

Pegoraro, C., Storch, T.T., Crizel, G.R, Dambros, J., Gonçalves, B.X., Rombaldi, C.V., Girardi, C.L. 2015. Expressão de genes associados ao amadurecimento em maçãs 'Gala' tratadas e não tratadas com 1-metil-ciclopropeno. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

Expressão de genes associados ao amadurecimento em maçãs 'Gala' tratadas e não tratadas com 1-metil-ciclopropeno

Camila Pegoraro^{1,2}; Tatiane T. Storch^{1,2}; Giseli R. Crizel^{1,2}; Juliele Dambros^{1,2}; Breno X. Gonçalves^{1,3}; Cesar V. Rombaldi²; Cesar L. Girardi¹

¹ Embrapa Uva e Vinho, Rua Livramento, 515, 95700-000, Bento Gonçalves – RS, pegorarocamilanp@gmail.com, tatistorch86@hotmail.com, giseli.crizel@gmail.com, julidambros@gmail.com, cesar.girardi@embrapa.br;

² Universidade Federal de Pelotas - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial– Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, 96010-900 – Pelotas – RS. cesarvrf@ufpel.edu.br;

³ Universidade Federal de Pelotas - Centro de Desenvolvimento Tecnológico – Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354, 96010-900 – Pelotas – RS. brenoxgoncalves@hotmail.com.

RESUMO

A macieira é uma das espécies de maior importância sociocultural e econômica do mundo. A produção de maçãs é caracterizada, em cada hemisfério, por sazonalidade de produção, havendo necessidade de desenvolvimento de princípios e métodos de conservação. O entendimento dos mecanismos que coordenam o processo de amadurecimento assim como as respostas dos frutos às diferentes tecnologias é requisito essencial para o manejo pós-colheita de maçãs. Nesse sentido, esse estudo teve por objetivo estudar o perfil de expressão de genes associados ao amadurecimento de maçãs e utilizá-los como marcadores moleculares associados à qualidade de frutos. De maneira geral, os resultados obtidos nesse estudo indicam que as modificações que ocorrem durante o amadurecimento de maçãs são majoritariamente coordenadas pelo etileno, e que os genes *MdPG1*, *MdACO1*, *MdAF3* e *MdAAT2* podem ser utilizados como marcadores moleculares relacionados ao amadurecimento por atuarem na síntese do etileno, na redução da firmeza de polpa e na síntese de ésteres, atributos importantes na qualidade de maçãs, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: etileno, firmeza de polpa, pós-colheita.

ABSTRACT

Expression of genes associated with ripening in 1-methylcyclopropene and control 'Gala' apples

Apple is among the sociocultural and economically most important species in the world.

Apple production is characterized, in each hemisphere, by seasonal production,

Pegoraro, C., Storch, T.T., Crizel, G.R, Dambros, J., Gonçalves, B.X., Rombaldi, C.V., Girardi, C.L. 2015. Expressão de genes associados ao amadurecimento em maçãs 'Gala' tratadas e não tratadas com 1-metil-ciclopropeno. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

39 therefore, are required the development of principles and methods of conservation. The
40 knowledge of the mechanisms regulating the ripening process, as well as the responses
41 of fruits to different technologies is an essential requirement for apple post-harvest.
42 Thus, the purpose of the work was to study the expression profile genes associated with
43 fruit ripening and their use as molecular markers for fruit quality. The results obtained
44 indicate that the changes during apple ripening are mainly coordinated by ethylene, and
45 that the genes *MdPG1*, *MdACO1*, *MdAF3* and *MdAAT2* can be used as molecular
46 markers related to ripening process due to their action in the ethylene and esters
47 synthesis and fruit firmness, important characters for apple quality, respectively.

48

49 **Keywords:** ethylene, pulp firmness, postharvest.

