



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/ FITOTECNIA

**APLICAÇÃO PRÉ-COLHEITA DE ÁCIDO GIBERÉLICO NO METABOLISMO
ANTIOXIDANTE EM PEDÚNCULOS DE CLONES DE CAJUEIRO-ANÃO**

CICERA VANUZA VIANA XAVIER

FORTALEZA-CE

2015

CICERA VANUZA VIANA XAVIER

**APLICAÇÃO PRÉ-COLHEITA DE ÁCIDO GIBERÉLICO NO METABOLISMO
ANTIOXIDANTE EM PEDUNCULOS DE CLONES DE CAJUEIRO-ANÃO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração Fitotecnia

Orientador: Prof^a Dr^a Maria Raquel Alcântara de Miranda

Co-orientador: Dr. Carlos Farley Herbster Moura

FORTALEZA-CE

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- X18a Xavier, Cicera Vanuza Viana.
 Aplicação pré-colheita de ácido giberélico no metabolismo antioxidante em pedúnculos de clones de cajueiro-anão / Cicera Vanuza Viana Xavier. – 2015.
 51 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, Fortaleza, 2015.
 Área de Concentração: Fitotecnia.
 Orientação: Profa. Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda.
 Coorientação: Dr. Carlos Farley Herbster Moura.
1. Antioxidantes. 2. Caju. 3. Enzimas. 4. Ácido giberélico. I. Título.

CICERA VANUZA VIANA XAVIER

**APLICAÇÃO PRÉ-COLHEITA DE ÁCIDO GIBERÉLICO NO METABOLISMO
ANTIOXIDANTE EM PEDUNCULOS DE CLONES DE CAJUEIRO-ANÃO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração Fitotecnia

Aprovada em ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Maria Raquel Alcântara de Miranda (orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Carlos Farley Herbster Moura (co-orientador)
Embrapa Agroindústria Tropical

Dr^a Luciana de Siqueira Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Márcio Cleber de Medeiros Corrêa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará pelo programa de Pós-Graduação e sua contribuição na minha formação.

A Embrapa Agroindústria Tropical, pelo apoio financeiro da pesquisa.

A CAPES, pela concessão de bolsa.

A minha orientadora, Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda, pela confiança, motivação, apoio, ensinamentos e atenção.

Ao meu co-orientador, Dr. Carlos Farley Herbster de Moura, pela ajuda no desenvolvimento desse trabalho, pelos conhecimentos repassados, disponibilidade, paciência e simpatia.

A todos os colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal e Bioquímica dos Frutos, pelo acolhimento, ótima convivência e pelos ensinamentos adquiridos com todos.

Aos colegas do Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa, em especial a analista Márcia Régia Souza da Silveira, por toda dedicação, ensinamento e amizade que levarei para toda a vida.

Aos demais, que de alguma forma contribuíram para a concretização deste estudo.

RESUMO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) destaca-se entre as espécies frutíferas nativas do Nordeste brasileiro tanto pelo enorme potencial como fruto de mesa, quanto no processamento industrial. O consumo *in natura* vem crescendo consideravelmente a cada safra devido ao elevado interesse da população na promoção da saúde, atrelada a alimentos ricos em antioxidantes. Dentre as práticas de manejo agrícola, o uso de reguladores de crescimento vegetal pode ser uma alternativa na promoção da melhoria da qualidade funcional dos pedúnculos de cajueiro. Esse estudo objetivou avaliar os efeitos da aplicação pré-colheita de GA₃, em diferentes doses (0, 60, 120 e 180 mg L⁻¹), sobre a qualidade pós-colheita de dois clones de cajueiro-anão (CCP 76 e BRS 189), especificamente, sobre o metabolismo de compostos bioativos e enzimas antioxidantes. Os pedúnculos, oriundos do Campus Experimental de Pacajus-CE pertencente a Embrapa Agroindústria Tropical, foram tratados com GA₃ dois dias antes do início da colheita no estágio maduro. As avaliações mostraram que a aplicação pré-colheita de GA₃ influenciou de forma significativa a atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) e da dismutase do superóxido (SOD) em ambos os clones, porém não afetou a atividade da catalase (CAT), tampouco o conteúdo de fenólicos e carotenoides, e a atividade antioxidante total. O GA₃ reduziu a atividade da enzima PAL no clone CCP 76, contudo promoveu um acréscimo na atividade de tal enzima no clone BRS 189. Nos pedúnculos desses clones de cajueiro-anão, a atividade antioxidante total foi correlacionada ao conteúdo de carotenoides. Os pedúnculos do clone BRS 189 de cajueiro-anão apresentou-se como melhor fonte de antioxidantes devido ao maior conteúdo de *trans*-cinamoil e da atividade da SOD.

Palavras-chave: Giberelina. Caju. Antioxidantes. Enzimas.

ABSTRACT

The cashew tree (*Anacardium occidentale* L.) stands out among the native fruit species in northeastern Brazil by both the enormous potential as table fruit, as in industrial processing. The Consumption in natura is growing considerably every season due to the high interest of the population in health promotion, linked to foods rich in antioxidant. Among the agricultural management practices, the use of plant growth regulators can be an alternative in promoting the improvement of the functional quality of cashew apples. This study aimed to evaluate the effects of GA₃ pre-harvest application in different doses (0, 60, 120 and 180 mg L⁻¹), on the postharvest quality of two clones of dwarf cashew (CCP 76 and BRS 189) specifically on the metabolism of bioactive compounds and antioxidant enzymes. The cashew apples, coming from Campus Pacajus-CE Experimental belonging to Embrapa were treated with GA₃ two days before harvest at mature stage. The evaluations showed that pre-harvest application of GA₃ significantly influenced the phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity and superoxide dismutase (SOD) in both clones, but it did not affect the activity of catalase (CAT), nor the content of phenolics and carotenoids, and total antioxidant activity. The GA₃ reduced the activity of PAL enzyme in CCP 76 clone, but promoted an increase in the activity of this enzyme in BRS 189 clone. These cashew clones, total antioxidant activity was correlated to the content of carotenoids. The BRS 189 clone cashew introduced himself as best source of antioxidants due to higher content of trans-cinnamoyl and SOD activity.

Keywords: Gibberellin. Cashew. Antioxidants. enzymes.

LISTA DE FIGURA

Figura	1	– Relação de peso do caju 9:1 (pedúnculo/castanha).....	13
Figura	2	– Pedúnculos de clones CCP 76 de cajueiro anão	15
Figura	3	– Pedúnculos de clones BRS 189 de cajueiro anão	16
Figura	4	– Estrutura de um grupo fenol.....	18
Figura	5	– Biossíntese de compostos fenólicos a partir da PAL.....	21
Figura	6	– Estruturas do ent-giberelano e ácido giberélico	23
Figura	7	– Estádio 1 (maturi) do pedúnculo do cajueiro anão.....	25
Figura	8	– Conteúdo de polifenóis extraíveis em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA ₃ . Pacajus-CE, 2012.....	32
Figura	9	– Conteúdo de ácido <i>trans</i> -cinâmico em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA ₃ . Pacajus-CE, 2012.....	33
Figura	10	– Conteúdo de ácido <i>trans</i> -cinamoil em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA ₃ . Pacajus-CE, 2012.....	34
Figura	11	– Atividade da fenilalanina amônia liase em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA ₃ . Pacajus-CE, 2012.....	36
Figura	12	– Conteúdo de carotenoides totais em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA ₃ . Pacajus-CE, 2012.....	37
Figura	13	– Atividade antioxidante total em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA ₃ . Pacajus-CE, 2012.....	38
Figura	14	– Atividade da dismutase do superóxido em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA ₃ . Pacajus-CE, 2012.....	40
Figura	15	– Atividade da catalase em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA ₃ . Pacajus-CE, 2012.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Correlação de Pearson entre os compostos bioativos e a atividade antioxidante total em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA ₃ . Pacajus-CE, 2012.....	39
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAT	Atividade Antioxidante Total
ABTS	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
ACC	Amêndoa de Castanha de Caju
AGE	Acido Gálico Equivalente
ANA	Ácido Naftaleno Acético
ANOVA	Análise de Variância
AT	Acidez Titulável
AVG	Aminoetoxivinilglicina
CAT	Catalase
CT	Carotenoides Totais
DAD	Detector de Arranjo de Diodos
DBC	Delineamento em Blocos Casualizados
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
GA₃	Ácido Giberélico
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LC	Cromatografia Líquida
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
PAL	Fenilalaniana Amônia Liase
PET	Polifenóis Extraíveis Totais
SOD	Dismutase do Superóxido
SS	Sólidos Solúveis
UA	Unidade de Atividade Enzimática

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	11
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1	Aspectos botânicos do cajueiro.....	12
2.2	Importância socioeconômica do cultivo do cajueiro.....	13
2.3	Melhoramento genético do cajueiro.....	14
2.3.1	<i>Clone CCP 76.....</i>	14
2.3.2	<i>Clone BRS 189.....</i>	15
2.4	Pós-colheita dos pedúnculos de cajueiro.....	16
2.5	Ácido giberélico na pré-colheita de frutos.....	22
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1	Localização do experimento.....	25
3.2	Condução do experimento.....	25
3.3	Avaliações.....	26
3.3.1	<i>Compostos bioativos e atividade antioxidante.....</i>	27
3.3.1.1	<i>Carotenoides totais.....</i>	27
3.3.1.2	<i>Polifenóis extraíveis totais (PET).....</i>	27
3.3.1.3	<i>Ácidos cinâmico e trans-cinamoil.....</i>	28
3.3.1.4	<i>Atividade antioxidante total por ABTS.....</i>	28
3.3.2	<i>Atividade das enzimas.....</i>	29
3.3.2.1	<i>Preparo do extrato para determinação das enzimas antioxidantes.....</i>	29
3.3.2.2	<i>Dismutase do superóxido (SOD, EC 1.15.1.1).....</i>	29
3.3.2.3	<i>Catalase (CAT, EC 1.11.1.6).....</i>	30
3.3.2.4	<i>Fenilalanina amônia liase (PAL, E.C.4.3.1.5).....</i>	30
3.3.3	<i>Análise estatística.....</i>	30
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1	Compostos fenólicos e atividade da PAL.....	32
4.2	Carotenoides totais (CT).....	36
4.3	Atividade antioxidante total (AAT).....	37
4.4	Atividade de enzimas antioxidantes.....	40
4.4.1	<i>Dismutase do superóxido (SOD).....</i>	40
4.4.2	<i>Catalase (CAT).....</i>	41
5.	CONCLUSÃO.....	43
	REFERÊNCIAS.....	44
	APÊNDICE A – MÉDIA DOS VALORES DE POLIFENÓIS EXTRAÍVEIS TOTAIS (PET), CAROTENOIDES TOTAIS (CT), ÁCIDO TRANS-CINÂMICO E TRANS-CINAMOIL DE PEDÚNCULOS DE CLONES DE CAJUEIRO ANÃO CCP 76 E BRS 189 COM DIFERENTES DOSES DE GA₃. PACAJUS-CE, 2012.....	47
	APÊNDICE B – MÉDIA DOS VALORES DA ATIVIDADE DA ENZIMA FENILALANINA AMONIA LIASE (PAL), ATIVIDADE	

ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT), DISMUTASE DO SUPERÓXIDO (SOD) E CATALASE (CAT) DE PEDÚNCULOS DE CLONES DE CAJUEIRO-ANÃO CCP 76 E BRS 189 COM DIFERENTES DOSES DE GA₃. PACAJUS-CE, 2012.....

48

1. INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) destaca-se dentre as espécies frutíferas nativas do Nordeste sendo cultivo de grande importância socioeconômica devido ao processamento industrial da castanha, além do enorme potencial para comercialização do pedúnculo ou caju. O pedúnculo é um pseudofruto consumido principalmente fresco ou processado em sucos ou doces, enquanto que, a castanha é o verdadeiro fruto. Em 2012, o Brasil era o principal país produtor com uma área de cultivo de 625.000 ha, totalizando aproximadamente 91% do total do mundo (FAO, 2012).

Segundo Morais *et al.* (2002), o consumo *in natura* do pedúnculo de cajueiro vem aumentando consideravelmente a cada safra devido a abertura de novos mercados. Como no desenvolvimento de outros frutos tropicais, no caju ocorrem transformações físicas, químicas e bioquímicas que influenciam em sua qualidade pós-colheita. Somado a isso, os fitohormônios ou reguladores de crescimento dos vegetais vêm sendo utilizados com o objetivo de melhorar a qualidade e/ou quantidade de produtos agrícolas, tais reguladores promovem, inibem ou modificam os processos morfológicos e fisiológicos das plantas (CASTRO; VIEIRA, 2001).

