

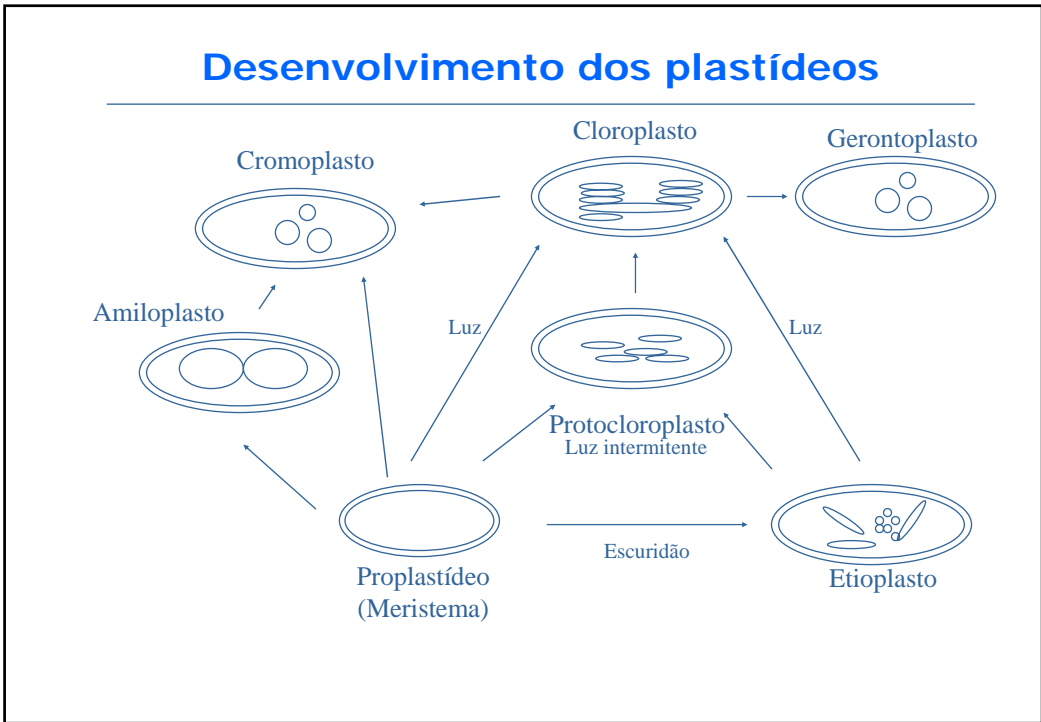
Fisiologia das alterações de cor

Fisiologia Pós-colheita

Mestrado em Ciência e Tecnologia Pós-colheita
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Domingos Almeida