50

51 **INTRODUÇÃO**

52 Devido ao consumo popularizado de maçãs, a macieira (*Malus x domestica* Borkh.) é
53 uma das espécies frutíferas de maior importância sociocultural e econômica (BOTH *et*
54 *al.*, 2014), ocupando a quarta posição no ranking mundial, ficando atrás apenas dos
55 citros, videira e banana (DELGADO-PELAYO *et al.*, 2014). A produção de maçãs é
56 caracterizada, em cada hemisfério, por sazonalidade de produção, havendo necessidade
57 de desenvolvimento de princípios e métodos de conservação, para que o período de
58 oferta se estenda durante todo ano (LUMPKIN *et al.*, 2015). Para maçãs existe um
59 número relativamente grande de tecnologias disponíveis para aumentar o período de
60 conservação. Dentre as tecnologias mais utilizadas pode-se destacar o uso de atmosfera
61 controlada e controlada dinâmica (BOTH *et al.*, 2014) associadas ou não ao uso de 1-
62 metil-ciclopropeno. Apesar da popularização e da ampla utilização dessas tecnologias,
63 os mecanismos bioquímicos moleculares responsáveis pelas características de qualidade
64 são pouco conhecidos.

65 O entendimento dos mecanismos que coordenam o processo de amadurecimento, assim
66 como as respostas dos frutos frente às diferentes tecnologias, é requisito essencial para o
67 manejo pós-colheita de maçãs. Com o surgimento de ferramentas de biologia molecular,
68 os primeiros avanços científicos começaram a ser gerados. No entanto, apesar do
69 conhecimento adquirido, ainda há uma correlação inversa entre a conservação de maçãs
70 e a qualidade sensorial. Dessa forma, há a necessidade de intensificar os estudos

Pegoraro, C., Storch, T.T., Crizel, G.R, Dambros, J., Gonçalves, B.X., Rombaldi, C.V., Girardi, C.L. 2015. Expressão de genes associados ao amadurecimento em maçãs 'Gala' tratadas e não tratadas com 1-metil-ciclopropeno. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

71 científicos de modo a ampliar o conhecimento dos eventos fisiológicos e suas interações
72 em sistemas biológicos. Esses conhecimentos poderão ser utilizados para propor novas
73 alternativas de armazenamento, visando vida de prateleira, mas que também
74 potencializem atributos de qualidade sensorial.

75 Nesse sentido, esse estudo teve por objetivo o estudo do perfil de expressão de genes
76 associados ao amadurecimento de frutos e a utilização desses como marcadores
77 moleculares associados à qualidade de frutos.

78

79 **MATERIAL E MÉTODOS**

80 Para a execução desse estudo foram utilizados frutos de maçãs da cultivar Gala clone
81 Baigent, implantadas sobre porta-enxerto M9. Os frutos foram colhidos em estágio de
82 maturação fisiológica e divididos em dois grupos. Um grupo recebeu tratamento com 1
83 ppm de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e os demais permaneceram sem tratamento. Em
84 seguida, frutos tratados e não tratados foram mantidos em temperatura ambiente (25°C
85 ±2) durante 12 dias visando à avaliação da evolução da maturação em ambas as
86 condições.

87 A firmeza de polpa (FP) foi analisada utilizando penetrômetro automático (Fruit
88 Texture Analyser), com ponteira cilíndrica de 11 mm. As medidas foram feitas na parte
89 equatorial dos frutos, em regiões opostas, após a retirada da epiderme. O conteúdo de
90 sólidos solúveis (SS) foi determinado utilizando-se refratômetro digital (PR 101 Atago)
91 com compensação automática da temperatura. A determinação da acidez total (AT) foi
92 feita através da titulação de 10 mL de suco diluídos em 90 mL de água, até pH 8,1 com
93 NaOH 0,1N, posteriormente a AT foi determinada em meq 100 mL⁻¹ de ácido málico.

94 Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística. O efeito do tempo dentro de
95 cada tratamento foi avaliado pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$) e o efeito do tratamento em
96 cada tempo foi avaliado pelo teste t ($p \leq 0.05$).