Apesar do uso dos reguladores vegetais na agricultura mostrarem um grande potencial para o aumento da produtividade, sua utilização ainda não é uma prática rotineira em culturas com baixo nível de tecnificação. Os reguladores vegetais mais utilizados na fruticultura são auxinas, giberelinas, citocininas e retardadores/inibidores do etileno. As giberelinas, como o ácido giberélico (GA₃) exercem diferentes papéis no metabolismo vegetal, estimulando a taxa fotossintética, e aumentando a produção de carboidratos necessários para o crescimento dos frutos (DUARTE FILHO *et al.*, 2004).

Nesse contexto, os reguladores de crescimento vegetal se apresentam como uma interessante ferramenta para a produção dos frutos, tal como o caju através da manutenção e alterações em qualidade. Entretanto é inexistente na literatura trabalhos que abordem o uso de reguladores de crescimento vegetal em pedúnculos de cajueiro, desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da aplicação pré-colheita de GA₃ sobre a qualidade pós-colheita dos pedúnculos de clones de cajueiro-anão (cajueiro-anão-precoce), especificamente, sobre o metabolismo de compostos bioativos e enzimas antioxidantes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos botânicos do cajueiro

O cajueiro pertence à família *Anacardiaceae*, que é composta por cerca de 70 gêneros e 700 espécies, distribuídas nas regiões tropical e subtropical do planeta (CARVALHO; GAIAD, 2012). No Brasil, ocorrem 15 gêneros e cerca de 70 espécies, entretanto são explorados comercialmente apenas os cajueiros conhecidos como cajueiro comum ou gigante e o cajueiro-anão (anão-precoce) pertencentes a espécie *Anacardium occidentale* L. (BARROS, 1995).

Segundo Crisóstomo *et al.* (2001), *Anacardium occidentale* L. é uma espécie originária do Brasil e está presente em todo o território nacional, predominantemente no Nordeste. No mundo, distribui-se em diferentes ecossistemas e sua maior incidência se dá em regiões de baixas latitudes próximas a linha do Equador, entre os paralelos 15° N e 15° S e em áreas costeiras, tipicamente tropicais da América do Sul, África e Ásia (FUNDAÇÃO BANCO DO BRASIL, 2010).

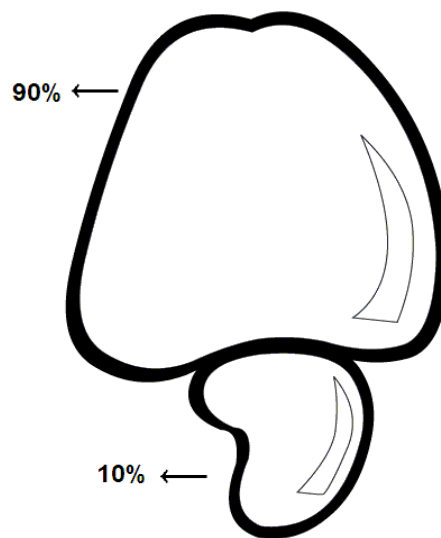
O cajueiro-anão é uma planta perene, de porte baixo, que atinge, em média, 5 m de altura e 8 m de diâmetro de copa. As folhas são simples, inteiras, ovais, alternadas, pecíolo curto, limbo coriáceo, glabras, brilhantes, quando novas podem ser verde-claras ou roxo-avermelhadas, quando maduras tornam-se verde-escuras. A inflorescência é uma panícula terminal, apresentando flores perfeitas ou completas (hermafroditas) e estaminadas (masculinas), razão pela qual o cajueiro é classificado como uma planta andromonóica (BARROS, 1988).

O fruto do cajueiro é um conjunto constituído pelo pedúnculo (pseudofruto) e a castanha (fruto verdadeiro). A castanha é um aquênio reniforme, composta pelo pericarpo e pela amêndoa (semente). O pedúnculo é carnoso e suculento, geralmente de alto valor nutritivo. Dependendo do genótipo, apresenta pedúnculo de coloração amarela, alaranjada ou avermelhada. O peso médio do pedúnculo varia entre 87 e 155 g e a relação entre o peso do pedúnculo e o da castanha é, em média, de 9:1 (FIGURA 1). Entretanto, os valores dessa relação variam entre os clones (SERRANO; OLIVEIRA, 2013).

Por sua origem tropical, o cajueiro adapta-se e produz bem em temperaturas variando de 22 a 40 °C, entretanto, IBRAF (2005) indica 27 °C como temperatura média ideal para seu desenvolvimento e frutificação. Aguiar e Costa (2002) relataram como precipitação

pluvial anual média entre 800 e 1500 mm, a mais adequada para a exploração do cajueiro, sendo essa distribuída entre cinco a sete meses no ano, com um período seco de cinco a seis meses, no qual ocorrem as fases de floração e frutificação.

Figura 1 – Relação de peso do caju 9:1 (pedúnculo/ castanha)



Fonte: Elaborado pelo autor

Serrano e Oliveira (2013) citam, de modo geral, os solos mais adequados para o cultivo de cajueiro são solos de textura leve, profundos, bem drenados, moderadamente ácidos e com níveis satisfatórios de nutrientes.

2.2. Importância socioeconômica do cultivo do cajueiro

A atividade econômica da cajucultura é atribuída principalmente à cadeia produtiva da amêndoa da castanha-de-caju (ACC), cujo principal objetivo é a exploração da amêndoa, que tem dado sustentação econômica e social ao agronegócio brasileiro. A cajucultura tem alcançado notoriedade na fruticultura brasileira, com destaque para o Nordeste, que representa uma atividade econômica de grande expressão nessa região, principalmente nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí, que juntos foram responsáveis por 84,64% da produção brasileira de castanha de caju, em 2014 (IBGE, 2015).

No tocante a produção mundial de castanha de caju, o Brasil ocupa a 3ª posição no *ranking* estando o Vietnã e Índia nas primeiras posições (FAO, 2015).

Por sua vez, o pedúnculo também tem importância, pois a partir do pseudofruto são obtidos diversos alimentos. O mercado de polpas, cajuína, sucos integral, refrigerantes gaseificados, doces, aguardente, licores dentre outros, vêm crescendo paulatinamente. O consumo *in natura* do caju é outro setor que tem avançado no Brasil. Entretanto, o aproveitamento do pedúnculo para esse tipo de consumo está restrito a poucos produtores, visto que é indispensável à utilização de técnicas adequadas de pós-colheita para seu maior aproveitamento (PAULA-PESSOA; LEITE, 2013).

Em termos de geração de emprego no campo, considerando-se que o cultivo do cajueiro necessita de 22 homens/dia/hectare/ano e que o ano tem 264 dias úteis, em 755 mil hectares de área colhida são gerados, aproximadamente, 63.000 empregos diretos (PAULA-PESSOA; LEITE, 2013). Além disso, para aqueles autores, os empregos no campo são gerados na entressafra das culturas tradicionais, tais como feijão, milho e algodão, preenchendo uma importante lacuna, reduzindo a oscilação da renda.

2.3. Melhoramento genético do cajueiro

Segundo Paiva *et al.* (1997), no Brasil, os programas de melhoramento genético do cajueiro estão associados a descoberta do cajueiro como opção econômica. As primeiras ações de melhoramento com bases científicas, passaram a ser adotadas apenas na década de 1950, com plantas oriundas de plantações naturais existentes na região litorânea do Nordeste. Tais pesquisas resultaram no lançamento comercial dos primeiros clones CCP 06, CCP 76, CCP 09, CCP 1001, Embrapa 50, Embrapa 51, BRS 275, BRS 189 e BRS 253, o que possibilitou a ascensão da cajucultura com bases tecnológicas atreladas à definição de um sistema de alto potencial produtivo e características agrônomicas superiores (VIDAL-NETO *et al.*, 2013).

2.3.1 Clone CCP 76

O clone CCP 76 foi obtido por seleção individual fenotípica a partir do lote de plantas de cajueiro-anão coletados em Maranguape, CE, e avaliados por 15 anos. Este clone foi lançado para o plantio comercial em 1983. A planta possui porte baixo, alcançando média

de 2,70 m e diâmetro de copa de 5,00 m, no sexto ano de idade. Inicia o florescimento entre 6 a 24 meses após o plantio e a produção comercial ocorre no segundo ano, em plantios irrigados. O pedúnculo tem cor alaranjada (FIGURA 2), peso médio de 100 g, castanha com peso médio entre 8,0 e 9,0 g, e a amêndoa em torno de 1,8 g, de modo que a relação amêndoa/castanha é de 26,9%. Esse clone é recomendado tanto para o plantio de sequeiro como o plantio irrigado, com aproveitamento de amêndoas ou do pedúnculo para o mercado de mesa. Atualmente, é um dos clones mais plantados, devido à adaptabilidade a diferentes ambientes e atrativos de qualidades do pedúnculo, tais como alto teor de sólidos solúveis e baixo teor de taninos (PAIVA; BARROS, 2004; VIDAL-NETO *et al.*, 2013).

Figura 2 – Pedúnculos de clones CCP 76 de cajueiro-anão.



Foto: João Rodrigues de Paiva

2.3.2 Clone BRS 189

O clone BRS 189 é um híbrido obtido no ano 2000, em Pacajus, CE, cujos genitores são os genótipos CCP 1001 e CCP 76. A planta possui porte baixo, com altura média de 3,6 m e diâmetro médio de copa de 5,9 m, ao sexto ano de idade. É recomendado para o plantio irrigado, embora o clone possa ser cultivado em regime de sequeiro (PAIVA; BARROS, 2004).

De acordo com Vidal-Neto *et al.* (2013), o pedúnculo possui características satisfatórias ao mercado de mesa devido a seus atributos de qualidade (FIGURA 3) como cor vermelha com peso médio em torno 155 g e teor de sólidos solúveis superior a todos os clones comerciais existentes.

Figura 3 – Pedúnculos de clone BRS 189 de cajueiro-anão.



Foto: João Rodrigues de Paiva

2.4. Pós-colheita dos pedúnculos de cajueiro

A qualidade de um fruto está relacionada ao conjunto de propriedades e atributos intrínsecos de cada produto como: aparência, firmeza, aroma e sabor; além de valor nutritivo e multifuncional decorrente dos componentes químicos, propriedades mecânicas, bem como a ausência ou presença de defeito do produto (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Ainda segundo os mesmos autores, tais atributos dependem do mercado de destino do fruto, seja para armazenamento, consumo *in natura* ou mesmo processamento.

De acordo com Abreu (2007), para o pedúnculo do cajueiro destinado ao consumo *in natura*, a qualidade relaciona-se, principalmente, aos seguintes aspectos: conteúdo de açúcar na polpa, adstringência, coloração externa, formato e firmeza, sendo este último importante para a determinação de um maior período de conservação do produto. Já para a

industrialização, a qualidade do pedúnculo relaciona-se, principalmente, aos aspectos sensoriais (cor, sabor e aroma), à firmeza e ao valor nutricional.

Atualmente, para o consumidor, a qualidade também está atrelada aos benefícios que o fruto pode proporcionar a sua saúde. Segundo Moura *et al.* (2013), nos últimos anos, tem se buscado um maior consumo de frutos como fonte de compostos antioxidantes. Estudos epidemiológicos demonstraram que a alta ingestão de frutos está associada à prevenção de doenças neurocerebrais, a redução da mortalidade por doenças cardiovasculares, e a algumas formas de câncer e tais diminuições são justificadas pela atividade antioxidante presentes nesses produtos (BOUAYED, 2010; BOYER; LIU, 2004; LANDETE, 2012; COSTA *et al.*, 2013; CHRISTENSEN *et al.*, 2015).

O potencial antioxidante de frutos e outros vegetais decorrem de sua capacidade de estabilizar ou desativar os radicais livres reduzindo os níveis de estresse oxidativo das células. As espécies reativas de oxigênio (EROs) são formados por todos os organismos aeróbios no processo de respiração mitocondrial. O seu acúmulo pode ocorrer em concentrações fisiológicas necessárias para a função celular normal, ou em quantidades excessivas em um estado de desequilíbrio chamado de estresse oxidativo (NORDBERG; ARNER, 2001). Nessas condições excessivas, esses intermediários de oxigênio ameaçam a integridade de várias biomoléculas com conseqüente perdas de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo contra células e tecidos (BARBOSA *et al.*, 2010).

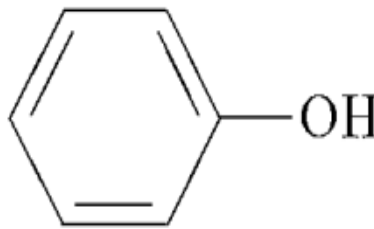
A produção contínua de EROs durante os processos metabólicos resultou no desenvolvimento de mecanismos antioxidante de defesa. Estes mecanismos de proteção incluem a eliminação ou desintoxicação de tais espécies reativas ou o bloqueio da sua produção através, por exemplo, do sequestro de metais de transição, controlando os níveis intracelulares e limitando a ocorrência de danos (HAN *et al.*, 2007). Segundo Alves *et al* (2010), os mecanismos de defesa antioxidante incluem os sistemas enzimáticos, como as enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), e não enzimáticos, como os compostos fenólicos e os carotenoides.

