

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS ‘PALMER’ COM
SORBITOL SOB ARMAZENAMENTO A BAIXAS
TEMPERATURAS

Maryelle Barros da Silva
Engenheira Agrônoma

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS ‘PALMER’ COM
SORBITOL SOB ARMAZENAMENTO A BAIXAS
TEMPERATURAS

Maryelle Barros da Silva

Orientador: **Prof. Dr. Gustavo Henrique de Almeida Teixeira**

Coorientadores: **Prof. Dr. Tiago Santana Balbuena**

Dr. Alex Guimarães Sanches

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal).

S586c

Silva, Maryelle Barros da

Conservação pós-colheita de mangas 'Palmer' com sorbitol sob armazenamento a baixas temperaturas / Maryelle Barros da Silva. -- Jaboticabal, 2024

114 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Gustavo Henrique de Almeida Teixeira

Coorientador: Tiago Santana Balbuena

1. Mangífera indica L.. 2. Polióis. 3. Metabolismo oxidativo. 4. SOD. 5. APX. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A pesquisa sobre o uso de sorbitol para conservar mangas 'Palmer' contra danos causados pelo frio tem um impacto muito importante em diversas áreas relacionadas aos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS). Cientificamente, esse estudo nos ajuda a entender melhor como preservar frutas após a colheita, mostrando que o sorbitol é um tratamento eficaz para reduzir danos pelo frio. Isso significa que podemos manter a qualidade das frutas, o que é ótimo para a saúde dos consumidores e também para o meio ambiente, já que promove práticas agrícolas mais sustentáveis. Economicamente, a redução das perdas pós-colheita aumenta a rentabilidade dos produtores de mangas. A aplicação das descobertas podem ajudar produtores a manter a qualidade dos produtos e expandir seus mercados de exportação. A pesquisa também contribui para o desenvolvimento sustentável, ao reduzir perdas pós-colheita e melhorar a conservação das mangas, promovendo o uso eficiente dos recursos naturais e diminuindo o desperdício de alimentos, fundamental para a segurança alimentar e a gestão sustentável dos recursos agrícolas. O estudo foca na biotecnologia e fisiologia pós-colheita, nos dando novas informações sobre como o sorbitol pode proteger as frutas. Esse conhecimento é muito importante para desenvolver estratégias de conservação de frutas em condições adversas, especialmente com as mudanças climáticas que estamos enfrentando. Em resumo, essa pesquisa tem um impacto muito amplo e positivo, está alinhada com os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável e traz avanços significativos em várias áreas.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Research into the use of sorbitol to preserve 'Palmer' mangoes against cold damage has a very important impact in several areas related to the Sustainable Development Goals (SDGs). Scientifically, this study helps us better understand how to preserve fruit after harvest, showing that sorbitol is an effective treatment for reducing cold damage. This means we can improve the quality of fruit, which is great for consumer health and also for the environment, as it promotes more sustainable agricultural practices. Economically, reducing post-harvest losses increases the profitability of mango producers. Applying the findings could help producers improve product quality and expand their export markets. The research also contributes to sustainable development by reducing post-harvest losses and improving the conservation of mangoes, promoting the efficient use of natural resources and reducing food waste, which is fundamental for food security and the sustainable management of agricultural resources. The study focuses on biotechnology and post-harvest physiology, giving us new information about how sorbitol can protect fruit. This knowledge is very important to develop fruit conservation strategies in adverse conditions, especially with the climate changes we are facing. In short, this research has a very broad and positive impact, is aligned with the Sustainable Development Goals and brings significant advances in several areas.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS 'PALMER' COM SORBITOL SOB ARMAZENAMENTO A BAIXAS TEMPERATURAS

AUTORA: MARYELLE BARROS DA SILVA

ORIENTADOR: GUSTAVO HENRIQUE DE ALMEIDA TEIXEIRA

COORIENTADOR: TIAGO SANTANA BALBUENA

COORIENTADOR: ALEX GUIMARÃES SANCHES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. GUSTAVO HENRIQUE DE ALMEIDA TEIXEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
GUSTAVO HENRIQUE DE ALMEIDA TEIXEIRA
Data: 11/06/2024 11:07:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ANGELO PEDRO JACOMINO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Vegetal / ESALQ USP Piracicaba/SP



Documento assinado digitalmente
ANGELO PEDRO JACOMINO
Data: 10/06/2024 18:23:01-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Químicas e Biológicas / IB UNESP Botucatu



Documento assinado digitalmente
GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA
Data: 10/06/2024 20:03:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. POLIANA CRISTINA SPRICIGO (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
POLIANA CRISTINA SPRICIGO
Data: 12/06/2024 11:28:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pós-doutorando JUAN RICARDO ROCHA (Participação Virtual)
Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) / CENA USP Piracicaba/SP



Documento assinado digitalmente
JUAN RICARDO ROCHA
Data: 11/06/2024 18:14:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 29 de maio de 2024

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

MARYELLE BARROS DA SILVA, natural de Pacajá, Estado do Pará, nasceu no dia 08 de maio de 1991. Iniciou o curso de Engenharia Agrônômica em julho de 2010 pela Universidade Federal do Pará (UFPA), Campus Altamira – PA. Durante a sua graduação desenvolveu o Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado “Caracterização física e sensorial de variedade de mandioca (*Manihot Sculenta*) minimamente processadas e tratadas termicamente” e obteve o título de Engenheira Agrônoma em novembro de 2014. Em março de 2018, ingressou no curso de Mestrado em Produção Vegetal da Universidade Estadual de Goiás, Campus Ipameri, Estado de Goiás obtendo o título de Mestre em fevereiro de 2020, com a dissertação intitulada “Sistema de arranjo do feijoeiro em consórcio com híbrido de mamona de pequeno porte”. Em março de 2020, iniciou o curso de Doutorado no Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal), da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV), Campus de Jaboticabal, integrando o grupo de pesquisa em Fruticultura e Pós-colheita (FrutUnesp), com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). A trajetória acadêmica é dedicada ao estudo da fisiologia pós-colheita de frutas e hortaliças.

“O Senhor é meu pastor e nada me faltará. (salmo 23,1)”

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Mariete e Valber, obrigada por tudo, foi um longo caminho, cheguei até aqui graças ao apoio incondicional que recebi.

AGRADECIMENTOS

A Deus, agradeço por me abençoar e guiar até esta jornada e por sempre ser meu amparo em todos os momentos, sem Deus nada seria.

A minha família, meu pai Valber, minha mãe Mariete, meus irmãos Mayelle, Danielle, João Pedro e meu cunhado André Luiz, pelo amor, confiança e por estarem sempre dispostos a fazerem o possível e impossível para me ajudarem na realização dos meus objetivos, amo vocês.

A minha filha Maria Liz e ao meu companheiro Illys Janes, estes, que chegaram durante a jornada do Doutorado e que me dão força para continuar e conseguir realizar este sonho e todos os outros que ainda tenho, amo vocês demais!!

Aos amigos do grupo de pesquisa em Fruticultura e Pós-colheita (FrutUnesp) Vanessa Pedrosa e Maiqui Izidoro, obrigada pelos conhecimentos compartilhados e pela ajuda durante o desenvolvimento dos experimentos. Ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Henrique de Almeida Teixeira, pela orientação, confiança. Compreensão nos meus momentos de dificuldade, lhe vejo como um exemplo profissional a seguir, muito obrigada, qualquer coisa que escreva não será capaz de descrever tudo que fizeste por mim durante esta jornada.

Aos grandes amigos que o Mestrado e Doutorado me trouxe, em especial, Thiago Campos, Ligia, Thais, Juan, Júlia, Maricélio, Gabi, Elaine, Natália, Cecília, Rogério, Luciana, obrigada pelo apoio e ajuda, nos momentos que mais precisei, vocês nunca largaram a minha mão, saiba que cada um de uma forma, encheu minha vida de momentos especiais.

Aos meus coorientadores Dr. Alex Guimarães Sanches e Dr. Tiago Santana Balbuena, obrigada pelos ensinamentos e por estarem prontamente dispostos a me ajudar sempre que os procurei.

Aos apoiadores, Ademar Ogata (Ogata Citrus) e AGRODAM que forneceram as frutas utilizadas neste estudo. Ao Departamento de Ciências da Produção Agrícola e a todos os seus funcionários.

Aos funcionários do RIPADO, obrigada pelo apoio durante a instalação e acompanhamento do experimento, em especial ao Sr. Ademilson Servidone, que por

muitas vezes me socorreu nos momentos difíceis durante a instalação do segundo experimento.

Aos colegas pós-graduando e técnicos dos Laboratórios Biotecnologia e Melhoramento de Plantas, Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas, Laboratório de Proteômica Vegetal e Laboratório de Biologia.

Aos professores da instituição que passaram pela minha formação, em especial ao Dr. Arthur Bernardes, Dr. Rinaldo, Dra. Sandra Helena Unêda-Trevisoli, Dra. Eliana G. Macedo Lemos, Dra. Priscila Lupino Gratão, obrigada por me cederem seus laboratórios para que esta pesquisa fosse concluída.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (FCAV), Campus Jaboticabal, em especial ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal), pela oportunidade e valioso apoio durante minha jornada de formação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

RESUMO.....	II
ABSTRACT	III
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	1
1 INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Mangueira, aspectos econômicos e nutricionais.....	3
2.2 Conservação Pós-colheita.....	4
2.3. Armazenamento a baixas temperaturas, atmosfera controlada e lesão por frio.....	5
2.4 Uso do sorbitol como agente de conservação.....	7
2.5 Metabolismo oxidativo.....	8
2.6 Proteômica.....	9
3. REFERÊNCIAS.....	10
CAPÍTULO 2 - Controlled atmosphere storage and sorbitol dipping minimize chilling injuries in ‘Palmer’ mangoes.....	18
Abstract	18
1. Introduction	19
2. Material and Methods	20
3. Results	25
4. Discussion	42
5. Conclusions	44
6. References.....	45
7. Supplementary material.....	52
CAPÍTULO 3 - Análise proteômica de mangas ‘Palmer’ submetidas ao dano por frio durante armazenamento sob atmosfera controlada e imersão em sorbitol.....	60
Resumo.....	60
Abstract.....	61
1. Introdução	62
2. Material e métodos	64
3. Resultados	69
4. Discussão	77
5. Conclusão	80
7. Referências	81
8. Material suplementar.....	85
CAPÍTULO 4 – Considerações Finais.....	101

CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS 'PALMER' COM SORBITOL SOB ARMAZENAMENTO A BAIXAS TEMPERATURAS

RESUMO: Estudos anteriores relataram o controle de sintomas causados por lesões por frio em mangas 'Palmer' armazenadas sob atmosfera controlada (AC) a 8°C por 30 dias quando imersas em soluções contendo 2,5% de sorbitol. Contudo, não há informações sobre a eficácia do tratamento com sorbitol em outras atmosferas e/ou em combinação com temperaturas mais baixas, bem como sobre os aspectos regulatórios deste tratamento por meio de análise de proteômica. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da imersão de mangas 'Palmer' em soluções de sorbitol a 0,1 e 2,5% (m/v) quando armazenadas sob atmosfera controlada (AC) sem modificação das concentrações de gases (21 kPa O₂ + 0,03 kPa CO₂) a 8°C e 95% de umidade relativa (UR), bem como sob AC com 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂ a 4°C e 95% UR por 28 dias. Foram avaliados o desenvolvimento do dano pelo frio, os parâmetros de qualidade e o metabolismo oxidativo dos frutos. A lesão pelo frio (chilling injury - CI) foi correlacionada com o aumento da perda de massa fresca (FWL) e alterações na coloração do epicarpo (L_{peel} , h°_{peel} e C_{peel}) e mesocarpo (L^*_{pulp}). A peroxidação lipídica (LP_{pulp} , LP_{peel}) e o teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_{2peel} , H_2O_{2pulp}) foram associados ao desenvolvimento do CI, principalmente após a transferência para o ambiente. O tratamento com sorbitol 2,5% foi mais eficaz em minimizar os sintomas de injúria pelo frio e não comprometeu a qualidade dos frutos, principalmente quando armazenados a 4°C em associação com AC contendo 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂. Esse tratamento reduziu a peroxidação lipídica e aumentou as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) e ascorbato peroxidase (APX) no epicarpo e mesocarpo, proporcionando maior tolerância ao frio. A análise de proteômica por meio do enriquecimento e classes de proteínas, sugerem que o sorbitol (1,0 e 2,5 %) reduziu os efeitos potenciais do dano pelo frio nos frutos da manga 'Palmer', especialmente após a exposição a baixas temperaturas devido a regulação e expressão aumentada de proteínas de choque térmico, tais como as chaperonas da família Hsp70 e de transporte mitocondrial, no entanto, são necessários estudos adicionais para compreender como a molécula de sorbitol atua como osmoprotetor a nível celular na redução do dano pelo frio. Concluindo, a aplicação de sorbitol a 2,5% foi mais eficiente em reduzir os danos causados pelo frio, mantendo a qualidade dos frutos e melhorando o metabolismo oxidativo mesmo em temperaturas estressantes aos frutos.

Palavras-chave: *Mangifera indica* L., polióis, metabolismo oxidativo, SOD, APX.

POSTHARVEST CONSERVATION OF 'PALMER' MANGOES TREATED WITH SORBITOL UNDER LOW TEMPERATURES

ABSTRACT: Previous studies have reported the control of symptoms caused by chilling injuries in 'Palmer' mangoes stored under controlled atmosphere (CA) at 8°C for 30 days when immersed in solutions containing 2.5% sorbitol. However, there is no information on the effectiveness of sorbitol treatment in other atmospheres and/or in combination with lower temperatures, as well as the regulatory aspects of this treatment through proteomic analysis. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of immersing 'Palmer' mangoes in sorbitol solutions at 0.1 and 2.5% (w/v) when stored under controlled atmosphere (CA) without changing gas concentrations (21 kPa O₂ + 0.03 kPa CO₂) at 8°C and 95% relative humidity (RH), as well as under CA with 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂ at 4°C and 95% RH for 28 days. The development of chilling injury (CI), quality parameters, and oxidative metabolism of the fruit were periodically evaluated. Chilling injury (CI) was correlated with increased fresh weight loss (FWL) and changes in the epicarp (L_{peel} , h°_{peel} and C_{peel}) and mesocarp (L^*_{pulp}) color. Lipid peroxidation (LP_{pulp} , LP_{peel}) and hydrogen peroxide content ($H_2O_2_{\text{peel}}$, $H_2O_2_{\text{pulp}}$) were associated with the development of CI, especially after transfer to ambient. Treatment with 2.5% sorbitol was more effective in minimizing the symptoms of chilling injury and did not compromise the quality of the fruit, especially when stored at 4°C in association with CA containing 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂. This treatment reduced lipid peroxidation and increased the activities of the enzymes superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) in the epicarp and mesocarp, providing greater tolerance to cold. Proteomics analysis via protein enrichment and classes suggested that sorbitol (1.0 and 2.5%) reduced the potential effects of chilling injury on 'Palmer' mangoes, especially after exposure to low temperatures due to the regulation and increased expression of heat shock proteins, such as chaperones of the Hsp70 family and mitochondrial transport. However, additional studies are needed to understand how the sorbitol molecule acts as an osmoprotector at a cell level in reducing chilling damage. To conclude, the application of 2.5% sorbitol was more efficient in reducing damage caused by cold, maintaining fruit quality, and improving oxidative metabolism even at stressful low temperatures.

KEYWORDS: *Mangifera indica* L., polyols, oxidative metabolism, SOD, APX.

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A mangueira (*Mangifera indica* L.) é uma fruteira tropical, amplamente cultivada em países tropicais e subtropicais. Globalmente a área plantada com mangueiras é de cerca de 3,7 milhões de hectares e seu fruto, a manga, é considerada a fruta tropical mais popular no mercado mundial em função de suas características únicas e aspecto exótico (Zhan et al., 2023; Vilvert et al., 2022).

Conforme o observado em outros produtos hortícolas, o armazenamento refrigerado é a principal tecnologia pós-colheita utilizada para aumentar a vida útil da manga, pois as baixas temperaturas diminuem a atividade metabólica deste fruto (Alvarez et al., 2020). Desta forma, mangas mantidas entre 8–13°C apresentam vida útil pós-colheita de até 21 – 30 dias, dependendo da cultivar e do estágio de maturação das frutas (Singh et al., 2013; Penchaiya et al., 2020). Todavia, o armazenamento prolongado a temperaturas inferiores a 13°C pode levar ao desenvolvimento de um distúrbio fisiológico conhecido como dano por frio ou “chilling injury” (CI), resultando em perdas qualitativas e quantitativas (Zaharah e Singh, 2011; Zhang et al., 2017).

Os sintomas do dano por frio em mangas são mais evidentes no epicarpo e se caracterizam pela presença de manchas escuras, aprofundadas, semelhante a queimaduras, que prejudicam a comercialização da fruta *in natura*, pois esse defeito pode tornar o produto inaceitável, dependendo dos padrões estabelecidos pelo mercado. O mesocarpo também é afetado, pois os frutos podem apresentar amadurecimento irregular (Chaplin et al., 1991; Zhang et al., 2017).

Os mecanismos relacionados ao desenvolvimento do dano por frio nos vegetais se relacionam com a mudança na bicamada lipídica da membrana plasmática, ou seja, de um estado fluido mais flexível para uma fase de gel mais rígida, devido a exposição as baixas temperaturas. A mudança na rigidez leva a perda das funções e a ruptura das membranas celulares e, conseqüentemente a morte celular (Lyons et al., 1979). Neste sentido, vários trabalhos relataram a mudança da rigidez das membranas celulares em mangas com CI (Kane et al., 1978; Hidalgo et al., 1997; Agillon e Lizada, 2010; Kumpoun et al., 2017). A exposição a baixas temperaturas induz também a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO), como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radicais

superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e hidroxila ($\cdot OH$), que reagem com várias moléculas, resultando na peroxidação de lipídeos da membrana (Shewfelt e Rosário, 2000). Em mangas, o aumento no acúmulo de ERO tem sido correlacionado com a maior incidência do CI (Wang et al., 2008, Khaliq et al., 2016, Zhang et al., 2017 e Sanches et al., 2021) e a manifestação de muitos sintomas de dano por frio (Lyons e Raison, 1970; Raison e Lyons, 1986; Raison e Orr 1990; Sevillano et al., 2009).

O sorbitol é um poliálcool solúvel em água, de ocorrência natural em diversas frutas (Rice et al., 2020; Fang et al., 2020) e tem importante papel no ajuste osmótico do citoplasma sob condições de estresse, podendo estabilizar as membranas (Kanayama, 2009) e aumentar a tolerância ao estresse por frio (Ito et al., 2013). Isso se deve a capacidade dos polióis de se ligarem a água e diminuir a constante dielétrica, mesmo em temperaturas acima do congelamento (Shirgire et al., 2012), atuando como agentes osmoprotetores que têm sido relacionados à tolerância ao CI (Busttamante et al., 2016), contribuindo para a estabilização da membrana e evitando danos estruturais (Thomashow, 1999). O sorbitol também pode atuar como agente antioxidante, afetando a atividade de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT), além de eliminar as ERO (Yang et al., 2018).

Neste sentido, Sanches et al. (2021) relataram que mangas 'Palmer' armazenadas a 8°C por 30 dias quando tratadas com 2,5% sorbitol apresentaram menor acúmulo de H_2O_2 e atividade da polifenol oxidase (PPO), maior integridade da membrana (malondialdeído – MDA) e atividades mais elevadas das enzimas SOD, CAT e ascorbato peroxidase (APX), tanto no epicarpo quanto no mesocarpo. Comparado aos polióis propileno glicol e glicerol, a imersão em sorbitol foi sugerida como uma alternativa para aliviar o CI durante o armazenamento refrigerado de mangas desta cultivar. Em condições mais severas de tratamento quarentenário por frio a 1°C por 14 dias, a imersão em solução contendo 0,1% sorbitol foi a mais efetiva em amenizar o CI, por até 14 dias. Este efeito foi associado a menor concentração de MDA, H_2O_2 , menor atividade da PPO, e maior atividade das enzimas SOD, CAT e APX, além de teores mais elevados de ácido ascórbico, especialmente no pericarpo (Sanches et al., 2022). A associação da imersão de mangas 'Palmer' em soluções contendo 2,5 % sorbitol com armazenamento sob atmosfera controlada (AC) controlou o dano por frio por meio da ativação dos mecanismos

não-enzimáticos (ácido ascórbico e compostos fenólicos totais) e enzimáticos (SOD, CAT e APX) nos frutos mantidos a 8°C por 30 dias (Sanchez et al., 2022).

Apesar destes resultados, não há informações disponíveis quanto a efetividade do tratamento com sorbitol em outras atmosferas e/ou em associação com temperaturas mais baixas, bem como dos aspectos regulatórios deste tratamento por meio de análise de proteômica. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da imersão em soluções contendo 0,1 e 2,5% (m/v) de sorbitol em mangas 'Palmer' armazenadas sob AC sem modificação das concentrações dos gases a 8°C / 95% UR e sob AC com modificação dos gases a 4°C / 95% UR por 28 dias no desenvolvimento do dano por frio, qualidade, metabolismo oxidativo dos frutos e caracterizar redes bioquímicas e compreender plenamente a fisiologia molecular do efeito do tratamento com sorbitol no controle de CI via análise de proteômica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mangueira, aspectos econômicos e nutricionais

A mangueira é uma espécie frutífera tropical do gênero *Mangifera*, família Anacardiaceae, sendo originária da Ásia Meridional e do Arquipélago Indiano, onde sendo cultivada a mais de 4.000 anos (Paull; Duarte, 2011). Os frutos da mangueira, que são chamados de mangas, variam em formato, tamanho, coloração do epicarpo (casca) e mesocarpo (polpa), sabor e aroma, dependendo da cultivar (Oldoni et al., 2022). O fruto é uma drupa carnosa, composta por epicarpo (casca) e mesocarpo (polpa) comestível, que envolve o endocarpo fibroso e duro contendo uma única semente. A massa média dos frutos das diferentes cultivares de manga pode variar de menos de 80 a mais de 800 gramas (Yahia, 2011).

A manga vem se tornando cada vez mais importante no mercado global. Em 2021 foram produzidos em torno de 59,7 milhões de toneladas de mangas (FAO, 2021), cujos maiores produtores deste fruto foram a Índia, China, Tailândia, México, Indonésia, Paquistão e Brasil. Neste mesmo ano, foram relatados aproximadamente 76,9 mil hectares (ha) de área plantada com mangueiras no Brasil, sendo está concentrada em maior parte na região Nordeste (57,8 mil ha), o que representa aproximadamente 75,2%

do total de mangueiras plantadas no Brasil. A região Sudeste possui uma área de 18 mil ha, correspondendo cerca de 23,4% do total. Quanto aos estados nas diferentes regiões produtoras, o estado da Bahia possui 31,1 mil ha (40,48%), seguido do Pernambuco, com 15,9 mil ha (20,74%), São Paulo com 10,9 mil ha (14,2%), Minas Gerais com 5,8 mil ha (7,53%), Ceará, com 4,25 mil há (5,52%) e Rio Grande do Norte, com 2,74 mil ha (3,57%) (EMBRAPA, 2022).

A manga apresenta características nutricionais, funcionais e sensoriais que agradam aos consumidores, e esta é uma das principais frutas tropicais cultivadas no mundo. Seu principal uso é na forma de fruta fresca para o consumo *in natura* (Sousa et al, 2021), mas pode ser consumida também de forma processada como sucos, sorvetes, geleias, molhos, entre outros. Sob a perspectiva nutricional, 100 g de manga fresca da cultivar 'Palmer' contém 72 kcal, 0,4 g de proteínas, 0,2 g de gorduras, 19,4 g de carboidratos, 1,6 g de fibras, 783 ug de equivalentes de retinol e 65,5 mg de vitamina C (Taco et al., 2011).

Dentre as cultivares de mangas plantadas no Brasil, destacam-se as originada da Flórida, tais como a 'Tommy Atkins' que tem a maior área cultivada no país, cerca de 75% da área total. Todavia, a cultivar 'Palmer' vem ganhando destaque principalmente por ser uma planta semi-anã, de copa aberta, por produzir frutos de tamanho médio a grande, com pesos que podem variar de 400 a 600 g. Os frutos imaturos desta cultivar exibem uma coloração verde-arroxeadada, que evolui para um tom vermelho-escuro quando estão completamente maduros. A polpa é amarelada, possui textura firme e é praticamente isenta de fibras. Além disso, seu teor de açúcar, medido pelo teor de Brix, é de 19%, o que é superior ao da cultivar 'Tommy Atkins', contribuindo para o seu sabor distintamente aprimorado (EMBRAPA, 2006).

2.2 Conservação Pós-colheita

Dentre os produtos hortícolas, as frutas são consideradas extremamente perecíveis e susceptíveis à rápida deterioração, pois possuem aproximadamente de 80 a 90% de água em termos de massa. Além disso, a alta atividade metabólica e a susceptibilidade a

danos entre a colheita e o consumo final, levam a significativas perdas em termos de qualidade e quantidade (Dhall, 2013).

A conservação pós-colheita de frutas desempenha um papel importante na garantia da disponibilidade de alimentos saudáveis para os consumidores. No tocante a pós-colheita de mangas, é fundamental possuir conhecimento acerca do processo fisiológico dos frutos após a colheita, bem como compreender como isso influencia as práticas de manejo destinadas a preservar e aprimorar a qualidade das frutas (Yahia, 2011).

A manga é uma fruta climatérica que amadurece rapidamente após a colheita (Nije et al., 2022). Seu processo de amadurecimento é caracterizado por uma série de eventos fisiológicos e genéticos, destacadamente a síntese de etileno, com aumento da atividade respiratória, que levam a conversão do amido em açúcares solúveis devido à ação de enzimas hidrolíticas, a degradação da parede celular com a hidrólise da pectina, hemicelulose e celulose (Nije et al., 2023), afetando a firmeza do fruto, que é uma característica essencial de qualidade. Neste sentido, o amaciamento do fruto afeta o tempo de prateleira, o transporte de longa distância e contribui para a redução do valor comercial da fruta (Liu et al., 2019).

A qualidade sensorial das mangas é o resultado de uma série de processos bioquímicos que conduzem a modificações em suas características essenciais, tais como a coloração, sabor, aroma, textura, bem como a sua apresentação externa, que engloba dimensões, coloração e forma, além do valor nutricional (Bianchi et al., 2016). Estas particularidades desempenham um papel crucial na produção de mangas e variam consideravelmente conforme a cultivar plantada.

2.3. Armazenamento a baixas temperaturas, atmosfera controlada e lesão por frio

Várias técnicas pós-colheita podem ser empregadas visando a melhorar a preservação dos frutos e estender a vida útil durante a comercialização dos produtos hortícolas, como a utilização da refrigeração, atmosfera modificada, aplicação de revestimentos, tratamentos hidrotérmicos, atmosfera controlada, entre outros (Nunes et al., 2022). Dentre essas técnicas, a refrigeração é amplamente empregada durante o

armazenamento, comercialização, transporte dos frutos e a manutenção da cadeia de frio é fundamental para a manutenção da qualidade dos frutos.

O armazenamento refrigerado é o principal meio de conservação dos produtos hortícolas, pois com a redução e controle da temperatura ocorre diminuição do metabolismo e aumenta a vida útil pós-colheita dos produtos. A escolha correta da temperatura de armazenamento é de extrema importância para maximizar a conservação e evitar danos fisiológicos (Veiga et al., 2019). O resfriamento imediato e armazenamento a baixas temperaturas atrasa o início do amadurecimento em frutos climatéricos aumentando a sua vida útil (Yahia, 2009). Neste sentido, é fundamental manter um controle rigoroso da temperatura e da umidade relativa, pois, esses são os fatores mais críticos para assegurar a qualidade da fruta durante o período de armazenamento (Wei et al., 2021).

A manga tem uma vida pós-colheita curta à temperatura ambiente (7-14 dias), e temperaturas baixas são normalmente usadas para prolongar a vida útil pós-colheita, contudo as mangas são suscetíveis a lesão pelo frio quando mantidas abaixo de temperaturas críticas (Zhao et al., 2009). Em geral, a temperatura ideal para o armazenamento da manga varia entre 12 a 13°C (Medlicott et al., 1990; Kader, 2013), embora 10°C (Thomas, 1975) e 5°C (Abou-Aziz et al., 1976) também foram relatados como sendo temperaturas adequadas. Contudo, a sensibilidade das mangas a temperaturas abaixo de 10°C leva ao desenvolvimento de danos por frio ou *chilling injury*. Estes danos variam principalmente com o estágio de maturação da fruta, a cultivar e a duração e temperatura da exposição (Medlicott et al., 1990).

Outra técnica importante de conservação pós-colheita é a utilização de atmosfera modificada, pois a alteração da composição da atmosfera de armazenamento, ou seja, os níveis de oxigênio (O₂) e de dióxido de carbono (CO₂), também auxiliam na conservação dos frutos de mangueira (Yahia, 2009). O controle mais rígido da composição da atmosfera é obtido com o uso da destacadamente quando armazenados em níveis reduzidos de oxigênio e maiores de gás carbônico no interior das câmaras de armazenamento (Soethe et al., 2022).

Conforme relatado anteriormente, apesar do armazenamento a baixas temperaturas possibilitar a redução da atividade metabólica das frutas, manter sua qualidade e prolongar a vida útil pós-colheita, a escolha da temperatura de armazenamento deve ser realizada criteriosamente, uma vez que temperaturas muito baixas podem causar danos fisiológicos (Lima et al., 2023, Velasquez et al., 2023). Estes danos, também conhecidos como *chilling injury* (CI), causam modificação na coloração (interna e externa) das frutas, aparecimento de manchas aprofundadas no pericarpo, amadurecimento irregular ou desuniforme, mudanças de sabor e aroma, e rápida deterioração da fruta (Chitarra; Chitarra, 2005).

As lesões causadas pelo dano por frio surgem devido a uma perturbação na integridade e na funcionalidade da membrana plasmática das células, resultando em uma alteração no fluxo dos fluidos celulares, tanto para dentro quanto para fora das células. Isso acarreta o extravasamento de eletrólitos e de várias moléculas (Yahia et al., 2023).

2.4 Uso do sorbitol como agente de conservação

A utilização de polióis é uma alternativa para diminuir ou prevenir distúrbios causados pelo frio, dentre estes, destaca-se o sorbitol ($C_6H_{14}O_6$), que é um poliol de seis carbonos normalmente derivado da glicose, é amplamente utilizado em alimentos e produtos farmacêuticos (Zhou et al., 2024).

O sorbitol possui um índice glicêmico relativamente baixo, tornando-o adequado para consumo humano, sendo econômico em termo de fabricação, está disponível nas formas líquida e sólida, com uma variedade de temas líquidos para atender à demanda do mercado (Trivedi et al., 2023). O estado de redução superior do sorbitol em comparação aos açúcares também resulta em uma reserva energética mais robusta. Esse fator desempenha funções essenciais na eficiente metabolização de carboidratos, influenciando a acumulação de açúcares durante o desenvolvimento e amadurecimento das frutas, assim como na modulação das respostas aos estresses bióticos e abióticos (Wu et al., 2015).

O sorbitol é classificado como aditivo reconhecido como seguro (GRAS) de acordo com o Codex Alimentarius de 2023 e um número crescente de estudos relatam a partição

e a procura de açúcar solúveis tendo um papel fundamental na tolerância ao frio na pós-colheita de vários produtos hortícolas (Zhang et al., 2021). Nas frutas, o sorbitol é convertido em frutose e glicose pela sorbitol desidrogenase (SDH), EC 1.1.14, e esses açúcares sintetizados juntamente com seus derivados servem como substratos do metabolismo respiratório, portanto, desempenham um papel importante na definição do nível de doçura determinação doçura ao longo do período armazenamento da fruta (Zhou et al., 2023; Fan et al., 2022; Gu et al., 2021; Shang et al. , 2020). A utilização exógena do sorbitol em frutos pode prolongar a vida útil sem causar degradação das propriedades fitoquímicas e fisiológicas (Silva et al., 2024; Trivedi et al, 2023; Sanches et al, 2022).