97 Para avaliação da expressão gênica, um grupo de 14 genes foi avaliado (Tabela 1). As
98 sequências foram obtidas a partir de sequências codificadoras de *Malus x domestica*
99 (Borkh.) disponíveis no *Genome Database for Rosaceae*. O desenho dos primers foi
100 feito utilizando o programa *Primer3Plus* (UNTERGASSER *et al.*, 2007). O RNA total
101 foi extraído a partir de um pool de dez frutos, utilizando o protocolo descrito por Zeng e
102 Yang (2002). Após a extração, a quantidade e a qualidade do RNA foi verificada

Pegoraro, C., Storch, T.T., Crizel, G.R, Dambros, J., Gonçalves, B.X., Rombaldi, C.V., Girardi, C.L. 2015. Expressão de genes associados ao amadurecimento em maçãs 'Gala' tratadas e não tratadas com 1-metil-ciclopropeno. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

103 utilizando espectrofotômetro (BioTekEpoch™) e gel de agarose 1%. Após tratamento
104 com DNase I (Invitrogen™) e verificação da eficiência da digestão através de reação de
105 PCR com gene constitutivo, procedeu-se a síntese de cDNA a partir de 1 µg de RNA,
106 utilizando-se *SuperScript III/RNase Out Mix* (Invitrogen™). A amplificação em qPCR
107 foi feita em equipamento StepOne™ Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems™),
108 utilizando o reagente SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems™). Para
109 análises de expressão foram utilizados somente iniciadores com eficiência próxima a
110 100% e com curva de dissociação com pico único. A escolha dos normalizadores foi
111 feita conforme descrito em Storch *et al.*, (2015). O tratamento colheita foi utilizado
112 como calibrador. Os dados foram analisados utilizando-se o programa *Multi Experiment*
113 *Viewer (MeV)*, *EASE Expression Analysis Systematic Explorer version 4.6*.

114

115 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

116 Verificou-se que durante a evolução da maturação em temperatura ambiente, a FP
117 apresentou diferenças significativas entre frutos tratados e não tratados com o inibidor
118 do etileno. Ao final do período de avaliação (12 dias), a FP dos frutos tratados com 1-
119 MCP se manteve em torno de 80 N, enquanto que em frutos não tratados o valor
120 observado para FP foi de 70 N (Tabela 2). Esse comportamento era esperado, visto que
121 o 1-MCP é amplamente utilizado na cadeia produtiva da maçã, devido principalmente à
122 capacidade de inibir a ação do etileno e, por conseguinte, reduzir a velocidade de
123 metabolismos positivamente regulados pelo etileno, como é o caso da redução da
124 firmeza de polpa (BULENS *et al.*, 2012).

125 Os teores de SS e AT não variaram entre frutos tratados e não tratados com 1-MCP,
126 sendo verificado apenas aumento no SS e diminuição na AT com evolução da
127 maturação (Tabela 2). O fato do 1-MCP não afetar a concentração de SS já havia sido
128 verificado em diferentes cultivares de maçã (FAN, 1999). No entanto, para a AT tem
129 sido descrito que o impacto do 1-MCP sobre essa variável varia de acordo com a
130 concentração da molécula, assim como o tempo de tratamento e temperatura utilizada
131 (FAN, 1999).

132 Durante a evolução da maturação foi observado claramente o efeito inibitório do etileno
133 sobre a expressão de genes codificadores de poligalacturonase (*MdPG1*), 1-
134 aminociclopropano carboxilase (*MdACO1*), α -L-arabinofuranosidase (*MdAF3*, *MdAF1*)

Pegoraro, C., Storch, T.T., Crizel, G.R, Dambros, J., Gonçalves, B.X., Rombaldi, C.V., Girardi, C.L. 2015. Expressão de genes associados ao amadurecimento em maçãs 'Gala' tratadas e não tratadas com 1-metil-ciclopropeno. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

135 e álcool aciltransferase (*MdAAT2*) (Figura 2). Por outro lado, o gene codificador de
136 expansina (*MdEXPA4*) foi expresso independentemente da aplicação de 1-MCP (Figura
137 2). A diminuição no acúmulo de transcritos de *MdACO1* em frutos tratados com 1-MCP
138 indica que esse composto foi eficaz na inibição da síntese de etileno em frutos de maçã
139 (WATKINS, 2006). Similarmente ao observado para *MdACO1*, a transcrição de
140 *MdPG1* foi inibida em frutos tratados com 1-MCP, demonstrando a regulação positiva
141 do etileno sobre a transcrição desse gene, conforme reportado por Tatsuki *et al.*, (2007).
142 *MdPG1* apresentou correlação positiva com a redução da firmeza de polpa, sendo
143 verificado que o maior acúmulo de transcritos de *MdPG1* coincide com a maior redução
144 na FP (Tabela 2, Figura 2), confirmando a participação do produto desse gene na
145 diminuição da FP durante o amadurecimento de maçã (TATSUKI *et al.*, 2007).