Os frutos de clima tropical como o caju se sobressaem quanto à qualidade e quantidade de antioxidantes em razão de sua forte exposição à radiação solar (HANAMURA *et al.*, 2005). Os pedúnculos de cajueiro apresentam diversos compostos antioxidantes como

vitamina C, carotenoides e fenólicos. Este último, de acordo com Lopes *et al.* (2012), é um dos principais responsáveis por sua atividade antioxidante no caju.

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, mais de 10.000 compostos fenólicos já foram detectados em plantas. Tais substâncias são metabolitos secundários produzidos pelas plantas e são comumente encontrados em alimentos como frutos. Estes compostos podem apresentar diversas estruturas, desde moléculas simples até estruturas poliméricas, contém um grupo fenol, ou seja, um grupo hidroxila funcional em um anel aromático (FIGURA 4). Os compostos fenólicos possuem funções de defesa contra a radiação ultravioleta, agressão por patogênicos ou ataque de pragas, nas plantas que os sintetizam. Muitos destes compostos são também responsáveis pela cor atraente de folhas, frutos e flores (MANACH *et al.*,2004; PALAFOX-CARLOS *et al.*,2011; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Figura 4 – Estrutura de um grupo fenol (adaptada)



Fonte: Taiz e Zeiger (2013)

Essa classe de compostos apresenta uma grande diversidade em função do número de anéis fenólicos que eles contêm e dos elementos estruturais que ligam esses anéis uns aos outros, dos quais os divide em flavonoides (polifenóis) e não-flavonoides (fenóis simples ou ácidos). Em relação aos ácidos fenólicos, estes constituem em dois grupos, os derivados do ácido hidroxibezóico e os derivados do ácido hidroxicinâmicos. Tais ácidos encontram-se amplamente distribuídos no reino vegetal, sobretudo na forma de ésteres de ácidos orgânicos ou de glicosídeos, e raramente como ácidos livres, fazendo parte de um sistema antioxidante endógeno (CHEN; HO, 1997; SÁ, 2012).

Os polifenóis têm sido alvo de muita atenção devido a sua capacidade antioxidante e a suas possíveis implicações benéficas à saúde, obtidos na dieta pelo consumo

de frutas e hortaliças, entretanto, apresentam variações qualitativas e quantitativas decorrentes de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação, fitohormônios) extrínsecos (condições climáticas e edáficas) (MANACH *et al.*, 2004; REYNERSTON *et al.*, 2008).

Lopes *et al.* (2012), estudando a qualidade funcional de clones pedúnculos de cajueiro-anão em diferentes estádios de maturação, verificaram que os conteúdos de polifenóis extraíveis totais (PET) diminuiriam com a maturação, e para o clone CCP 76 no estágio maduro variou entre 64,01 a 74,32 mg.100 g⁻¹ de polpa enquanto que o clone BRS 189 os valores de PET oscilaram entre 54,85 a 62,69 mg.100 g⁻¹ de polpa.

Michoudjehoun-Mestres *et al.* (2009) estudando a composição de ácidos fenólicos em pedúnculos de cajueiro, identificaram ácido gálico, p-cumárico e ácido elágico, além do 1-O-*trans*-cinamoil-β-D-glucopiranosídeo. Segundo os mesmos autores, o conteúdo de 1-O-*trans*-cinamoil-β-D-glucopiranosídeo é mais evidente em pedúnculos de cajueiro em estágio maduro, sendo inexistente no estágio verde, e este composto exerce importante função na síntese de compostos voláteis.

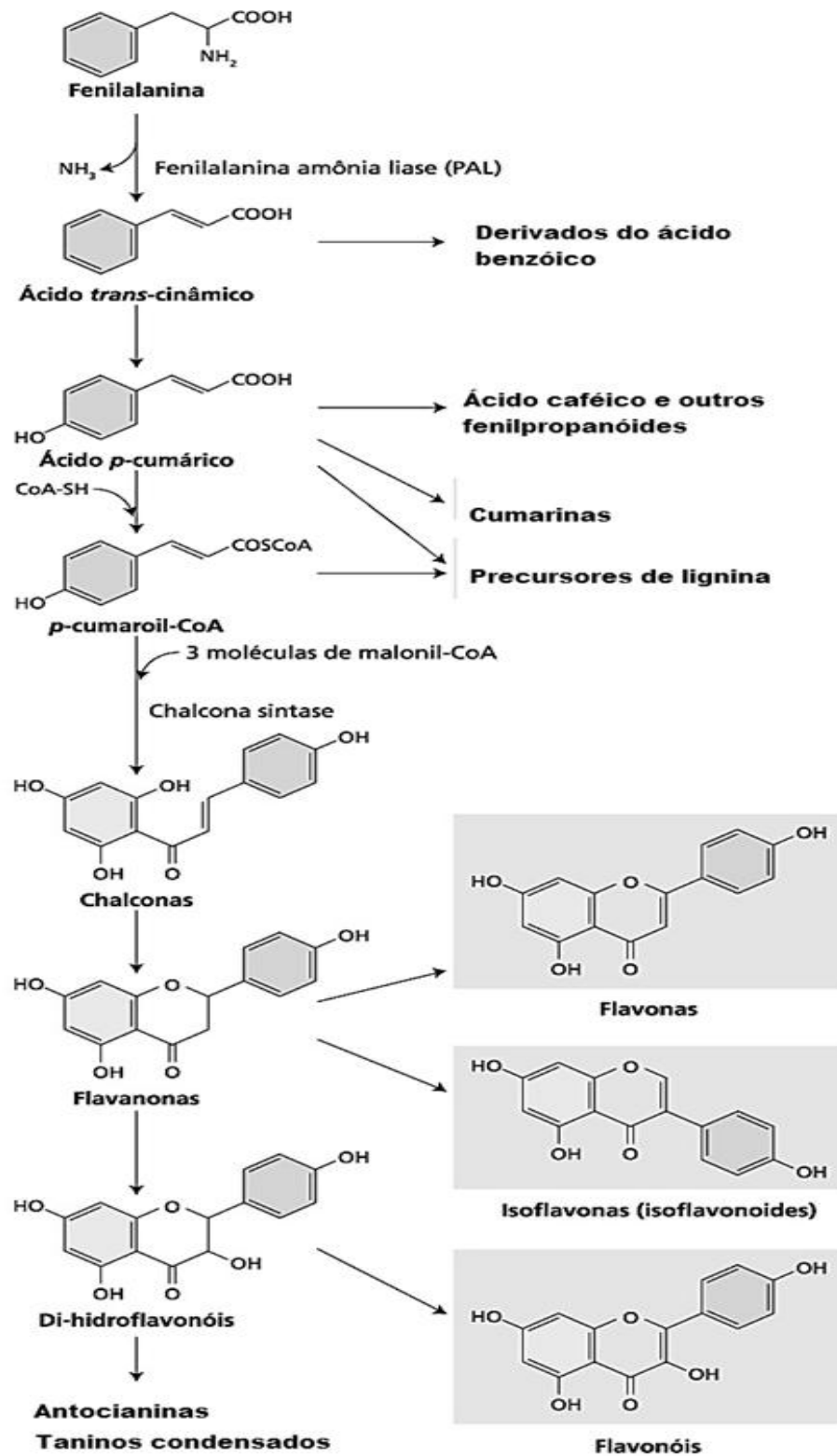
Os compostos fenólicos são biossintetizados por diferentes rotas, nos vegetais, a rota do ácido chiquímico participa da maioria de seus fenólicos, convertendo precursores de carboidratos derivados da glicólise e da rota da pentose-fosfato. Os polifenóis em plantas são derivados principalmente da fenilalanina amônia liase (do inglês PAL, EC 4.3.15) uma enzima-chave que desempenha função crucial de ligação entre o metabolismo primário e secundário dos vegetais. Esta enzima cataliza a produção de ácido *trans*-cinâmico um precursor dos fenilpropanóides a partir da desaminação da L-fenilalanina (FIGURA 5). A sua atividade é influenciada por condições de estresses bióticos ou abióticos nos tecidos vegetais (LIU; JIANG, 2006; GOU; WANG, 2010; CUNHA, 2015; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os carotenoides são compostos notáveis por possuírem ampla distribuição na natureza, estruturas químicas diversas e funções variadas. Embora sejam micronutrientes, presentes em níveis muito baixos (microgramas por grama), os carotenoides estão entre os constituintes alimentícios mais importantes por desempenharem função antioxidante. Formam um grupo de pigmentos naturais, responsáveis pela cor vermelha, amarela e laranja de frutos e outros vegetais, tal que, o conteúdo de carotenoides é associado à intensidade da sua cor (KULL; PFANDER, 1995; CHITARRA; ALVES, 2008).

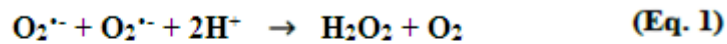
Aproximadamente 650 carotenoides naturais foram isolados e caracterizados, sendo o β-caroteno, α-caroteno, β-criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina os mais

estudados por atuarem como antioxidantes no sistema biológico, e pelos efeitos promotores da saúde humana, atribuídos a imunomodulação e redução do risco de contrair doenças crônicas degenerativas e doenças cardiovasculares (RODRIGUES-AMAYA, 2008). Rufino *et al.* (2010) estudando 18 frutos não tradicionais, verificaram uma variação de 0,3 a 4,7 mg.100 g⁻¹ de polpa para o conteúdo de carotenoides totais, classificando-os em frutos com baixo e alto potencial antioxidante, respectivamente.

Figura 5 – Biossíntese de compostos fenólicos a partir da PAL



De acordo com Santos *et al.* (2015), as enzimas antioxidantes em conjunto com antioxidantes não enzimáticos são responsáveis pela conservação pós-colheita dos frutos combatendo as EROs e reduzindo o estresse oxidativo. A dismutase do superóxido (SOD, EC 1.15.1.1) é uma metaloenzima antioxidante que catalisa a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2) (EQUAÇÃO 1). A SOD pertence a uma família de enzimas com diferentes grupos protéticos em sua composição de modo que a forma SOD-Cu/Zn está presente no citosol, enquanto que a SOD-Mn está na mitocôndria. Já a catalase (CAT, EC 1.11.1.6) realiza a dismutação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular (POLLE, 2001; NORDBERG; ARNER, 2001), como mostrado na equação 2.



2.5. Ácido giberélico na pré-colheita de frutos

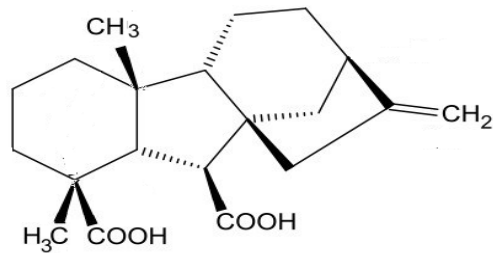
Os reguladores vegetais ou fitoreguladores são compostos que promovem, inibem, ou modificam processos fisiológicos da planta. A aplicação exógena de fitoreguladores na pré-colheita de frutos vem sendo utilizada para induzir uma gama de respostas como a manipulação de frutificação, o tamanho do fruto, o formato do fruto e a época de maturação (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

As giberelinas (GAs) constituem o grupo de reguladores vegetais mais utilizados na fruticultura e, segundo MacMillan (2002), pelo menos 136 GAs foram identificadas e compartilham uma estrutura química semelhante chamada *ent*-giberelano (FIGURA 6). Dentre estas, o ácido giberélico (GA_3) (FIGURA 6) exerce diferentes papéis no metabolismo vegetal, como estímulo da taxa fotossintética e aumento da produção de carboidratos necessários para o crescimento dos frutos (DUARTE-FILHO *et al.*, 2004).

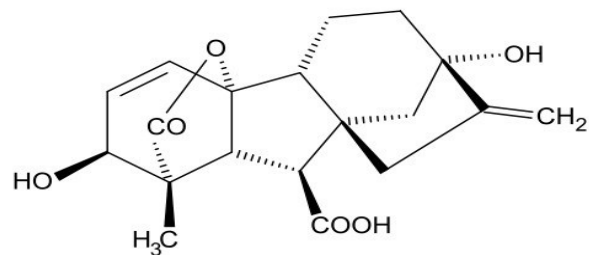
Zhang e Whinting (2013), estudaram a influência de citocinina, GA_3 e furidone na pré-colheita de cereja (*Prunus avium L.*) observaram que os principais atributos de qualidade, tais como: peso, cor do exocarpo, teor de sólidos solúveis e firmeza, foram afetados, por estes

reguladores vegetais combinados ou sozinhos, e verificaram que o GA₃ promoveu aumento no tamanho, na firmeza e no teor de sólidos solúveis em 15, 24 e 6%, respectivamente, quando comparados ao controle, indicando o papel desse fitohormônio na promoção à qualidade dos frutos em questão.

