, ao qual se adicionaram 700 µL de metanol 100%, seguido de agitação por 1 minuto. Posteriormente, foram adicionados 60 µL do padrão interno (ribitol, 0,2 mg.g⁻¹), com nova agitação por 10 segundos. A mistura foi então incubada a 70 °C por 15 minutos, sob agitação constante a 450 rpm em termomix. A amostra foi centrifugada a 12000 x g por 10 min a 4°C e o sobrenadante separado e adicionado de 365 µL de clorofórmio gelado e 750 µL de água miliQ, sendo agitado por 15 s e, em seguida, centrifugado a 2200 x g por 15 min a 4 °C. O sobrenadante (150 µL) consistindo na fase água-metanol superior (polar) foi seco em um concentrador de vácuo Eppendorf SpeedVac Concentrator (Hamburgo, Alemanha) à temperatura ambiente.

A derivatização das amostras secas se deu com 20 µL de cloridrato de metoxilamina (10 mg / 0,5 mL em piridina), com agitação a 550 rpm em termomix por 2 h, a 37 °C, seguido da adição de N-metil-N-(trimetilsilil)-trifluoro acetamida (MSTFA) com agitação nas mesmas condições por 30 min. O perfil metabólico foi obtido em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS da Shimadzu, modelo QP-PLUS 2010, Japão). As amostras (1 µL) foram injetadas no modo split (na proporção 1:20 ???), utilizando hélio como gás de arraste a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹. Foi utilizada a coluna capilar RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), programada a uma temperatura inicial de 80 °C por 5 min, que depois aumentou a uma taxa de 8 °C por minuto até atingir 310 °C, daí mantendo-se por 1 min nessa temperatura. A temperatura de injeção foi de 230 °C, a fonte de íons foi mantida a 200 °C e a temperatura da interface do MS ajustada para 250 °C. O espectrômetro de massas foi operado a 70 eV (ionização eletrônica) a uma faixa de varredura de 80-700 (m/z), iniciado após um tempo de corte do solvente de 3 min. Os cromatogramas e as análises dos espectros de massas foram avaliados utilizando o software XcaliburTM 2.1, sendo comparados com uma biblioteca de espectros de massas composta por um mix de padrões previamente identificados (Batista *et al.*, 2019), baseados no padrão de fragmentação disponibilizado pelo banco de dados GOLM's Metabolome (<http://gmd.mpimp-golm.mpg.de/analysisinput.aspx>). As concentrações relativas dos metabólitos foram obtidas pela divisão das respectivas áreas dos picos de cada metabólito pela área do ribitol e então divididos pela massa utilizada. Arquivos com concentração relativa de metabólitos de todos os tratamentos foram

carregados no servidor MetaboAnalyst 6.0 (<http://www.metaboanalyst.ca>) para posterior análise.

3.7 Análise estatística

Após verificar a normalidade e homogeneidade, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey ao nível de significância de 5%, para a comparação das médias. Essa análise foi realizada utilizando o software RStudio versão 4.3.1.

Para a análise multivariada dos perfis metabólicos, as concentrações relativas foram convertidas em escala logarítmica na base 10 e auto escalonamento (centrado na média e dividido pelo desvio padrão de cada variável) usando o website MetaboAnalyst (<http://www.metabolanalyst.ca>) para a Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA). Os dados foram submetidos ao teste de validação cruzada com 200 permutações e valor de $p < 0,01$. Metabólitos com valores de VIP scores (*Variable Importance in Projection*) maiores que 1,0 foram indicados como potenciais discriminantes entre os tratamentos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análises associadas à qualidade pós-colheita

As variáveis físicas do caju 'CCP 76', como massa total, massa da castanha, massa do pedúnculo, diâmetro basal, diâmetro apical e comprimento do pedúnculo, tratados em pré-colheita com diferentes doses de giberelina e citocinina não diferiram significativamente dos controles que apresentaram massas médias de 116 g para o caju, de 8,60 g para a castanha e 108,15 g para o pedúnculo (Tabela 1). Embora as diferenças não sejam significativas, é importante ressaltar que o tratamento com GA3 resultou em valores médios superiores para massa total, massa do pedúnculo, diâmetro basal, diâmetro apical e comprimento do pedúnculo nos tratamentos quando comparado com o controle.

Tabela 1 - Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm nas características físicas do caju 'CCP76'*

Tratamento	Peso total (g)	Peso da castanha (g)	Peso do pedúnculo (g)	Diâmetro basal (mm)	Diâmetro apical (mm)	Comprimento do pedúnculo (mm)
Ácido giberélico						
Controle	116,95 a	8,60 a	108,15 a	55,95 a	40,56 a	61,55 a
GA3 90	134,49 a	8,87 a	125,70 a	59,68 a	40,94 a	64,45 a
GA3 180	128,82 a	8,80 a	119,82 a	60,36 a	41,50 a	65,32 a
GA3 270	139,76 a	9,09 a	130,98 a	60,99 a	40,64 a	66,60 a
GA3 360	144,18 a	8,76 a	134,81 a	61,26 a	41,90 a	67,17 a
Benziladenina						
Controle	116,95 a	8,60 a	108,15 a	55,95 a	40,56 a	61,55 a
BA 90	123,01 a	8,80 a	113,71 a	56,70 a	38,74 a	61,55 a
BA 180	118,64 a	8,86 a	109,49 a	56,87 a	40,76 a	61,55 a
BA 270	115,56 a	8,83 a	106,03 a	55,98 a	37,59 a	63,59 a
BA 360	105,38 a	8,83 a	96,64 a	54,01 a	36,48 a	60,81 a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Isso pode sugerir um potencial efeito positivo do aumento de doses de GA3 no crescimento do pedúnculo, estando isso alinhando com o papel que a giberelina tem de estimular o alongamento celular e a divisão celular em tecidos vegetais (Taiz *et al.*,

2017). Ressalta-se que o tratamento de GA3 360ppm apresentou o maior valor em todos os atributos físicos do pedúnculo de cajueiro (Tabela 1). A ausência de significância estatística pode ser atribuída à variação específica dos dados ou ao tamanho da amostra.

Em um estudo anterior, Souza *et al.* (2018) examinaram os efeitos do tratamento pré-colheita com 180 ppm de GA3 nos atributos físicos dos pedúnculos maduros de cajueiro 'CCP 76' e verificaram que aos 34 dias após a antese (DAP), a massa e tamanho do pedúnculo não diferiram estatisticamente do controle. Recentemente, Liu *et al.*, 2022 em estudo com aplicação de giberelina exógena em frutos de maçã 'Hanfu' autopolinizadas nas concentrações de 20 e 100 ppm verificaram um aumento no peso dos frutos.

Quanto às variáveis associadas a cor do pedúnculo (Tabela 2), o tratamento em pré-colheita com diferentes concentrações de GA3 e BA não influenciou significativamente essas variáveis, quando comparadas aos controles, os quais apresentaram valores médios de 60,6 para luminosidade (L), de 56,3 para Chroma (c) e de 59,1 para angulo Hue (H).

Tabela 2 - Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm nos parâmetros de cor dos pedúnculos de cajueiro 'CCP76'*.

Tratamento	L	C	h
Ácido giberélico			
Controle	60,67a	56,32a	59,13 a
GA3 90	64,08a	56,51a	59,55 a
GA3 180	64,13a	55,86a	58,60 a
GA3 270	62,38a	55,57a	57,29 a
GA3 360	63,53a	55,55a	57,06 a
Benziladenina			
Controle	60,67a	56,32a	59,13 a
BA 90	61,65a	56,70a	57,90 a
BA 180	62,42a	56,52a	56,24 a
BA 270	60,96a	55,57a	57,30a
BA 360	61,87a	56,05a	57,02a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

As características físico-químicas dos pedúnculos CCP76, em relação aos controles, não foram afetadas pelos tratamentos com GA3 ou BA (Tabela 3). Os controles apresentaram valores médios de 0,3% para AT, de 41,52 para a relação SS/AT,

de 4,78 mg.100 g⁻¹ MF para o conteúdo de glicose e de 4,74 mg.100 g⁻¹ MF para o de frutose. Os tratamentos com BA também não afetaram os conteúdos de SS e de açúcares solúveis, quando comparados aos controles, que apresentaram valores médios de 12,5 °Brix e 9,7%, respectivamente. Porém, o tratamento com GA3 a 360 ppm reduziu o conteúdo de SS em 22,7%, quando comparado ao tratamento com GA3 a 90 ppm. Além disso, os tratamentos com as concentrações de GA3 a 180 ppm e acima reduziram significativamente o conteúdo de açúcares solúveis em relação ao controle (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm nas características físico-químicas dos pedúnculos de cajueiro 'CCP76'.

Tratamento	Acidez titulável (%)	Sólidos solúveis (°Brix)	Relação SS/AT	Açúcares totais (%)	Glicose (mg.100 g ⁻¹ MF)	Frutose (mg.100 g ⁻¹ MF)
Ácido giberélico						
Controle	0,30 a	12,50 ab	41,52 a	9,77 a	4,78 a	4,74 a
GA3 90	0,26 a	13,20 a	51,92 a	8,30 ab	5,51 a	5,44 a
GA3 180	0,23 a	11,33 ab	49,22 a	6,79 b	4,74 a	4,71 a
GA3 270	0,23 a	11,70 ab	51,02 a	7,59 b	5,04 a	4,98 a
GA3 360	0,25 a	10,20 b	40,41 a	7,30b	4,81 a	4,77 a
Benziladenina						
Controle	0,30 a	12,50 a	41,51 a	9,77 a	4,78 a	4,74 a
BA 90	0,25 a	12,56 a	49,14 a	8,79 a	5,00 a	4,91 a
BA 180	0,25 a	13,30 a	52,84 a	8,68 a	5,09 a	5,03 a
BA 270	0,25 a	13,53 a	52,93 a	7,98 a	5,34 a	5,27 a
BA 360	0,26 a	12,60 a	45,37 a	8,86 a	5,31 a	5,27 a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

Diante dos resultados, pode-se sugerir que o tratamento com GA3 mantém a dulçor do pedúnculo de cajueiro do CCP76 pois, por mais que o conteúdo de SS tenha diminuído, a razão SS/AT permaneceu inalterada. Outrossim, a estabilidade dos níveis de glicose e frutose e a redução observada no de açúcar total pode ser devida a outros açúcares solúveis ou a uma redução proporcional de todos os açúcares solúveis.

Souza *et al.* (2016) avaliaram os efeitos dos tratamentos pré-colheita com GA3 (180 ppm) na qualidade e vida útil pós-colheita de cajus CCP 76 e BRS 189 durante o armazenamento sob refrigeração e verificaram que os sólidos solúveis dos cajus CCP 76 não sofreram influência significativa. Ademais, a aplicação de GA3 reduziu significativamente (p < 0,01) o conteúdo total de açúcar em 10% quando comparado ao

controle. Enquanto isso, Alrashdi *et al.* (2017) examinaram os efeitos da aplicação pré-colheita de GA3 (30 ppm) em uvas de mesa 'El-Bayadi' e verificaram que nem os sólidos solúveis ou a razão SS/TA foram influenciados pelo tratamento, mas a acidez titulável aumentou significativamente em comparação ao controle.

Os conteúdos de vitamina C total, bem como suas formas reduzida, o ácido ascórbico, e oxidada, o ácido desidroascórbico, dos pedúnculos do CCP76 foram influenciados significativamente pelo tratamento pré-colheita com os fitormônios (Tabela 4). Nas amostras controle, o conteúdo médio de vitamina C total foi 162,26 mg.100 g⁻¹ MF, desses 105,53 mg.100 g⁻¹ MF eram de ácido ascórbico reduzido e 56,73 mg.100 g⁻¹ MF da forma oxidada, ácido desidroascórbico. No entanto, os tratamentos com GA3 a 180, 270 e 360 ppm reduziram, em média, 30% o conteúdo de vitamina C total. Com a aplicação de ácido giberélico (GA₃), observou-se redução tanto na forma reduzida quanto na oxidada da vitamina C. Já os tratamentos sob o efeito de BA reduziram, em média, 33% do conteúdo de vitamina C total influenciando principalmente a forma oxidada, o ácido desidroascórbico.

Tabela 4 - Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm nos teores de vitamina C, ácido ascórbico e ácido desidroascórbico dos pedúnculos de cajueiro 'CCP76'.

Tratamento	Vitamina C total (mg.100 g ⁻¹ MF)	Ácido ascórbico (mg.100 g ⁻¹ MF)	Ácido desidroascórbico (mg.100 g ⁻¹ MF)
Ácido giberélico			
Controle	162,26 a	105,53 a	56,72 ab
GA3 90	137,08 ab	86,11 a	50,96 b
GA3 180	68,00 c	0,00 c	68,00 a
GA3 270	112,87 b	62,47 b	50,40 b
GA3 360	122,24 b	60,87 b	61,36 ab
Benziladenina			
Controle	162,26 a	105,53 a	56,72 b
BA 90	124,21 b	94,44 a	29,77 c
BA 180	112,71 b	85,58 a	27,13 c
BA 270	120,68 b	89,16 a	31,51 c
BA 360	81,50 c	8,60 b	72,89 a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

A diminuição do conteúdo de ácido ascórbico em nosso estudo pode ser explicada pela interferência da giberelina no ciclo de ascorbato-glutationa (Alam *et al.*,

2023). Nesse ciclo, o ácido ascórbico é mantido em sua forma reduzida, e a enzima dehidroascorbato redutase (DHAR) desempenha um papel crucial na redução do ácido desidroascórbico (DHA) de volta a ácido ascórbico (AsA). Na primeira etapa deste ciclo, o AsA é convertido em monodehidroascorbato (MDHA) pela peroxidase de ascorbato (APX), neutralizando o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Esta reação é essencial para a desintoxicação do H_2O_2 , um subproduto tóxico do metabolismo celular. O DHA é formado pela oxidação espontânea de MDHA dentro da célula ou pela ação da enzima ascorbato oxidase (AO) no apoplasto. A enzima DHAR catalisa a reciclagem de DHA de volta em AsA, utilizando a glutathiona reduzida (GSH) como doador de elétrons (Mishra *et al.*, 2023). Em resumo, nossos resultados sugerem que doses moderadas de GA3 (90 a 270 ppm) podem ser benéficas para a estabilidade do ácido ascórbico em pedúnculos de cajueiro, enquanto doses mais altas (360 ppm) podem provocar estresse oxidativo, refletido na conversão da forma reduzida para a oxidada.