Senescência dos plastídeos

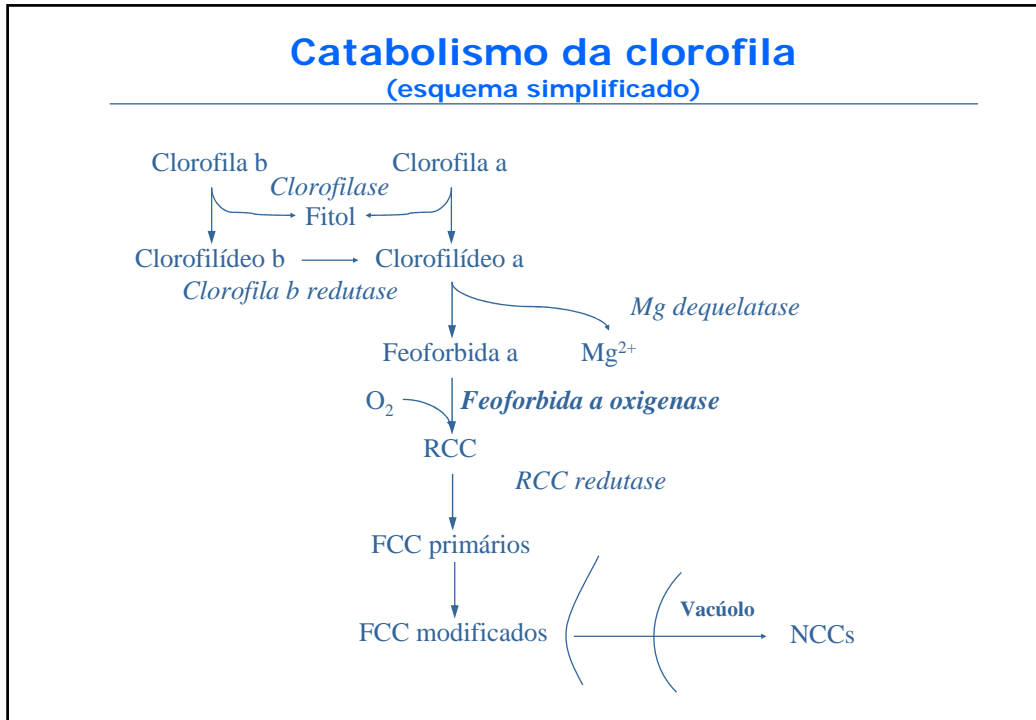


Senescência dos plastídeos

- **Senescência dos cloroplastos estudada em folhas**
 - Aplicabilidade aos frutos?
- **Transição do cloroplasto para gerontoplasto está sob controlo de genes nucleares**
- **Reversibilidade da senescência dos plastídeos**
 - Re-verdecimento de folhas
 - Frutos de citrinos
- **O catabolismo das clorofilas é igual na transição para cromoplasto e para gerontoplasto**
 - Cromoplasto: novas enzimas (codificadas no núcleo e plastídeo) responsáveis pela síntese de carotenóides
 - Gerontoplasto: existe apenas catabolismo

Catabolismo da clorofila

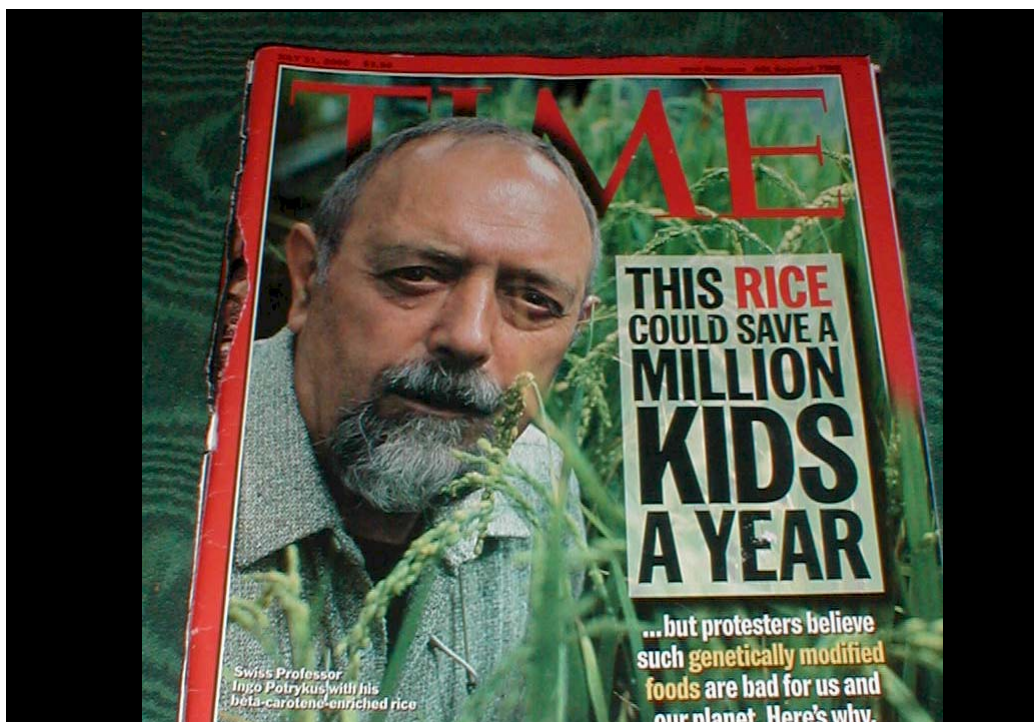
- **Catabolismo associado a um decréscimo da concentração**
- **Fenologia: alteração de cor durante:**
 - Senescência de folhas
 - Desenvolvimento das pétalas (antes da ântese)
 - Amadurecimento dos frutos
- **Qual a relevância do catabolismo da clorofila**
 - Recuperação de Mg e N?
 - PSII 240kDa associado com 36 Chl *a*
 - Chl representam menos de 6% do N total do complexo PSII
 - Os catabólitos lineares não-fotodinâmicos são armazenados no vacúolo
 - C e N das Chl permanecem na célula
 - Permitir acesso às proteínas e lípidos e desintoxicar a célula
 - Mutantes *stay green*