Figura 6 – Estruturas do ent-giberelano e ácido giberélico



ent-giberelano



Ácido Giberélico (GA₃)

Fonte: Imagem adaptada de Taiz e Zeiger (2009).

Pereira *et al.* (2014) verificaram que a aplicação pré-colheita em flores de atemoia ‘Gefner’ de ácido giberélico associada a auxina ácido naftaleno acético (ANA) proporcionou uma elevada frutificação, semelhante à polinização artificial, além de frutos com boas proporções de polpa, excelente conteúdo de sólidos solúveis e sem sementes, que é uma característica de qualidade desejável pelo mercado consumidor desse fruto.

Erogul e Sem (2015) investigaram os efeitos de GA₃ aplicado na pré-colheita de ameixa japonesa (*Prunus salicina* Lindl.) aos 12 e 14 dias após a antese e observaram aumento no diâmetro de 10,6%, no peso de 27,75%, na firmeza de 30,62% e nos sólidos solúveis totais de 17,48%, quando comparados aos frutos controle.

Mohamed *et al.* (2014) aplicaram 50 e 100 mg.L⁻¹ de GA₃ na pré-colheita de tâmaras ‘Barhee’ e observaram um aumento de 18% da atividade antioxidante total, em relação aos frutos não tratados.

Pontes-Filho (2014) em uma continuação ao trabalho aqui proposto, com aplicação pré-colheita de Ga₃ em diferentes doses (0; 40, 60; 80; 120 e 180 mg L⁻¹) em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189, verificou melhoria dos atributos de qualidade, como peso (153, 96 g), firmeza (18,04 N) e SS/AT (66, 87), além de um retardo no tempo de maturação dos pedúnculos de aproximadamente 8% em relação ao controle.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização do experimento

O estudo foi desenvolvido no Campus Experimental de Pacajus, pertencente a Embrapa Agroindústria Tropical, localizado a 50 km de Fortaleza-CE. Essa é uma região de transição entre o litoral e o semiárido, com latitude de 4°11'26,62" S, longitude de 38°29'50,78" W com altitude de 60 m acima do nível do mar.

3.2. Condução do experimento

Foram utilizados dois pomares de cajueiro-anão. O primeiro pomar com área correspondente a 0,75 hectares foi plantado em 1995 com mudas do clones CCP 76 e espaçamento de 4 x 7 m. O segundo pomar com o clone BRS 189, passou por práticas de manejo de substituição de copa em 2011, possui área total de 1,2 ha e as plantas encontram-se espaçadas em 5 x 8 m. O delineamento experimental usado foi em blocos ao acaso com três repetições. Os tratamentos consistiam na aplicação em pré-colheita de quatro dosagens de ácido giberélico (GA_3) em pedúnculos de cajueiro-anão em estágio 1 (maturi com pedúnculo e castanha verde) (FIGURA 7).

Figura 7 – Estádio 1 (maturi) do pedúnculo do cajueiro-anão



Foto: Frederico Silva Thé Pontes Filho

Foram marcados 30 cajus, 15 unidades por planta, totalizando duas plantas por parcela para cada um dos clones. Do total de 30 frutos, por tratamento, foram utilizados 25 frutos, devido às perdas (doenças, queda, pragas e etc.). Como fonte do ácido giberélico (GA₃) fez-se uso do Pro Gibb®, com 10% do ingrediente ativo, combinado com espalhante adesivo Tween 80 (monooleato de polioxietileno sorbitana), na concentração de 0,05% v/v. As concentrações utilizadas foram 0 (controle), 60, 120 e 180 mg L⁻¹. Correspondentes aos seguintes tratamentos:

- Tratamento 1: pulverização com 0 mg.L⁻¹ de GA₃ (Pulverização com água);
- Tratamento 2: pulverização com 60 mg L⁻¹ de GA₃;
- Tratamento 3: Pulverização com 120 mg L⁻¹ de GA₃;
- Tratamento 4: Pulverização com 180 mg L⁻¹ de GA₃.

A aplicação do produto foi realizada em toda a copa da planta, em quantidade suficiente de solução para escorrer abundantemente sobre toda a planta, utilizando-se um pulverizador costal com capacidade de 20 litros.

As aplicações de GA₃ ocorreram nos dias 09 de outubro de 2012, no clone BRS 189 e 06 de novembro de 2012, no clone CCP 76. A colheita foi realizada manualmente, a partir do segundo dia após a pulverização no estádio de maturação comercial e, se estenderam até nove dias para o BRS 189 e treze dias para o CCP 76. Os frutos foram acondicionados em caixas de colheita forradas com espuma de poliestireno e transportados para o laboratório de Pós-colheita da Embrapa Agroindústria Tropical em Fortaleza-CE

3.3. Avaliações

No laboratório de Pós-Colheita, os pedúnculos foram processados utilizando centrífuga doméstica (Walita®) e a polpa analisada quanto aos conteúdos de compostos antioxidante, atividade antioxidante total e ácidos fenólicos, sendo estas análises realizadas na Embrapa Agroindústria Tropical, bem como quanto às atividades das enzimas antioxidantes e fenilalanina amônia liase realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Frutos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, também em Fortaleza-CE.

3.3.1 Compostos bioativos e atividade antioxidante

3.3.1.1 Carotenoides totais

Os carotenoides foram determinados pelo método de Higby (1962). Para a extração, foram colocados 5 g da polpa mais 30 mL de álcool isopropílico e 10 mL de hexano em um Erlenmeyer de 250 mL, e em seguida foram agitados por 1 min. Após a agitação, o conteúdo foi transferido para um funil de separação de 125 mL envolvido com alumínio, completando-se o conteúdo com água e deixando-se descansar por 30 min, fazendo-se a lavagem logo em seguida. Após três descansos de 30 min, o conteúdo foi filtrado através de algodão pulverizado com sulfato de sódio anidro P.A., para um balão volumétrico de 50 mL envolto em alumínio, completando-se o volume com 5 mL de acetona e o restante com hexano. As leituras de absorvância foram feitas a 450 nm e os resultados foram calculados através da fórmula: $(A \times 100)/(250 \times L \times W)$, onde A = absorvância, L = comprimento da célula em cm e W = quantidade da amostra original no volume final da diluição e expressos em mg $100.g^{-1}$ de polpa.

3.3.1.2 Polifenóis extraíveis totais (PET)

O extrato utilizado para determinar o conteúdo de polifenóis extraíveis totais (PET) e a atividade antioxidante total (item 3.4.1.4) foi obtido conforme metodologia de Larrauri, Ruperez e Saura-Calixto (1997). Amostras (2 g) de polpa foram suspensas em 4,0 mL de metanol 50%, homogeneizadas e deixadas em repouso por 1 h, à temperatura ambiente. Posteriormente, o material foi centrifugado a 15.000 g, por 15 min, a 20 °C e o sobrenadante recolhido. O precipitado dessa extração foi ressuspensão em 4,0 mL de acetona 70%, homogeneizado, deixado em repouso por 1 h em ambiente e então, centrifugado a 15.000 g por 15 min, a 20 °C. O sobrenadante foi recolhido, colocado em balão volumétrico junto ao primeiro e o volume aferido para 10 mL com água destilada, sendo considerado o extrato para as análises de polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante total.

O conteúdo de polifenóis extraíveis totais (PET) foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (OBANDA; OWUOR, 1997) adaptado por Rufino *et al.* (2006). As leituras das absorvâncias foram realizadas a 700 nm e o conteúdo foi calculado com base em uma curva padrão de doses crescentes de ácido gálico 98% (0 – 50 µg) e os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (AGE) $100.g^{-1}$ de polpa.

3.3.1.3 Ácido cinâmico e *trans*-cinamoil

O conteúdo de ácido cinâmico e *trans*-cinamoil foi determinado segundo Brito *et al.* (2007), 5 g de polpa de caju foram centrifugadas a 5.000 g por 10 min, o sobrenadante foi filtrado em filtro Syringe PTFE com diâmetro de 13 mm e poro 0,22 μm , seguido de análise por LC-DAD-ESI/MS. A cromatografia líquida consiste em um equipamento de HPLC 250 (Varian, CA) acoplado com detector de arranjo de diodos (DAD) e um espectrômetro de massas 500-MS IT (Varian, CA). As amostras foram percoladas através de uma coluna C18 (Varian Inc., Lake Forest, CA - 5 μm , 250 x 2 mm) a temperatura constante de 30 °C. A fase móvel consistiu da combinação de reagente A (0,1% de ácido fórmico em água) e B (0,1% de ácido fórmico em acetonitrila). O gradiente foi variado linearmente a partir de 10% a 26% B (v/v) em 40 min, para 65% B a 70 min, e finalmente para 100% B a 71 min e mantido a 100% B até 75 min. O fluxo de solvente foi de 400 $\mu\text{L}/\text{min}$, o volume de injeção de 20 μL e uma absorvância mensurada em 245 nm. Os picos de ácido cinâmico e 1-O-*trans*-cinamoil- β -D-glicopiranosídeo foram identificados baseado no tempo de retenção do padrão de ácido *trans*-cinâmico (Sigma, EUA) que foi quantificado, segundo uma curva de calibração com uma solução padrão.

3.3.1.4 Atividade antioxidante total por ABTS^{•+}

A atividade antioxidante total (AAT) foi determinada pelo método ABTS conforme metodologia desenvolvida por Re *et al.* (1999) adaptada por Rufino *et al.* (2006). A técnica envolve a produção direta do radical cromóforo ABTS^{•+} através da reação de oxidação entre a solução de 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS^{•+}) 7 mM com a solução de persulfato de potássio 140 mM mantida no escuro à temperatura ambiente por 12 h. A solução de ABTS^{•+} foi diluída em etanol absoluto para uma absorvância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm, sendo a leitura espectrofotométrica realizada após 6 min, a partir da mistura do radical com o extrato, em um comprimento de onda de 734 nm. Utilizou-se uma alíquota de 30 μL de amostra e 3 mL de radical ABTS^{•+} e uma curva foi gerada a partir dos valores das absorvâncias e das concentrações das amostras. Os valores da AAT foram obtidos substituindo-se o valor de y na equação da reta pela absorvância equivalente a 1.000 μM Trolox, sendo os resultados expressos em μM trolox. g^{-1} polpa.

A partir de uma solução inicial de 10 mL de Trolox 2.000 μM (S1), utilizando diluições sucessivas, onde essas soluções foram preparadas variando de 100 a 1.500 μM (S2 a S5). Retirou-se 7,5 mL da S1 e completou-se com álcool etílico 95% para 10 mL em balão volumétrico (S2), e assim sucessivamente até a obtenção da S5, ou seja, 0,5 mL da S4 para 10 mL de álcool etílico. Em ambiente escuro, foram transferidos 30 μL das soluções preparadas de Trolox de 100 μM a 2.000 μM para os tubos de ensaio, misturando com 3,0 mL da solução do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, sendo em seguida os tubos agitados. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 734 nm, tendo sido realizadas 6 min após a adição do radical. O espectrofotômetro foi calibrado com álcool etílico 95%, sendo obtidas as absorvâncias correspondentes a cada concentração. Os valores de absorvância obtidos na leitura foram plotados com as concentrações correspondentes em uma curva, onde o eixo Y (absorvância) e o X (concentração de Trolox em μM), sendo calculada a equação da reta. A partir da equação da reta foi calculada a absorvância referente a 1.000 μM Trolox, onde $y = ax + b$, sendo $x = 1.000 \mu\text{M}$ Trolox e $y = \text{absorvância correspondente a } 1.000 \mu\text{M Trolox}$.

3.3.2 Atividade das enzimas

3.3.2.1 Preparo do extrato para determinação da atividade das enzimas antioxidantes

Os extratos enzimáticos foram obtidos segundo metodologia descrita por Yang *et al.*, (2009) a partir do uso de 2 g de material fresco que foram resuspenso em 5 mL de tampão fosfato monobásico de potássio 100 mM com EDTA 0,1 mM pH 7,0 em banho de gelo. Essa suspensão foi centrifugada a 12.000 g por 15 min a 4 °C. o sobrenadante foi coletado e utilizado como extrato enzimático, sendo posteriormente armazenados a -18 °C até o momento das análises.