Souza *et al.* (2019) ao aplicar doses de 180 ppm de GA3 em pedúnculos de cajueiro 'BRS 189' verificaram que o conteúdo de vitamina C total também diminuiu em comparação ao controle enquanto as atividades da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) aumentaram.

Possivelmente, o GA3 interfere na atividade da DHAR, resultando em uma menor regeneração do ácido ascórbico a partir de sua forma oxidada, aumentando assim a proporção de ácido desidroascórbico em relação ao ácido ascórbico. Liu *et al.* (2015) destacaram a importância da reciclagem de AsA na manutenção do conteúdo total de vitamina C em mirtilos. Eles verificaram que a redução de ácido ascórbico com a aplicação de GA3 pode ser explicada por uma possível inibição ou modificação na expressão de genes de biossíntese como GME, GGP e GLDH, e reciclagem como MDHAR e DHAR.

Enquanto isso, Zhang *et al.* (2018), investigaram o efeito de 100 ppm da 6-benzilaminopurina (BAP), uma citocinina sintética, em lichia e verificaram que esta contribuiu para a redução do acúmulo de ROS e menor peroxidação lipídica, preservando a qualidade dos frutos durante o armazenamento. Isso foi atribuído à maior atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a ascorbato peroxidase (APX).

A firmeza dos pedúnculos no controle foi 13,70 N e não diferiu estatisticamente daquelas dos tratamentos com diferentes concentrações de GA3 ou BA (Tabela 5). Apesar disso, os tratamentos com reguladores influenciaram de formas diferentes as variáveis associadas à firmeza avaliadas. Os tratamentos com GA3 resultaram em aumento na atividade das enzimas hidrolíticas da parede celular, poligalacturonase (PG) e pectinametilesterase (PME), atingindo valores máximos de 0,81 UAE min⁻¹.mg⁻¹ P e 44,45 UAE min⁻¹.mg⁻¹ P, respectivamente, com GA3 a 360 ppm. Já o grau de peroxidação lipídica não apresentou diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos com GA3 e o controle.

Em contraponto, os tratamentos com BA a 180, 270 e 360 ppm resultaram em declínio na atividade da PG que atingiu o valor 0,04 UAE min⁻¹.mg⁻¹ P na dose de BA de 180 ppm; enquanto a atividade da PME aumentou significativamente, sendo o máximo valor atingido no tratamento com BA a 90 ppm (32,88 UAE min⁻¹.mg⁻¹ P). No entanto, o grau de peroxidação de lipídeos de membrana não foi influenciado pelo tratamento com BA.

Tabela 5 - Efeito da aplicação pré-colheita de giberelina ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm, na firmeza e variáveis associadas dos pedúnculos de cajueiro 'CCP76'*.

Tratamento	Firmeza (N)	Atividade de PG (UAE min ⁻¹ .mg ⁻¹ P)	Atividade de PME (UAE min ⁻¹ .mg ⁻¹ P)	Peroxidação lipídica (nmol MDA.g ⁻¹ MF)
Ácido giberélico				
Controle	13,70 a	0,16 c	14,09 b	18,89 ab
GA3 90	14,22 a	0,68 ab	38,27 a	21,13 a
GA3 180	15,99 a	0,48 b	22,29 b	19,73 ab
GA3 270	15,85 a	0,51 b	36,35 a	20,04 ab
GA3 360	15,61 a	0,81 a	44,45 a	16,65 b
Benziladenina				
Controle	13,70 a	0,16 a	14,09 c	18,89 a
BA 90	13,05 a	0,09 ab	32,88 a	20,55 a
BA 180	12,32 a	0,04 b	19,56 b	20,61 a
BA 270	12,65 a	0,04 b	17,17 b	20,63 a
BA 360	13,35 a	0,05 b	19,54 b	19,61 a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

Os resultados indicam que apesar dos tratamentos com GA3 e BA influenciarem significativamente as atividades das enzimas PG e PME, estes não resultaram em implicações diretas na firmeza do pedúnculo. A aplicação de GA3 aumentou, de modo geral, a atividade de ambas as enzimas, o que pode levar a uma maior degradação e modificação das pectinas da parede celular; no entanto, a firmeza se manteve estável possivelmente devido à manutenção do grau de peroxidação lipídica das membranas celulares. Por outro lado, a BA aumentou a atividade da PME, mas reduziu a atividade da PG, o que pode resultar na manutenção da firmeza dos pedúnculos.

A PME desmetila a pectina, que pode então interagir com cátions como cálcio para formar uma rede de pectato de cálcio, que pode aumentar a rigidez da parede celular (Hocking *et al.*, 2016). Esse equilíbrio entre a degradação pela PG e a modificação pela PME pode explicar por que a firmeza dos pedúnculos não variou significativamente entre os tratamentos.

Fazendo um paralelo e relacionando os aspectos de firmeza e variáveis associadas com as características físico-químicas relatadas acima, podemos sugerir que a diminuição dos sólidos solúveis e dos açúcares totais, juntamente com o aumento da atividade de PG e PME, pode indicar que a GA3 está promovendo uma maior mobilização de açúcares para processos metabólicos.

Souza *et al.* (2016) observaram que a aplicação de 180 ppm de GA3 em pedúnculos de cajueiro 'CCP 76' aumentou a firmeza e a atividade da PME, mas a atividade da PG não apresentou diferença significativa, contrastando com nossos resultados. Entretanto, assim como em nosso estudo, o grau de peroxidação lipídica não apresentou diferença significativa. Souza *et al.* (2018) observaram que a aplicação de 180 ppm de GA3 pré-colheita resultou em pedúnculos de 'CCP 76' mais firmes, embora não tenham encontrado diferença significativa na atividade das enzimas de parede celular (PME e PG) e no grau de peroxidação lipídica, corroborando parcialmente com nossos resultados. Os autores atribuíram o aumento da firmeza na dose de 180 ppm a outros fatores, como o controle de turgescência. Por outro lado, Souza *et al.* (2019) aplicaram uma dose de 180 ppm de GA3 em pedúnculos do cajueiro 'BRS 189' e verificaram uma diminuição significativa na atividade da PME. Entretanto, não houve

diferença significativa na firmeza, na atividade da PG e nem na peroxidação lipídica. No nosso estudo, GA3 aumentou a peroxidação lipídica em uma dose específica, indicando uma possível variação dose-dependente.

O conteúdo de polifenóis totais nas amostras controle foi 242,19 mg EAG.100 g⁻¹ e não sofreu influência significativa dos tratamentos com reguladores, diferentemente das variáveis associadas ao seu metabolismo (Tabela 6). Nos tratamentos com GA3, a atividade da principal enzima de síntese da rota dos fenólicos, a fenilalanina amônia liase (PAL) aumentou em todos os tratamentos atingindo o máximo valor em GA3 a 90 ppm, 22,40 $\mu\text{mol ac.transc.h}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ P, enquanto o controle foi 4,67 $\mu\text{mol ac.transc.h}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ P. A atividade da enzima polifenoloxidase (PPO) também aumentou com os tratamentos, passando de 0,54 UAE min⁻¹.mg⁻¹ P no controle para 0,90 UAE min⁻¹.mg⁻¹ P no tratamento com GA3 a 360 ppm. Nos tratamentos com BA, a atividade da PAL aumentou em todos os tratamentos, em relação ao controle, atingindo o máximo no tratamento pré-colheita com GA3 a 180 ppm, com valor 10,68 $\mu\text{mol ac.transc.h}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ P. Por outro lado, a atividade da PPO foi inferior à do controle em todos os tratamentos, exceto no tratamento com BA a 180 ppm, quando estatisticamente não diferiu do controle.

Tabela 6 - Efeito da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (GA3) e benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm, nas variáveis do metabolismo fenólico dos pedúnculos de cajueiro 'CCP76'.

Tratamento	Polifenóis totais (mg EAG.100 g ⁻¹)	PAL ($\mu\text{mol ac.transc.h}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ P)	PPO (UAE min ⁻¹ .mg ⁻¹ P)
Ácido giberélico			
Controle	242,19 a	4,67 d	0,54 c
GA3 90	196,95 a	22,40 a	0,69 b
GA3 180	187,43 a	12,89 c	0,59 c
GA3 270	177,02 a	13,80 c	0,73 b
GA3 360	183,58 a	18,91 b	0,90 a
Benziladenina			
Controle	242,19 a	4,67 b	0,54 a
BA 90	261,95 a	9,71 a	0,28 c
BA 180	280,89 a	10,68 a	0,47 ab
BA 270	302,65 a	8,96 a	0,27 c
BA 360	306,66 a	9,03 a	0,37 bc

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

De modo geral, os resultados indicam que tanto GA3 quanto BA aumentaram a atividade de síntese da PAL, porém isso não resultou em aumento no conteúdo de fenólicos. Enquanto isso, a atividade da PPO aumentou com as doses de giberelina, acelerando potencialmente a degradação dos fenólicos; já, com o aumento nas doses de citocinina houve uma queda nessa atividade, resultando em uma menor atividade de degradação dos fenólicos no pseudofruto. No entanto, mesmo com uma menor atividade oxidativa da PPO, o conteúdo total de fenólicos não aumentou, sugerindo que outros fatores regulatórios podem estar atuando.

No caso dos tratamentos com BA, o não aumento do conteúdo de fenólicos totais pode ser justificado pelo declínio na atividade oxidativa da PPO. No caso dos tratamentos com GA3 possivelmente esse aumento na atividade da PPO pode estar relacionado ao papel da giberelina na regulação do estresse oxidativo e na resposta defensiva das plantas, induzindo a expressão de genes associados à PPO. Portanto, os resultados sugerem que a quantidade de compostos fenólicos é influenciada tanto pela síntese (via PAL) quanto pela degradação (via PPO), e a interação desses processos determina a concentração final de fenólicos nas plantas. As aplicações de GA3 e BA modulam essas enzimas de maneiras diferentes, refletindo-se nas mudanças observadas nas atividades enzimáticas do presente estudo, mas não necessariamente na quantidade total de polifenóis devido à complexidade dos mecanismos de regulação metabólica.

Tao Luo *et al.* (2024) investigaram os efeitos do tratamento com GA3 (50 ppm) em diferentes estádios de desenvolvimento na qualidade de armazenamento de longan 'Shixia' e verificaram que a atividade da PAL aumentou significativamente no pericarpo tratado indicando um aumento na síntese de fenólicos e que a atividade da PPO foi reduzida nos tratamentos com GA3 resultando em menor escurecimento do pericarpo. Ademais, o conteúdo de fenólicos foi mantido em níveis mais altos nos tratamentos com GA3 em comparação com o controle. Outrossim, Alrashdi *et al.* (2018) avaliaram os efeitos da aplicação pré-colheita de ácido giberélico (30 ppm) em videiras de uvas 'El-Bayadi' e corroborando com nossos resultados, observaram que a atividade da PPO aumentou significativamente com a aplicação de GA3 entretanto, o conteúdo de polifenóis totais aumentaram no tratamento com GA3, o que contrasta com nossos resultados.

Por outro lado, corroborando com nossos resultados de citocinina, Zhang *et al.* (2018) avaliaram o efeito de 100 ppm de 6-benzilaminopurina (BAP) na qualidade de lichia e observaram um aumento inicial nos fenólicos seguido de uma diminuição mais lenta durante o armazenamento, comparado ao controle, que mostrou uma diminuição contínua. Segundo esses autores, a atividade da PPO foi significativamente menor nas frutas tratadas com BAP enquanto a atividade da PAL foi significativamente maior do que no controle.

4.2 Perfil Metabolômico

Neste estudo, determinou-se o perfil metabólico dos pedúnculos de cajueiro utilizando o GC-MS, para investigar a presença e as alterações nos conteúdos dos diversos metabólitos sob diferentes tratamentos hormonais. A análise metabolômica permitiu identificar 46 metabólitos nos sucos dos caju e classificados no grupo de metabólitos primários, baseados Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto (KEEG, do inglês, *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) (13 aminoácidos; 15 ácidos orgânicos; 13 açúcares; 4 lipídios e 1 ácido inorgânico).

Analisando cada metabólito identificado em pedúnculos de cajueiro tratados com giberelina e citocinina encontramos algumas variações e algumas diferenças significativas.

Para os tratamentos com giberelina, os açúcares (ou derivados) arabinonolactona, arabinose e sacarose foram identificados apenas no tratamento controle, o que pode justificar a diminuição dos açúcares totais com o aumento da concentração de GA3. Por outro lado, xilulose e galactose não foram identificadas no controle, mas foram encontradas nos tratamentos com GA3, sendo que a xilulose foi identificada nos tratamentos com 270 e 360 ppm, e a galactose foi identificada nos tratamentos com 90, 180, 270 e 360 ppm de GA3. O inositol diferiu significativamente do controle nas doses de 180, 270 e 360 ppm (Tabela 7). Melibiose, melezitose, turanose, glicose e frutose foram identificadas em todos os tratamentos. As intensidades relativas da melibiose, em todos os tratamentos com GA3, diferiu estatisticamente daquela do controle, sendo menores que o controle nos tratamentos com 90 e 180 ppm e maiores

nos tratamentos a 270 e 360 ppm de GA3. Já os teores relativos de turanose aumentaram à medida que aumentou a concentração de GA3, diferenciando-se do controle nos tratamentos com 180, 270 e 360 ppm (Tabela 7).