2.5 Metabolismo oxidativo

Durante a exposição ao estresse do frio, os frutos aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), como o (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), desencadeando no estresse oxidativo. Esse processo afeta o funcionamento da membrana plasmática, reduzindo a atividade enzimática e inibindo tanto a fotossíntese quanto a síntese de proteínas, resultando, assim, em uma redução na qualidade dos frutos durante o armazenamento pós-colheita (Raza et al., 2023; Nilo et al., 2010; Shewfelt e Rosário, 2000).

Em frutas tropicais, como a manga, as espécies reativas de oxigênio (EROs) induzidas pelo estresse pelo frio reagem em última análise com os ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados presentes na membrana celular, levando à peroxidação lipídica (Vega-Alvarez et al., 2020). Para reduzir o dano oxidativo induzido pelas EROs, algumas frutas eliminam estas moléculas através de sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Zandj; Schnug, 2022).

A planta/fruto possuem mecanismos regulatórios complexos em resposta ao estresse pelo frio, incluindo vias de sinalização que controlam a expressão de genes relacionados ao estresse e ajudam na neutralização das EROS para proteger as células contra os danos oxidativos (Song et al., 2020), lidando com os efeitos nocivos dessas moléculas e mantendo o equilíbrio redox celular, incluindo a produção das enzimas antioxidantes como a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD) e a ascorbato

peroxidase (APX), além de compostos do metabolismo primário e secundário com estruturas que proporcionam atividade antioxidante (Reissig et al., 2018).

Nas células vegetais, enzimas antioxidantes especializadas desempenham um papel crucial na proteção contra o estresse oxidativo, nos cloroplastos, a SOD converte o superóxido (O_2^-) em oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo este último neutralizado pela APX, nas mitocôndrias, além da ação da SOD, a glutathione peroxidase é outra enzima envolvida na desintoxicação do peróxido de hidrogênio. Outras enzimas, como a catalase e aquelas do ciclo ascorbato-glutathione, também contribuem para a proteção contra o estresse oxidativo em diferentes tecidos do corpo, desempenhando um papel vital na manutenção da saúde celular (Demidchik, 2015).

2.6 Proteômica

Abordagens centradas nas metodologias "ômicas" têm desempenhado um papel fundamental na compreensão dos complexos mecanismos biológicos envolvidos nas respostas ao estresse em plantas (Zhang et al., 2019). A proteômica desponta como um campo de pesquisa em constante evolução dentro da biologia focado nos estudos dos proteomas, ou seja, na coleção de diferentes proteínas encontradas na célula de um organismo em um momento específico (Mangal et al., 2023; Khalil-Ur-Rehman et al., 2020). Essa abordagem fornece uma visão abrangente do metabolismo em níveis proteicos.

No âmbito do metabolismo vegetal, a incorporação da proteômica na investigação das frutas tem surgido como uma área de notável interesse, tanto para a comunidade acadêmica quanto para a indústria agroalimentar (Sánchez-Bel et al., 2012)., esta abordagem é uma estratégia desafiadora para identificar atores e reguladores da IC (Page et al., 2010).

Proteínas e/ou metabólitos induzidos apenas pelo frio podem ser indicativos de proteção contra o frio ou, alternativamente, podem estar envolvidos no desenvolvimento de sintomas de lesão pelo frio. Pedreschi e Lurie, 2015; Salazar-Salas et al. (2022) estudando a alterações proteômica na epiderme de manga indicaram que a tolerância ao frio se associou à ativação de proteínas de choque térmico envolvidas na estabilização

de proteínas, membranas e enzimas envolvidas no controle do estado redox, produção de energia e metabolismo da parede celular, bem como a indução de sinalização hormonal e proteínas relacionadas à patogênese.

Desta forma, visando prolongar a vida útil pós-colheita e preservar a qualidade da fruta, é crucial explorar os estudos do proteoma da manga, pois, oferece uma visão detalhada das respostas fisiológicas e bioquímicas diante de estresses como a injúria pelo frio, podendo assim compreender mais profundamente as respostas ao estresse (Muthuramalingam et al., 2023).

3. REFERÊNCIAS

Abou-Aziz, A.B.; Nabaway, S.M.E.; Adel-Wahab, F.K.; Kader, A.S. (1976). The effect of storage temperature on quality and decay percentage of 'Pairi' and 'Taimour' mango fruit. *Sci. Hort.* 5, 65–72.

Agillon, A.B.; Lizada, M.C.C. (2010). Responses of 'Carabao' mango (*Mangifera indica*) fruit to chilling stress. **Acta Horticulturae**. 877:467–474. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.877.60>.

Bianchi, T.; Guerrero, L.; Gratacós-Cubarsí, M.; Argyris, A. C. J.; Garcia-Mas, J.; Hortós, M. (2016). Textural properties of different melon (*Cucumis melo* L.) fruit types: Sensory and physical-chemical evaluation. **Scientia Horticulturae**, V. 201, P. 46-56, ISSN 0304-4238, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.01.028>.

Busttamante, C.; Monti, L.; Gabilondo, J.; Scossa, F.; Valentini, G.; Budde, C.; Lara, M.; Fernie, A.; Drincovich, M. (2016). Differential metabolic rearrangements after cold storage are correlated with chilling injury resistance of peach fruits. **Frontier Plant Science**, 7, 1478. <http://doi.org.10.3389/fpls.2016.01478>.

Chaplin, G.R.; Cole, S.R.; Landrin, M.; Nuevo, P.A; Lam, P.F.; Graham, G. (1991). Chilling injury and storage of mango (*Mangifera indica* L.) held under low temperatures. **Acta Horticulture**. 291:461–471, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1991.291.52>.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras, UFLA. 2005. 783p.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. General standard for food additives CODEX STAN 192-1995. (2023). Updated as at the 42nd Session of the Codex Alimentarius Commission. 2019 <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/gsfa/en/>, Revision 2023.

Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology, **Environmental and Experimental Botany**, V. 109:212-228, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021>.

Dhall, R.K. (2013). Avanços em revestimentos comestíveis para frutas e vegetais frescos: uma revisão, revisões críticas em ciência alimentar e nutrição, 53:5, 435-450, DOI: [10.1080/10408398.2010.541568](https://doi.org/10.1080/10408398.2010.541568).

EMBRAPA. (2006). A cultura da manga. – 2. ed. revisada e ampliada – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 63 p.: il. – (Coleção Plantar, 53). ISBN 85-7383-371-8.

EMBRAPA. Lima, J.R.F. (2022). Observatório do mercado de manga da EMBRAPA semiárido, <https://www.embrapa.br/observatorio-da-manga>. Acessado em 30 de agosto de 2023.

Fan, Y.; Li, C.; Li, Y.; Huang, R.; Guo, M.; Liu, J.; Sun, T.; Ge, Y. (2022). Postharvest melatonin dipping maintains quality of apples by mediating sucrose metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, 74:43-50, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.01.034>.

Fang, T.; Cai, Y.; Yang, Q.; Ogutu, C.O.; Liao, L.; Han, Y.; (2020). Analysis of sorbitol content variation in wild and cultivated apples. **J. Sci. Food Agric.** 100:139-144, <https://doi.org/10.1002/jsfa.10005>.

FAOSTAT. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. Dados alimentares e agrícolas (2021). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acessado em 30 de agosto de 2023.

Gu, C.; Wu, R.; Yu, C.; Qi, K.; Wu, C.; Zhang, H.; Zhang, S. (2021). Spatio-temporally expressed sorbitol transporters cooperatively regulate sorbitol accumulation in pear fruit, **Plant Science**, 303, <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110787>.

Hidalgo, M.; Cruz, J.; Parkin, K.L.; Garcia, H.S. (1997). Refrigerated storage and chilling injury development of Manila mangoes (*Mangifera indica* L.), **Acta Horticulturae**. 455:718–725, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.455.91>.

Ito, A., Sugiura, T.; Sakamoto, D.; Moriguchi, T. (2013). Effects of dormancy progression and low-temperature response on changes in the sorbitol concentration in xylem sap of Japanese pear during winter season. **Tree Physiology**. 33:398–408, <https://doi.org/10.1093/treephys/tpt021>.

Kader, A. A. (2013). Postharvest Technology of Horticultural Crops - An Overview from Farm to Fork, **Ethiop. J. Appl. Sci. Technol.** (Special Issue No.1): 1- 8.

Kanayama, Y. (2009). Physiological Roles of Polyols in Horticultural Crops, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 78, Issue 2:158-168, <https://doi.org/10.2503/jjshs1.78.158>.

Kane, O.; Marcellin, P.; Mazliak, P. (1978). Incidence of ripening and chilling injury on the oxidative activities and fatty acid compositions of the mitochondria from mango fruits. **Plant Physiology**. 61:634-638, <https://doi.org/10.1104/pp.61.4.634>.

Khalil-Ur-Rehman, M.; Wang, W.; Zheng, H. *et al.* (2020). Papel da cianamida hidrogenada (HC) na liberação da dormência das gemas da uva: abordagem proteômica. **Biotecnologia**, 229, <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02194-5>

Khalik, G.; Mohamed, M.T.M.; Ghazali, H.M.; Ding, P.; Ali, A. (2016). Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. **Postharvest Biology and Technology**. 111:362-369, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.029>.

Kumpoun, W.; Nishizawa, T.; Motomura, Y.; Puthmee, T.; Aikawa, T. (2017). Histological and biochemical traits of chilling-injured pulp tissues as affected by cold storage of mango fruit. **HortScience**. 52:1380-1384, <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11928-17>.

Lima, F.T.D; Martins, L.P.; Toscano, B.L.M.D; Costa, E.S.; Sousa, W.F.C.; Lucena, F.A.; Silva Filho, J.F.; Sousa, S. (2023). Cold damage affects the quality of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.), **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 33, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102566>.

Liu, B.; Wang, K.; Shu, X.; Liang, X.; Fan, X.; Sun, L. (2019). Changes in fruit firmness, quality traits and cell wall constituents of two highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during postharvest cold storage. **Scientia Horticulturae**, 246:557-562, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.042>.

Lyons, J.M.; Raison, J.K. (1970). Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. **Plant Physiology**. 45:386-389, <https://doi.org/10.1104/pp.45.4.386>.

Lyons, J.M.; Raison, J.K.; Steponkus, P.L. (1979). The plant membrane in response to low temperature: an overview. J.M. Lyons, D. Graham, J.K. Raison (Eds.), *Low Temperature Stress in Crop Plants: The Role of the Membrane*, **Academic Press**, New York, 1-24.

Mangal, V.; Lal, M.K.; Tiwari, R.K. *et al.* (2023). A comprehensive and conceptual overview of omics-based approaches for enhancing the resilience of vegetable crops against abiotic stresses. **Plants**, 257, 80, <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04111-5>

Medlicott A.P.; Sigrist J.M.M.; Sy, O. (1990) Ripening of mangoes following low temperature storage. *Journal American Society Horticulture Science* 115:430 –434.

Muthuramalingam, P.; Muthamil, S.; Shilpha, J.; Venkatramanan, V.; Priya, A.; Kim, J.; Shin, Y.; Chen, J.-T.; Baskar, V.; Parque, K.; e outros. (2023). Insights moleculares sobre estresses abióticos em manga. *Plants*, 12, 1939, <https://doi.org/10.3390/plants12101939>

Nilo, R.; Saffie, C.; Lilley, K. *et al.* (2010). Proteomic analysis of peach fruit mesocarp softening and chilling injury using difference gel electrophoresis (DIGE). *BMC Genômica* 11, 43, <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-43>

Njie, A., Dong, X., Liu, Q. Lu, C., Pan, X., Zhang, W., 2023. Melatonin treatment inhibits mango fruit (Cv. 'Guiqi') softening by maintaining cell wall and reactive oxygen metabolisms during cold storage, **Postharvest Biology and Technology**, V. 205, 112500, ISSN 0925-5214, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023.112500>.

Njie, A.; Zhang, W.; Dong, X.; Lu, C.; Pan, X.; Liu, Q. 2022. Effect of Melatonin on Fruit Quality via Decay Inhibition and Enhancement of Antioxidative Enzyme Activities and Genes Expression of Two Mango Cultivars during Cold Storage. **Foods**, 11, 3209. <https://doi.org/10.3390/foods11203209>.

Nunes, V. X.; Rosado, L.D.S.; Ribeiro, F.C.S.; Finger, F.L.; Santos, C.E.M. (2022). Effect of cold storage on shelf life of sour passion fruit progênies. **Food Science and Technology**, 42, e65521, <https://doi.org/10.1590/fst.65521>, **protocols**, 1:2859-2860.

Oldoni, F. C. A.; Florencio, C.; Bertazzo, G.B.; Grizotto, P.A.; Bogusz Junior, S.; Carneiro, R.L.; Colnago, L.A.; Ferreira, M.D. (2022). Fruit quality parameters and volatile compounds from 'Palmer' mangoes with internal breakdown. **Food Chemistry**, 388, 132902, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132902>.

Page, D.; Gouble, B.; Valot, B. *et al.* (2010). Protective proteins are differentially expressed in tomato genotypes differing for their tolerance to low-temperature storage. **Plants**, V. 232:483–500, <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1184-z>

Paull, R.E.; Duarte, O. (2011). **Tropical fruits**. 2.ed. Wallingford: CAB International, p.185-220.

Pedreschi, R.; Lurie, S. (2015). Advances and current challenges in understanding postharvest abiotic stresses in perishables, *Postharvest Biology and Technology*, V. 107:77-89, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.05.004>.

Penchaiya, P.; Tijksens, L.M.M.; Uthairatanakij, A.; Srilaong, V.; Tansakul, A.; Kanlayanarat, S., (2020). Modelling quality and maturity of 'Namdokmai Sithong' mango and their variation during storage. **Postharvest Biology and Technology**. 159, article 111000. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111000>.

Raison, J.K; Lyons, J.M. (1986). Chilling injury: a plea for uniform terminology. **Plant, Cell & Environment**. 9, 685-686, <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1986.tb02098.x>

Raison, J.K; Orr., G.R., (1990). Proposals for a better understanding of the molecular basis of chilling injury. **Chilling injury of horticultural crops**. 145, 164p.

Raza, A.; Charagh, S.; Najafi-Kakavand, S.; Abbas, S.; Shoaib, Y.; Anwar, S.; Sharifi, S.; Lu, G.; Siddique, K.H.M. (2023). Role of phytohormones in regulating cold stress tolerance: Physiological and molecular approaches for developing cold-smart crop plants, **Plant Stress**, V. 8, 100152, <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100152>.

Reissig, G. N.; Posso, D.A.; Borella, J.; Silveira, R.V.D; Rombaldi, C.V.; Bacarin, M.A. (2018). High MT-sHSP23.6 expression increases antioxidant system in 'Micro-Tom' tomato fruits during post-harvest hypoxia, *Scientia Horticulturae*, V. 242:127-136, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.07.035>.

Rice, T.; Zanini, E.; Arendt, E.K.; Coffey, A.A. (2020). Review of polyols – biotechnological production, food applications, regulation, labeling and health effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 60:2034-2051, <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1625859>.

Salazar-Salas, N. Y.; Chairez-Veja, D. A.; Vega-Alvarez, M.; González-Nuñez, D. G.; Pineda-Hidalgo, K.V.; Chávez-Ontiveros, J.; Delgado-Vargas, F.; Lopez-Valenzuela, J. A. (2022). Proteomic changes in mango fruit peel associated with chilling injury tolerance induced by quarantine hot water treatment. **Postharvest Biol. Technol.**, 186, article 111838, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111838>.

Sanches, A.G.; Pedrosa, V.M.D.; Checchio, M.V.; Fernandes, T.F.S.; Guevara, J.E.M.; Gratão, P.L.; Teixeira, G.H.A. (2021). Polyols alleviate chilling injury in 'Palmer' mangoes during cold storage. **Food Control**, 129, article 108248, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108248>.

Sanches, A.G.; Silva, M. B.; Wong, M. C. C.; Oliveira, A. R. G.; Pedrosa, V. M. D., Fernandes, T. F. S.; Gratão, P. L.; Teixeira, G. H. A. (2022). Sorbitol immersion controls chilling injury in CA stored 'Palmer' mangoes, **Postharvest Biology and Technology**, V. 185, article 111800, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111800>.

Sánchez-Bel, P.; Egea, I.; Sánchez-Ballesta, M.T.; Martínez-Madrid, C.; Fernández-García, N.; Romojaro F.; Olmos, E.; Estrella, E.; Bolarín, M.C.; Flores, F.B. (2012). Understanding the mechanisms of chilling injury in bell pepper fruits using the proteomic approach, **Journal of Proteomics**, V. 75:5463-5478, <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.06.029>.

Sevillano, L.; Sanchez-Ballesta, M.T.; Romojaro, F.; Flores, F.B. (2009). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 89:555-573, <https://doi.org/10.1002/jsfa.3468>.

Shang, X.; Zhang, J.P.; Ma, Y.H.; Wang, L.R. (2020). Preliminary identification of candidate genes associated with the peach fruit sorbitol content based on comparative transcriptome analysis. **Scientia Horticulturae**, V. 263, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109151>

Shewfelt, R.L.; Rosario, B.A. (2000). The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. **HortSci**. 35, 575-579.

Shirgire, S.D.; Talware, R.B.; Kadam, S.S.; Kumbharkhane, A.C. (2012). Dielectric relaxation of d-sorbital-water mixture using a time domain reflectometry technique. **Journal of Molecular Liquids**. 169:33-36, <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2012.03.001>.

Silva, M.B.; Pedrosa, V.M.D.; Izidoro, M.; Balbuena, T.S.; Sanches, A.G.; de Almeida Teixeira, G.H. (2024). Controlled Atmosphere Storage and Sorbitol Dipping Minimize Chilling Injuries in 'Palmer' Mangoes. **Horticulturae**, 10, 354, <https://doi.org/10.3390/horticulturae10040354>.

Singh, Z.; Singh R.K.; Sane V.A.; Nath P., (2013). Mango-postharvest biology and biotechnology. **Critical Reviews in Plant Sciences** 32:217-236, <https://doi.org/10.1080/07352689.2012.743399>.

Soethe, C.; Steffens, C.A.; Hawerth, F.J.; Moreira, M.A.; Amarante, C.V.T.; Stanger, M. (2022). Quality of 'Baigent' apples as a function of pre-harvest application of

aminoethoxyvinylglycine and ethephon stored in controlled atmosphere. **Applied Food Research**, 2, <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100117>.

Song, W.; Tang, F.; Cai, W. *et al.* (2020). iTRAQ-based quantitative proteomics analysis of cantaloupe (*Cucumis melo* var. *saccharinus*) after cold storage. **BMC Genomics**, 21, 390, <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06797-3>

Sousa, F. F.; Pinsetta Junior, J. S.; Oliveira, K. T. E. F.; Rodrigues, E. C. N.; Andrade, J. P.; Mattiuz, B. (2021). Conservation of 'Palmer' mango with an edible coating of hydroxypropyl methylcellulose and beeswax. **Food Chemistry**, 346, 128925, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128925>.

TACO, Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. (2011). NEPA/UNICAMP, 4ª ED., rev. e ampl., 161 p.

Thomas, P. (1975). Effect of postharvest temperature on quality, carotenoids and ascorbic acid content of 'Alphonso' mango on ripening. *J. Food Sci.* 40, 704–706.

Thomashow, M.F. (1999). Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. **Annual Review Plant Physiology**. 50:571–599. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.571>.

Trivedi, C.H.; Patel, M.; Mehta, K.J.; Panigrahi, J. (2023). Improvement of shelf-life quality of ivy gourd (*Coccinia grandis* L. Voigt) using an exogenous coating of mannitol and sorbitol, *Food Chemistry Advances*, V. 2, <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100260>.

Trivedi, C.H.; Patel, M.; Mehta, K.J.; Panigrahi, J. (2023). Improvement of shelf-life quality of ivy gourd (*Coccinia grandis* L. Voigt) using an exogenous coating of mannitol and sorbitol, *Food Chemistry Advances*, V. 2, <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100260>.

Vega-Alvarez, M.; Salazar-Salas, N.Y.; López-Ângulo, G.; Pineda-Hidalgo, K.V.; López-López, M.E.; Vega-García, M.O; Delgado-Vargas, F.; López-Valenzuela, J.A. (2020). Metabolomic changes in mango fruit peel associated with chilling injury tolerance induced by quarantine hot water treatment. **Postharvest Biol. Technol.**, V. 169, 111299, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111299>.

Veiga, J.C.; Barbará, M.A.; Silva, B.M.P.; Valentini, S.R.T.; Cristofani-Yaly, M.; Bron, I.U.; (2019). Refrigeration and wax on postharvest conservation of IAC 2019 Maria tangerines. *Citrus R&T*, vol.40, e1046, <http://dx.doi.org/10.4322/crt.17219>.

Velasquez, A.M.; Contreras, R.; Baez, M.A.; Crisosto, C.H. (2023). Skin discoloration and softening are the primary factors impacting postharvest quality of hot water-treated mango (*Mangifera indica* L.), **Scientia Horticulturae**, 112005, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112005>.

Vilvert, J.C.; Freitas, S.T.; Ferreira, M.A.R.; Leite, R.H.L.; Santos, F.K.G.; Costa, C.S.R.; Aroucha, E.M.M. (2022). Chitosan and graphene oxide-based biodegradable bags: An eco-friendly and effective packaging alternative to maintain postharvest quality of 'Palmer' mango. **LWT**, V. 154, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112741>.

Wang, B.; Wang, J.; Liang, H.; Yi, J.; Zhang, J.; Lin, L.; Wu, Y.; Feng, X.; Cao, J.; Jiang, W. (2008). Reduced chilling injury in mango fruit by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the antioxidant response. **Postharvest Biology and Technology**, 48:172–181. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.005>.

Wei, S.; Mei, J.; Xie, J. (2021). Effects of Edible Coating and Modified Atmosphere Technology on the Physiology and Quality of Mangoes after Low-Temperature Transportation at 13 °C in Vibration Mitigation Packaging. **Plants**, 10(11), <https://doi.org/10.3390/plants10112432>

Wu, T.; Wang, Y.; Zheng, Y.; Fei, Z.; Dandekar, A.M.; Xu, K.; Han, Z.; Cheng, L. (2015). Suprimindo a síntese de sorbitol altera substancialmente o perfil de expressão global de genes de resposta ao estresse em folhas, plantas e células de maçã (*Malus domestica*). **Fisiologia**, 56:1748–1761, <https://doi.org/10.1093/pcp/pcv092>.

Yahia EM (2009), Tropical fruits, In Yahia EM (Ed), *Modified and controlled atmospheres for transportation, storage and packaging of horticultural commodities*, Boca Raton, FL, CRC Press (Taylor & Francis), 2009, <https://doi.org/10.1201/9781420069587>.

Yahia, E. M. (2011). Mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*, 492–567e. doi:10.1533/9780857092885.492

Yahia, E.M.; Ornelas-Paz, J.J.; Brecht, J.K.; García-Solís, P.; Celis, M.E.M. (2023). The contribution of mango fruit (*Mangifera indica* L.) to human nutrition and health, **Arabian Journal of Chemistry**, Volume 16, article 104860, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104860>.

Yang, G.; Li, L.Y.; Huang, M.L.; Yang, F.C.; Zhang, F.K.; Xu, R.C.; Yan, D.Y. (2018). Progresses in study on sorbitol effect on plants resistance (in Chinese). **Soils**. 50 (03):446-454, 10.13758/j.cnki.tr.2018.03.002.

Zaharah, S.S.; Singh, Z. (2011). Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury, delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored ‘Kensington Pride’ mango. **Postharvest Biology and Technology**. 60:202-210, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.01.011>.

Zandi, P.; Schnug, E. (2022). Reactive Oxygen Species, Antioxidant Responses and Implications from a Microbial Modulation Perspective. **Biology**, V. 11, 155. <https://doi.org/10.3390/biology11020155>.

Zhan, X.; Asad, R.; Khan, A.; Zhang, J.; Chen, J.; Yin, Y.; Tang, Z.; Wang, R.; Lu, B.; Liu, T. (2023). Control of postharvest stem-end rot on mango by antifungal metabolites of *Trichoderma pinnatum* LS029-3. **Scientia Horticulturae**, 310, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111696>.

Zhang, W.; Jiang, H.; Cao, J.; Jiang, W. (2021). Advances in biochemical mechanisms and control technologies to treat chilling injury in postharvest fruits and vegetables, **Trends in Food Science & Technology**, V. 113:355-365, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.009>.

Zhang, WF.; Gong, ZH.; Wu, MB. *et al.* (2019). Integrative comparative analyses of metabolite and transcript profiles uncovers complex regulatory network in tomato (*Solanum lycopersicum L.*) fruit undergoing chilling injury. **Sci Rep** 9, 4470, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41065-9>

Zhang, Z.; Zhu, Q.; Hu, M.; Gao, Z.; An, F.; Li, M.; Jiang, Y. (2017). Low-temperature conditioning induces chilling tolerance in stored mango fruit. **Food Chemistry**. 219:76 - 84, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.123>.

Zhao, Z.; Cao, J.; Jiang, W.; Gu, Y.; Zhao, Y. (2009), Maturity-related chilling tolerance in mango fruit and the antioxidant capacity involved. **J. Sci. Food Agric.**, 89:304-309.

Zhou, H.; Su, M.; Du, J.; Zhang, X.; Li, X.; Zhang, M.; Hu, Y.; Huan, C.; Ye, Z. (2023). Crucial roles of sorbitol metabolism and energy status in the chilling tolerance of yellow peach, **Plant Physiology and Biochemistry**, 204, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108092>.

Zhou, Y.; Smith, R. L.; Xinhua Qi. (2024). Chemocatalytic production of sorbitol from cellulose via sustainable chemistry – a tutorial review, **Green Chemistry**, V. 26:202-243, <https://doi.org/10.1039/d3gc04082h>.

CAPÍTULO II - Controlled atmosphere storage and sorbitol dipping minimize chilling injuries in 'Palmer' mangoes

Este artigo encontra-se publicado na Revista Horticulturae em 03/04/2024 e sob o DOI <https://doi.org/10.3390/horticulturae10040354>

Abstract: Our previous studies have shown that 'Palmer' mangoes immersed in solutions containing 2.5% sorbitol and stored under a controlled atmosphere (CA) at 8°C for 30 days had fewer symptoms of chilling injury. However, there is no information regarding the effectiveness of sorbitol treatment in other atmospheres and/or in combination with lower temperatures. Thus, the objective of this study was to assess the impact of dipping 'Palmer' mangoes in 0.1% and 2.5% (w/v) sorbitol solutions and storing the fruit under a CA without atmosphere modification (21 kPa O₂ + 0.03 kPa CO₂) at 8°C/95% relative humidity (RH) or with 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂ at 4°C/95% RH for 28 days. The fruits were evaluated periodically for chilling injuries, quality, and oxidative metabolism. Chilling injury (CI) was correlated with increased fresh weight loss (FWL) and changes in the color of the epicarp (L_{peel} , h°_{peel} , and C_{peel}) and mesocarp (L^*_{pulp}). Lipid peroxidation (LP_{pulp} and LP_{peel}) and the hydrogen peroxide content ($H_2O_{2\text{peel}}$ and $H_2O_{2\text{pulp}}$) were associated with the development of CI, particularly after being transferred to an ambient. The treatment with 2.5% sorbitol was more effective in minimizing the chilling injury symptoms and did not compromise the fruit quality, especially when it was stored at 4°C in association with a CA containing 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂. This treatment reduced lipid peroxidation and increased the activities of the superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) enzymes in the epicarp and mesocarp, providing greater cold tolerance. The use of 2.5% sorbitol has been identified as the most efficacious approach for mitigating the adverse impacts of chilling injuries, preserving the fruit quality, and enhancing oxidative metabolism even at lower temperatures. Thus, this treatment represents a viable alternative for managing chilling injuries in mangoes.

Keywords: *Mangifera indica* L., polyols, oxidative metabolism, SOD, APX.

1. Introduction

As observed in other horticultural products, cold storage is the primary post-harvest technology used to extend the shelf life of mangoes because low temperatures reduce their metabolic activity [1]. Mangoes stored at temperatures between 8 and 13°C have a post-harvest shelf life of up to 21–30 days, depending on the cultivar and fruit maturity [2, 3]. However, prolonged storage at temperatures below 13°C can lead to the development of a physiological disorder known as chilling injury (CI), resulting in qualitative and quantitative losses [4, 5].

The symptoms of CI in mangoes are most evident in the epicarp and are characterized by the presence of dark, sunken spots resembling burns, which can hinder the marketing of fresh fruit, as this defect may render the product unacceptable according to market standards. The mesocarp is also affected, as the fruit may exhibit irregular ripening [5, 6].

The mechanisms related to the development of CIs in plants are related to changes in the lipid bilayer of the plasma membrane, i.e., transitioning from a more flexible fluid state to a rigid gel phase due to exposure to low temperatures. This change in rigidity leads to the loss of functions and the rupture of cell membranes, resulting in cell death [7]. Several studies have reported changes in the rigidity of cell membranes in mangoes with CIs [8, 9, 10, 11].

Exposure to low temperatures also induces the overproduction of reactive oxygen species (ROS), such as hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide radicals ($\text{O}_2^{\cdot-}$), and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$), that react with various molecules, leading to lipid membrane peroxidation [12]. In mangoes, ROS overproduction has been correlated with a higher incidence of CIs [5, 13, 14, 15] and the manifestation of their various symptoms [16, 17, 18, 19].

Sorbitol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$) is a water-soluble polyol that naturally occurs in various fruits [20, 21] and plays an important role in the osmotic adjustment of the cytoplasm under stress conditions, potentially stabilizing membranes [22]. It can increase cold stress tolerance [23] by binding to water and lowering the dielectric constant, even at temperatures above freezing [24]. Sorbitol acts as an osmoprotective agent that has been linked to CI tolerance

[25], contributing to membrane stabilization and reducing structural damage [26]. It can also act as an antioxidant, affecting the activity of enzymes such as superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT), as well as scavenging ROS [27].

In this context, Sanches et al. [15] have reported that 'Palmer' mangoes stored at 8°C for 30 days, when treated with 2.5% sorbitol, showed reduced H₂O₂ accumulation and polyphenol oxidase (PPO) activity, higher membrane integrity (malondialdehyde - MDA), and increased activity of the enzymes SOD, CAT, and ascorbate peroxidase (APX), both in the epicarp and the mesocarp compared to those in standard storage or storage after treatment with the polyols propylene glycol and glycerol. Consequently, sorbitol immersion has been considered a feasible approach to alleviating CI during refrigerated storage.

Under standard cold quarantine treatment conditions (1°C for 14 days), immersion in a solution containing 0.1% sorbitol was the most effective in mitigating CIs. This effect was associated with lower MDA and H₂O₂ concentrations, and PPO activity levels as well as higher SOD, CAT, and APX enzyme activity and ascorbic acid levels, especially in the pericarp [28]. The combination of immersion of 'Palmer' mangoes in solutions containing 2.5% sorbitol with controlled atmosphere (CA) storage reduced CIs through the activation of non-enzymatic (ascorbic acid and total phenolic compounds) and enzymatic (SOD, CAT, and APX) mechanisms in fruits kept at 8°C for 30 days [28]. Despite these results, there is no information available regarding the effectiveness of sorbitol treatment in other storage atmospheres and/or in combination with lower temperatures.

Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of dipping 'Palmer' mangoes in 0.1 and 2.5% (w/v) sorbitol solutions and storing them under a CA with ambient atmospheric conditions (21 kPa O₂ + 0.03 kPa CO₂) at 8°C/95% relative humidity (RH) or under 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂ at 4°C/95% RH for 28 days. The development of chilling injuries, quality modification, and oxidative metabolism were evaluated periodically.