146 O alto acúmulo de transcritos de *MdEXPA4* observado em frutos tratados e não tratados
147 com 1-MCP (Figura 2) demonstra que a transcrição desse gene é etileno independente.
148 A regulação diferencial do C₂H₄ sobre genes codificadores de expansinas durante o
149 amadurecimento já havia sido reportada por Mbéguié-A-Mbéguié *et al.*, (2002). No
150 entanto, o resultado obtido nesse estudo é bastante interessante, uma vez que a maioria
151 das expansinas relacionadas ao amadurecimento de frutos caracteriza-se por ser etileno
152 dependente (GAETE-EASTMAN *et al.*, 2009). Estudos desenvolvidos por Wakasa *et*
153 *al.*, (2003) haviam demonstrado que *MdExp1* (referido como *MdEXPA4* nesse estudo)
154 apresenta maior importância durante o desenvolvimento do fruto, e cuja transcrição não
155 é estimulada pelo C₂H₄. No entanto, nesse trabalho foi observado que embora a
156 expressão do gene seja independente de etileno, seu produto pode apresentar um papel
157 relevante durante o amadurecimento de frutos. Considerando que expansinas estão
158 envolvidas com modificações na parede celular dos frutos, levando ao amolecimento
159 dos tecidos, sugere-se que o gene analisado codifica uma expansina relacionada ao
160 amolecimento não dependente do etileno, o que pode ser associado a pequena redução
161 de FP observada em frutos tratados com 1-MCP.

162 Os genes *MdAF3* e *MdAF1* apresentaram perfil de expressão similar aos genes
163 *MdACO1* e *MdPG1*, sugerindo que a transcrição desses genes também é regulada pelo
164 etileno. Além disso, esse comportamento indica que enzimas codificadas por *MdPG1*,
165 *MdAF3* e *MdAF1* podem atuar conjuntamente na degradação da parede celular, levando
166 a redução da firmeza de polpa durante o amadurecimento de maçãs.

Pegoraro, C., Storch, T.T., Crizel, G.R, Dambros, J., Gonçalves, B.X., Rombaldi, C.V., Girardi, C.L. 2015. Expressão de genes associados ao amadurecimento em maçãs 'Gala' tratadas e não tratadas com 1-metil-ciclopropeno. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

167 *MdATT2* foi mais expresso em frutos não tratados com 1-MCP, se mostrando etileno
168 dependente, conforme demonstrado previamente por Zhu *et al.*, (2008). O perfil
169 observado sugere que o gene *MdAAT2* atua na produção de ésteres, principais
170 compostos voláteis durante o amadurecimento de maçãs. Por outro lado, o gene
171 codificador de álcool desidrogenase (*MdADH*) não apresentou alterações na expressão
172 ao longo da evolução da maturação em ambos os frutos.

173 Genes cujos produtos estão relacionados na sinalização por etileno (ethylene-
174 insensitive- *MdEIN2* e *MdEIN3*) e do metabolismo de açúcares (sacarose sintase -
175 *MdSuSy3*) não responderam a aplicação de 1-MCP, sendo expressos a níveis basais em
176 ambas as condições e em todos os períodos avaliados (Figura 2).

177 De maneira geral, os resultados obtidos nesse estudo indicam que as modificações que
178 ocorrem durante o amadurecimento de maçãs são majoritariamente coordenadas pelo
179 etileno, e que os genes *MdPG1*, *MdACO1*, *MdAF3* e *MdAAT2* podem ser utilizados
180 como marcadores moleculares relacionados ao amadurecimento por atuarem na síntese
181 do etileno, na redução da firmeza de polpa e na síntese de ésteres, atributos importantes
182 na qualidade de maçãs.

183

184 **AGRADECIMENTOS**

185 À Capes pela concessão de bolsas e ao CNPq pelo financiamento à pesquisa e auxílio na
186 forma de bolsas

187

188 **REFERÊNCIAS**

189 BOTH, V.; BRACKMANN, A.; THEWES, F. R.; WAGNER, R. Effect of storage
190 under extremely low oxygen on the volatile composition of 'Royal Gala' apples. *Food*
191 *Chemistry*. v. 156. p. 50–57, 2014.