Tabela 7 - Intensidades relativas* dos açúcares dos pedúnculos do cajueiro 'CCP76' tratados em pré-colheita com giberelina (GA3) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*.

Metabólitos	Tratamentos				
	Controle	GA3 90	GA3 180	GA3 270	GA3 360
Arabinonolactona	2.59	-	-	-	-
Arabinose	33.87	-	-	-	-
Celobiose	450.92 b	445.64 b	483.93 b	390.58 c	573.25 a
Frutose	2093.90 a	1644.35 b	1620.37 b	1681.63 b	1992.89 a
Galactose		2144.27 b	2156.40 b	2137.50 b	2652.37 a
Glicose	806.47 b	819.73 b	818.10 b	813.27 b	985.11 a
Inositol	66.10 c	71.80 bc	76.82 b	74.55 b	94.26 a
Melezitose	6.96 a	3.83 a	3.89 a	4.25 a	4.91 a
Melibiose	35.01 c	5.57 d	5.68 d	54.02 b	73.28 a
Sacarose	121.85	-	-	-	-
Turanose	4.18 d	4.61 d	17.24 c	92.93 b	107.96 a
Xilulose	-	-	-	3.92 b	4.42 a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Para os tratamentos com a citocinina BA, arabinonolactona e a sacarose foram identificados apenas nos tratamentos controle e com BA a 90 ppm. Os açúcares xilulose e galactose só não foram identificados no tratamento a 90 ppm de BA. Inositol, melibiose, melezitose e turanose apresentaram o mesmo padrão observado para os tratamentos com giberelina, ou seja, foram identificados em todos os tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8 - Intensidades relativas* dos açúcares dos pedúnculos do cajueiro 'CCP76' tratados em pré-colheita com citocinina benziladenina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*.

Metabólitos	Tratamentos				
	Controle	BA90	BA180	BA270	BA360
Arabinofuranose	-	-	2.92 b	5.86 ab	7.65 a
Arabinonolactona	2.59 a	2.87 a	-	-	-
Arabinose	33.87 a	45.03 a	-	-	-
Celobiose	450.92 bc	543.20 a	388.68 c	533.13 a	493.52 ab
Frutose	2093.90 a	2141.40 a	1475.73 bc	1712.69 b	1330.10 c
Galactose	-	-	1940.10 ab	2094.62 a	1907.96 b
Glicose	806.47 a	814.39 a	786.52 a	867.61 a	750.57 a
Inositol	66.10 c	81.26 bc	94.74 ab	102.37 a	101.67a
Melezitose	6.96 a	4.38 a	4.44a	6.70 a	4.27 a
Melibiose	35.01b	38.34 b	42.16 b	53.67 a	33.47 b
Sacarose	121.85 a	115.14 a	-	-	-
Turanose	4.18 b	2.50 c	2.66 c	7.63 a	1.96 c
Xilulose	-	-	2.84 a	3.62 a	3.19 a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Estudos recentes demonstram que o inositol desempenha um papel fundamental na biogênese dos polissacarídeos da parede celular (HU *et al.*, 2024), atuando na sinalização celular e na manutenção da integridade das membranas celulares (HU *et al.*, 2018; GUO *et al.*, 2023). Além disso, o conteúdo de inositol e frutose está relacionado com a sacarose porque o inositol e a frutose são intermediários na via glicolítica a partir da sacarose (Jung *et al.* 2020)

A identificação do inositol em nosso estudo, juntamente com os dados da literatura, reforça o que já havíamos discutido anteriormente sobre a relação do aumento da atividade das enzimas PG e PME e a não mudança na firmeza dos frutos ocasionada possivelmente pela manutenção do conteúdo de MDA. A capacidade do inositol de diminuir a peroxidação lipídica e estabilizar os níveis de ROS sugere que sua presença nos tratamentos com GA3 poderia estar contribuindo para a proteção das membranas celulares contra danos oxidativos. O artigo de Jung *et al.* (2020) fornece suporte para essa interpretação pois, o inositol foi aumentado pelo tratamento com GA3 na fase inicial de desenvolvimento da flor.

Os achados sobre a melibiose, melezitose e turanose, identificados em todos os tratamentos, corroboram com o papel do inositol e seus derivados no metabolismo dos açúcares e as respostas a estresse. Conforme discutido por Hu *et al.* (2024), o inositol e seus derivados estão envolvidos em várias vias de sinalização celular, o que pode influenciar os níveis e tipos de açúcares detectados.

A galactose e a arabinose são monossacarídeos que compõem as cadeias laterais das pectinas, especificamente na forma de arabinogalactanos e rhamnogalacturonanas. A galactose também é um componente importante das glicoproteínas da parede celular, seguida pela arabinose e xilose (Hijazi *et al.*, 2014). Além disso, a galactose também está associada à síntese de ácido ascórbico (via ácido galacturônico) (Montecchiarini *et al.*, 2018). Durante o crescimento e a maturação do fruto, as pectinas são continuamente modificadas por várias enzimas, incluindo PG, PME, α -arabinofuranosidase e β -galactanase (Wang *et al.*, 2018).

A alta atividade das enzimas PG e PME nos tratamentos com GA3 facilita a desmetilação e degradação das pectinas, tornando-as mais acessíveis a outras enzimas como a α -arabinofuranosidase e a β -galactanase. Dessa forma, a identificação de galactose somente nos tratamentos com GA3 pode estar relacionada a essa alta atividade das enzimas PG e PME. Por outro lado, a presença exclusiva de arabinose no controle pode estar ligada a uma regulação diferencial da α -arabinofuranosidase pela giberelina, conforme observado por Li *et al.* (2023) em quiabo. Além disso, essa também pode ser uma possível explicação para o aumento na atividade das enzimas PME e PG e a não mudança significativa na firmeza dos frutos.

Sob efeito dos tratamentos com GA3, os metabólitos ácido oxálico e ácido eritrônico, foram identificados no controle e nos tratamentos a 90 e 180 ppm (Tabela 9). Já os ácidos alônico, glucônico, fumárico e treônico foram identificados somente no controle e nos tratamentos com 270 e 360 ppm de GA3. Por outro lado, ácido glicérico, ácido glutárico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido shiquímico, ácido succínico e ácido desidroascórbico foram identificados em todos os tratamentos. O único ácido inorgânico identificado foi o ácido fosfórico presente em todos os tratamentos, mas somente com diferença significativa na dose de 360 ppm de GA3 (Tabela 9).

Tabela 9 - Intensidades relativas* dos ácidos orgânicos e do ácido fosfórico dos pedúnculos do cajueiro 'CCP76' tratados em pré-colheita com giberelina (GA3) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*.

Metabólitos	Tratamentos				
	Controle	GA3 90	GA3 180	GA3 270	GA3 360
Ácido alônico	127.52 a	-	-	117.33 b	131.24 a
Ácido cítrico	39.09 bc	31.55 c	39.93 b	41.66 b	51.85 a
Ácido desidroascórbico	148.94 a	142.48 a	75.74 b	135.32 a	155.15 a
Ácido eritrônico	2.61 b	3.61 b	5.08 a	-	-
Ácido fumárico	1.66 b	-	-	2.83 a	3.01 a
Ácido glucônico	7.76 c	-	-	9.08 b	10.90 a
Ácido glutárico	3.92 a	3.63 a	3.06 a	3.04 a	3.92 a
Ácido glicérico	3.48 b	3.79 b	4.44 ab	4.00 ab	5.14 a
Ácido láctico	5.43 b	12.44 a	13.09 a	7.65 ab	13.73 a
Ácido málico	176.51 a	146.51 b	150.34 b	151.91 b	179.12 a
Ácido oxálico	4.25 a	8.43 a	6.69 a	-	-
Ácido shiquímico	53.62 d	60.06 cd	67.18 bc	71.95 b	86.10 a
Ácido succínico	14.07 a	15.38 a	15.10 a	10.24 b	11.39 b
Ácido tartárico	2.00 b	2.23 b	2.42 b	2.33 b	3.01 a
Ácido treônico	2.61 b	-	-	4.67 a	5.40 a
Ácido fosfórico	167.10 b	159.62 b	179.28 b	138.49 c	200.20 a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Com relação aos tratamentos com BA, ácido glutárico, ácido fumárico e ácido eritrônico foram identificados no controle e apenas no tratamento com BA a 90 ppm. No entanto, ácido oxálico, ácido treônico, glucônico, ácido alônico, ácido glicérico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido shiquímico, ácido succínico e ácido desidroascórbico foram identificados em todos os tratamentos. O único ácido inorgânico identificado foi o ácido fosfórico, o qual estava presente em todos os tratamentos, porém, sem diferenças significativas com relação ao controle, exceto na concentração de BA de 360 ppm quando apresentou intensidade relativa maior que o controle (Tabela 10).

Tabela 10 – Intensidades relativas* dos ácidos orgânicos e do ácido fosfórico dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com citocinina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*.

Metabólitos	Tratamentos				
	Controle	BA90	BA180	BA270	BA360
Ácido alônico	127.52 ab	103.07 ab	104.43 ab	132.50 a	87.62 b
Ácido cítrico	39.09 a	41.94 a	35.01 a	39.47 a	35.28 a
Ácido dehidroascórbico	148.94 a	148.57 a	116.59 b	158.21 a	23.18 c
Ácido eritrônico	2.6195 b	4.0271 a	-	-	-
Ácido fumárico	1.66 a	2.05 a	-	-	-
Ácido glucônico	7.76 a	9.38 a	7.90 a	10.53 a	8.77 a
Ácido glutárico	3.92 a	4.10 a	-	-	-
Ácido glicérico	3.48 a	3.43 a	2.91 a	4.02 a	3.81 a
Ácido láctico	5.43 b	7.30 b	7.34 b	9.16 b	16.95 a
Ácido málico	176.51 a	179.73 a	160.04 a	157.28 a	161.54 a
Ácido oxálico	4.25 ab	3.64 ab	6.30 ab	0.81 b	8.61 a
Ácido shiquímico	53.62 c	52.84 c	120.43 a	82.55 b	94.43 b
Ácido succínico	14.07 ab	17.45 a	17.22 a	14.79 ab	11.17 b
Ácido tartárico	2.00 a	2.26 a	2.10 a	2.44 a	2.55 a
Ácido treônico	2.61 c	4.02 bc	4.97 ab	5.69a	5.42 ab
Ácido fosfórico	167.10 a	181.01 a	162.00 a	169.99 a	200.57 a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Os ácidos eritrônico, glicérico, láctico e tartárico estão envolvidos no metabolismo dos carboídratos e podem influenciar a concentração de sólidos solúveis totais. Ademais, o ácido glucônico, um derivado da oxidação da glicose, desempenha um papel crucial no equilíbrio dos açúcares solúveis, particularmente de glicose e frutose. Em nossos experimentos, observou-se uma redução nas intensidades relativas dos açúcares totais submetidos aos tratamentos pré-colheita com GA3. Portanto, os quatro ácidos orgânicos referidos acima podem estar sendo formados a partir da conversão dos açúcares solúveis, o que obviamente reduzi a concentração de açúcares totais. Este efeito foi também observado por Jung *et al.* (2020), em flores de uvas, em que a aplicação de GA3 levou à conversão de açúcares em ácidos orgânicos.

O ácido oxálico é conhecido por sua capacidade de formar complexos com metais, desempenhando um papel na redução da peroxidação lipídica e na estabilização das membranas celulares (Walker e Famiani, 2018). Em nosso experimento, não houve diferença significativa na peroxidação lipídica mesmo com a alta atividade das

pectinases. A presença de ácido oxálico pode estar contribuindo para a manutenção da integridade das membranas celulares e a redução da peroxidação lipídica. O artigo de Akgül Taş *et al.* (2021) fornece suporte para essa interpretação ao demonstrar que o ácido oxálico é um dos principais ácidos orgânicos nos morangos e que seu conteúdo é influenciado por diferentes tratamentos com GA3.

Os principais ácidos orgânicos nos tecidos vegetais são os ácidos cítrico, succínico, fumárico, málico e oxálico e esses são importantes metabólitos produzidos no ciclo do ácido tricarboxílico (Kumar *et al.*, 2017), nas mitocôndrias das plantas (produção de energia da célula) e também em menor extensão nos glioxissomos (ciclo do glioxilato) (Nelson e Cox., 2021).

Já, os ácidos málico e cítrico desempenham diversas funções no metabolismo das plantas, atuando como reguladores do pH citosólico ou como precursores biossintéticos. Apesar de serem mais elevados nas frutas verdes eles também são contribuidores importantes para o sabor da fruta madura (Montecchiarini *et al.*, 2018).

Zheng *et al.* (2016) identificaram e quantificaram seis ácidos orgânicos nas polpas de diferentes cultivares de toranja usando HPLC. O ácido cítrico foi o ácido orgânico dominante em todas as amostras. Esses resultados indicam que o ácido cítrico é o principal contribuinte para o sabor ácido da toranja, seguido por ácido quínico, ácido tartárico e ácido málico. Estudos anteriores destacaram a importância dos ácidos cítrico e málico no ciclo de Krebs, que desempenha um papel crucial no metabolismo energético das plantas (Yu *et al.* 2012)

Portanto, a aplicação de GA3 pode aumentar a demanda por energia para suportar processos de crescimento e defesa, resultando na modulação desses ácidos. Em nossos resultados, a atividade aumentada de enzimas como PAL e PPO sugere uma maior síntese de compostos fenólicos e uma maior demanda energética, possivelmente suportada pelo ciclo de Krebs. Zhuang *et al.* (2015) destacam que o tratamento com GA3 pode aumentar a atividade metabólica geral, refletindo-se na alteração dos níveis desses ácidos.