2. Materials and Methods

2.1. Plant Material

'Palmer' mangoes were obtained from commercial orchards located in Taquaritinga (21°25'57.72" latitude south, 48°32'50.46" longitude west), São Paulo, Brazil (Experiment

I), and Belém do São Francisco (8°32'1.89" latitude south, 38°58'53.97" longitude west), Pernambuco, Brazil (Experiment II). The fruits were harvested at physiological maturity and selected manually, and then classified according to size, soundness, the absence of mechanical damage, and pest and disease lesions. Fruit physiological maturity was evaluated based on the dry matter (DM) content of 20 fruits from each experiment. The DM content was $13.1\% \pm 1\%$ and $13.0\% \pm 1\%$ in the fruits from Experiments I and II, respectively.

2.2. Experiment I: without gas modification (air)

After selection, the mangoes were washed with soap, rinsed with running water, and dried. Following that, they were dipped in one of the following solutions at 5°C for 60 minutes: i. distilled water (control), ii. 0.1% (w/v) food-grade sorbitol, or iii. 2.5% (w/v) food-grade sorbitol (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) [15]. Subsequently, the mangoes were stored at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH in a controlled atmosphere chamber (Venezia PCM 1,000 model; Fruit Control Equipment, Milan, Italy), with ambient atmosphere conditions maintained ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days. The fruits were evaluated every 7 days. During each evaluation, the chilling injury was immediately evaluated and some of the fruits were moved to ambient conditions ($\sim 24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) to evaluate them for signs of chilling injuries whenever the fruit became ripe (from 5 to 10 days). This study was set according to a completely randomized design (CRD) in a factorial arrangement of 3 (treatments: control, 0.1% sorbitol, and 2.5% sorbitol) x 5 (storage periods: 0, 7, 14, 21, and 28 days) with three replicates.

2.3. Experiment II: CA—modification of atmosphere gases

The fruits for this experiment were washed, rinsed with water, and dried as in the other study. Following this, they were i. dipped in distilled water and stored in CA with $21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$ (negative control), ii. dipped in distilled water and stored in CA with $5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$ (positive control), iii. dipped in 0.1% (w/v) sorbitol and stored in CA with $5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$, or iv. dipped in 2.5% (w/v) sorbitol and stored in CA with $5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$. The fruits were stored at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH in a controlled atmosphere chamber (Venezia PCM 1000 model; Fruit Control Equipment, Milan, Italy), and control of the oxygen (O_2), carbon dioxide (CO_2), and ethylene (C_2H_4) levels was

performed using SWINGLOS® software, GAC 5000 (Fruit Control Equipment, Milan, Italy). These conditions were maintained for 28 days, and evaluations were conducted every 7 days. At each evaluation, some of the fruits were moved to ambient conditions ($\sim 24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) to be evaluated for signs of chilling injuries whenever the fruit became ripe (from 7 to 4 days). This experiment was set according to a completely randomized design (CRD) in a factorial arrangement of 4 (treatments: negative control, positive control, 0.1% sorbitol, and 2.5% sorbitol) x 5 (storage periods: 0, 7, 14, 21, and 28 days) with three replications.

2.4. Evaluations

In both experiments, the fruits were evaluated using the same methods.

2.4.1. Chilling injury development

To evaluate chilling injury (CI) development, the fruits had their pericarp lesions visually rated according to the process of Miguel et al. [29] with modifications. Fruits with no visible symptoms (CI = 0%) were rated as 1, mild symptoms (CI = 0–25%) as 2, moderate symptoms (CI = 25–50%) as 3, and severe symptoms (CI $\geq 50\%$) as 4.

2.4.2. Fresh weight loss

Fresh weight loss (FWL) was determined by weighing the mangoes on an analytical balance (AS 2000 model; Mars, Brazil), and the accumulated weight loss was calculated according to the method of Sanches et al. [15] for each experiment and each evaluation day. FWL is expressed as a percentage (%).

2.4.3. Firmness

Fruit firmness was measured in the mid portion between the stem-end and the remains of stigma and style of each mango without the epicarp (skin). Firmness was measured using a penetrometer (Effegi Fruit Tester, Forlì, Italy) with an 8 mm tip, and the results are expressed in Newtons (N), as has been previously described by Watkins and Harman [30].

2.4.4. Color

The epicarp (skin) and mesocarp (flesh) colors were measured in the mid portion between the stem-end and the remains of the stigma and style. The skin color was also measured on opposite sides of each fruit on the blush and green areas of the protruding side. A reflectometer (CR-400; Minolta, Osaka, Japan) was used to obtain the L^* , a^* , and b^* values, and chromaticity (C^*) and hue angle (h°) were calculated according to the method of McGuire [31].

2.4.5. Physicochemical evaluation

The soluble solid content (SSC) of the fruits was measured using a digital refractometer (Alpha; Atago Co., Ltd, Tokyo, Japan), and the results are expressed as percentage [32]. Titratable acidity (TA) was measured via titration using 0.1% phenolphthalein as an indicator, and the results are expressed in g kg^{-1} citric acid [32]. The ratio (SSC/TA) was calculated according to the method of the AOAC [32], and the pH was determined using a pH meter (Orion 3 Star; Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

2.5. Oxidative Metabolism

2.5.1. Lipid peroxidation

For this analysis, samples of peel and pulp (0.5 g) were homogenized with 2.5 mL of a solution containing 0.1% (w/v) trichloroacetic acid (TCA) and 20% (w/v) polyvinylpyrrolidone (PVP). After centrifugation (ST16-R; Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) at $12,298 \times g$ and 4°C for 15 minutes, 250 μL of the supernatant was mixed with 1 mL 20% TCA (w/v) and 0.5% thiobarbituric acid (TBA) and incubated in a water bath at 95°C for 30 minutes. After this period, the samples were cooled in ice for 10 minutes and centrifuged at $12,298 \times g$ for 15 minutes at 4°C . Lipid peroxidation was calculated according to Gratão et al. [33] and is expressed in μmol of malondialdehyde (MDA) per kg of fresh weight.

2.5.2. Hydrogen peroxide (H_2O_2)

The hydrogen peroxide (H_2O_2) content was determined in 1.0 g peel and pulp samples according to the process of Alexieva et al. [34]. The samples were homogenized in 0.1% (w/v) trichloroacetic acid at 4°C and centrifuged at $12,298 \times g$ for 20 minutes at

4°C. Following this, the supernatant (200 µL) was mixed with 200 µL of 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5) and 800 µL of 1 M potassium iodide (KI). The samples were incubated in ice for 1 hour in the dark. The hydrogen peroxide content was measured at 390 nm and expressed in mol H₂O₂ per kg of fresh weight.

2.5.3 Superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) extraction

These two enzymes were extracted according to the process of Yang et al. [35]. The peel and pulp samples (1.0 g) were homogenized in 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), and 20% (w/v) polyvinylpolypyrrolidone (PVP). The homogenates were filtered using a fine nylon mesh, centrifuged at 12,298 × *g* for 25 minutes, and immediately frozen at -18°C. The protein levels of the homogenates were determined [36].

2.5.4. Superoxide dismutase (SOD) activity

SOD (SOD, EC 1.15.1.1) activity was measured using the method described by Giannopolitis and Ries [37]. The enzymatic extract (50 µL) was mixed with 1.0 mL of 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.8), 19.5 mM methionine, 150 µL of NBT, and 300 µL of riboflavin. The incubation took place under light, and after 15 minutes, the absorbance was measured at 560 nm (Beckman spectrophotometer, DU-640, Indianapolis, IN, USA). The SOD activity is defined and expressed in U min⁻¹ kg⁻¹ 10⁶ protein [38].

2.5.5. Ascorbate peroxidase (APX) activity

APX (APX, EC 1.11.1.1) activity was measured according to the process of Nakano and Asada [39]. The enzymatic extract (50 µL) was mixed with 800 µL of 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), 0.1 mM EDTA, 100 µL of H₂O₂ (0.03 M), and 50 µL of ascorbic acid (0.015 M). Ascorbic acid oxidation was measured at 290 nm (Beckman spectrophotometer, DU-640, Indianapolis, IN, USA), and the APX results are expressed in mol H₂O₂ min⁻¹ kg⁻¹ protein.

2.5.6. Polyphenol oxidase (PPO) extraction and activity measurements

To extract the polyphenol oxidase (PPO) enzyme (EC 1.14.18.1), 1.0 g of peel and pulp was homogenized with 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) and 1% (w/v)

polyvinylpyrrolidone (PVP) at 4°C. The homogenate was centrifuged ($12,298 \times g$ for 10 minutes at 4°C), and the supernatant was immediately frozen [40]. PPO activity was measured by mixing 100 μL of enzymatic extract with 1.85 mL of 100 mM potassium phosphate buffer (pH 6.0). Catechol (100 mM) was used as a substrate, and after 30 minutes of incubation in a water bath (30°C for 30 minutes), the reactions were terminated (800 μL of 2 N perchloric acid) and the absorbance measured at 395 nm (Beckman spectrophotometer, DU-640, Indianapolis, IN, USA). The activity is expressed in $\text{U min}^{-1} \text{kg}^{-1} 10^6 \text{ protein}$ [41].

2.6. Statistical Analysis

2.6.1. Univariate

Analysis of variance (ANOVA) was performed on the data. R software version 3.0 (R Core Team, 2020, Auckland, New Zealand) was employed to obtain the means and compare them using Tukey's test at 0.05%.

2.6.2. Multivariate

Multivariate analysis was performed to reduce the variables capable of interpretation, summarizing much of the variability among them. Numerical matrices were constructed using chilling injury (CI) symptoms, physicochemical variables, and oxidative metabolism in the peel and pulp of the fruits from the different storage periods in Experiment I (0, 0+10, 7, 7+5, 14, 14+6, 21, 21+5, 28, 28+5 days) and Experiment II (0, 0+7, 7, 7+6, 14, 14+4, 21, 21+4, 28, and 28+4 days). Principal component analysis (PCA) was performed by extracting the principal components via correlation matrix using R software (R Core Team, 2020; Auckland, New Zealand), and the first two principal components (PC1 and PC2) were used.

3. Results

The results of univariate analysis can be observed in the supplementary materials. Due to the large number of variables evaluated, we chose to focus on the results from multivariate analysis. Thus, the score plots and loading plots (biplots) of the PCA were obtained through correlation matrices based on the analyzed variables (Tables 1 and 2).

The factor loadings used in both the experiments were based on the first two principal components (PC1 and PC2), correlating chilling injuries with the other analyzed variables.

Table 1. Variable codes for quality attributes used in the principal component analysis of Experiments I and II.

Variables	Codes
Firmness	Firmness
pH	pH
Soluble solids content	SSC
Titrateable acidity	TA
Ratio SSC/TA	SSC/TA
Fresh weight loss	FWL
Chilling injury	CI
Luminosity peel	L* _{peel}
Luminosity pulp	L* _{pulp}
Hue angle peel	h ^o _{peel}
Hue angle pulp	h ^o _{pulp}
Chromaticity peel	C* _{peel}
Chromaticity pulp	C* _{pulp}

Table 2. Variable codes for oxidative metabolism variables used in the principal component analysis of Experiments I and II.

Variables	Codes
Lipid peroxidation peel	LP _{peel}
Lipid peroxidation pulp	LP _{pulp}
Hydrogen peroxide peel	H ₂ O ₂ _{peel}
Hydrogen peroxide pulp	H ₂ O ₂ _{pulp}
Superoxide dismutase peel	SOD _{peel}
Superoxide dismutase pulp	SOD _{pulp}
Ascorbate peroxidase peel	APX _{peel}
Ascorbate peroxidase pulp	APX _{pulp}
Polyphenol oxidase peel	PPO _{peel}
Polyphenol oxidase pulp	PPO _{pulp}

3.1. Experiment I: without gas modification (air)

3.1.1. Chilling injury and physicochemical variables

During cold storage, chilling injury (CI) development was not affected by the sorbitol treatments (Table 3). At the end of cold storage, the mangoes showed mild to moderate CI

symptoms (Figure 1). On the other hand, after being transferred to ambient conditions, the 2.5% sorbitol treatment reduced CI development (Table 4) and the mangoes showed a better visual quality (Figure 1S, Figure 2S). If the score 3 (moderate symptoms - CI = 25–50%) is used as a shelf-life threshold, mangoes from the control treatment had a shelf-life of 21+5 days and 28+5 days when treated with 0.1 and 2.5% sorbitol (Figure 2).

Table 3. Effect of dipping ‘Palmer’ mangoes (Experiment I) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification (21 kPa O_2 + 0.03 kPa CO_2) for 28 days on parameters fresh weight loss (FWL), chilling injury (CI), soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), ratio (SSC/TA), and pH.

Main effect	FWL (%)	CI (1-4)	SSC (%)	TA (g kg ⁻¹)	SSC/TA	pH
Treatments (A)						
Control	0.86 ^a	1.30 ^a	6.49 ^a	0.280 ^a	24.39 ^a	3.83 ^a
Sorbitol 0.1%	0.86 ^a	1.15 ^a	6.39 ^a	0.276 ^a	25.91 ^a	3.79 ^a
Sorbitol 2.5%	0.72 ^b	1.10 ^a	6.47 ^a	0.254 ^a	23.70 ^a	3.88 ^a
<i>F test</i>	7.63 ^{**}	1.86 ^{ns}	0.44 ^{ns}	2.91 ^{ns}	1.96 ^{ns}	1.54 ^{ns}
Days (B)						
0	0.00 ^e	1.00 ^c	6.38 ^{ab}	0.255 ^{bc}	25.07 ^b	3.84 ^a
7	0.46 ^d	1.11 ^{bc}	6.21 ^b	0.267 ^{abc}	23.74 ^b	3.87 ^a
14	0.82 ^c	1.11 ^{bc}	6.38 ^{ab}	0.305 ^a	21.70 ^b	3.75 ^a
21	1.23 ^b	1.25 ^{ab}	6.54 ^{ab}	0.292 ^{ab}	23.22 ^b	3.80 ^a
28	1.60 ^a	1.50 ^a	6.73 ^a	0.231 ^c	29.60 ^a	3.93 ^a
<i>F test</i>	220.93 ^{**}	4.07 ^{**}	3.59 [*]	7.74 ^{**}	8.33 ^{**}	2.00 ^{ns}
Interaction						
<i>F test</i>	0.75 ^{ns}	1.50 ^{ns}	0.50 ^{ns}	3.12 ^{**}	2.86 [*]	0.70 ^{ns}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

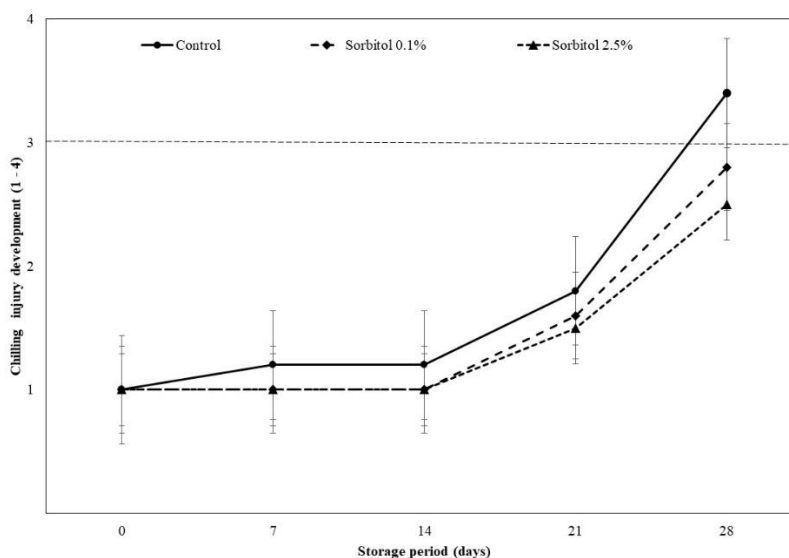


Figure 1. Interaction between treatments and storage period for chilling injury (CI) in ‘Palmer’ mangoes (Experiment I) stored at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days and then transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH).

Table 4. Effect of dipping ‘Palmer’ mangoes (Experiment I) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days on the parameters of chilling injury (CI), soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), SSC/TA ratio, and pH after being transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 5 to 10 days.

Main effects	CI (1-4)	SSC (%)	TA (g kg^{-1})	SSC/TA	pH
Treatments (A)					
Control	1,80 ^a	14,13 ^a	0,252 ^a	60,53 ^b	4,00 ^a
Sorbitol 0,1%	1,70 ^a	14,05 ^a	0,209 ^b	73,21 ^a	4,04 ^a
Sorbitol 2,5%	1,65 ^a	14,29 ^a	0,234 ^{ab}	66,64 ^{ab}	4,06 ^a
Test F	0.30 ^{ns}	0.27 ^{ns}	4.52 [*]	7.77 ^{**}	0.38 ^{ns}
Days (B)					
0+10	1,25 ^b	15,19 ^a	0,245 ^{ab}	62,56 ^a	3,94 ^{ab}
7+5	1,33 ^b	13,98 ^{ab}	0,197 ^b	70,46 ^a	4,19 ^a
14+6	1,75 ^b	14,06 ^{ab}	0,209 ^b	67,30 ^a	4,12 ^a
21+5	1,41 ^b	14,35 ^{ab}	0,214 ^b	67,05 ^a	4,09 ^{ab}
28+5	2,83 ^a	13,19 ^b	0,292 ^a	45,17 ^b	3,83 ^b
Test F	12.95 ^{**}	5.44 ^{**}	8.40 ^{**}	3.17 ^{ns}	4.49 ^{**}
Interaction					
Test F	2,46 ^{**}	1.69 ^{ns}	3,77 ^{**}	3,81 ^{**}	1.5 ^{ns}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

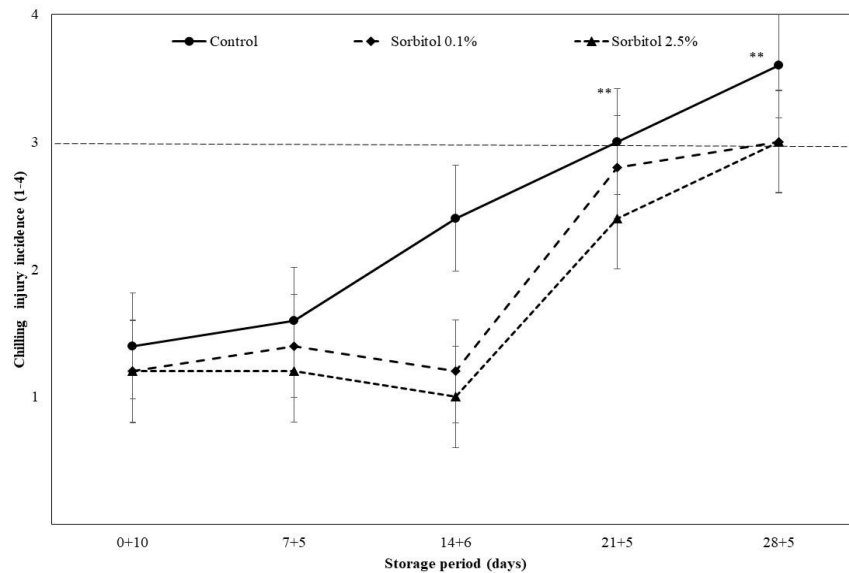


Figure 2. Interaction between treatments and storage period for (Experiment I) stored at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days and then transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 5 to 10 days. Means followed by double asterisks (**) are significantly different using Tukey's test at $P < 0.01$.

The variable related to chilling injury lesions (CI vector) was positioned in the lower positive quadrant of PC1, grouping with fresh weight loss (FWL), the soluble solid content (SSC), and pulp luminosity (L_{pulp}), as shown in Figure 3A. CIs do not correlate with firmness, peel and pulp chromaticity (C^*_{peel} and C^*_{pulp}), the pulp hue angle (h°_{pulp}), the ratio (SSC/TA), or the pH. The data from the treatments evaluated on the last storage days (21 and 28 days) tended to be closer to the CI vector, while those from the control treatment, followed by immersion in 0.1% sorbitol and the 2.5% sorbitol treatment, were distanced more from this vector (Figure 3A).

Upon moving the fruits to ambient conditions, the CI vector was positioned in the upper-left quadrant of PC2, grouping with pulp luminosity (L_{pulp}), titratable acidity (TA), and firmness, was not associated with the SSC levels, pH, SSC/TA, peel chromaticity (C^*_{peel}), or peel hue angle (h°_{peel}), as shown in Figure 3A. At the beginning of the storage period, CIs were associated with the control treatment and with the 0.1% and 2.5% sorbitol treatments at the end of storage (21 and 28 days) (Figure 3B).

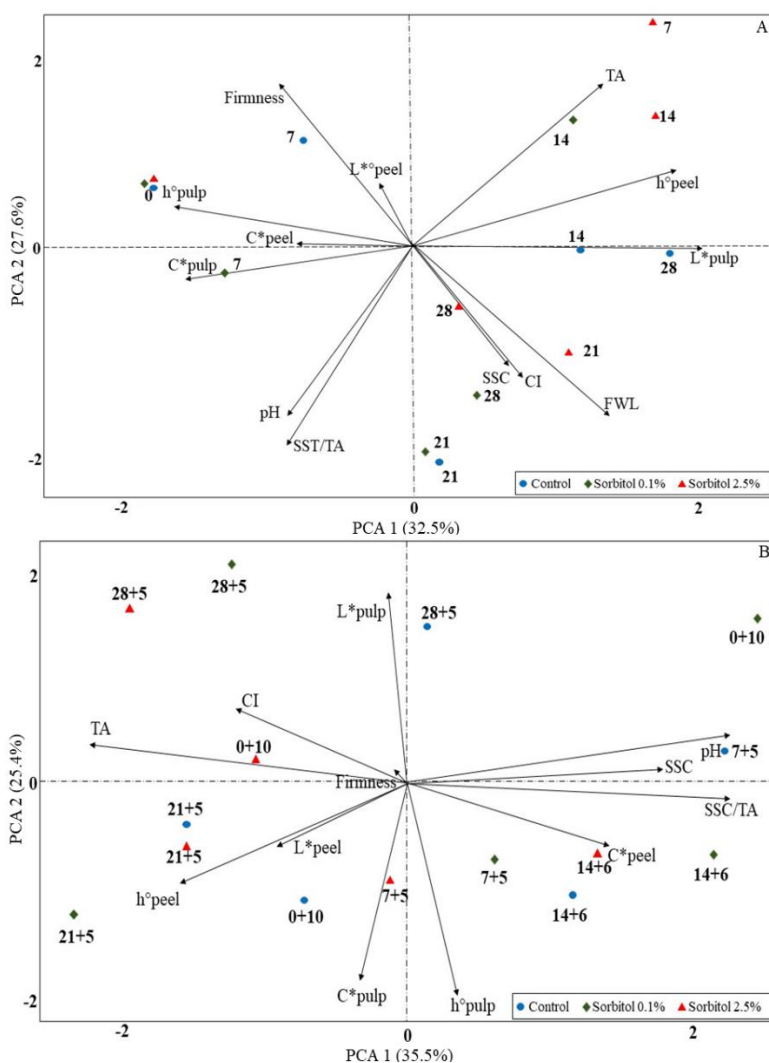


Figure 3. Biplot of the first principal component (PC1) and the second principal component (PC2) of 'Palmer' mango samples (Experiment I) stored at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days (A) and transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 5 to 10 days (B). Chilling injury (CI), fresh weight loss (FWL), luminosity (L^*), hue angle (h°), chromaticity (C^*), firmness, soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), ratio (SSC/TA), and pH. Treatments include control, 0.1% sorbitol, and 2.5% sorbitol.

3.1.2. Cold damage and oxidative metabolism

The sorbitol treatments affected the oxidative metabolism during cold storage (Table 5) and after moving to ambient conditions (Table 6). The CI vector correlated with the

hydrogen peroxide content in the peel ($H_2O_{2\text{peel}}$), especially for the samples evaluated at the end of storage (21 and 28 days). The 0.1% and 2.5% sorbitol treatments were distanced from the CI vector, associating with the vectors of the superoxide dismutase enzyme in the peel and pulp (SOD_{peel} and SOD_{pulp}) and the ascorbate peroxidase in the peel (APX_{peel}). On the other hand, the control treatment correlated with the vectors related to the hydrogen peroxide content in the pulp ($H_2O_{2\text{pulp}}$) and the PPO activity in the peel (PPO_{peel}), as shown in Figure 4A.

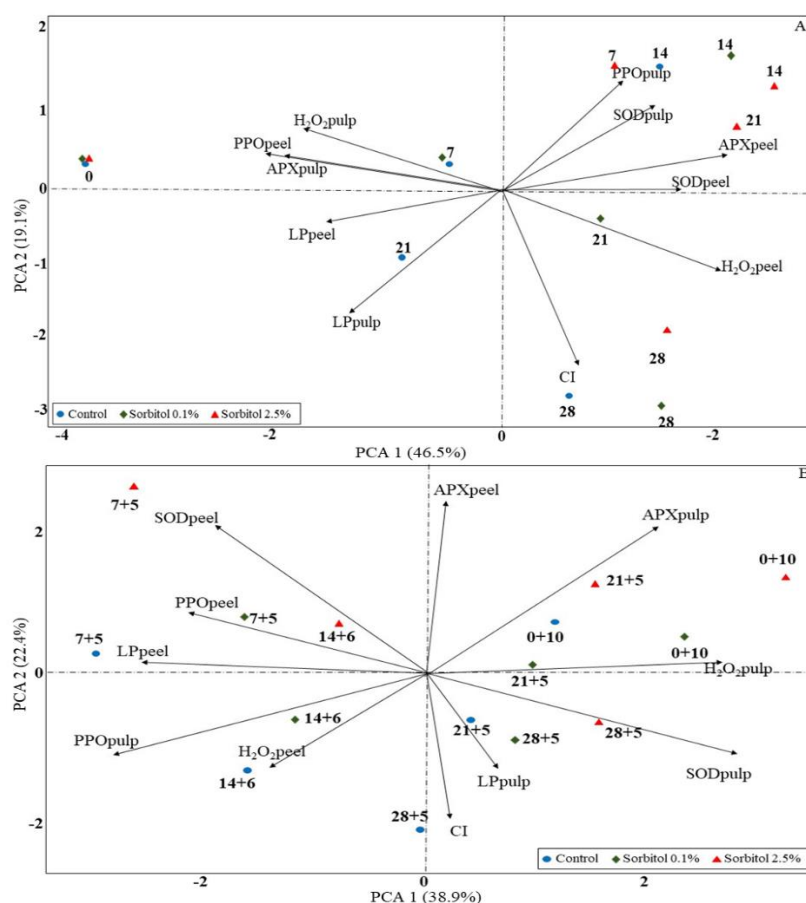


Figure 4. Biplot of the first principal component (PC1) and the second principal component (PC2) of 'Palmer' mango samples (Experiment I) stored at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days (A) and transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 5 to 10 days (B). Lipid peroxidation (LP), hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), and polyphenol oxidase (PPO). Treatments: control, 0.1% sorbitol, and 2.5% sorbitol.

Table 5. Effect of dipping 'Palmer' mangoes (Experiment I) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days on the parameters of lipid peroxidation (LP), hydrogen peroxide content (H_2O_2), and the activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), and polyphenol oxidase (PPO).

Main effects	LP peel	LP pulp	H_2O_2 peel	H_2O_2 pulp	SOD peel	SOD pulp	APX peel	APX pulp	PPO peel	PPO pulp
Treatments (A)										
Control	2.72 ^a	2.28 ^a	76.87 ^a	57.59 ^a	129.06 ^a	204.12 ^a	64.65 ^c	123.60 ^b	133.13 ^a	180.13 ^a
Sorbitol 0.1%	2.76 ^a	2.28 ^a	75.04 ^a	51.68 ^b	120.66 ^{ab}	218.50 ^a	83.82 ^b	127.87 ^{ab}	107.08 ^b	161.14 ^b
Sorbitol 2.5%	2.51 ^a	2.05 ^b	70.57 ^a	48.52 ^b	129.06 ^a	227.54 ^a	96.21 ^a	134.76 ^a	100.53 ^b	119.17 ^c
<i>Test F</i>	2.27 ^{ns}	6.27 ^{**}	2.66 ^{ns}	9.41 ^{**}	4.63 [*]	2.80 ^{ns}	70.62 ^{**}	4.90 [*]	51.85 ^{**}	56.95 ^{**}
Days (B)										
0	3.06 ^a	2.34 ^a	8.80 ^d	91.94 ^b	105.24 ^a	101.46 ^d	41.19 ^d	227.41 ^a	184.02 ^a	81.63 ^c
7	2.33 ^b	2.21 ^a	53.14 ^c	100.93 ^a	106.24 ^a	203.85 ^c	96.77 ^{ab}	97.37 ^c	90.32 ^{cd}	151.36 ^b
14	2.56 ^b	1.87 ^b	89.08 ^b	14.94 ^d	125.34 ^a	296.07 ^b	102.15 ^a	84.06 ^{cd}	107.83 ^b	307.77 ^a
21	2.78 ^{ab}	2.27 ^a	108.91 ^a	37.63 ^c	130.58 ^a	362.51 ^a	77.83 ^c	154.71 ^b	102.46 ^{bc}	133.20 ^b
28	2.59 ^b	2.33 ^a	110.86 ^a	17.48 ^d	105.24 ^a	119.71 ^d	89.85 ^b	80.18 ^d	83.27 ^d	93.45 ^c
<i>Test F</i>	5.67 ^{**}	8.20 ^{**}	284.82 ^{**}	450.63 ^{**}	2.55 ^{ns}	152.09 ^{**}	99.21 ^{**}	364.92 ^{**}	172.00 ^{**}	289.64 ^{**}
Interaction										
<i>Test F</i>	2.04 ^{ns}	1.62 ^{ns}	0.99 ^{ns}	1.40 ^{ns}	0.94 ^{ns}	0.37 ^{ns}	14.67 ^{**}	1.32 ^{ns}	5.59 ^{**}	24.47 ^{**}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**)..

Table 6. Effect of dipping ‘Palmer’ mangoes (Experiment I) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days on the parameters of lipid peroxidation (LP), hydrogen peroxide content (H_2O_2), and the activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), and polyphenol oxidase (PPO) after transferring the mangoes to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 5 to 10 days.