192 BULENS, I.; VAN DE POEL, B.; HERTOOG, M. L. A. T. M.; DE PROFT, M. P.;
193 GEERAERD, A. H.; NICOLAI, B. M. Influence of harvest time and 1-MCP application
194 on postharvest ripening and ethylene biosynthesis of 'Jonagold' apple. *Postharvest*
195 *Biology and Technology*. v. 72, p. 11–19, 2012.

196 DELGADO-PELAYO, R.; GALLARDO-GUERRERO, L.; HORNERO-MÉNDEZ, D.
197 Chlorophyll and carotenoid pigments in the peel and flesh of commercial apple fruit
198 varieties. *Food Research International*. v. 65, p. 272–281, 2014.

- Pegoraro, C., Storch, T.T., Crizel, G.R, Dambros, J., Gonçalves, B.X., Rombaldi, C.V., Girardi, C.L. 2015. Expressão de genes associados ao amadurecimento em maçãs 'Gala' tratadas e não tratadas com 1-metil-ciclopropeno. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.
- 199 FAN, X.; MATTHEIS, J. P.; BLANKENSHIP, S. M. 1-Methylcyclopropene inhibits
200 apple ripening. *Journal of American Society for Horticultural Science*. v. 124, p. 690-
201 695, 1999.
- 202 GAETE-EASTMAN, C.; FIGUEROA, C. R.; BALBONTÍN, C.; MOYA, M.;
203 ATKINSON, R. G.; HERRERA, R.; MOYA-LEÓN, M. A. Expression of an ethylene-
204 related expansin gene during softening of mountain papaya fruit (*Vasconcellea*
205 *pubescens*). *Postharvest Biology and Technology*. v. 53. p. 58-65. 2009
- 206 LUMPKIN, C.; FELLMANA, J. K.; RUDELL, D. R.; MATTHEIS, J. P. 'Fuji' apple
207 (*Malus domestica* Borkh.) volatile production during high CO₂ controlled atmosphere
208 storage. *Postharvest Biology and Technology*. v. 100, p. 234–243, 2015.
- 209 MBÉGUIÉ-A-MBÉGUIÉ, D.; GOUBLE, B.; GOMEZ, R-M.; AUDERGON, J-M.;
210 ALBAGNAC, G.; FILS-LYCAON, B. Two expansin cDNAs from *Prunus armeniaca*
211 expressed during fruit ripening are differently regulated by ethylene. *Plant Physiology*
212 *and Biochemistry*. v. 40, p. 445-452, 2002.
- 213 STORCH, T. T.; PEGORARO, C.; FINATTO, T.; QUECINI, V.; ROMBALDI, C. V. ;
214 GIRADI, C. L. Identification of a novel reference gene for apple transcriptional
215 profiling under postharvest conditions. *PLoS ONE*, 2015.
- 216 TATSUKI, M.; ENDO, A.; OHKAWA, H. Influence of time from harvest to 1-MCP
217 treatment on apple fruit quality and expression of genes for ethylene biosynthesis
218 enzymes and ethylene receptors. *Postharvest Biology and Technology*. v. 43, p. 28–35,
219 2007.
- 220 UNTERGASSER, A.; NIJVEEN, H.; RAO, X.; BISSELING, T.; GEURTS, R.;
221 LEUNISSEN, J. A. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids*
222 *Research*. v. 35: W71–W74, 2007.
- 223 WAKASA, Y.; KUDO, H.; ISHIKAWA, R.; AKADA, S.; SENDA, M.; NIIZEKI, M.;
224 HARADA, T. Low expression of an endopolygalacturonase gene in apple fruit with
225 long-term storage potential. *Postharvest Biology and Technology*, v. 39, p. 193–198,
226 2006.
- 227 WATKINS, C.B. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables.
228 *Biotechnology Advances*, v. 24, p. 389-409, 2006.
- 229 ZENG, Y; YANG, T. RNA Isolation from highly viscous samples rich in polyphenols
230 and polysaccharides. *Plant Molecular Biology Reporter*. v. 20, p. 417a–417e, 2002.