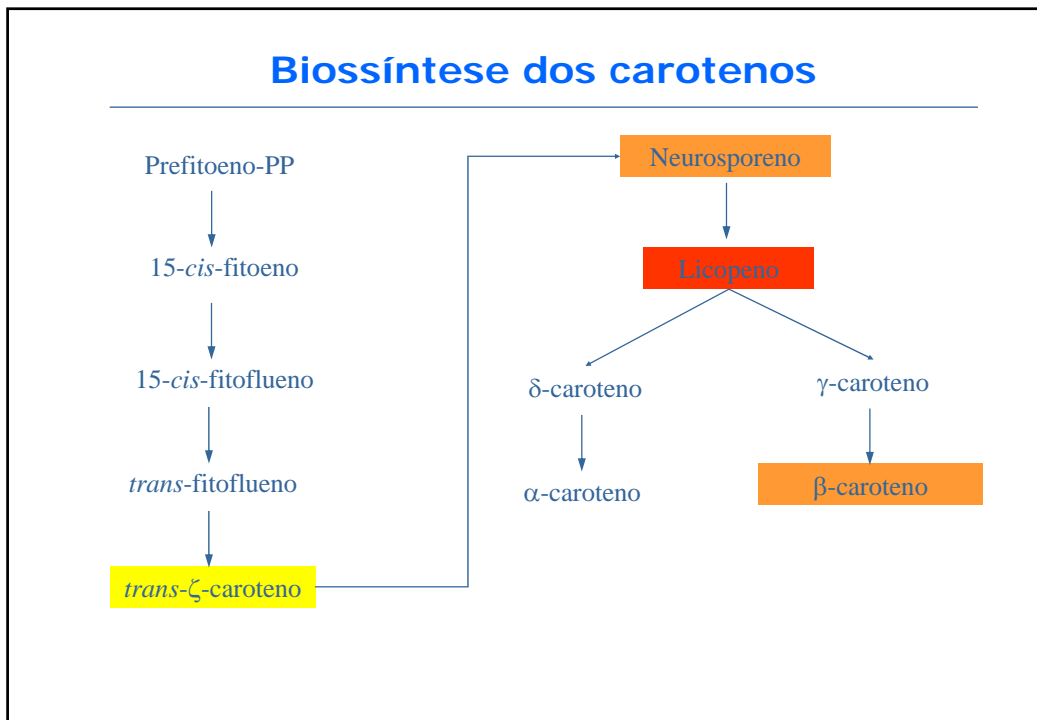
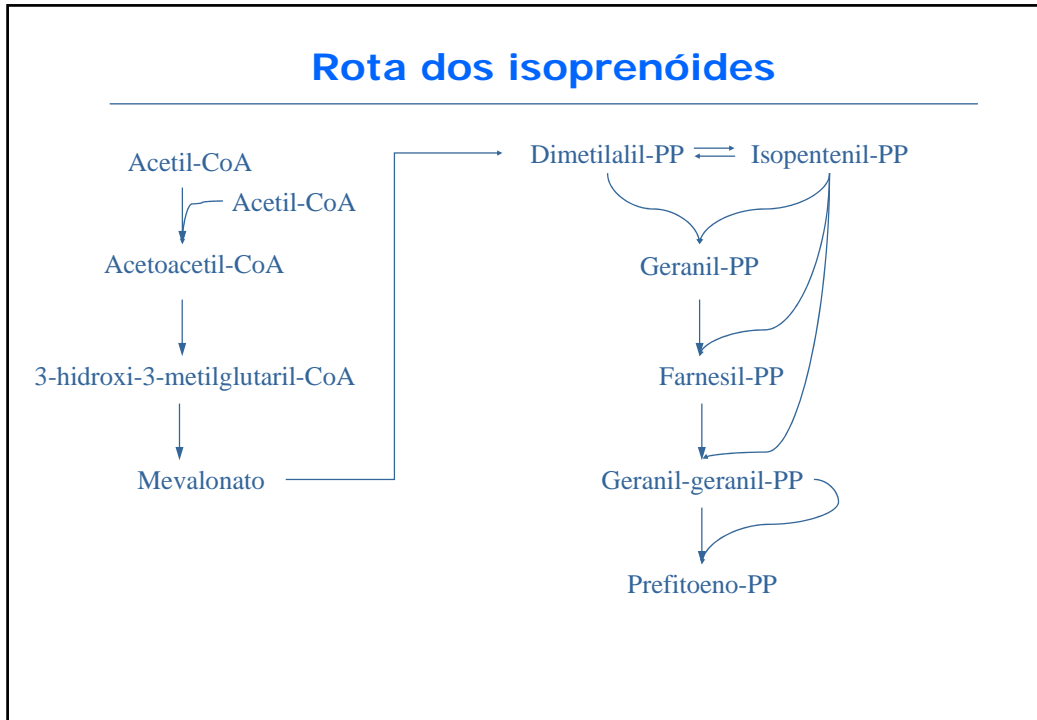