Segundo Jung *et al.* (2020), a aplicação de GA3 resulta em um aumento significativo nos níveis de ácido cítrico durante os estágios iniciais de desenvolvimento de flores de uvas. Isso corrobora nossos achados de que a aplicação de GA3 influencia

o metabolismo de ácidos orgânicos, possivelmente alterando a atividade das enzimas envolvidas na síntese e degradação de compostos fenólicos e antioxidantes. O ácido cítrico tem papel crucial na manutenção da estabilidade das membranas e na ativação de respostas antioxidantes (Hu *et al.*, 2018), o que pode explicar a estabilização dos níveis de peroxidação lipídica observada em nossos resultados.

Nos experimentos de Jung *et al.* (2020), o ácido desidroascórbico aumentou inicialmente após o tratamento com GA3, mas diminuiu conforme a floração se aproximava. Em nossos estudos, observamos uma diminuição do conteúdo total de vitamina C sob doses mais altas de GA3, indicando que o ácido desidroascórbico pode estar sendo rapidamente convertido de volta a ácido ascórbico ou degradado devido ao estresse oxidativo induzido pelo GA3. Essa dinâmica é crítica para a resposta antioxidante da planta, conforme descrito por Ding *et al.*, (2015) que relatou que tratamento com giberelina pode refletir a ativação de alguns mecanismos anti-estresse nas células.

O ácido fosfórico, que é essencial para o metabolismo energético e para a sinalização celular, pode ter seu fluxo alterado pela aplicação de giberelina. Além disso, a fosforilação de proteínas pode regular a atividade de enzimas como a PG e a PME, aumentando a degradação da parede celular. É o que foi observado no estudo de Jung *et al.* (2020), onde, o ácido fosfórico apresentou um padrão de aumento nos estágios iniciais do desenvolvimento das flores, mas essa tendência não se manteve em todos os estágios avaliados diminuindo na fase de floração e após a floração com o tratamento com GA3.

Sob o efeito de GA3, o ácido gama-aminobutírico (GABA), alanina, aspartato, glicina, prolina, serina, treonina, leucina e valina foram identificados em todos os tratamentos. Isoleucina não foi identificada nos tratamentos com 90 e 180 ppm, enquanto fenilalanina foi identificada somente no controle e tirosina somente nos tratamentos com 90 e 180 ppm de GA3 (Tabela 11).

Tabela 11 - Intensidades relativas* dos aminoácidos dos pedúnculos do cajueiro 'CCP76' tratados em pré-colheita com giberelina (GA3) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*.

Metabólitos	Tratamentos				
	Controle	GA3 90	GA3 180	GA3 270	GA3 360
Ácido gama-aminobutírico	258.52 c	305.42 b	260.29 c	258.85 c	364.16 a
Alanina	75.37 d	125.43 ab	106.23 bc	90.15 cd	132.04 a
Ácido aspártico	19.55 d	33.38 bc	37.45 ab	28.30 c	43.60 a
Beta-alanina	2.51 b	2.87 b	2.57 b	2.26 b	3.76 a
Glicina	10.10 c	13.69 b	12.24 bc	11.04 c	18.51 a
Isoleucina	19.11 a	-	-	13.70 b	21.48 a
Leucina	62.94 a	57.45 a	47.63 b	45.45 b	58.87 a
Fenilalanina	0.55	-	-	-	-
Prolina	51.81 a	43.53 ab	32.78 bc	29.19 c	44.23 a
Serina	10.17 a	5.15 b	5.33 b	0.90 c	1.45 c
Treonina	1.54 b	2.31 ab	2.33 ab	1.99 b	3.06 a
Tirosina	-	47.96 a	47.41 a	-	-
Valina	4.46 b	4.98 b	4.65 b	4.14 b	7.56 a

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Sob o efeito de BA, ácido gama-aminobutírico (GABA), alanina, aspartato, glicina, prolina, serina, treonina, beta-alanina, isoleucina, leucina e valina foram identificados em todos os tratamentos. Tirosina só foi identificada no tratamento de 90 ppm e fenilalanina foi identificada somente no controle e no tratamento com 90 ppm de BA (Tabela 12).

Tabela 12 - Perfil de aminoácidos dos pedúnculos do cajueiro 'CCP76' tratados em pré-colheita com citocinina (BA)*.

Metabólitos	Tratamentos				
	Controle	BA90	BA180	BA270	BA360
Ácido aminobutírico	258.52 bc	351.32 a	263.14 bc	319.98 ab	231.81 c
Alanina	75.37 ab	79.85 ab	77.38 ab	96.89 a	62.77 b
Ácido aspártico	19.55 b	19.39 b	18.30 b	29.64 a	17.08 b
Beta-alanina	2.517 ab	3.04 ab	2.69 ab	3.41 a	2.26 b
Glicina	10.10 b	12.48 ab	10.70 b	14.50 a	9.17 b
Isoleucina	19.11 ab	23.81 a	14.78 bc	10.79 bc	9.87 c
Leucina	62.94 a	70.14 a	65.64 a	80.82 a	70.29 a
Fenilalanina	0.55 a	0.73 a	-	-	-
Prolina	51.81ab	46.05 ab	57.79 a	61.10 a	36.02 b
Serina	10.17 a	11.46 a	7.31 ab	6.39 ab	4.44 b
Treonina	1.54 b	1.91 ab	1.59 ab	2.31 a	1.40 b
Tirosina	-	-	49.01 a	34.23 b	46.26 a
Valina	4.46 b	5.60 ab	4.77 ab	6.39 a	4.08 b

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Aminoácidos como GABA, alanina, aspartato e glicina desempenham um papel crucial para compensar a diminuição de açúcares, fornecendo energia adicional e precursores para a síntese de antioxidantes como a glutatona. Hildebrandt *et al.* (2015) destacam que a degradação de aminoácidos pode contribuir substancialmente para o estado energético das células vegetais em condições de estresse, como a deficiência de carbono, fornecendo ATP e intermediários metabólicos essenciais para a manutenção da função celular. Sohail *et al.* (2021) demonstraram que aminoácidos como alanina, aspartato e glicina podem inibir a senescência pós-colheita em brócolis, indicando seu papel na manutenção da integridade celular e na extensão da vida útil dos vegetais, possivelmente por meio da redução da produção de etileno e da taxa de respiração.

Aminoácidos de cadeia ramificada, como isoleucina, leucina e valina, são essenciais para a produção de energia e a síntese de proteínas. Nas plantas, esses aminoácidos desempenham funções vitais no metabolismo, contribuindo para o crescimento e a resposta ao estresse ambiental (Hildebrandt *et al.*, 2015). Leucina e Isoleucina são precursores de ácidos graxos de cadeia ramificada, que aumentam a fluidez das membranas (Montecchiarini *et al.*, 2018).

A isoleucina, especificamente, foi observada como tendo suas concentrações diminuídas após a aplicação de Asp + Glu, em comparação com as plantas controle. Esse comportamento pode estar relacionado à sua função crítica na regulação do metabolismo de carbono e nitrogênio, impactando diretamente a produção de energia e a síntese de proteínas necessárias para o desenvolvimento das plantas (Alfosea-Simón *et al*, 2021)

Além disso, a fenilalanina e a tirosina são redirecionadas para a síntese de compostos fenólicos devido ao aumento da atividade de PAL e PPO. A aplicação de L-Ala resultou na diminuição da tirosina, o que implica uma redução na síntese de metabólitos secundários derivados da via p-Coumaroyl-CoA. Esses compostos, como cumarinas, flavonoides, estilbenos e ligninas, são cruciais para a proteção antioxidante das células e para os mecanismos de defesa das plantas contra pragas e doenças (Alfosea-Simón *et al*, 2021).

A prolina, serina e treonina desempenham papéis críticos na resposta ao estresse osmótico e na manutenção do fluxo metabólico. A prolina, em particular, tem a capacidade de atuar como osmoprotetor, desempenhando um papel no ajuste osmótico, na desativação de radicais livres de oxigênio, na regulação da absorção de nutrientes e na indução da taxa de assimilação de CO₂ (Pervaiz *et al.*, 2019) ou como componente de uma importante família de proteínas glicosiladas da parede celular (Kishor *et al*, 2015).

No estudo de metabolômica de Alfosea-Simón *et al*, (2021) observou-se que a aplicação dos aminoácidos Asp + Glu aumentou significativamente a concentração de prolina, sugerindo que esse aumento poderia ter exercido um papel protetor, favorecendo a assimilação de CO₂ e o crescimento das plantas.

O aspartato é precursor de até onze aminoácidos. E ele é produzido pela reação de glutamato com oxaloacetato. Esta reação é reversível, conectando os aminoácidos do glutamato, como alanina, valina, leucina, glutamina, prolina e arginina, aos do aspartato, como asparagina, metionina, treonina, isoleucina e lisina (Forde e Lea, 2007). Ainda no mesmo estudo de Alfosea-Simón *et al*, (2021), a aplicação de glutamato e aspartato não aumentou a concentração foliar desses aminoácidos, mas eles foram metabolizados para aumentar a concentração de prolina, essencial para o ajuste osmótico e a resposta ao estresse.

Montecchiarini *et al.* (2018) analisaram o perfil metabólico e fisiológico durante o amadurecimento de frutos de três cultivares de mirtilo. Eles fizeram uma análise de correlação entre os níveis de metabólitos e enzimas, em frutos maduros, com a firmeza, com o objetivo de inferir quais marcadores poderiam ser utilizados para a firmeza dos frutos. Foi verificado que nos frutos maduros, metabólitos como ácido cítrico e fenilalanina, estão fortemente associados à alta firmeza. Por outro lado, um alto teor de xilose, leucina e ácido shiquímico no mesmo estágio de maturação indicam firmeza reduzida.

Quatro lipídeos foram identificados: Gliceril dipalmitato, Gliceril palmitato, Ácido palmítico e Ácido esteárico. O único que não foi identificado no controle foi o ácido palmítico. Enquanto Gliceril dipalmitato não foi identificado em nenhum tratamento com GA3 em todos os tratamentos sob influência de BA ele foi identificado. O gliceril palmitato sob a influência de GA3 só não foi identificado no tratamento de 270 ppm já sob a influência de BA só foi identificado no tratamento de 90 ppm além do controle como já mencionado. O ácido palmítico sob a influência de GA3 só foi identificado nas doses de 90 e 180 ppm enquanto sob a influência de BA foi identificado nas doses de 180, 270 e 360 ppm. O ácido esteárico em ambos os tratamentos com os fitohormônios só não foram identificados na dose de 270 ppm (Tabelas 13 e 14)

Tabela 13 - Intensidades relativas* dos lipídeos dos pedúnculos do cajueiro 'CCP76' tratados em pré-colheita com giberelina (GA3) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*.

Metabólitos	Tratamentos				
	Controle	GA3 90	GA3 180	GA3 270	GA3 360
Gliceril dipalmitato	0.53 a	-	-	-	0.48 a
Gliceril palmitato	10.06 c	33.00 ab	53.39 a	-	29.17 bc
Ácido palmítico	-	54.57 a	51.61 a	-	-
Ácido esteárico	2.27 a	1.32 ab	1.92 ab	-	0.96 b

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Tabela 14 – Intensidades relativas* dos aminoácidos dos pedúnculos do cajueiro ‘CCP76’ tratados em pré-colheita com citocinina (BA) nas concentrações de 0 (controle), 90, 180, 270 e 360 ppm*.

Metabólitos	Tratamentos				
	Controle	BA90	BA180	BA270	BA360
Gliceril dipalmitato	0.5305 a	0.8531 a	0.8117 a	0.3973 a	0.72 a
Gliceril palmitato	10.0688 a	19.9469 a	-	-	-
Ácido palmítico	-	-	22.205 a	9.5074 a	18.98 a
Ácido esteárico	2.2713 ab	4.0514 a	1.3688 b	-	0.31 b

* Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Analisando os resultados apresentados (Tabelas 13 e 14), pode-se hipotetizar que pode ter havido um redirecionamento dos carboidratos para a formação de gliceróis e ácidos graxos, justificando a observada diminuição em açúcares totais (Farina; Reig, 2018). Além disso, a síntese de lipídeos pode competir com a biossíntese de ácido ascórbico, levando à diminuição dos níveis de vitamina C total e ácido ascórbico. Além disso, os ácidos graxos saturados, como o ácido palmítico e o ácido esteárico, também são componentes estruturais das membranas celulares e precursores de outros lipídeos. Corroborando parcialmente com nossos resultados, os ácidos graxos predominantes encontrados por Sancho *et al.* (2015), ao investigaram a composição de ácidos graxos em resíduos de sete frutas tropicais, incluindo o pedúnculo de cajueiro, foram os ácidos oleico e palmítico.