3.3.2.2 Dismutase do superóxido (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da enzima SOD foi determinada segundo Giannopolitis e Ries (1977) baseada na fotorredução do azul de nitrotetrazolio (NBT) pela luz na presença de riboflavina e metionina. Alíquota de 0,05 mL do extrato enzimático foi diluída em 1,0 mL do tampão fosfato de potássio a 50 mM, (pH 7,8) contendo EDTA 0,1 mM e metionina 19,5 mM. Na ausência de luz, foram adicionados 0,15 mL de NBT 750 mM e 0,3 mL de riboflavina 10 mM. A mistura de reação foi exposta à luz sob uma lâmpada fluorescente de 20 W por 15 min e a absorvância monitorada a 560 nm. Os resultados foram expressos em $\text{UA} \cdot \text{mg}^{-1}$,

considerando que uma unidade de atividade enzimática (UA) é definida como a quantidade da enzima da SOD necessária para promover 50% de inibição da taxa de fotorredução do NBT (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).

3.3.2.3 Catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A atividade da enzima CAT foi determinada conforme método descrito por Beers-Jr e Sizer (1952), com base na redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Em banho-Maria a 30 °C, o tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0) contendo EDTA 0,1 mM foi aquecido durante 5 min e após, foram adicionados 0,06 mL de H_2O_2 0,5 M e 0,03 mL do extrato enzimático, iniciando a reação. A atividade da CAT foi monitorada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm durante 15 min e quantificada utilizando o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 ($36 M^{-1}.cm^{-1}$). Os resultados foram expressos em $\mu mol H_2O_2.mg^{-1}.min^{-1}$.

3.3.2.4 Fenilalanina amônia liase (PAL, E.C.4.3.1.5)

O extrato enzimático e a atividade da PAL foram determinadas pelos métodos descritos originalmente por Mori, Sakurai e Sacura (2001) e El-Shora (2002). As enzimas foram extraídas a partir de 1 g de polpa de caju homogeneizadas em 4 mL de tampão Tris-HCl 100 mM pH 8,4, seguido de centrifugação a 10.000 g por 10 min a 4 °C, sendo o sobrenadante considerado o extrato enzimático.

A mistura reacional foi composta por 20 μL de β -mercaptoetanol 50 mM, 100 μL do extrato, 580 μL do tampão Tris-HCl 100 mM pH 8,4 e 200 μL de L-fenilalanina 40 mM. A reação foi incubada a 30 °C por 60 min, e após esse período, sendo interrompida com 100 μL de HCl 6 M. Para cada amostra foi feito uma solução controle na qual a solução de L-fenilalanina foi adicionada somente após a interrupção da reação. Então, as amostras foram centrifugadas a 10.000 g por 10 min a temperatura ambiente. A absorvância a 290 nm foi monitorada e a atividade da PAL foi medida em triplicata e calculada com base em uma curva padrão tendo como referência o ácido trans-cinâmico. Os resultados foram expressos em μmol de ácido trans-cinâmico. g^{-1} .

3.3.3 Análise estatística

O experimento foi conduzido em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC) em ensaio fatorial 2x4 (clones x doses de GA_3). A área experimental foi subdividida em três

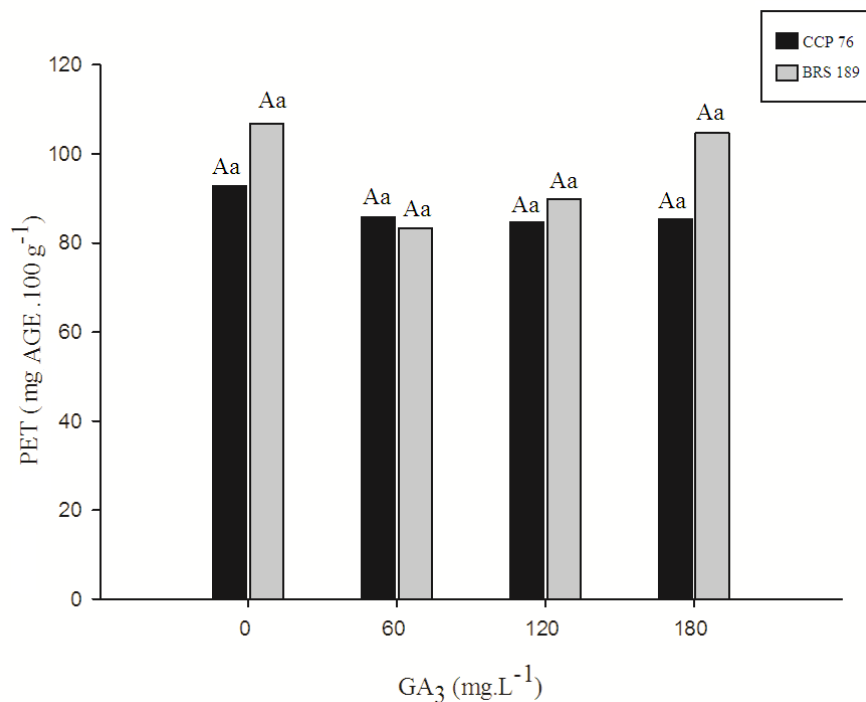
blocos. As repetições foram constituídas pelo número de blocos. Cada tratamento foi composto por 25 pedúnculos e as análises foram realizadas em triplicatas. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) realizada com auxílio do software Assistat 7.7 beta (Paraíba, Brasil) e as médias das análises foram comparadas pelo teste de Tukey a 0,05 de significância. Também foi realizada análise de correlação de Pearson da atividade antioxidante versus compostos bioativos para cada clone.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Compostos fenólicos e atividade da PAL

De acordo com a análise estatística, o conteúdo de polifenóis extraíveis totais (PET) não foi significativamente diferente entre os tratamentos ou entre os clones (FIGURA 8). No tratamento controle, o clone BRS 189 apresentou 106,84 mg AGE.100 g⁻¹ de polpa, enquanto, o clone CCP 76 foi 92,81 mg AGE.100 g⁻¹ de polpa.

Figura 8 – Conteúdo de polifenóis extraíveis totais em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA₃. Pacajus-CE, 2012.



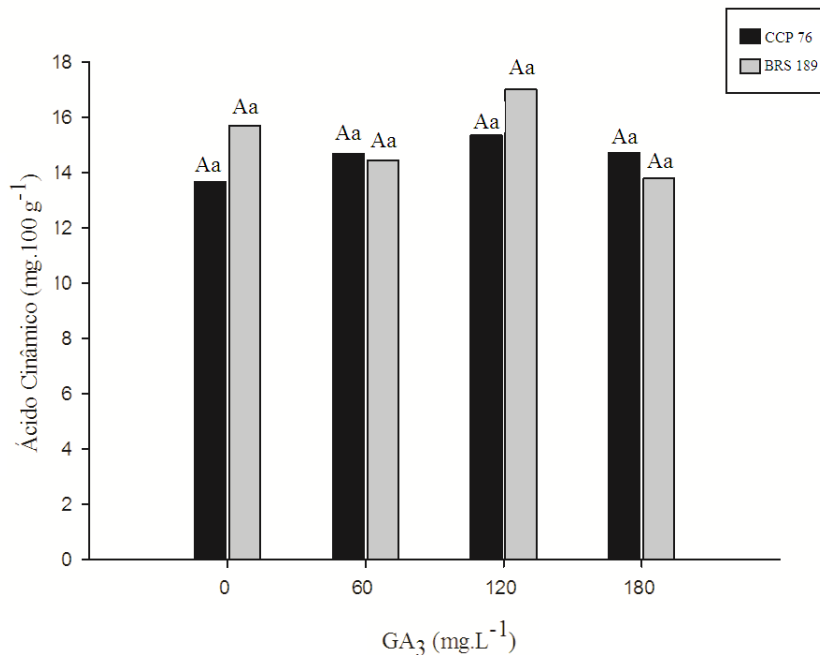
Letras maiúsculas representam as diferenças entre clones. Letras minúsculas representam diferenças entre doses de GA₃ dentro de cada clone. Letras iguais não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Conforme estudo realizado por Abreu (2007), o clone de cajueiro BRS 189 no estágio de maturação comercial, apresentou média de 171,43 mg AGE.100 g⁻¹ de polpa e o clone CCP 76 no mesmo estágio com média de 104,07 mg AGE.100 g⁻¹ de polpa, valores numericamente superiores aos encontrados nos presente estudo, principalmente, com relação ao clones de cajueiro BRS 189, cujos valores encontrados por Abreu foram cerca de 65% maiores, já Lopes *et al.* (2012) encontraram para os clones de cajueiro BRS 189 e CCP 76,

valores de PET de 54,85 e 64,01 mg AGE.100 g⁻¹ de polpa, respectivamente. Apesar dos valores de polifenóis extraíveis totais encontrados neste estudo mostraram-se dentro da faixa de PET, aos encontrados pelos autores acima citado, os resultados, entretanto, apresentaram-se algumas variações, provavelmente devido às diferenças de solo, condições climáticas, condições de armazenamento pós-colheita, e mesmo o método de extração entre os referidos estudos.

Dentre os fenólicos, nesse estudo foram identificados ácidos fenólicos hidroxicinâmicos como ácido *trans*-cinâmico e 1-O *trans*-cinamoil. Para o ácido cinâmico, não foi significativamente diferente entre os tratamentos ou entre os clones (FIGURA 9). O controle do clone BRS 189 apresentou 15,72 mg.100 g⁻¹ de polpa, enquanto que o do clone CCP 76 apresentou 13,66 mg.100 g⁻¹ de polpa, com um tempo de retenção (TR) de 22,43 min (Dados não mostrados). O conteúdo de ácido cinâmico está ligado à atividade da enzima PAL (FIGURA 11) que atua no metabolismo secundário, sendo o ácido *trans*-cinâmico o primeiro produto da via de biossíntese dos compostos fenólicos.

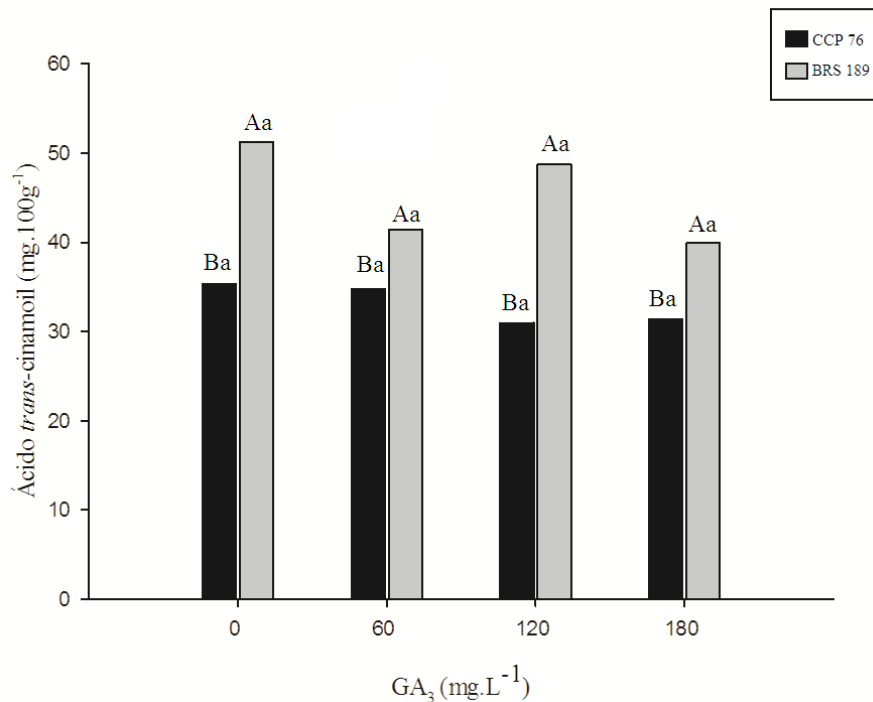
Figura 9 – Conteúdo de ácido *trans*-cinâmico em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA₃. Pacajus-CE, 2012.



Letras maiúsculas representam as diferenças entre clones. Letras minúsculas representam diferenças entre doses de GA₃ dentro de cada clone. Letras iguais não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Todavia, o conteúdo de 1-O *trans*-cinamoil apresentou diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade entre os clones BRS 189 e CCP 76, mas não entre os tratamentos com GA₃ (FIGURA 10). O controle dos pedúnculos de cajueiro-anão do clone BRS 189 apresentou 51,25 mg.100 g⁻¹ de polpa sendo superior em 31,12% ao do clone CCP 76. O 1-O *trans*-cinamoil está relacionado à síntese de compostos voláteis, assim, os resultados deste estudo, são indicativos que os pedúnculos de cajueiro-anão do clone BRS 189 apresentam-se mais atrativo quanto ao aroma em comparação ao clone CCP 76.

Figura 10 – Conteúdo de 1-O *trans*-cinamoil em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA₃. Pacajus-CE, 2012.