Carotenóides

Funções dos carotenóides

- **Órgãos fotossintéticos**
 - Pigmentos acessórios na captação da luz (400-600 nm)
 - Proteção contra foto-oxidação
 - Ciclo da xantofila
 - Determinantes estruturais nos complexos pigmentos-proteínas
- **Órgãos não-fotossintéticos**
 - Coloração de flores e frutos (algumas raízes)
 - Atracção de polinizadores e dispersão das sementes
- **Perspectiva antropocêntrica**
 - Valor estético da coloração
 - Valor nutritivo: Vitamina A
 - Valor nutracêutico: Acção antioxidante





Compostos fenólicos

Antocianinas

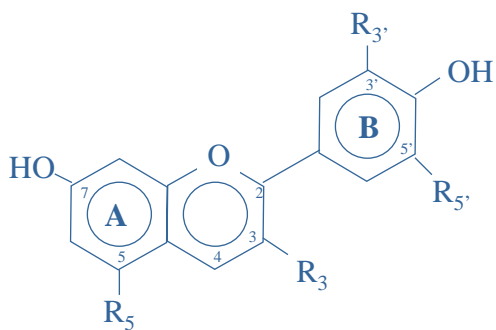
- **Sistemas modelo**

- Milho (*Zea mays*)
- Petúnia (*Petunia hybrida*)
- Boca-de-lobo (*Antirrhinum majus*)

- **Cor das antocianinas**

- Púrpura
- Amarelo
- Vermelho

Estrutura das antocinidinas e antocianinas



	R ₃ '	R ₅ '
Pelargonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH ₃	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Antocianidinas

R₃ = OH

R₅ = OH

Antocianinas

R₃ = O-açúcar ou O-açúcar acetilado

R₅ = OH ou O-glc

Antocianinas na uva

• Pigmentos primitivos

- Cianidina
- Delfinidina
- Teor aumenta após o pintor (1 semana) e decresce depois

• Pigmentos estáveis

- Peonidina
- Malvidina

• Pigmento intermédio

- Petunidina (intermédio entre delfinidina e malvidina)