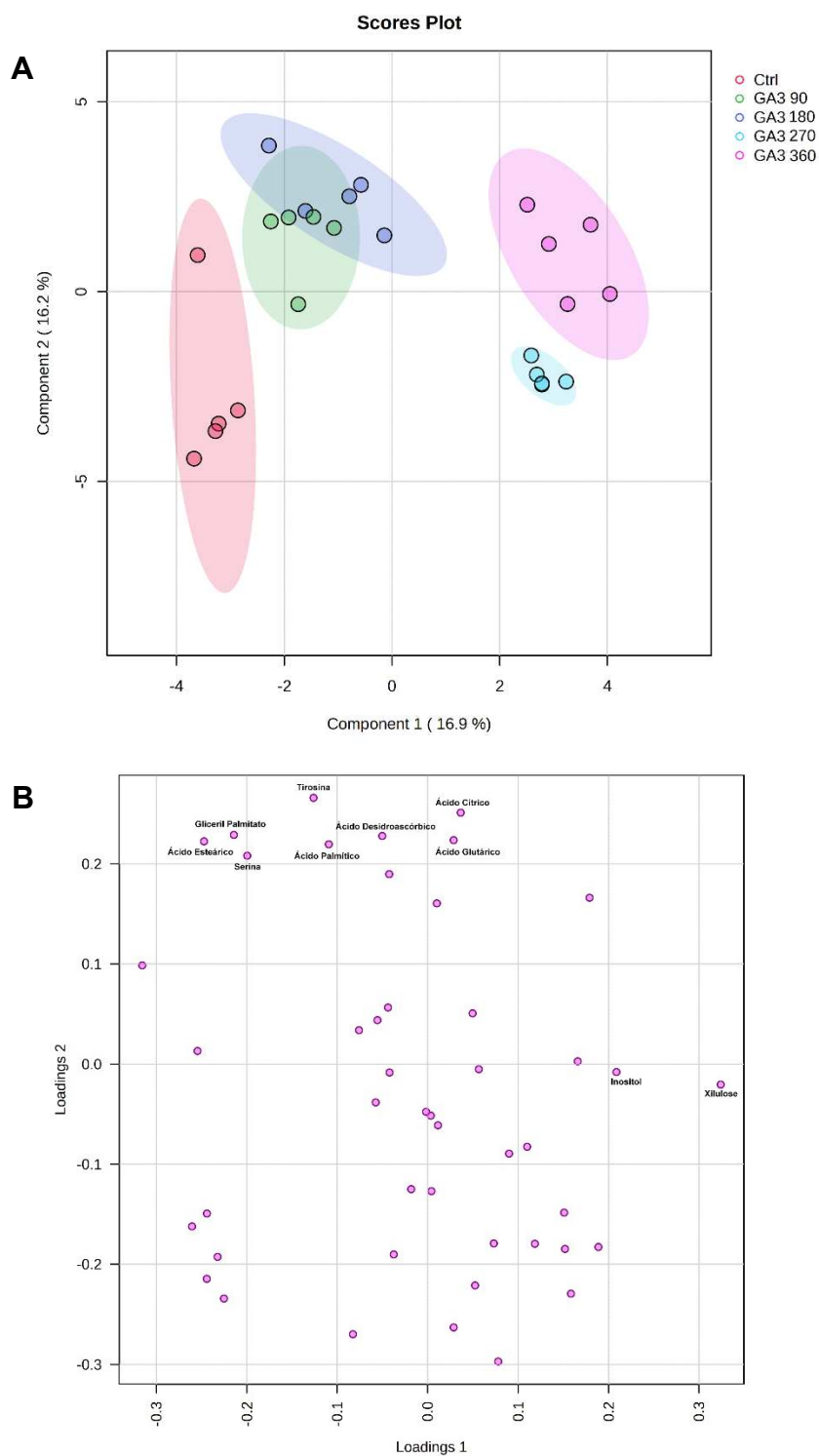
Ao analisar o gráfico de PLS-DA para os tratamentos com GA3 observa-se que o componente 1 contribuiu com 16,9% para a variância total, enquanto o componente 2 contribuiu com 16,2% (Figura 8A). Além disso, cada ponto no gráfico representa uma amostra individual, e as elipses ao redor dos grupos representam intervalos de confiança de 95%. De forma geral, os grupos se mostraram bem separados, principalmente pelo componente 1, indicando que cada concentração de fitormônio induziu mudanças distintas nos metabólitos, principalmente no controle, e nos tratamentos com GA3 a 270 e 360 ppm. Embora os tratamentos com GA3 a 90 e 180 ppm tenham apresentado uma sobreposição dos perfis, o tratamento com GA a 270 ppm foi o que teve uma menor variação entre as amostras, pois apresentou a elipse mais compacta. O tratamento com GA3 a 360 ppm foi o que apresentou uma maior variação no perfil metabólico, pois sua elipse é bastante dispersa.

Ao analisar o gráfico de carregamento para a giberelina GA3 (Figura 8B) observa-se que os compostos mais distantes do centro, como tirosina, ácido palmítico, ácido desidroascórbico, galactose, inositol, xilulose e ácido treônico são compostos chave que mais contribuem para a separação dos grupos de tratamento.

Ao analisar o gráfico de PLS-DA para os tratamentos com BA, observa-se que o componente 1 contribuiu com 26,8% para a variância total, enquanto o componente 2 contribuiu com 9,5% (Figura 9A). Da mesma forma que o apresentado na Figura 8A, cada ponto no gráfico representa uma amostra individual, e as elipses ao redor dos grupos representam intervalos de confiança de 95%. O grupo controle apresentou seus pontos agrupados indicando pouca variação interna; no entanto observou-se uma completa sobreposição entre o controle e o tratamento com BA a 90 ppm, sendo a separação dos demais influenciada principalmente pelo componente 1. Já, os tratamentos com BA a 180 e 270 ppm apresentaram uma completa sobreposição e uma clara separação dos grupos controle e aqueles do tratamento com mais baixas concentrações (BA a 90 ppm), indicando mudanças metabólicas mais pronunciadas devido à maior dose de citocinina. É interessante destacar, que os pontos do grupo do tratamento com BA a 360 ppm se apresentaram mais distantes daqueles dos grupos controle e os das doses mais baixas, mas se sobrepueram com o de BA a 180 ppm, destacando um impacto metabólico e distinto com a dose mais alta de citocinina. A separação observada entre os grupos tratados e o controle indica que a citocinina induz mudanças específicas e dose-dependentes nos metabólitos presentes.

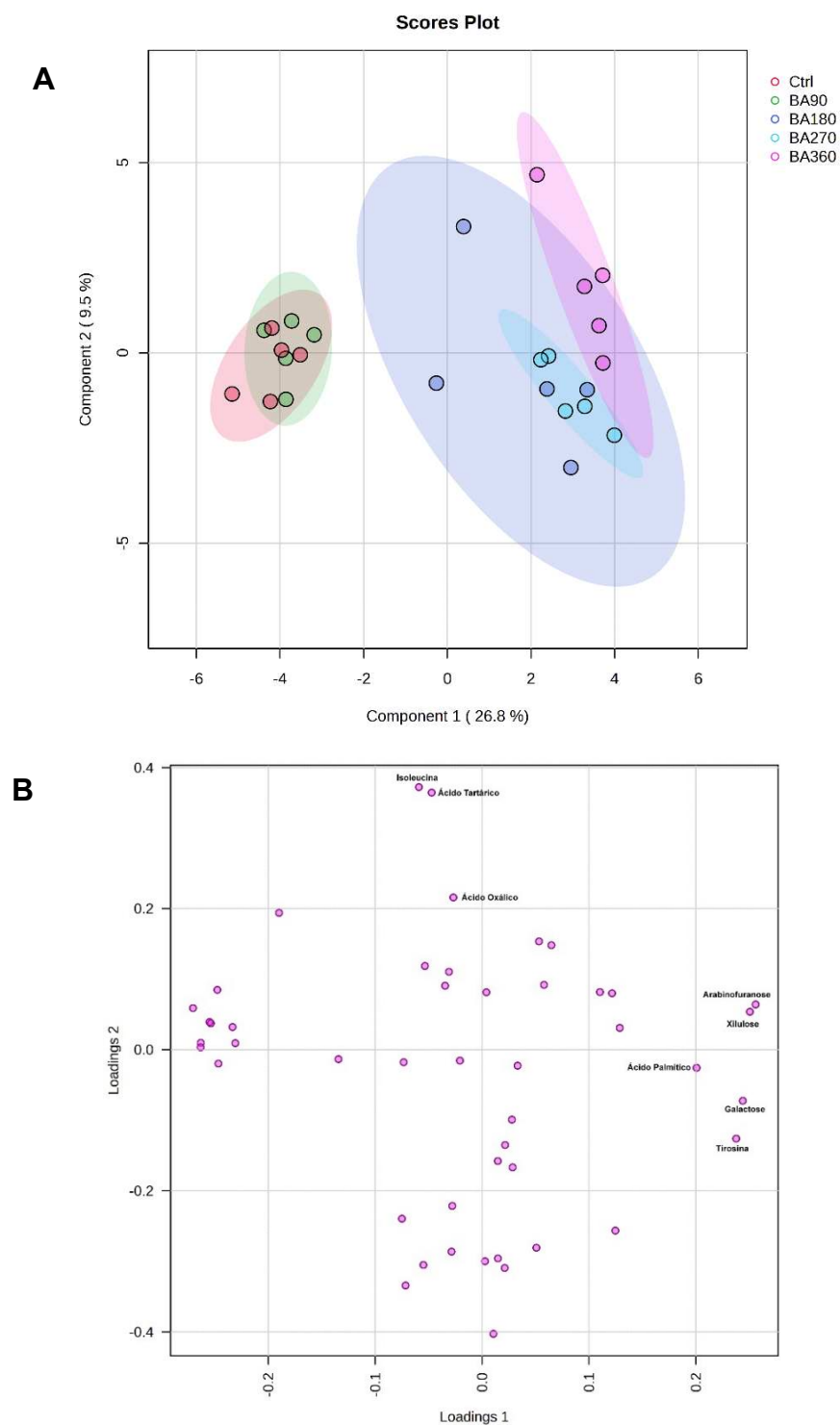
Ao analisar o gráfico de carregamento para BA (Figura 9B) observa-se que os compostos mais distantes do centro, como arabinofuranose, xilulose, ácido palmítico, galactose, tirosina, isoleucina, ácido tartárico, ácido oxálico e ácido esteárico são compostos chave que mais contribuem para a separação dos grupos de tratamento.

Figura 8 - Gráficos de score PLS-DA (A) e de loadings (B) para metabólitos identificados de pedúnculos de cajueiro CCP76 tratados com ácido giberélico (GA3)



Fonte: a autora

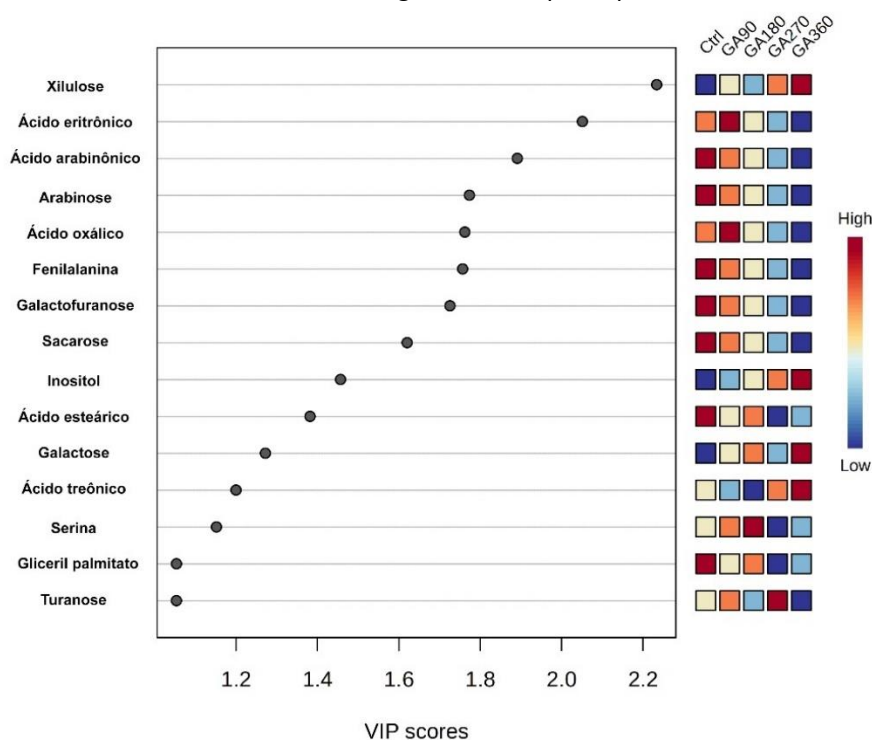
Figura 9 - Gráficos de score PLS-DA (A) e de loadings (B) para metabólitos identificados de pedúnculos de cajueiro CCP76 tratados com benziladenina (BA).



Fonte: a autora

A análise dos Vips Scores para o tratamento dos pedúnculos de cajueiro com giberelina revelou os 15 metabólitos mais importantes na projeção de separação dos grupos (Figura 10), sendo a xilulose o metabólito mais importante nessa separação, seguido dos ácidos eritrônico e arabinônico.

Figura 10 - Pontuações de Importância de Variável na Projeção (VIP score) para metabólitos em pedúnculos de cajueiro 'CCP76' tratados com ácido giberélico (GA3)



Fonte: a autora

Os níveis de xilulose, foram fortemente influenciados pelas diferentes concentrações de giberelina o que possivelmente afetou as vias metabólicas relacionadas ao metabolismo dos carboidratos. Metabólitos como ácido arabinônico e arabinose estão relacionados ao metabolismo das pentoses e à interconversão de açúcares complexos indicando que a giberelina impactou substancialmente essas vias metabólicas, alterando potencialmente a síntese e o catabolismo de polissacarídeos estruturais e de reserva. Outros metabólitos, que se encontram entre os 15 da figura 9A,

como a sacarose e o inositol desempenham papel fundamental no metabolismo energético e na sinalização celular (Hu *et al.*, 2024).