Letras maiúsculas representam as diferenças entre clones. Letras minúsculas representam diferenças entre doses de GA₃ dentro de cada clone. Letras iguais não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

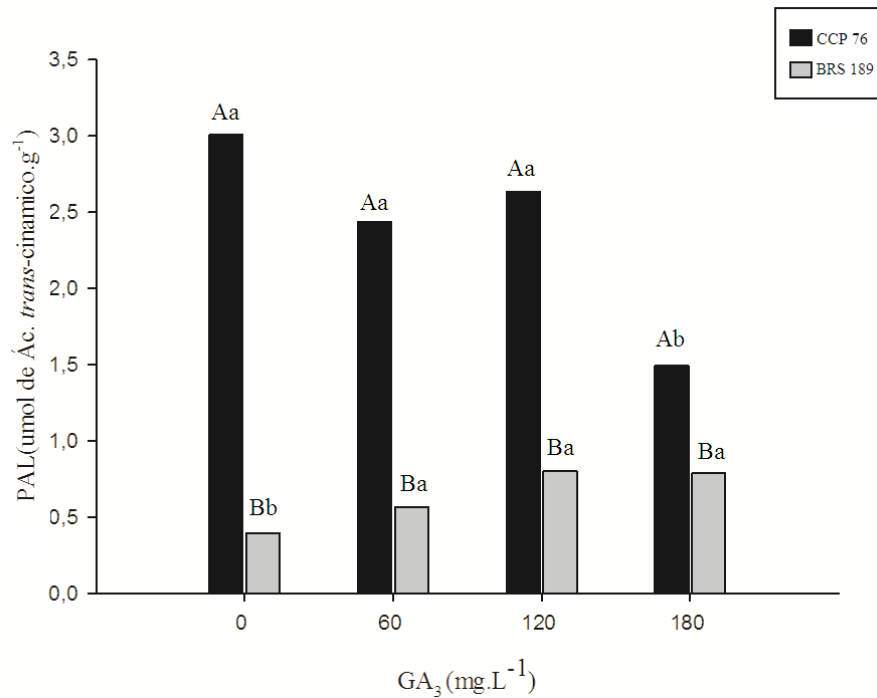
Michoudjehoun-Mestres *et al.* (2009) observaram diferenças significativas entre clones de cajueiro-anão em estágio maduro, cuja concentração mínima obtida de 1-O *trans*-cinamoil-β-D-glicopironose foi de 6,2 mg.100 g⁻¹ de polpa para o clone CCP 76 e a máxima foi no clone EMBRAPA 50 com média de 20 mg.100 g⁻¹ de polpa. Já Sá (2012) encontrou variação de 0,036 a 0,071 mg.100 mL⁻¹ desse composto, em 55 °C/5 min e 75 °C/60 min,

respectivamente. Tais resultados são bem inferiores ao obtidos nesse experimento, possivelmente, a elevação da temperatura no estudo de Sá degradou algum composto bioativo pelo rompimento da parede celular. Outra justificativa para a discrepância entre o conteúdo de 1-O-trans-cinamoil encontrado neste estudo aos encontrados pelos autores acima citados seria o fato da utilização de diferentes métodos laboratoriais de extração, impossibilitando assim a comparação dos resultados, pela inexistência de um método em comum.

A fenilalanina amônia liase (PAL) é a enzima que catalisa a desaminação da fenilalanina com produção de ácido *trans*-cinâmico, sendo essa reação a primordial na formação dos compostos fenólicos. Nesse estudo, a atividade da PAL diferiu estatisticamente ao nível de 5% entre os tratamentos de GA₃ e entre os clones (FIGURA 9). Para o clone CCP 76, o tratamento com 180 mg.L⁻¹ de GA₃ resultou em queda em 51% na atividade da PAL de 3,01 para 1,49 μmol ácido *trans*-cinâmico.g⁻¹ de polpa. Já, para o clone BRS 189, o resultado foi inverso, a aplicação de GA₃ resultou em um aumento significativo de 52% na atividade da PAL que foi de 0,39 para 0,79 μmol ácido *trans*-cinâmico.g⁻¹ de polpa, com 180 mg.L⁻¹. A atividade da PAL é influenciada por condições de estresse nos tecidos vegetais, seja pela ação de agente biótico ou abiótico, sugerindo desde modo que o GA₃ atuou como um estresse, mas apenas na concentração de 180 mg.L⁻¹ para ambos os clones de cajueiro-anão, fato ainda não bem elucidado.

Dentre os clones de cajueiro-anão avaliados, o CCP 76 apresentou uma atividade da PAL significativamente maior do que o clone BRS 189, esses resultados, corrobora com os resultados apresentados por Cunha (2015), que ao avaliar a atividade de enzimas da via da síntese dos fenólicos em pedúnculos de clones de cajueiro-anão, verificou que no estágio de maturação comercial o clone CCP 76 foi superior 66% ao clone BRS 189 em atividade da PAL. Apesar, da maior atividade da PAL no clone CCP 76 e da influência do GA₃ sobre essa enzima, a atividade da PAL foi relativamente baixa, o que pode justificar o fato de tal enzima nesse estudo não influenciar no conteúdo de fenólicos totais (FIGURA 8) ou de ácido *trans*-cinâmico (FIGURA 9), e esse clone apresentou um conteúdo estatisticamente menor de *trans*-cinamoil (FIGURA 10).

Figura 11 – Atividade da fenilalanina amônia liase em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA₃. Pacajus-CE, 2012.



Letras maiúsculas representam as diferenças entre clones. Letras minúsculas representam diferenças entre doses de GA₃ dentro de cada clone. Letras iguais não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey

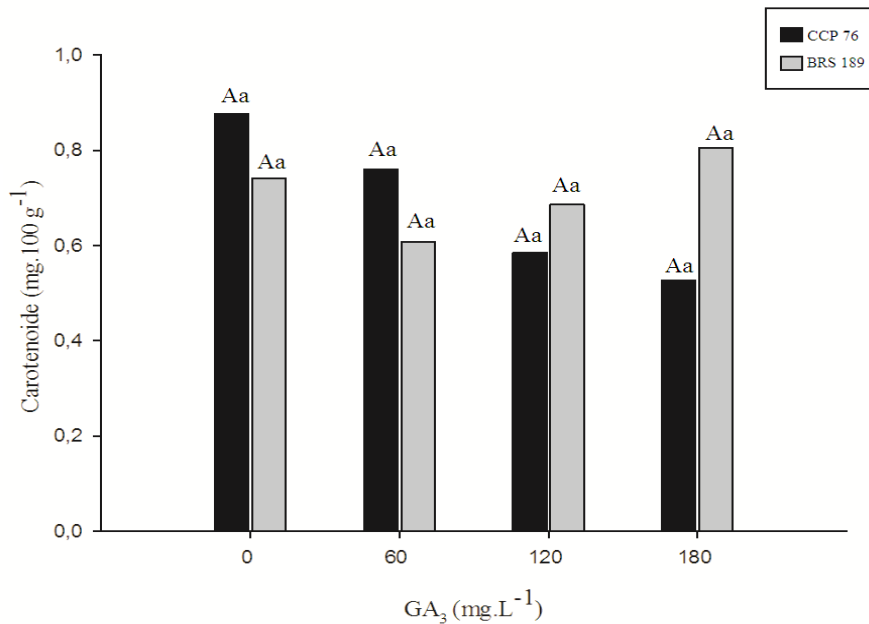
4.2 Carotenoides totais (CT)

O conteúdo de carotenoides totais não mostrou diferenças estatísticas entre os tratamentos ou entre os clones avaliados (FIGURA 12). O controle do clone BRS 189 apresentou conteúdo de 0,74 mg.100 g⁻¹ de polpa enquanto que os do CCP 76 apresentaram 0,87 mg.100 g⁻¹ de polpa.

O conteúdo de carotenoides totais neste estudo foi inferior para o clone de cajueiro-anão BRS 189 e superior para o clone CCP 76 quando comparados aos encontrados por Abreu (2007) que obteve 0,939 e 0,441 mg.100 g⁻¹ de polpa para os clones BRS 189 e CCP 76, respectivamente. Entretanto, Lopes *et al.* (2012) encontraram valores de CT 0,4 mg.100 g⁻¹ de polpa para o clone CCP 76 e 0,32 mg.100 g⁻¹ de polpa para o clone BRS 189, esses valores foram bem inferiores ao encontrados neste estudo, tal fato pode ser explicado pelas condições de campo diversas em cada ano dos referidos estudos, no qual muitos fatores

tais como; localização geográfica, a estação do ano, as condições de colheita, têm influência na síntese de carotenoides.

Figura 12 – Conteúdo de carotenoides totais em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA₃. Pacajus-CE, 2012.

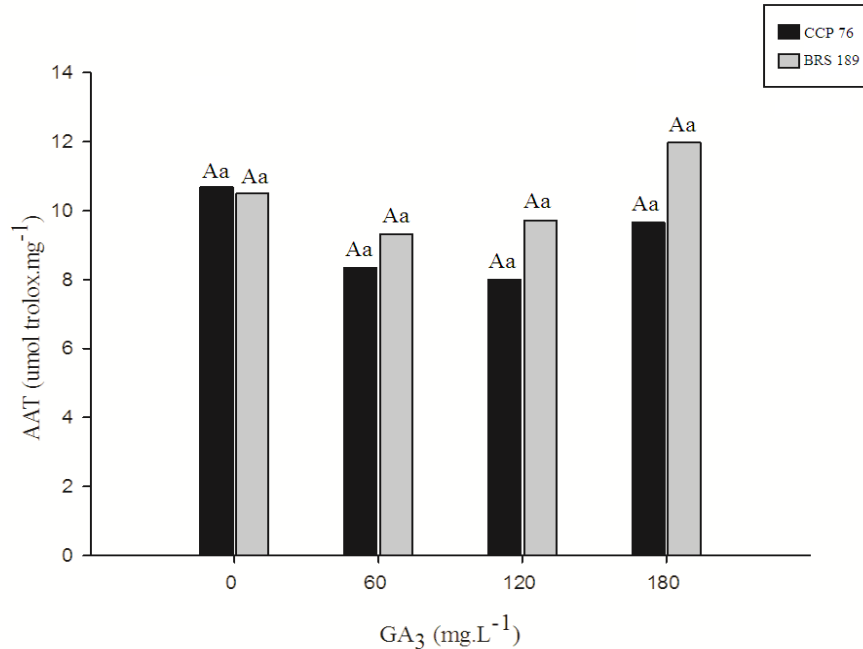


Letras maiúsculas representam as diferenças entre clones. Letras minúsculas representam diferenças entre doses de GA₃ dentro de cada clone. Letras iguais não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

4.3 Atividade antioxidante total (AAT)

A atividade antioxidante total em pedúnculos de cajueiro não foi influenciada de forma significativa pela aplicação pré-colheita de ácido giberélico (FIGURA 13). O controle do clone BRS 189 apresentou uma AAT de 10,49 $\mu\text{mol Trolox. g}^{-1}$ de polpa e o do clone CCP 76 foi 10,68 $\mu\text{mol Trolox. g}^{-1}$ de polpa.

Figura 13 – Atividade antioxidante total em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA₃. Pacajus-CE, 2012.



Letras maiúsculas representam as diferenças entre clones. Letras minúsculas representam diferenças entre doses de GA₃ dentro de cada clone. Letras iguais não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Os resultados observados para a AAT condizem com os de PET (FIGURA 8) e carotenoides totais (FIGURA 12), os quais não sofreram influência dos tratamentos. Abreu (2007) registrou AAT em pedúnculos de cajueiro-anão 17,01 e 12,28 μmol Trolox. g⁻¹ de polpa em clones BRS 189 e CCP 76, respectivamente, valores superiores ao encontrados no presente estudo. Rufino *et al.* (2012) também avaliaram pedúnculos de cajueiro e reportaram valores de 11,2 μmol Trolox. g⁻¹ de polpa; já Lopes *et al.* (2012) encontraram uma maior atividade antioxidante em pedúnculos de clones de cajueiro-anão, 36,62 μmol Trolox. g⁻¹ de polpa para o clone BRS 189 e 41,45 μmol Trolox. g⁻¹ de polpa, para o clone CCP 76.

Sá (2012) identificou em suco de caju variação de 0,02 a 7,11 μmol Trolox. mL⁻¹ em 65 °C/ 60 min e 95 °C/60 min, respectivamente, estes valores foram bem inferiores aos obtidos neste trabalho, estas diferenças podem ser devido ao tipo de amostra, pois utilizou suco processado e o presente estudo polpa de caju, como também a utilização de tratamento térmico no experimento de Sá. Mohamed *et al.* (2014) determinaram a atividade antioxidante total de tâmaras ‘Barhee’ tratadas com GA₃ (50 e 100 mg.L⁻¹) na pré-colheita. Esses autores relataram uma redução de 18% da AAT em frutos tratados com GA₃ com relação a frutos não

tratados, sugerindo que o tratamento com GA₃ é ineficaz na promoção da atividade antioxidante em fruto.