Pegoraro, C., Storch, T.T., Crizel, G.R, Dambros, J., Gonçalves, B.X., Rombaldi, C.V., Girardi, C.L. 2015. Expressão de genes associados ao amadurecimento em maçãs 'Gala' tratadas e não tratadas com 1-metil-ciclopropeno. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

231

232 **Tabela 1.** Informações dos genes analisados. (Gene information).

Metabolismo	Primer	Acesso GenBank
Etileno	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 1 (ACO1)	MDP0000195885
	Ethylene Insensitive 2 (EIN2)	MDP0000136668
	Ethylene Insensitive 3 (EIN3)	MDP0000152033
Parede celular	Endo Polygalacturonase (PG1)	MDP0000326734
	α -L-arabinofuranosidase 1 (AF1)	MDP0000055078
	α -L-arabinofuranosidase 3 (AF3)	MDP0000140483
	Expansin4 (EXPA4)	MDP0000681724
Aromas	Alcohol dehydrogenase (ADH)	MDP0000594290
	Alcohol acyl-transferase2 (AAT2)	MDP0000166457
Carboidratos	Sucrose synthase (SuSy3)	MDP0000126946

233

234 **Tabela 2.** Qualidade físico-química de maçãs 'Gala' clone Baigent, tratadas e não
235 tratadas com 1-MCP, armazenadas durante 12 dias em temperatura ambiente. (Physical-
236 chemical quality in 1-MCP treated and control 'Gala' apple, clone Baigent, stored for 12
237 days at room temperature).

	Controle						Tratamento com 1-MCP							
	Dias em temperatura ambiente													
	0	2	4	6	8	10	12	0	2	4	6	8	10	12
F	84.	84.7	78.27	77.9	76.8	75.3	70.2	90.	86.4	84.6	83.0	81.4	80.5	80.
P	95 Ab	2aA	bB	1bB	5bB	3bc B	6cB	42a A	1ab A	3ab A	3bA	3bA	4bA	41b A
S	12.	12.9	13.33	13.4	14.1	14.2	14.1	12.	12.7	13.3	13.3	13.7	13.8	14.
S	53d A	0cd A	bcdA	abc A	3ab A	5aA	2ab A	76c A	0cA	3bc A	0bc A	3ab A	7ab A	20a A
A	5.5	4.8a	4.6bA	4.5b	4.3b	4.3b	4.0b	5.7	5.2a	5.1a	5.0a	4.7b	4.6b	4.5
T	aA	bA		A	A	A	A	aA	bA	bA	bA	A	A	bA

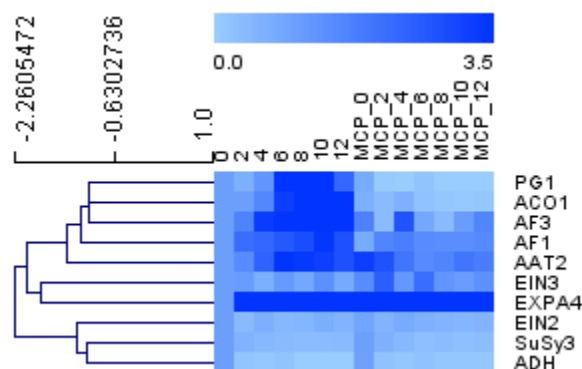
238

239 ^{1/} FP: Firmeza de polpa (Newtons); SS: Sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix); AT: Acidez total (meq 100 mL⁻¹
240 ácido málico). (FP: Pulp firmness (Newtons); SS: Soluble Solids; AT: Titratable Acidity (meq
241 100 mL⁻¹ malic acid).

241

242 ^{2/} Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de
243 Tukey ($p \leq 0,05$) comparando os dias dentro de cada tratamento. Médias acompanhadas por
244 mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando os
245 tratamentos (com e sem 1-MCP) dentro de cada dia. (Means followed by different small letters
246 in the lines are statistically different according to the Tukey test at ($p \leq 0,05$) for comparisons
247 between the time point at each experimental treatment. Means followed by different capital
248 letters in the lines are statistically different according to the t test at ($p \leq 0,05$), for comparisons
249 between the experimental treatments at each time point).

249



250

251 **Figura 1:** Expressão gênica durante o amadurecimento de maçãs 'Gala' clone Baigent
252 mantidas em temperatura ambiente. (Gene expression during ripening of 'Gala' apple,
253 clone Baigent in room temperature).