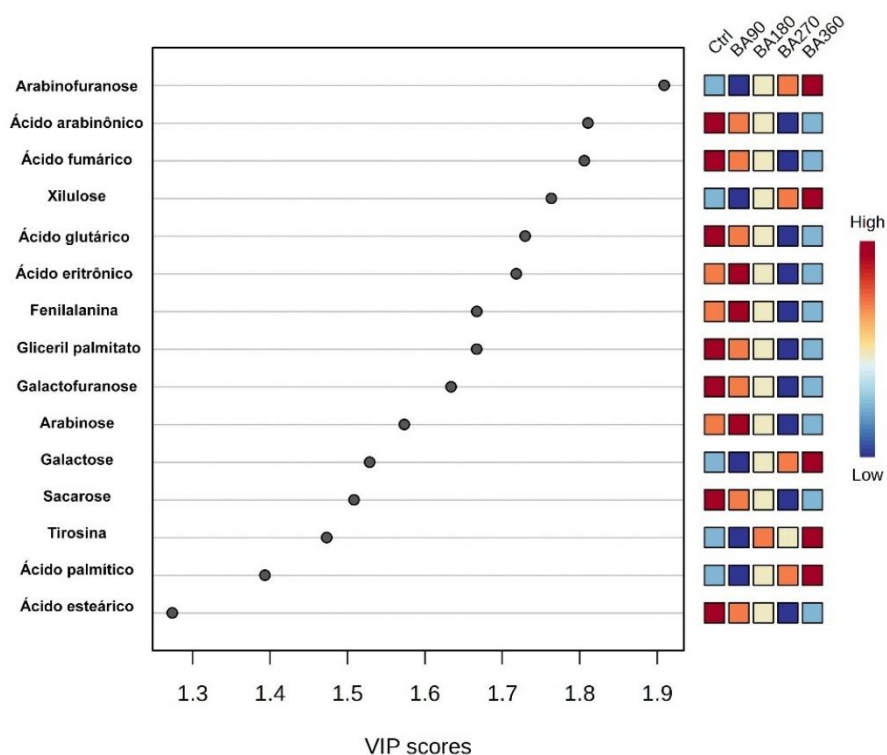
Seus altos VIPs scores sugerem que a giberelina pode alterar significativamente o balanço energético e os processos de comunicação celular. O ácido eritrônico pode estar envolvido em processos de resposta ao estresse ou em vias metabólicas alteradas pela aplicação de giberelina. Outro composto incluído nos VIP scores, o ácido oxálico (Figura 10), é um metabólito comum a muitas vias metabólicas das plantas, e variações em seus níveis pode refletir mudanças em processos de detoxificação ou resposta a estresses oxidativos (Li *et al.*, 2022). Além disso, o ácido oxálico desempenha um papel fundamental no amadurecimento e senescência dos frutos durante o período pós-colheita atuando como regulador no amadurecimento dos frutos, influenciando o metabolismo de açúcares, o amolecimento por meio da degradação da pectina e a síntese de pigmentos (Hasan *et al.*, 2023).

Um outro metabólito também incluído entre os mais importantes, a fenilalanina, é um aminoácido crucial para muitas moléculas sinalizadoras e metabólitos secundários, incluindo compostos fenólicos (Sogvar *et al.*, 2020).

Pela análise do gráfico do VIP scores sob a influência dos tratamentos dos pedúnculos com BA (Figura 11), nota-se que o metabólito mais importante nos, ou seja, aquele que mais influenciou nos resultados foi a arabinofuranose, seguido dos ácidos arabinônico e fumárico.

É importante destacar que açúcares como arabinofuranose, xilulose, arabinose e galactose são cruciais para a discriminação entre os grupos, indicando que a citocinina tem um impacto significativo no metabolismo de carboidratos. Ademais, os ácidos orgânicos, como ácido arabinônico, ácido fumárico, ácido glutárico e ácido eritrônico, também são importantes, sugerindo alterações no ciclo de Krebs e em outras vias metabólicas (Nelson e Cox., 2021). Outrossim, a presença de aminoácidos como a fenilalanina e tirosina entre os metabólitos mais importantes aponta para mudanças na síntese proteica e na resposta ao estresse (Salaria *et al.*, 2023). Por fim, a detecção de gliceril palmitato, ácido palmítico e ácido esteárico evidencia a influência da citocinina sobre o metabolismo lipídico.

Figura 11 - Pontuações de Importância de Variável na Projeção (VIP score) para metabólitos em pedúnculos de cajueiro 'CCP76' tratados com benziladenina



Fonte: a autora

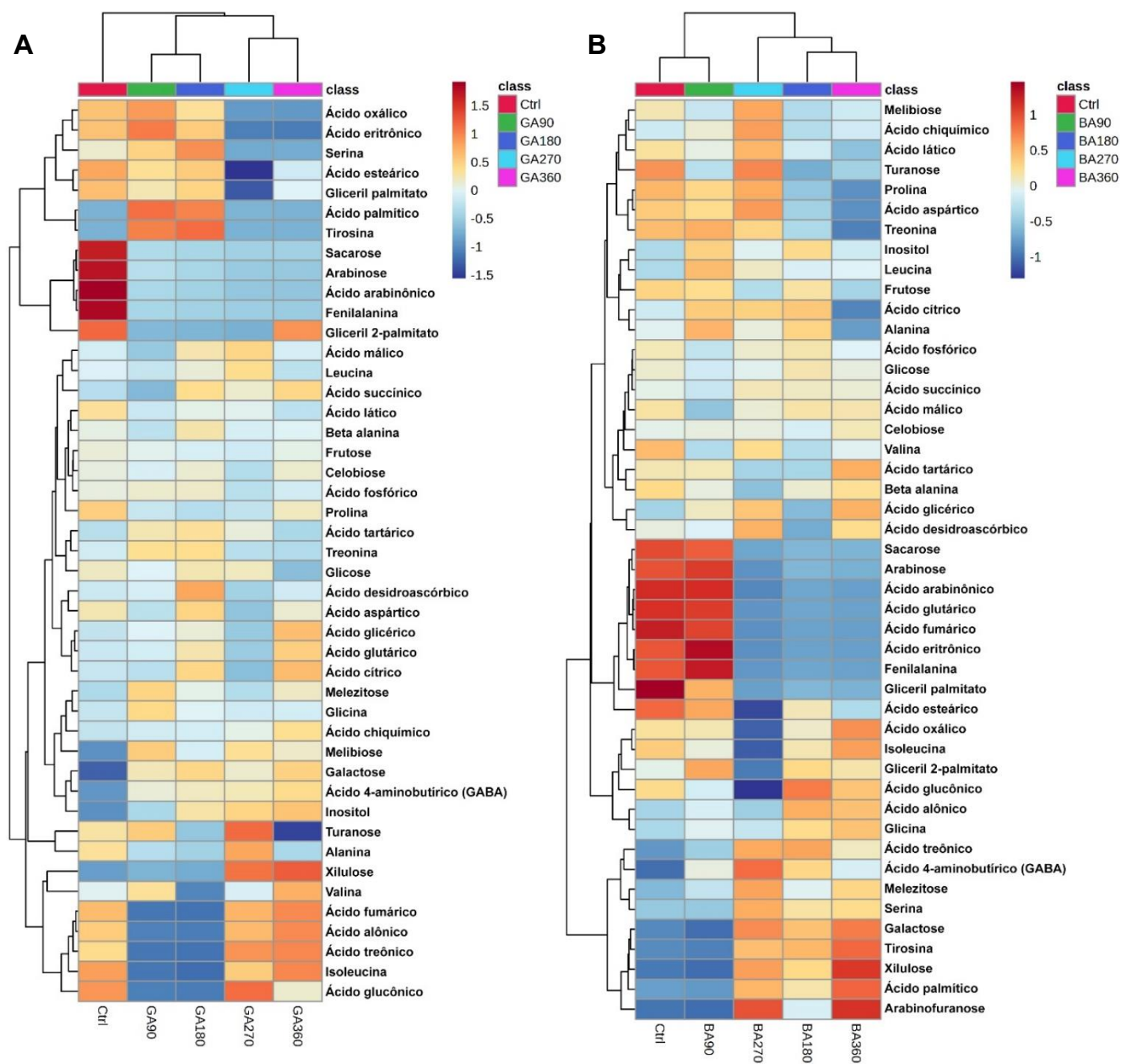
É importante destacar que açúcares como arabinofuranose, xilulose, arabinose e galactose são cruciais para a discriminação entre os grupos, indicando que a citocinina tem um impacto significativo no metabolismo de carboidratos. Ademais, os ácidos orgânicos, como ácido arabinônico, ácido fumárico, ácido glutárico e ácido eritrônico, também são importantes, sugerindo alterações no ciclo de Krebs e em outras vias metabólicas (Nelson e Cox., 2021). Outrossim, a presença de aminoácidos como a fenilalanina e tirosina entre os metabólitos mais importantes aponta para mudanças na síntese proteica e na resposta ao estresse (Salaria *et al.*, 2023). Por fim, a detecção de gliceril palmitato, ácido palmítico e ácido esteárico evidencia a influência da citocinina sobre o metabolismo lipídico.

Para uma visualização mais detalhada e intuitiva das mudanças nos níveis de metabólitos entre os tratamentos, um heatmap foi gerado (Figura 12). Este gráfico permite observar claramente as variações nos metabólitos mais influentes e como cada tratamento específico impacta o perfil metabólico.

No heatmap referente ao tratamento dos pedúnculos de cajueiro com giberelina (GA3) (Figura 12A), observou-se que o tratamento controle apresentou maiores concentrações relativas de sacarose, arabinose, ácido arabinônico e fenilalanina. Já nas doses mais elevadas (GA270 e GA360), observou-se o acúmulo de ácido fumárico, ácido alônico e ácido treônico, compostos associados ao ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e ao metabolismo redox. Esse padrão pode indicar um redirecionamento metabólico para a geração de energia ou uma resposta adaptativa ao estresse induzido pelo excesso de GA3 (Zheng et al., 2025).

No heatmap referente ao tratamento dos pedúnculos de cajueiro com benziladenina (BA) (Figura 12B), observou-se que o tratamento controle e o BA 90 apresentaram maiores concentrações relativas de sacarose, arabinose, ácido arabinônico, ácido glutárico, ácido fumárico, ácido eritrônico, fenilalanina, gliceril palmitato e ácido esteárico. Esses metabólitos estão relacionados à manutenção estrutural, à biossíntese de lipídios e ao equilíbrio redox. Em contrapartida, na dose de BA 360, observou-se uma mudança no perfil, com predomínio de galactose, tirosina, xilulose, arabinofuranose e ácido palmítico. Esses resultados podem indicar um possível estímulo à diferenciação celular, síntese de açúcares estruturais e aminoácidos aromáticos, corroborando o papel da citocinina na reorganização metabólica e na promoção do desenvolvimento celular (Mcintyre et al, 2021).

Figura 12 - Heatmap dos metabólitos de pedúnculos de cajueiro 'CCP76' tratados com ácido giberélico (GA3) (A) e benziladenina (B) nas respectivas concentrações.



Fonte: a autora

5 CONCLUSÃO

Os fitormônios, embora não tenham alterado significativamente as características físicas e visuais dos pedúnculos do cajueiro CCP76, promoveram mudanças nos parâmetros bioquímicos e metabólicos, evidenciando a capacidade dos fitormônios em modular rotas fisiológicas e compostos relacionados à qualidade e conservação pós-colheita.

O tratamento com GA3 promoveu reduções nos teores de sólidos solúveis, vitamina C total, ácido ascórbico e o ácido desidroascórbico. Também induziu o aumento da atividade de enzimas relacionadas à degradação da parede celular (PG e PME) e ao metabolismo fenólico (PAL e PPO), sugerindo maior atividade hidrolítica e oxidativa nos tecidos. O tratamento de BA, por outro lado, reduziu o ácido desidroascórbico, inibiu a atividade da PPO e elevou a atividade da PAL, o que pode estar associado a um efeito protetor contra o escurecimento e à preservação do potencial antioxidante.

A análise metabolômica revelou alterações significativas no perfil de açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e lipídeos. Os tratamentos com GA3 destacaram xilulose, ácido eritrônico e ácido arabinônico como principais marcadores de separação entre os grupos, indicando reprogramação do metabolismo energético e antioxidante. Já nos tratamentos com BA, os metabólitos mais relevantes foram arabinofuranose, ácido arabinônico, ácido fumárico e xilulose, refletindo ajustes no metabolismo estrutural e lipídico.

De forma geral, os dados obtidos demonstram que, mesmo sem efeitos perceptíveis sobre atributos físicos, a aplicação dos reguladores influenciou a fisiologia e o metabolismo dos pedúnculos de cajueiro CCP76. Esses resultados reforçam o potencial da aplicação de fitormônios como ferramenta de manejo pré-colheita para a modulação bioquímica de frutos tropicais, além de evidenciar a importância da abordagem metabolômica na identificação de biomarcadores metabólicos associados às respostas fisiológicas de plantas a estímulos hormonais.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. D. J.; VIANA, T. D. A.; DE AGUIAR, J. V.; DE LIMA, J. B.; DE AQUINO, F. C.; CRISOSTOMO JUNIOR, R. R.; BARRETO, J. C. **Dados climatológicos**: estação de Pacajus. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. 26 p.
- ALAM, P.; BALAWI, T. A.; QADIR, S. U.; AHMAD, P. Gibberellic acid and silicon ameliorate NaCl toxicity in *Brassica juncea*: Possible involvement of antioxidant system and ascorbate-glutathione cycle. **Plants**, Basel, v. 12, n. 6, p. 1210, 2023.
- ALRASHDI, A. M.; AL-QURASHI, A. D.; AWAD, M. A.; MOHAMED, S. A.; AL-RASHDI, A. A. Quality, antioxidant compounds, antioxidant capacity and enzymes activity of 'El-Bayadi' table grapes at harvest as affected by preharvest salicylic acid and gibberellic acid spray. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 220, p. 243-249, 2017.
- ARAÚJO, T. S.; COSTA, D. S.; SOUSA, N. A.; SOUZA, L. K.; DE ARAÚJO, S.; OLIVEIRA, A. P.; MEDEIROS, J. V. R. Antidiarrheal activity of cashew gum, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 174, p. 299-307, 2015.
- ASIKIN, Y.; KAMIYA, A.; MIZU, M.; TAKARA, K.; TAMAKI, H.; WADA, K. Changes in the physicochemical characteristics, including flavour components and Maillard reaction products, of non-centrifugal cane brown sugar during storage. **Food Chemistry**, Barking, v. 149, p. 170-177, 2014.
- ATTIA, S. M.; ADSS, I. A. A. Effect of preharvest applied brassinosteroid on "Anna" apple fruit retention, coloration and quality. **Bioscience Research**, Faisalabad, v. 18, n. 2, p. 1416-1425, 2021.
- BAPTISTA, A.; GONÇALVES, R. V.; BRESSAN, J.; PELÚZIO, M. D. C. G. Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts and fractions of cashew (*Anacardium occidentale* L.), cajui (*Anacardium microcarpum*), and pequi (*Caryocar brasiliense* C.): a systematic review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, Hoboken, v. 2018, n. 1, p. 3753562, 2018.
- BARROS, L. M. Botânica, origem e distribuição geográfica. In: ARAÚJO, J. P. P. de; SILVA, V. V. de. **Cajucultura**: modernas técnicas de produção. Fortaleza: Embrapa – CNPAT, 1995. p. 55-71.
- BARROS, L.M.; PIMENTEL, C.R.M.; CORREA, M.P.F.; MESQUITA, A.L.M. **Recomendações técnicas para a cultura do cajueiro-anão-precoce**. Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1993. 65p. (Embrapa-CNPAT. Circular Técnica, 1).
- BATISTA, V. C. V.; PEREIRA, I. M. C.; DE OLIVEIRA PAULA-MARINHO, S.; CANUTO, K. M.; PEREIRA, R. D. C. A.; RODRIGUES, T. H. S.; DE CARVALHO, H. H. Salicylic acid modulates primary and volatile metabolites to alleviate salt stress-induced

photosynthesis impairment on medicinal plant *Egletes viscosa*. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 167, n. June, p. 103870, 2019.