Main effects	LP peel	LP pulp	H_2O_2 peel	H_2O_2 pulp	SOD peel	SOD pulp	APX peel	APX pulp	PPO peel	PPO pulp
Treatments (A)										
Control	4.93 ^a	4.23 ^a	104.03 ^a	41.43 ^a	89.19 ^b	181.85 ^c	80.55 ^c	276.41 ^c	212.56 ^a	269.28 ^a
Sorbitol 0.1%	4.57 ^{ab}	4.32 ^a	99.59 ^{ab}	37.36 ^{ab}	92.29 ^b	192.95 ^b	90.17 ^b	320.59 ^b	183.17 ^b	233.92 ^b
Sorbitol 2.5%	4.21 ^b	4.01 ^a	95.55 ^b	35.71 ^b	113.96 ^a	202.52 ^a	110.69 ^a	353.81 ^a	170.95 ^c	197.12 ^c
<i>Test F</i>	4.88 [*]	1.79 ^{ns}	7.29 ^{**}	5.15 [*]	45.45 ^{**}	15.43 ^{**}	159.49 ^{**}	254.76 ^{**}	52.74 ^{**}	37.95 ^{**}
Days (B)										
0+10	4.64 ^{ab}	4.08 ^{ab}	89.85 ^c	63.87 ^a	57.91 ^d	257.26 ^a	90.37 ^b	374.25 ^a	189.69 ^b	150.12 ^c
7+5	5.10 ^a	3.61 ^b	108.41 ^a	25.25 ^c	162.49 ^a	119.01 ^c	111.85 ^b	311.69 ^c	236.11 ^a	284.72 ^a
14+6	4.67 ^{ab}	4.56 ^a	90.78 ^c	23.75 ^c	77.87 ^c	120.19 ^c	87.39 ^c	263.10 ^e	203.12 ^b	300.59 ^a
21+5	4.27 ^{ab}	4.51 ^a	99.11 ^b	40.92 ^b	122.27 ^b	200.14 ^b	129.06 ^a	345.08 ^b	154.53 ^c	208.38 ^b
28+5	4.18 ^b	4.16 ^{ab}	110.47 ^a	37.01 ^b	71.91 ^c	265.26 ^a	63.68 ^d	290.73 ^d	161.53 ^c	223.38 ^b
<i>Test F</i>	3.11 [*]	6.14 ^{**}	22.41 ^{**}	92.83 ^{**}	265.85 ^{**}	436.84 ^{**}	260.14 ^{**}	194.87 ^{**}	76.03 ^{**}	64.76 ^{**}
Interaction										
<i>Test F</i>	1.65 ^{ns}	0.33 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.39 ^{ns}	15.52 ^{**}	0.81 ^{ns}	14.59 ^{**}	48.50 ^{**}	12.07 ^{**}	2.05 ^{ns}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}),

significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

Upon being transferred to ambient conditions, the vector related to chilling injuries (CIs) was positioned in the lower positive quadrant of PC1, grouping with the vectors of lipid peroxidation (LP_{pulp}) and superoxide dismutase (SOD_{pulp}), and even more with the data from the control treatment on evaluation days 21+5 and 28+5, which were closer to the CI vector (Figure 4B).

3.2. Experiment II: CA—modification of atmospheric gases

3.2.1. Cold damage and physicochemical variables

The association of sorbitol treatments and CA resulted in fewer chilling injuries (CIs) developing (Table 7) and a better fruit quality during cold storage compared to the control treatment (Figure 5). However, the CI symptoms were more severe in this condition with respect to Experiment I (Table 3 and Table 4). Upon moving the fruits to ambient conditions, the 0.1% and 2.5% sorbitol treatments reduced CI development (Table 8), and the mangoes showed better visual quality (Figure 3S and Figure 4S). Again, if score 3 (moderate symptoms - CI = 25–50%) is used as the shelf-life threshold, the only treatment that reached this level of CI was the control and CA treatments (Figure 6). Overall, the shelf-life was 21+4 and 28+4 days for all the treatments (Figure 6).

Table 7. Effect of dipping 'Palmer' mangoes (Experiment II) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with modified gases ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days on the parameters of fresh weight loss (FWL), chilling injury (CI), soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), the ratio (SSC/TA), and pH.

Main effect	FWL (%)	CI (1-4)	SSC (%)	TA (g kg ⁻¹)	SSC/TA	pH
Treatments (A)						
Control	0.86 ^a	1.70 ^a	8.91 ^a	0.435 ^{ab}	20.65 ^a	3.63 ^a
CA	0.77 ^a	1.60 ^{ab}	8.74 ^a	0.427 ^{ab}	20.88 ^{ab}	3.70 ^a
Sorbitol 0.1%+CA	0.76 ^a	1.40 ^b	8.38 ^a	0.476 ^a	18.37 ^b	3.72 ^a
Sorbitol 2.5%+CA	0.73 ^a	1.35 ^b	8.66 ^a	0.418 ^b	21.16 ^{ab}	3.71 ^a
Test F	1.43 ^{ns}	5.24 ^{**}	2.43 ^{ns}	3.15 [*]	3.06 [*]	1.14 ^{ns}
Days (B)						
0	0.00 ^e	1.00 ^c	6.90 ^d	0.340 ^c	21.70 ^{ab}	3.81 ^a
7	0.39 ^d	1.00 ^c	7.88 ^c	0.521 ^a	15.37 ^c	3.57 ^b
14	0.76 ^c	1.00 ^c	8.42 ^c	0.452 ^b	18.81 ^{bc}	3.66 ^{ab}
21	1.12 ^b	1.68 ^b	9.74 ^b	0.439 ^b	22.41 ^{ab}	3.73 ^{ab}
28	1.62 ^a	2.87 ^a	10.42 ^a	0.441 ^b	24.28 ^a	3.68 ^{ab}
Test F	149.57 ^{**}	102.72 ^{**}	80.90 ^{**}	15.60 ^{**}	13.84 ^{**}	4.23 ^{**}
Interaction						
Test F	0.82 ^{ns}	2.64 ^{**}	2.85 ^{**}	1.78 ^{ns}	0.85 ^{ns}	0.43 ^{ns}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

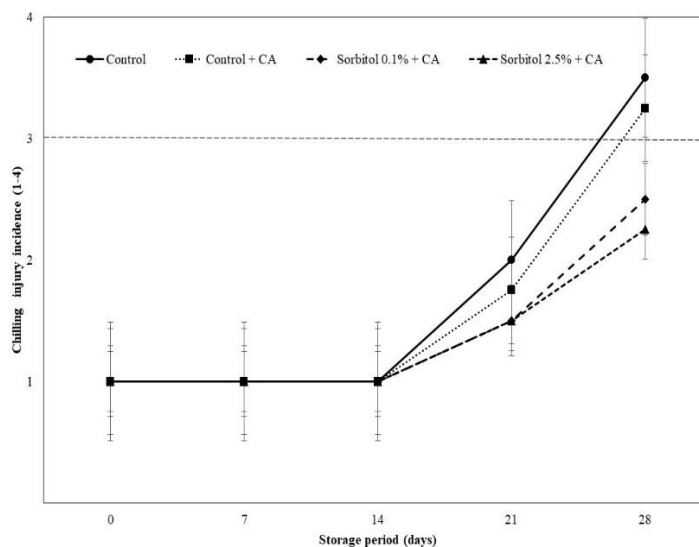


Figure 5. Interaction between treatments and storage period for chilling injury (CI) in 'Palmer' mangoes (Experiment II) stored at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with gas modification ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days and then transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH).

Table 8. Effect of dipping ‘Palmer’ mangoes (Experiment II) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with modified gases ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days on the parameters of chilling injury (CI), soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), ratio (SSC/TA), and pH after being transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 7 to 4 days.

Main effects	CI (1-4)	SSC (%)	TA (g kg ⁻¹)	SSC/TA	pH
Treatments (A)					
Control	2.10 ^a	11.86 ^a	0.351 ^a	34.07 ^a	3.99 ^a
CA	1.90 ^{ab}	11.75 ^a	0.336 ^{ab}	35.28 ^a	4.06 ^a
Sorbitol 0.1%+CA	1.55 ^b	11.50 ^a	0.330 ^b	34.87 ^a	4.08 ^a
Sorbitol 2.5%+CA	1.50 ^b	10.61 ^b	0.350 ^a	30.52 ^b	4.13 ^a
Test F	5.41 ^{**}	6.63 ^{**}	4.96 ^{**}	7.65 ^{**}	1.29 ^{ns}
Days (B)					
0+7	1.12 ^c	11.40 ^{ab}	0.338 ^{bc}	33.85 ^b	4.02 ^a
7+6	1.12 ^c	12.21 ^a	0.324 ^c	37.81 ^a	4.19 ^a
14+4	1.56 ^c	11.41 ^{ab}	0.327 ^c	35.04 ^{ab}	4.02 ^a
21+4	2.18 ^b	10.83 ^b	0.368 ^a	29.44 ^c	4.07 ^a
28+4	2.81 ^a	11.30 ^{ab}	0.353 ^{ab}	32.30 ^{bc}	4.03 ^a
Test F	28.09 ^{**}	4.11 ^{**}	12.77 ^{**}	12.59 ^{**}	1.72 ^{ns}
Interaction					
Test F	0.86 ^{ns}	2.68 ^{**}	3.74 ^{**}	1.75 ^{ns}	1.34 ^{ns}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other by Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

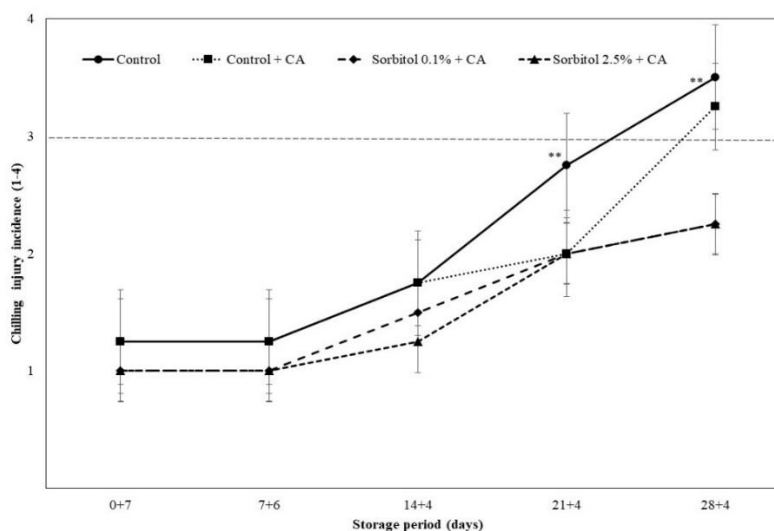


Figure 6. Interaction between treatments and storage period for chilling injury (CI) in ‘Palmer’ mangoes (Experiment II) stored at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with gas modification ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days and then transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 7 to 4 days. Means followed by double asterisks (**) are significantly different using Tukey's test at $P < 0.01$.

The CI vector was in the lower-right quadrant of PC1 and correlated with the FWL, SSC, C^*_{peel} , SSC/TA, and hue angle (h°_{peel}) vectors, grouping with the vectors of the control and CA treatments at both 21 and 28 days of storage (Figure 7A). The vectors of the variables of firmness, L_{pulp} , pH, h°_{pulp} , and C^*_{pulp} were in PC2 and did not correlate with CI. In the ambient conditions, the CI vector positioned itself in the upper quadrant of PC1 and correlated with L_{peel} , L_{pulp} , h°_{peel} , and C^*_{peel} , with the vectors of the control and CA treatments more grouped with this vector, especially on the last evaluation days (14+4, 21+4, and 28+4). On the other hand, the data from the 2.5% sorbitol treatment grouped in the lower quadrant of PC1 (Figure 7B).

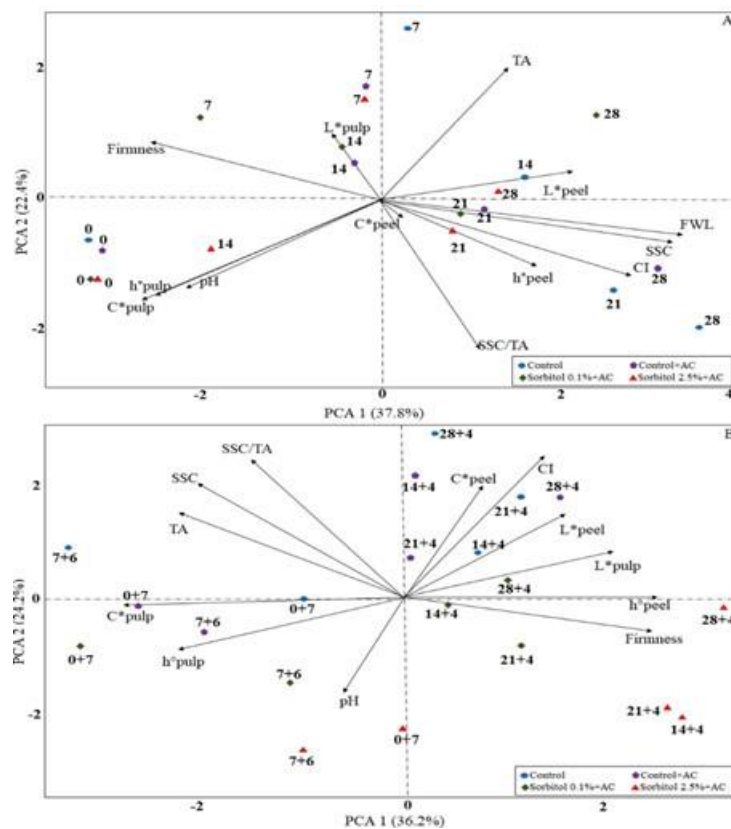


Figure 7. Biplot of the first principal component (PC1) and the second principal component (PC2) of 'Palmer' mango samples (Experiment II) stored at $4 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere ($5\text{ kPa O}_2 + 5\text{ kPa CO}_2$) for 28 days (A) and transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 4 to 7 days (B). Chilling injury (CI), fresh weight loss (FWL), luminosity (L^*), hue angle (h°), chromaticity (C^*), firmness, soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), ratio (SSC/TA), and pH. Treatments: negative control, positive CA, 0.1% sorbitol+CA, and 2.5% sorbitol+CA.

3.2.2. Cold damage and oxidative metabolism

The sorbitol treatments affected the oxidative metabolism during cold storage (Table 9) and after the move to ambient conditions (Table 10). The CI vector was positioned in the upper-right quadrant of PC1, correlating with LP_{pulp} and grouping with the data from the negative control treatment on all the evaluated days as well as the CA and 0.1% sorbitol treatments on day 28 (Figure 8A). On the other hand, the vectors related to the activity of the ascorbate peroxidase enzyme (APX_{peel} and APX_{pulp}) and superoxide dismutase (SOD_{pulp}) were located on the opposite side of CI, highlighting the 0.1% and 2.5% sorbitol treatments (7 and 14 days), which grouped with the vectors of these enzymes (Figure 8A).

Table 9. Effect of dipping ‘Palmer’ mangoes (Experiment II) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with modified gases (5 kPa O_2 + 5 kPa CO_2) for 28 days on the parameters of lipid peroxidation (LP), hydrogen peroxide content (H_2O_2), and the activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), and polyphenol oxidase (PPO).

Main effects	LP peel	LP pulp	H_2O_2 peel	H_2O_2 pulp	SOD peel	SOD pulp	APX peel	APX pulp	PPO peel	PPO pulp
Treatments (A)										
Control	2.92 ^a	2.27 ^a	58.45 ^a	68.71 ^a	168.40 ^d	363.31 ^c	86.98 ^c	193.83 ^c	84.94 ^a	149.18 ^a
CA	2.76 ^a	1.97 ^a	56.05 ^{ab}	53.46 ^b	182.48 ^c	378.48 ^c	99.39 ^b	232.09 ^b	73.16 ^b	131.22 ^b
Sorbitol 0.1% +CA	2.76 ^a	1.91 ^a	52.08 ^b	48.18 ^b	200.17 ^b	403.71 ^b	102.88 ^b	238.93 ^b	67.59 ^c	100.98 ^c
Sorbitol 2.5% +CA	2.72 ^a	1.88 ^a	50.21 ^b	38.46 ^c	207.86 ^a	424.14 ^a	112.19 ^a	267.53 ^a	61.38 ^d	91.34 ^d
<i>Test F</i>	0.53 ^{ns}	2.74 ^{ns}	5.24 ^{**}	54.63 ^{**}	176.66 ^{**}	27.05 ^{**}	24.05 ^{**}	157.39 ^{**}	50.98 ^{**}	275.54 ^{**}
Days (B)										
0	2.10 ^c	1.82 ^b	69.99 ^a	11.85 ^c	178.66 ^b	646.47 ^a	160.55 ^a	2131.24 ^b	134.80 ^a	127.04 ^b
7	2.45 ^{bc}	1.99 ^{ab}	46.25 ^c	54.71 ^b	148.81 ^d	420.82 ^b	79.08 ^d	268.81 ^a	39.30 ^d	119.52 ^c
14	2.66 ^b	2.43 ^a	46.77 ^c	59.99 ^b	112.11 ^e	320.52 ^c	124.69 ^b	261.82 ^a	50.98 ^c	142.11 ^a
21	3.42 ^a	1.76 ^b	46.36 ^c	80.53 ^a	349.38 ^a	333.08 ^c	102.28 ^c	216.51 ^c	47.32 ^c	94.19 ^e
28	3.33 ^a	2.05 ^{ab}	61.56 ^b	53.94 ^b	159.67 ^c	241.17 ^d	35.20 ^e	186.10 ^d	86.43 ^b	108.05 ^d
<i>Test F</i>	18.12 ^{**}	4.71 ^{**}	36.18 ^{**}	170.95 ^{**}	3837.48 ^{**}	722.86 ^{**}	394.41 ^{**}	156.76 ^{**}	637.60 ^{**}	102.51 ^{**}
Interaction										
<i>Test F</i>	0.59 ^{ns}	0.64 ^{ns}	1.22 ^{ns}	6.59 ^{**}	65.60 ^{**}	6.12 ^{**}	4.11 ^{**}	29.51 ^{**}	13.01 ^{**}	30.02 ^{**}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

Table 10. Effect of dipping ‘Palmer’ mangoes (Experiment II) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with modified gases (5 kPa O_2 + 5 kPa CO_2) for 28 days on the parameters of lipid peroxidation (LP), hydrogen peroxide content (H_2O_2), and the activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), and polyphenol oxidase (PPO) after being transferred to the ambient ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 7 to 4 days.

Main effects	LP peel	LP pulp	H_2O_2 peel	H_2O_2 pulp	SOD peel	SOD pulp	APX peel	APX pulp	PPO peel	PPO pulp
Treatments (A)										
Control	4.11 ^a	3.41 ^a	82.29 ^a	53.85 ^a	104.39 ^d	125.64 ^d	56.16 ^c	162.15 ^d	190.58 ^a	119.27 ^a
CA	4.01 ^a	3.32 ^a	71.72 ^b	50.94 ^a	131.48 ^c	131.77 ^c	65.07 ^b	174.05 ^c	167.62 ^b	104.32 ^b
Sorbitol 0.1% +CA	3.81 ^a	3.30 ^a	66.37 ^c	42.66 ^b	145.41 ^b	141.46 ^b	67.27 ^b	181.72 ^b	160.28 ^c	99.93 ^b
Sorbitol 2.5% +CA	3.75 ^a	2.95 ^a	58.92 ^c	36.86 ^b	161.92 ^a	155.30 ^a	76.92 ^a	190.04 ^a	143.45 ^d	90.31 ^c
<i>Test F</i>	1.04 ^{ns}	1.84 ^{ns}	32.23 ^{**}	18.74 ^{**}	241.88 ^{**}	86.97 ^{**}	45.45 ^{**}	44.85 ^{**}	149.68 ^{**}	50.56 ^{**}
Days (B)										
0+7	3.43 ^b	3.15 ^{ab}	71.87 ^{ab}	47.60 ^b	69.92 ^e	202.64 ^a	67.60 ^c	185.59 ^b	140.00 ^d	57.69 ^d
7+6	3.58 ^b	3.80 ^a	71.01 ^{ab}	27.92 ^c	95.68 ^c	103.92 ^d	86.84 ^a	166.61 ^c	180.65 ^c	33.91 ^e
14+4	4.42 ^a	2.90 ^b	77.66 ^a	59.88 ^a	241.43 ^a	147.17 ^b	75.51 ^b	147.69 ^d	82.92 ^e	111.31 ^c
21+4	3.42 ^b	2.90 ^b	62.66 ^c	64.25 ^a	185.57 ^b	103.12 ^d	51.55 ^d	178.61 ^c	232.32 ^a	128.54 ^b
28+4	4.74 ^a	3.48 ^{ab}	65.93 ^{bc}	27.90 ^c	86.39 ^d	135.87 ^c	50.33 ^d	206.15 ^a	191.52 ^b	185.91 ^a
<i>Test F</i>	11.35 ^{**}	5.37 ^{**}	8.91 ^{**}	67.64 ^{**}	1796.24	690.96 ^{**}	121.81 ^{**}	120.85 ^{**}	1005.68 ^{**}	1003.14
					**					**
Interaction										
<i>Test F</i>	0.14 ^{ns}	0.2 ^{ns}	1.04 ^{ns}	2.45 [*]	63.20 ^{**}	9.55 ^{**}	3.38 ^{**}	3.95 ^{**}	26.77 ^{**}	3.45 ^{**}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

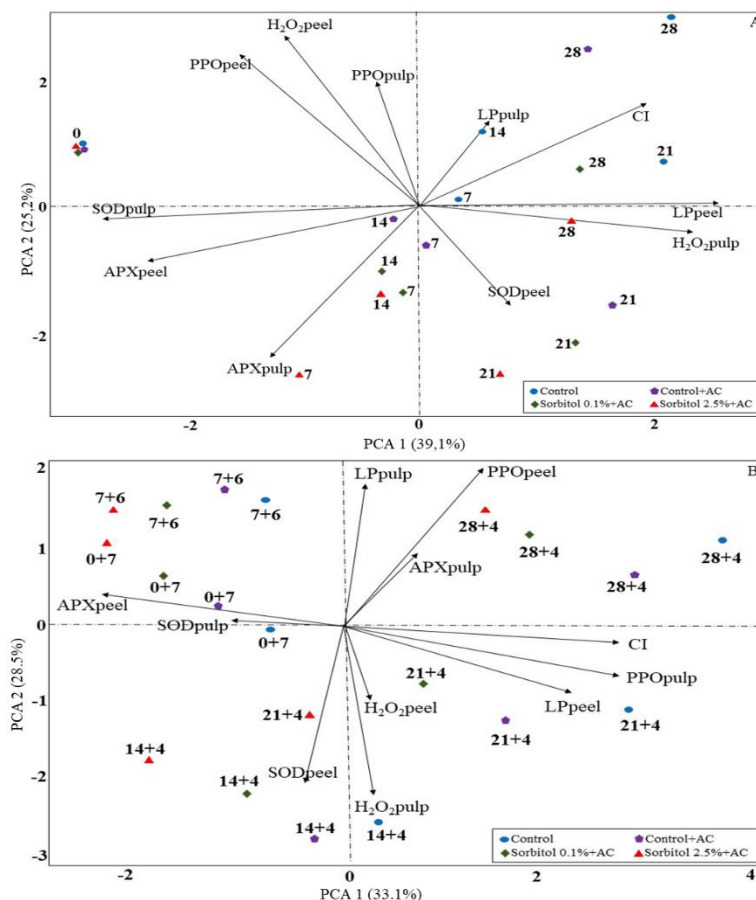


Figure 8. Biplot of the first principal component (PC1) and the second principal component (PC2) of 'Palmer' mango samples (Experiment II) stored at $4 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days (A) and transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 4 to 7 days (B). Lipid peroxidation (LP), hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), and polyphenol oxidase (PPO). Treatments: negative control, CA, 0.1% sorbitol+CA, and 2.5% sorbitol+CA.

When the fruits were transferred to ambient conditions, the vector of chilling injury (CI) was positioned in the lower-right quadrant of PC1, correlating with the activity of the PPO enzyme in the pulp (PPO_{pulp}), LP_{peel} , $\text{H}_2\text{O}_{2\text{peel}}$, and $\text{H}_2\text{O}_{2\text{pulp}}$ and grouping with the data from the negative control and CA treatments on days 21+4 and 28+4, which presented more pronounced chilling injury lesions at the end of storage compared to the 2.5% sorbitol treatment (Figure 8B).

4. Discussion

4.1. Cold damage and physicochemical variables

In both the experiments, the incidence of chilling injuries (CIs) correlated with fresh weight loss (FWL), especially in the control treatments on the last evaluation days. The same was reported by Sanches et al. [15], who stored mangoes at 8°C. However, those authors reported that a 75% RH cold room provided a fresh weight loss of 18%, and even under those conditions, immersion in solutions containing polyols (propylene glycol, glycerol, and sorbitol) significantly reduced the fresh weight loss to 17% [15]. This may suggest an effect of the modified atmosphere even at reduced sorbitol concentrations (0.1%).

To verify the effectiveness of sorbitol immersion by isolating the control of fresh weight loss on chilling injury development, we stored the fruit at 8.0 ± 1.0 °C and $95 \pm 0.5\%$ RH without gas modification (21 kPa O₂ + 0.03 kPa CO₂) for 28 days in CA chambers. This minimized the fresh weight loss (0.78–0.89%), and the sorbitol treatments had no significant effect. The same occurred during the storage of the fruits at 4.0 ± 1.0 °C and $95 \pm 0.5\%$ RH under a CA containing 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂ for 28 days; i.e., the fresh weight loss was reduced to 0.65–0.88%. Thus, the effect of the immersion in the sorbitol-containing solutions was not related to the reduction in fresh weight loss, as there was no significant effect compared to the control treatments, which showed more severe chilling injury symptoms regardless of the CA conditions.

The worsening of the chilling injury symptoms when the fruits were moved to ambient conditions was evidenced by the darkening of the epicarp, which is usually observed after removal from cold storage and fruits become ripe [42]. For this reason, the chilling injuries correlated with variables such as L_{peel} , h°_{peel} , C^*_{peel} , and h°_{pulp} (Tables 1S, 2S, 3S, and 4S). However, the chilling injuries were not restricted to damage to the epicarp and led to irregular ripening, affecting the color parameters of the pulp, the SSC, the TA, and the ratio. The discoloration of the epicarp (peel) and irregular ripening are commonly observed in mangoes stored at low temperatures [43].

Sanches et al. [44] have reported that a combination of immersion in solutions containing 2.5% sorbitol with storage in CA (5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂) has delayed mango ripening and controlled chilling injury development. We observed that the mangoes subjected to the 0.1% and 2.5% sorbitol treatments were firmer even after being transferred to the ambient conditions, which may have affected the ripening process. In both of our experiments, dipping the fruit in 2.5% sorbitol reduced chilling injury incidence and the fruits remained firmer. Thus, maintaining firmness may be related to the control of chilling injuries. Salazar-Salas et al. [45] observed that 'Keitt' mangoes dipped in hot water (HWT) showed a lower incidence of chilling injuries and had better firmness. Thus, firmness may be indicative of maintaining the structure of the cell wall and plasma membrane and be associated with reduced chilling injuries.

4.2. Cold damage and oxidative metabolism

Chilling injury development was related to the accumulation of malondialdehyde (MDA) (LP_{pulp} and LP_{peel}), which is considered a marker of lipid membrane peroxidation [46]. In PCA, it was observed that chilling injury correlated with hydrogen peroxide content (H₂O_{2peel}), LP_{pulp}, LP_{pulp}, LP_{peel}, H₂O_{2peel}, H₂O_{2pulp}, and LP_{peel}, especially in the control treatment on the last evaluation days (21, 21+4, 28, and 28+4 days), as represented by increases in MDA and H₂O₂ contents.

Dipping the mangoes in sorbitol (0.1% and 2.5%) resulted in a higher activity level of superoxide dismutase (SOD), which is considered the first enzyme to be activated in the elimination of ROS via O₂ dismutation [13]. Thus, it can be inferred that the sorbitol influenced the control of oxidative stress by increasing the SOD activity level in the fruit, similar to other polyols [47].

Other enzymes, such as APX, CAT, and POD, are also considered important in initiating plant defenses against oxidative stress. In this sense, higher activity levels of APX enzymes can reduce hydrogen peroxide accumulation, which was observed in the fruit treated with the sorbitol (0.1% and 2.5%) compared to the H₂O_{2peel} and H₂O_{2pulp} vectors of the control fruit, which showed significant increases in H₂O₂ and more severe chilling injury symptoms. Pomegranates (*Punica granatum* L.) with chilling injury symptoms had a higher accumulation of H₂O₂, which was lower in the fruits treated with arginine, also resulting in

increased activity levels of the SOD, CAT, and APX enzymes [48]. Thus, the activation of the enzymatic defense system (SOD, APX, and CAT) is fundamental for reducing H₂O₂ accumulation in plants under stress conditions [49] and, consequently, minimizes chilling injuries in fruits stored at low temperatures, which was possible with the immersion in 2.5% sorbitol.

The most visible symptom of chilling injuries in mangoes is the presence of dark, sunken spots, similar to burns, associated with a higher polyphenol oxidase enzyme (PPO) activity level [50]. In both the experiments, the PPO activity correlated with the highest incidence of chilling injuries, especially in the control treatment of the experiment without gas modification (21 kPa O₂ + 0.03 kPa CO₂) after the fruits were transferred to the ambient conditions in the last days of storage (21+4, 28+4). However, the treatments with sorbitol, especially the 2.5% treatment, significantly reduced the PPO activity. This effect was evident when the CA (5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂) and 2.5% sorbitol treatment were combined, even at lower temperatures (4.0°C). This demonstrates a synergistic effect between CA and sorbitol treatment in activating oxidative metabolism to control chilling injuries. However, this combination only minimizes the chilling injuries, and further studies should be conducted to explain which mechanisms are involved combining sorbitol and CA.

5. Conclusion

The immersion of 'Palmer' mangoes in sorbitol-containing solutions demonstrated efficacy in mitigating chilling injuries under varied storage conditions, which has not been extensively explored in the existing literature, such as differing gas compositions (21 kPa O₂ + 0.03 kPa CO₂ and 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂) and temperatures (8°C and 4°C). When the mangoes were stored under controlled atmosphere (CA) conditions with 95% RH, it was possible to mitigate the impact of fresh weight loss and chilling injury symptoms, enabling the preservation of fruit quality for up to 21+5 days at 8°C and to 21+4 days at 4°C.

The effectiveness of controlling chilling injury was attributed to the attenuation of lipid peroxidation in the cell membranes and the activation of the antioxidant enzymes SOD and APX in the epicarp and mesocarp, particularly in the mangoes treated with sorbitol. Notably, the application of 2.5% sorbitol emerged as the most effective approach to

mitigating chilling injuries, sustaining the fruit quality, and enhancing oxidative metabolism even at lower temperatures. Thus, this treatment option has established itself as a viable strategy for chilling injury management in mangoes.

Author Contributions:

Maryelle Barros da Silva: formal analysis, investigation, data curation, writing - original draft, visualization; Vanessa Maria Dantas Pedrosa: formal analysis, investigation; Maiqui Izidoro: formal analysis, investigation; Tiago Santana Balbuena: supervision, writing - review & editing; Alex Guimarães Sanches: formal analysis, investigation, writing - original draft; Gustavo Henrique de Almeida Teixeira: conceptualization, resources, supervision, project administration, funding acquisition, data curation, visualization, writing - review & editing.

Funding:

This research was funded by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) grant number [2019/15116-0] and in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—(CAPES) Brazil—finance code [001].

Data Availability Statement:

The data will be available upon request.

Acknowledgments:

The authors would also like to thank Ogata Citrus, represented by Ademar Ogata, and Agropecuária represented by Roriz Dantas (AGRODAN) for providing the fruit.

Conflict of Interest:

The authors declare no conflict of interest.

References

[1] Vega-Alvarez, M., Salazar-Salas, N.Y., López-Ângulo, G., Pineda-Hidalgo, K.V., López-López, M.E., Vega-García, M.O, Delgado-Vargas, F., López-Valenzuela, J.A. Metabolomic changes in mango fruit peel associated with chilling injury tolerance induced by quarantine

hot water treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 2020, 169, 111299, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111299>.

[2] Singh, Z., Singh R.K., Sane V.A., Nath P. Mango-postharvest biology and biotechnology. *Crit. Rev. Plant Sci.* 2013, 32:217-236, <https://doi.org/10.1080/07352689.2012.743399>.

[3] Penchaiya, P., Tijskens, L.M.M., Uthairatanakij, A., Srilaong, V., Tansakul, A., Kanlayanarat, S. Modelling quality and maturity of 'Namdokmai Sithong' mango and their variation during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 2020, 159, article 111000. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111000>.

[4] Zaharah, S.S., Singh, Z. Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury, delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored 'Kensington Pride' mango. *Postharvest Biol. Technol.* 2011, 60, 202-210, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.01.011>.

[5] Zhang, Z., Zhu, Q., Hu, M., Gao, Z., An, F., Li, M., Jiang, Y. Low-temperature conditioning induces chilling tolerance in stored mango fruit. *Food Chem.* 2017, 219, 76 - 84, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.123>.

[6] Chaplin, G.R., Cole, S.R., Landrin, M., Nuevo, P.A, Lam, P.F., Graham, G. Chilling injury and storage of mango (*Mangifera indica* L.) held under low temperatures. *Acta Hort.* 1991, 291, 461–471, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1991.291.52>.

[7] Lyons, J.M., Raison, J.K., Steponkus, P.L. The plant membrane in response to low temperature: an overview. J.M. Lyons, D. Graham, J.K. Raison (Eds.), *Low Temperature Stress in Crop Plants: The Role of the Membrane*, Academic Press: New York. 1979, 1-24.

[8] Kane, O., Marcellin, P., Mazliak, P. Incidence of ripening and chilling injury on the oxidative activities and fatty acid compositions of the mitochondria from mango fruit. *Plant Physiol.* 1978, 61, 634-638, <https://doi.org/10.1104/pp.61.4.634>.

- [9] Hidalgo, M., Cruz, J., Parkin, K.L., Garcia, H.S. Refrigerated storage and chilling injury development of Manila mangoes (*Mangifera indica* L.), *Acta Hort.* 1997, 455, 718–725, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.455.91>.
- [10] Agillon, A.B., Lizada, M.C.C. Responses of 'Carabao' mango (*Mangifera indica*) fruit to chilling stress. *Acta Hort.* 2012, 877, 467–474. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.877.60>.
- [11] Kumpoun, W., Nishizawa, T., Motomura, Y., Puthmee, T., Aikawa, T. Histological and biochemical traits of chilling-injured pulp tissues as affected by cold storage of mango fruit. 2017, *HortScience*. 52, 1380-1384, <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11928-17>.
- [12] Shewfelt, R.L., Rosario, B.A. The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruit and vegetables. *HortScience*. 2000, 35, 575-579. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.4.575>.
- [13] Wang, B., Zhu, S. Pre-storage cold acclimation maintained quality of cold-stored cucumber through differentially and orderly activating ROS scavengers. *Postharvest Biol. Technol.* 2017, 129, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.03.001>
- [14] Khaliq, G., Mohamed, M.T.M., Ghazali, H.M., Ding, P., Ali, A. Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. *Postharvest Biol. Technol.* 2016, 111, 362-369. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.029>.
- [15] Sanches, A.G., Pedrosa, V.M.D., Checchio, M.V., Fernandes, T.F.S., Guevara, J.E.M., Gratão, P.L., Teixeira, G.H.A. Polyols alleviate chilling injury in 'Palmer' mangoes during cold storage. *Food Control*. 2021, 129, 108248. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108248>.
- [16] Lyons, J.M., Raison, J.K. Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. *Plant Physiol.* 1970, 45, 386-389, <https://doi.org/10.1104/pp.45.4.386>.
- [17] Raison, J.K., Lyons, J.M. Chilling injury: a plea for uniform terminology. *Plant Cell Environ.* 1986, 9, 685-686, <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1986.tb02098.x>

- [18] Raison, J.K, Orr., G.R. Proposals for a better understanding of the molecular basis of chilling injury. *Chilling injury of horticultural crops*. 1990, 145, 164p.
- [19] Sevillano, L., Sanchez-Ballesta, M.T., Romojaro, F., Flores, F.B. Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. *J. Sci. Food Agric*. 2009, 89, 555-573, <https://doi.org/10.1002/jsfa.3468>.
- [20] Rice, T., Zanini, E., Arendt, E.K., Coffey, A.A. Review of polyols – biotechnological production, food applications, regulation, labeling and health effects. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 2020, 60, 2034-2051, <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1625859>.
- [21] Fang, T., Cai, Y., Yang, Q., Ogutu, C.O., Liao, L., Han, Y. Analysis of sorbitol content variation in wild and cultivated apples. *J. Sci. Food Agric*. 2020, 100, 139-144, <https://doi.org/10.1002/jsfa.10005>.
- [22] Kanayama, Y. Physiological roles of polyols in horticultural crops. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci*. 2009, 78, 158-168, <https://doi.org/10.2503/jjshs1.78.158>.
- [23] Ito, A., Sugiura, T., Sakamoto, D., Moriguchi, T. Effects of dormancy progression and low-temperature response on changes in the sorbitol concentration in xylem sap of Japanese pear during winter season. *Tree Physiol*. 2013, 33, 398–408. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpt021>.
- [24] Shirgire, S. D., Talware, R. B., Kadam, S.S., Kumbharkhane, A.C. Dielectric relaxation of d-sorbital-water mixture using a time domain reflectometry technique. *J. Mol. Liq*. 2012, 169, 33-36, <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2012.03.001>.
- [25] Busttamante, C., Monti, L., Gabilondo, J., Scossa, F., Valentini, G., Budde, C., Lara, M., Fernie, A., & Drincovich, M. Differential metabolic rearrangements after cold storage are correlated with chilling injury resistance of peach fruit. *Front. Plant Sci*. 2016, 7, 1478. <http://doi.org.10.3389/fpls.2016.01478>.
- [26] Thomashow, M.F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annual Review Plant Physiol*. 1999, 50, 571–599. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.571>.

- [27] Yang, G., Li, L.Y., Huang, M.L., Yang, F.C., Zhang, F.K., Xu, R.C., Yan, D.Y. Progresses in study on sorbitol effect on plants resistance. *Soils*. 2018, 50, 446-454, [10.13758/j.cnki.tr.2018.03.002](https://doi.org/10.13758/j.cnki.tr.2018.03.002).
- [28] Sanches, A.G., Silva, M.B., Fernandes, T.F.S., Pedrosa, V.M.D., Wong, M.C.C., Gratão, P.L. Teixeira, G.H.A. Quarantine cold treatment hardness of 'Palmer' mangoes treated with polyols. *J. Sci. Food Agric*. 2022a. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11963>
- [29] Miguel, A.C.A., Durigan, J.F., Morgado, C.M.A., Oliveira, R.F. Lesão por frio em manga cv Palmer. *Rev. Bras. Frutic*. 2011, 33, 255-260, <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000500031>.
- [30] Watkins, C., Harman, J. Use of penetrometer to measure flesh firmness of fruit. *Orchardist N.Z.* 1981, 54:14–16
- [31] McGuire, R.G. Reporting of objective color measurements. *HortScience*. 1992, 27, 1254-1255, <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>.
- [32] AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry, 20th ed., Patricia Cunniff: Washington D.C., 2016.
- [33] Gratão, P.L., Monteiro, C.C., Carvalho, R.F., Teozotto, T., Piotto, F.A., Peres, L.E.P., Azevedo, R.A. Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. *Plant Physiol. Biochem*. 2012, 56, 79-96, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.04.009>
- [34] Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S, & Karanov, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ*. 2001, 24, 1337–1344, <http://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>.
- [35] Yang, Z., Zheng, Y., Cao, S. Effect of high oxygen atmosphere on quality, antioxidant enzymes, and DPPH-radical scavenging activity of Chinese bayberry fruit. *J. Agric. Food Chem*. 2009, 57, 176-181, <https://doi.org/10.1021/jf803007j>.
- [36] Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*. 1976, 72, 248-254. [10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

- [37] Giannopolitis, C.N., Ries, S.K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 1977, 59, 309-314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>.
- [38] Beauchamp, C., Fridovich, I. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. *Anal. Biochem.* 1971, 44, 276-287, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8).
- [39] Nakano, Y., Asada, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidases in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol.* 1981, 22, 867-880. <http://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>.
- [40] Sojo, M.M., Nuñez-Delicado, E., García-Carmona, F. Partial purification of a banana polyphenol oxidase using triton X-114 and PEG 8000 for removal of polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* 1998, 46, 4924-4930, <https://doi.org/10.1021/jf980473d>.
- [41] Wissemann, K.W., Lee, C.Y. Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production. *Am. J. Enol. Vitic.* 1980, 31, 206-211, <https://doi.org/10.5344/ajev.1980.31.3.206>.
- [42] Lima, F. T. D., Martins, L. P., Toscano, B. L. M. D., Costa, E. S., Souza, W. F. C., Lucena, F. A., Silva Filho, J. F., Sousa, S. Cold damage affects the quality of noni fruit (*Morinda citrifolia* L.), *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2023, 47, article 102566, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102566>.
- [43] Narayana, C.K., Rao, D.V.S., Roy, S.K., Siddiq, M. Mango Production, Postharvest Physiology and Storage. *Tropical and Subtropical Fruit: Postharvest Physiology, Processing and Packaging.* 2012, 259-276, <https://doi.org/10.1002/9781118324097.ch14>.
- [44] Sanches, A.G., Silva, M. B., Wong, M. C. C., Oliveira, A. R. G., Pedrosa, V. M. D., Fernandes, T. F. S., Gratão, P. L., Teixeira, G. H. A. Sorbitol immersion controls chilling injury in CA stored 'Palmer' mangoes, *Postharvest Biol. Technol.* 2022b, 185, article 111800, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111800>.
- [45] Salazar-Salas, N. Y., Chairez-Veja, D. A., Vega-Alvarez, M., González-Nuñez, D. G., Pineda-Hidalgo, K.V., Chávez-Ontiveros, J., Delgado-Vargas, F., Lopez-Valenzuela, J. A. Proteomic changes in mango fruit peel associated with chilling injury tolerance induced by

quarantine hot water treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 2022, 186, article 111838, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111838>.

[46] Wei, C., Ma, L., Cheng, Y., Guan, Y., Guan, J. Exogenous ethylene alleviates chilling injury of 'Huangguan' pear by enhancing the proline content and antioxidant activity. *Sci. Hortic.* 2019, 257, 108671, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108671>.

[47] Saeed, F., Chaudhry, U. K., Raza, A., Charagh, S., Bakhsh, A., Bohra, A., Ali, S., Chitikineni, A., Saeed, Y., Visser, R.G.F., Siddique, K.H.M., Varshney, R.K. Developing future heat-resilient vegetable crops. *Funct. Integr. Genomics.* 2023, 47, <https://doi.org/10.1007/s10142-023-00967-8>.

[48] Babalar, M., Pirzad, F., Sarcheshmeh, M.A.A., Talaei, A., Lessani, H. Arginine treatment attenuates chilling injury of pomegranate fruit during cold storage by enhancing antioxidant system activity. *Postharvest Biol. Technol.* 2018, 137, 31-37, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.012>.

[49] Dumanović, J., Nepovimova, E., Natić, M., Kuča, K., Jačević, V. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: a concise overview. *Front. Plant. Sci.* 2020, 11, 1-13, <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.552969>.

[50] Song, C., Wang, K., Xiao, X., Liu, Q., Yang, M., Li, X., Feng, Y., Li, S., Shi, L., Chen, W., Yang, Z. Membrane lipid metabolism influences chilling injury during cold storage of peach fruit. *Food Re. Int.* 2022, 157, article 111249, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111249>.

Supplementary Material:

Figures

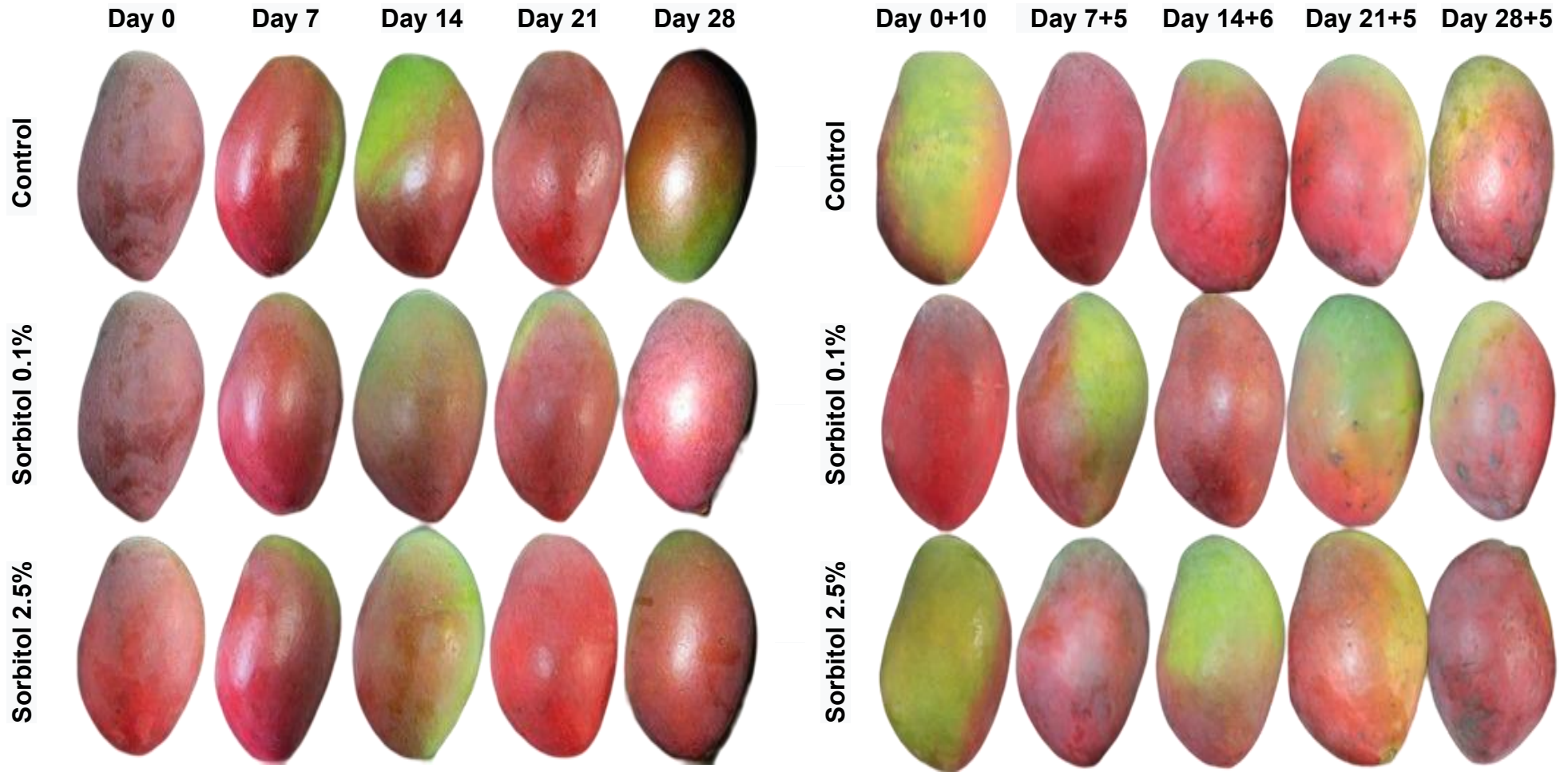


Figure 1S. Epicarp chilling injury (CI) development in 'Palmer' mangoes (Experiment I) stored at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days and then transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 5 to 10 days.



Figure 2S. Mesocarp chilling injury (CI) development in 'Palmer' mangoes (Experiment I) stored at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days and then transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 5 to 10 days.

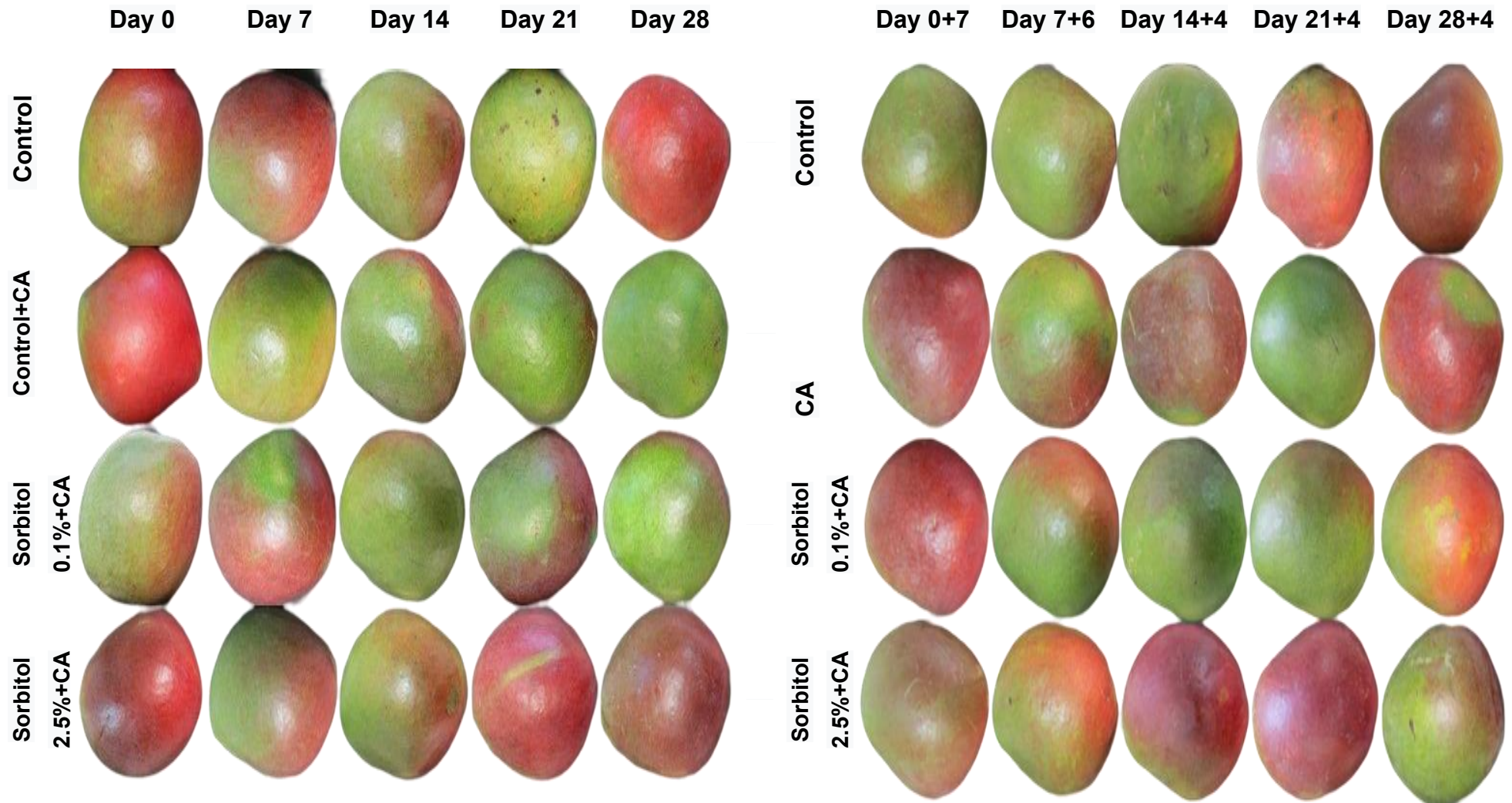


Figure 3S. Epicarp chilling injury (CI) development in 'Palmer' mangoes (Experiment II) stored at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with gas modification ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days after being transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 4 to 7 days.

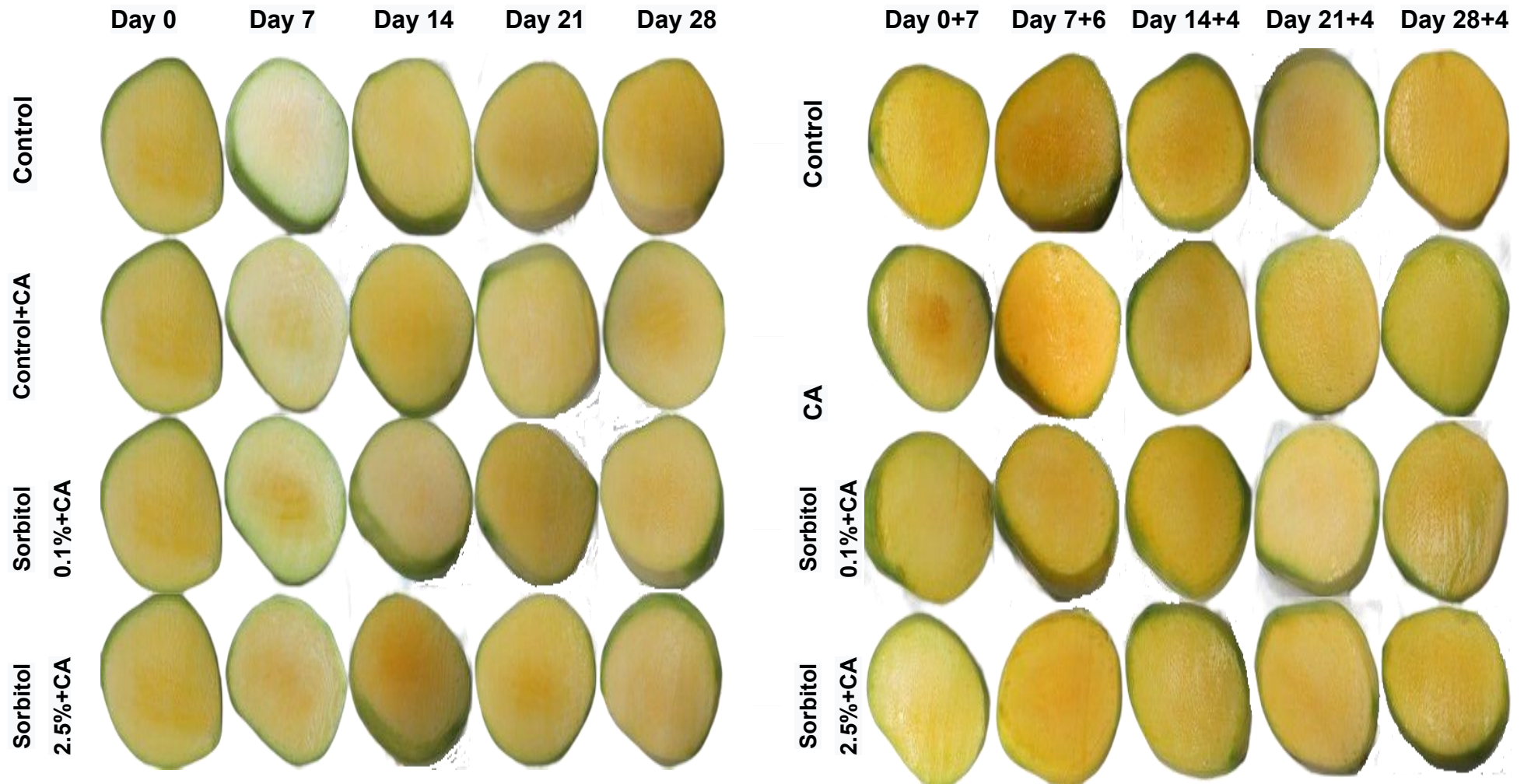


Figure 4S. Mesocarp chilling injury (CI) development in 'Palmer' mangoes (Experiment II) stored at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with gas modification ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days after being transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 4 to 7 days.

Tables

Table 1S. Effect of dipping 'Palmer' mangoes (Experiment I) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days on firmness, luminosity, hue angle, and chromaticity parameters.

Main effects	Firmness (N)	Peel			Pulp		
		Luminosity	Hue angle	Chromaticity	Luminosity	Hue angle	Chromaticity
Treatments (A)							
Control	121.38 ^a	36.66 ^a	54.09 ^a	19.85 ^a	82.42 ^a	82.25 ^a	38.33 ^a
Sorbitol 0.1%	124.64 ^a	36.66 ^a	55.02 ^a	20.92 ^a	83.11 ^a	80.28 ^a	36.63 ^a
Sorbitol 2.5%	122.33 ^a	36.43 ^a	50.92 ^a	21.05 ^a	82.73 ^a	81.05 ^a	37.98 ^a
<i>F test (A)</i>	1.74 ^{ns}	0.03 ^{ns}	1.00 ^{ns}	0.49 ^{ns}	1.13 ^{ns}	2.18 ^{ns}	1.54 ^{ns}
Days (B)							
0	127.48 ^a	37.03 ^a	34.66 ^c	18.17 ^a	81.03 ^c	88.07 ^a	39.09 ^a
7	127.48 ^a	35.95 ^a	41.73 ^c	20.73 ^a	81.98 ^{bc}	81.94 ^b	39.67 ^a
14	124.83 ^{ab}	35.81 ^a	66.55 ^a	19.66 ^a	83.52 ^{ab}	79.14 ^{bc}	37.14 ^a
21	119.19 ^{bc}	38.57 ^a	69.41 ^a	21.55 ^a	83.55 ^{ab}	78.25 ^c	36.31 ^a
28	114.94 ^c	36.72 ^a	41.73 ^b	21.60 ^a	83.69 ^a	78.64 ^{bc}	36.02 ^a
<i>F test (B)</i>	11.38 ^{**}	0.94 ^{ns}	29.64 ^{**}	1.55 ^{ns}	8.11 ^{**}	22.14 ^{**}	3.12 [*]
Interaction							
<i>F test (AxB)</i>	6.97 ^{**}	0.89 ^{ns}	2.06 ^{ns}	1.18 ^{ns}	0.78 ^{ns}	1.07 ^{ns}	2.34 ^{ns}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

Table 2S. Effect of dipping 'Palmer' mangoes (Experiment I) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $8.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH RH without atmosphere modification ($21 \text{ kPa O}_2 + 0.03 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days on the parameters of firmness, luminosity, hue angle, and chromaticity after being transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 4 to 10 days.

Main effects	Firmness (N)	Peel			Pulp		
		Luminosity	Hue angle	Cromaticidade	Luminosidade	Hue angle	Chromaticity
Treatments (A)							
Control	36.99 ^a	37.65 ^a	48.73 ^a	20.97 ^a	74.75 ^a	87.85 ^a	57.30 ^a
Sorbitol 0.1%	39.54 ^a	37.25 ^a	42.22 ^a	22.35 ^a	75.42 ^a	87.41 ^a	55.21 ^a
Sorbitol 2.5%	40.01 ^a	37.75 ^a	46.75 ^a	21.93 ^a	73.36 ^a	87.65 ^a	56.92 ^a
<i>F test</i>	0.29 ^{ns}	0.12 ^{ns}	3.02 ^{ns}	1.07 ^{ns}	2.57 ^{ns}	0.45 ^{ns}	0.55 ^{ns}
Days (B)							
0+10	48.74 ^a	34.90 ^b	49.40 ^a	20.66 ^a	75.02 ^a	86.50 ^b	54.52 ^a
7+6	37.26 ^{ab}	38.39 ^{ab}	43.80 ^a	22.94 ^a	75.10 ^a	88.04 ^{ab}	56.32 ^a
14+4	27.13 ^b	38.67 ^{ab}	43.47 ^a	22.89 ^a	73.56 ^a	88.40 ^a	56.97 ^a
21+4	42.86 ^a	36.80 ^{ab}	42.27 ^a	22.79 ^a	74.01 ^a	88.02 ^{ab}	57.11 ^a
28+4	38.24 ^{ab}	39.00 ^a	50.61 ^a	19.48 ^a	74.88 ^a	87.23 ^{ab}	57.46 ^a
<i>F test</i>	4.19 ^{**}	3.07 [*]	2.35 ^{ns}	3.26 [*]	0.67 ^{ns}	3.19 [*]	0.37 ^{ns}
Interaction							
<i>F test</i>	3.67 ^{**}	0.97 ^{ns}	2.16 [*]	0.64 ^{ns}	1.13 ^{ns}	1.28 ^{ns}	0.4 ^{ns}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

Table 3S. Effect of dipping 'Palmer' mangoes (Experiment II) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with modification of gases (5 kPa O_2 + 5 kPa CO_2) for 28 days on firmness, luminosity, hue angle, and chromaticity.

Main effects	Firmness (N)	Peel			Pulp		
		Luminosity	Hue angle	Cromaticidade	Luminosity	Hue angle	Chromaticity
Treatments (A)							
Control	114.98 ^b	39.45 ^a	71.42 ^a	17.99 ^a	76.85 ^a	86.03 ^a	46.66 ^a
CA	118.36 ^{ab}	40.17 ^a	73.13 ^a	19.87 ^a	78.80 ^a	85.31 ^a	47.02 ^a
Sorbitol 0.1%+CA	123.44 ^a	39.48 ^a	64.81 ^a	17.48 ^a	78.11 ^a	85.70 ^a	46.53 ^a
Sorbitol 2.5%+CA	125.69 ^a	38.30 ^a	75.36 ^a	17.60 ^a	78.64 ^a	86.31 ^a	49.30 ^a
<i>F test</i>	5.41 ^{**}	1.90 ^{ns}	1.16 ^{ns}	2.02 ^{ns}	0.86 ^{ns}	1.50 ^{ns}	1.66 ^{ns}
Days (B)							
0	127.48 ^a	38.10 ^a	71.07 ^a	18.65 ^a	78.62 ^a	87.94 ^a	52.89 ^a
7	123.68 ^{ab}	39.81 ^{ab}	68.47 ^a	18.68 ^a	78.96 ^a	84.57 ^b	44.85 ^{bc}
14	122.88 ^{ab}	38.92 ^{ab}	64.56 ^a	17.95 ^a	77.49 ^a	86.08 ^{ab}	48.52 ^{ab}
21	116.14 ^{bc}	40.62 ^a	77.12 ^a	18.63 ^a	76.19 ^a	86.21 ^{ab}	47.50 ^{bc}
28	112.89 ^c	39.29 ^b	74.68 ^a	17.25 ^a	79.24 ^a	84.72 ^b	43.14 ^c
<i>F test</i>	6.50 ^{**}	2.25 ^{ns}	1.11 ^{ns}	0.52 ^{ns}	1.41 ^{ns}	7.46 ^{**}	10.99 ^{**}
Interaction							
<i>F test</i>	0.83 ^{ns}	0.65 ^{ns}	1.29 ^{ns}	1.00 ^{ns}	1.58 ^{ns}	2.97 ^{**}	2.94 ^{**}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

Table 4S. Effect of dipping 'Palmer' mangoes (Experiment II) in sorbitol (0.1 and 2.5%) and storage at $4.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $95 \pm 0.5\%$ RH under controlled atmosphere with modified gases ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) for 28 days on the parameters of firmness, luminosity, hue angle, and chromaticity after being transferred to ambient conditions ($24 \pm 2.0^\circ\text{C}$ and $75 \pm 2.0\%$ RH) from 4 to 7 days.

Main effects	Firmness (N)	Peel			Pulp		
		Luminosity	Hue angle	Chromaticidade	Luminosity	Hue angle	Chromaticity
Treatments (A)							
Control	57.58 ^c	38.58 ^a	78.06 ^a	20.17 ^a	75.25 ^a	87.02 ^a	56.49 ^a
CA	69.87 ^b	45.04 ^a	71.08 ^b	20.42 ^{ab}	74.66 ^a	87.25 ^a	58.02 ^a
Sorbitol 0.1%+CA	76.00 ^b	37.23 ^a	75.99 ^{ab}	18.13 ^b	74.96 ^a	87.73 ^a	58.04 ^a
Sorbitol 2.5%+CA	84.11 ^a	37.73 ^a	73.68 ^{ab}	19.45 ^{ab}	74.90 ^a	87.52 ^a	54.96 ^a
<i>F test</i>	40.26 ^{**}	0.98 ^{ns}	4.54 ^{**}	2.83 [*]	0.26 ^{ns}	0.69 ^{ns}	1.94 ^{ns}
Days (B)							
0+7	49.55 ^c	37.27 ^a	80.16 ^a	19.12 ^a	73.44 ^b	87.36 ^a	59.97 ^{ab}
7+6	67.63 ^b	36.91 ^a	76.20 ^{ab}	19.79 ^a	73.82 ^b	87.36 ^a	60.13 ^a
14+4	81.05 ^a	38.41 ^a	69.12 ^c	20.13 ^a	76.57 ^a	87.11 ^a	55.39 ^{bc}
21+4	81.02 ^a	38.23 ^a	71.95 ^{bc}	20.27 ^a	75.96 ^a	87.34 ^a	54.05 ^c
28+4	80.20 ^a	47.40 ^a	76.08 ^{ab}	18.40 ^a	74.93 ^{ab}	87.73 ^a	54.85 ^c
<i>F test</i>	48.55 ^{**}	1.14 ^{ns}	7.30 ^{**}	1.30 ^{ns}	6.52 ^{**}	0.29 ^{ns}	6.19 ^{**}
Interaction							
<i>F test</i>	1.23 ^{ns}	0.94 ^{ns}	5.96 ^{**}	1.12 ^{ns}	0.89 ^{ns}	1.41 ^{ns}	0.73 ^{ns}

Means followed by the same letter within each column do not differ statistically from each other using Tukey's test. Non-significant interaction (^{ns}), significant interaction at $P < 0.05$ (*), and significant interaction at $P < 0.01$ (**).

CAPÍTULO III – Análise proteômica de mangas 'Palmer' submetidas ao dano por frio durante armazenamento sob atmosfera controlada e imersão em sorbitol

RESUMO: A imersão de mangas 'Palmer' em soluções contendo sorbitol e armazenamento sob atmosfera controlada (AC) resultam na redução de danos por frio (chilling injury). Contudo, os aspectos regulatórios destes tratamentos no metabolismo dos frutos por meio de análise de proteômica são inexistentes. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar, via análise de proteômica, o enriquecimento dos processos biológicos em mangas 'Palmer' tratadas em soluções contendo 0,1 e 2,5 % de sorbitol e armazenadas sob AC sem modificação das concentrações dos gases a 8°C e 95 % de umidade relativa (Experimento I) e sob AC com modificação dos gases a 4°C e 95% UR (Experimento II) por 28 dias no desenvolvimento do dano por frio. No Experimento I, após 14 dias sob dano por frio, todos os tratamentos expressaram proteínas de choque térmico, principalmente as chaperonas da família Hsp70, e os processos biológicos afetados se relacionam à manutenção do dobramento de proteínas e resposta ao estresse. Similarmente, no Experimento II, após 14 e 28 dias, os tratamentos mostraram expressão semelhante de proteínas chaperonas, indicando o potencial papel do sorbitol na proteção contra o dano por frio. Os resultados sugerem que o sorbitol (1,0 e 2,5 %) reduziu os efeitos potenciais do dano pelo frio nos frutos da manga 'Palmer', especialmente após a exposição a baixas temperaturas devido a regulação e expressão aumentada de proteínas de choque térmico, tais como as chaperonas da família Hsp70 e de transporte mitocondrial. No entanto, são necessários estudos adicionais para compreender como a molécula de sorbitol atua como osmoprotetor a nível celular na redução do dano pelo frio.

Palavras-chave: *Mangifera indica* L., polióis, proteínas de choque térmico, chaperonas.

Proteomic analysis of 'Palmer' mangoes subjected to cold damage during storage under controlled atmosphere and immersion in sorbitol

ABSTRACT: Immersion of 'Palmer' mangoes in solutions containing sorbitol and storage under controlled atmosphere (CA) results in reduced chilling injury. However, the regulatory aspects of these treatments on fruit metabolism through proteomic analysis are non-existent. Thus, the objective of this study was to evaluate, via proteomic analysis, the enrichment of biological processes in 'Palmer' mangos treated in solutions containing 0.1 and 2.5% sorbitol and stored under CA without modifying the concentrations of gases at 8°C and 95% relative humidity (Experiment I) and under CA with gas modification at 4°C and 95% RH (Experiment II) for 28 days in the development of chilling injury. In Experiment I, after 14 days under cold damage conditions, all treatments expressed heat shock proteins, mainly Hsp70 family chaperones, and the affected biological processes were related to the maintenance of protein folding and stress response. Similarly, in Experiment II, after 14 and 28 days, the treatments showed similar expression of chaperone proteins, indicating the potential role of sorbitol in protection against chilling injury. The results suggest that sorbitol (1.0 and 2.5%) reduced the potential effects of chilling injury on 'Palmer' mangoes, especially after exposure to low temperatures due to the regulation and increased expression of heat shock proteins, such as the Hsp70 family and mitochondrial transport chaperones. However, additional studies are needed to understand how the sorbitol molecule acts as an osmoprotector at the cellular level in reducing cold damage.

Keywords: *Mangifera indica* L., polyols, heat shock proteins, chaperones.

1. INTRODUÇÃO

Refrigeração é a principal tecnologia utilizada para aumentar a vida útil pós-colheita de frutos de mangueira (Veja-Alvarez et al., 2020). Assim, quando armazenadas entre 8–13 °C as mangas apresentam vida útil entre 21 e 30 dias, dependendo da cultivar e do estágio de maturação das frutas (Singh et al., 2013; Penchaiya et al., 2020). Por outro lado, quando armazenadas a temperaturas inferiores a 13 °C as mangas podem desenvolver um distúrbio fisiológico conhecido como dano por frio ou *chilling injury* (CI), o que leva a perdas qualitativas e quantitativas (Zaharah e Singh, 2011; Zhang et al., 2017).

Os sintomas do dano por frio se desenvolvem durante o armazenamento refrigerado e são mais evidentes no epicarpo das mangas. Este se caracteriza pela presença de manchas escuras, aprofundadas, semelhante a queimaduras. O mesocarpo também é afetado, pois os frutos podem apresentar amadurecimento irregular (Chaplin et al., 1991; Zhang et al., 2017). Estes sintomas se relacionam com mudança da fluidez da bicamada lipídica da membrana plasmática, pois a baixas temperaturas esta se torna mais rígida o que pode levar a perda das funções fisiológicas e a ruptura das membranas celulares e, conseqüentemente a morte celular (Lyons et al., 1979). A mudança da rigidez das membranas celulares em mangas submetidas ao CI foram relatados em varios trabalhos (Kane et al., 1978; Hidalgo et al., 1997; Agillon e Lizada, 2010; Kumpoun et al., 2017). Da mesma forma, o armazenamento a baixas temperaturas pode induzir a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radicais superóxido (O₂⁻) e hidroxila ([•]OH), resultando na peroxidação de lipídeos da membrana (Shewfelt e Rosário, 2000). Em mangas, o aumento no acúmulo de ERO tem sido correlacionado com a maior incidência do CI (Wang et al., 2008, Khaliq et al., 2016, Zhang et al., 2017 e Sanches et al., 2021) e a manifestação de muitos sintomas de dano por frio (Lyons e Raison, 1970; Raison e Lyons, 1986; Raison e Orr 1990; Sevillano et al., 2009).

Uma alternativa para minimizar o dano por frio em mangas seria o uso de polios, principalmente o sorbitol que é um poliálcool solúvel em água, de ocorrência natural em diversas frutas (Rice et al., 2020; Fang et al., 2020). O sorbitol tem ação crioprotetora com importante papel no ajuste osmótico do citoplasma sob condições de estresse, podendo estabilizar as membranas (Kanayama, 2009) e aumentar a tolerância ao estresse por frio (Ito

et al., 2013). O sorbitol é um aditivo alimentar da classe dos edulcorantes, estabilizantes, antioxidantes e emulsificantes (Rice et al., 2020), sendo considerados *Generally Recognized as Safe* (GRAS) pela FDA (2016). Neste sentido, Sanches et al. (2021) relataram que mangas da cultivar 'Palmer', armazenadas a 8 °C por 30 dias e tratadas com 2,5 % de sorbitol, apresentaram redução no acúmulo de H₂O₂ e na atividade da polifenol oxidase (PPO), além de maior integridade da membrana, menor teor de malondialdeído (MDA) e atividades mais elevadas das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), tanto no epicarpo quanto no mesocarpo. Comparado a outros polióis (propilenoglicol e glicerol), a imersão em sorbitol foi relatada como uma alternativa para reduzir o dano por frio durante o armazenamento refrigerado de mangas dessa cultivar. Em condições mais severas de tratamento quarentenário por frio a 1 °C por 14 dias, a imersão em solução contendo 0,1 % de sorbitol foi a mais eficaz em mitigar o dano por frio, por até 14 dias. Esse efeito foi associado a uma menor concentração de MDA e H₂O₂, menor atividade da PPO e maior atividade das enzimas SOD, CAT e APX, além de teores mais elevados de ácido ascórbico, especialmente no pericarpo (Sanches et al., 2022). A combinação da imersão de mangas 'Palmer' em soluções contendo 2,5 % de sorbitol com o armazenamento sob atmosfera controlada (AC) controlou o dano por frio ativando os mecanismos não enzimáticos (ácido ascórbico e compostos fenólicos totais) e enzimáticos (SOD, CAT e APX) nos frutos mantidos a 8 °C por 30 dias (Sanches et al., 2022).

Nós recentemente observamos que a imersão de mangas 'Palmer' em soluções de sorbitol (0.1 e 2.5 %) e o armazenamento sob AC a 8 °C e 95 % de umidade relativa (UR) e AC com 5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂ a 4 °C (95 % UR) reduziram o desenvolvimento de lesões pelo frio (Silva et al., 2024). O sorbitol demonstrou eficácia na mitigação de lesões pelo frio sob variadas condições de armazenamento, o que não foi extensivamente explorado na literatura existente, como diferentes composições de gases e temperaturas. Em condições de AC, foi possível reduzir o impacto da perda de massa fresca e dos sintomas de dano por frio, possibilitando a preservação da qualidade dos frutos por até 21 + 5 dias a 8 °C e até 21 + 4 dias a 4 °C (Silva et al., 2024).

Apesar destes resultados, não há informações disponíveis quanto as proteínas envolvidas na efetividade do tratamento com sorbitol e AC na redução do CI em mangas 'Palmer', sendo a proteômica é uma abordagem fundamental para o entendimento das

interações das proteínas e os papéis biológicos destes tratamentos (Tian et al., 2024). Em pêssegos submetidos a condições de dano por frio, Yu et al. (2015) relataram que as proteínas relacionadas a resposta a estresses e mecanismos de defesa foram as mais abundantemente expressas. Proteínas associadas com a estabilidade das membranas plasmáticas foram menos abundantes a 5 °C, contribuindo para o desenvolvimento do dano por frio. Nestas condições, proteínas de choque térmico e componentes do sistema de defesa antioxidantes foram mais expressas. Especificamente em mangas, Salazar-Salas et al. (2022) relataram maior acúmulo de proteínas choque térmico, enzimas do metabolismo energético e secundário, além de enzimas do metabolismo antioxidante (CAT, POD, Prx e APX) quando estes frutos foram submetidos ao tratamento quarentenário com água quente, que minimiza o desenvolvimento do CI (Vega-Alvarez et al., 2020).

Diante dos resultados já obtidos em nossos estudos e da necessidade de analisar detalhadamente sobre como o efeito da imersão em soluções de sorbitol em mangas 'Palmer' respondem ao frio a nível proteômico, esperamos compreender de forma abrangente os efeitos do controle do dano por frio nos processos biológicos da fruta, essas informações são essenciais para melhorar a conservação pós-colheita e a qualidade. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar via análise de proteômica, o enriquecimento dos processos biológicos em mangas 'Palmer' tratadas em soluções contendo 0,1 e 2,5 % de sorbitol e armazenadas sob AC sem modificação das concentrações dos gases a 8°C (95 % UR) e sob AC com modificação dos gases a 4°C (95% UR) por 28 dias no desenvolvimento do dano por frio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Mangas da cultivar 'Palmer' foram obtidas em pomares comerciais localizados em Taquaritinga (21°25'57.72" latitude sul, 48°32'50.46" longitude oeste), São Paulo, Brasil (Experimento I), e em Belém do São Francisco (8°32'1.89" latitude sul, 38°58'53.97" longitude oeste), Pernambuco, Brasil (Experimento II). Os frutos foram colhidos na maturidade fisiológica e foram selecionados manualmente, sendo classificados de acordo com o tamanho, sanidade, ausência de danos mecânicos, lesões por pragas e doenças.

2.1. Experimento I: AC - atmosfera ambiente

Após a seleção dos frutos, estes foram lavados com sabão neutro (Ypê Clear, São Paulo, Brasil) e enxaguados com água corrente antes do tratamento com sorbitol, conforme o descrito por Sanches et al. (2021), ou seja: *i.* os frutos foram imersos em água destilada (controle), *ii.* imersos em solução contendo 0,1% (m/v) de sorbitol e *iii.* imersos em solução contendo 2,5% (m/v) de sorbitol de grau alimentício (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) a 5°C por 60 minutos. Em seguida, as mangas foram armazenadas a $8,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em câmara de atmosfera controlada (Fruit Control Equipment, modelo Venezia PCM 1.000, Milão, Itália) mantendo a atmosfera do ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$) por 28 dias. Estes foram mantidos nestas condições por 28 dias e avaliados a cada 14 dias.

2.2. Experimento II: AC – modificação dos gases da atmosfera

Similarmente, os frutos foram lavados com sabão neutro e enxaguados com água corrente antes do tratamento com sorbitol segundo o descrito por Sanches et al. (2021). Desta forma, os frutos foram submetidos aos seguintes tratamentos: *i.* imersos em água destilada e armazenados sob AC contendo $21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$ (controle negativo), *ii.* imersos em água destilada e armazenados em AC contendo $5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$ (controle positivo), *iii.* imersos em 0,1% (m/v) de sorbitol e armazenados sob AC contendo $5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$, e *iv.* imersos em 2,5% (m/v) de sorbitol e armazenados sob AC contendo $5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$. Os frutos foram armazenados a $4,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em câmara de atmosfera controlada (Fruit Control Equipment, modelo Venezia PCM 1.000, Milão, Itália), sendo o controle dos níveis de oxigênio (O_2), dióxido de carbono (CO_2) e etileno (C_2H_4) realizados utilizando o software SWINGLOS® (Fruit Control Equipment, Milão, Itália). Estes foram mantidos nestas condições por 28 dias e avaliados a cada 14 dias.

2.3. Avaliações

Em ambos os experimentos os frutos foram avaliados seguindo as seguintes metodologias:

Incidência do dano por frio

As lesões causados pelo frio (IC) foram avaliadas visualmente por meio de uma escala de notas proposta por Miguel et al. (2011), com modificações, ou seja: 1 = sem sintomas

visíveis (IC = 0%), 2 = sintomas leves (IC = 0–25%), 3 = sintomas moderados (IC = 25–50%), e 4 = sintomas graves (IC = > 50%). Os resultados desta avaliação foram publicados por Silva et al. (2024).

Proteômica

Amostras de epiderme (cascas) dos Experimentos I e II foram coletadas nos dias 0, 14 e 28 para a análise proteômica. Desta forma, o Experimento I foi conduzido seguindo um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3 (control, 0,1% de sorbitol e 2,5% de sorbitol) x 3 (período de armazenamento: 0, 14 e 28 dias) com 3 repetições de 1 fruto. O Experimento II foi conduzido seguindo um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4 (control, control + CA, 0,1% de sorbitol e 2,5% de sorbitol) x 3 (período de armazenamento: 0, 14 e 28 dias) com 3 repetições de 1 fruto.

Extração das proteínas

Foi retirado 1 g do material vegetal (epiderme) sendo este moído em almofariz com nitrogênio líquido e agitado em tampão 125 mM Tris, pH 6,8, 20 % glicerol, 1% SDS, e 0,1% DTT por 15 minutos à 4 °C. O homogenato foi centrifugado à 3200 g a 4 °C por 5 minutos. O sobrenadante foi transferido para novos tubos. A precipitação proteica foi realizada com 5 x do volume da amostra com acetona gelada durante 16 horas. O material foi novamente centrifugado a 3200 g por 5 minutos a 4 °C para a formação do pellet proteico e o sobrenadante descartado. As proteínas foram ressuspensas em tampão Tris-HCl 125 mM, pH 6,8, 20% de glicerol, 1% de SDS, e 0,1% de DTT.

Quantificação e SDS-Page

A quantificação das proteínas das amostras foi realizada através do método de Bradford (1976) utilizando uma curva de calibração com albumina sérica bovina (ASB). Após a extração e quantificação das amostras, as proteínas foram inseridas em gel de poliacrilamida (gel separador e gel concentrador contendo 4 % e 12 % de poliacrilamida, respectivamente), em condições desnaturantes, utilizando corrente constante de 20 mA. Uma alíquota de 50 µg de proteínas foram inseridas em até 1 cm da porção do gel separador seguido de adição de Coomassie Coloidal G-250 para a visualização das bandas únicas.

Digestão in-gel

A digestão com tripsina foi realizada pelo protocolo de Shevchenko et al. (2006) com poucas modificações. A digestão ocorreu in-gel, realizando cortes nas bandas únicas resultando em 5 segmentos para cada amostra. Os fragmentos de cada amostra foram reduzidos e alquilados, utilizando solução de redução (ditiotreitól) por 50 minutos à 56 °C e solução de alquilação (Iodoacetamida) por 20 min em temperatura ambiente e ausência de luz. Durante cada intervalo de soluções, os fragmentos foram desidratados com acetonitrila por 10 minutos sob agitação e o líquido inteiramente descartado. Para a digestão proteica, foi adicionado o tampão de digestão contendo tripsina (Trypsin Gold, Promega) na proporção 1:1 de tripsina/proteínas por 16 h à 37 °C. Por fim, a coleta do sobrenadante foi possível com a adição de solução de extração (1:2 de 5 % ácido fórmico/acetonitrila) por 15 minutos à 37 °C. Os peptídeos trípticos foram secos à vácuo através de um concentrador de centrifuga (Vacufuge plus – Eppendorf). Para remoção de impurezas (pedaços de gel, entre outros), as amostras peptídicas foram ssuspendidas em 200 µL de solução 0,1 % ácido fórmico e filtradas em filtro de acetato de celulose com auxílio de uma centrífuga à temperatura ambiente. As amostras peptídicas foram concentradas e dessalinizadas utilizando ponteiras do tipo ZipTip (Merck-Millipore) segundo as instruções do fabricante e quantificadas por fluorimetria utilizando o Qubit (Thermo Fisher Scientific).

Espectrometria de Massas

Foi empregada uma alíquota de 1 µg para a identificação de proteínas por meio de espectrometria de massas. Nesse processo, os peptídeos foram ressuspendidos em água MilliQ contendo 0,1 % de ácido fórmico e subsequentemente separados em um sistema cromatográfico EASYnLC1000 (Thermo Fisher Scientific) durante 95 minutos. A separação foi realizada em uma nano-coluna C18 de 15 centímetros de comprimento, partículas de 3 micrômetros e porosidade de 100 Å, sob um fluxo constante, com um gradiente de acetonitrila crescente (de 7% a 30% ao longo de 70 minutos, seguido por uma constante de 70% por 25 minutos). As análises de espectrometria de massas foram conduzidas com o uso de um espectrômetro Q-Exactive (Thermo Fisher Scientific) operando no modo de íon positivo. A aquisição de espectros ocorreu no modo dependente de dados, em que cada ciclo consistia em uma varredura completa (faixa de 20 a 20.000 m/z) a uma resolução de 70.000 FWHM

(Full Width at Half Maximum), seguida por vinte varreduras dependentes de dados a uma resolução de 35.000, com um tempo máximo de injeção de 100 milissegundos. A fragmentação dos peptídeos foi realizada por meio de dissociação de colisão de alta energia (HCD) com uma energia de colisão de 35 eV. Íons carregados individualmente foram excluídos dos eventos de fragmentação, e íons peptídicos selecionados com carga +2 e +3 foram dinamicamente excluídos após 5 segundos.

Identificação das proteínas

A identificação de peptídeos tripticos e a inferência das proteínas da cultivar 'Palmer' foram conduzidas por meio do software MaxQuant (versão 1.6.3.3) (Tyanova et al., 2016), utilizando correlações dos dados experimentais com um banco de dados de proteínas de *Citrus sinensis* L. (devido à indisponibilidade da espécie alvo) disponível na plataforma Phytosome (Goodstein et al., 2012). Os parâmetros empregados nas buscas foram configurados da seguinte maneira: uma tolerância de 20 partes por milhão (ppm) para os íons precursor, com oxidação de metionina considerada como modificação variável e carbamidometilação de cisteína como modificação estática. Também foi estabelecido um limite de até duas clivagens perdidas e uma taxa de falsas descobertas (FDR) de 1%. O método de quantificação livre de marcação (LFQ) foi empregado para a avaliação relativa das proteínas identificadas.

Primeiramente, as repetições biológicas foram agrupadas de acordo com os tratamentos e apenas as proteínas que estavam presentes em pelo menos uma das repetições biológicas sob essas condições foram consideradas. Os acessos proteicos e os valores de abundância (LFQ) foram importados para o software Perseus (Tyanova et al., 2016b). Nesse estágio, os valores foram submetidos a normalização através da transformação \log^2 , e valores ausentes foram imputados para cada amostra com base em uma distribuição normal desenvolvida no próprio software.

Análise de enriquecimento funcional

Para a identificação dos termos funcionais foi utilizado a biblioteca Gene Ontology (GO) (<https://geneontology.org>), a análise de enriquecimento dos dados foi realizada utilizando um teste exato de Fisher bicaudal e correção Calculate False Discovery Rate, os termos

GO/domínio de proteína com valor de p corrigido $<0,05$ foram considerados significativos. Os 20 principais enriquecimentos dos processos biológicos de termos GO foram utilizados para apresentação. Visando revelar a classificação dessas proteínas o banco de dados Phanter foi utilizado, através da biblioteca GO (<https://geneontology.org>) de acordo com Ashburner et al. (2000).

3. RESULTADOS

Devido ao grande número de dados, optou-se por apresentar os resultados na forma de figuras, e os resultados das análises de enriquecimento dos processos biológicos estão disponíveis no material suplementar.

3.1. Experimento I: AC - atmosfera ambiente

Avaliações dos danos por frio foram realizadas imediatamente após a retirada das condições de estresse por frio (armazenamento refrigerado) e após a transferência para o ambiente. Neste estudo, foram utilizadas apenas amostras da epiderme coletadas imediatamente após a retirada dos frutos das câmaras frias. Nestas condições não foram observadas diferenças entre os tratamentos controle, sorbitol 0.1% e sorbitol 2.5%. Todavia, ao serem transferidas para o ambiente, as mangas imersas em 0.1 e 2.5% sorbitol apresentaram menores sintomas de CI (Silva et al., 2024).

Para a análise de proteômica, no primeiro dia de armazenamento (dia 0) foram coletadas amostras visando obter a linha de base tanto das classes de proteínas quanto dos processos biológicos (Tabela 1S e Tabela 3S). No que se refere as classes de proteínas, no início do armazenamento (dia 0) foram identificadas proteínas pertencentes principalmente ao transporte mitocondrial ($p = 3.00E-06$), quinases ($p = 4.07E-04$), transportadores ($p = 4.14E-02$), transportadores secundários ($p = 7.45E-04$), carboidratos quinase ($p = 8.69E-04$) e transferases ($p = 4.60E-02$), Tabela 1S. Estas classes de proteínas foram associadas a diversos processos biológicos que foram significativamente enriquecidos com relação aos termos do Gene Ontology (GO), Tabela 3S. Entre os processos mais relevantes, destacam-se a biossíntese de monossacarídeos ($p = 1.35E-02$) e processo biosintético de hexoses ($p = 1.78E-02$), bem como processos metabólicos relacionados ao piruvato ($p = 2.36E-020$) e aos nucleotídeos purínicos ($p = 2.40E-02$). Além disso, observa-se a presença de processos de

catabolismo de ribonucleotídeos ($p = 2.38E-02$) e nucleosídeos ($p = 2.40E-02$), indicando uma dinâmica ativa de regulação metabólica. Os valores de p de todos os termos enriquecidos mostram uma significância estatística variável para cada termo, sugerindo uma heterogeneidade na relevância dos processos biológicos identificados (Figura 1).

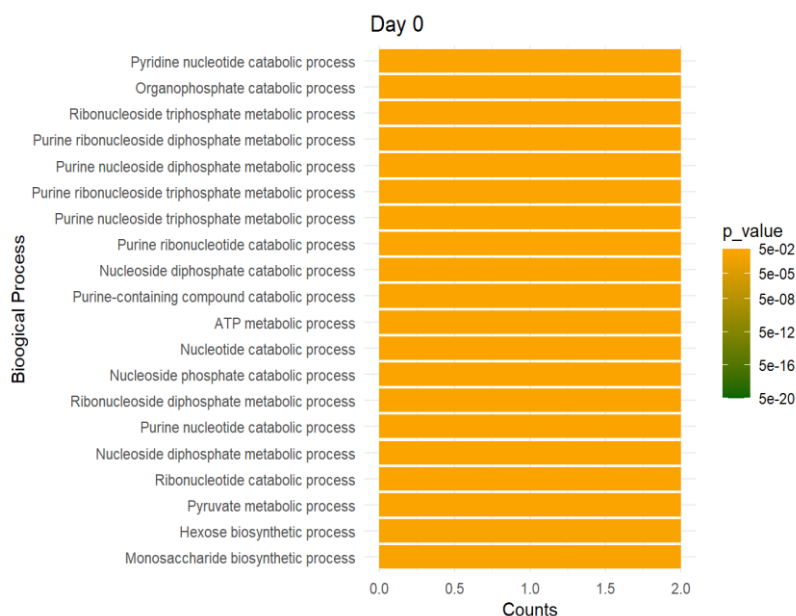


Figura 1. Classificação da função biológica de amostras de mangas ‘Palmer’ (epicarpo) armazenadas a $8,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em atmosfera ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$) no primeiro dia de armazenamento (linha de base).

Após 14 dias sob condições de dano por frio os tratamentos afetaram as classes de proteínas expressas (Tabela 1S). Nos frutos dos tratamentos controle foram identificadas proteínas de choque térmico (Hsp) conhecidas como chaperonas da família Hsp70 ($p = 1.59E-13$), seguidas das chaperonas ($p = 8.00E-07$), transporte mitocondrial ($p = 1.59E-05$) e transferases ($p = 9.49E-05$), Tabela 1S. Por outro lado, tanto o tratamento com sorbitol a 0.1% quanto a 2.5% apresentaram mais significativos de abundância das chaperonas da família Hsp70 ($p = 3.41E-14$), seguidas também das chaperonas ($p = 1.76E-07$) e transportadores mitocondriais ($p = 8.14E-06$), Tabela 1S. Quanto aos processos biológicos (Figura 2, Tabela 4S), o tratamento controle apresentou valores maiores de dobramento pós-transcricional de proteínas ‘de novo’ ($p = 4.26E-11$), dobramento de proteínas ‘de novo’ ($p = 6.54E-11$) e redobramento de proteínas ($p = 7.69E-11$) Figura 2. Por outro lado, os tratamentos com sorbitol

(0,1% e 2,5%) mostraram apresentaram resultados semelhantes, destacando o dobramento de proteínas 'de novo' ($p = 1.41E-11$), redobramento de proteínas ($p = 1.65E-11$) e, diferentemente do controle, o redobramento de proteínas chaperonas dependentes de cofatores ($p = 1.83E-11$), Figura 2.

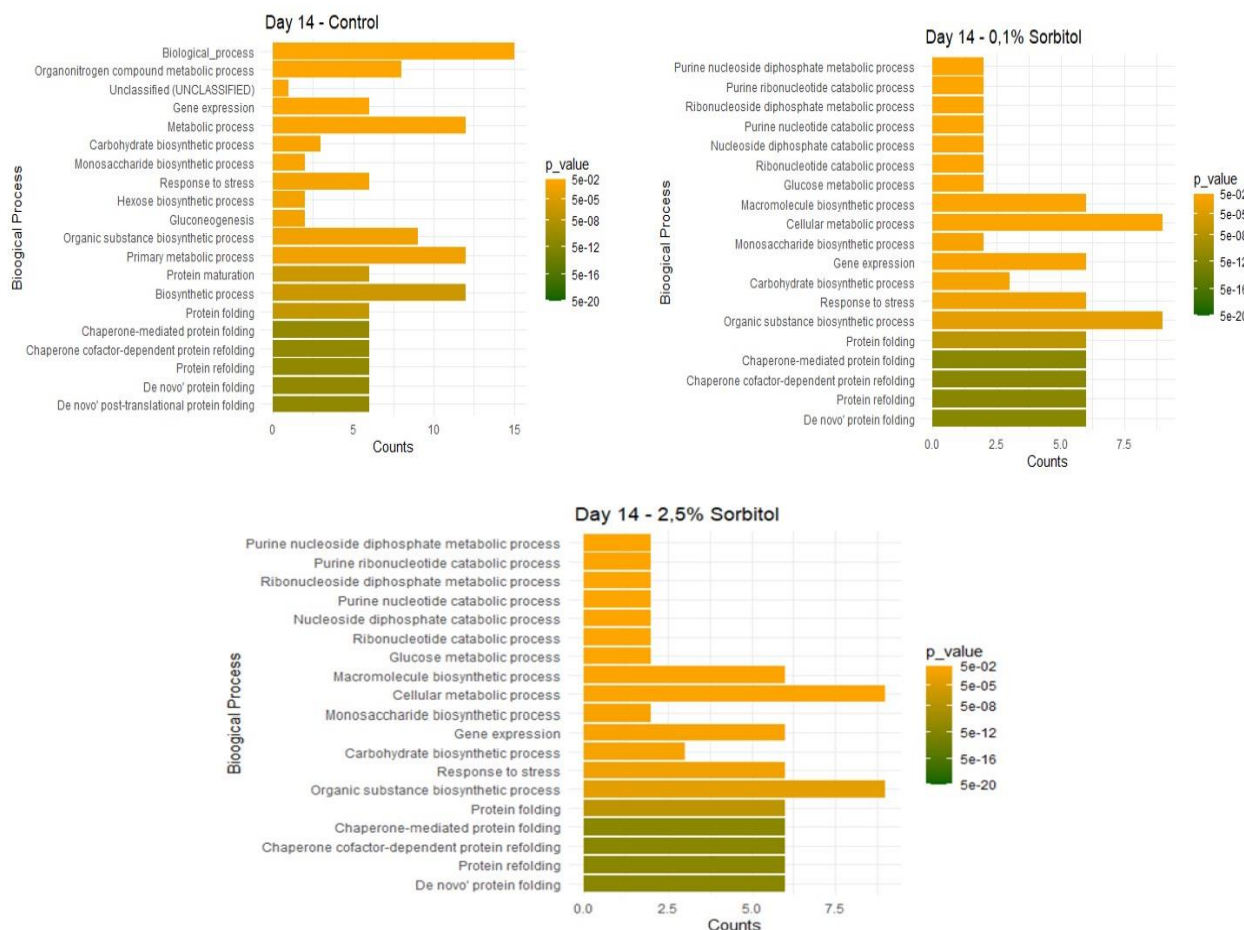


Figura 2. Classificação da função biológica de amostras de manga 'Palmer' (epicarpo) armazenadas a $8,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em atmosfera ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$) por 14 dias. Tratamentos: controle, sorbitol 0,1% e sorbitol 2,5%.

Com o prolongamento a exposição ao frio por 28 dias os tratamentos expressaram diferentemente as classes de proteínas (Tabela 1S). As proteínas chaperonas da família Hsp70 foram significativamente mais expressas no tratamento controle ($p = 3.41E-14$), seguidas das chaperonas ($p = 1.76E-07$) e transporte mitocondrial ($p = 8.14E-06$), Tabela 1S. As proteínas chaperonas da família Hsp70 foram igualmente expressas no tratamento com

sorbitol a 0.1% ($p = 3.41E-14$), sendo também seguidas das chaperonas ($p = 1.76E-07$) e transporte mitocondrial ($p = 8.14E-06$), Tabela 1S. Por outro lado, o tratamento com 2.5% sorbitol apresentou menor abundância das proteínas chaperonas da família Hsp70 ($p = 3.61E-13$), seguidas das desidrogenases ($p = 1.27E-11$) e de enzimas de introversão de metabolitos ($p = 1.66E-07$), Tabela 1S.

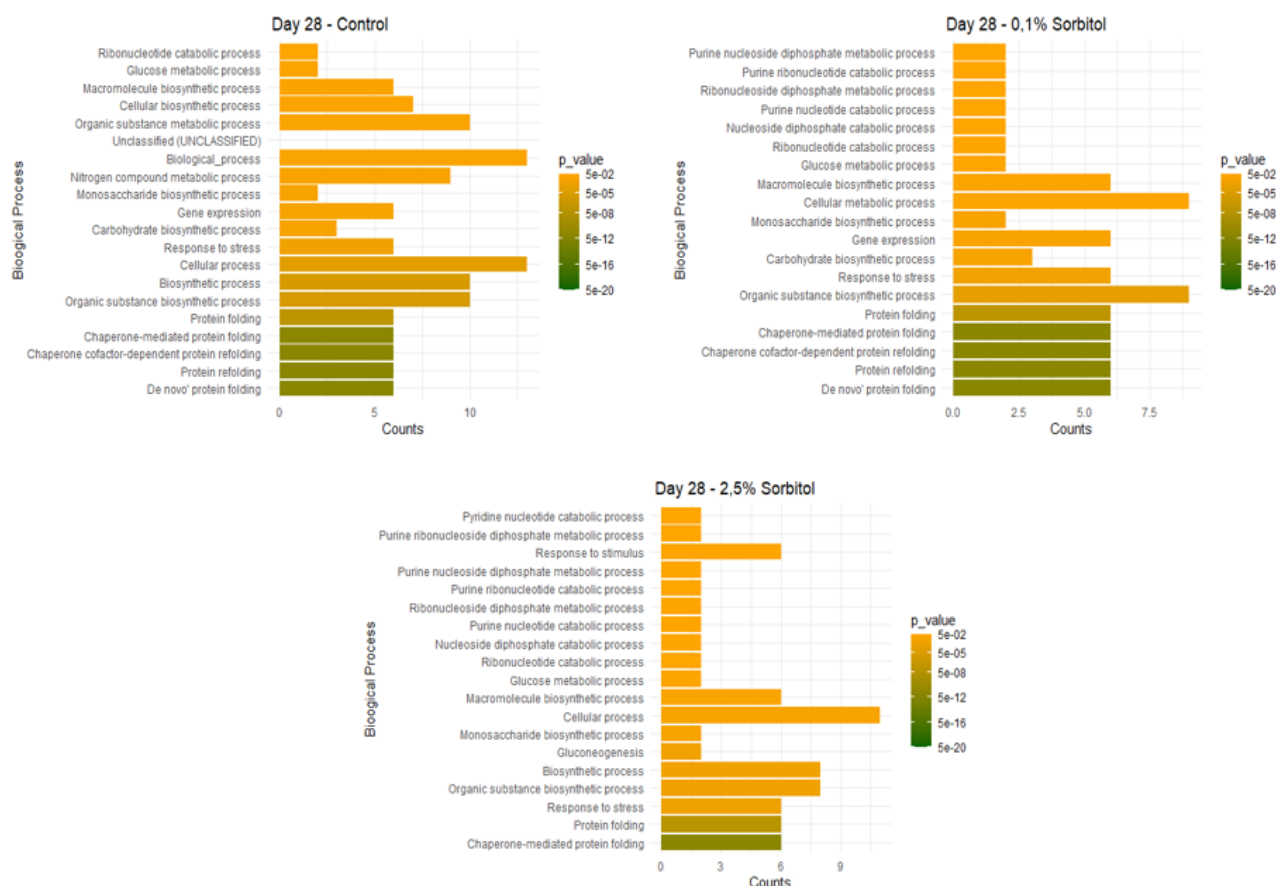


Figura 3. Classificação da função biológica de amostras de manga 'Palmer' (epicarpo) armazenadas a $8,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em atmosfera ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$) por 28 dias. Tratamentos: controle, sorbitol 0,1% e sorbitol 2,5%.

No tocante aos processos biológicos (Figura 3, Tabela 5S), o tratamento controle e sorbitol 0.1% apresentaram semelhanças a resposta ao frio, ou seja, maiores valores de dobramento de proteínas 'de novo' ($p = 1.41E-11$), redobramento de proteínas ($p = 1.65E-11$) e redobramento de proteínas chaperonas dependentes de cofatores ($p = 1.83E-11$). Contudo, o tratamento com sorbitol a 2,5% apresentou dobramento de proteínas chaperonas

dependentes de cofatores ($p = 1.24E-011$), dobramento de proteínas ($p = 1.30E-07$) e processos relacionados a resposta ao estresse ($p = 2.57E-03$), Figura 3.

3.2. Experimento II: AC – modificação dos gases da atmosfera

No tocante aos danos por frio, a única diferença observada se deu entre o tratamento controle e os demais tratamentos (CA, sorbitol 0.1% + CA e sorbitol 2.5% + CA) imediatamente após a retirada das condições de estresse por frio. Uma vez transferidas para o ambiente as mangas imersas em sorbitol 0.1% + CA e sorbitol 2.5% + CA apresentaram menor incidência de CI (Silva et al., 2024).

Para a análise proteômica, de maneira similar ao primeiro experimento, foram coletadas amostras do início do armazenamento (dia 0) visando obter a linha de base das classes de proteínas e dos processos biológicos (Tabela 2S e Tabela 6S). Todavia, diferentemente do primeiro experimento, no início do armazenamento (dia 0) foram identificadas proteínas pertencentes as proteínas chaperonas da família Hsp70 ($p = 5.96E-14$), seguidas das chaperonas ($p = 3.05E-07$) e transporte mitocondrial ($p = 1.04E-05$). Entre os processos biológicos mais relevantes, destacam-se o dobramento pós-transcricional de proteínas ‘de novo’ ($p = 4.31E-11$), dobramento ‘de novo’ de proteínas ($p = 5.87E-11$) e dobramento de proteínas ($p = 5.44E-11$), Figura 4.

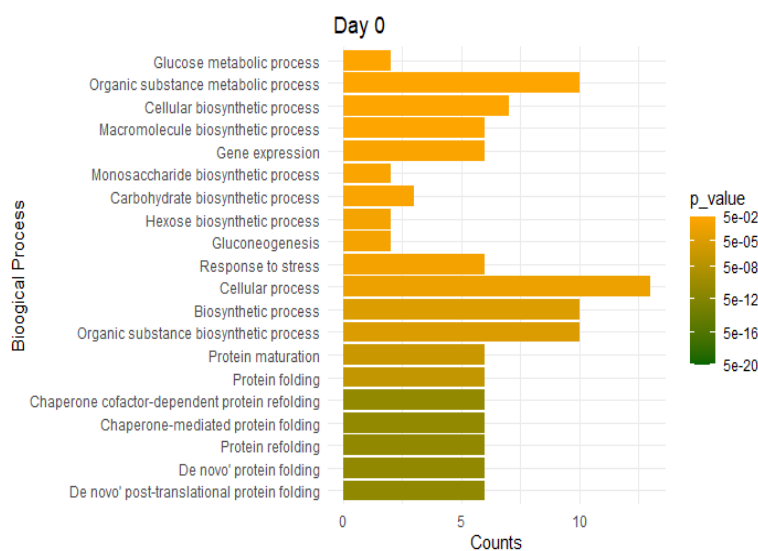


Figura 4. Classificação da função biológica de amostras de manga ‘Palmer’ (epiderme) armazenadas a $4,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR sob AC ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) no primeiro dia de armazenamento (linha de base).

Os tratamentos apresentaram expressões semelhantes de proteínas após 14 dias a $4,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR (Tabela 2S), ou seja, as classes de proteínas mais abundantes foram as proteínas de choque térmico conhecidas como chaperonas da família Hsp70, seguidas das chaperonas e transporte mitocondrial, porém as chaperonas da família Hsp70 foram significativamente mais presentes no tratamento controle ($p = 3.41\text{E-}14$) em relação aos demais tratamentos ($p = 2.45\text{E-}13$). Quanto aos processos biológicos (Figura 5, Tabela 7S), o tratamento controle foi o único que apresentou diferenças, ou seja, os processos com maiores valores foram os relacionados ao dobramento de proteínas ‘de novo’ ($p = 1.41\text{E}011$) e redobramento de proteínas ($p = 1.65\text{E-}11$) e redobramento pós-transcricional de proteínas dependentes de chaperonas ($p = 1.85\text{E-}11$). Por outro lado, os demais tratamentos (AC, sorbitol 0,1% e 2,5% associados a AC) mostraram apresentaram resultados semelhantes, destacando o dobramento pós-transcricional ‘de novo’ de proteínas ($p = 4.31\text{E-}11$), dobramento ‘de novo’ de proteínas ($p = 5.87\text{E-}11$) e redobramento de proteínas ($p = 6.52\text{E-}11$), Figura 5.

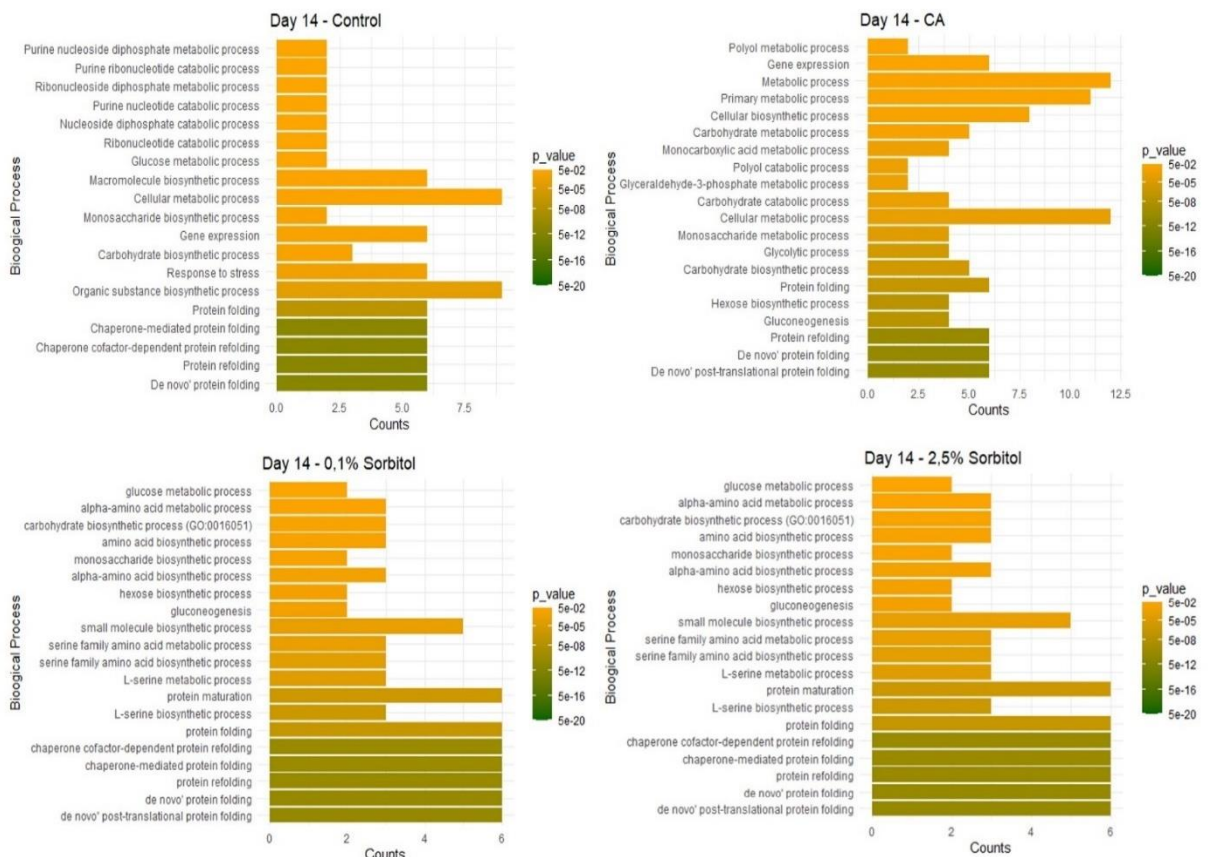


Figura 5. Classificação da função biológica de amostras de manga ‘Palmer’ (epiderme) armazenadas a $4,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em atmosfera ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa O}_2$) por 14 dias. Tratamentos: controle, sorbitol 0,1% e sorbitol 2,5%.

Ao final do período de armazenamento (dia 28), os tratamentos apresentaram o mesmo comportamento de expressão das diferentes classes de proteínas em relação ao dia 14. As classes de proteínas mais abundantes foram as chaperonas da família Hsp70, seguidas das chaperonas e transporte mitocondrial (Tabela 2S). Todavia, o tratamento controle apresentou maior abundância das chaperonas da família Hsp70 ($p = 5.96\text{E-}14$) em relação aos demais tratamentos ($p = 2.45\text{-}13$), Tabela 2S. No que se refere aos processos biológicos, os tratamentos apresentaram os mesmos valores de enriquecimento GO (Figura 6, Tabela 8S).

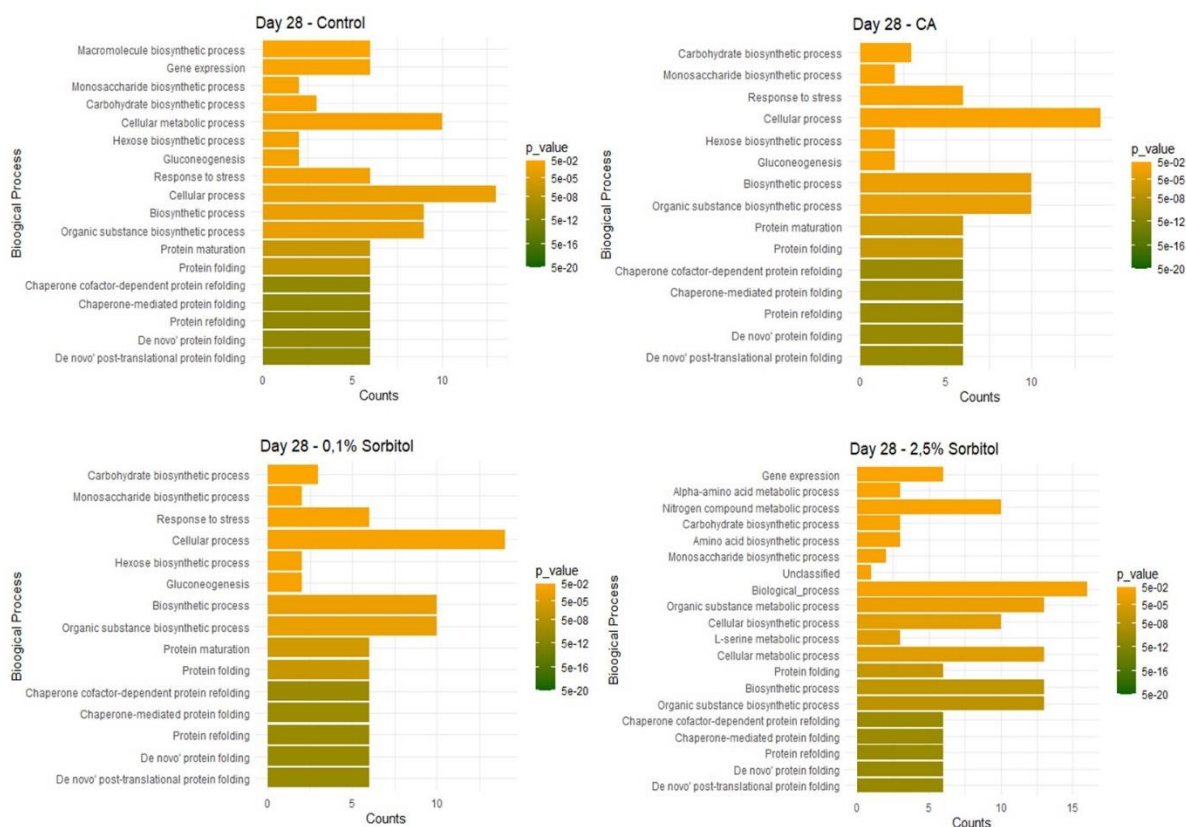


Figura 6. Classificação da função biológica de amostras de manga ‘Palmer’ (epiderme) armazenadas a $4,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em atmosfera ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$) por 28 dias. Tratamentos: controle, sorbitol 0,1% e sorbitol 2,5%.

Desta forma, os processos com maiores valores foram os relacionados ao dobramento pós-transcricional 'de novo' de proteínas ($p = 4.31E-11$), dobramento 'de novo' de proteínas ($p = 5.87E-11$) e redobramento de proteínas ($p = 6.52E-11$), Figura 6.

4. DISCUSSÃO

4.1. Experimento I: AC - atmosfera ambiente

Apesar dos sintomas de CI não tenham diferido entre os tratamentos imediatamente após a retirada das condições de dano por frio, foi observado diferenças no metabolismo dos frutos em resposta a este estresse. Os frutos do tratamento controle apresentaram menor atividade da enzima APX e maior atividade da PPO. Comportamento oposto foi observado nos frutos imersos em sorbitol 0.1% e 2.5%, ou seja, maior atividade da APX e menor da PPO (Silva et al., 2024). Isso demonstra o efeito do sorbitol na minimização do CI, pois a APX atua como doadora de elétrons para a redução do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em água (Shigeoka et al., 2002), minimizando os efeitos maléficos das espécies reativas de hidrogênio (EROs). Similarmente, uma menor atividade da PPO significa que há uma menor oxidação dos compostos fenólicos, cujo produto final (melanoidinas) são responsáveis pelo escurecimento dos tecidos vegetais (Martinez; Whitaker, 1995).

Apesar das respostas nos mecanismos não-enzimáticos e enzimáticos das mangas tratadas com sorbitol, buscou-se um melhor entendimento destas modificações por meio da análise de proteômica. A escolha por apresentar as classes de proteínas e análise de enriquecimento dos termos GO se deve ao fato desta abordagem na análise proteômica ser bastante poderosa para elucidar vias metabólicas e identificar proteínas importantes na fisiologia, desenvolvimento, amadurecimento e atributos nutricionais ou sensoriais (Datir e Regan, 2022).

Neste sentido, no início do armazenamento (dia 0), quando os frutos não foram expostos ao dano por frio, foi observado proteínas e processos predominantes relacionados à biossíntese de monossacarídeos e nucleotídeos, sugerindo uma atividade metabólica inicial (Tabela 1S e Tabela 2S). Entretanto, após 14 dias sob condições de dano por frio, os frutos de todos os tratamentos expressaram proteínas de choque térmico, em especial as chaperonas da família Hsp70 (Tabela 4S). Segundo Sung et al (2001), as chaperonas da família Hsp70 são codificadas por uma família multigênica cujos membros são expressos diferencialmente em resposta à temperatura e outras condições que interrompem o dobramento normal das proteínas ou favorecem a desnaturação das proteínas. Na ausência de estresse, as chaperonas da família Hsp70 funcionam em conjunto com uma variedade de co-acompanhantes para facilitar o dobramento proteínas sintetizadas 'de novo', auxiliam no

transporte de proteínas precursoras para organelas e ajudam a identificar proteínas alvo de degradação. Por outro lado, em condições de estresse, as chaperonas da família Hsp70 mitigam a agregação de proteínas desnaturadas por estresses e redobram proteínas não nativas restaurando a função dos sistemas biológicos por meio da integração de ciclos iterativos de estresse dependente da hidrólise do nucleotídeo da proteína adenina (Sung et al., 2001). As chaperonas da família Hsp70 se acumulam principalmente nos cloroplastos e mitocôndrias, que são as principais organelas afetadas pelo dano pelo frio (Horvath et al., 2008). Desta forma, o acúmulo das chaperonas da família Hsp70 após 14 dias de exposição ao frio, destacadamente na epiderme dos frutos tratados com sorbitol a 0.1% e 2.5% ao final do armazenamento (Tabela 4S), por ser um indicativo da ação do sorbitol na prevenção ao dano por frio. O mesmo foi relatado em frutos de manga da cultivar 'Keitt' (Salazar-Salas et al., 2022) e em uva submetidas a tratamento térmico (Zhang et al., 2005). (BOA EXPLICAÇÃO)

Os processos biológicos afetados pela exposição ao frio e aos tratamentos aplicados, se relacionam fundamentalmente ao papel da expressão das chaperonas da família Hsp70, ou seja, manutenção do dobramento de proteínas 'de novo', redobramento de proteínas, redobramento de proteínas chaperonas dependentes de cofatores (Figura 3), conforme o previamente descrito por (Low et al., 2000). Contudo, o tratamento com sorbitol a 2,5% também apresentou ativação de processos relacionados a resposta ao estresse (Figura 3). O que pode estar relacionado a ação do sorbitol como agente antioxidante, afetando a atividade de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT), além de eliminar as ERO (Yang et al., 2018).

4.2. Experimento II: AC – modificação dos gases da atmosfera

Neste experimento os sintomas de CI foram afetados pelos tratamentos, mesmo nas amostras tendo sido imediatamente retiradas das condições de dano por frio. Os frutos do tratamento controle apresentaram maior teor H_2O_2 , menor atividade das enzimas SOD e APX, além de maior atividade da PPO. Já os frutos imersos em sorbitol 0.1% e, especialmente em 2.5%, apresentaram menores teores de H_2O_2 , maiores atividades da SOD e APX e menor da PPO (Silva et al., 2024). Novamente, foi observado efeito do sorbitol nas respostas dos

mecanismos não-enzimáticos e enzimáticos (H_2O_2) minimizaram o desenvolvimento do CI, similarmente ao relatado por Sanches et al. (2022).

Diferentemente do Experimento I, que no início do armazenamento (dia 0) os frutos apresentaram proteínas e processos predominantes relacionados à biossíntese de monossacarídeos e nucleotídeos (Tabela 1S e Tabela 2S), no Experimento II os frutos expressaram proteínas pertencentes as proteínas chaperonas da família Hsp70, além das chaperonas e proteínas de transporte mitocondrial (Tabela 6S). Estas diferenças podem estar relacionadas a origem dos frutos, pois no Experimento II foram utilizados frutos oriundos de Belém do São Francisco, Pernambuco, que foram enviados via transporte aéreo ao laboratório. Desta forma, estes frutos podem ter sido expostos a condições de altas temperaturas durante o transporte aéreo. Srisawat et al. (2022) relataram que mangas 'Nam Dok Mai Si Thong' quando transportadas por avião permaneceram no terminal sem refrigeração e a temperatura no interior das caixas aumentou em $8.8^\circ C$. Similarmente, Pelletier et al. (2018) relataram que nestas condições a temperatura dos produtos pode aumentar em até $13^\circ C$. Assim, a exposição a altas temperaturas durante o transporte dos frutos pode ter induzido a síntese de proteínas de choque térmico anteriormente a aplicação dos tratamentos.

Mesmo após 14 e 28 dias a $4,0 \pm 1,0^\circ C$ as classes de proteínas mais abundantes foram as proteínas chaperonas da família Hsp70, seguidas das chaperonas e transporte mitocondrial em todos os tratamentos testados (Tabela 2S). Novamente, os processos biológicos afetados pela exposição ao frio e aos tratamentos aplicados, se relacionam fundamentalmente ao papel da expressão das chaperonas da família Hsp70, ou seja, manutenção do dobramento de proteínas 'de novo', redobramento de proteínas, redobramento de proteínas chaperonas dependentes de cofatores (Figura 5 e 6), conforme o previamente descrito por (Low et al., 2000). Contudo, estes processos biológicos evidenciam que o fruto passou por uma condição de estresse, principalmente o tratamento controle, pois ao longo dos dias analisados (Tabela 6 e 7S) comparando entre os tratamentos foi o que promoveu maior significância. Um dos mecanismos para combater o estresse oxidativo envolve a ação da superóxido dismutase (SOD) durante o processo de amadurecimento (Andrade et al., 2010). Em nosso estudo recente (Silva et al., 2024), observamos que a atividade da SOD foi significativamente maior nos tratamentos com sorbitol, especialmente na dose de 2,5%, o que pode ter contribuído para esse efeito nos processos biológicos. A proteína chaperona, expressa em todos os

tratamentos, é indicativo da defesa do fruto, revelando um dos mecanismos de resposta ao estresse, em face do choque térmico e outras condições adversas que induzem parcialmente o desdobramento das proteínas celulares, a ação das Hsp em proteger as células contra tais efeitos adversos se torna uma extensão natural de sua função primordial como chaperonas (Meyer e Silva, 1999). Notavelmente, a presença significativa desta proteína é observada nos dias 14 e 28 nos tratamentos com sorbitol em ambos os experimentos (Tabela 1 e 2S), ressaltando o papel potencial do sorbitol no fortalecimento do sistema de defesa celular.

5. CONCLUSÕES

O sorbitol (0,1 e 2,5 %) e o armazenamento sob AC reduziram os efeitos potenciais do dano pelo frio nos frutos da manga 'Palmer' quando armazenadas a baixas temperaturas (8 e 4°C) especialmente devido a regulação e expressão aumentada de proteínas de choque térmico, tais como as chaperonas da família Hsp70 e de transporte mitocondrial.

Com base nesses resultados, estudos devem ser direcionados para compreender como a molécula de sorbitol atua como osmoprotetor a nível celular na redução do dano pelo frio.

6. REFERÊNCIAS

Agillon, A.B.; Lizada, M.C.C. (2010). Responses of 'Carabao' mango (*Mangifera indica*) fruit to chilling stress. **Acta Horticulturae**. 877:467–474. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.877.60>.

Andrade, J.M.; Toledo, T.T.; Nogueira, S.B.; Cordenunsi, B.R.; Lajolo, F.M.; Nascimento, J.R.O. (2012). 2D-DIGE analysis of mango (*Mangifera indica* L.) fruit reveals major proteomic changes associated with ripening, **Jornal of Proteomics**, V. 75:3331-3341, <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.03.047>.

Ashburner, M., Ball, C., Blake, J. *et al.* (2000). Gene Ontology: tool for the unification of biology. **Nat Genet** 25, 25–29 (2000). <https://doi.org/10.1038/75556>.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72, 248-254. [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Chaplin, G.R.; Cole, S.R.; Landrin, M.; Nuevo, P.A; Lam, P.F.; Graham, G. (1991). Chilling injury and storage of mango (*Mangifera indica* L.) held under low temperatures. **Acta Horticulture**. 291:461–471, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1991.291.52>.

comparative platform for green plant genomics, **Nucleic Acids Res**. 40 (D1): D1178-D1186.

Datir, S., and Regan, S. (2022). Advances in Physiological, Transcriptomic, Proteomic, Metabolomic, and Molecular Genetic Approaches for Enhancing Mango Fruit, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 71:20-34, DOI: 10.1021/acs.jafc.2c05958

FDA – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Sugar Alcohols. (2016). Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/scripts/InteractiveNutritionFactsLabel/assets/InteractiveNFL_SugarAlcohols

GOODSTEIN, D. M.; SHU, S.; HOWSON, R.; ROKHSAR, D. S. (2012). Phytozome: a

Hidalgo, M.; Cruz, J.; Parkin, K.L.; Garcia, H.S. (1997). Refrigerated storage and chilling injury development of Manila mangoes (*Mangifera indica* L.), **Acta Horticulturae**. 455:718– 725, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.455.91>.

Horváth, I.; Multhoff, G.; Sonnleitner, A.; Vígh, L. (2008). Membrane-associated stress proteins: more than simply chaperones. **Biochim Biophys Acta**, 1778(7-8):1653-64. doi: 10.1016/j.bbamem.2008.02.012.

<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.4.575>

Ito, A.; Sugiura, T.; Sakamoto, D.; Moriguchi, T. (2013). Effects of dormancy progression and low-temperature response on changes in the sorbitol concentration in xylem sap of Japanese pear during winter season. **Tree Physiology**. 33:398–408, <https://doi.org/10.1093/treephys/tpt021>.

Kanayama, Y. (2009). Physiological roles of polyols in horticultural crops. **J. Jpn. Soc. Hortic. Sci**. V. 78:158-168, <https://doi.org/10.2503/jjshs1.78.158>.

Kane, O.; Marcellin, P.; Mazliak, P. (1978). Incidence of ripening and chilling injury on the oxidative activities and fatty acid compositions of the mitochondria from mango fruits. **Plant Physiology**. 61:634-638, <https://doi.org/10.1104/pp.61.4.634>.

Khaliq, G.; Mohamed, M.T.M.; Ghazali, H.M.; Ding, P.; Ali, A. (2016). Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. **Postharvest Biol. Technol.**, V. 111:362-369. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.029>.

Kumpoun, W.; Nishizawa, T.; Motomura, Y.; Puthmee, T.; Aikawa, T. (2017). Histological and biochemical traits of chilling-injured pulp tissues as affected by cold storage of mango fruit. **HortScience**. 52:1380-1384, <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11928-17>.

Low, D., Brandle, K., Nover, L., Forreiter, C. (2000). Cytosolic heat-stress proteins Hsp17.7 class I and Hsp17.3 class II of tomato act as molecular chaperones in vivo. **Planta**. 211: 575–582, <https://doi.org/10.1007/s004250000315>.

Lyons, J.M.; Raison, J.K. (1970). Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. **Plant Physiology**. 45:386-389, <https://doi.org/10.1104/pp.45.4.386>.

Lyons, J.M.; Raison, J.K.; Steponkus, P.L. (1979). The plant membrane in response to low temperature: an overview. J.M. Lyons, D. Graham, J.K. Raison (Eds.), *Low Temperature Stress in Crop Plants: The Role of the Membrane*, **Academic Press**, New York, 1-24.

Martinez, M.V., Whitaker, J.R. (1995). The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science & Technology**, 6: 195-200.

Meyer, T. N., Da Silva, A. L. 1999. Resposta celular ao estresse, **Rev Ass Med Brasil**, 45(2): 181-8.

Pelletier, W., Chau, K.V.; Bucklin, R.A.; Brecht, J.K.; Hahn, D.W.; Émond, J. (2018). Analysis of Air cargo temperature variations during transport operations. **Transactions of the ASABE**, V. 61 (2):723-732. <https://doi.org/10.13031/trans.12524>.

Penchaiya, P.; Tijksens, L.M.M.; Uthairatanakij, A.; Srilaong, V.; Tansakul, A.; Kanlayanarat, S., (2020). Modelling quality and maturity of 'Namdokmai Sithong' mango and their variation during storage. **Postharvest Biology and Technology**. 159, article 111000. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111000>.

Raison, J.K.; Lyons, J.M. (1986). Chilling injury: a plea for uniform terminology. **Plant, Cell & Environment**. 9, 685-686, <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1986.tb02098.x>

Raison, J.K.; Orr, G.R., (1990). Proposals for a better understanding of the molecular basis of chilling injury. **Chilling injury of horticultural crops**. 145, 164p.

Rice, T.; Zanini, E.; Arendt, E.K.; Coffey, A.A. (2020). Review of polyols – biotechnological production, food applications, regulation, labeling and health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 60:2034-2051, <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1625859>.

Salazar-Salas, N. Y.; Chairez-Veja, D. A.; Vega-Alvarez, M.; González-Núñez, D. G.; Pineda-Hidalgo, K.V.; Chávez-Ontiveros, J.; Delgado-Vargas, F.; Lopez-Valenzuela, J. A. (2022). Proteomic changes in mango fruit peel associated with chilling injury tolerance induced by quarantine hot water treatment. *Postharvest Biol. Technol.*, V. 186, article 111838, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111838>.

Sanches, A.G., Pedrosa, V.M.D., Checchio, M.V., Fernandes, T.F.S., Guevara, J.E.M., Gratão, P.L., Teixeira, G.H.A. (2021). Polyols alleviate chilling injury in 'Palmer' mangoes during cold storage. *Food Control*. 129, 108248, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108248>.

Sanches, A.G.; Silva, M. B.; Wong, M. C. C.; Oliveira, A. R. G.; Pedrosa, V. M. D.; Fernandes, T. F. S.; Gratão, P. L.; Teixeira, G. H. A. (2022). Sorbitol immersion controls chilling injury in CA stored 'Palmer' mangoes, *Postharvest Biology and Technology*, V. 185, article 111800, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111800>

Sevillano, L.; Sanchez-Ballesta, M.T.; Romojaro, F.; Flores, F.B. (2009). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 89:555-573, <https://doi.org/10.1002/jsfa.3468>.

Shevchenko, A.; Tomas, H.; Havlis, J.; Olsen, J. V. E Mann, M. (2006). In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. *Nature protocols*, vol. 1, n. 6, p. 2859-2860.

Shewfelt, R.L.; Rosario, B.A. (2000). The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. *HortSci*. 35, 575-579.

Shigeoka, S.; Ishikawa, T.; Tamoi, M.; Miyagawa, Y.; Takeda, T.; Yabuta, Y.; Yoshimura, K. (2002). Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1305-1319.

Silva, M.B.; Pedrosa, V.M.D.; Izidoro, M.; Balbuena, T.S.; Sanches, A.G.; de Almeida Teixeira, G.H. (2024). Controlled Atmosphere Storage and Sorbitol Dipping Minimize Chilling Injuries in 'Palmer' Mangoes. *Horticulturae*, 10, 354, <https://doi.org/10.3390/horticulturae10040354>.

Singh, Z.; Singh R.K.; Sane V.A.; Nath P., (2013). Mango-postharvest biology and biotechnology. *Critical Reviews in Plant Sciences* 32:217-236, <https://doi.org/10.1080/07352689.2012.743399>.

Srisawat, K.; Sirisomboon, P.; Pun, U.K.; Krusong, W.; Rakmae, S.; Chaomuang, N.; Mawilai, P.; Pongsuttiyakorn, T.; Chookaew, C.; Pornchaloempong, P. (2022). Temperature Difference in Loading Area (Tarmac) during Handling of Air Freight Operations and Distance of Production Area Affects Quality of Fresh Mango Fruits (*Mangifera indica* L. 'Nam Dok Mai Si Thong'). *Horticulturae*, V. 8, 1001. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8111001>.

Sung, D.Y.; Kaplan, F.; Guy, CL. (2001). Plant Hsp70 molecular chaperones: Protein structure, gene family, expression and function. *Physiologia Plantarum*, 113: 443-451. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1130402.x>

Tang, H.; Zhang, X.; Gong, B.; Yan, Y.; Shi, Q. (2020). Proteomics and metabolomics analysis of tomato fruit at different maturity stages and under salt treatment, **Food Chemistry**, V. 311, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126009>.

Tian, L.; Zhao, X.; Hu, Z.; Liu, J.; Ma, J.; Fan, Y.; Liu, D. (2024). iTRAQ-based proteomics identifies proteins associated with betaine accumulation in *Lycium barbarum* L, **Journal of Proteomics**, V. 290, <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2023.105033>.

TYANOVA, S.; TEMU, T.; COX, J. (2016a). The MaxQuant computational platform for massspectrometry-based shotgun proteomics. **Nature Protocols**, v. 11:2301- 2319.

Tyanova, S.; Temu, T.; Sinitcyn, P.; Carlson, A.; Hein, M. Y.; Geiger, T.; Mann, M.; Cox, J. (2016b). The Perseus computational platform for comprehensive analysis of (prote)omics data. **Nat Methods**. v. 13:731–740.

Vega-Alvarez, M.; Salazar-Salas, N.Y.; López-Ángulo, G.; Pineda-Hidalgo, K.V.; López-López, M.E.; Vega-García, M.O; Delgado-Vargas, F.; López-Valenzuela, J.A. (2020). Metabolomic changes in mango fruit peel associated with chilling injury tolerance induced by quarantine hot water treatment. **Postharvest Biol. Technol.**, V. 169, 111299, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111299>.

Wang, B.; Wang, J.; Liang, H.; Yi, J.; Zhang, J.; Lin, L.; Wu, Y.; Feng, X.; Cao, J.; Jiang, W. (2008). Reduced chilling injury in mango fruit by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the antioxidant response. **Postharvest Biology and Technology**, 48:172–181. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.005>.

Yang, G.; Li, L.Y.; Huang, M.L.; Yang, F.C.; Zhang, F.K.; Xu, R.C.; Yan, D.Y. (2018). Progresses in study on sorbitol effect on plants resistance (in Chinese). **Soils**. 50 (03):446-454, 10.13758/j.cnki.tr.2018.03.002.

Yu, F.; Shao, X.; Yu, L.; Xu, F.; Wang, H. (2015). Proteomic analysis of postharvest peach fruit subjected to chilling stress or non-chilling stress temperatures during storage, **Scientia Horticulturae**, V. 197:72-89, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.045>.

Zaharah, S.S.; Singh, Z. (2011). Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury, delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored 'Kensington Pride' mango. **Postharvest Biology and Technology**. 60:202-210, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.01.011>.

Zhang, H.; Chen, B L.; Yiwen, S.; Zhao, L.; Zheng, X.; Yang, Q.; Zhang, X. (2017). Investigating proteome and transcriptome defense response of apples induced by *Yarrowia lipolytica* **Mol. Plant Microbe Interact.**, 30:301-311, <https://doi.org/10.1094/Mpmi-09-16-0189-R>.

Zhang, J.; Huang, W.; Pan, Q.; Liu, Y. (2005). Improvement of chilling tolerance and accumulation of heat shock proteins in grape berries (*Vitis vinifera* cv. Jingxiu) by heat pretreatment, **Postharvest Biology and Technology**, V. 38: 80-90, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.05.008>.

Zhang, Z.; Zhu, Q.; Hu, M.; Gao, Z.; An, F.; Li, M.; Jiang, Y. (2017). Low-temperature conditioning induces chilling tolerance in stored mango fruit. **Food Chemistry**. 219:76 -84, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.123>.

7. MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1S. Classe de proteínas enriquecidas de amostras de manga 'Palmer' (epiderme) armazenadas a $8,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em atmosfera ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$) por 0 dias. Tratamentos: controle, sorbitol 0,1% e sorbitol 2,5%.

Dia 0			
Access	PANTHER Protein Class	Counts	P_value
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	3.00E-06
PC00137	Kinase	3	4.07E-04
PC00227	Transporter	3	4.14E-02
PC00220	Transferase	3	4.60E-02
PC00258	Secondary carrier transporter	3	7.45E-04
PC00065	Carbohydrate kinase	2	8.69E-04
Dia 14			
Tratamento: Control			
PC00137	Kinase	3	1.57E-03
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.59E-05
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	1.59E-13
PC00065	Carbohydrate kinase	2	1.65E-03
PC00220	Transferase	6	3.65E-04
PC00258	Secondary carrier transporter	3	4.52E-03
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	6.45E-05
PC00000	Protein class	15	7.75E-05
PC00072	Chaperone	6	8.00E-07
PC00216	Transaminase	3	9.49E-05
Tratamento: 0,1% Sorbitol			
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	1.15E-03
PC00065	Carbohydrate kinase	2	1.38E-03
PC00000	Protein class	12	1.38E-03
PC00137	Kinase	3	1.63E-03
PC00072	Chaperone	6	1.76E-07
PC00258	Secondary carrier transporter	3	2.94E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	3.41E-14
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	8.14E-06
Tratamento: 2,5% Sorbitol			
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	1.15E-03
PC00065	Carbohydrate kinase	2	1.38E-03
PC00000	Protein class	12	1.38E-03
PC00137	Kinase	3	1.63E-03
PC00072	Chaperone	6	1.76E-07
PC00258	Secondary carrier transporter	3	2.94E-03

PC00027	Hsp70 family chaperone	6	3.41E-14
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	8.14E-06
Dia 28			
Tratamento: Control			
PC00137	Kinase	3	1.08E-03
PC00065	Carbohydrate kinase	2	1.38E-03
PC00072	Chaperone	6	1.76E-07
PC00258	Secondary carrier transporter	3	2.94E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	3.41E-14
UNCLASSIFIED	Unclassified	0	5.68E-05
PC00000	Protein class	13	7.10E-05
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	8.14E-06
Tratamento: 0,1% Sorbitol			
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	1.15E-03
PC00065	Carbohydrate kinase	2	1.38E-03
PC00000	Protein class	12	1.38E-03
PC00137	Kinase	3	1.63E-03
PC00072	Chaperone	6	1.76E-07
PC00258	Secondary carrier transporter	3	2.94E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	3.41E-14
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	8.14E-06
Tratamento: 2,5% Sorbitol			
PC00065	Carbohydrate kinase	2	1.10E-02
UNCLASSIFIED	Unclassified	11	1.22E-05
PC00092	Dehydrogenase	10	1.27E-11
PC00072	Chaperone	7	1.30E-05
PC00220	Transferase	7	1.47E-02
PC00000	Protein class	32	1.47E-05
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.48E-04
PC00262	Metabolite interconversion enzyme	21	1.66E-07
PC00221	Transketolase	1	2.08E-02
PC00137	Kinase	3	2.09E-02
PC00176	Oxidoreductase	10	2.35E-04
PC00027	Hsp70 family chaperone	7	3.61E-13
PC00052	Apolipoprotein	1	3.87E-02
PC00216	Transaminase	3	9.01E-04

Tabela 2S. Classe de proteínas enriquecidas de amostras de manga 'Palmer' (epiderme) armazenadas a $4 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR sob AC ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) por 28 dias. Tratamentos: control, control+AC, 0,1% sorbitol+AC e 2,5% sorbitol+AC.

Dia 0			
Tratamento: Control			
Access	PANTHER Protein Class	Counts	P_value
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.04E-05
PC00137	Kinase	3	1.37E-03
PC00065	Carbohydrate kinase	2	1.61E-03
PC00072	Chaperone	6	3.05E-07
PC00258	Secondary carrier transporter	3	3.72E-03
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	5.30E-04
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	5.96E-14
PC00000	Protein class	13	6.63E-04
Dia 14			
Tratamento: Control			
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	1.15E-03
PC00065	Carbohydrate kinase	2	1.38E-03
PC00000	Protein class	12	1.38E-03
PC00137I	Kinase	3	1.63E-03
PC00072	Chaperone	6	1.76E-07
PC00258	Secondary carrier transporter	3	2.94E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	3.41E-14
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	8.14E-06
Tratamento: Control + AC			
PC00072	Chaperone	6	1.23E-06
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.93E-05
PC00135	Isomerase	2	2.09E-02
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	2.45E-13
UNCLASSIFIED	Unclassified	3	2.92E-03
PC00065	Carbohydrate kinase	2	3.36E-03
PC00000	Protein class	14	3.41E-03
PC00137	Kinase	3	3.81E-03
PC00258	Secondary carrier transporter	3	6.82E-03
Tratamento: 0,1% Sorbitol			
PC00072	Chaperone	6	1.23E-06
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.93E-05
PC00065	Carbohydrate kinase	2	2.40E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	2.45E-13
PC00137	Kinase	3	2.54E-03
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	2.94E-05
PC00092	Dehydrogenase	3	3.62E-03

PC00000	Protein class	16	3.68E-05
PC00262	Metabolite interconversion enzyme	7	3.90E-02
PC00258	Secondary carrier transporter	3	6.06E-03
Tratamento: 2,5% Sorbitol			
PC00072	Chaperone	6	1.23E-06
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.93E-05
PC00065	Carbohydrate kinase	2	2.40E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	2.45E-13
PC00137	Kinase	3	2.54E-03
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	2.94E-05
PC00092	Dehydrogenase	3	3.62E-03
PC00000	Protein class	16	3.68E-05
PC00262	Metabolite interconversion enzyme	7	3.90E-02
PC00258	Secondary carrier transporter	3	6.06E-03
Dia 28			
Tratamento: Control			
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.04E-05
PC00137	Kinase	3	2.06E-03
PC00065	Carbohydrate kinase	2	2.25E-03
PC00072	Chaperone	6	3.05E-07
UNCLASSIFIED	Unclassified	2	4.04E-03
PC00000	Protein class	12	4.62E-03
PC00258	Secondary carrier transporter	3	4.96E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	5.96E-14
Tratamento: Control + AC			
PC00072	Chaperone	6	1.23E-06
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.93E-05
PC00065	Carbohydrate kinase	2	2.40E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	2.45E-13
PC00137	Kinase	3	2.54E-03
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	2.94E-05
PC00092	Dehydrogenase	3	3.62E-03
PC00000	Protein class	16	3.68E-05
PC00262	Metabolite interconversion enzyme	7	3.90E-02
PC00258	Secondary carrier transporter	3	6.06E-03
Tratamento: 0,1% Sorbitol			
PC00072	Chaperone	6	1.23E-06
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.93E-05
PC00065	Carbohydrate kinase	2	2.40E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	2.45E-13
PC00137	Kinase	3	2.54E-03
UNCLASSIFIED	Unclassified	2	4.38E-04
PC00000	Protein class	15	5.47E-04

PC00258	Secondary carrier transporter	3	6.82E-03
Tratamento: 2,5% Sorbitol			
PC00072	Chaperone	6	1.23E-06
PC00158	Mitochondrial carrier protein	3	1.93E-05
PC00065	Carbohydrate kinase	2	2.40E-03
PC00027	Hsp70 family chaperone	6	2.45E-13
PC00137	Kinase	3	2.54E-03
UNCLASSIFIED	Unclassified	1	2.94E-05
PC00092	Dehydrogenase	3	3.62E-03
PC00000	Protein class	16	3.68E-05
PC00262	Metabolite interconversion enzyme	7	3.90E-02
PC00258	Secondary carrier transporter	3	6.06E-03

Tabela 3S. Tabela de enriquecimento GO (processo biológico) de amostras de manga ‘Palmer’ (epiderme) armazenadas a $8,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em atmosfera ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$) por 0 dias. Tratamentos: controle.

Dia 0		
GO_term	Counts	p_value
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.35E-02
Hexose biosynthetic process	2	1.78E-02
Pyruvate metabolic process	2	2.36E-02
Ribonucleotide catabolic process	2	2.38E-02
Purine nucleotide catabolic process	2	2.40E-02
Nucleoside diphosphate metabolic process	2	2.40E-02
Ribonucleoside diphosphate metabolic process	2	2.41E-02
Nucleotide catabolic process	2	2.45E-02
Nucleoside phosphate catabolic process	2	2.45E-02
ATP metabolic process	2	2.47E-02
Purine-containing compound catabolic process	2	2.49E-02
Nucleoside diphosphate catabolic process	2	2.52E-02
Purine ribonucleotide catabolic process	2	2.68E-02
Purine nucleoside triphosphate metabolic process	2	2.71E-02
Purine ribonucleoside triphosphate metabolic process	2	2.74E-02
Purine nucleoside diphosphate metabolic process	2	2.78E-02
Purine ribonucleoside diphosphate metabolic process	2	2.97E-02
Ribonucleoside triphosphate metabolic process	2	2.98E-02
Organophosphate catabolic process	2	3.00E-02
Pyridine nucleotide catabolic process	2	3.01E-02

Tabela 4S. Tabela de enriquecimento GO (processo biológico) de amostras de manga 'Palmer' (epiderme) armazenadas a $8,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em atmosfera ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$) por 14 dias. Tratamentos: controle, sorbitol 0,1% e sorbitol 2,5%.

DIA 14		
Tatamento: Controle		
GO_term	Counts	p_value
Chaperone-mediated protein folding	6	1.07E-10
Protein folding	6	1.10E-06
Response to stress	6	1.22E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	2.04E-02
Carbohydrate biosynthetic process	3	2.56E-02
Metabolic process	12	2.90E-02
Biosynthetic process	12	3.16E-06
Protein maturation	6	3.80E-06
Gene expression	6	4.15E-02
Unclassified (UNCLASSIFIED)	1	4.18E-02
Primary metabolic process	12	4.25E-03
De novo' post-translational protein folding	6	4.26E-11
Organonitrogen compound metabolic process	8	4.33E-02
Biological_process	15	4.41E-02
Organic substance biosynthetic process	9	4.70E-03
De novo' protein folding	6	6.54E-11
Protein refolding	6	7.69E-11
Gluconeogenesis	2	7.79E-03
Hexose biosynthetic process	2	8.44E-03
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	8.51E-11
Tatamento: 0,1% sorbitol		
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.25E-02
Gene expression	6	1.30E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.33E-02
De novo' protein folding	6	1.41E-11
Protein refolding	6	1.65E-11
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	1.83E-11
Chaperone-mediated protein folding	6	2.30E-11
Protein folding	6	2.40E-07
Cellular metabolic process	9	3.02E-02
Macromolecule biosynthetic process	6	3.08E-02
Glucose metabolic process	2	3.88E-02
Response to stress	6	4.13E-03
Organic substance biosynthetic process	9	4.49E-04
Ribonucleotide catabolic process	2	4.64E-02
Nucleoside diphosphate catabolic process	2	4.78E-02

Purine nucleotide catabolic process	2	4.78E-02
Ribonucleoside diphosphate metabolic process	2	4.92E-02
Purine ribonucleotide catabolic process	2	4.93E-02
Purine nucleoside diphosphate metabolic process	2	4.94E-02
Tratamento: 2,5% sorbitol		
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.25E-02
Gene expression	6	1.30E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.33E-02
De novo' protein folding	6	1.41E-11
Protein refolding	6	1.65E-11
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	1.83E-11
Chaperone-mediated protein folding	6	2.30E-11
Protein folding	6	2.40E-07
Cellular metabolic process	9	3.02E-02
Macromolecule biosynthetic process	6	3.08E-02
Glucose metabolic process	2	3.88E-02
Response to stress	6	4.13E-03
Organic substance biosynthetic process	9	4.49E-04
Ribonucleotide catabolic process	2	4.64E-02
Nucleoside diphosphate catabolic process	2	4.78E-02
Purine nucleotide catabolic process	2	4.78E-02
Ribonucleoside diphosphate metabolic process	2	4.92E-02
Purine ribonucleotide catabolic process	2	4.93E-02
Purine nucleoside diphosphate metabolic process	2	4.94E-02

Tabela 5S. Tabela de enriquecimento GO (processo biológico) de amostras de manga 'Palmer' (epiderme) armazenadas a $8,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR em atmosfera ambiente ($21 \text{ kPa O}_2 + 0,03 \text{ kPa CO}_2$) por 28 dias. Tratamentos: controle, sorbitol 0,1% e sorbitol 2,5%.

Dia 28		
Tratamento: Controle		
GO_term	Counts	p_value
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.18E-02
Gene expression	6	1.22E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.25E-02
De novo' protein folding	6	1.41E-11
Nitrogen compound metabolic process	9	1.45E-02
Biological_process	13	1.57E-02
Unclassified (UNCLASSIFIED)	0	1.65E-02
Protein refolding	6	1.65E-11
Organic substance metabolic process	10	1.72E-02
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	1.83E-11
Organic substance biosynthetic process	10	2.15E-05
Chaperone-mediated protein folding	6	2.30E-11
Cellular biosynthetic process	7	2.39E-02
Protein folding	6	2.40E-07
Macromolecule biosynthetic process	6	2.44E-02
Cellular process	13	2.53E-04
Glucose metabolic process	2	3.10E-02
Biosynthetic process	10	3.30E-05
Response to stress	6	3.44E-03
Ribonucleotide catabolic process	2	3.95E-02
Tratamento: 0,1% Sorbitol		
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.25E-02
Gene expression	6	1.30E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.33E-02
De novo' protein folding	6	1.41E-11
Protein refolding	6	1.65E-11
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	1.83E-11
Chaperone-mediated protein folding	6	2.30E-11
Protein folding	6	2.40E-07
Cellular metabolic process	9	3.02E-02
Macromolecule biosynthetic process	6	3.08E-02
Glucose metabolic process	2	3.88E-02
Response to stress	6	4.13E-03
Organic substance biosynthetic process	9	4.49E-04
Ribonucleotide catabolic process	2	4.64E-02
Nucleoside diphosphate catabolic process	2	4.78E-02

Purine nucleotide catabolic process	2	4.78E-02
Ribonucleoside diphosphate metabolic process	2	4.92E-02
Purine ribonucleotide catabolic process	2	4.93E-02
Purine nucleoside diphosphate metabolic process	2	4.94E-02
Tratamento: 2,5% Sorbitol		
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.12E-02
Cellular process	11	1.16E-02
Chaperone-mediated protein folding	6	1.24E-11
Protein folding	6	1.30E-07
Macromolecule biosynthetic process	6	1.97E-02
Response to stress	6	2.57E-03
Organic substance biosynthetic process	8	2.88E-03
Biosynthetic process	8	3.54E-03
Glucose metabolic process	2	3.65E-02
Ribonucleotide catabolic process	2	3.94E-02
Nucleoside diphosphate catabolic process	2	4.05E-02
Purine nucleotide catabolic process	2	4.05E-02
Ribonucleoside diphosphate metabolic process	2	4.17E-02
Purine ribonucleotide catabolic process	2	4.18E-02
Purine nucleoside diphosphate metabolic process	2	4.19E-02
Response to stimulus	6	4.29E-02
Gluconeogenesis	2	4.29E-03
Purine ribonucleoside diphosphate metabolic process	2	4.33E-02
Pyridine nucleotide catabolic process	2	4.36E-02

Tabela 6S. Tabela de enriquecimento GO (processo biológico) de amostras de manga 'Palmer' (epiderme) armazenadas a $4 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR sob AC ($5 \text{ kPa O}_2 + 5 \text{ kPa CO}_2$) por 0 dias. Tratamentos: controle.

Dia 0		
GO_term	Counts	p_value
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.75E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.83E-02
Gene expression	6	1.91E-02
Cellular process	13	1.94E-03
Protein maturation	6	2.12E-06
De novo' post-translational protein folding	6	4.31E-11
Macromolecule biosynthetic process	6	4.34E-02
Cellular biosynthetic process	7	4.46E-02
Organic substance metabolic process	10	4.69E-02
Glucose metabolic process	2	4.70E-02
Protein folding	6	5.44E-07
Response to stress	6	5.65E-03
Organic substance biosynthetic process	10	5.82E-05
De novo' protein folding	6	5.87E-11
Protein refolding	6	6.52E-11
Gluconeogenesis	2	7.82E-03
Biosynthetic process	10	8.17E-05
Chaperone-mediated protein folding	6	8.46E-11
Hexose biosynthetic process	2	8.48E-03
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	8.62E-11

Tabela 7S. Tabela de enriquecimento GO (processo biológico) de amostras de manga 'Palmer' (epiderme) armazenadas a $4 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR sob AC (5 kPa O_2 + 5 kPa CO_2) por 14 dias. Tratamentos: controle, controle+AC, 0,1% sorbitol+AC e 2,5% sorbitol+AC.

Dia 14		
Tratamento: Controle		
GO_term	counts	p_value
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.25E-02
Gene expression	6	1.30E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.33E-02
De novo' protein folding	6	1.41E-11
Protein refolding	6	1.65E-11
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	1.83E-11
Chaperone-mediated protein folding	6	2.30E-11
Protein folding	6	2.40E-07
Cellular metabolic process	9	3.02E-02
Macromolecule biosynthetic process	6	3.08E-02
Glucose metabolic process	2	3.88E-02
Response to stress	6	4.13E-03
Organic substance biosynthetic process	9	4.49E-04
Ribonucleotide catabolic process	2	4.64E-02
Nucleoside diphosphate catabolic process	2	4.78E-02
Purine nucleotide catabolic process	2	4.78E-02
Ribonucleoside diphosphate metabolic process	2	4.92E-02
Purine ribonucleotide catabolic process	2	4.93E-02
Purine nucleoside diphosphate metabolic process	2	4.94E-02
Tratamento: Controle+AC		
Cellular metabolic process	12	1.05E-03
Carbohydrate metabolic process	5	1.30E-02
Cellular biosynthetic process	8	1.31E-02
Protein folding	6	1.46E-06
Carbohydrate biosynthetic process	5	1.48E-05
Gluconeogenesis	4	1.49E-07
Carbohydrate catabolic process	4	1.51E-03
Hexose biosynthetic process	4	1.73E-07
De novo' post-translational protein folding	6	1.77E-10
Primary metabolic process	11	1.83E-02
Glycolytic process	4	1.85E-05
Glyceraldehyde-3-phosphate metabolic process	2	2.19E-03
Metabolic process	12	2.26E-02
Polyol catabolic process	2	2.28E-03
Monosaccharide metabolic process	4	2.40E-04
De novo' protein folding	6	2.41E-10

Gene expression	6	2.66E-02
Monocarboxylic acid metabolic process	4	2.67E-03
Protein refolding	6	2.67E-10
Polyol metabolic process	2	2.69E-02
Tratamento: 0,1% Sorbitol		
L-serine biosynthetic process	3	4.24E-06
chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	3.54E-10
de novo' post-translational protein folding	6	1.77E-10
de novo' protein folding	6	2.41E-10
hexose biosynthetic process	2	6.90E-03
gluconeogenesis	2	6.60E-03
protein refolding	6	2.67E-10
chaperone-mediated protein folding	6	3.47E-10
L-serine metabolic process	3	2.11E-04
serine family amino acid biosynthetic process	3	3.74E-04
monosaccharide biosynthetic process	2	1.32E-02
serine family amino acid metabolic process	3	8.21E-04
glucose metabolic process	2	3.97E-02
protein folding	6	1.65E-06
alpha-amino acid biosynthetic process	3	8.31E-03
protein maturation	6	5.95E-06
amino acid biosynthetic process	3	1.35E-02
carbohydrate biosynthetic process	3	1.56E-02
alpha-amino acid metabolic process	3	2.90E-02
small molecule biosynthetic process	5	8.59E-04
Tratamento: 2,5% Sorbitol		
Biological_process	16	1.05E-02
Unclassified	1	1.09E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.32E-02
Amino acid biosynthetic process	3	1.35E-02
Organic substance metabolic process	13	1.41E-03
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.56E-02
Protein folding	6	1.65E-06
De novo' post-translational protein folding	6	1.77E-10
Cellular metabolic process	13	1.82E-04
Nitrogen compound metabolic process	10	1.96E-02
L-serine metabolic process	3	2.11E-04
Organic substance biosynthetic process	13	2.23E-07
De novo' protein folding	6	2.41E-10
Protein refolding	6	2.67E-10
Alpha-amino acid metabolic process	3	2.90E-02
Gene expression	6	3.18E-02
Chaperone-mediated protein folding	6	3.47E-10

Biosynthetic process	13	3.48E-07
Cellular biosynthetic process	10	3.51E-04
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	3.54E-10

Tabela 8s. Tabela de enriquecimento GO (processo biológico) de amostras de manga 'Palmer' (epiderme) armazenadas a $4 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e $95 \pm 0,5\%$ UR sob AC (5 kPa O_2 + 5 kPa CO_2) por 28 dias. Tratamentos: controle, controle+AC, 0,1% sorbitol+AC e 2,5% sorbitol+AC.

Coluna1	Coluna2	Coluna3
Dia 28		
Tratamento: Controle		
GO_term	counts	p_value
Biosynthetic process	9	1.32E-03
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.75E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.83E-02
Gene expression	6	1.91E-02
Cellular process	13	1.94E-03
Protein maturation	6	2.12E-06
De novo' post-translational protein folding	6	4.31E-11
Macromolecule biosynthetic process	6	4.82E-02
Protein folding	6	5.44E-07
Response to stress	6	5.65E-03
De novo' protein folding	6	5.87E-11
Protein refolding	6	6.52E-11
Gluconeogenesis	2	7.82E-03
Chaperone-mediated protein folding	6	8.46E-11
Hexose biosynthetic process	2	8.48E-03
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	8.62E-11
Cellular metabolic process	10	9.12E-03
Organic substance biosynthetic process	9	9.89E-04
Tratamento: Controle+AC		
Biological_process	16	1.05E-02
Unclassified	1	1.09E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.32E-02
Amino acid biosynthetic process	3	1.35E-02
Organic substance metabolic process	13	1.41E-03
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.56E-02
Protein folding	6	1.65E-06
De novo' post-translational protein folding	6	1.77E-10
Cellular metabolic process	13	1.82E-04
Nitrogen compound metabolic process	10	1.96E-02
L-serine metabolic process	3	2.11E-04
Organic substance biosynthetic process	13	2.23E-07
De novo' protein folding	6	2.41E-10
Protein refolding	6	2.67E-10
Alpha-amino acid metabolic process	3	2.90E-02
Gene expression	6	3.18E-02

Chaperone-mediated protein folding	6	3.47E-10
Biosynthetic process	13	3.48E-07
Cellular biosynthetic process	10	3.51E-04
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	3.54E-10
Tratamento: 0,1% Sorbitol		
Biosynthetic process	10	1.15E-03
Gluconeogenesis	2	1.27E-02
Hexose biosynthetic process	2	1.38E-02
Cellular process	14	1.49E-02
Response to stress	6	1.76E-02
De novo' post-translational protein folding	6	1.77E-10
Protein folding	6	2.19E-06
De novo' protein folding	6	2.41E-10
Protein refolding	6	2.67E-10
Monosaccharide biosynthetic process	2	2.93E-02
Carbohydrate biosynthetic process	3	3.44E-02
Chaperone-mediated protein folding	6	3.47E-10
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	3.54E-10
Organic substance biosynthetic process	10	8.33E-04
Protein maturation	6	8.50E-06
Tratamento: 2,5% Sorbitol		
Biological_process	16	1.05E-02
Unclassified	1	1.09E-02
Monosaccharide biosynthetic process	2	1.32E-02
Amino acid biosynthetic process	3	1.35E-02
Organic substance metabolic process	13	1.41E-03
Carbohydrate biosynthetic process	3	1.56E-02
Protein folding	6	1.65E-06
De novo' post-translational protein folding	6	1.77E-10
Cellular metabolic process	13	1.82E-04
Nitrogen compound metabolic process	10	1.96E-02
L-serine metabolic process	3	2.11E-04
Organic substance biosynthetic process	13	2.23E-07
De novo' protein folding	6	2.41E-10
Protein refolding	6	2.67E-10
Alpha-amino acid metabolic process	3	2.90E-02
Gene expression	6	3.18E-02
Chaperone-mediated protein folding	6	3.47E-10
Biosynthetic process	13	3.48E-07
Cellular biosynthetic process	10	3.51E-04
Chaperone cofactor-dependent protein refolding	6	3.54E-10

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a pesquisa realizada e os dados já obtidos sobre o efeito do sorbitol no controle da injúria pelo frio em mangas ‘Palmer’, destaca-se a importância das abordagens proteômicas para ampliar o entendimento desse processo complexo. Ao analisar a qualidade e o metabolismo oxidativo em conjunto com a análise dos processos biológicos do enriquecimento de proteínas, a pesquisa proporcionou insights valiosos sobre os mecanismos subjacentes à ação do sorbitol na inibição do dano pelo frio. Todavia, há lacunas a serem preenchidas nesse campo.

Embora os resultados tenham oferecidos uma visão promissora, é necessário realizar pesquisas futuras mais abrangentes para a compreensão mais completa do papel das proteínas nesse processo. A análise gene ontology (GO) é um passo importante, mas a investigação aprofundada das interações proteicas e dos caminhos metabólicos envolvidos será fundamental para elucidar completamente os mecanismos fisiológicos e bioquímicos relacionados a utilização do sorbitol como agente crioprotetor no controle do dano pelo frio em mangas ‘Palmer’.

Por fim, a compreensão mais profunda da ação do sorbitol no contexto do controle da injúria pelo frio em mangas ‘Palmer’ não apenas contribuirá para otimizar as práticas de armazenamento e transporte dessa fruta, mas também poderá ter implicações mais amplas na agricultura e na segurança alimentar. Portanto, investir em mais pesquisas ômicas é crucial para desbloquear todo o potencial do sorbitol como agente de controle de danos pelo frio e para promover uma produção agrícola mais sustentável e eficiente.