

## Efeitos da escovação em máquina classificadora na cutícula de maçãs cultivares Fuji e Gala

**Cândida Raquel Scherrer-Montero<sup>1\*</sup>**

**Rose Beatriz Antes<sup>1</sup>**

**Rinaldo Pires dos Santos<sup>2</sup>**

**Ligia Loss Schwarz<sup>1</sup>**

**Liege Cunha dos Santos<sup>1</sup>**

**Cristiane Saete Andrezza<sup>1</sup>**

**Renar João Bender<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de Pós-colheita, Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Av. Bento Gonçalves, 7712 B, CEP 91501-970, Porto Alegre – RS, Brasil

<sup>2</sup>Instituto de Biociências, Departamento de Botânica  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

\*Autor para correspondência  
candidaraquel@gmail.com

Submetido em 13/08/2008  
Aceito para publicação em 14/11/2008

### Resumo

A cutícula, camada que reveste a epiderme dos frutos, tem função de proteger contra estresses do meio ambiente tais como vento, temperatura, químicos e seca, não apenas quando o fruto está ainda ligado a planta mãe, mas também após a colheita. Alguns procedimentos na pós-colheita podem influenciar as camadas mais externas dos frutos, como a cutícula. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da escovação em máquina classificadora na cutícula de maçãs, sob técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Dois experimentos foram realizados testando a escovação nas cultivares Gala e Fuji com uso de escovas com cerdas suaves e pesadas. Os experimentos consistiram de três repetições de três frutos, com três amostras retiradas da região equatorial dos frutos, para análise sob microscopia eletrônica de varredura. Os resultados demonstram que a escovação provoca alterações na camada cuticular, arrastando, modificando a estrutura e removendo cristalóides da camada de ceras epicuticulares, formando fendas na superfície. Não houve diferença nos efeitos provocados na cutícula de maçãs em função dos dois tipos escovas testadas. A máquina classificadora utilizada comercialmente é capaz de produzir efeitos similares aos encontrados nos experimentos com escovação no protótipo de máquina classificadora no laboratório, removendo parcialmente o conteúdo ceroso protetor da cutícula de maçãs.

**Unitermos:** ceras cuticulares, *Malus domestica*, epiderme, microscopia eletrônica de varredura

## Abstract

**Effects of brushing in a classifying machine on the cuticles of Fuji and Gala apples.** The cuticle, a layer that covers the fruit epidermis, has a protective function against environmental stresses such as wind, temperature, chemicals and drought, not only when the fruit is attached to the plant, but also after harvest. Some postharvest procedures may influence the external layers of the fruit, like the cuticle. The objective of this work was to evaluate the effects of brushing in a classifying machine on the cuticles of apples under scanning electron microscopy (SEM). Two experiments were conducted to test brushing on the cultivars Fuji and Gala using heavy and smooth brushes. The experiments consisted of three replicates of three apples each, with three samples taken from the equatorial area of the fruit to be analyzed under SEM. The brushes of the classifying machine altered the cuticular layer, dragging it, modifying the structure and removing crystalloids of the cuticular wax layer, and forming cracks. There were no differences between the effects of the two types of brushes tested on the cuticles of the apples. The classifying machine used commercially is capable of producing similar effects to those encountered in the brushing experiments conducted on the prototype in the laboratory, removing partially the protective wax content of the apple's cuticle.

**Key words:** cuticular waxes, *Malus domestica*, epidermis, scanning electron microscopy

## Introdução

A cutícula forma uma camada contínua protetora na superfície de todas as plantas terrestres. Esta camada fina, hidrofóbica e flexível está composta por uma matriz polimérica (cutina) e associada a lipídeos solvente-solúveis (ceras epicuticulares) (Vogg et al., 2004). As ceras são polímeros extremamente heterogêneos que resultam de interação de ácidos graxos de cadeia muito longa (até 34 carbonos) distribuídas em duas classes distintas: as ceras epicuticulares, na superfície da cutícula e as ceras intracuticulares, que ocorrem como partículas dentro da matriz de cutina. Enquanto as ceras intracuticulares estão embebidas na matriz de cutina, as ceras epicuticulares se movem até a superfície (Neinhuis et al., 2001), onde freqüentemente formam estruturas tridimensionais complexas ou cristalóides de ceras.

A principal função da cutícula e das ceras intracuticulares é funcionar como barreira à perda de água (Schönherr, 1982; Schönherr et al., 1984; Riederer e Schreiber, 1995; Schreiber et al., 1996), enquanto as ceras epicuticulares servem para reflexão da luz (Barnes e Cadoso-Vilhena, 1996) e impermeabilização (Holloway, 1969 e 1971).

A cutícula, presente no epicarpo da maçã e de outros frutos, protege contra estresses do meio ambiente tais como vento, temperatura, químicos e seca, não apenas quando o fruto está ainda ligado a planta mãe,

mas também após a colheita durante o período de estocagem. Sem as ceras da cutícula, as maçãs estão mais propensas a infecções por microorganismos, dano físico e, principalmente, perda de umidade (Jenks et al., 1994 e 1995).