BERRY, A. D.; SARGENT, S. A. Cashew apple and nut (*Anacardium occidentale* L.). In: YAHIA, E. M. (Org.). **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2011. v. 2, p. 414-423e.

BIALE, J. B.; BARCUS, D. E. Respiratory patterns in tropical fruits of the Amazon Basin. **Tropical Science**, Oxford, v. 12, p. 93-104, 1970.

BÖTTCHER, C.; BOSS, P. K.; DAVIES, C. Increase in cytokinin levels during ripening in developing *Vitis vinifera* cv. Shiraz berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 64, n. 4, p. 527-531, 2013.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAINER, M. S. C. P. **Cajucultura**. Caderno Setorial ETENE. Fortaleza: BNB, ano 7, n. 230, jun. 2022. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482dspace/bitstream/123456789/1328/1/2022_CDS_230.pdf. Acesso em: 8 nov. 2023

BRUMMELL, D. A.; DAL CIN, V.; CRISOSTO, C. H.; LABAVITCH, J. M. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, n. 405, p. 2029-2039, 2004.

CAI, N.; CHEN, C.; WAN, C.; CHEN, J. Effects of pre-harvest gibberellic acid spray on endogenous hormones and fruit quality of kumquat (*Citrus japonica*) fruits. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v. 49, n. 2-3, p. 211-224, 2021.

CAMARA, M. C.; VANDENBERGHE, L. P.; RODRIGUES, C.; OLIVEIRA, J.; FAULDS, C.; BERTRAND, E.; SOCCOL, C. R. Current advances in gibberellic acid (GA3) production, patented technologies and potential applications. **Planta**, Berlin, v. 248, p. 1049-1062, 2018.

CANLI, F. A.; PEKTAS, M. Improving fruit size and quality of low yielding and small fruited pear cultivars with benzyladenine and gibberellin applications. **European Journal of Horticultural Science**, Stuttgart, v. 80, n. 3, p. 103-108, 2015.

CANLI, F. A.; PEKTAS, M.; ERCISLI, S. Benzyladenine and gibberellin applications improve fruit weight and delay maturity of sweet cherry. **Erwerbs-Obstbau**, Berlin, v. 57, n. 2, p. 71-75, 2015.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, B. F. Tecnologia e Qualidade Pós-colheita de Frutas e Hortaliças. Lavras: UFLA, 2005. 783 p.

CHONG, J.; WISHART, D. S.; XIA, J. Using MetaboAnalyst 4.0 for comprehensive and integrative metabolomics data analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, New York, v. 68, n. 1, p. e86, 2019.

CUNHA, A. G.; BRITO, E. S.; MOURA, C. F.; RIBEIRO, P. R.; MIRANDA, M. R. A. UPLC–qTOF-MS/MS-based phenolic profile and their biosynthetic enzyme activity used to discriminate between cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) maturation stages. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 1051, p. 24-32, 2017.

DAKUYO, R.; KONATÉ, K.; SANOU, A.; KABORÉ, K.; SAMA, H.; BAZIÉ, D.; DIAO, M.; DICKO, M. H. Comparison of proximate and phytonutrient compositions of cashew nuts and apples from different geographical areas of Burkina Faso. **BioMed Research International**, New York, v. 2022, n. 1, p. 1800091, 2022.

DA SILVEIRA VASCONCELOS, M.; GOMES-ROCHETTE, N. F.; DE OLIVEIRA, M. L. M.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S.; TOMÉ, A. R.; MAIA DE SOUSA, F. Y.; DE MELO, D. F. Anti-inflammatory and wound healing potential of cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.) in mice. **Experimental Biology and Medicine**, Maywood, v. 240, n. 12, p. 1648-1655, 2015.

DAS, I.; ARORA, A. Post-harvest processing technology for cashew apple—A review. **Journal of Food Engineering**, London, v. 194, p. 87-98, 2017.

DE FIGUEIREDO, R. W.; LAJOLO, F. M.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C. Physical–chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food Chemistry**, Barking, v. 77, n. 3, p. 343-347, 2002.

DEUTCH, C. E. Browning in apples: Exploring the biochemical basis of an easily observable phenotype. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, Oxford, v. 46, n. 1, p. 76-82, 2018.

EL-SHARKAWY, I.; SHERIF, S.; ABDULLA, M.; JAYASANKAR, S. Plum fruit development occurs via gibberellin–sensitive and–insensitive DELLA repressors. **PLoS One**, San Francisco, v. 12, n. 1, p. e0169440, 2017.

EL-SHORA, H. M. Properties of phenylalanine ammonia-lyase from Marrow cotyledons. **Plant Science**, Londres, v. 162, p. 1-7, 2002.

EMBRAPA. **Clones de cajueiro**. 1. ed. Fortaleza, 2020. 1 Folder. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1125932>. Acesso em: 10 jan. 2024.

ESKIN, N. A. M.; HOEHN, E. Fruits and vegetables. In: ESKIN, N. A. M.; SHAHIDI, F. (Org.). **Biochemistry of Foods**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2013. p. 49-126.

FARINA, V.; REIG VALOR, C. Fatty acids and sugar composition of avocado fruit during harvesting time and post-harvest ripening period: a review. **Italus Hortus**, Firenze, v. 25, n. 1, p. 1-11, 2018.

FORDE, B. G.; LEA, P. J. Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signalling. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, p. 2339-2358, 2007. DOI: 10.1093/jxb/erm121.

FREITAS, A. S. D.; DANTAS, B. D. S.; ARAÚJO, Í. M. D. S.; GARRUTI, D. D. S. Suitability of peduncles of new cashew tree clones for commercial purposes. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 51, 2020.

FUNCEME. Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. **Calendário das Chuvas no Estado do Ceará**. 2021. Disponível em: <http://funceme.br/app-calendario/ano/municipios/media/2021>. Acesso em 08 jan. 2024.

GAO, X. T.; WU, M. H.; SUN, D.; LI, H. Q.; CHEN, W. K.; YANG, H. Y.; HE, F. Effects of gibberellic acid (GA3) application before anthesis on rachis elongation and berry quality and aroma and flavour compounds in *Vitis vinifera* L. 'Cabernet Franc' and 'Cabernet Sauvignon' grapes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 100, n. 9, p. 3729-3740, 2020.

GORDON, A.; FRIEDRICH, M.; DA MATTA, V. M.; MOURA, C. F. H.; MARX, F. Changes in phenolic composition, ascorbic acid and antioxidant capacity in cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) during ripening. **Fruits**, Les Ulis, v. 67, n. 4, p. 267-276, 2012.

GUO, W.; YU, D.; ZHANG, R.; ZHAO, W.; ZHANG, L.; WANG, D.; SUN, Y.; GUO, C. Genome-wide identification of the myo-inositol oxygenase gene family in alfalfa (*Medicago sativa* L.) and expression analysis under abiotic stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 200, p. 107787, 2023.

HASAN, M. U.; SINGH, Z.; SHAH, H. M. S.; KAUR, J.; WOODWARD, A.; AFRIFA-YAMOA, E.; MALIK, A. U. Oxalic acid: A blooming organic acid for postharvest quality preservation of fresh fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 206, p. 112574, 2023.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 125, n. 2, p. 189-198, 1968.

HOCKING, B.; TYERMAN, S. D.; BURTON, R. A.; GILLIHAM, M. Fruit calcium: Transport and physiology. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 569, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.00569.

HUANG, J.; GU, M.; LAI, Z.; FAN, B.; SHI, K.; ZHOU, Y. H.; CHEN, Z. Functional analysis of the Arabidopsis PAL gene family in plant growth, development, and response to environmental stress. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 153, n. 4, p. 1526-1538, 2010.

HU, X.; XU, C.; GONG, J.; LI, X.; LI, F.; ZHAO, J.; SUN, X.; HAN, D. Biological role of red light supplementation in inositol metabolism during strawberry fruit ripening. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 332, p. 113196, 2024.

HU, L.; ZHOU, K.; LI, Y.; CHEN, X.; LIU, B.; LI, C.; GONG, X.; MA, F. Exogenous myo-inositol alleviates salinity-induced stress in *Malus hupehensis* Rehd. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 133, p. 116-126, 2018.

IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IAL, 2008.

JAMESON, P. E. Cytokinins. In: THOMAS, Brian; MURPHY, Denis J.; MURRAY, Brian G. (Org.). **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**. 2. ed. Oxford: Elsevier Academic Press, 2017. v. 1, p. 391-402.

JAMESON, P. E.; SONG, J. Cytokinin: a key driver of seed yield. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 67, n. 3, p. 593-606, 2016.

JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. P. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Science**, Champaign, v. 49, p. 1045-1087, 1984.

JIANG, Y. L.; CHEN, L. Y.; LEE, T. C.; CHANG, P. T. Improving postharvest storage of fresh red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus* sp.) fruit by pre-harvest application of CPPU. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 273, p. 109646, 2020.

JUNG, S. M.; HUR, Y. Y. Metabolites changes after pre-bloom gibberellic acid (GA3) application for inducing seedless grape. **Plant Omics**, Lismore, v. 13, n. 2, p. 94-103, 2020.

KAINTZ, C.; MAURACHER, S. G.; ROMPEL, A. Type-3 copper proteins: recent advances on polyphenol oxidases. **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**, Amsterdam, v. 97, p. 1-35, 2014.

Kavi Kishor, P. B.; Hima Kumari, P.; Sunita, M. S. L.; Sreenivasulu, N. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 6, p. 148-328, 2015.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2019.

KIEBER, J. J.; SCHALLER, G. E. Cytokinins. **The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists**, Rockville, v. 12, 2014.

KONG, J. Q. Phenylalanine ammonia-lyase, a key component used for phenylpropanoids production by metabolic engineering. **RSC Advances**, Cambridge, v. 5, n. 77, p. 62587-62603, 2015.

KUMAR, V.; SHARMA, A.; BHARDWAJ, R.; THUKRAL, A. K. Analysis of organic acids of tricarboxylic acid cycle in plants using GC-MS, and system modeling. **Journal of Analytical Science and Technology**, Heidelberg, v. 8, p. 20, 2017. DOI: 10.1186/s40543-017-0129-6.

KUMARI, P.; BARMAN, K.; PATEL, V. B.; SIDDIQUI, M. W.; KOLE, B. Reducing postharvest pericarp browning and preserving health promoting compounds of litchi fruit by combination treatment of salicylic acid and chitosan. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 197, p. 555-563, 2015.

LI, L.; LI, D.; LUO, Z.; HUANG, X.; LI, X. Proteomic response and quality maintenance in postharvest fruit of strawberry (*Fragaria × ananassa*) to exogenous cytokinin. **Scientific Reports**, London, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2016.

LI, P.; LIU, C.; LUO, Y.; SHI, H.; LI, Q.; PINCHU, C.; LI, X.; YANG, J.; FAN, W. Oxalate in plants: metabolism, function, regulation, and application. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 70, n. 51, p. 16037-16049, 2022.

LI, S.; QIU, C.; YANG, M.; SHI, L.; CAO, S.; YANG, Z.; CHEN, W. Effect of gibberellic acid on cell wall degradation and softening in postharvest okras. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 186, p. 115-223, 2023. DOI: 10.1016/j.lwt.2023.115223.

LIM, T. K. *Anacardium occidentale*. In: LIM, T. K. (Org.). **Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012. p. 45-68.

LIN, Y.; LIN, H.; LIN, Y.; ZHANG, S.; CHEN, Y.; JIANG, X. The roles of metabolism of membrane lipids and phenolics in hydrogen peroxide-induced pericarp browning of harvested longan fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 111, p. 53-61, 2016.

LISEC, J.; SCHAUER, N.; KOPKA, J.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A. R. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. **Nature Protocols**, London, v. 1, n. 1, p. 387-396, 2006.

LIMA, A. A. C.; OLIVEIRA, F. N. S.; AQUINO, A. R. L. **Classificação e aptidão agrícola dos solos do Campo Experimental de Pacajus, Ceará, para a fruticultura**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. p. 20. (Documentos, 53).

LIU C.; XIAO P.; JIANG F.; WANG S.; LIU Z.; SONG G.; LI W.; LV T.; LI J.; WANG D.; LI Y.; WU C.; LI T. Exogenous gibberellin treatment improves fruit quality in self-pollinated apple. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 174, p. 11-21, 2022.

LIU, F.; WANG, L.; GU, L.; ZHAO, W.; SU, H.; CHENG, X. Higher transcription levels in ascorbic acid biosynthetic and recycling genes were associated with higher ascorbic acid accumulation in blueberry. **Food chemistry**, Barking, v. 188, p. 399-405, 2015

LOIX, C.; HUYBRECHTS, M.; VANGRONSVELD, J.; GIELEN, M.; KEUNEN, E.; CUYPERS, A. Reciprocal interactions between cadmium-induced cell wall responses and oxidative stress in plants. **Frontiers in plant science**, Lausanne, v. 8, p. 1867, 2017.