• Diglucósidos

- *V. rupestris*, *V. riparia*, *V. labrusca*

• Monoglucósidos

- *V. vinifera*

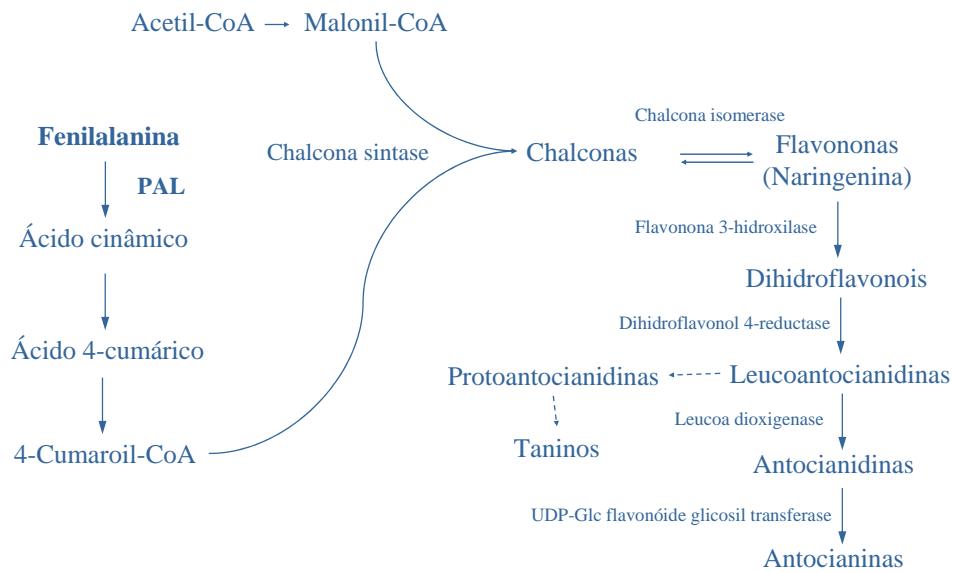
Antocianinas na uva

Proporção de antocianinas (%) nalgumas castas

	Malbec	Merlot	C. Sauvignon	Nebbiolo	Barbera
Delfininas	0,4	0,3	5,0	4,2	23,5
Cianinas	0,1	0,2	0,4	12,9	10,1
Petuninas	3,9	7,9	8,8	4,0	18,6
Peoninas	1,4	10,3	2,5	54,9	7,5
Malvinas	94,2	81,3	83,3	24,1	40,4

(Blouin & Guimberteau, 2000)

Biossíntese das antocianidinas



Nenhuma espécie apresenta todas as antocianinas possíveis

- **Flores:**
 - Rosa e crisântemo não sintetizam os derivados de delphinidina (púrpura) por falta da enzima flavonóide 3' 5' hidroxilase.
 - Petúnia não sintetiza pelargonidina (cor de laranja) porque a di-hidroflavonol-4-redutase (DFR) da petúnia não aceita o di-hidrokaempferol como substrato
- **Frutos:**
 - Pelargonidina é abundante em diversos frutos mas não é sintetizada nas **uvas**
- **Existem apenas 6 antocianidinas, mas**

Efeito da luz na expressão de genes da biossíntese das antocianinas

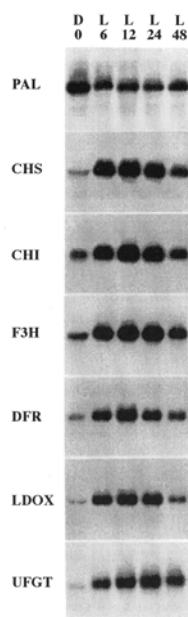


Figure 1.6. Northern analysis of anthocyanin gene expression in grapevine seedlings. Seedlings were grown in darkness (D) and then exposed to light (L) for 6, 12, 24 and 48 hours. Total RNA extracted from the seedlings was northern blotted and probed with the grapevine cDNA clones encoding *pal*, *chs*, *chi*, *f3h*, *dfp*, *ldox* and *ufgt*. Reproduced from Plant Molecular Biology, Sparvoli *et al.* "Cloning and molecular analysis of structural genes involved in flavonoid and stilbene biosynthesis in grape (*V. vinifera* L.)", 24: 743-755: 1994.

- **Plântulas produzidas às escuras (D) e depois expostas à luz durante 6 a 48 h**

(Boss & Davies, 2001)

Acumulação de antocianinas e mRNA na película

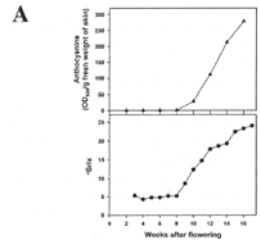
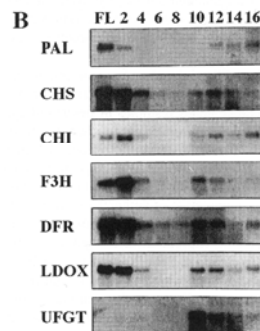


Figure 1.7. Total anthocyanin accumulation and northern analysis of anthocyanin gene expression during the development of grape berry skins. **A)** Changes in total anthocyanins per gram fresh weight of berry skin (top) and changes in total soluble solids in the berry juice, measured as °Brix (bottom) during the development and ripening of Shiraz grape berries. The vertical, dotted line represents véraison. **B)** Northern blots of total RNA from grape flowers (FL) and grape berry skin samples taken at fortnightly intervals throughout development, probed with grape cDNA clones for *pal*, *chs*, *chi*, *f3h*, *dfr*, *ldox* and *ufgt*. The numbers indicate weeks postflowering at which the RNA was extracted from berry skins. Reproduced from Plant Physiology, Boss *et al.* "Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *V. vinifera* L. cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation", 111: 1059-1066: 1996, with permission from the American Society of Plant Physiologists.