Com o objetivo de identificar a contribuição dos compostos antioxidantes avaliados para a atividade antioxidante total dos pedúnculos de cajueiro-anão, foi realizada a análise de correlação de Pearson (TABELA 1). Os resultados mostraram que o conteúdo de polifenóis e carotenoides se correlacionaram positivamente à atividade antioxidante nos dois clones estudados, entretanto apenas o conteúdo de CT foi significativo ao nível de 5%. Já, o conteúdo de ácido cinâmico e de *trans*-cinamoil se correlacionou de forma negativa, para o clones BRS 189, contudo não diferiram estatisticamente.

Correlações diretas entre atividade antioxidante total e compostos bioativos têm sido verificadas em muitos estudos. Abreu (2007) aplicou correlação de Pearson entre carotenoides e compostos fenólicos com AAT em pedúnculos de clones de cajus e verificou correlação positiva para a variável polifenóis ($p < 0,01$; $r = 0,77$), entretanto a variável carotenoides totais ($r = 0,16$) não foi significativo ($p > 0,05$). Rufino *et al.* (2010) estudando dezoito frutos não tradicionais, verificaram correlação positiva para o conteúdo de compostos fenólicos e AAT ($r = 0,92$; $p < 0,01$).

Tabela 1 – Correlação de Pearson entre os compostos bioativos e a atividade antioxidante total em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA₃. Pacajus-CE, 2012.

Variável	Correlação com AAT	
	CCP 76	BRS 189
Polifenóis extraíveis totais	0,84 ^{ns}	0,81 ^{ns}
Carotenoides totais	0,45 ^{ns}	0,95*
Ácido cinâmico	-0,89 ^{ns}	-0,52 ^{ns}
Ácido <i>trans</i> -cinamoíl	0,43 ^{ns}	-0,31 ^{ns}

* Correlação significativa ao nível de 5% de probabilidade

^{ns} correlação não significativa

Já, Lopes *et al.* (2012) verificaram em pedúnculos de clones de cajueiro-anão correlação positiva entre PET e AAT ($r = 0,90$; $p < 0,01$), entretanto, não foi obtida correlação significativa para o conteúdo de carotenoides totais, e Mohamed *et al.* (2014), identificaram correlação positiva entre polifenóis e AAT em tâmaras ‘Barhee’ com $r = 0,21$ ao nível 5% de probabilidade. De acordo com Heim *et al.* (2002) os compostos fenólicos são os maiores

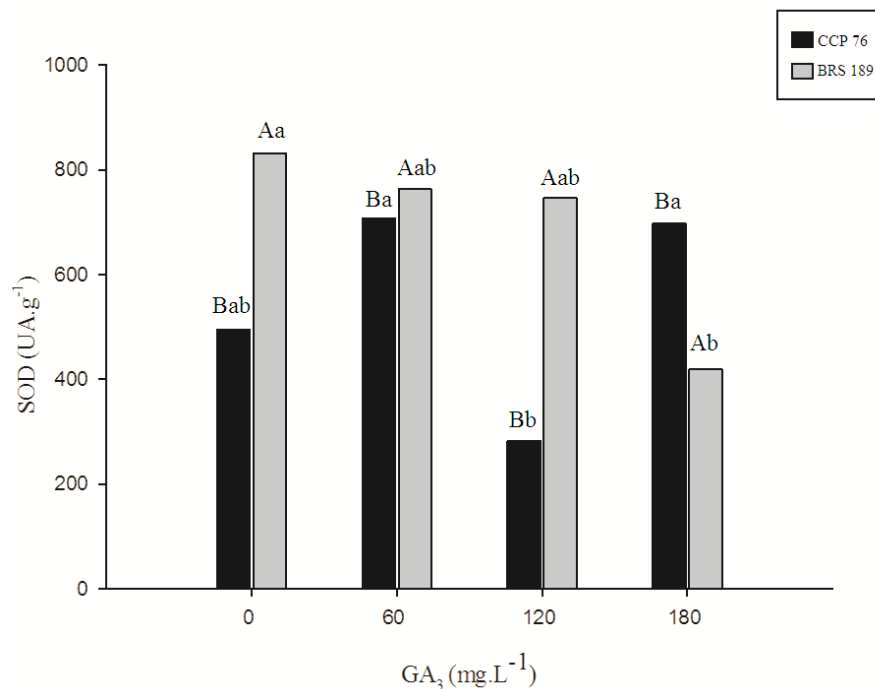
responsáveis pela atividade antioxidante em frutos. Mas nesse estudo, apenas o conteúdo de carotenoides totais apresentou uma importante contribuição para AAT e de modo geral, os compostos bioativos reafirmam seu reforço na ação antioxidante.

4.4 Atividades de enzimas antioxidantes

4.4.1 Dismutase do Superóxido (SOD)

A atividade da SOD apresentou diferença estatística ao nível de 5% entre os clones, mas apenas para o tratamento com 180 mg.L^{-1} de GA_3 no clone BRS 189, esse tratamento resultou em declínio na atividade da SOD que foi menor $419,59 \text{ UA.g}^{-1}$ de polpa em relação ao controle, $830,85 \text{ UA.g}^{-1}$ de polpa (FIGURA 14).

Figura 14 – Atividade da dismutase do superóxido em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA_3 . Pacajus-CE, 2012.



Letras maiúsculas representam as diferenças entre clones. Letras minúsculas representam diferenças entre doses de GA_3 dentro de cada clone. Letras iguais não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

A SOD representa um papel de grande importância no metabolismo antioxidante de pedúnculos de cajueiro, destacando nesse estudo o clone BRS 189 no qual a atividade foi superior ao clone CCP 76 em torno de duas vezes. A dismutase do superóxido é considerada

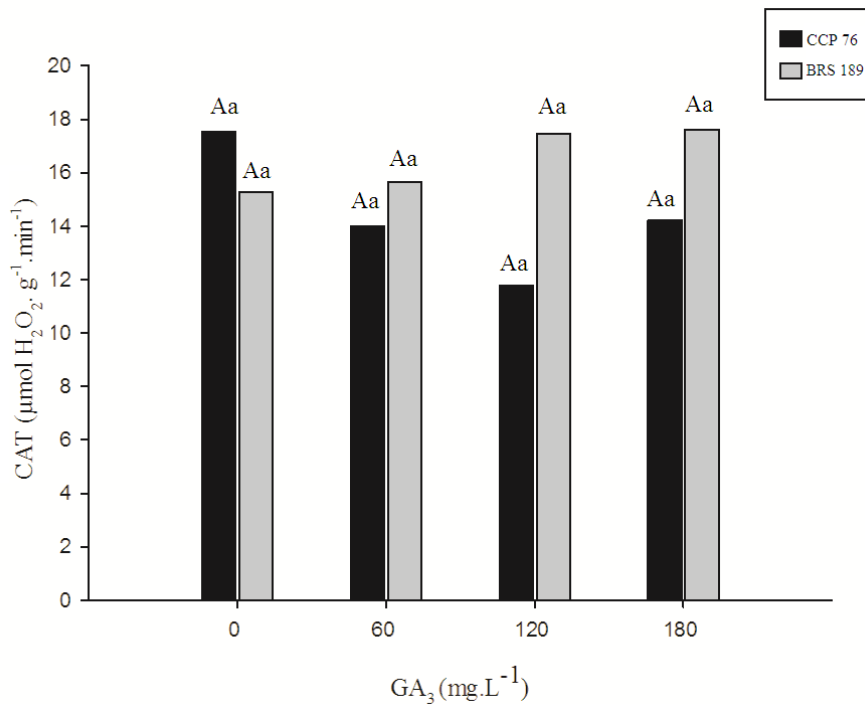
como a primeira linha de defesa do sistema enzimático antioxidante, agindo contra o radical livre superóxido, no qual o converte em peróxido de hidrogênio que posteriormente será decomposto por outras enzimas.

A baixa atividade enzimática da SOD pode ser atribuída a condições especiais de estresses, sugerindo desde modo que o GA₃ agiu como antagonista da atividade antioxidante da dismutase do superóxido no clone BRS 189 entre os tratamento 60, 120 e 180 mg.L⁻¹ de GA₃.

4.4.2 Catalase

A atividade da catalase nos pedúnculos avaliados não diferiu entre os tratamentos com GA₃ nem entre os clones (FIGURA 15). O controle do clone BRS 189 teve 15,28 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ e o do CCP 76 foi 17,54 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. A catalase é uma enzima de defesa contra danos oxidativos causados por EROs. Esta enzima é capaz de decompor peróxido de hidrogênio formado pela ação da SOD em oxigênio e água.

Figura 15 – Atividade da catalase em pedúnculos de clones de cajueiro-anão CCP 76 e BRS 189 com diferentes doses de GA₃. Pacajus-CE, 2012



Letras maiúsculas representam as diferenças entre clones. Letras minúsculas representam diferenças entre doses de GA₃ dentro de cada clone. Letras iguais não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey

Lopes *et al.* (2012) avaliando pedúnculos de clones de cajueiro-anão, em diferentes estádios de maturação, observaram que a atividade da CAT no clone CCP 76 e no BRS 189 não diferiram estatisticamente, de forma semelhante ao presente estudo.

5. CONCLUSÃO

A aplicação pré-colheita de GA₃ influenciou de forma significativa a atividade da PAL e da SOD em ambos os clones, porém não afetou o conteúdo de fenólicos e carotenoides, a atividade antioxidante total e a atividade da catalase.

O GA₃ reduziu a atividade da enzima SOD no clone BRS 189 e a atividade da PAL no clone CCP 76, contudo promoveu acréscimo na atividade da enzima PAL no clone BRS 189.

A atividade antioxidante total está correlacionada ao conteúdo de carotenoides.

O clone BRS 189 de cajueiro-anão se apresentou como melhor fonte de antioxidantes devido ao maior conteúdo de *trans*-cinamoil e da atividade da SOD.

REFERENCIAS

- ABREU, C. R. A. **Qualidade e atividade antioxidante total de pedúnculos de clones comerciais de cajueiro anão precoce**. 2007. 111 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- AGUIAR, M de J.N.; COSTA, C.A.R. Exigências climáticas. In.: BARROS, L.M. (Ed.) **Caju produção: aspectos técnicos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p21-23. (Frutas do Brasil, 30).
- BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, Campinas, v.23. n.4, p. 629-649, jul./ago., 2010.
- BARROS, L.M. Biologia floral, colheita e rendimento do cajueiro. In.: LIMA, V.P.M.S.(Org.). **A cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil**. Fortaleza: BNB/ETENE, 1988. p. 301-319.
- BARROS, L.M. Botânica, origem e distribuição geográfica. In.: ARAÚJO, J.P.P; SILVA, V.V (Org.). **Cajucultura: modernas técnicas de produção**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPq, 1995. p. 55-71.
- BEAUCHAMP, C.O.; FRIDOVICH. I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Anal. Biochem.** [S. l.]: 44: 276-287. 1971.
- BEERS, Jr R.F.; SIZER I.W. A Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal Biology Chemistry**. [S. l.]: v. 195, p.133-140, 1952.
- BOUAYED, J. Polyphenols: A potential new strategy for the prevention and treatment of anxiety and depression. **Current Nutrition & Food Science**. [S. l.]: v.6. p.13-18. 2010.
- BOYER, J., LIU, R.H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**. [S. l.]: v. 3(5). p.1475-2891. 2004.
- BRITO, E. S. de. *et al.* Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-EIS/MS. **Food Chemistry**, [S. l.]: v.105, p.1112-1118, 2007.
- CARVALHO, P. E. R.; GAIAD, S. **Espécies arbóreas brasileira**. Brasília, DF: agência de informação EMBRAPA. Disponível em :< <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. acesso em: 11 jun. 2015.
- CASTRO, P.R.C.; VIEIRA, E.L. Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical. Guaíba: Agropecuária, [S. l.]: 2001. 132 p.
- CHEN, J. H., HO, C. T. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. **Journal Agricultural Food Chemistry**, [S. l.]: v. 45, n.7, p. 2374-2378, 1997.

CHITARRA, A. B.; ALVES, R. E. **Pós-colheita de frutas tropicais**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CHRISTENSEN, A.S.; VIGGERS, L.; GREGERSEN, S. Fruit and glycemic control in type 2 diabetes. In.: WATSON, R.R. (Ed.). **Glucose Intake and Utilization in Pre-Diabetes and Diabetes: Implications for Cardiovascular Disease**. Boston,. p. 215-223, 2015.

CRISÓSTOMO, L. A. *et al.* **Cultivo do cajueiro anão precoce: aspectos fitotécnicos com ênfase na adubação e na irrigação**. Fortaleza: EMPRAPA, 2001. 8 p (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular técnica, 08).