LOPES, M. M. D. A.; MIRANDA, M. R. A. D.; MOURA, C. F. H.; ENÉAS FILHO, J. Bioactive compounds and total antioxidant capacity of cashew apples (*Anacardium occidentale* L.) during the ripening of early dwarf cashew clones. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, p. 325-332, 2012.

LOPES, M. M. D. A.; MOURA, C. F. H. D.; ARAGÃO, F. A. S. D.; CARDOSO, T. G.; ENÉAS FILHO, J. Caracterização física de pedúnculos de clones de cajueiro anão precoce em diferentes estádios de maturação. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, p. 914-920, 2011.

MARTÍNEZ-CAMACHO, J. E.; GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G.; RICO-GARCÍA, E.; TOVAR-PÉREZ, E. G.; TORRES-PACHECO, I. Delayed senescence and marketability index preservation of blackberry fruit by preharvest application of chitosan and salicylic acid. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 13, 2022.

MCINTYRE, K. E.; BUSH, D. R.; ARGUESO, C. T. Cytokinin regulation of source-sink relationships in plant-pathogen interactions. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 12, p. 677585, 2021.

MHAMDI, A.; NOCTOR, G.; BAKER, A. Plant catalases: peroxisomal redox guardians. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Diego, v. 525, n. 2, p. 181-194, 2012.

MHAMDI, A.; QUEVAL, G.; CHAOUCH, S.; VANDERAUWERA, S.; VAN BREUSEGEM, F.; NOCTOR, G. Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 15, p. 4197-4220, 2010.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, p. 426-428, 1959.

MISHRA, S.; SHARMA, A.; SRIVASTAVA, A. K. Ascorbic acid: A metabolite switch for designing stress-smart crops. **Critical Reviews in Biotechnology**, London, v. 44, n. 7, p. 1350-1366, 2024.

MOHAN, V. M. V.; GAYATHRI, R. G.; JAACKS, L. M.; LAKSHMIPRIYA, N. L.; ANJANA, R. M.; SPIEGELMAN, D.; WILLETT, W. Cashew nut consumption increases HDL cholesterol and reduces systolic blood pressure in Asian Indians with type 2 diabetes: a 12-week randomized controlled trial. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 148, n. 1, p. 63-69, 2018.

MONTECCHIARINI, M. L.; BELLO, F.; RIVADENEIRA, M. F.; VÁZQUEZ, D.; PODESTA, F. E.; TRIPODI, K. E. J. Metabolic and physiologic profile during the fruit ripening of three blueberries highbush (*Vaccinium corymbosum*) cultivars. **Journal of Berry Research**, Amsterdam, v. 8, n. 3, p. 177-192, 2018.

MORTON, J. F. Cashew nuts and cashew apples. *In*: CABALLERO, Benjamin; TRUGO, Luiz C.; FINGLAS, Paul M. (Org.). **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. 2. ed. Amsterdam: Academic Press, 2003. v. 4, p. 958-964. Disponível em: DOI: 10.1016/B0-12-227055-X/00180-2.

MOURA, C. F. H.; FIGUEIREDO, R. W. D.; ALVES, R. E.; SILVA, E. D. O.; ARAÚJO, P. G. L. D.; MACIEL, V. T. Aumento da vida útil pós-colheita de pedúnculos de cajueiro anão precoce pela redução da temperatura de armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 140-145, 2010.

MUENGKAEW, R.; CHAIPRASART, P.; WARRINGTON, I. Changing of physiochemical properties and color development of mango fruit sprayed methyl Jasmonate. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 198, p. 70-77, 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 8. ed. New York: W. H. Freeman, 2021.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 74, n. 2, p. 209-215, 1997.

OLALUSI, A. P.; AJAYI, O. C.; ERINLE, O. C. Selected physio-chemical properties for the processing of cashew apple (*Anacardium occidentale*). **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, Bristol, v. 445, p. 012012, 2020. DOI: 10.1088/1755-1315/445/1/012012.

OZKAN, Y.; UCAR, M.; YILDIZ, K.; OZTURK, B. Pre-harvest gibberellic acid (GA3) treatments play an important role on bioactive compounds and fruit quality of sweet cherry cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 211, p. 358-362, 2016.

PAIVA, J. R.; BARROS, L. M. **Clones de cajueiro**: obtenção, características e perspectivas. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 26p. (EMBRAPA Agroindústria Tropical. Documentos, 82).

PEIXOTO, P. H. P.; CAMBRAIA, J.; SANTANNA, R.; MSQUIM, R.; MOREIRA, M. A. Aluminum effect on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, n. 3, p. 137-143, 1999.

PENCHOVSKY, R.; KALOUDAS, D. Molecular factors affecting tomato fruit size. **Plant Gene**, Amsterdam, p. 100395, 2022.

PRATT, H. K.; MENDOZA, D. B. Influence of Nut Removal on Growth and Ripening of the Cashew-apple. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 105, n. 4, p. 540-542, 1980.

PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases: effects of pectinesterases. **Journal of Food Biochemistry**, Hoboken, v. 8, p. 67-74, 1982.

QUEIROZ, C.; DA SILVA, A. J. R.; LOPES, M. L. M.; FIALHO, E.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) after processing. **Food Chemistry**, Barking, v. 125, n. 1, p. 128-132, 2011.

RABELO, M. C.; BRITO, E. S. D.; MOURA, C. F. H.; OLIVEIRA, L. D. S.; MIRANDA, M. R. A. Thermostability of antioxidant and deteriorative enzymes from soursop and cashew apple juices. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 38, 2016.

REINA, L. J. C.; DURÁN-ARANGUREN, D. D.; FORERO-ROJAS, L. F.; TARAPUEZ-VIVEROS, L. F.; DURÁN-SEQUEDA, D.; CARAZZONE, C.; SIERRA, R. Chemical composition and bioactive compounds of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and bagasse from Colombian varieties. **Heliyon**, London, v. 8, n. 5, 2022.

RICO, R.; BULLO, M.; SALAS-SALVADO, J. Nutritional composition of raw fresh cashew (*Anacardium occidentale* L.) kernels from different origin. **Food Science and Nutrition**, Malden, v. 4, p. 329–338, 2016.

RUFINO, M. D. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. D. G.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS+. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 4 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 128).

SALARIA, P.; JAIN, S.; BHARDWAJ, R. D.; RANI, R.; JHANJI, S. Physiological and biochemical responses of chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) to sudden wilt syndrome. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 126, p. 102038, 2023.

SÁNCHEZ-MATA, M.; CÁMARA-HURTADO, M.; DÍEZ-MARQUÉS, C. L.; TORIJA-ISASA, M. E. Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 210, n. 3, p. 220-225, 2000.

SANCHO, S. D. O., DA SILVA, A. R. A., DANTAS, A. N. D. S., MAGALHÃES, T. A., LOPES, G. S., RODRIGUES, S.; DA COSTA, J. M. C.; FERNANDES, A. N. F.; SILVA, M. G. D. V. Characterization of the industrial residues of seven fruits and prospection of their potential application as food supplements. **Journal of Chemistry**, New York, v. 2015, n. 1, p. 264284, 2015.

SCHMÜLLING, T. Cytokinin. In: LENNARZ, J. W.; LANE, D. M. (Org.). **Encyclopedia of Biological Chemistry**. 2. ed. Cambridge: Academic Press, 2013. v. 1, p. 627-631.

SENA, E. D. O. A.; DA SILVA, P. S. O.; DE ARAÚJO, H. G. S.; DE ARAGÃO BATISTA, M. C.; MATOS, P. N.; SARGENT, S. A.; CARNELOSSI, M. A. G. Postharvest quality of cashew apple after hydrocooling and cold room. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 155, p. 65-71, 2019.

SERRANI, J. C.; SANJUÁN, R.; RUIZ-RIVERO, O.; FOS, M.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J. L. Gibberellin regulation of fruit set and growth in tomato. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 145, n. 1, p. 246-257, 2007.

SHARMA, P.; GAUR, V. K.; SIROHI, R.; LARROCHE, C.; KIM, S. H.; PANDEY, A. Valorization of cashew nut processing residues for industrial applications. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 152, p. 112550, 2020.

SHEWFELT, R. L.; DEL ROSARIO, B. A. The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v. 35, n. 4, p. 575-579, 2000.

SHI, K.; ZHOU, Y. H.; CHEN, Z. Functional analysis of the Arabidopsis PAL gene family in plant growth, development, and response to environmental stress. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 153, n. 4, p. 1526-1538, 2010.

SINHA, A.; GILL, P. P. S.; JAWANDHA, S. K.; KAUR, P.; GREWAL, S. K. Chitosan-enriched salicylic acid coatings preserve antioxidant properties and alleviates internal browning of pear fruit under cold storage and supermarket conditions. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 182, p. 111721, 2021.

SOJO, M. M.; NUÑEZ-DELICADO, E.; GARCÍA-CARMONA, F. Partial purification of a banana polyphenol oxidase using triton X-114 and PEG 8000 for removal of polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, p. 4924-4930, 1998.

SOUZA, K. O.; VIANA, R. M.; OLIVEIRA, L. de S.; MOURA, C. F. H.; MIRANDA, M. R. A. Preharvest treatment of growth regulators influences postharvest quality and storage life of cashew apples. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 209, p. 53-60, 2016. DOI: 10.1016/j.scienta.2016.06.006.

SOUZA, K. O. de; XAVIER, C. V.; LOPES, M. M. de A.; MOURA, C. F. H.; SILVA, E. O.; AYALA-ZAVALA, J. F.; MIRANDA, M. R. A. de. Preharvest treatment with 1-aminoethoxyvinylglycine and gibberellin on the quality and physiology of cashew peduncles. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 53, n. 6, p. 684-692, 2018. DOI: 10.1590/S0100-204X2018000600004.

SOUZA, K. O.; SILVEIRA, A. G.; LOPES, M. M.; MOURA, C. F.; SILVA, E. O.; AYALA-ZAVALA, J. F.; SOARES, L. S. P.; MIRANDA, M. R. A. AVG and GA3 prevent preharvest fruit drop and enhance postharvest quality of 'BRS 189' cashew. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 257, p. 108771, 2019.

SOGVAR, O. B.; RABIEI, V.; RAZAVI, F.; GOHARI, G. Phenylalanine alleviates postharvest chilling injury of plum fruit by modulating antioxidant system and enhancing the accumulation of phenolic compounds. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 58, n. 4, p. 433-444, 2020.

SRIVASTAVA, L. M. **Plant Growth and Development: Hormones and the Environment**. 1. ed. Oxford: Academic Press, 2002. 772 p.

SUCUPIRA, N. R.; DE SOUSA SABINO, L. B.; NETO, L. G.; GOUVEIA, S. T.; DE FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A.; DE SOUSA, P. H. M. Evaluation of cooking methods on the bioactive compounds of cashew apple fibre and its application in plant-based foods. **Heliyon**, London, v. 6, n. 11, p. e05346, 2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TANG, T.; XIE, X.; REN, X.; WANG, W.; TANG, X.; ZHANG, J.; WANG, Z. A difference of enzymatic browning unrelated to PPO from physiology, targeted metabolomics and gene expression analysis in Fuji apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 170, p. 111323, 2020.

TARKOWSKÁ, D.; NOVÁK, O.; FLOKOVÁ, K.; TARKOWSKI, P.; TUREČKOVÁ, V.; GRÚZ, J.; STRNAD, M. Quo vadis plant hormone analysis? **Planta**, Berlin, v. 240, p. 55-76, 2014.

THOMAS, A. H.; CATALÁ, A.; VIGNONI, M. Soybean phosphatidylcholine liposomes as model membranes to study lipid peroxidation photoinduced by pterin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, Amsterdam, v. 1858, n. 1, p. 139-145, 2016.

VILAR, M. S.; de SOUZA, G. L.; VILAR DDE, A.; LEITE, J. A.; RAFFIN, F. N.; BARBOSA-FILHO, J. M.; NOGUEIRA, F. H.; RODRIGUES-MASCARENHAS, S.; MOURA, T. F. Assessment of phenolic compounds and anti-inflammatory activity of ethyl acetate phase of *Anacardium occidentale* L. bark. **Molecules**, Basel, v. 21, p. 1087, 2016.

WAKABAYASHI, K.; CHUN, J. P.; HUBER, D. J. Extensive solubilization and depolymerization of cell wall polysaccharides during avocado (*Persea americana*) ripening involves concerted action of polygalacturonase and pectinmethylesterase. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 108, n. 4, p. 345-352, 2000.

WALKER, R. P.; FAMIANI, F. Organic acids in fruits: metabolism, functions and contents. **Horticultural Reviews**, Westport, v. 45, p. 371-430, 2018.

WHEELER, G.; ISHIKAWA, T.; PORNSAKSIT, V.; SMIRNOFF, N. Evolution of alternative biosynthetic pathways for vitamin C following plastid acquisition in photosynthetic eukaryotes. **Elife**, Cambridge, v. 4, p. e06369, 2015.

ZHANG, D.; XU, X.; ZHANG, Z.; JIANG, G.; FENG, L.; DUAN, X.; JIANG, Y. 6-Benzylaminopurine improves the quality of harvested litchi fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 143, p. 137-142, 2018.

ZHAO, L.; ZHANG, B.; HUANG, H.; HUANG, W.; ZHANG, Z.; WANG, Q. Metabolomic and transcriptomic analyses provide insights into metabolic networks during cashew fruit development and ripening. **Food Chemistry**, Barking, v. 404, p. 134765, 2023.

ZHENG, K.; MARTINEZ, M. D. P.; BOUZID, M.; BALPARDA, M.; SCHWARZLÄNDER, M.; MAURINO, V. G. Regulation of plant glycolysis and the tricarboxylic acid cycle by posttranslational modifications. **The Plant Journal**, Oxford, v. 122, n. 1, p. e70142, 2025.