Alguns tratamentos dados aos frutos depois de colhidos podem influenciar as camadas mais externas dos frutos, como a cutícula. A classificação das maçãs é uma destas etapas e é um procedimento realizado em instalações com auxílio de máquinas que coletam as maçãs imersas em tanques de água e as conduzem por meio de esteiras a diferentes calhas, sob o controle de programas computadorizados, separando-as por peso, em diferentes calibres (Girardi et al., 2004). As máquinas classificadoras geralmente são providas de escovas que auxiliam na remoção de sujidades provenientes do campo, além de favorecerem o brilho do fruto.

Apesar dos vários estudos já existentes sobre a cutícula em maçãs (Faust e Shear, 1972; Belding et al., 1998; Ferguson et al., 2000; Schirra et al., 2000), não há relatos de pesquisa em relação ao efeito das escovas das máquinas de classificação de frutos na alteração desta camada.

Desta forma, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da escovação da máquina classificadora na cutícula de maçãs, sob técnicas de microscopia eletrônica de varredura.

## Material e Métodos

Foram realizados três experimentos utilizando o protótipo de parte de uma máquina classificadora no laboratório de pós-colheita da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). O material experimental constituiu-se de frutos não classificados provenientes de uma empresa produtora e embaladora de maçãs no sul do Brasil. Além destes, foram analisadas amostras de frutos que passaram por máquinas classificadoras da central de embalagem comercial. Os experimentos 1 e 2 consistiram de aplicação de 30 segundos de escovação nas cultivares Gala e Fuji com uso de dois tipos de escovas com cerdas diferentes: uma mais suave, constituída de 100% de crina de cavalo, e outra mais pesada, contendo 70% de crina de cavalo e 30% de nylon. O experimento 3 consistiu de uma escovação mais drástica por um período de cinco minutos com ambas as escovas. Ambos os experimentos foram comparados com frutos testemunha, ou seja, sem escovação. As amostras para microscopia eletrônica foram retiradas logo após o tratamento de escovação nos experimentos conduzidos no laboratório de pós-colheita e no caso dos frutos já beneficiados na empresa, retiraram-se amostras assim que os frutos chegaram no laboratório. Os experimentos consistiram de três repetições de três frutos, com três amostras retiradas da região equatorial de cada fruto, para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Para as amostras visualizadas em microscopia eletrônica de varredura utilizou-se segmentos de 5mm<sup>2</sup> do epicarpo dos frutos os quais foram retirados e aderidos com fita dupla face em uma lâmina histológica de vidro, para que permanecessem estendidos durante o processo de secagem. Em seguida, as lâminas contendo as amostras foram colocadas em uma placa de Petri com sílica gel para secagem, segundo metodologia descrita por Castro et al. (2002). As placas foram mantidas em um dessecador contendo sílica, durante um período mínimo de uma semana. Posteriormente, segmentos de 1mm<sup>2</sup> foram retirados com auxílio de bisturi e microscópio estereoscópico, colados com cola prata em suportes de alumínio (*stubs*), recobertos com uma camada de 15nm de ouro, em metalizador Blazers (*sputtering system*) e visualizados em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6060, sob 10kV.

## Resultados e Discussão

Alterações na camada mais externa da cutícula das maçãs estudadas foram observadas em função da escovação, tanto nos estudos realizados com o protótipo em laboratório como nas amostras obtidas da empresa embaladora.

As modificações encontradas são alterações do formato original dos cristalóides, bem como da orientação dos mesmos e arraste com possível remoção de parte dos cristalóides e das demais camadas abaixo deles. Os cristalóides originalmente existentes na camada cuticular da cultivar Gala (Figuras 1a) apresentam seu formato alterado em função do tratamento de escovação (Figura 1c e d) e “arrastados” em uma direção e sentido (Figura 1d, seta). É possível ainda perceber remoção de boa parte do conteúdo de ceras da cutícula pelas cerdas das escovas durante a escovação (Figura 1c e d). Apesar disso, não ocorrem diferenças nos efeitos causados entre o uso dos dois tipos de cerdas nas escovas testadas nestes experimentos.

Na maçã cultivar Fuji ocorreu um efeito similar de arraste visualizado na Gala (Figuras 1e). A remoção total ou parcial de cristalóides foi verificada em algumas regiões, além de desordenamento e modificação da estrutura original dos cristalóides de cera (Figura 2a e b) se comparadas a cutícula intacta (Figura 1b). Nota-se também fragmentos remanescentes dos cristalóides na imagem indicado pela seta (2b). Fendas sem cristalóides foram observadas com clareza (Figura 3) indicando possível remoção de cristalóides e parte da camada de ceras intracuticulares pelo efeito da escovação.

Na cultivar Gala a formação de fissuras nos locais de passagem das cerdas também foi evidente (Figura 4). Em alguns casos apresentaram cristalóides em seu interior (Figura 4a seta), mas essa característica foi mais evidente na Fuji (Figura 5). Estas fissuras, em linha reta, que apareceram com frequência na camada cerosa da cutícula dos frutos escovados, por vezes também apareceram nos frutos não escovados, provavelmente por algum dano mecânico ocorrido com o fruto no campo, durante o processo de colheita e/ou transporte do mesmo, modificando a superfície e ocasionando efeitos similares ao da escovação, porém em menor proporção.

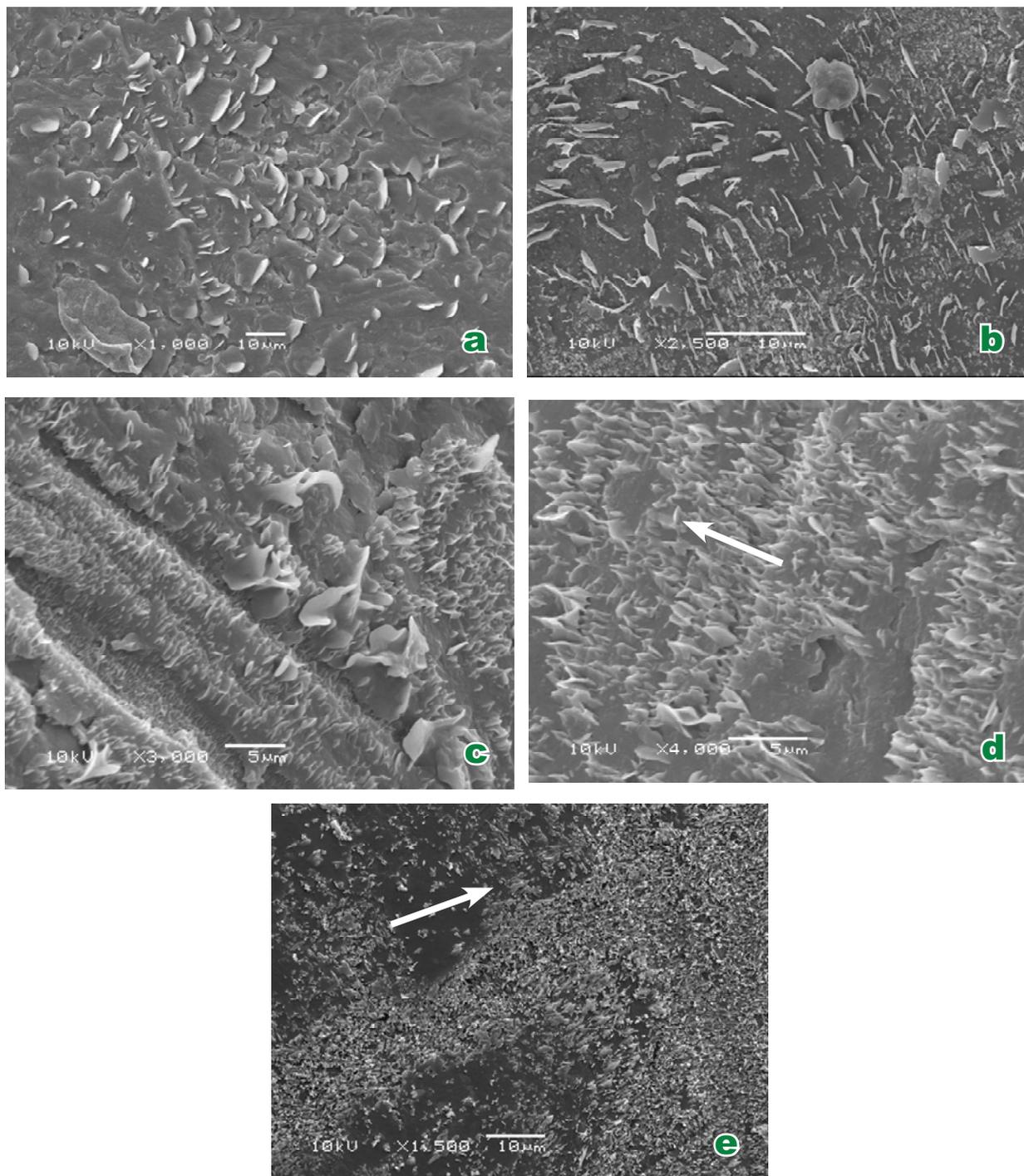


FIGURA 1: Recobrimento natural de ceras evidenciando os cristalóides existentes na cutícula das maçãs cvs. Gala (a) e Fuji (b). Alteração nos cristalóides de cera da cutícula de cv. Gala em função da escovação por 30 segundos (c e d). Escova pesada (c); escova suave (d). Efeito da escovação por 30 segundos sobre a superfície cuticular de maçãs cultivar Fuji, com uso de escova de cerdas suaves (e). As setas indicam o sentido do arraste dos cristalóides. Porto Alegre – RS, 2006.

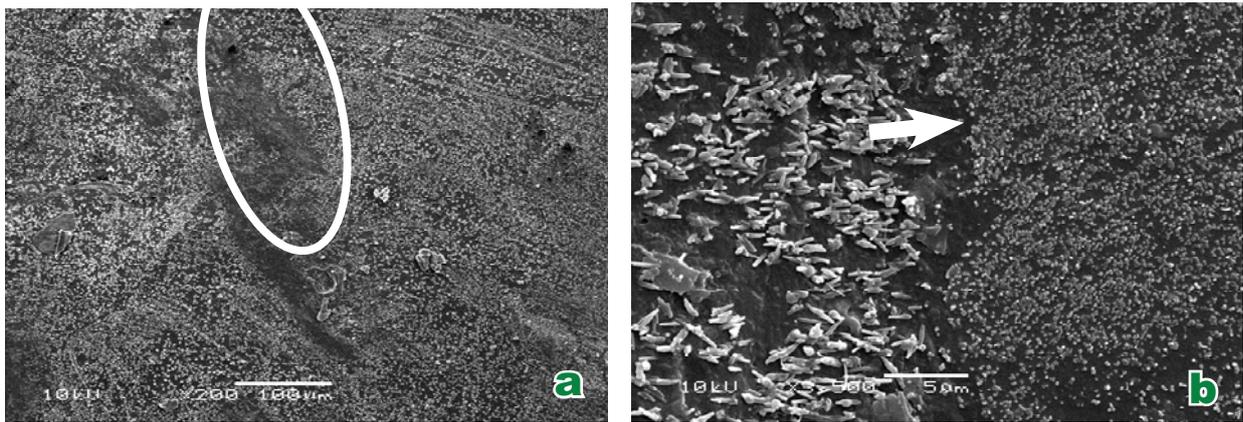


FIGURA 2: Remoção dos cristalóides de cera com uso de escovas de cerdas pesadas em cv. Fuji. A área delimitada (a) e a seta (b) indicam locais de remoção. A imagem à direita (b) mostra detalhe da imagem à esquerda (a). Porto Alegre – RS, 2006.

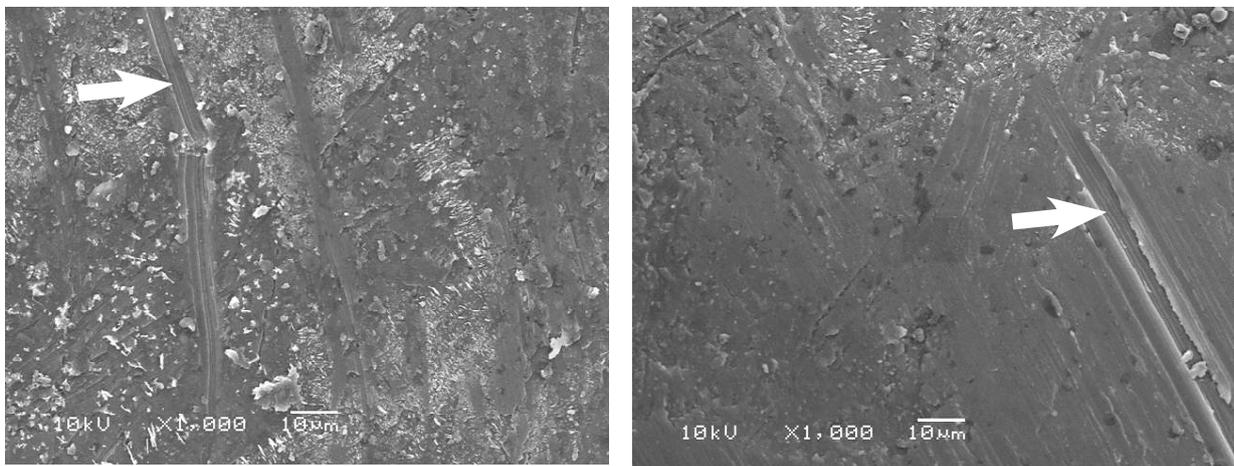


FIGURA 3: Remoção de cristalóides e formação de fissuras na camada de ceras intracuticulares na superfície externa de maçã cv. Fuji com uso de cerdas pesadas por 60 segundos. Porto Alegre – RS, 2006.

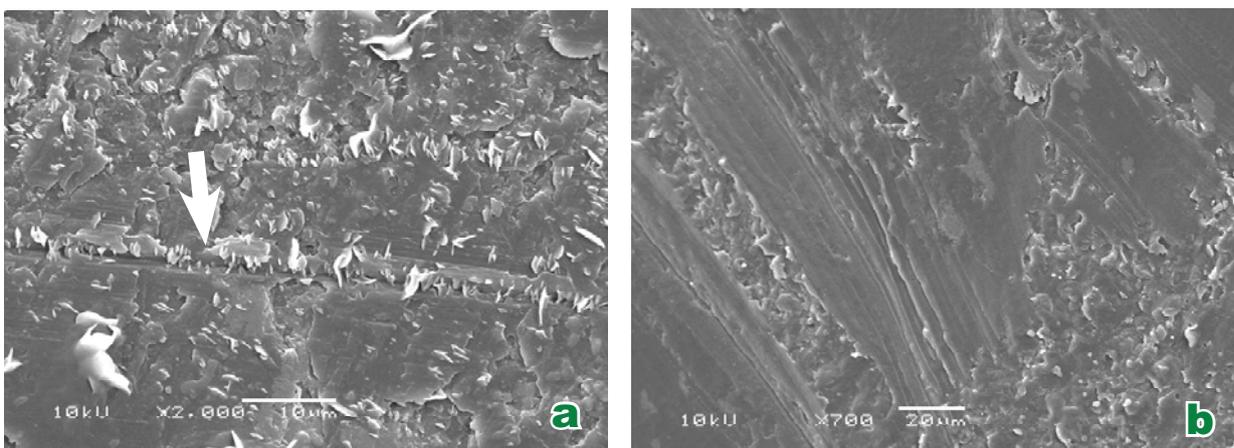


FIGURA 4: Fissuras no epicarpo de maçãs cv. Gala resultante da escovação: escova suave (a); escova pesada (b). Porto Alegre – RS, 2006.

Fendas com cristalóides intactos em seu interior também ocorreram (Figura 5). Estas fendas podem não ser provenientes do processo de escovação aplicado no experimento, mas podem ter sido formadas mais cedo (no campo, por exemplo), o que leva a crer que o fruto pode ter sintetizado mais cristalóides de ceras para repor o local da remoção. Por outro lado, se a remoção ocorreu em função da escovação, pode ter ocorrido uma rápida re-síntese de alguns compostos cerosos no mesmo local, como já comprovado por alguns pesquisadores para remoção dos mesmos pelo calor (Baker, 1974; Roy et al., 1994). Segundo Roy et al. (1994), o tratamento térmico pode ter estimulado um aumento na síntese de ceras para preencher fissuras, lenticelas ou ambos.

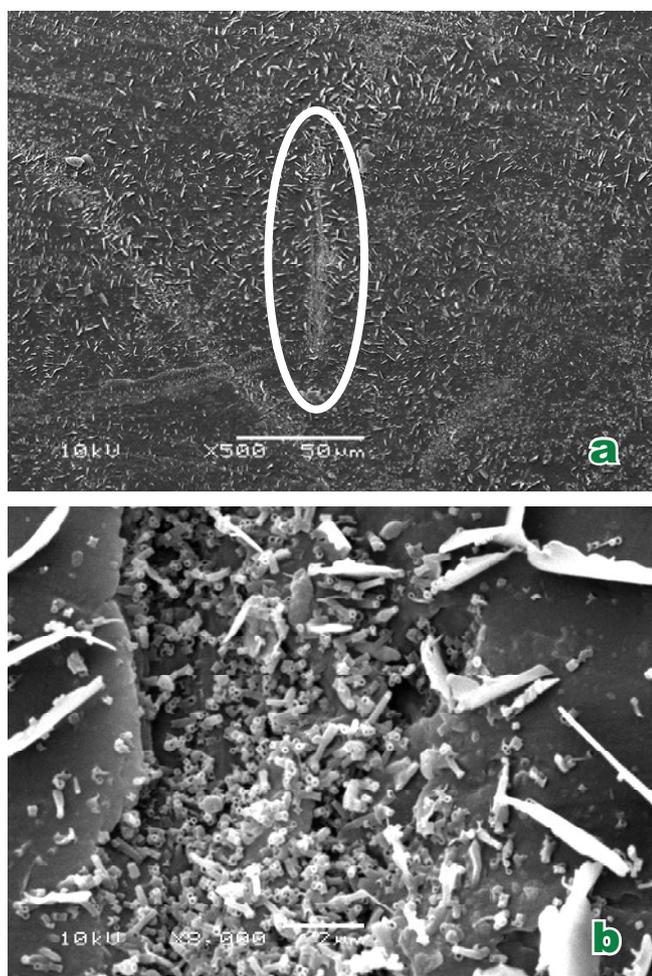


FIGURA 5: Fendas encontradas na superfície cuticular de frutos de maçã cv. Fuji escovados com cerdas pesadas com a presença de cristalóides em seu interior. Figura b mostra detalhe da área delimitada na figura a. Porto Alegre – RS, 2006.

Assim, a remoção mecânica das ceras pelas cerdas durante a escovação poderia ter ocasionado um efeito de estimular a síntese de compostos cerosos para preencher tais espaços e proteger os tecidos contra estresses do ambiente.

Oster (2004), estudando o tratamento com calor no controle de podridão branca em maçãs Fuji, também testou o efeito das escovas da máquina classificadora na remoção física do inóculo. Segundo a autora, a escovação tem se mostrado efetiva na redução da percentagem de frutos infectados. A redução na percentagem de podridão branca encontrada em seus experimentos poderia estar relacionada à eliminação física do inóculo da superfície das maçãs pelas cerdas das escovas.

Os experimentos conduzidos não permitiram concluir com precisão se a escovação é eficaz na remoção de microorganismos na superfície cuticular visto que os frutos quase não apresentavam inóculo inicial na instalação do experimento. Em poucas amostras, foi observada a presença de hifas de fungos.

De acordo com Oster (2004), citando Fallik (2001), as escovas ocasionariam a oclusão de fraturas e microferimentos na superfície da epiderme dos frutos, dificultando a penetração do patógeno. Neste trabalho, tais efeitos de oclusão de fraturas pela escovação, mencionados pelos autores, não foram observados.

Ao aplicar-se um tratamento de escovação por um tempo mais longo, no caso cinco minutos, os efeitos anteriormente mencionados de formação de fendas orientadas e remoção parcial ou completa de cristalóides se tornaram mais evidentes, como já era esperado. Portanto, visualizou-se com mais precisão o que a escovação ocasiona na superfície cuticular de maçãs (Figura 6).

As amostras coletadas das maçãs previamente beneficiadas e classificadas comercialmente mostraram um padrão similar (Figuras 7 e 8) àquelas que foram tratadas no protótipo de máquina classificadora presente no Laboratório de Pós-colheita da Faculdade de Agronomia da UFRGS. Foram observadas fendas e arraste de cristalóides provavelmente oriundos do processo de escovação (Figuras 7 e 8). Estas fendas apresentavam cristalóides no seu interior (Figura 7 c).

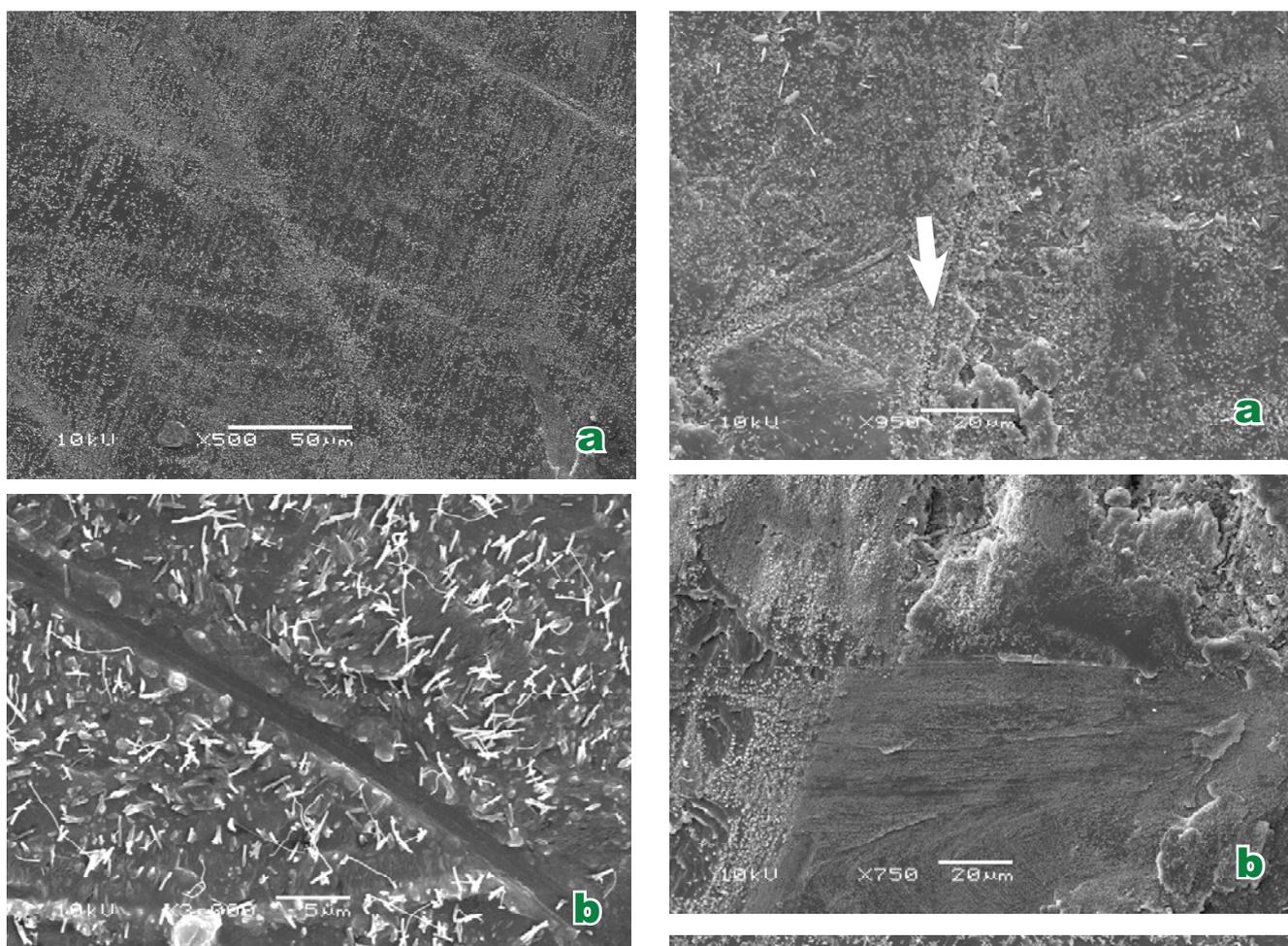


FIGURA 6: Efeito da escovação por cinco minutos no arraste e na remoção de cristalóides da superfície cuticular da cv. Fuji (a) e Gala (b). Porto Alegre – RS, 2006.

Na cultivar Gala, também se observou o fenômeno de arraste em função da escovação (Figura 8). No entanto, esta não apresentou o arraste de cristalóides de ceras nem sua remoção como evidenciado para Fuji, provavelmente porque esta cultivar não apresenta tanta riqueza de cristalóides de cera em sua superfície cuticular.

De acordo com Montero (2007), as escovas de estabelecimentos comerciais muitas vezes se encontram-se em más condições apresentando-se gastas pela idade e muito mais duras, podendo produzir um efeito muito mais drástico na remoção do conteúdo de ceras da cutícula. Em termos de pós-colheita é importante salientar que esta é uma camada protetora contra estresse do ambiente,

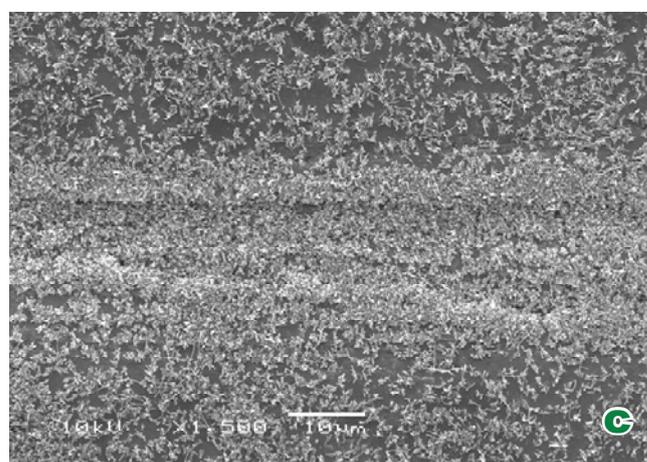


FIGURA 7: Arraste e remoção parcial de cristalóides de ceras epicuticulares de maçãs passadas pela máquina classificadora comercial. Cv. Fuji arraste (a), fendas (b seta e c) e cristalóides no interior das fendas (c). Porto Alegre – RS, 2006.

e por tal razão é importante entender as modificações que ocorrem nela em função dos tratamentos dados após a colheita.

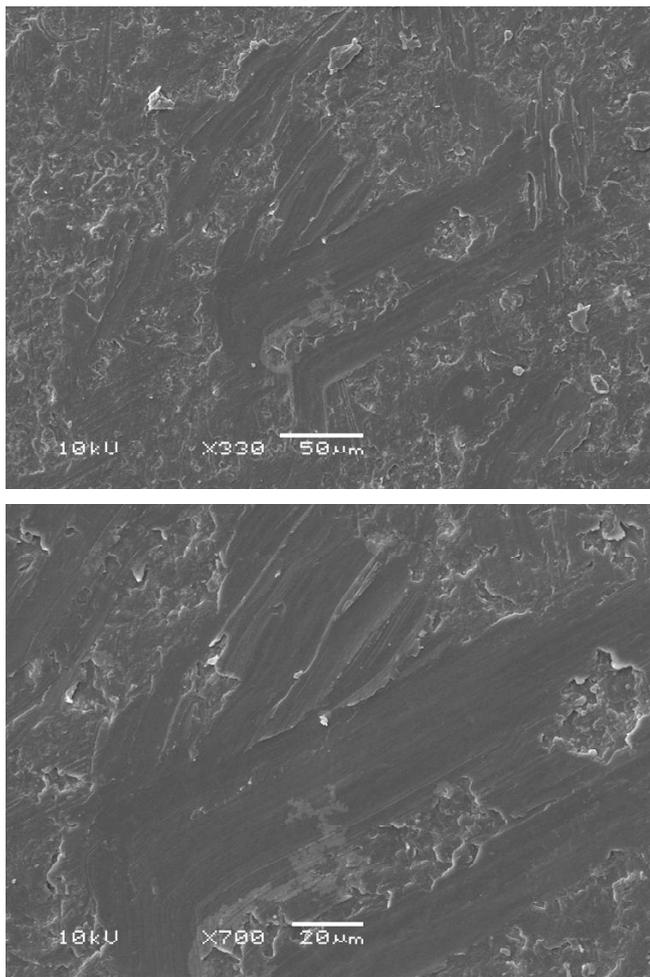


FIGURA 8: Arraste de ceras da cutícula de maçã cv. Gala passada pela máquina classificadora da empresa Mercochem. Porto Alegre – RS, 2006.

Os resultados obtidos comprovam que a escovação dos frutos provoca alterações na camada cuticular, arrastando, modificando a estrutura e removendo cristalóides da camada de ceras epicuticulares, formando fendas na superfície.

Além disso, não houve diferença nos efeitos provocados na superfície da cutícula de maçãs em função dos dois tipos escovas testadas.

A máquina classificadora utilizada para classificação comercial é capaz de produzir efeitos similares aos encontrados nos experimentos com escovação, removendo parcialmente o conteúdo ceroso protetor da cutícula de maçãs.

É importante salientar que o uso de cerdas macias durante a escovação poderia atenuar os efeitos de

remoção das ceras protetoras naturalmente existentes nas maçãs. Outra alternativa poderia ser a aplicação de ceras comerciais, como a de carnaúba, para produzir um efeito de recobrimento, assim protegendo os frutos durante sua vida pós-colheita.

## Referências

- Baker, E. A. 1974. The influence of environment on leaf wax development in *Brassica oleracea gemmifera*. **New Phytology**, **73** (5): 955-966.
- Barnes, J. D.; Cadoso-Vilhena, J. 1996. Interactions between electromagnetic radiation and the plant cuticle. In: Kerstiens G. (Ed.) **Plant cuticles and integrated functional approach**. Bios Scientific, Oxford, UK, p.157-174.
- Belding, R. D.; Blankenship, S. M.; Yonge, E.; Leidy R. B. 1998. Composition and variability of epicuticular waxes in apple cultivars. **Journal of American Society of Horticultural Science**, **123** (3): 348-356.
- Castro, L. A. S. de; Sanhueza, R. M. V.; Cantillano, R. F. F. 2002. Metodologia para observação da camada de cera em maçãs utilizando microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, **24** (3): 774-775.
- Faust, M.; Shear, C. B. 1972. Fine structure of the fruit surface of three apple cultivars. **Journal of American Society of Horticultural Science**, **110** (2): 166-171.
- Ferguson I. B.; Ben-Yehoshua, S.; Mitcham, E. J.; McDonald, R. E.; Lurie, S. 2000. Postharvest heat treatments: Introduction and workshop summary. **Postharvest Biology and Technology**, **21** (1): 1-6.
- Girardi, L. C. 2004. **Frutas do Brasil, Maçã Pós-colheita**. Embrapa, Brasília, Brasil, 109pp. (Informação Tecnológica)
- Holloway, P. J. 1969. The effects of superficial wax on leaf wettability. **Annual Applied Biology**, **63**: 145-153.
- Holloway, P. J. 1971. The chemical and physical characteristics of leaf surfaces. In: Preece, T. F. & Dickinson C. H. (Eds). **Ecology of leaf surface micro-organisms**. Academic Press, London, UK, p.39-53.
- Jenks, M. A.; Joly, R. J.; Peters, P. J.; Rich, P. J.; Axtell, J. D.; Ashworth E. N. 1994. Chemically induced cuticle mutation affecting epidermal conductance to water vapour and disease susceptibility in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Plant Physiology**, **105** (4): 1239-1245.
- Jenks, M. A.; Tuttle, H. A.; Eigenbrode, S. D.; Feldmann, K. A. 1995. Leaf epicuticular waxes from the *Eceriferum* mutants in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, **108** (1): 369-377.
- Montero, C. R. S. 2007. Alterações na cobertura cerosa de maçãs em função de tratamentos pós-colheita. **Anais do X Encontro Nacional Sobre Fruticultura de Clima Temperado**, Fraiburgo, Brasil, p.281.
- Neinhuis, C.; Koch, K.; Barthlott, W. 2001. Movement and regeneration of epicuticular waxes through plant cuticles. **Planta**, **213** (3): 427-434.

- Oster, A. H. 2004. **Tratamento com calor no controle de *Botryosphaeria dothidea* (Maug.) Ces. & De Not.) em Maçãs cv. Fuji.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 90pp.
- Riederer, M.; Schreiber, L. 1995. Waxes – The transport barriers of plant cuticles. In: Hamilton, R. J. (Ed.) **Waxes: Chemistry, molecular biology and functions.** The Oily Press, Dundee, Scotland, p.131-156.
- Roy, S.; Conway, W. S.; Watada, A. E.; Sams, C. E.; Erbe, E. F. 1994. Heat treatment affects epicuticular wax structure and postharvest calcium uptake in ‘Golden Delicious’ apples. **HortScience**, **29** (9): 1056-1058.
- Schirra, M.; D’Hallewin, G.; Ben-Yehoshua, S.; Fallik, E. 2000. Host-pathogen interactions modulated by heat treatment. **Postharvest Biology and Technology**, **21** (1): 71-85.
- Schönherr, J. 1982. Resistance of plant surfaces to water loss: transport properties of cutin, suberin and associated lipids. In: Lange, O. L.; Nobel, O. S.; Osmond, C. B. & Zeigler, H. (Eds). **Encyclopedia of plant physiology.** Springer, New York, USA, p.153-179.
- Schönherr, J.; Kerler, F.; Riederer, M. 1984. Cuticular lipids as interfaces between plant and environment. **Developments in Plant Biology**, **9**: 491-498.
- Schreiber, L.; Kirsch, T.; Riederer M. 1996. Diffusion through cuticles: Principles and models. In: Kerstiens G. (Ed.). **Plant cuticles and integrated functional approach.** Bios Scientific, Oxford, p.109-120.
- Vogg, G.; Fisher, S.; Leide, J.; Emmanuel, E.; Jetter, R.; Levy, A. A.; Rieder, M. 2004. Tomato fruit cuticular waxes and their effects on transpiration barrier properties: Functional characterization of a mutant deficient in a very-long-chain fatty acid  $\beta$ -ketoacyl-CoA synthase. **Journal of Experimental Botany**, **55** (401): 1401-1410.