(Boss & Davies, 2001)

Expressão de genes da biossíntese das antocianinas em castas brancas e tintas

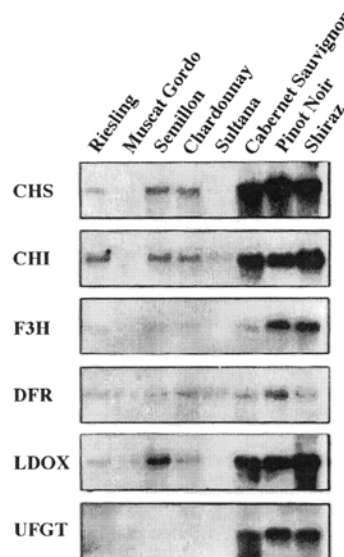


Figure 1.8. Northern analysis of anthocyanin gene expression in the skins of various grapevine varieties. Total RNA was isolated from the skins of ripe berries from the varieties indicated at the top of the figure. Northern blots of the RNA were probed with grape cDNA clones for *chs*, *chi*, *f3h*, *dfr*, *ldox* and *ufgt*. Reprinted from Plant Molecular Biology, Boss *et al.* "Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes", 32: 565-569: 1996.

(Boss & Davies, 2001)

Fenilpropanóides induzidos por stresses

- **Elevada irradiância, UV**

- Antocianinas
- Flavonas
- Isoflavonóides
- Psoralenos
- Esteres de sinapil

- **Ataque de patogénios**

- Pterocarpanas
- Isoflavanas
- Isoflavonóides prenilatados
- Cumarinas
- Stilbenos
- Furanocumarinas
- 3-deoxiantocianidinas
- Flavanois
- Auronas

(Dixon & Paiva, 1995)

Fenilpropanóides induzidos por stresses

- **Mensageiro (signaling)**

- Ácido salicílico (associado à resposta à patogénese)

- **Ferimentos**

- Psoralenos
- Cumarinas
- Cumestrol
- Ácido clorogénico
- Esteres de ácido ferúlico
- Ácidos fenólicos associados à parede celular
- Lenhina
- Suberina

(Dixon & Paiva, 1995)

Fenilpropanóides induzidos por stresses

- **Baixa temperatura**
 - Antocianinas
- **Deficiência de P**
 - Antocianinas
- **Deficiência de Fe**
 - Ácidos fenólicos
- **Deficiência de N**
 - Flavonóides
 - Isoflavonóides

(Dixon & Paiva, 1995)

Polifenol Oxidase

Polifenol oxidase

- **1,2-Benzenediol:oxigénio oxidoreductase (EC 1.10.3.1)**
- **Sinónimos**
 - Catecol oxidase, catecolase, difenol oxidase, *o*-difenolase, fenolase, tirosinase
- **Distribuição e significado biológico da enzima**
 - Plantas e mamíferos
 - Algumas bactérias, fungos e artrópodos
 - Sempre associada com pigmentação escura
 - Inexistente nos albinos: não desempenha papel vital
 - Função protectora

Propriedades gerais da PPO das plantas

- Localizada nos plastídeos
- Gene nuclear, tradução no citoplasma e proPPO importada para plastídeo
- Diversas isoenzimas
- Formas solúveis e associadas a membranas
- Contém Cu como grupo prostético
- Massa molecular: 38 – 62 kDa
- Converte *o*-di-hidroxfenóis em *o*-benzoquinonas
- O₂ é substrato
- Algumas isoformas hidroxilam monofenóis

Substratos da PPO

- ***o*-Dihidroxifenóis + O₂ → *o*-benzoquinonas**
- **Grupos –OH oxidáveis são adjacentes (*orto*)**
- **Exemplos**
 - Ácidos benzóicos
 - Ácidos cinâmico, cafeico, e ferúlico
 - Flavonóis (kaempferol, quercitina, mircitina)
 - Monómeros flavan-3-ol (precursores de taninos)
 - Antocianidinas

Formas de controlar o escurecimento enzimático em alimentos

- **Calor**
 - > 50 °C
 - Prejudica cor, aroma e textura
 - Em uvas tintas: 3 min. a temperatura > 60 °C antes da vinificação
- **Remoção de polifenóis**
 - β-Ciclodextrinas
 - Polietilenoglicol
 - Poli(vinil polipirrolidona)
- **Inibidores da PPO**
 - Ácidos benzóicos e derivados
 - pH < 4,0
 - Ácido cítrico pode quelatar Cu a pH < 4
- **Remoção do O₂**
 - Atmosfera
 - Ascorbato
 - Bissulfitos
 - Tiois
- **Biologia molecular**