CUNHA, A. G. **atividade de enzimas da via de biossíntese dos fenólicos durante o desenvolvimento de pedúnculos de clones de cajueiro (*Anacardium occidentale L.*)**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

DUARTE FILHO, J.; ANTUNES, L.E.C.; PÁDUA, J.G. GA3 e Paclobutrazol no florescimento e na produção de frutos em duas cultivares de morangueiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 202-205, abril-junho, 2004.

EL-SHORA, H. M. Properties of phenylalanine ammonia-lyase from Marrom cotyledons. **Plant Science**, [S. l.]: v. 162, p. 1-7, 2002.

EROGUL, D.; SEN, F. Effects of gibberellic acid treatments on fruit thinning and fruit quality in japonese plum (*Prunus salicina Lindl.*). **Scientia horticulturae**, [S. l.]: v.186. p. 137-142. 2015.

FAO . Faostat. 2015. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>. Acesso em 21 Abril 2015.

FAO. Faostat. 2012. Disponível em: ><http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#anco>< Acesso em: 06 agosto 2014

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil**. [S. l.: s.n.], p. 61-8., 1997.

FUNDAÇÃO BANCO DO BRASIL. **Os frutos sociais do caju**. São Paulo: Todos os Bichos, 2010. p. 203.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide Dismutase. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, V. 59, P. 309-314, 1977.

GOU, J.; WANG, M. H. Ultraviolet A – specific induction of anthocyanin biosynthesis and PAL expression in tomato (*Solanum lycopersicum L.*). **Plant Growth Regulation**, [S. l.]: v. 62, p.1-8. 2010.

HANAMURA, T.; HAGIWARA, T.; KAWAGISHI, H. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (*Malpighia emarginata*) fruit. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, Tóquio, v. 69, n. 2, p. 280-286, 2005.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal Nutricional Biochemistry*, [S. l.]: v. 13, p. 572-584, 2012.

HIGBY, W. K. A simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natural and carotene-fortified orange juice. *Journal of Food Science*. [S. l.]: v. 27, p.42-49, 1962.

IBGE. **Produção agrícola municipal**. Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pam/default.asp?o=18&i=P>>. Acesso em : 21 Abril 2015.

IBRAF – INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. Estudo da cadeia produtiva de fruticultura do estado da Bahia. São Paulo, Sebrae, 2005, 353p.

KULL, D.; PFANDER, H. Appendix: List of new carotenoids. In: BRITTON, G.; LIAAENJENSEN, S.; PFANDER, H. (Eds.). **Carotenoids Volume 1A: Isolation and Analysis**. Basel: Birkhauser Verlag, 1995. p. 295-317.

LANDETE, J.M. Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. [S. l.]: v. 52. p.936-948. 2012.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. [S. l.]: v.45, p. 1390-1393.1997.

LIU, R. H. **Health benefits of fruits: implications for disease prevention and health promotion fruits**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., 2006, Cabo Frio. Palestras e resumos... Cabo Frio: SBF: UENF: UFRuralRJ, 2006. p. 36-44.

LOPES, M. M. A. *et al.* J. Bioactive compounds and total antioxidant capacity of cashew apples (*Anacardium occidentale* L.) during the ripening of early dwarf cashew clones. *Ciência e Agrotecnologia (UFPA)*. [S. l.]: v. 36, p. 325-332, 2012.

MAC MILLAN, J. Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi and bacteria. *Plant Growth Regulation*. [S. l.]: v. 20, p. 387- 442. 2002.

MANACH, C., *et al.* Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, [S. l.]: v.79. p.727–747. 2004.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. *et al.* Isolation, characterization, and determination of 1-O-trans-Cinnamoyl- β -D-glucofuranose in the epidermis and flesh of developing cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) and four of its genotypes. *Journal Agricultural Food Chemistry*, [S. l.]: v. 57, p. 1377-1382, 2009.

- MICHODJEHOUN-MESTRES, L. *et al.* M. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, [S. l.]: v. 112, n. 4, p.851-857. 2009.
- MICHODJEHOUN-MESTRES, L. *et al.* Characterization of highly polymerized from skin and fresh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**. [S. l.]: v. 114, n. 3, p. 989-995, 2009.
- MOHAMED, S. A.; AWAD, M. A.; AL-QURASHI, A. D. Antioxidant activity, antioxidant compounds, antioxidant and hydrolytic enzymes activities of 'Barhee' dates at harvest and during storage as affected by pre-harvest spray of some growth regulators. **Scientia Horticulturae**. [S. l.]: v. 167, p. 91-99, 2014.
- MORAIS, A. S. *et al.* Armazenamento Refrigerado sob Atmosfera Modificada de Pedúnculo de cajueiro-Anão-Precoce dos clones CCP-76, END-157, END-183 e END-189. Revista Brasileira de fruticultura. Jaboticabal, v.24, n.03, p. 647-650, 2002.
- MORI, T.; SAKURAI, M.; SAKUTA, M. Efectos of conditioned médium on activities of PAL, CHS, DAHP synthase (DS-Co and Ds-Mn) and anthocyanin production in suspension cultures of *Fragaria ananassa*. **Plant Science**. [S. l.]: v. 160,p. 355-360, 2001.
- MOURA, C.F.H. *et al.*. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do cajueiro**. Fortaleza, CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. 31 p.
- NORDBERG, A. J.; ARNÉ, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**. [S. l.]: v.31. p. 1287-1312. 2001.
- OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavonol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. [S. l.]: v. 74, n. (2), p. 209-215, 1997.
- PAIVA, J.R. *et al.* Domesticação e melhoramento genético do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no Brasil. **Informativo SBF**, Jaboticabal, v. 16, n. 2, p. 19-20, 1997.
- PAIVA, J.R.de; BARROS, L. de M. Clones de cajueiro: obtenção, características e perspectivas. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 26 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 82).
- PALAFOX-CARLOS, H., AYALA-ZAVALA, J. F., GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. **Journal of Food Science**. [S. l.]: v.76(1) p.1750-3841. 2011.
- PAULA PESSOA, P.F.A.; LEITE, L.A.S. Desempenho do agronegócio caju brasileiro. In.: ARAUJO, J.P.P. (Ed.). **Agronegócio caju: Praticas e inovações**. Brasília: EMPRAPA, 2013. p. 21-40.
- PEREIRA, M. C. T. *et al.* Reguladores de crescimento na frutificação efetiva e qualidade de frutos partenocárpicos de atemoia 'Gefner'. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.49, n.4, p.281-289, abr. 2014.

POLLE, A. Dissecting the superoxide-dismutase-ascorbate-pathway in chloroplast by metabolic modeling computer simulation as a step toward flux analysis. **Plant Physiology**. [S. l.]: v. 126, p. 445-462, 2001.

PONTES FILHO, F.S.T.; **Qualidade de cajus tratados com aminoetoxivinilglicina (AVG) e ácido giberelico (GA3)**. 2014. 138 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

RE, R., PELLEGRINI, N. *et al.* Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical Biology & Medicine**. [S. l.]: 26, 1231-1237, 1999.

REDEMETE – REDE DE METEOROLOGIA DO COMANDO DA FORÇA AÉREA Sistema de geração e disponibilização de informações climatológicas. 2012. Disponível em: <<http://clima.icea.gov.br/clima/arSuperior.php>>. Acesso em: 08 mai. 2015.

REYNERSTON, K. A. *et al.* Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible *Myrtaceae* fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.

RODRIGUES-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenoides: tabela brasileira de composicao de carotenoides em alimentos**. Brasília: MMA/SBF, 2008. 100p.

RUFINO, M. S. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**. [S. l.]: v. 121, p. 996-1002, 2010.

RUFINO, M.S.M *et al.* **Metodologia Científica:Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS.+**. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2006. 4 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 128).

SÁ, N. M. S. M.; **Efeito do processamento sobre a composição fenólica presentes no suco de caju**. 2012. 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

SANTOS, J. G *et al.*. A. Influence of Ultrasound on Fresh-Cut Mango Quality Through Evaluation of Enzymatic and Oxidative Metabolism. **Food and Bioprocess Technology**. [S. l.]: v. 8 Issue 7, p. 1532-1542, 2015.

SERRANO, L.A.L.; OLIVEIRA, V.H. Aspectos botânicos, fenologia e manejo da cultura do cajueiro. In.: ARAUJO, J.P.P. (Ed.). **Agronegócio caju: Praticas e inovações**. Brasília: EMPRAPA, 2013. p. 77-165.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. Porto Alegre, 5° Ed., Artmed, 2013, 918p.

VIDAL NETO, F.C *et al.* Melhoramento genético e cultivares de cajueiro. In.: ARAUJO, J.P.P. (Ed.). **Agronegócio caju: Praticas e inovações**. Brasília: EMPRAPA, 2013. p. 481-508.

YANG, Z.; ZHENG, Y.; CAO, S. Effect of high oxygen atmosphere on quality, antioxidante enzymes, and DPPH-radical scavenging activity of Chinese bayberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. [S. l.]: v.57, p.176-181, 2009.

ZHANG, C.; WHITING, M. Plant growth regulators improve sweet cherry fruit quality without reducing endocarp growth. **Scientia horticulturae**. [S. l.]: v.150. p.73-79. 2013.

APÊNDICE

APÊNDICE A – MÉDIA DOS VALORES POLIFENÓIS EXTRAÍVEIS TOTAIS (PET), CAROTENOIDES TOTAIS (CT), ÁCIDO *TRANS*-CINÂMICO E *TRANS*-CINAMOIL DE PEDÚNCULOS DE CAJUEIRO ANÃO-PRECOCE CCP 76 E BRS 189 COM DIFERENTES DOSES DE GA₃. PACAJUS-CE, 2012.

PET (mg AGE.100 g⁻¹)					
Doses (mg.L⁻¹ GA₃)					
CLONES	0	60	120	180	Média
CCP 76	92,81 a	85,74 a	84,63 a	85,42 a	87,15 A
BRS 189	106,84 a	83,27 a	89,85 a	104,72 a	96,17 A
CV (%) 21,55					
CT (mg.100 g⁻¹)					
Doses (mg.L⁻¹ GA₃)					
CLONES	0	60	120	180	Média
CCP 76	0,876 a	0,760 a	0,586 a	0,528 a	0,687 A
BRS 189	0,741 a	0,607 a	0,686 a	0,806 a	0,710 A
CV(%) 26,72					
Ácido <i>trans</i>-cinâmico (mg.100 g⁻¹)					
Doses (mg.L⁻¹ GA₃)					
CLONES	0	60	120	180	Média
CCP 76	13,66 a	14,70 a	15,36 a	14,73 a	14,61 A
BRS 189	15,72 a	14,47 a	17,03 a	13,79 a	15,25 A
CV(%) 13,95					
<i>trans</i>-cinanoil (mg.100 g⁻¹)					
Doses (mg.L⁻¹ GA₃)					
CLONES	0	60	120	180	Média
CCP 76	35,30 a	34,76 a	31,05 a	31,40 a	33,13 B
BRS 189	51,25 a	41,39 a	48,76 a	39,94 a	45,3363 A
CV(%) 22,19					

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância

APÊNDICE B – MÉDIA DOS VALORES FENILALANINA AMONIA LIASE (PAL), ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT), DISMUTASE DO SUPEROXIDO (SOD) E CATALASE (CAT) DE PEDÚNCULOS DE CAJUEIRO ANÃO-PRECOCE CCP 76 E BRS 189 COM DIFERENTES DOSES DE GA₃. PACAJUS-CE, 2012.

PAL (μmol Ácido <i>trans</i>-cinâmico. g⁻¹)					
Doses (mg.L⁻¹ GA₃)					
CLONES	0	60	120	180	Média
CCP 76	3,01 a	2,44 a	2,64 a	1,49 b	2,39 A
BRS 189	0,39 b	0,57 a	0,80 a	0,79 a	0,64 B
CV (%) 25,68					

AAT (μmol Trolox.mg⁻¹)					
Doses (mg.L⁻¹ GA₃)					
CLONES	0	60	120	180	Média
CCP 76	10,68 a	8,35 a	7,99 a	9,66 a	9,17 A
BRS 189	10,49 a	9,32 a	9,72 a	11,97 a	10,38 A
CV (%) 25,83					

SOD (UA.g⁻¹)					
Doses (mg.L⁻¹ GA₃)					
CLONES	0	60	120	180	Média
CCP 76	494,07 ab	706,24 a	282,45 b	697,94 a	545,17 B
BRS 189	830,85 a	762,69 ab	745,98 ab	419,59 a	689,78 A
CV (%) 25,39					

CAT (μmol H₂O₂. g⁻¹ min⁻¹)					
Doses (mg.L⁻¹ GA₃)					
CLONES	0	60	120	180	Média
CCP 76	17,54 a	13,99 a	11,77 a	14,23 a	14,38 A
BRS 189	15,28 a	15,66 a	17,45 a	17,62 a	16,5054 B
CV (%) 21,45					

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância.