

RITHIELY PASCHOA QUEIROZ CAVATTE

**LONGEVIDADE DE PIMENTAS ORNAMENTAIS (*Capsicum annuum* L.)
SOB ESTRESSE DE TEMPERATURA E LUZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2012

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

C377L
2012

Cavatte, Rithiely Paschoa Queiroz, 1982-
Longevidade de pimentas ornamentais
(*Capsicum annuum* L.) sob estresse de temperatura e luz /
Rithiely Paschoa Queiroz Cavatte. – Viçosa, MG, 2012.
xii, 74f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Fernando Luiz Finger.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Pimenta - Efeito do etileno. 2. Pimenta - Conservação.
3. Pimenta - Fisiologia. 4. Antocianinas. 5. Folhas. 6. Pimenta
- Efeito da temperatura. 7. *Capsicum annuum*. I. Universidade
Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 635.643

RITHIELY PASCHOA QUEIROZ CAVATTE

**LONGEVIDADE DE PIMENTAS ORNAMENTAIS (*Capsicum annuum* L.)
SOB ESTRESSE DE TEMPERATURA E LUZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 22 de março de 2012.

Cleide Maria Ferreira Pinto

Raimundo Santos Barros
(Coorientador)

Marialva Alvarenga Moreira

Paula Acácia Silva Ramos

Fernando Luiz Finger
(Orientador)

*À minha querida mãe Cleuza,
Ao meu pai, Adão;
Ao meu amado esposo Paulo;
Ao meu “Tisourinho” Luis Felipe,
Dedico*

AGRADECIMENTOS

Ao único e supremo Deus toda honra, toda glória, todo louvor, toda força e todo poder, hoje e sempre.

Com amor e sem palavras agradeço ao meu esposo Paulo pelos ensinamentos, companhia, compreensão, paciência e dedicação.

À minha família, à Fatinha e ao meu irmão Ricardo pelo carinho, ao meu pai pelo incentivo, em especial a minha mãe, pelo exemplo, empenho e dedicação para conclusão deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Biologia Vegetal e ao programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade e apoio na realização deste curso.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos amigos conquistados: Ny, Dani, Mamute, Flávio, Deise, Elaine, D. Aguiar, D. Ângela, D. Therezinha, ... Meus agradecimentos por sempre estarem por perto...

A todos os integrantes do laboratório pós-colheita, Ana Paula, Aquidauana, Aline, Camila, Cristina, Christiane, Fernanda, Geraldo, Juliane, Luciana, Lucilene, Naysa, Paula Acácia, Rusthon, Sebastião, Tania, Wellington, e em especial, à Júlien Maria e à Maria Teresa, pela ajuda, força e companheirismo. Aos estagiários, pela ajuda e companhia durante os longos e trabalhosos dias.

Aos meus amigos e irmãos da Igreja Cristã Maranata de Viçosa, pelas orações. De maneira bem especial, Alice, Janaina, Roni, João Marcos, Alexsandra, Jorge, Érica e Camila, pelo apoio, risadas, ajuda e por serem minha segunda família! Agradeço a Deus por vocês fazerem parte da minha vida...

Sumário

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS	x
1. INTRODUÇÃO GERAL	- 1 -
1.1 Pimenta ornamental: Produção e comercialização	- 1 -
1.2 Efeito do etileno na comercialização das plantas ornamentais	- 2 -
1.3 Antocianinas	- 3 -
1.4 Conservação das plantas com o uso do 1-MCP	- 4 -
1.5 A importância da luz e temperatura na comercialização das plantas ornamentais ..	- 4 -
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 6 -
CAPÍTULO I	- 9 -
EFEITO DE ALTA TEMPERATURA E DA LUZ NA PÓS-PRODUÇÃO DE PIMENTA ORNAMENTAL	- 9 -
RESUMO	- 9 -
1. INTRODUÇÃO	- 1 -
2. MATERIAL E MÉTODOS	- 5 -
2.1. Generalidades	- 5 -
2.2 Tratamentos	- 5 -
2.3 Índice SPAD e abscisão foliar	- 6 -
2.4 Análises enzimáticas	- 6 -
a. Determinação da atividade da catalase	- 7 -
b. Determinação da atividade da peroxidase	- 7 -
c. Determinação da atividade da ascorbato peroxidase	- 8 -
d. Determinação da atividade da superóxido dismutase	- 8 -
2.5 Peróxido de Hidrogênio	- 8 -
2.6 Teores de amido, açúcares solúveis totais, redutores e não redutores	- 9 -
Açúcares não-redutores	- 10 -
2.7 Danos celulares	- 10 -
2.8 Clorofilas e carotenóides	- 11 -
RESULTADOS E DISCUSSÃO	- 12 -
4. CONCLUSÕES	- 41 -
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 43 -

CAPÍTULO II.....	- 49 -
CARACTERIZAÇÃO DE ESTRATÉGIAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA TOLERÂNCIA ÀS CONDIÇÕES DE ESTRESSE PROVOCADAS PELO TRANSPORTE EM PLANTAS DE PIMENTA ORNAMENTAL	- 49 -
RESUMO	- 49 -
1. INTRODUÇÃO	- 50 -
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	- 53 -
2.1. Generalidades.....	- 53 -
2.2 Do experimento.....	- 54 -
2.3 Trocas gasosas e parâmetros de fluorescência.....	- 54 -
2.4. Pigmentos e Nitrogênio	- 55 -
a. Clorofila e carotenóides.....	- 55 -
b. Antocianina.....	- 55 -
c. Nitrogênio	- 56 -
2.5 Análises enzimáticas	- 56 -
a. Determinação da atividade da catalase.....	- 56 -
b. Determinação da atividade da peroxidase	- 57 -
c. Determinação da atividade da ascorbato peroxidase	- 57 -
d. Determinação da atividade da superóxido dismutase	- 57 -
2.6 Peróxido de hidrogênio	- 58 -
2.7 Abscisão foliar	- 58 -
2.8 Análises estatísticas.....	- 58 -
4. CONCLUSÕES	- 67 -
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 68 -
CONCLUSÃO GERAL	- 74 -

RESUMO

CAVATTE, Rithiely Paschoa Queiroz. D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2012. Longevidade de pimenta ornamental (*Capsicum annuum* L.) sob estresse de temperatura e luz. Orientador: Fernando Luiz Finger. Coorientadores: Elizanilda Ramalho do Rêgo e Raimundo Santos Barros.

Alguns fatores pós-produção se caracterizam por serem verdadeiros entraves na comercialização dos produtos hortícolas, afetando diretamente a exuberância e qualidade das plantas, e, conseqüentemente gerando depreciação do produto pelo consumidor. Além de avaliar a ação dos fatores luz e temperatura sobre a longevidade foliar das plantas de pimenta ornamental (*Capsicum annuum* L.), estudando os mecanismos de proteção e a eficácia do 1-MCP (1-metilciclopropeno) em minimizar os efeitos produzidos pelos estresses no transporte, objetivou-se também estudar o comportamento de duas variedades de pimenta ornamental com diferente pigmentação foliar, como forma de caracterizar as principais estratégias fisiológicas envolvidas na tolerância às condições estressantes provocadas pelo transporte. Os tratamentos do primeiro experimento foram: simulação de transporte das plantas no escuro (TE) e à luz (TL); simulação de transporte com plantas tratadas previamente com 1-MCP e que permaneceram no escuro (ME) e à luz (ML). Em todos os tratamentos, as plantas permaneceram à temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por um período de 48 h. O 1-MCP foi aplicado às plantas à concentração $1 \mu\text{L L}^{-1}$ em recipientes de 90 L por 6 horas antes de serem transferidas para câmaras para aplicação dos tratamentos descritos anteriormente. No segundo experimento, foi comparado o comportamento das mesmas variedades, de pigmentação diferente, em resposta ao estresse térmico ($35 \pm 2^\circ\text{C}$) à luz sob condições normais de temperatura em ambiente interno ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). A temperatura de 35°C provocou abscisão foliar das plantas de pimenta ornamental, decorrente do aumento da produção e/ou sensibilidade de etileno pelas plantas nessa condição. Com aplicação do 1-MCP, houve inibição drástica da queda foliar de ambas variedades de pimentas ornamentais quando expostas a alta temperatura. A resposta ao 1-MCP em inibir os efeitos do etileno dependeu da variedade e das condições de luminosidade as quais as plantas foram submetidas. A temperatura de 35°C não afetou a integridade das membranas foliares das plantas de ambas as variedades de pimenta ornamental. Apenas as plantas da variedade BGH 1039 nas quais não se aplicou 1-MCP e que permaneceram à luz, as membranas celulares foram danificadas. O 1-MCP aplicado em

plantas de BGH 1039, à luz, foi capaz de induzir a produção de carotenóides e aumentar a concentração de clorofilas totais nos melhores tratamentos (ML e ME) das plantas das variedades BGH 1039 e Roxa, respectivamente. Além da abscisão foliar, a temperatura de 35°C foi suficiente para provocar redução da coloração verde das folhas das plantas da variedade BGH 1039, no escuro. O período de 48 h a 35°C reduziu a concentração de amido nas folhas de pimenta ornamental. Essas condições favorecem o acúmulo de açúcar não redutor nas folhas das plantas cujos tratamentos provocaram maior taxa de abscisão foliar (TE e TL para as variedades BGH 1039 e Roxa respectivamente), indicando o estado senescente das folhas. A manutenção da qualidade pós-produção em pimentas ornamentais, visando reduzir os efeitos deletérios decorrente do transporte em condições estressantes, pode ser obtida com trabalhos de melhoramento, selecionando variedades que apresentam maior concentração de antocianinas e um eficiente sistema antioxidativo.

ABSTRACT

CAVATTE, Rithiely Paschoa Queiroz. D. Sc. Universidade Federal de Viçosa, março, 2012. **Longevity of ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.) under temperature and light stresses**. Adviser: Fernando Luiz Finger. Co-advisers: Elizanilda Ramalho do Rêgo and Raimundo Santos Barros.

Some post production factors are obstacles for the commercialization of horticultural products, affecting directly the colorfulness and quality of plants, depreciating the final quality of the product. In addition to evaluate the light and temperature action on the leaf longevity of ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.), analyzing the mechanisms of protection and efficacy of 1-MCP (1-methylcyclopropene) to reduce the effects of the stresses during transport, this experiment studied the behavior of two ornamental peppers under stress. In the first experiment it was simulated the transportation of the plants on the dark (DT) and with light (LT); shipping of the plants previously treated with 1-MCP under dark (DM) and light (LM). In all the treatment the plants were kept at $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 48 hours. The 1-MCP was applied at concentration of $1 \mu\text{L L}^{-1}$ withing a 90 L container for 6 hours. In the second experiment, it was compared the responses of the two varieties under light at temperatures of 35°C and normal temperature of 25°C . The temperature of 35°C induced leaf abscission on the plants by increasing the ethylene production and/or sensitivity. The use of 1-MCP drastically reduced the leaf abscission in both varieties when exposed to high temperature. The response to the 1-MCP was dependent on the variety and light conditions in which the plants were maintained. The temperature of 35°C did not affect the leaf membranes integrity in both varieties. Only in the plants of the variety BGH 1039 without 1-MCP treatment under light there was membrane damage. The 1-MCP applied to BGH 1039 plants kept under light was able to induce carotenoid synthesis and increase the concentration of total chlorophyll on the treatments DM and LM for the BGH 1039 and Roxa, respectively. In addition to the leaf abscission, the temperature of 35°C reduced the green color of the leaves in the BGH 1039 kept under dark. The period of 48 hours at 35°C reduced the starch level in the leaves of the plants. These conditions favored the accumulation of non-reducing sugars in the plants with higher leaf abscission (DT and LT for the BGH 1039 and Roxa), indicating induction of senescence. In order to keep the post production quality of the ornamental pepper kept under stress, it is necessary to breed

and select varieties with higher concentration of anthocyanins and efficient anti oxidative response system.

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

- Figura 1** - Abscisão foliar em plantas das variedades BGH 1039 e Roxa respectivamente, tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h de transporte, a 35°C.- 14 -
- Figura 2** - Abscisão foliar em plantas tratadas com 1-MCP na luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e na luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.- 15 -
- Figura 3** - Abscisão floral em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.- 17 -
- Figura 4** - Índice SPAD em plantas tratadas (ME e ML) ou não tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte a 35°C.....- 18 -
- Figura 5** - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.....- 20 -
- Figura 6** - Atividade da enzima peroxidase (POD) em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte a 35°C.....- 23 -
- Figura 7** - Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APx) em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.- 24 -
- Figura 8** - Atividade da enzima catalase em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.- 25 -
- Figura 9** - Concentração de peróxido de hidrogênio em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.....- 27 -

Figura 10 - Extravasamento de eletrólitos em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.	28 -
Figura 11 - Concentração de carotenóides em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.	30 -
Figura 12 - Concentração de clorofila <i>a</i> em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.	32 -
Figura 13 - Concentração de clorofila <i>b</i> em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.	33 -
Figura 14 - Concentração de clorofila total em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.	34 -
Figura 15 - Percentagem de amido em plantas tratadas em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.	36 -
Figura 16 - Percentagem de açúcares solúveis totais (AST) em plantas tratadas em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.	37 -
Figura 17 - Percentagem de açúcar redutor (AR) em plantas tratadas em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.	38 -
Figura 18 - Percentagem de açúcar não redutor (ANR) em plantas tratadas em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.	39 -

Figura 19 - Percentagem de amido, açúcares redutor (AR) e açúcares não redutor (ANR) em plantas submetidas a uma condição de transporte por 48 h a 35°C no escuro (TE) e na luz (TL) das variedades BGH 1039 e Roxa respectivamente.- 40 -

Figura 20 - Plantas de pimenta ornamental, variedade BGH1039 (folhas com coloração verde) à direita e Roxa (folhas com coloração verde-roxa) à esquerda, utilizadas no experimento.- 53 -

Figura 21- Relação entre a concentração de antocianinas (mg g^{-1} MF) e abscisão foliar (%) em folhas de duas variedades de pimenta ornamental [BGH 1039 (círculos) e Roxa (losangos)] sob condição parcial de transporte.- 67 -

Capítulo II

Tabela 1: Parâmetros derivados das curvas $A \times \text{RFA}$ [rendimento quântico aparente (α), irradiância de compensação (I_c); irradiância saturada (I_s), taxa de assimilação de carbono máxima ($A_{\text{máx}}$) e respiração no escuro (R_d)] de duas variedades de pimenta ornamental (BGH 1039 e Roxa).- 60 -

Tabela 2: Parâmetros de trocas gasosas [taxa de assimilação líquida de carbono (A), condutância estomática (g_s) e concentração intercelular de CO_2 (C_i)] de fluorescência da clorofila a [eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m), rendimento quântico do FII (ϕ_{FSII}), coeficiente de dissipação não-regulada de energia do FSII (NPQ) e taxa de transporte de elétrons (TTE)] em folhas de duas variedades de pimenta ornamental sob condições ambiente (Controle) e simulando uma condição parcial de transporte (Transporte).- 62 -

Tabela 3: Concentração de pigmentos (mg g^{-1} MF) e de nitrogênio (% na MS) em folhas de duas variedades de pimenta ornamental sob condições ambiente (Controle) e simulando uma condição parcial de transporte (Transporte).- 65 -

Tabela 4: Atividade de enzimas do sistema antioxidativo ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) [dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbado (APX), peroxidases (POD)] e concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em folhas de duas variedades de pimenta ornamental sob condições ambiente (Controle) e simulando uma condição parcial de transporte (Transporte).- 66 -

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Pimenta ornamental: Produção e comercialização

O Brasil produz hoje aproximadamente 900 milhões de unidades de flores e plantas ornamentais e o setor emprega cerca de oito mil produtores. Os principais estados produtores são São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. São Paulo é responsável por 75% da produção de flores e plantas ornamentais e por mais de 50% do consumo nacional. Ao todo, 95% são destinadas ao consumo interno e 5% seguem para países como Estados Unidos, União Européia e Japão. Em 2011, foram comercializadas 47 mil toneladas de flores e plantas em vaso, quase o dobro do que se comercializou no ano anterior, graças ao aumento da oferta em supermercados e grandes redes comerciais, como os Garden Centers que estimulam o comércio das plantas ornamentais. A perspectiva é de que as flores fiquem mais baratas e acessíveis (MAPA, 2011).

As espécies do gênero *Capsicum* vêm sendo empregadas para diferentes fins, possuindo excelente potencial para a comercialização como plantas ornamentais de vaso. As folhas e frutos apresentam tamanhos, colorações e formatos variáveis. A coloração dos frutos maduros, geralmente, é vermelha, variando desde o amarelo-leitoso, amarelo-forte, alaranjado, salmão, vermelho, roxo e preto. A estética e

exuberância destas plantas determinam o sucesso de utilização como ornamentais, principalmente na decoração de ambientes internos.

As pimentas ornamentais são bastante populares na Europa, devido a diversidade de cores dos frutos, as plantas vem cada vez mais ganhando espaço nos Estados Unidos e no Brasil. O comércio em feiras livres e alguns supermercados vem dando lugar a um cenário mais refinado, com consumidores de maior poder aquisitivo comprando em floriculturas (Rêgo *et al.*, 2011). Entretanto, ainda existem sérios entraves que afetam a qualidade e a vida útil de plantas ornamentais em vaso, ou seja, a fase pós-produção dessas plantas, A sensibilidade ao etileno é um dos fatores mais importantes que determina a qualidade das plantas. A exposição ao etileno ocorre principalmente durante o transporte e comercialização, quando as plantas são submetidas a várias situações de estresse como baixa luminosidade e altas temperaturas (Hoyer, 1996).

1.2 Efeito do etileno na comercialização das plantas ornamentais

A combustão interna dos motores, a produção de etileno do material vegetal (vivo ou em decomposição) e os fermentos dos produtos transportados são fontes de etileno durante o transporte (Liou & Miller, 2011). A concentração de etileno no ar circundante produzido pela exaustão de gases ou por frutas maduras pode causar efeitos nas plantas, como abscisão de folhas, flores e frutos, murchamento, seca do botão, entre outros. A ação do etileno é dependente de fatores como o tempo de exposição, temperatura, estágio de desenvolvimento, sensibilidade da espécie ou variedade (Hoyer, 1996; Cerqueira *et al.*, 2007; Rêgo *et al.*, 2011).

O etileno é um hormônio vegetal gasoso associado às respostas a diferentes estresses (Bradford & Yang, 2008; Chen *et al.*, 2008; Argueso *et al.*, 2007; Barbosa *et al.*, 2005; Taylor & Whitelaw, 2001). Geralmente, a taxa de produção de etileno pelas células aumenta com a maturação, as injúrias físicas, a incidência de doenças, o aumento da temperatura e o estresse hídrico. Em diversas espécies ornamentais, o etileno exerce importante papel na aceleração da senescência, resultando na deterioração dos tecidos e conseqüente redução da vida pós-colheita. A resposta do tecido vegetal ao etileno pode ser acompanhada pela indução autocatalítica da síntese do próprio hormônio, ou seja, a exposição do tecido ao etileno estimula a própria

biossíntese, devido ao aumento da expressão das enzimas sintase e oxidase do ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) (Argueso *et al.*, 2007; Almasi *et al.*, 2012).

O mecanismo de percepção do etileno consiste na ligação em uma molécula receptora, a proteína ETR1, que possui um sítio de ligação desse fitormônio. Sua ativação se dá por dois possíveis passos: o próprio receptor ativa o fitormônio ou, o que parece mais provável, uma via de sinalização formada por mensageiros vão ao núcleo da célula e induzem a expressão gênica. Conseqüentemente, a formação de novos mRNAs e novas proteínas que desencadeiam uma série de respostas inerentes ao etileno. Partindo desse princípio, o bloqueio da ligação do etileno ao seu receptor, pode reduzir a produção e ação do hormônio, diminuindo e/ou retardando os seus efeitos na planta (Binder, 2008).

Comumente os produtos agrícolas são expostos ao etileno, já que o mesmo é sintetizado pelas plantas, ou também por ficarem próximos a outras fontes de etileno ou de seus análogos. Ainda outros agentes externos podem aumentar ainda mais a concentração de etileno num determinado ambiente, tais como alta temperatura, déficit hídrico, fungos, ferimentos entre outros. Segundo Kannevorff & Van Der Plas (1994), o aumento da temperatura fez com que bulbos de tulipas produzissem 2,5 vezes mais de etileno. Em *Kalanchoë blossfeldiana* Poelln (flor da fortuna), a sensibilidade ao etileno variou entre cultivares e a abscisão floral foi influenciada pelo tempo de exposição (após 24 h de exposição ao etileno plantas tiveram murcha e senescência floral irreversíveis) (Serek & Reid, 2000).

1.3 Antocianinas

Freqüentemente, encontradas em flores, folhas e frutos as antocianinas, compostos derivados a partir de flavonóides, conferem a essas plantas uma grande diversidade de cores, contribuindo para aumentar seu poder como ornamental. Entretanto, estudos vem demonstrando que o armazenamento pode gradualmente reduzir o teor de antocianinas em flores de *Patumma*, e reduzindo a vida útil dessas flores (Chutichudet *et al.*, 2011).

Segundo Craker (1971), a taxa de formação ou degradação de antocianina em tecido de sorgo mostrou-se dependente do tempo de exposição ao etileno, em relação à

exposição à luz e da fase do processo de síntese antocianina. Almasi *et al.*, (2012) observaram que o tempo para a senescência das flores de alguns híbridos de orquídea é diferente e uma das principais razões para essa variação na vida de vaso pode estar relacionada com diferenças de nível de sensibilidade de etileno, em que, o híbrido sensível ao etileno apresentou epinastia máxima, perda de peso e degradação de antocianina em sépalas e pétalas.

Papéis importantes são atribuídos às antocianinas: são capazes de reduzir o efeito adverso das espécies reativas ao oxigênio, atuando como antioxidantes (Wang *et al.*, 1997); contribuem para ajustamento osmótico em condições de deficiência hídrica, frio e fotoproteção.

1.4 Conservação das plantas com o uso do 1-MCP

O 1-metilciclopropeno (1-MCP) é um composto volátil, que tem demonstrado ser um potente inibidor da ação do etileno (Serek *et al.*, 1995; Segatto, 2007), é eficiente em reduzir a produção e bloquear a ação do etileno em diversas espécies de flores, frutos e hortaliças. A utilização de inibidores da ação geralmente é mais eficaz do que a dos inibidores da síntese, pois bloqueiam o efeito do etileno da atmosfera de armazenamento (Santos *et al.*, 2005). O 1-MCP se liga ao sítio de ligação do etileno na célula, evitando, por certo tempo, a ação do mesmo nos processos fisiológicos do amadurecimento e senescência. A sensibilidade ao etileno pode ser retomada pela síntese de novos sítios de ligação (Blankenship & Dole, 2003).

1.5 A importância da luz e temperatura na comercialização das plantas ornamentais

Muitos são os tipos de estresses que os vegetais podem enfrentar como oscilações drásticas de temperatura, umidade, radiação solar, ataque de pestes ou patógenos, dentre outros. As plantas conseguem alterar a constituição de compostos moleculares, como mecanismo de resposta e muito dos efeitos podem estar diretamente relacionados com defesa e proteção das plantas (Shewry & Lucas, 1997; de Wit, 2007).

A intensidade luminosa na qual a fixação de CO₂ é exatamente igual à liberação pela respiração, é conhecida como ponto de compensação de luz, o qual depende da espécie e das condições ambientais. Assim como os demais processos de crescimento, a

fotossíntese é fortemente afetada pela temperatura. As variações de temperatura compreendidas entre 10 e 35°C provocam mudanças consideráveis nas taxas fotossintéticas (Berry & Björkman, 1980). Segatto (2007) descreve que as plantas de pimenta ornamental possuem diferentes pontos de compensação de luz, e que as condições de ambiente interior às quais essas plantas normalmente são expostas estão próximas a seus pontos de compensação de luz, contudo o fator temperatura não foi levado em consideração.

Os estudos sobre os fatores que afetam a pós-produção de plantas ornamentais são escassos. Conhecer os efeitos das condições de transporte sobre a qualidade e durabilidade comercial das plantas envasadas dá suporte à busca de medidas eficazes para aumentar-se a longevidade das plantas ornamentais em vaso, e ainda permitem investigar a ação de fatores como luz e temperatura em ornamentais do gênero *Capsicum*.

Tendo em vista todos os entraves presentes na comercialização de pimentas ornamentais, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação da luz e da temperatura na longevidade foliar das plantas, estudar os mecanismos de proteção desenvolvidos em resposta às condições estressantes e verificar a eficácia do 1-MCP em minimizar os efeitos produzidos pelos estresses na fase de pós-produção das plantas.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almasi, P.; Mohamed, M. T. M.; Ahmad, S.H., Kadir, J.; Mirshekari, A. Postharvest responses of cut *Dendrobium* orchids to exogenous ethylene. **African Journal of Biotechnology** 11(16): 3895-3902, 2012.
- Argueso, C. T.; Hansen, M.; Kieber, J. J. Regulation of ethylene biosynthesis. **Journal of Plant Growth Regulation** 26: 92-105, 2007.
- Backes, C.; Fernandes, F. M.; Krohn, N. G; Lima, C. P.; Kiihl, T. A.M. Produção de pimenta ornamental em função de substratos e doses de adubação com fertilizantes de liberação lenta e tradicional **Scientia Agraria Paranaensis** 6: 67-76, 2007.
- Barbosa, J. G; Tavares, A. R. R.; Finger, F. L.; Leite, R. de A. Vida de prateleira de minicrisântemos em vaso tratados com tiosulfato de prata **Bragantia** 4: 673-678, 2005.
- Berry J.A.; Björkman. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology** 31: 491-543, 1980.
- Binder, B. M. The ethylene receptors: Complex perception for a simple gas. **Plant Science** 175: 8-17, 2008.
- Blankenship, S. M.; Dole, J. M. 1-Methylcyclopropene: a review. **Postharvest Biology and Technology** 28: 1-25, 2003.
- Bradford, K. J.; Yang, S. F. Pioneer in plant ethylene biochemistry. **Plant Science** 175:2-7, 2008.
- Cerqueira-Pereira E. C; Pereira, M. A; Mello, S. C; Jacomino, A. P.; Trevisan M. J.; Dias, C. T. Effect of the application of ethylene on the postharvest quality of red and yellow bell peppers fruits **Horticultura Brasileira** 25, 2007.
- Chen, Y. T.; Chen, L. F. O.; Shaw, J. F. Senescence-associated genes in harvested broccoli florets. **Plant Science**, 175: 137-144, 2008.
- Chutichudet, P.; Chutichudet, B. .; Boontiang, K. Influence of 1-MCP fumigation on flowering weight loss, water uptake, longevity, anthocyanin content and colour of

- patumma (*Curcuma alismatifolia*) cv. Chiang Mai Pink. **International Journal of Agricultural Research** 6: 29-39, 2011.
- Craker, L.; Estandley, L. A.; Starbuck, M. J. Ethylene control of anthocyanin synthesis in sorghum. **Plant Physiology** 48: 349-352 1971.
- De Wit, P.J. How plants recognize pathogens and defend themselves. **Cellular and Molecular Life Science**, In Press. DOI.10.1007/s00018-007-7284-7, 2007.
- Hoyer, L. Critical ethylene exposure for *Capsicum annuum* “Janne” is dependent on an interaction between concentration, duration and developmental stage. **Journal of Horticultural Science** 71: 621-628, 1996.
- Kanneworff, W.A.; Plas, L.H.W. van der. Respiration of bulb scale fragments of tulip after storage at 5°C. **Plant Science**, 104: 31-38, 1994.
- Liou, S.; Miller, W. B. Factors affecting ethylene sensitivity and 1-MCP response in tulip bulbs. **Postharvest Biology and Technology** 59: 238-244, 2011.
- MAPA. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/noticias/2011/12/venda-de-flores-registro-aumento-no-fim-de-ano>. Acesso em 17 de fevereiro de 2012.
- Nakano Y.; Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology** 22: 867-880, 1981.
- Porat, R.; Halevy, A.H.; Serek, M.; Borochoy, A. An increase in ethylene sensitivity following pollination is the initial event triggering an increase in ethylene production and enhanced senescence of *Phalaenopsis* orchid flowers. **Physiologia Plantarum** 88: 243-250, 1995.
- Rêgo, E.R.; Finger, F.L.; Nascimento, M. F.; Barbosa, L. A. Santos, R.M.C. Pimentas ornamentais. In: **Produção Genética e melhoramento de pimentas (*Capsicum spp.*)**. 2011, 205-223p.
- Santos, V. R. dos; Finger, F. L.; Barbosa, J.G.; Barros, R.S. Influência do etileno e do 1-MCP na senescência e longevidade das inflorescências de esporinha. **Bragantia** 64: 33-38, 2005.

- Segatto, F. B. **Avaliação da qualidade “pós-produção” de pimenta ornamental (*Capsicum annuum* L.) cultivada em vaso.** Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa, 2007. 88 p.
- Shewry, P.R.; Lucas, J.A. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. advances in botanical research incorporating advances. **Plant Pathology**, 26:135-192, 1997.
- Serek, M.; Sisler, E.C.; Reid, M.S. 1-methylcyclopropene, a novel gaseous inhibitor of ethylene action, improves the life of fruit, cut flowers and potted plants. **Acta Horticulturae** 394:337-345, 1995.
- Serek, M.; Reid, M. Ethylene and postharvest performance of potted kalanchoë. **Postharvest Biology and Technology**, 18: 43-48, 2000.
- Silva D. F.; Rego, E. R.; Rego, M. M.; Santos, R. M. C. dos; Sapucay, M. J. C.; Silva, D. R. da; Silva Júnior, S. J. da; Silva, E. B. **Avaliação da longevidade em vaso de pimenteiras ornamentais (*Capsicum spp.*)** In: XV ENIC/UFPB, 2007. Anais.
- Stommel, J.R.; Bosland, P.W. Ornamental pepper, *Capsicum annuum*. In: Anderson, N. **Flower Breeding and Genetics: Issues, Challenges and opportunities for the 21st Century.** Netherlands: Springer. 2006, p. 561-599.
- Taylor, J.E.; Whitelaw, C.A. Signals in abscission. **New Phytologist** 151: 323–339, 2001.
- Wang, H.; Cao, G.; Prior, R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 45: 304-309, 1997.

CAPÍTULO I

EFEITO DE ALTA TEMPERATURA E DA LUZ NA PÓS-PRODUÇÃO DE PIMENTA ORNAMENTAL

RESUMO

Comumente os produtos agrícolas são expostos a condições que favorecem ao acúmulo de etileno no ar circundante, causando diversos efeitos que comprometem a vida útil das plantas comercializadas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a ação dos fatores luz e temperatura na longevidade foliar das plantas de pimenta ornamental, estudando os mecanismos de proteção e a eficácia do 1-MCP em minimizar os efeitos produzidos pelos estresses no transporte. As plantas de pimenta ornamental das variedades BGH 1039 e Roxa foram submetidas aos seguintes tratamentos: simulação de transporte das plantas no escuro (TE) e à luz (TL); simulação de transporte com plantas tratadas previamente com 1-MCP e que permaneceram no escuro (ME) e à luz (ML). Em todos os tratamentos, as plantas permaneceram à temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por um período de 48 h. O 1-MCP foi aplicado às plantas à concentração $1 \mu\text{L L}^{-1}$ em recipientes de 90 L por 6 horas antes de serem transferidas para câmaras para aplicação dos tratamentos descritos anteriormente. O 1-MCP na concentração de $1 \mu\text{L L}^{-1}$ foi aplicado em plantas em recipientes de 90 L por 6 horas antes de serem transferidas para câmaras para aplicação dos tratamentos descritos anteriormente. A temperatura de 35°C provoca abscisão foliar das plantas de pimenta ornamental, tendo em vista o aumento da produção e/ou sensibilidade de etileno pelas plantas nessa condição. O uso do composto 1-MCP inibiu drasticamente a queda foliar das pimentas ornamentais expostas a alta temperatura. A resposta das plantas ao 1-MCP de inibir os efeitos do etileno depende da variedade e das condições de luminosidade as quais as plantas foram submetidas. A temperatura de 35°C não afetou a integridade das membranas foliares das plantas de ambas as variedades de pimenta ornamental. Apenas as plantas da variedade BGH 1039 nas quais não se aplicou 1-MCP e que permaneceram à luz, as membranas celulares foram danificadas. O 1-MCP aplicado em plantas de BGH 1039 à luz foi capaz de induzir a produção de carotenóides e aumentar a concentração de clorofilas totais nos melhores tratamentos (ML e ME) das plantas das variedades BGH 1039 e Roxa, respectivamente. Além da abscisão foliar, a temperatura de 35°C provocou redução da coloração verde das folhas das plantas da variedade BGH 1039, no escuro. O período de

48 h a 35°C reduziu a concentração de amido nas folhas de pimenta ornamental. Essas condições favoreceram o acúmulo de açúcar não redutor nas folhas das plantas cujos tratamentos exibiram maior taxa de abscisão foliar (TE e TL para as variedades BGH 1039 e Roxa respectivamente), indicando estado senescente. O estresse térmico a 35°C, independentemente da luminosidade, também ativou o mecanismo de defesa antioxidativa das plantas estudadas.

1. INTRODUÇÃO

O mercado mundial de plantas ornamentais se caracteriza por requerer um investimento constante de recursos na busca do aprimoramento de características comerciais desejáveis. No Brasil, não há uma estrutura adequada de transporte e distribuição que se espera para atender o exigente mercado interno. Na comercialização das plantas de pimenta ornamental, as folhas amarelas ou secas na base das plantas são considerados defeitos graves, já que depreciam a aparência e desvalorizam a qualidade do produto, sugerindo que o produto passa ter sua comercialização comprometida ao longo da cadeia (IBRAFLOR, 2011).

Na cadeia de suprimento nacional de flores e plantas ornamentais ocorrem importantes pontos de estrangulamento, como uso de depósitos inadequados, ausência de câmaras frias, utilização de caminhões sem isolamento térmico, ventilação e iluminação, gerando condições de elevada temperatura (Junqueira & Peetz, 2008). O transporte, então, é um dos principais fatores que influenciam a qualidade e longevidade das plantas. Não obstante, o transporte de flores e plantas ornamentais, em muitos casos, é realizado junto com hortaliças e frutos, aumentando, com isso, a concentração de etileno no interior dos caminhões. O tempo médio de transporte das principais regiões produtoras, Sul e Sudeste, via terrestre, para abastecimento de regiões como Pará, Estados do Mato Grosso, Tocantins, Maranhão e Piauí, é de 36 a 48 horas. Mesmo com uso de caminhões refrigerados, esses são geralmente abertos durante o trajeto,

quebrando a cadeia do frio, gerando problemas fisiológicos, como abscisão, amarelecimento da folhagem, além da ocorrência de doenças fúngicas e bacterianas (Junqueira & Peetz, 2002).

O etileno é um hormônio gasoso sintetizado a partir oxidação de ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), é produzido em baixas concentrações e pode por sua vez, reduzir as taxas fotossintéticas indiretamente, causar a senescência foliar prematura e induzir o aborto de frutos e flores. Entretanto, o impacto do etileno e seu subsequente efeito sobre os processos fisiológicos em pimenta ornamental ainda não são claramente entendidos.

Antunes & Sfakiotakis (2000), trabalhando com frutos de kiwi submetidos ao propileno (produto análogo ao etileno), observaram aumento no conteúdo do ACC e da atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, após 48 horas sob tratamentos com temperaturas acima de 30°C, assim, aumentou a produção de etileno. Entretanto, em temperaturas acima de 38°C a produção de etileno foi pequena. O estresse sob alta temperatura aumentou a produção de etileno em trigo (*Triticum aestivum* L.), causando senescência foliar, aborto e redução do peso dos grãos (Hays *et al.*, 2007).

Segatto (2007), avaliando quatro cultivares de pimenta ornamental observou que as plantas variavam quanto ao grau de sensibilidade ao etileno. Entretanto, existe relação direta entre idade da planta e sensibilidade ao etileno. Quanto mais velho o tecido, menores são as concentrações de etileno necessárias para desencadear o processo de senescência (Lim *et al.*, 2007; Sakamoto *et al.*, 2008). Em mini-rosas, as plantas expostas ao etileno exibiram abscisão acelerada de folhas, botões e flores, contudo, não houve diferenças significativas na sensibilidade e resposta ao etileno entre as cultivares (Müller, 1998).

A vida pós-colheita de muitas espécies de plantas ornamentas pode ser prolongada pelo uso de compostos que inibem a síntese ou ação de etileno (Serek & Reid, 1993). O 1-metilciclopropeno (1-MCP) é um composto que se tem mostrado um potente inibidor da ação do etileno (Serek *et al.*, 1995). Sua formulação em pó, quando em contato com água morna, libera o ingrediente ativo o qual se liga fortemente ao sítio de ligação do etileno, evitando assim que sua ligação e ação ocorram. Dentre as resposta esperadas da aplicação do 1-MCP estão o aumento da qualidade e durabilidade das

plantas, a prevenção da degradação da clorofila e redução da atividade da peroxidase e da clorofilase (Chen *et al.*, 2008).

Segundo alguns autores, o 1-MCP retarda a senescência de flores cortadas e de plantas envasadas, quando aplicado em baixíssimas concentrações (Serek *et al.*, 1994; Porat *et al.*, 1995; Sisler *et al.*, 1996; Serek & Sisler, 2001). Entretanto, aplicações de 100 e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP não se mostraram capazes em retardar o processo de murcha e senescência dos capítulos de *Áster spp.* (Ferronato, 2001). Entretanto, Segatto (2007) descreve que a aplicação de 1-MCP, antes da exposição ao etileno, foi eficiente em bloquear a ação do etileno em quatro variedades de pimenta ornamental cultivadas em vaso. Todavia, seus estudos não levaram em consideração os efeitos da alta temperatura que normalmente essas plantas são expostas durante o transporte.

Segundo Djanaguiraman & Prasad (2011), o estresse por alta temperatura (38°C) em soja, aumenta a taxa de produção de etileno em folhas, flores e vagens, causando a senescência foliar prematura, abscisão de flores e vagens. Nessas plantas, a aplicação de 1-MCP reduziu a produção de etileno, atrasou a senescência foliar, diminuiu a abscisão floral e contribuiu para aumentar o percentual de vagens fixadas. Cameron & Reid, (2001) observaram que a abscisão das pétalas de gerânio dependia do estágio de desenvolvimento floral, e que o efeito do 1-MCP em retardar a abscisão floral foi melhor à temperatura de 12°C, em comparação com temperaturas de 21 e 25°C. Em bulbos de tulipas, os efeitos provocados pelo etileno dependeram fortemente do tempo de exposição ao etileno e da cultivar. As variedades sensíveis ao etileno foram protegidas pelo 1-MCP. Em variedades não sensíveis, o etileno não mostrou qualquer efeito e também não apresentou resposta ao 1-MCP (Liou & Miller, 2011).

Larrigaudiere *et al.*, (2004) sugeriram que o etileno esteve envolvido na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma espécie reativa de oxigênio, que pode atuar inicialmente como molécula sinalizadora de defesa em plantas. Uma série de outras espécies reativas, bem como diversas enzimas antioxidativas, são moduladas frente a determinado estresse com o objetivo de contorná-lo. Possivelmente, uma interação íntima entre moléculas sinalizadoras seja o cenário mais real. Existem diversas peças envolvidas na indução de resposta de defesa vegetal contra muitos estresses que devem ser averiguadas (Soares & Machado, 2007). Os estudos dos impactos da temperatura, do etileno e do 1-MCP sobre

a produção de EROs e sobre as enzimas antioxidantes, como dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD) são limitados e precisa de atenção (Djanaguiraman & Prasad, 2011).

Os mecanismos desintoxicadores das EROs são de origem tanto enzimática como não-enzimática, que se encontram em diferentes compartimentos celulares (cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos). Nos enzimáticos estão incluídas: as enzimas superóxido dismutase, a qual catalisa a reação de dismutação do radical O_2^- em H_2O_2 ; as enzimas do ciclo ascorbato-glutationa, como a ascorbato peroxidase (APX) que remove o H_2O_2 produzido pela SOD e a catalase (CAT), cuja função, também, é a remoção do H_2O_2 , formando água e oxigênio.

Acumulação de EROs aumenta a peroxidação de lipídios de membrana, o dano à membrana do cloroplasto e desnaturação de biomoléculas, levando à diminuição da fotossíntese e morte celular (Djanaguiraman *et al.*, 2009; Liu & Huang, 2000; Noctor & Foyer, 1998). Segundo Djanaguiraman & Prasad, (2011) e Mates (2000), o acúmulo de EROs pode diminuir a atividade das enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD), que protegem as células dos danos oxidativos. A enzima superóxido dismutase é a eficiente na limpeza do O_2^- , enquanto o H_2O_2 pode ser degradado diretamente pela catalase ou pela peroxidase em presença de um redutor.

Peroxidasas (POD) são oxiredutases que oxidam fenóis em presença de peróxido de hidrogênio resultando em quinona e água. Peroxidase parcialmente purificada em pimenta vermelha se mostrou menos termoestável do que peroxidases de cenoura, batata e morango (Serrano-Martínez *et al.*, 2008). De acordo com Sakamoto *et al.* (2008), o peróxido de hidrogênio esteve envolvido na sinalização da abscisão foliar *in vitro*, e essa abscisão foi inibida com o uso de ácido indol acético e com o uso de reguladores da ação e síntese de etileno. As peroxidases podem desempenhar função chave em vários processos relacionados a estresses, de várias naturezas, incluindo resistência a patógenos, abscisão (Diaz & Merino, 1998) e produção de etileno (Peyrano *et al.*, 1997).

O objetivo desse experimento foi avaliar os efeitos da temperatura e da luz na qualidade comercial, ação do etileno e o mecanismo de defesa antioxidativa das plantas de pimenta ornamental quando exposta a uma condição de transporte simulada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Generalidades

As plantas foram crescidas em casa de vegetação na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa/MG, (20° 45' 20" S e 42° 52' 40" W, 651 m de altitude). Foram utilizadas sementes da espécie *Capsicum annuum* L. das variedades BGH 1039 e Roxa, provenientes do Banco de Germoplasma do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa e da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) respectivamente. As sementes foram colocadas para germinar em bandeja de isopor contendo substrato comercial. Quando as plantas atingirem o estágio de três pares de folhas verdadeiras (aproximadamente 35 dias após a semeadura), foram transplantadas para vasos de 760 mL, com 10 cm de altura, 10 e 13 cm de diâmetro da base e da borda respectivamente.

Os tratos culturais: (i) remoção manual das plantas daninhas; (ii) Adubação foliar com Bioferti[®]; (iii) Adubação com 1,25 mg.vaso⁻¹ de sulfato de amônio e 0,625 mg.vaso⁻¹ de cloreto de potássio, via solo; (iv). As plantas foram desenvolvidas em casa de vegetação até atingirem ponto de comercialização, ou seja, 30% frutos maduros.

2.2 Tratamentos

Cada variedade foi analisada em experimentos separados. Após atingirem o ponto de comercialização descrito anteriormente, as plantas foram levadas para o laboratório pós-colheita da Universidade Federal de Viçosa, onde se procedia a aplicação dos seguintes tratamentos:

I) *Transporte/Escuro*: As plantas permaneceram dentro de uma câmara por 48 h, sob 35±2°C no escuro;

II) *Transporte/Luz*: As plantas permaneceram dentro de uma câmara por 48 h, sob 35±2°C à luz;

III) *Transporte/1-MCP/escuro*: As plantas tratadas previamente com 1-MCP permaneceram dentro de uma câmara por 48 h sob $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ no escuro.

IV) *Transporte/1-MCP/Luz*: As plantas tratadas previamente com 1-MCP permaneceram dentro de uma câmara por 48 h com temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ à luz.

As plantas tratadas com 1-MCP foram expostas ao produto dissolvido em água a 50°C , liberando o gás na concentração de $1\ \mu\text{L L}^{-1}$ (Segatto, 2007) em recipientes de 90 L, por 6 horas antes de serem colocadas a 35°C por 48 h. A luz utilizada no decorrer do experimento foi luz fluorescente de aproximadamente $18\ \text{mmol de fótons min}^{-1}$ e umidade relativa dentro da câmara foi de 60-65%. Não foi realizada a simulação de movimento do transporte nas plantas.

O delineamento experimental de cada experimento foi inteiramente ao acaso com quatro repetições, sendo cada repetição constituída de uma única planta. Posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste t pareado, a 5% de probabilidade.

2.3 Índice SPAD e abscisão foliar

Um dos parâmetros utilizados para determinar a qualidade das plantas é a intensidade de coloração verde das folhas, determinada com o aparelho SPAD-502 (Minolta Co. Japão). Para essa análise, três folhas foram escolhidas aleatoriamente de cada local da planta: base, centro e ápice antes e após aplicação dos tratamentos.

Outro parâmetro que mostra a durabilidade comercial das plantas é a percentagem da abscisão foliar. Para medir-se a senescência prematura das folhas, as plantas, ao chegarem da casa de vegetação, eram colocadas sobre a bancada do laboratório Pós-colheita do Departamento de Fitotecnia da universidade Federal de Viçosa, quando se procedia a contagem das folhas total de cada planta. Cada vaso era colocado em sacos plásticos antes da aplicação dos tratamentos. Após 48 horas, tempo que marca o final do experimento, era contado o número de folhas caídas no saco plástico e na base de cada planta.

2.4 Análises enzimáticas

Para a determinação da atividade das enzimas e de metabólitos, amostras foliares, foram coletadas antes (0 h) e após aplicação dos tratamentos (48 h), e o material foi congelado em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenado a -80°C .

Obtenção Dos Extratos Enzimáticos Brutos:

Os extratos enzimáticos brutos para as determinações das atividades da catalase (CAT), da peroxidase (POX), da ascorbato peroxidase (APX) e da superóxido dismutase (SOD) foram obtidos pela maceração de aproximadamente 0,3 g de tecido vegetal em N₂ líquido, seguida da adição de 2 mL do seguinte meio de homogeneização: tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (Peixoto *et al.*, 1999). Seguiu-se filtração através de quatro camadas de gaze e centrifugação a 12.000 g por, 15 min, a 4°C, obtendo-se o extrato enzimático bruto.

a. Determinação da atividade da catalase

A atividade da catalase foi determinada pela adição de 20 µL do extrato enzimático foliar em 880 µL de um meio de reação constituído de tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM (Havir & McHale, 1987 modificado). O decréscimo na absorbância a 240 nm, à temperatura de 25°C, foi medido durante o primeiro minuto de reação, sendo, a atividade da CAT determinada com base na inclinação da reta nos primeiros segundos, após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar do H₂O₂ 36 M⁻¹ cm⁻¹ (Anderson *et al.*, 1995) e o resultado expresso em µmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

b. Determinação da atividade da peroxidase

A atividade da peroxidase nos tecidos foliares foi determinada pelo método modificado de Kar & Mishra (1976). Alíquotas de 40 µL do extrato enzimático foram adicionadas a 780 µL de uma mistura de reação constituída de tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, guaiacol 20 mM e H₂O₂ 20 mM. O acréscimo na absorbância a 470 nm, à temperatura de 25°C, foi medido durante o primeiro minuto de reação, sendo a atividade da POD determinada com base na inclinação da reta nos primeiros segundos, após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se do coeficiente de extinção molar para o produto formado de 26,6 mM⁻¹ cm⁻¹ (Pereira *et al.*, 2012) e o resultado expresso em µmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

c. Determinação da atividade da ascorbato peroxidase

A atividade da ascorbato peroxidase foi determinada de acordo com o método de Nakano & Asada (1981), modificado por Koshiha (1993). Alíquotas de 30 μL do extrato enzimático foliar bruto foram adicionadas a 770 μL de um meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0, ácido ascórbico 0,8 mM e H_2O_2 1 mM. O decréscimo na absorbância a 290 nm, à temperatura de 25°C, foi medido durante o primeiro minuto de reação, sendo a atividade da APX determinada com base na inclinação da reta nos primeiros segundos, após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se do coeficiente de extinção molar do ascorbato de $2,8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Nakano & Asada, 1981) e o resultado expresso em $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ proteína.

d. Determinação da atividade da superóxido dismutase

A atividade da superóxido dismutase foi determinada pela adição de 30 μL do extrato enzimático bruto foliar a 2,97 mL de um meio de reação constituído de tampão fosfato sódio 50 mM, pH 7,8, contendo metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 μM , EDTA 0,1 mM e riboflavina 2 μM (Del Longo *et al.*, 1993). A reação foi conduzida a 25°C numa câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W mantida no interior de uma caixa fechada. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul produzida pela fotorredução do NBT foi medida a 560 nm (Giannopolitis & Ries, 1977). A absorbância a 560 nm, de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro, por igual tempo, serviu de “branco” e foi subtraído da leitura da amostra que recebeu iluminação. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade da enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (Beauchamp & Fridovich, 1971).

2.5 Peróxido de Hidrogênio

Para o meio extração, aproximadamente 0,150 g de amostra foliar em 2,5 mL tampão fosfato-Na 100 mM foram maceradas (pH 6,8) + PVPP 8 %, e após centrifugadas a 18000 g, por 20 minutos a 4°C. Em seguida, adicionaram-se a 790 μL do tampão fosfato-Na 100 μL do extrato, 100 μL de Guaiacol e 10 μL da enzima peroxidase purificada. Foi realizada a leitura imediata pelo espectrofotômetro a 410 nm. (Lee & Lee, 2000) modificado.

2.6 Teores de amido, açúcares solúveis totais, redutores e não redutores

Extração:

Para a extração dos açúcares, pesou-se cerca de 1 g de cada amostra etanol 80% a 65°C, por 30 min e armazenada a 4°C. O material foi triturado em *politron* e centrifugado três vezes. Após filtração em filtros de milipore, o sobrenadante foi retirado e o volume foi completado para 25 mL. O precipitado foi reservado para extração do amido.

Na quantificação dos açúcares solúveis totais foi empregado o método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). Para a confecção da curva, prepararam-se soluções padrões de sacarose (0, 20, 30, 40, e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$), e obteve-se a equação para uso posterior.

Para se obter melhor leitura no espectrofotômetro, em testes anteriores ao ensaio, determinou-se que as amostras seriam diluídas 10 vezes para quantificação de açúcar total e amido, e que para quantificarem-se os açúcares redutores as amostras não necessitaram de diluição.

O extrato utilizado na análise de açúcares redutores foi o mesmo utilizado nas quantificações de açúcares solúveis totais.

Ensaio - açúcares solúveis totais:

Em cada réplica, pipetaram-se 250 μL da amostra em tubo de ensaio e adicionaram-se 250 μL de fenol 5% e, em seguida, os tubos foram agitados em vortex. Após essa primeira etapa, acrescentaram-se 1,25 mL de H_2SO_4 concentrado e agitou-se. Posteriormente, os tubos foram deixados em banho-maria, por 20 min à temperatura de 30°C. Após banho-maria, os tubos foram novamente agitados e fez-se leitura da absorbância à 490 nm em espectrofotômetro. A partir do valor de absorbância, procederam-se os cálculos com as devidas correções nas diluições utilizadas e o resultado foi expresso em g de massa fresca (g MF^{-1}).

Amido

A partir do precipitado proveniente da extração de açúcares solúveis totais, o teor de amido foi determinado por meio da metodologia descrita por McCready *et al.*, (1950). O precipitado foi ressuspensão em ácido perclórico 52 %, agitado em turbilhador e deixado em repouso por 30 min, com agitações ocasionais e, em seguida, foi

centrifugado a 2000g por 10 min. O precipitado foi descartado e os sobrenadantes coletados em balão volumétrico e o volume completado para 25 mL com água destilada. Na quantificação do teor de amido, utilizou-se o mesmo método que para quantificação de açúcares solúveis totais, descrito anteriormente, sendo o resultado multiplicado pelo fator de 0,9.

Ensaio: Açúcares Redutores

A quantificação de açúcares redutores foi realizada pela metodologia de Somogy-Nelson (NELSON, 1944). Foram pipetados 0,2 mL do extrato em tubo de ensaio com tampa rosqueável e logo após, adicionados 0,2 mL do reagente de Nelson 4 (8 mL do reagente de Nelson 1 e 2 mL do reagente de Nelson 2). Agitou-se em tubos em Vortex e ferveu-se por 15 min. Após resfriamento, foram adicionados 0,2 mL do reagente de Nelson 5 (7mL do reagente H₂SO₄ 0,75M e 3,5 mL do reagente de Nelson 3) e agitou-se novamente. Foram adicionados, então, 0,6mL de água desionizada e, novamente, os tubos foram agitados. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro SHIMATZU modelo UV1601 no comprimento de onda de 540nm. Os valores obtidos foram comparados à curva padrão de glicose a 1% nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. O teor de açúcares redutores foi expresso em porcentagem de matéria fresca.

Açúcares não-redutores

Os teores de açúcares não-redutores foram obtidos pela subtração dos valores de açúcares redutores dos valores obtidos de açúcares solúveis totais e expressos em porcentagem de matéria fresca.

2.7 Danos celulares

Os danos celulares foram avaliados por meio da peroxidação de lipídios e pelo extravasamento de eletrólitos (Lima *et al.*, 2002). Os discos foliares foram previamente lavados (3 vezes) e postos para flutuar em frascos contendo 20 mL de água desionizada. A condutividade elétrica do líquido de suspensão foi lida em um condutivímetro após incubação por 6 h, à temperatura ambiente, sendo expressa em porcentagem da condutividade total que, por seu turno, foi obtida após colocarem-se os frascos contendo os discos foliares em estufa a 90°C, durante 2 h.

2.8 Clorofilas e carotenóides

Os níveis de clorofila e de carotenóides antes e após aplicação dos tratamentos foram determinados de acordo com o método descrito por Dere *et al.*, (1998) com modificações. As amostras foram provenientes de folhas completas sem o pecíolo e colocadas em nitrogênio líquido até serem armazenadas em freezer -80°C. Aproximadamente, uma média de 0,4 g da amostra foi pesada e macerada sob condições de baixa luminosidade. Os pigmentos foram extraídos dos tecidos foliares por maceração em almofariz com pistilo, contendo 2 mL de metanol 95%, classificado como um dos mais eficazes para a extração completa de clorofilas (Streit *et al.*, 2005). Após maceração e filtragem, o papel de filtro foi lavado com metanol e o volume foi ajustado em balão volumétrico de 25 mL. Foi realizada a leitura da absorvância em espectrofotômetro a 666, 653 e 470 nm.

As fórmulas usadas no cálculo dos níveis dos pigmentos, em mg g^{-1} de massa fresca, foram:

$$\text{Clorofila } a \text{ (Ca): } 15,65 A_{666} - 7,340 A_{653}$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (Cb): } 27,05 A_{653} - 11,21 A_{666}$$

$$\text{Clorofila totais: (Ca) + (Cb)}$$

$$\text{Carotenóides: } 1000 A_{470} - 2,860(\text{Ca}) - 129,2 (\text{Cb})/245$$

Dere *et al.*, (1998)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variedades estudadas responderam diferentemente aos tratamentos aplicados. As Figuras 1A e 1B é uma representação da resposta das variedades BGH 1039 e Roxa, respectivamente. A variedade Roxa foi classificada como menos sensível ao etileno que a variedade BGH 1039, esta última perde a maioria de suas folhas mesmo se exposta a pequenas concentrações do regulador de crescimento (Segatto, 2007). Hoyer (1995), observou em plantas de *Radermachera sinica*, que quanto maior a temperatura e maior a concentração do etileno, mais rapidamente ocorre a abscisão foliar. Antunes & Sfakiotakis (2000), trabalhando com frutos de Kiwi, observaram que a aplicação de propileno a temperaturas superiores a 30°C, faz aumentar a produção de etileno e o amadurecimento dos frutos.

Os resultados desses experimentos sugerem a ocorrência de aumento da produção e/ou sensibilidade ao etileno por temperatura considerada alta para as plantas em geral como de 35°C, por exemplo, já que o uso do inibidor da ação do etileno 1-MCP foi eficiente para reduzir drasticamente a queda prematura das folhas. Observa-se, na Figura 2A, que a exposição das plantas da variedade BGH 1039 a 35°C, e a permanência delas no escuro (TE), foram condições suficientes para afetar a vida de prateleira das plantas, as quais apresentaram expressiva queda prematura das folhas (79,4%). Segundo os critérios de classificação de pimenta ornamental (IBRAFLOR, 2011), um vaso de pimenta ornamental deve ter uma boa formação e hastes com boa cobertura de vaso (enfolhamento) para ter uma classificação desejável, lotes sem essas características são devolvidos ao fornecedor. Em condição real de comercialização, as plantas da variedade BGH 1039, após serem transportadas por 48 h, no escuro, seriam descartadas, pois apresentariam mais de 50% de abscisão foliar (Figura 2A).

Visando atender os critérios para a comercialização de pimenta ornamental e tendo em mente, apenas a redução da percentagem de queda foliar, o uso da luz fluorescente com aproximadamente $15-18 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ seria suficiente para reduzir a queda das folhas da variedade BGH 1039, mesmo com o transporte das plantas em temperaturas superiores àquelas do ambiente (Figura 2A). Em plantas que permaneceram a 35°C na luz observou-se somente 16,2% de quedas das folhas (Figuras 2A), ou seja, uma redução da queda foliar de quase cinco vezes, se comparadas com as plantas que permaneceram no escuro na mesma temperatura sem aplicação de 1-MCP

(TE). A explicação provável é a maior produção e/ou sensibilidade ao etileno pelas plantas que permaneceram no escuro em comparação às plantas que permaneceram à luz.

Na variedade Roxa a maior taxa de abscisão foliar foi promovida pelo tratamento TL (plantas submetidas às condições de luminosidade e temperatura de 35°C). Entretanto, esse valor não ultrapassou 11,5%, o que é uma percentagem considerada baixa, que não interfere na comercialização das plantas (Figura 2B). A eficácia do 1-MCP em bloquear a ação do etileno foi dependente das condições de luminosidade, provocando uma resposta particular em cada uma das variedades testadas. Assim, a maior eficiência do 1-MCP na variedade BGH 1039 foi observada à luz. No entanto, o ambiente escuro foi o mais favorável em bloquear a ação do etileno nas plantas da variedade Roxa. Os valores de abscisão observados nas plantas de 'BGH 1039' e 'Roxa' foram de 0,4 e 0,3%, respectivamente nas plantas tratadas com 1-MCP, à luz (BGH 1039) e no escuro (Roxa) (Figura 2A e 2B). Na variedade BGH 1039, o uso do 1-MCP, em plantas que permaneceram no escuro (ME), apesar de ter reduzido a queda das folhas em 8,5 vezes comparando com o tratamento sem 1-MCP. As plantas em que se aplicou esse tratamento, apresentou queda foliar bem superior ao tratamento com 1-MCP à luz (ML), como mostra a Figura 2A, sugerindo que a luz interfere no mecanismo de bloqueio do etileno pelo 1-MCP.



Figura 1 - Abscisão foliar em plantas das variedades BGH 1039 (A) e Roxa (B), tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h de transporte, a 35°C.

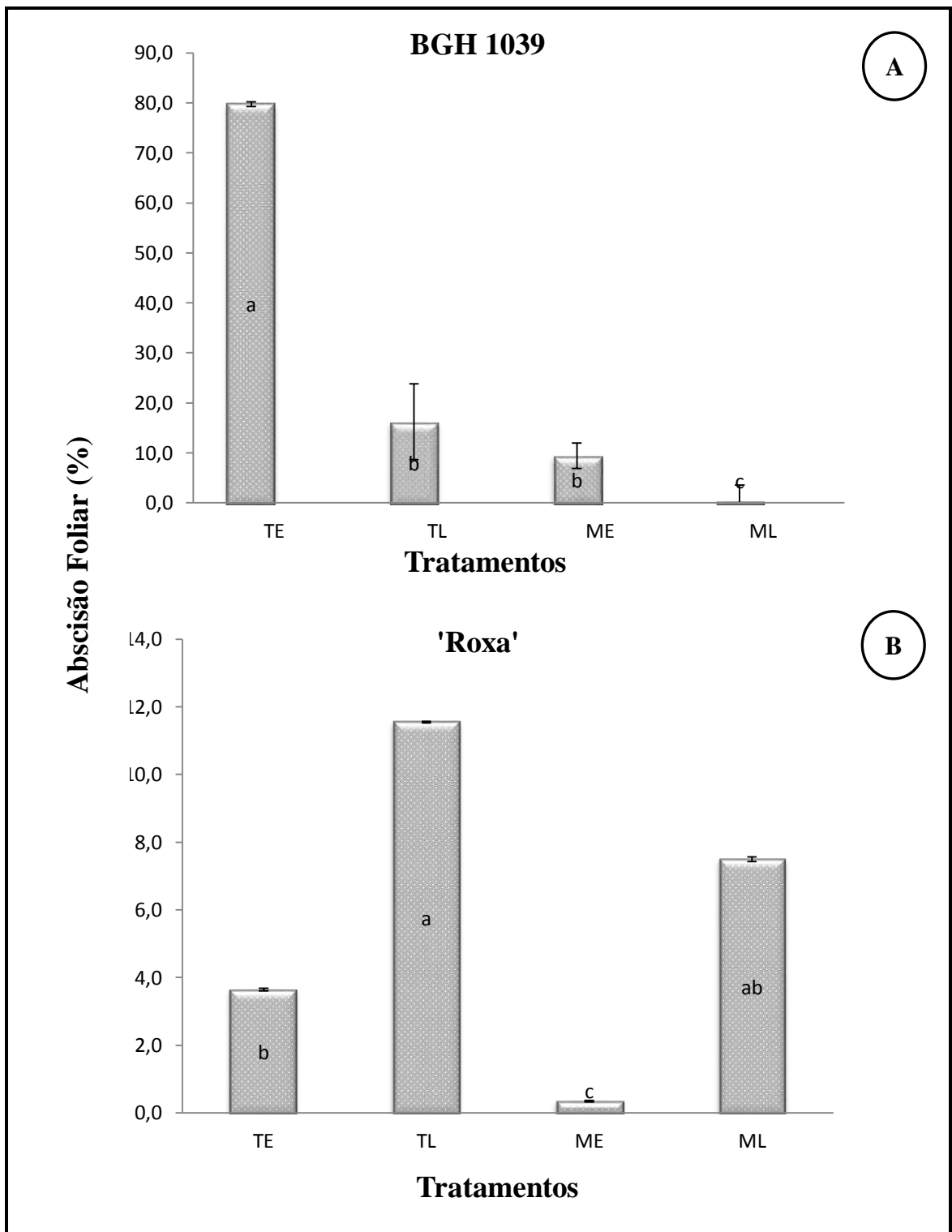


Figura 2 - Abscisão foliar em plantas tratadas com 1-MCP na luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e na luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Os valores da percentagem da abscisão floral das plantas da variedade Roxa estão descritos na Figura 3. A variedade BGH 1039 não apresentava flores no período de implantação do experimento.

O tratamento que provocou significativa queda floral foi o que as plantas permaneceram no escuro, a 35°C, sem aplicação de 1-MCP, com queda prematura de 76,8% das flores, após o término do tratamento de calor (Figura 3). Nesse tratamento, à luz, as plantas exibiram uma taxa de abscisão floral expressiva de 37,5%, mas inferior às do escuro. Nos tratamentos em que se aplicou 1-MCP (ME e ML), a queda floral foi menor que os demais tratamentos, e não diferiram entre si, apresentando valores de 20,5 e 25,4 % respectivamente.

Mesmo apresentando uma taxa reduzida de abscisão floral nas plantas onde se aplicou 1-MCP, a resposta das plantas ao 1-MCP em inibir os efeitos do etileno na flor foi menor em comparação ao seu efeito nas folhas. No presente trabalho não se observou queda de frutos em nenhum dos tratamentos avaliados. Como as plantas de pimenta ornamental geralmente são comercializadas sem a presença de flor e os frutos não sofreram com a simulação do transporte, deve-se priorizar atenção ao principal órgão afetado, as folhas das plantas. A utilização do composto 1-MCP é excelente alternativa em minimizar os efeitos do etileno na queda prematura das folhas, aumentando assim a vida de prateleira, com plantas que apresentam aparência atrativa ao consumidor.

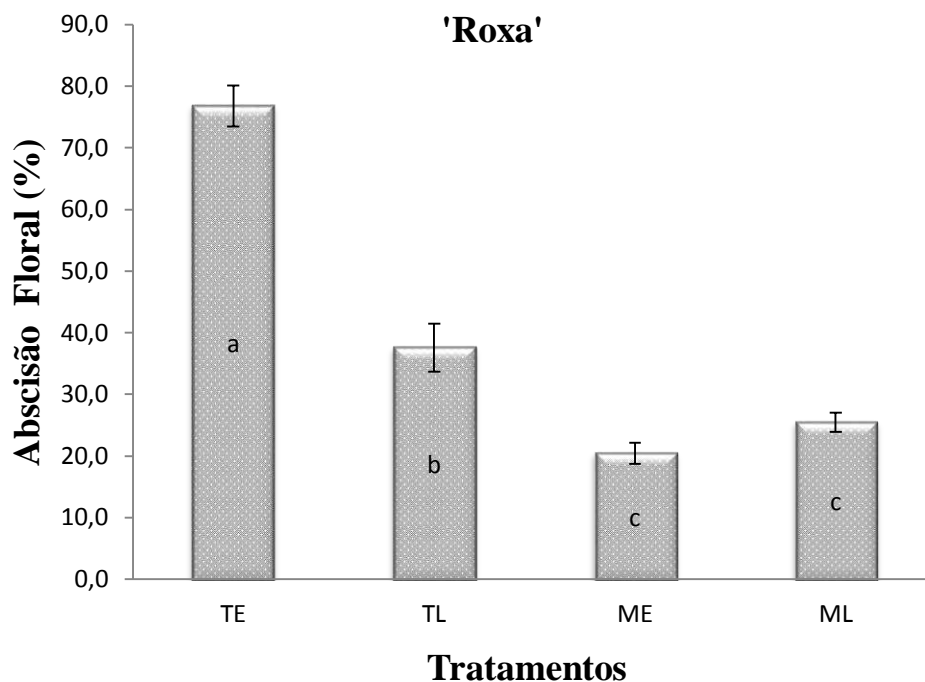


Figura 3 - Abscisão floral em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

As folhas das plantas da BGH 1039, sob tratamentos TL, ME e ML, não exibiram alterações significativas nos valores de SPAD, apresentando valores médios de 57,6; 53,5 e 54,1 respectivamente (Figura 4A). O índice SPAD reduziu significativamente após 48 h da aplicação do tratamento, sob temperatura de 35°C, no escuro sem utilização do 1-MCP, tratamento este que proporcionou maior percentagem de queda foliar. Djanaguiraman & Prasad. (2011), trabalhando com plantas de soja, também observaram redução do conteúdo de clorofila *a* à temperatura de 38°C, e observaram também que o 1-MCP aumentou a intensidade da coloração verde dessas folhas. Em ornamentais é muito importante a coloração das folhas. Uma redução da cor verde provoca depreciação do produto, inviabilizando que o mesmo seja adquirido pelo consumidor. As folhas das plantas da variedade Roxa não exibiram alteração no índice SPAD após aplicação dos tratamentos, com valor médio de 46,7 (Figura 4B).

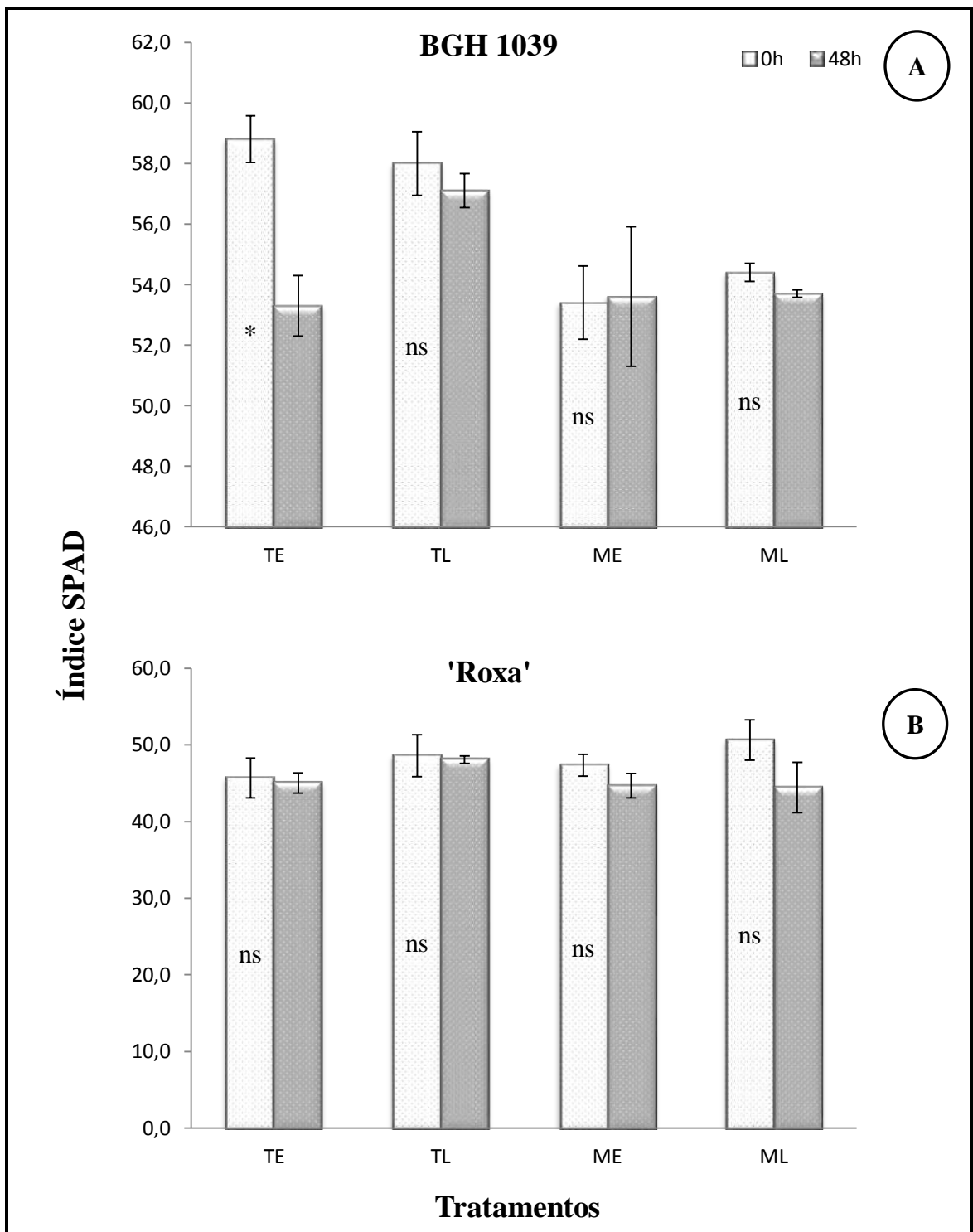


Figura 4 - Índice SPAD em plantas tratadas (ME e ML) ou não tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

Uma produção descontrolada das espécies reativas de oxigênio (EROs) pode inativar biomoléculas ou iniciar reações em cadeia, destruindo a estrutura e função da membrana. Dentre os efeitos benéficos para a ação de EROs estão a polimerização de componentes da parede celular, e a geração de mensageiros secundários nas vias de transdução de sinais (Anderson, 2002). A intensidade da quantidade de EROs a ser produzida irá definir o papel biológico a ser desempenhado pelas mesmas.

Muitos estudos sempre preconizam o aumento de EROs ligado ao estresse luminoso e à baixa temperatura. Geralmente, nos primeiros dias de aplicação tratamentos, se observam acréscimos na produção de peróxido de hidrogênio e atividade das enzimas: superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APx), peroxidase (POD) e catalase (CAT) (Foyer *et al.*, 1997; Larrigaudiere *et al.*, 2004).

As enzimas antioxidantes contribuem para resposta de plantas ao estresse (Soares & Machado, 2007). A atividade da enzima superóxido dismutase, na variedade BGH 1039 é mostrada na Figura 5A. Observa-se que as condições avaliadas foram efetivas para reduzir aproximadamente de 50% da atividade da SOD das plantas da BGH 1039, nos tratamentos TE e ME. O tratamento ML foi o que conseguiu preservar a qualidade comercial das plantas da variedade BGH 1039. Nesse tratamento, onde se aplicou 1-MCP, a atividade da SOD não sofreu alteração significativa, indicando uma possível capacidade do 1-MCP em fazer com que as plantas ativem os mecanismos de defesa oxidativa eliminando o ânion superóxido e formando H₂O₂.

A atividade da SOD não sofreu alteração significativa com a aplicação dos tratamentos nas plantas da variedade Roxa. Nos tratamentos (TE e TL) o valor da atividade da SOD chegou a apresentar um pequeno aumento. Em média, as plantas exibiram atividade de 1,23 U min⁻¹mg⁻¹ de proteína (Figura 5B).

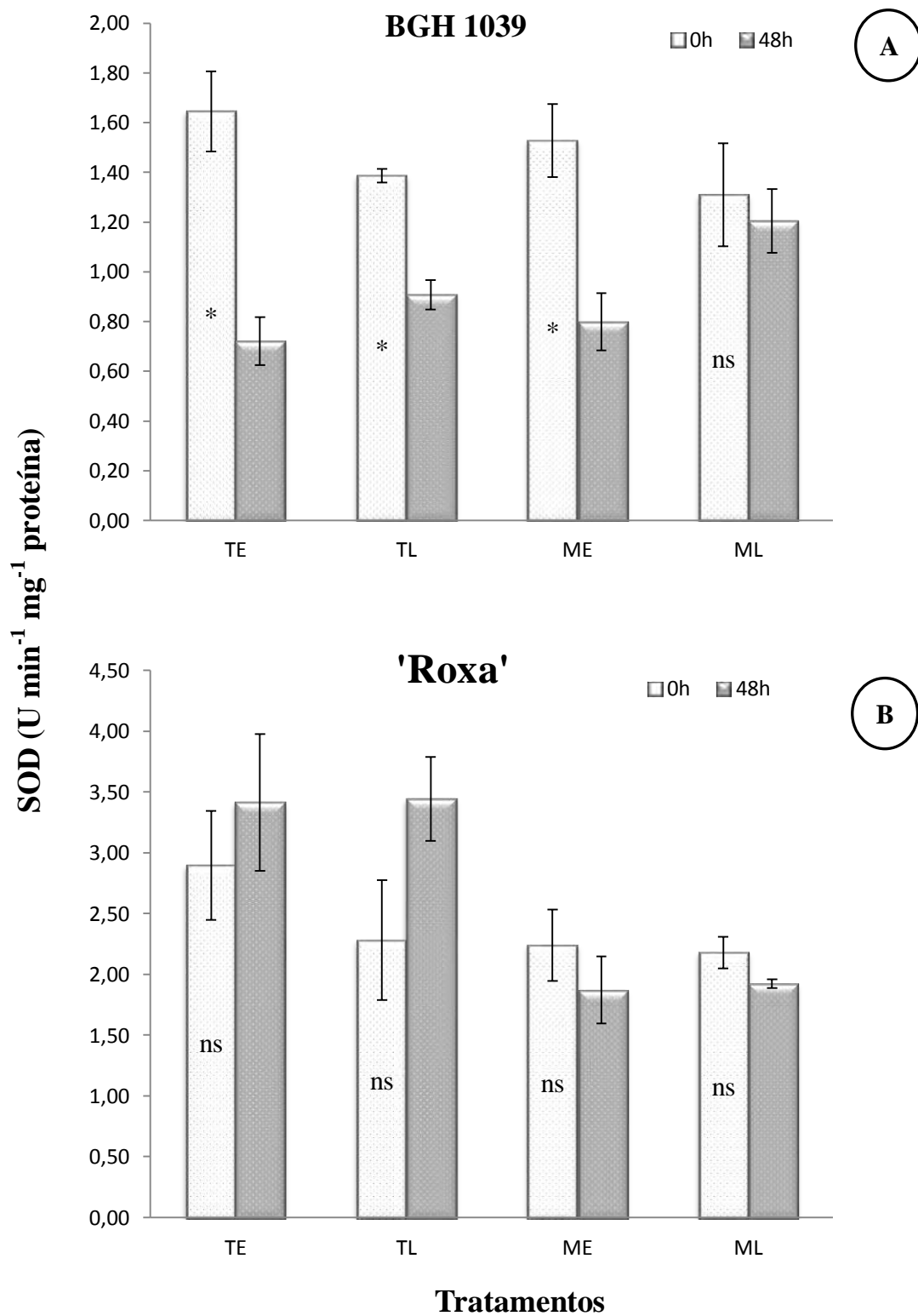


Figura 5 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.
 *, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

Apesar de a atividade da POD em frutos de pimenta ser altamente afetada pelo calor (Serrano-Martínez, 1998), em tecidos foliares expostos a temperatura estudada de 35°C, a atividade da POD aumentou em todos os tratamentos (Figuras 6A e 6B). Todas as plantas estudadas da variedade Roxa apresentaram baixa atividade da enzima peroxidase antes da aplicação dos tratamentos, com valor médio 0,05 U min⁻¹mg⁻¹ (Figura 6B). No mesmo período, nos tecidos foliares das plantas da variedade BGH 1039, a atividade da peroxidase foi bem maior que na variedade Roxa, com valor médio 0,46 U min⁻¹mg⁻¹ de proteína (Figura 6A).

Em folhas da variedade Roxa a atividade da peroxidase aumentou bruscamente, com elevação de 74 vezes maior que o valor inicial nas plantas do tratamento em que a queda foliar foi praticamente inexistente (ME) (Figura 6B). Os aumentos da atividade da peroxidase nos tecidos foliares da variedade BGH 1039 foram maiores quando as plantas permaneceram à luz, chegando a aumentar aproximadamente 20 vezes quando se aplicou 1-MCP (ML), ao passo que no tratamento sem o inibidor da ação do etileno (TL), o aumento foi inferior a 9 vezes (Figura 6A). As plantas da variedade BGH 1039, onde se aplicou o tratamento ML, apresentaram abscisão foliar reduzida, ou seja, com o uso do 1-MCP, as plantas mantiveram características comerciais atrativas ao consumidor, mesmo estando em condição de transporte desfavorável. Isso indica que quando o peróxido de hidrogênio é removido com mais eficácia pela ação da POD, a planta tende a reduzir a queda das folhas.

No tratamento onde as plantas exibiram melhor resposta para a variedade Roxa (ME), a POD teve aumento da sua atividade, muito maior que as plantas da variedade BHG 1039, indicando que essas plantas possuem um mecanismo antioxidante mais eficiente na remoção de EROs. Se as moléculas das EROs são benéficas ou prejudiciais à célula, depende da quantidade, tipo e localização das EROs e do estado dos sistemas de defesa. O presente trabalho confirma os resultados obtidos por Sakamoto (2008), em que o etileno induziu a abscisão *in vitro* em *Capsicum* e ao adicionar-se um removedor de EROs, reduziu a taxa de abscisão foliar.

A atividade da enzima ascorbato peroxidase (APx) nas plantas da variedade BGH 1039 não sofreu interferência da maioria dos tratamentos, apresentando média de 0,49 U min⁻¹ mg⁻¹ de proteína. Apenas no tratamento em que as plantas permaneceram no escuro, a 35°C sem aplicação de 1-MCP, houve redução de 3,5 da atividade,

passando de 0,49 para 0,14 U min⁻¹mg⁻¹ de proteína aproximadamente. Este tratamento foi considerado o que mais afetou negativamente a qualidade comercial das plantas (Figura 7A). Na variedade Roxa, a atividade da APx parece não haver mostrado relação com a resposta das plantas aos tratamentos quanto a abscisão foliar (Figura 7B).

Nas plantas da variedade BGH 1039, a atividade da catalase (CAT) aumentou significativamente em todos os tratamentos (Figura 8A). O mesmo não ocorreu na variedade Roxa, pelo contrário, nas plantas, da maioria dos tratamentos estudados, observaram-se redução significativa da atividade da CAT, apenas o tratamento TL permaneceu inalterado mediante as condições avaliadas (Figura 8B). Na Figura 8A, nota-se que nas plantas do tratamento ML da variedade BGH 1039, tratamento em que as plantas apresentaram melhor qualidade após o transporte, o aumento da atividade da catalase foi bem maior se comparado aos aumentos dos demais tratamentos (aproximadamente 11 vezes maior em relação ao dia 0), o que pode até ter contribuído para uma maior resistência à queda das folhas nesse tratamento (Figura 8A).

Dat *et al.*, (1998) descreveram que os níveis de peróxido de hidrogênio nos tecidos de plântulas de mostarda expostas ao calor aumentam em 65%, sob alta temperatura *in vitro* levando a morte de 80% das plantas estudadas, e que a atividade da CAT decresceu com o calor a 55°C. Anderson (2002) também observou declínio da atividade das enzimas CAT e APX com o aumento da temperatura em folhas de pimenta. Entretanto, a concentração de H₂O₂ nas folhas, em seus estudos, não foi alterada durante o período estudado.

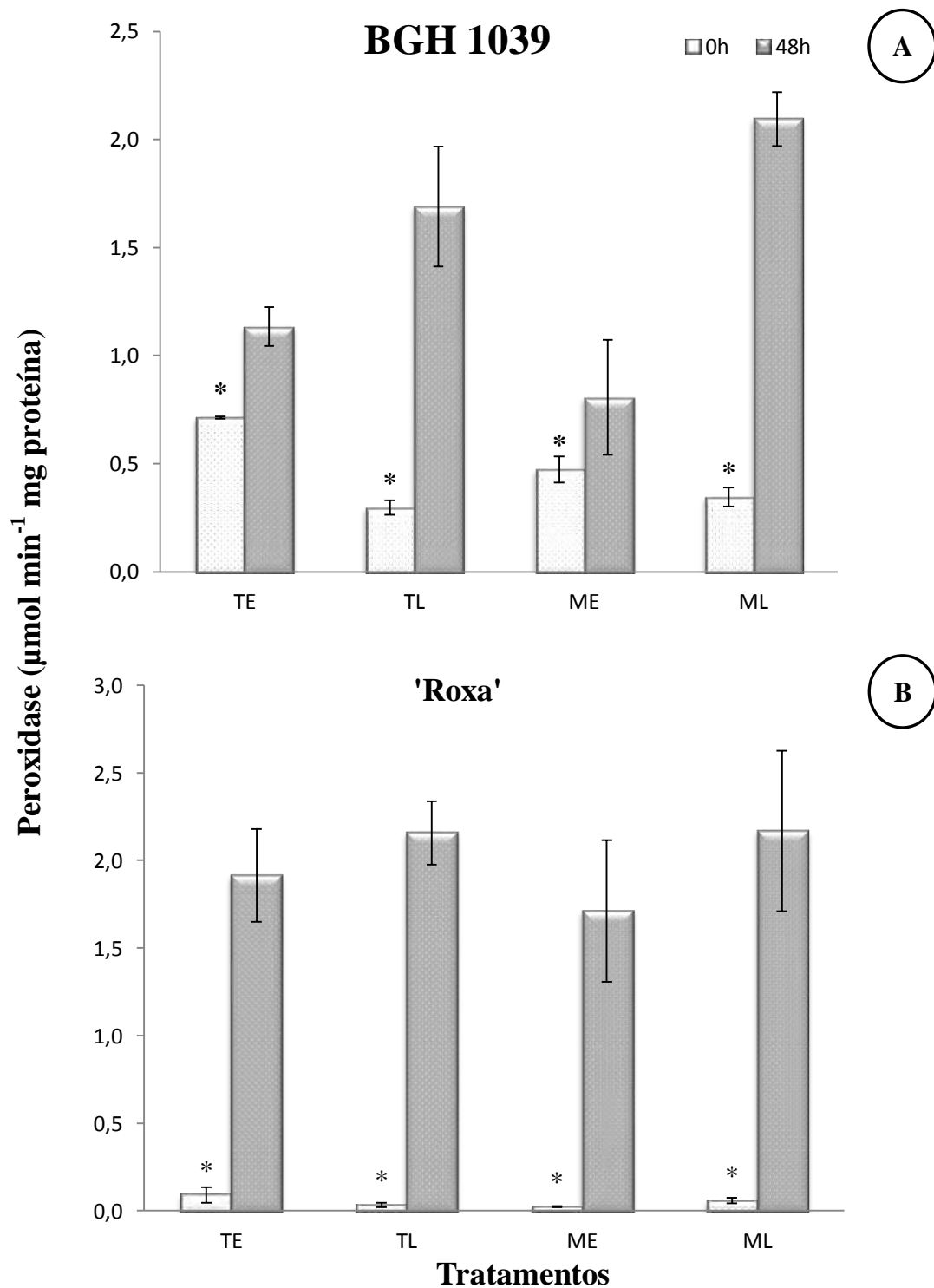


Figura 6 - Atividade da enzima peroxidase (POD) em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

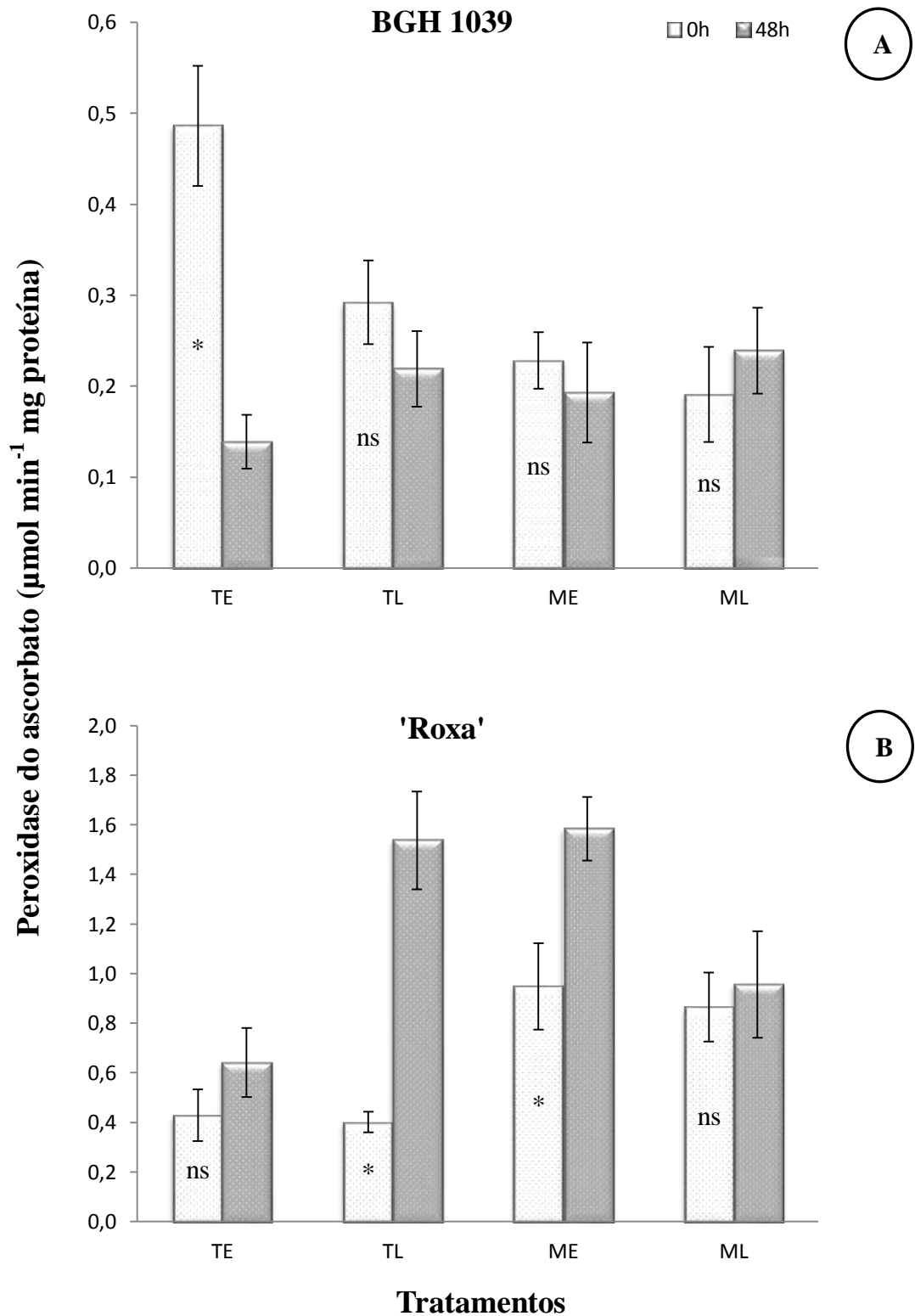


Figura 7 - Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APx) em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

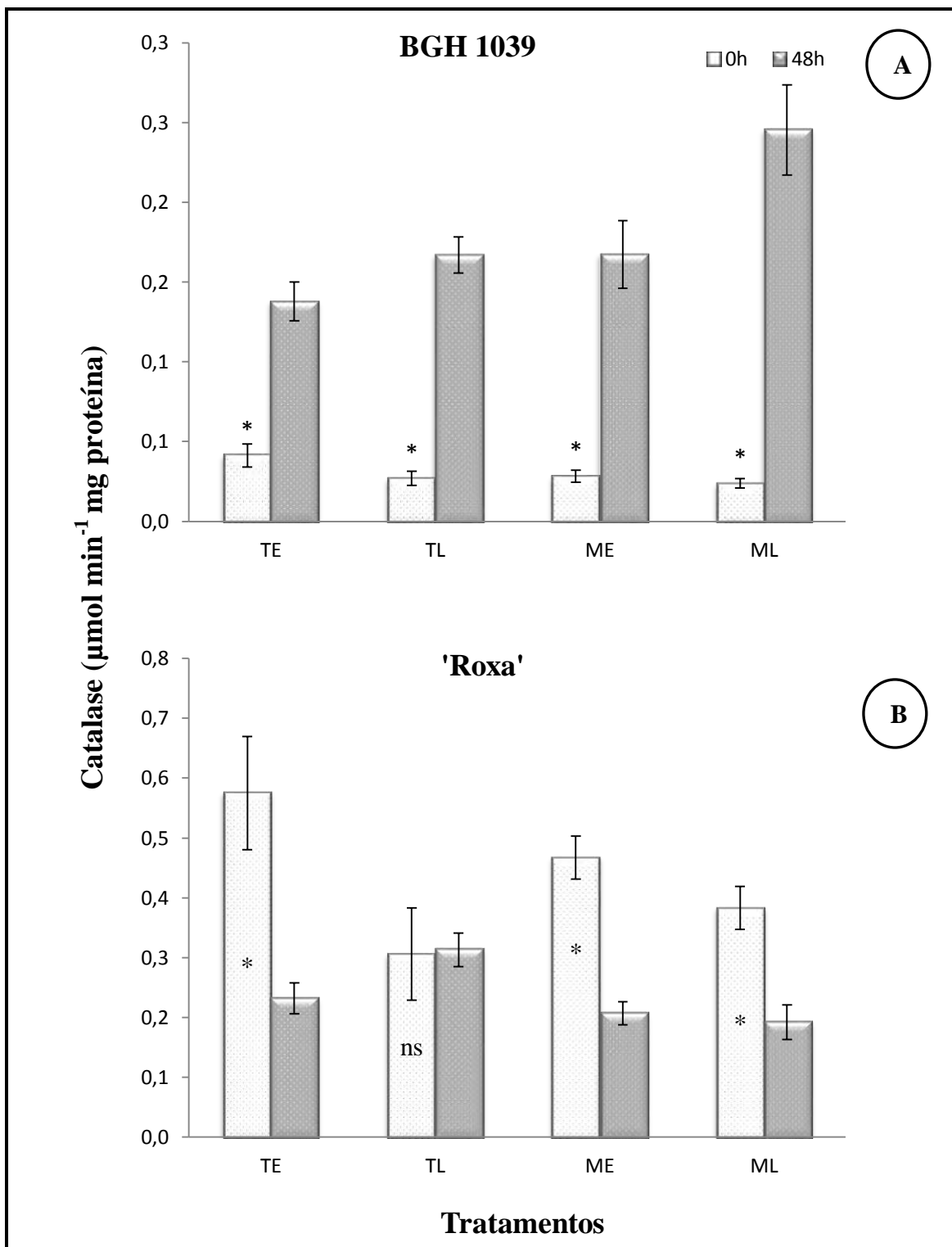


Figura 8 - Atividade da enzima catalase em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que os níveis de H_2O_2 na cultivar BGH 1039 não foram influenciados pela temperatura de 35°C e nem pela luz (Figura 9A). Apenas quando se aplicou o 1-MCP à luz (ML), a quantidade de H_2O_2 aumentou significativamente, passando de 2,0 para 3,4 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria fresca. Como nesse tratamento, as plantas apresentaram abscisão foliar reduzida, sugere-se que nesse caso, em vez do H_2O_2 atuar na destruição celular, esse composto pode ter agido como um sinalizador para uma resposta de defesa da planta como sugeriu Soares & Machado, (2007). Contudo, a concentração de H_2O_2 que irá agir como um sinalizador é limitada e pode variar e depender da capacidade que as células têm em remover o excesso de H_2O_2 presente nas células para não ocorrer dano à ela mesma. Um nível maior de H_2O_2 não se traduziu num alto índice de queda foliar na variedade Roxa (Figura 9B), parece que essas plantas toleram quantidades consideráveis de H_2O_2 , e conseguem passar por um estresse térmico, sem perderem as folhas.

Nos tecidos foliares das plantas da variedade BGH 1039, que apesar de não apresentar diferença significativa (Figura 10A), as plantas em que se aplicou os tratamentos sob alta temperatura sem aplicação do 1-MCP (TE e TL) (Figura 2A), foram as que mostraram um ligeiro aumento no conteúdo de eletrólitos extravasados. A Figura 10B demonstra a taxa de extravasamento de eletrólitos nas plantas da variedade Roxa na análise inicial (0 h) e após aplicação dos tratamentos (48 h). Observa-se nas plantas dos tratamentos TE, ME e ML, a percentagem de eletrólitos extravasados não foi diferentemente significativa em relação ao dia inicial. Todavia, no tratamento TL da variedade Roxa, as plantas apresentaram aumento significativo nos extravasamento de solutos, nesse tratamento foi o que também apresentou maior queda foliar (Figura 2).

O extravasamento de eletrólitos é um importante indicador da ocorrência de danos nas membranas celulares. Com o aumento da temperatura, ocorrem modificações na integridade das membranas permitindo a passagem de solutos pela mesma (Berry & Björkman, 1980). Assim, quando ocorre aumento nos valores de extravasamento de solutos, infere-se que ocorreram danos nas membranas celulares, acarretando assim, perdas na funcionalidade das células. Os danos nas membranas celulares das plantas de soja também foram elevados quando as plantas foram expostas a uma temperatura de 38°C, apresentando valor acima do dobro em relação às plantas sob temperatura ótima, também, como ocorreu neste trabalho, o 1-MCP foi eficiente em reduzir o percentual de danos nas membranas Djanaguiraman & Prasad, (2011).

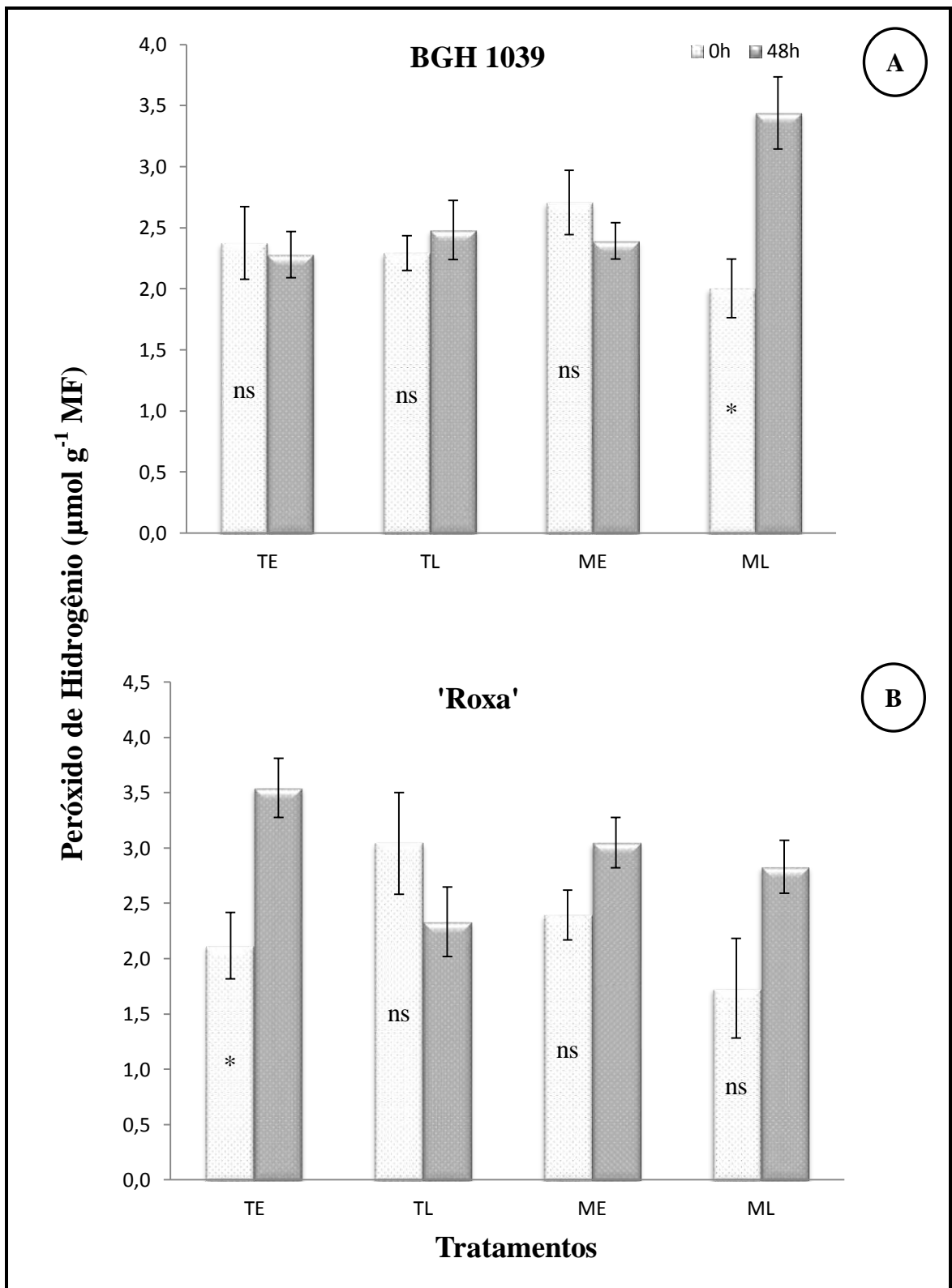


Figura 9 - Concentração de peróxido de hidrogênio em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

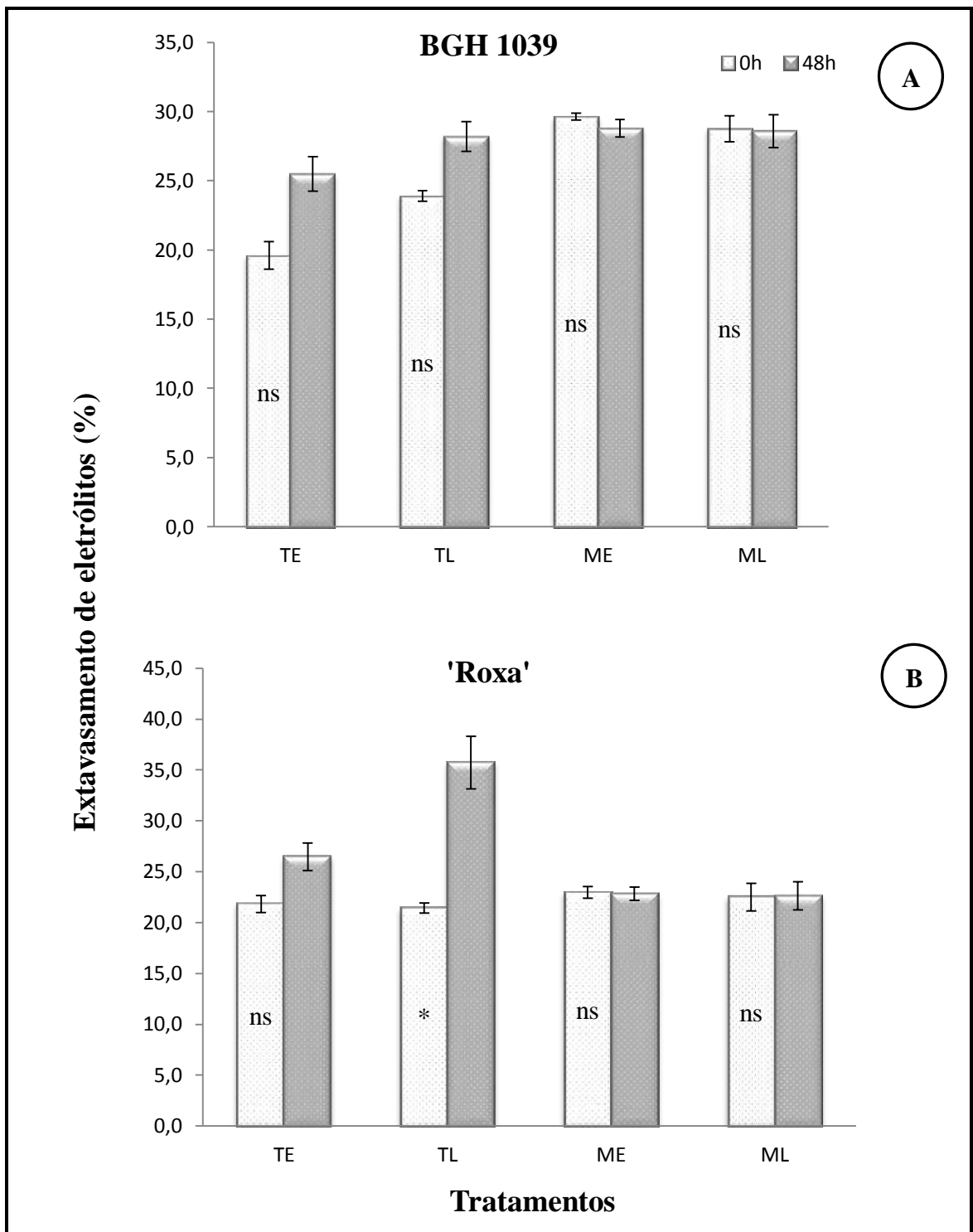


Figura 10 - Extravasamento de eletrólitos em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

As plantas da variedade BGH 1039, submetidas à temperatura estudada, apresentaram uma tendência de reduzir o nível de carotenóides, no geral (Figura 11A). Essa redução foi estatisticamente diferente quando as plantas permaneceram no escuro (TE), chegando a apresentar 64,51% menos carotenóides após aplicação do tratamento, tratamento este, que mais foi afetado pelo estresse. Os carotenóides são substâncias que participam dos mecanismos de proteção a estresses abióticos, sendo capazes de interagir com EROs, dissipando sua energia na forma de calor.

A aplicação de 1-MCP nas plantas de BGH 1039 à luz (ML), fez com que aumentasse significativamente a concentração de carotenóides na matéria fresca dessas plantas (Figura 11A), o que pode ter ajudado na manutenção da qualidade dessas plantas, sob temperatura de 35°C, já que nesse tratamento a queda foliar foi de apenas 0,4% (Figura 2A). Parece não haver efeito do 1-MCP sobre os níveis de carotenóides quando o produto foi aplicado nas plantas que permanecem no escuro (ME), pois não houve diferença significativa na concentração de carotenóides antes e após esse tratamento.

A concentração de carotenóides das folhas das plantas da variedade Roxa não foi afetada pelos tratamentos aplicados (Figura 11B). No entanto, no tratamento em que praticamente não se encontrou abscisão foliar (ME - Figura 2B), apesar de não ser estatisticamente diferente, foi o único tratamento em que se observou aumento na concentração de carotenóides nos tecidos foliares da variedade Roxa, já as plantas que permaneceram na luz e foram tratadas com 1-MCP apresentaram o mesmo comportamento que os tratamentos onde não se aplicou 1-MCP.

As plantas da variedade BGH 1039, a 35°C, tratadas ou não com 1-MCP mostraram uma redução significativa na concentração de clorofila *a* (Figura 12A). Essa variável aumentou significativamente quando as plantas foram tratadas com 1-MCP e expostas à luz (ML), tratamento este, onde se observou menor queda foliar (Figura 2A). Djanaguiraman & Prasad, (2011), verificaram em plantas de soja essa redução da concentração de clorofila *a* sob calor de 38°C, e que ainda, o 1-MCP foi eficiente em fazer aumentar a concentração de clorofila *a*. Karim *et al.*, (1999) observaram que a 42 °C, no escuro, as plantas tiveram também essa redução na concentração de clorofilas *a* e *b* já nas primeiras 24 h de aplicação dos tratamentos.

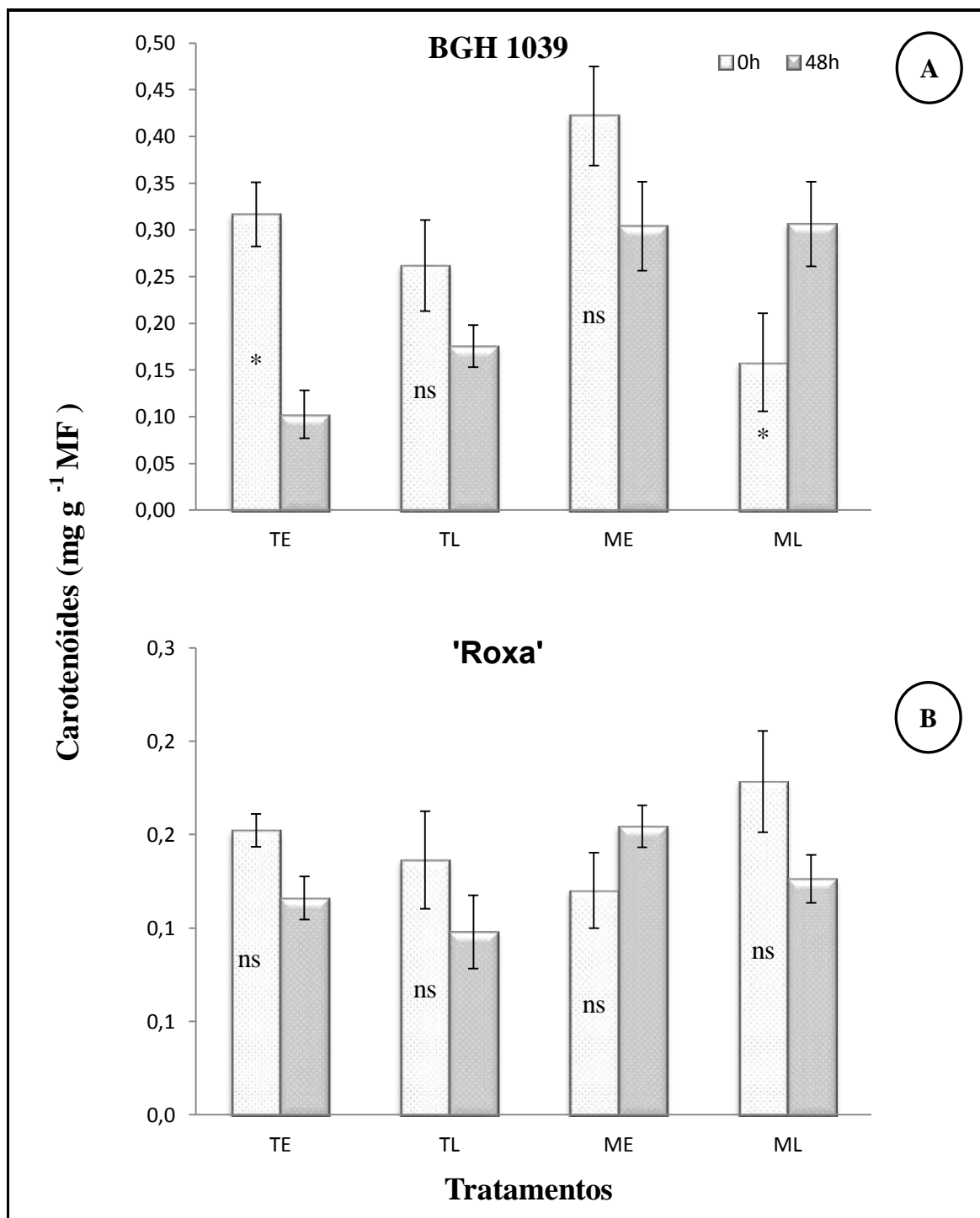


Figura 11 - Concentração de carotenóides em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

Não houve diferença estatística provocada por nenhum dos tratamentos estudados na variedade Roxa para a variável clorofila *a* (Figura 12B). Porém, vale ressaltar, o único tratamento em que se observou um pequeno aumento na concentração

de clorofila *a* foi justamente o tratamento (ME), em que se verificou uma menor percentagem de abscisão foliar (Figura 2B).

O estresse causado pelo calor de 35°C, por um período de 48 h, induziu redução na concentração de clorofila *b* (tratamentos TE e TL na Figura 13A) nas folhas da variedade BGH 1039. Entretanto, apenas no tratamento TE, em que se observou maior queda das folhas, essa redução foi significativa. Quando se utilizou o inibidor da ação do etileno 1-MCP, observou-se que tanto à luz quanto no escuro, não houve redução na concentração de clorofila *b* e que quando se utilizou o produto e as plantas permaneceram à luz (ML), verificou-se aumento significativo da concentração de clorofila *b*.

O nível de clorofila *b* na variedade Roxa aumentou em todos os tratamentos, sendo esse aumento significativo apenas nas plantas que permaneceram no escuro (Figura 13B). E, ainda, o tratamento em que se observou menor abscisão foliar usando o 1-MCP (ME), o acréscimo na concentração de clorofila foi bem maior em relação aos demais tratamentos, chegando a ser 67% maior após a aplicação do tratamento.

Verifica-se que a variedade Roxa apresentou após o estresse, valores de clorofilas totais maiores ou iguais ao período de 0 h, e que o calor induzido por 35°C não foi suficiente para fazer reduzir a concentração de clorofilas totais nas plantas de nenhum dos tratamentos estudados (Figura 14B), chegando até mesmo a aumentar significativamente nas folhas das plantas que foram tratadas com 1-MCP e que permaneceram no escuro (ME).

Se pensarmos que neste mesmo tratamento, as plantas da variedade Roxa, além de permanecerem praticamente com todas as suas folhas, elas apresentaram uma maior concentração de clorofilas totais mesmo expostas ao calor, ao passo que nas plantas da variedade BGH 1039 (Figura 14A), o estresse térmico foi responsável pela queda da concentração de clorofilas totais produzido pelos tratamentos TE, TL e ME. Somente as plantas do tratamento ML, a concentração de clorofilas totais foi significativamente maior, o que pode ter contribuído para reduzir a abscisão foliar nessas plantas (Figura 2A), já que no tratamento TE (tratamento de elevada queda foliar) apresentou uma brusca redução nos níveis de clorofila total.

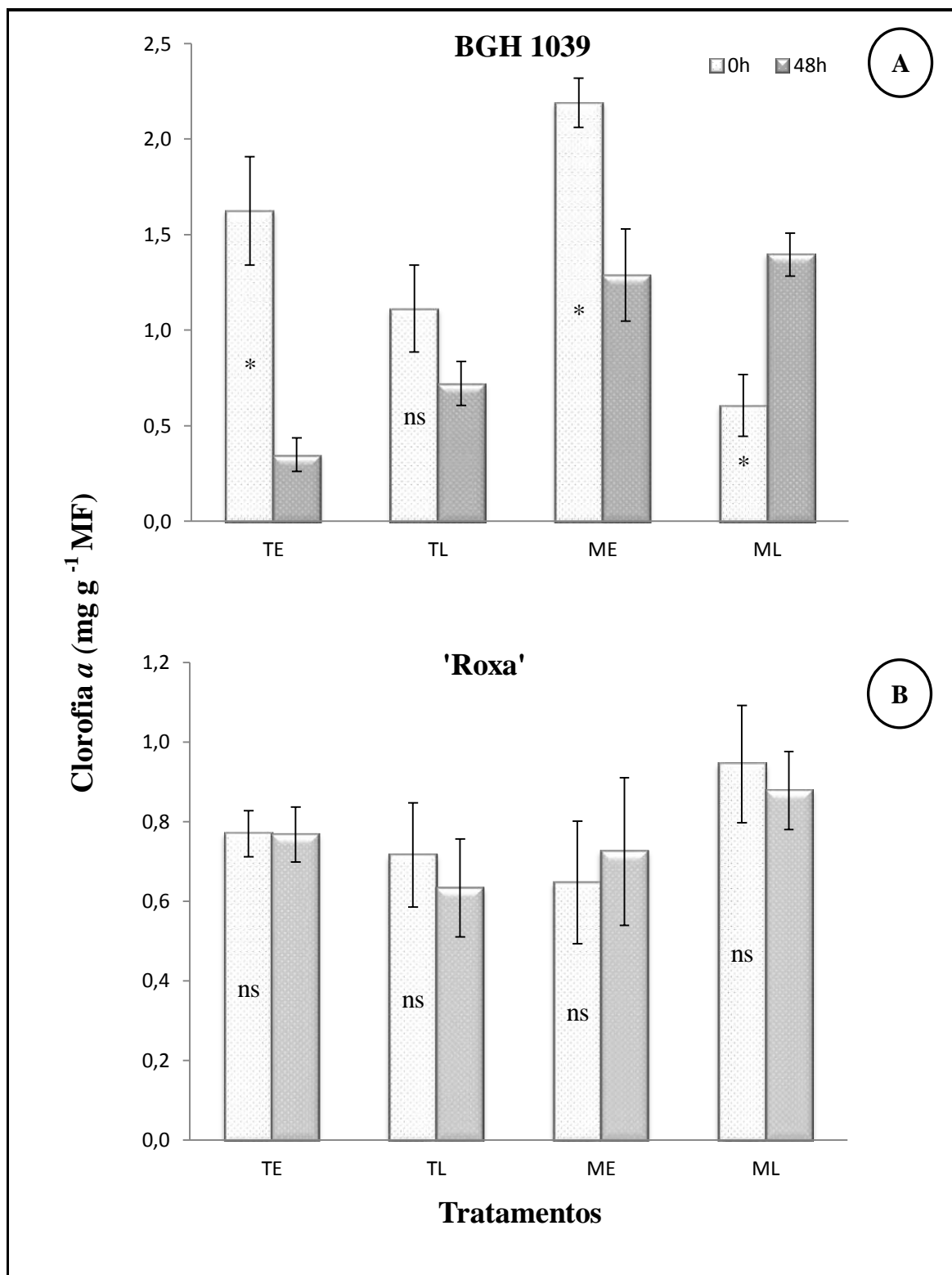


Figura 12 - Concentração de clorofila *a* em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

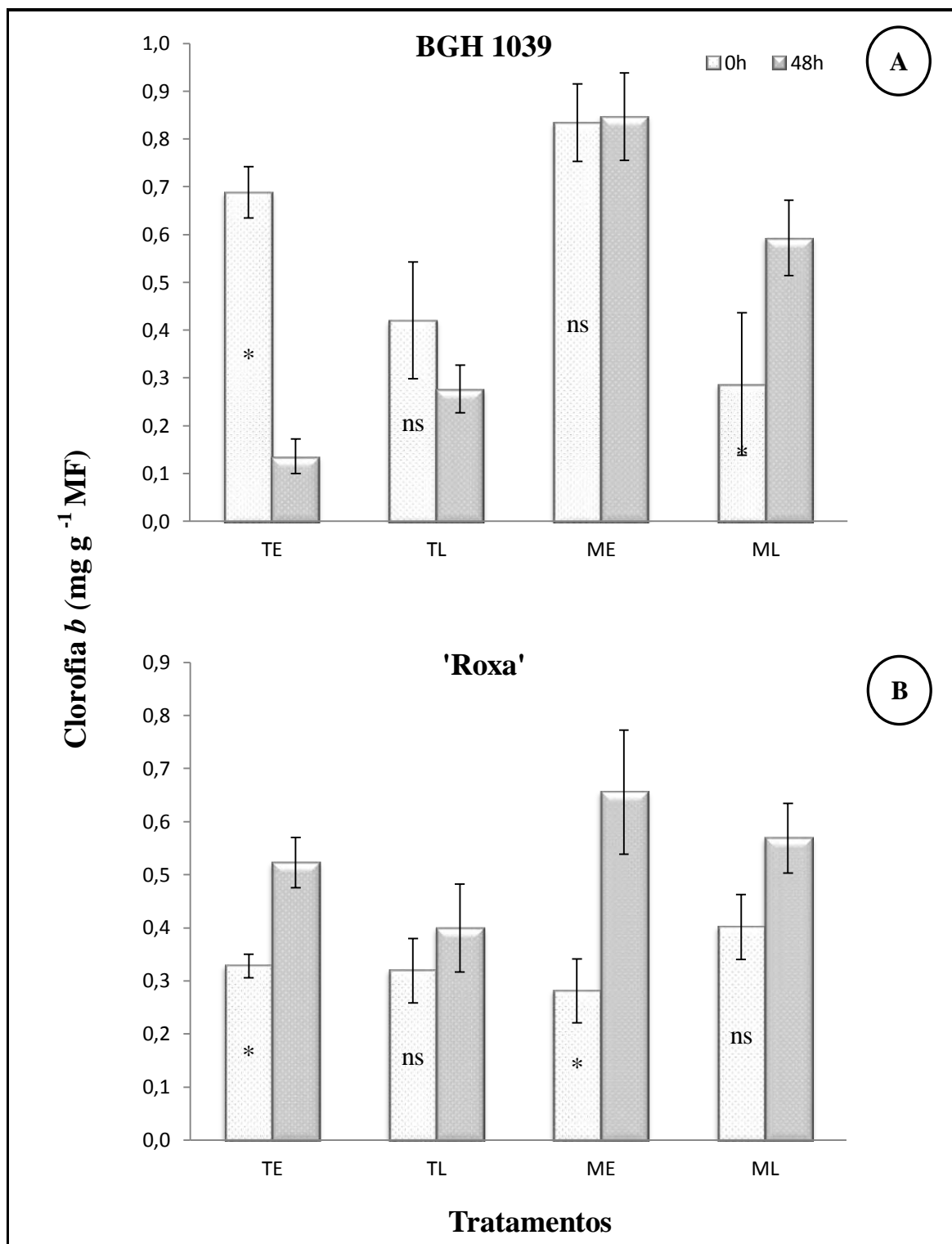


Figura 13 - Concentração de clorofila *b* em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

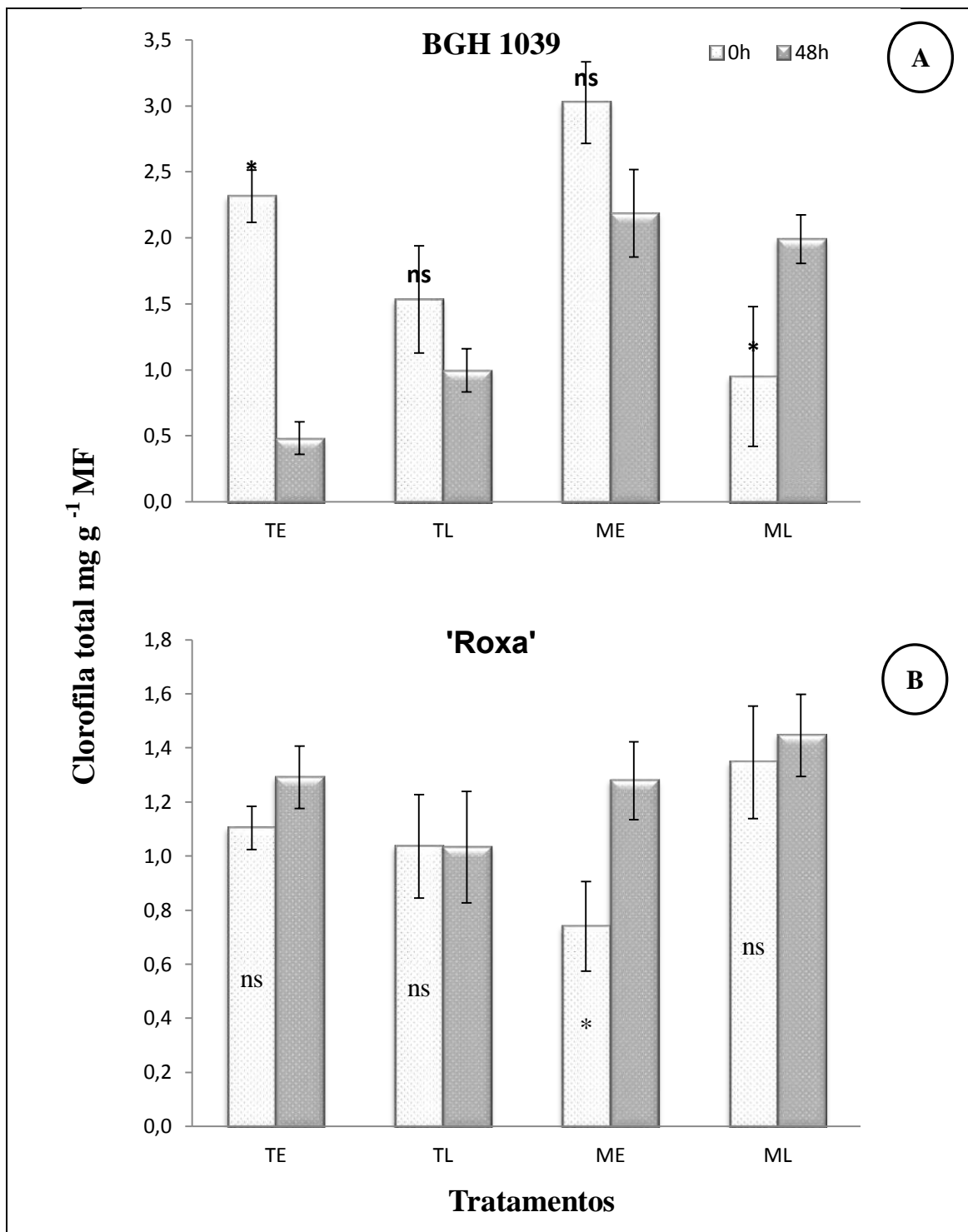


Figura 14 - Concentração de clorofila total em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

Analisando-se as alterações no metabolismo das plantas provocadas pelo calor, observa-se que as plantas dos tratamentos de ambas variedades, a redução na concentração de amido foi acentuada. Na variedade BGH 1039, o teor de amido médio passou de 2,02% para 1,07% e na variedade Roxa, que no período de 0 h, era 2,89%, reduziu para 1,12%, em média, após 48 h, a 35°C (Figura 15AB).

A percentagem de açúcares solúveis totais nas folhas da variedade BGH 1039 e Roxa não foi influenciada pela temperatura, e que também não houve diferença estatística promovida pelos tratamentos (Figuras 16). O nível de açúcares redutores na variedade BGH 1039 reduziu-se significativamente nas plantas do tratamento TE (Figura 17A) enquanto nos demais tratamentos não houve alterações no percentual de açúcares redutores. Na Figura 17B observam-se decréscimos significativos no teor de açúcares redutores nos tecidos foliares da variedade Roxa, apenas quando se utilizou 1-MCP tanto no escuro como à luz.

Na maioria dos tratamentos estudados, a taxa de açúcares não redutores das folhas das plantas, não foi influenciada pelo tempo de exposição à temperatura de 35°C. Apenas as plantas nos tratamentos onde se obteve, para ambas as variedades, maior queda foliar, se verificaram aumentos, embora não significativos na percentagem de açúcares não redutores (Figuras 18).

Amido e sacarose representam, respectivamente, os principais carboidratos de reserva e de transporte encontrados na maioria das plantas (Magel *et al.*, 2000). Apesar da degradação de amido nas plantas de todos os tratamentos, apenas ocorreu acúmulo de sacarose nas folhas das plantas do tratamento TE na variedade BGH 1039, e em TL na variedade Roxa na condição de estresse térmico (Figuras 19).

Essas plantas em questão, não foram tratadas com 1-MCP e mais sofreram com o calor, perdendo suas folhas ao longo do experimento. Assim, as folhas analisadas estavam em processo de senescência, apresentando uma percentagem maior de sacarose, decorrente da remobilização de reservas. A senescência é considerada, em geral, como uma série de eventos programados, que levam à degradação e remobilização proteínas, lipídeos e carboidratos, que podem ser utilizados como substratos ou transportados para outras partes da planta (Woo *et al.*, 2004; Rubinstein, 2000).

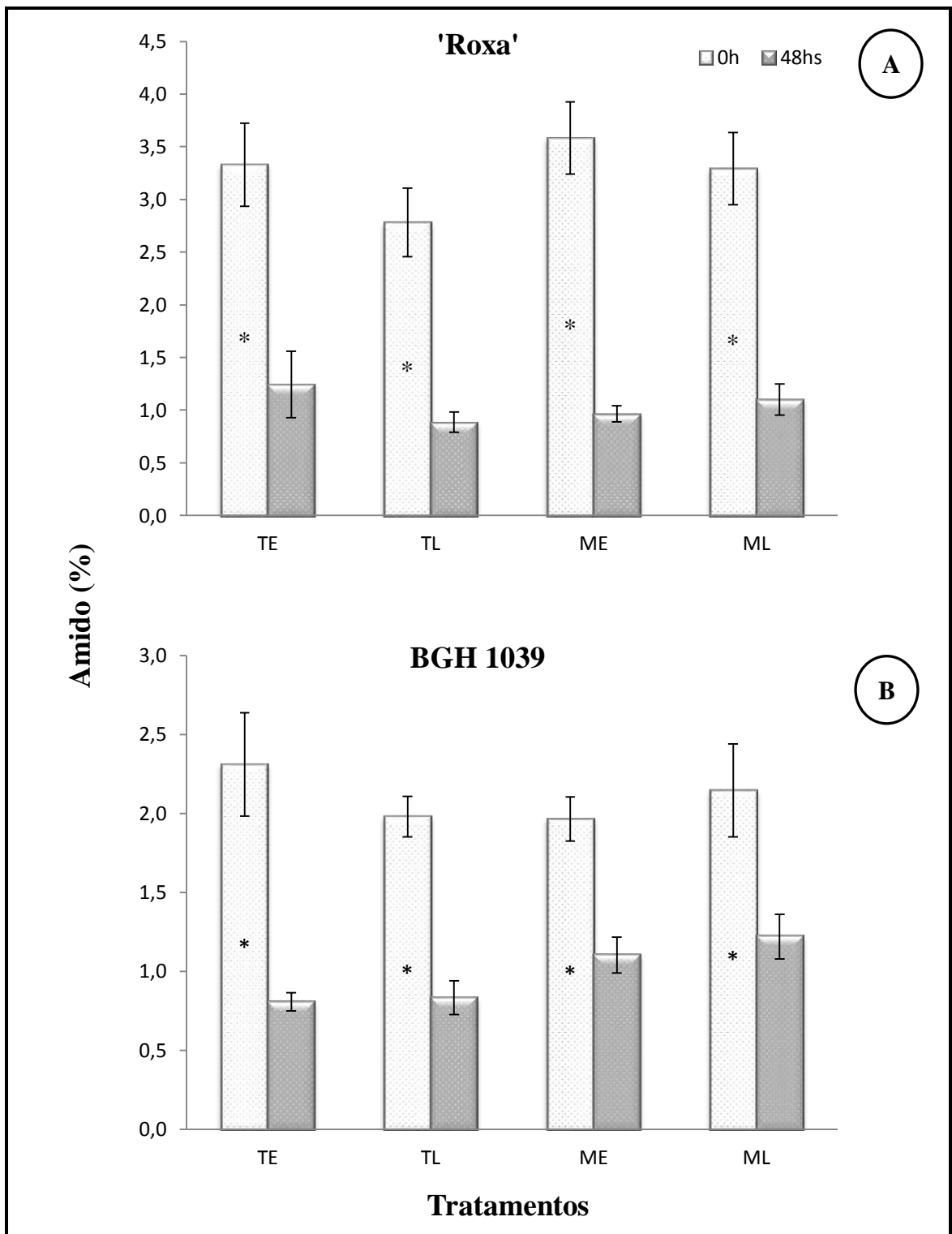


Figura 15 - Percentagem de amido em plantas tratadas em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

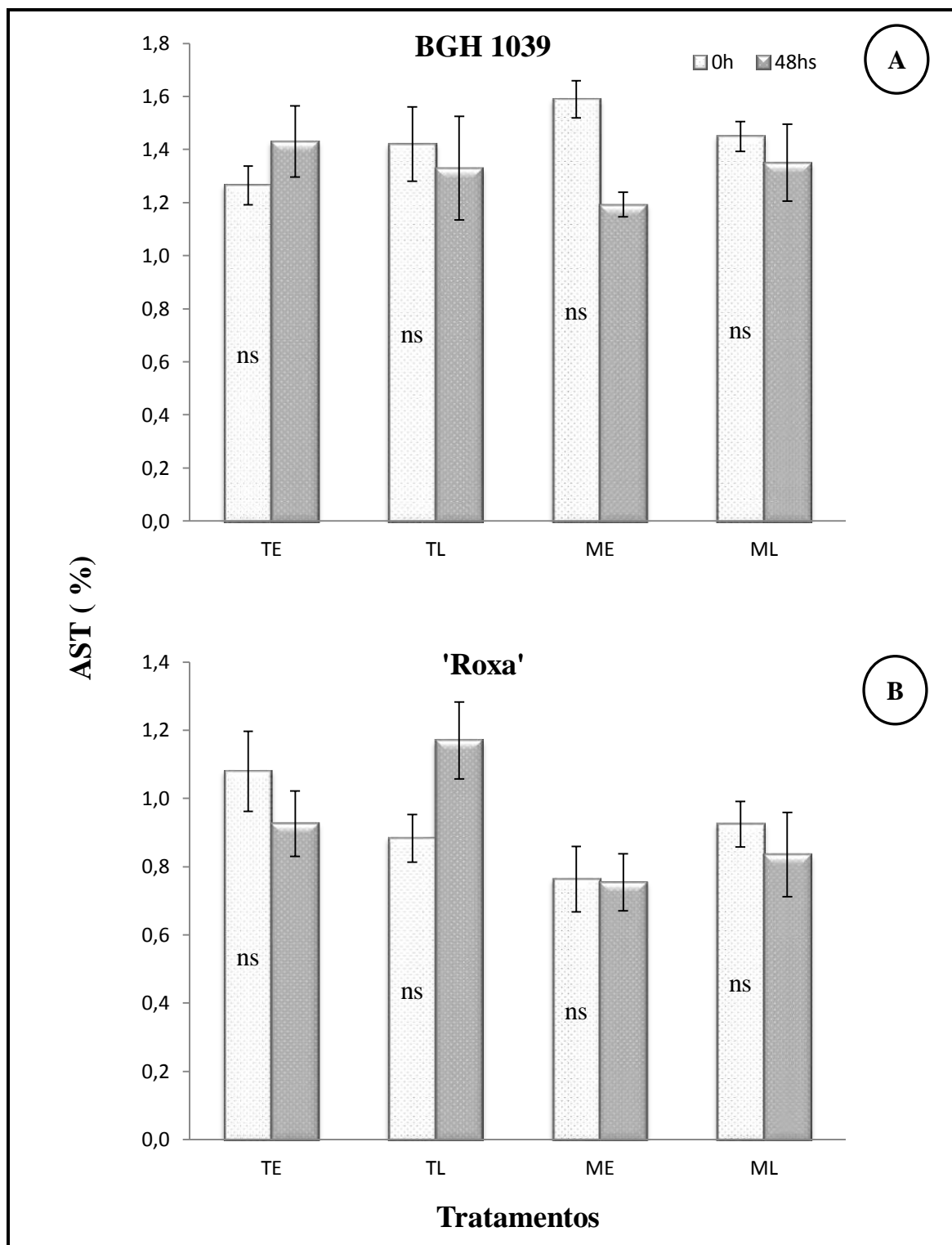


Figura 16 - Percentagem de açúcares solúveis totais (AST) em plantas tratadas em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

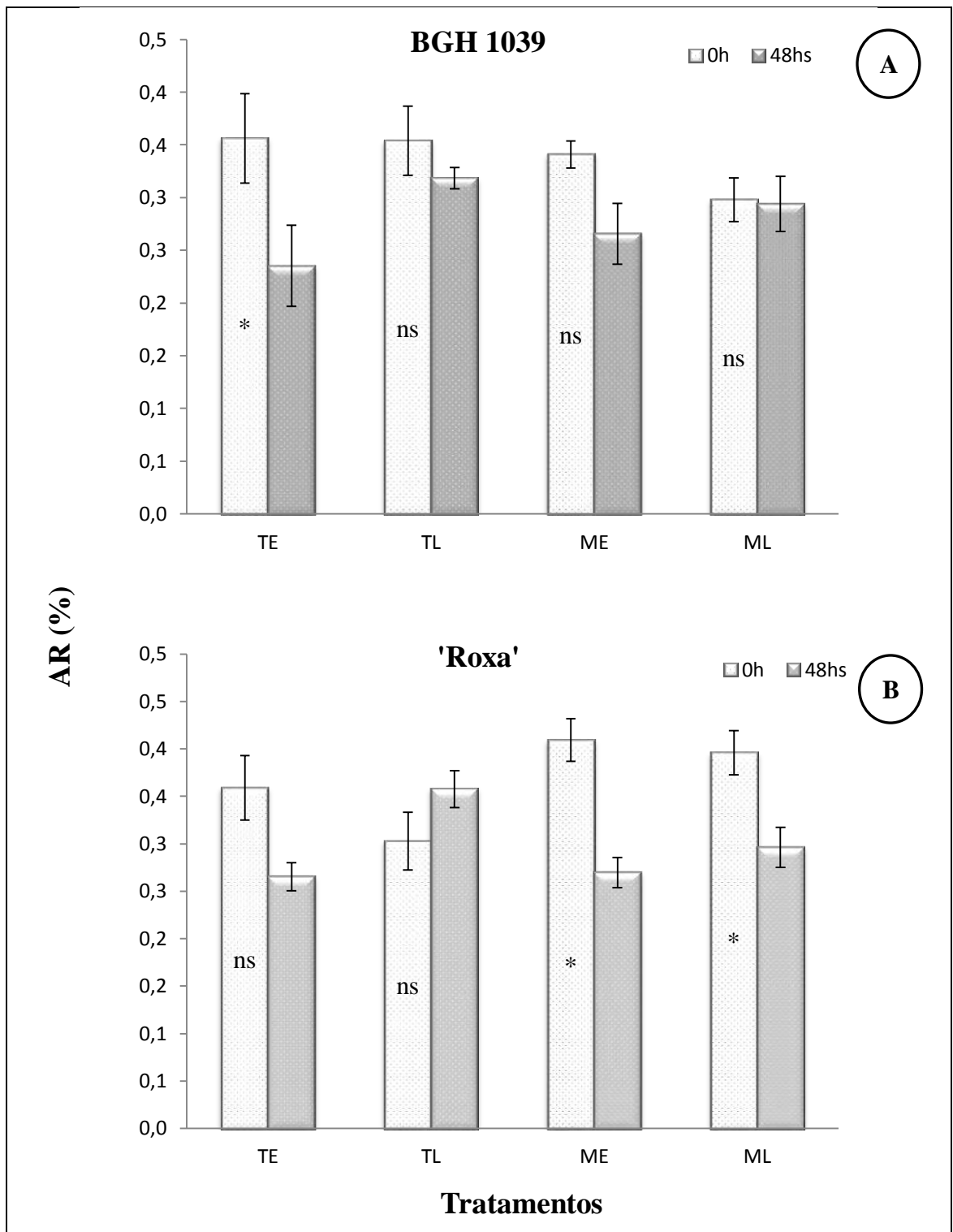


Figura 17 - Percentagem de açúcar redutor (AR) em plantas tratadas em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

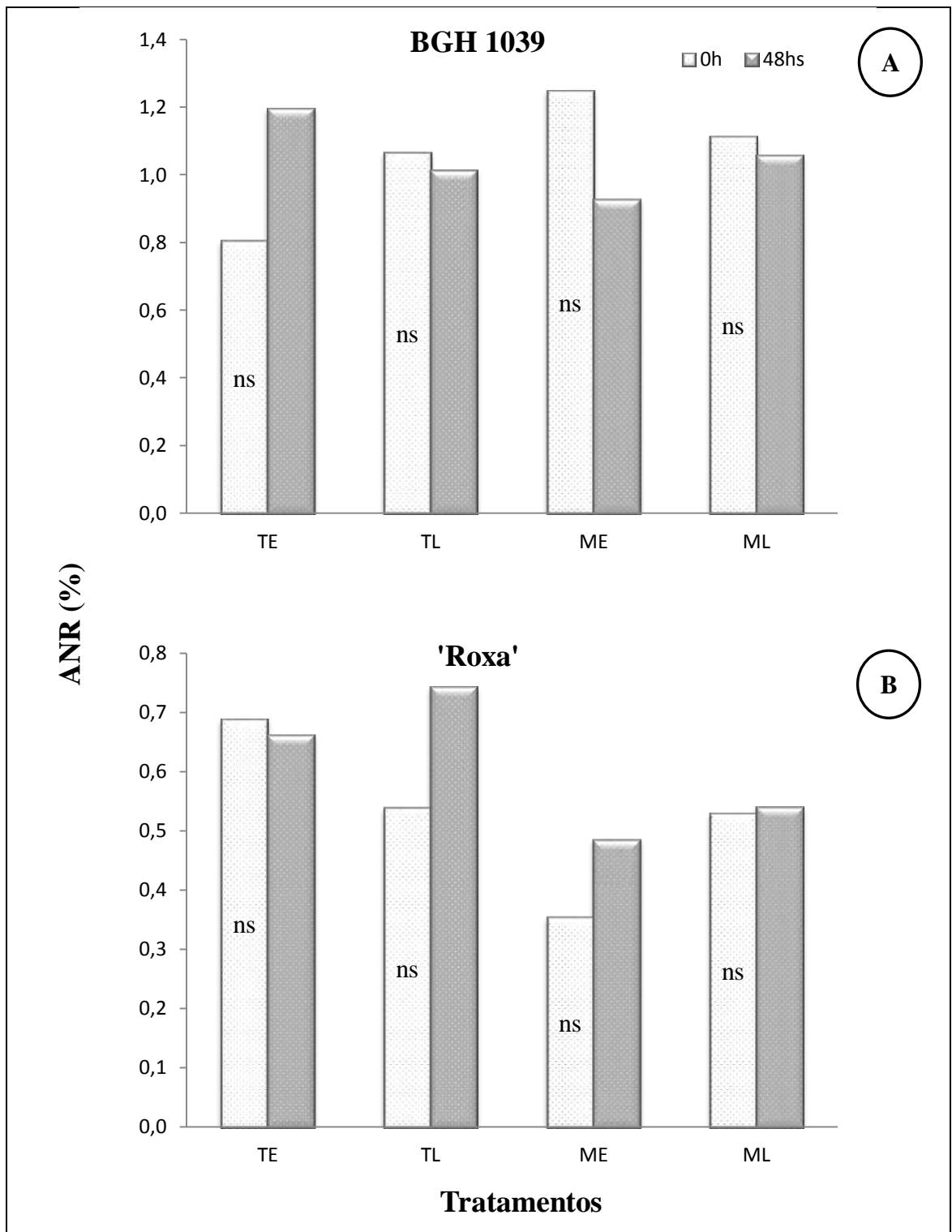


Figura 18 - Percentagem de açúcar não redutor (ANR) em plantas tratadas em plantas tratadas com 1-MCP à luz (ML) e no escuro (ME) e plantas não tratadas com 1-MCP, no escuro (TE), e à luz (TL), simulando uma condição de 48 h no transporte, a 35°C.

*, ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

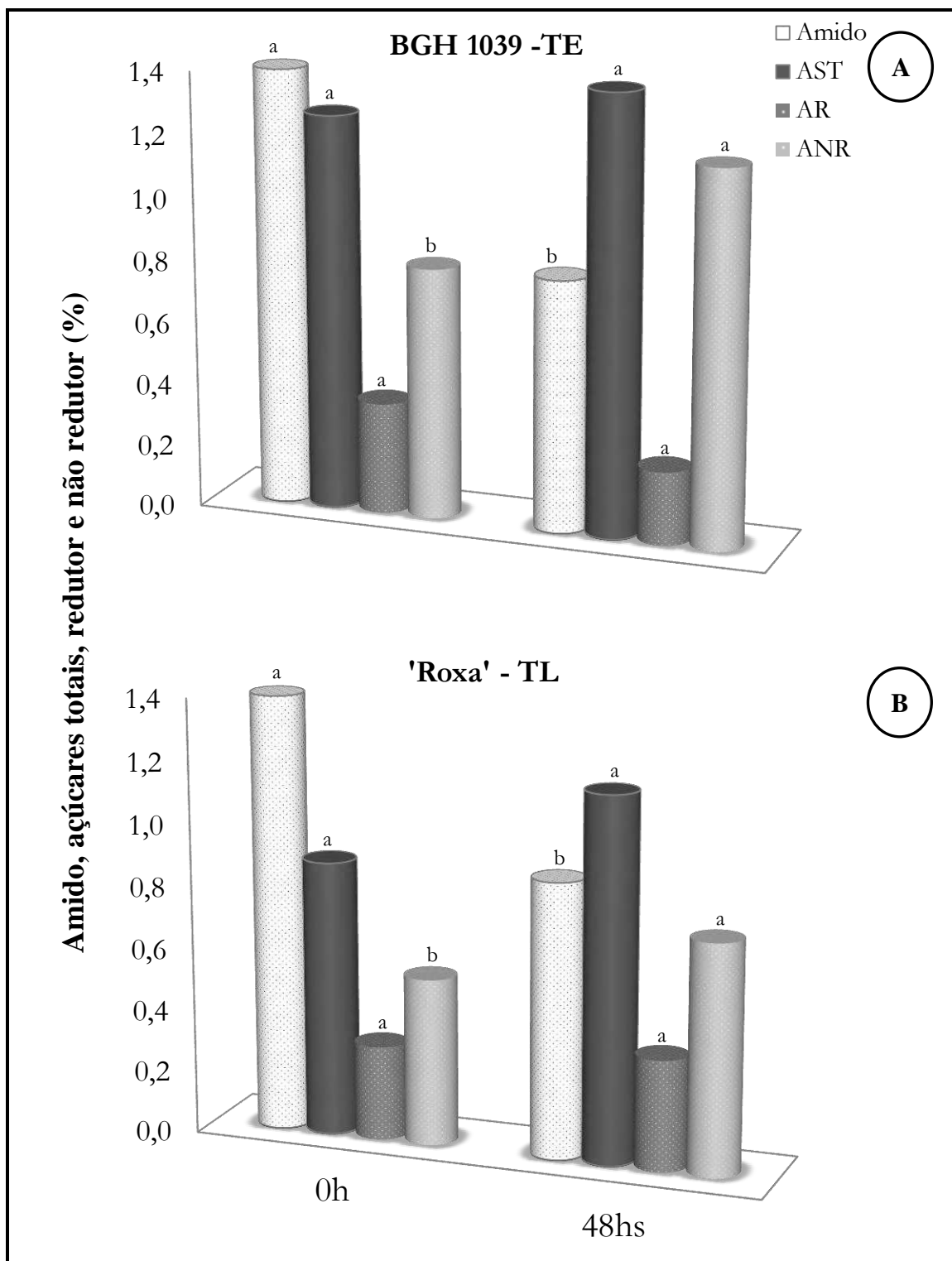


Figura 19 - Percentagem de amido, açúcares redutor (AR) e açúcares não redutor (ANR) em plantas submetidas a uma condição de transporte por 48 h a 35°C no escuro (TE) e na luz (TL) das variedades BGH 1039 e Roxa respectivamente.

* Médias seguidas pelas mesmas letras entre os tratamentos (0 h e 48 h) não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

4. CONCLUSÕES

A temperatura de 35°C provocou abscisão foliar das plantas de pimenta ornamental, decorrente do aumento da produção e/ou sensibilidade ao etileno nessa condição.

O 1-MCP inibiu drasticamente a queda foliar das pimentas ornamentais, expostas a alta temperatura, concedendo às plantas maior vida de prateleira. Entretanto, a resposta do 1-MCP em inibir os efeitos do etileno dependeu da variedade e das condições de luminosidade as quais as plantas foram submetidas.

As plantas da variedade BGH 1039 em condições que simulavam o transporte à luz apresentaram menor taxa de abscisão foliar que plantas no escuro. Na variedade Roxa, o escuro foi uma condição que favoreceu a manutenção da qualidade das plantas tratadas ou não com 1-MCP.

O 1-MCP aplicado à plantas de BGH 1039 à luz foi capaz de induzir a produção de carotenóides, e ainda fez aumentar a concentração de clorofilas totais em que a queda foliar foi menor (ML e ME) das plantas das variedades BGH 1039 e Roxa respectivamente, conferindo proteção dessas plantas ao calor.

Juntamente com a abscisão foliar, a temperatura de 35°C provocou redução da coloração verde das folhas das plantas da variedade BGH 1039, sob condição de escuro, o que prejudicaria a comercialização das plantas.

O período de 48 h, a 35°C, fez reduzir a concentração de amido nas folhas de pimenta ornamental. Essas condições favoreceram o acúmulo de açúcares não redutores nas folhas das plantas cujos tratamentos promoveram maior taxa de abscisão foliar (TE e TL nas variedades BGH 1039 e Roxa respectivamente).

O estresse térmico de 35°C ativou o mecanismo de defesa antioxidativa das plantas. As enzimas responsáveis pela defesa das plantas da variedade BGH 1039 pareceram ser a peroxidase e catalase, enquanto na variedade Roxa foram a peroxidase e ascorbato peroxidase.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, J.A. Catalase activity, hydrogen peroxide content and thermotolerance of pepper leaves. **Scientia Horticulturae**, 95: 277-284, 2002.
- Anderson, M.D.; Prasad, T.K.; Stewart, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiology**, 109: 1247-1257, 1995.
- Antunes, M. D. C., Sfakiotakis, E. M. Effect of high temperature stress on ethylene biosynthesis, respiration and ripening of 'Hayward' kiwifruit. **Postharvest Biology and Technology**, 20: 251-259, 2000.
- Araújo, S.A.; Do C; Deminici B. B. Fotoinibição da fotossíntese. *Revista Brasileira de Biociências* 7: 463-472, 2009. Acesso: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1009>.
- Beauchamp, C.; Fridovich, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, 44: 276-287, 1971.
- Berry J.A.; Björkman. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. **Annual Review Plant Physiology**, 31: 491-543, 1980.
- Blankenship, S.M.; Dole, J.M. 1-Methylcyclopropene: a review. **Postharvest Biology and Technology**, 28: 1-25, 2003.
- Borochoy, A.; Woodson, W.R. Physiology and biochemistry of flower petal senescence. **Horticultural Review**, 11: 15-43, 1989.
- Cameron, A.C.; M.S. 1-MCP blocks ethylene-induced petal abscission of *Pelargonium peltatum* but the effect is transient. **Postharvest Biology and Technology**, 22: 169-177, 2001.
- Chance, B.; Maehley, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, 2: 764-775, 1955.
- Chen, Y. T.; Chen, L.F.O.; Shaw, J.F. Senescence-associated genes in harvested broccoli florets. **Plant Science**, 175: 137-144, 2008.

- Dat, J.F., Lopez-Delgado, H.; Foyer, C.H.; Scott, I.M., Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. **Plant Physiology**, 116: 1351-1357, 1998.
- Del Longo, O.T.; González, A.; Pastori, G.M.; Trippi, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, 34: 1023-1028, 1993.
- Dere, S.; Gunes, T.; Sivaci, R. Spectrophotometric determination of chlorophyll - *a*, *b* and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. **Turkish Journal of Botany**, 22: 13-17, 1998.
- Díaz, J.; Merino, F. Wound-induced shikimate dehydrogenase and peroxidase related to lignification in pepper (*Capsicum annuum* L.) leaves. **Journal of Plant Physiology**, 152: 51-57, 1998.
- Djanaguiraman, M.; Prasad, P. V. Ethylene production under high temperature stress causes premature leaf senescence in soybean. **Functional Plant Biology**, 37: 1071-1084, 2011.
- Djanaguiraman, M.; Sheeba, J.A.; Devi, D.D., Bangarusamy, U. Cotton leaf senescence can be delayed by nitrophenolate spray through enhanced antioxidante defense system. **Journal Agronomy Crop Science**, 195: 213-224, 2009
- Dubois, M. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Biochemistry**, 28: 350-356, 1956.
- Ferronato, M.L. Aprimoramento de atributos comercialmente desejáveis em *Aster* sp cultivar whitemaster através do uso de reguladores do crescimento vegetal. **ScientiaAgrária**, 2: 1-2, 2001.
- Foyer C.H.; Lopez-Delgado H.; Dat, J.; Scott I. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling. **Physiology Plant**, 100: 241–254, 1997.
- Giannopolitis, C.N.; Ries, S.K. Superoxide dismutases: Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, 59: 309-314, 1977.
- Havir, E.A.; Mchale, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, 84: 450-455, 1987.

- Hays, D.B.; Do, J.H.; Mason, R.E.; Morgan, G.; Scott, A.F. Heat stress induced ethylene production in developing wheat grains induces kernel abortion and increased maturation in a susceptible cultivar. **Plant Science**, 172: 1113-1123, 2007.
- Hoyer, L. Critical ethylene exposure for *Capsicum annuum* “Janne” is dependent on an interaction between concentration, duration and developmental stage. **Journal of Horticultural Science** 71: 621-628, 1996.
- IBRAFLOR. **Cr terios de classifica o de pimenta ornamental**. Departamento de Qualidade e Pós-colheita. Cooperativa Veiling Holambra. Acesso site em agosto de 2011: <http://www.ibraflor.com/publicacoes/vw.php?cod=112>
- Junqueira, A.H.; Peetz, M.S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importância socio econ mica recente. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, 14: 37-52, 2008.
- Junqueira, A.H.; Peets, M. S. Os pólos de produ o de flores e plantas ornamentais do Brasil: uma análise do potencial exportador. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, 18: 25-47, 2002.
- Kar, M.; Mishra, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, 57: 315-319, 1976.
- Karim, M.A.; Fracheboud, Y.; Stamp, P. Photosynthetic activity of developing leaves of *Zea mays* is less affected by heat stress than that of developed leaves. **Physiologia Plantarum**, 105: 685-693, 1999.
- Koshiba, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedling and leaves of maize (*Zea mays*), **Plant Cell Physiology**, 34: 713-721, 1993.
- Larrigaudie, C.; Vilaplana, R.; Recasens, Y.S.I. Oxidative behaviour of Blanquilla pears treated with 1-methylcyclopropene during cold storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 84: 1871-1877, 2004.
- Lee, D.H.; Lee, C.B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. **Plant Science**, 159: 75-85, 2000.
- Lima, A.L.S.; DaMatta, F.M.; Pinheiro, H.A.; T tola, M.R.; Loureiro, M.E.; Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora*

- under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, 47: 239-247, 2002.
- Liou, S. Miller, W.B. Factors affecting ethylene sensitivity and 1-MCP response in tulip bulbs. **Postharvest Biology and Technology**, 59: 238-244, 2011.
- Liu, X., Huang, B. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. **Crop Science**, 40: 503-510, 2000.
- Magel, E.; Einig, W.; Hampp, R. 2000. Carbohydrates in trees. *In*: A.K. Gupta, N. Kaur. **Carbohydrates reserves in plants – synthesis and regulation**. Developments in Crop Science, 2000. p. 317-336.
- Malerba, M.; Crosti, P.; Cerana, R. Effect of heat stress on actin cytoskeleton and endoplasmic reticulum of tobacco BY-2 cultured cells and its inhibition by Co²⁺. **Protoplasma**, 239: 23-30, 2010.
- Mates, J.M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. **Toxicology**, 153: 83-104, 2000.
- McCREADY, R.M., GUGGOLZ, J., SILVEIRA, V., et al. Determination of starch and amylose in vegetables. **Analytic Chemistry**, 22, p. 1156-1158, 1950.
- Müller, R., Andersen A.S.; Serek M. Differences in display life of miniature potted roses (*Rosa hybrida* L.). **Scientia Horticulturae**, 76: 59-7, 1998.
- Nakano, Y.; Asada, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, 22: 867-880, 1981.
- Neves, L.L. de M. **Envolvimento de enzimas oxidativas no escurecimento do quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench]**. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, 2003. 72 p.
- Nelson, N.A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, 153: 375-380, 1944.
- Noctor, G.; Foyer, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 49: 249-279, 1998.
- Peixoto, P.H.P.; Cambraia, J.; Santanna, R.; Mosquim, P.R.; Moreira, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative

- metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 11: 137-143, 1999.
- Pereira, J.W.L., Melo Filho, P.A.; Albuquerque, M.B., Nogueira, R.J.M.C.; Santos, R.C. Biochemical changes in peanut genotypes submitted to moderate water stress. **Revista Ciência Agronômica**, 43(4): 766-773, 2012.
- Peyrano, G.; Taleisnik, E.; Quiroga, M.; De Forchetti, S.M.; Tigier, H. Salinity effects on hydraulic conductance, lignin content and peroxidase activity in tomato roots. **Plant Physiology Biochemistry**, 35: 387-393, 1997.
- Porat, R.; Halevy, A.H.; Serek, M.; Borochoy, A. An increase in ethylene sensitivity following pollination is the initial event triggering an increase in ethylene production and enhanced senescence of *Phalaenopsis* orchid flowers. **Physiologia Plantarum**, 88: 243-250, 1995.
- Rubinstein, B. Regulation of cell death in flower petals. **Plant Molecular Biology**, 44: 303-318, 2000.
- Sakamoto, M.; Munemura I.; Tomita, R.; Kobayashi, K. Involvement of hydrogen peroxide in leaf abscission signaling, revealed by analysis with an in vitro abscission system in Capsicum plants. **Plant Journal**, 56: 13-27, 2008.
- Segatto, F.B. **Avaliação da qualidade “pós-produção” de pimenta ornamental (*Capsicum annuum* L.) cultivada em vaso**. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa, 2007. 88 p.
- Serek, M.; Sisler, E.C. Efficacy of inhibitors of ethylene binding in improvement of the postharvest characteristics of potted flowering plants. **Postharvest Biology and Technology** 23: 61-166, 2001.
- Serek, M.; Reid, M.S. Anti-ethylene treatments for potted Christmas Cactus. Efficacy of inhibitors of ethylene action and biosynthesis. **HortScience**, 28: 1180-1181, 1993.
- Serek, M.; Sisler, E.C.; Reid, M.S. 1-methylcyclopropene, a novel gaseous inhibitor of ethylene action, improves the life of fruit, cut flowers and potted plants. **Acta Horticulturae**, 394: 337-345, 1995.

- Serek, M.; Sisler, E.C.; Reid, M.S. A volatile ethylene inhibitor improves the postharvest life of potted roses. **Journal of the American Society for Horticultural Science** 119: 572-577, 1994.
- Serrano-Martínez, A.; Fortea M.I.; Amor, F.M. del; Núñez-Delicado, E. Kinetic characterisation and thermal inactivation study of partially purified red pepper (*Capsicum annuum* L.) peroxidase. **Food Chemistry**, 107: 193-199, 2008.
- Sisler, E.C.; Serek, M.; Dupille, E. Comparison of cyclopropene, 1-methylcyclopropene, and 3,3-dimethylcyclopropene as ethylene antagonists in plants. **Plant Growth Regulation**, 18: 169-174, 1996.
- Soares, A.M.S.; Machado, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, 1(1): 9-19, 2007.
- Stitt, M.; Lilley, R.M.C.; Gerhard, R.; Heldt, H.W. Metabolite levels in specific cells and subcellular compartments of plant leaves. **Methods of Enzymology**, 174: 518-552, 1989.
- Streit, N. M.; Canterle L. P.; Canto, M. W. Do.; Hecktheuer, L. H. H. The Chlorophylls. **Ciência Rural**, 35: 748-755, 2005.
- Wise, R. R.; Olson, A.J.; Schrader, S.M.; Sharkey, T.D. Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown *Pima cotton* plant sat high temperature. **Plant, Cell and Environment**, 27: 717-724, 2004.
- Woltering, E.J. Effects of ethylene on ornamental pot plants: A classification. **Scientia Horticulturae**, 31: 283-294, 1987.
- Woo H.R.; Kim J.H.; Nam H.G.; Lim P.O. The delayed leaf senescence mutants of *Arabidopsis*, ore1, ore3 and ore9 are tolerant to oxidative stress. **Plant Cell Physiol**, 45: 923-932, 2004.

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO DE ESTRATÉGIAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA TOLERÂNCIA ÀS CONDIÇÕES DE ESTRESSE PROVOCADAS PELO TRANSPORTE EM PLANTAS DE PIMENTA ORNAMENTAL

RESUMO

As condições de estresse que geralmente resulta do transporte de plantas de pimenta ornamental limitam sua vida de prateleira. Recentemente, o papel de antocianinas na fotoproteção em plantas tem atraído atenção dos pesquisadores. O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento de duas variedades de pimenta ornamental com diferente pigmentação foliar, para caracterizar as principais estratégias fisiológicas envolvidas na tolerância às condições de estresse provocadas pelo transporte. Para tanto, utilizaram-se duas variedades de pimenta ornamental: BGH 1039 de coloração nas folhas verde, e a variedade Roxa, de coloração verde-arroxeadas nas folhas, em resposta ao estresse térmico ($35 \pm 2^\circ\text{C}$) à luz e sob condições normais de temperatura em ambiente interno ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). As variedades de pimenta ornamental (*Capsicum annuum* L.) com diferente pigmentação foliar apresentaram estratégias fisiológicas de tolerância diferentes em respostas às condições de estresse provocadas pela simulação do transporte. A menor atividade das enzimas do sistema antioxidante e menor concentração de antocianinas apresentadas pelas plantas da variedade BGH 1039, atribuem a essa variedade uma baixa capacidade fotoprotetora, possibilitando maior ocorrência de danos oxidativos o que, possivelmente, promoveu a maior taxa de abscisão foliar. As plantas da variedade Roxa, submetidas à simulação de transporte em relação às plantas que permaneceram na condição de temperatura ambiente, não houve redução de A e nos demais parâmetros de trocas gasosas avaliados (g_s e C_i). Os resultados deste trabalho indicam que as limitações bioquímicas inerentes ao estresse no transporte na variedade BGH 1039 é devido, principalmente, ao fato de que essa variedade apresenta um mecanismo antioxidativo ineficiente e uma incapacidade de dissipação de energia, atribuída a uma menor concentração de antocianinas presente em suas folhas.

1. INTRODUÇÃO

A fotoproteção da fotossíntese é um mecanismo eficiente de dissipação térmica e uma alternativa para a cadeia de transporte de elétrons, que em conjunto com alterações no complexo antena, ajudam a equilibrar a absorção da luz e sua utilização em ambientes naturais. Entretanto, sob condições severas de estresse, a capacidade dos mecanismos protetores pode ser insuficiente, podendo acarretar, como consequência final, a redução da taxa fotossintética e, quando a irradiância excede a capacidade de utilização da luz na fotossíntese, a fotoinibição da fotossíntese pode ocorrer (Barth *et al.*, 2001; Bertamini & Nedunchezian, 2003).

A fotoinibição é manifestada por uma queda na eficiência fotoquímica do fotossistema (FS) II (Pandey *et al.*, 2005), que pode ser avaliada pela razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima (F_v/F_m) da clorofila *a* (Krause & Weis, 1991). Essa razão pode ser usada como um indicador sensível do desempenho fotossintético das plantas (Maxwell & Johnson, 2000), com valores ótimos em torno de 0,80 - 0,83, medidos em várias espécies vegetais (Björkman & Demmig, 1987).

Uma vez que, via de regra, as limitações à assimilação do CO₂ precedem a inativação das reações de transferência de elétrons, ocorrerá a sobre-excitação dos transportadores de elétrons no cloroplasto, podendo, assim, exacerbar a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) nos cloroplastos (García-Plazaola *et al.*, 1997).

Dentre tais ERO's, destacam-se o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxil (OH^{\cdot}) e o oxigênio singlete (1O_2), que seriam produtos inevitáveis do metabolismo celular (Yu & Rengel, 1999). Tais compostos são potencialmente capazes de resultar em danos fotoinibitórios e fotooxidativos (Asada, 1999), incluindo a peroxidação de lipídios (Mascher *et al.*, 2002), a desnaturação de proteínas e a mutação do DNA (Asada, 1999; Mascher *et al.*, 2002). Além disso, a peroxidação de lipídios de membrana pode resultar na perda de compartimentalização celular (Asada, 1999), levando ao aumento do extravasamento de eletrólitos e, conseqüentemente, intensificação do processo de abscisão foliar.

Para proteção da maquinaria fotossintética contra estresses oxidativos, as plantas precisam dissipar o excesso de energia luminosa, o que pode ser alcançado mediante a regulação da eficiência fotoquímica, via ciclo das xantofilas [fortemente correlacionada com o coeficiente de dissipação não-regulada de energia do FSII (NPQ)] (Demmig-Adams *et al.*, 1996), por manutenção do fluxo de elétrons envolvendo rotas alternativas, como a fotorrespiração (Ort & Baker, 2002) e a reação de Mehler (Asada, 1999; Apel & Hirt, 2004; Osório *et al.*, 2006) ou, ainda, por atuação do sistema de defesa antioxidativo (Asada, 1999; Apel & Hirt, 2004). Tal sistema compreende mecanismos enzimáticos, composto pelas chamadas “enzimas antioxidantes” (*e.g.*, dismutase do superóxido, SOD; catalase, CAT; peroxidase do ascorbato, APx; peroxidase da glutatona, GPX), além da participação de moléculas antioxidantes de pequeno peso molecular, como o ascorbato, a glutatona reduzida e o α -tocoferol (Noctor & Foyer, 1998; Asada, 1999; Ort & Baker, 2002).

Recentemente, o papel de antocianinas na fotoproteção tem atraído alguma atenção (Feild *et al.*, 2001; Manetas *et al.*, 2002; Hoch *et al.*, 2003; Nagata *et al.*, 2003; Hughes *et al.*, 2005; Kytridis & Manetas, 2006; Hughes *et al.*, 2007; Hughes & Smith, 2007; Zhang *et al.*, 2011; Manetas & Buschmann, 2011). As antocianinas fazem parte de um grupo de compostos denominado flavonóides, amplamente distribuídas no vacúolo das células do parênquima esponjoso e palissádico do mesofilo de muitas espécies de plantas. Responsáveis pela maioria das cores vermelha, rosa, roxa e azul observadas nos vegetais, desempenham funções diversas, incluindo-se pigmentação e defesa. Por colorir flores e frutos, elas são de importância vital como atrativo para polinizadores e dispersores de sementes (Steyn *et al.*, 2002). Entretanto, outras funções ecofisiológicas das antocianinas têm sido atribuídas, como: soluto compatível que

contribui para ajustamento osmótico em condições de deficiência hídrica e frio; como antioxidante; proteção contra luz UV; proteção contra luz visível.

Antocianinas podem estar presentes, em determinados tecidos, apenas em períodos limitados do desenvolvimento da planta (por exemplo, no tecido juvenil ou senescente) e sua presença pode ser controlada por fotoperíodo e temperatura. Esses pigmentos hidrosolúveis, absorvem luz nos comprimentos de onda na faixa de 400 a 600 nm, conseqüentemente, menor quantidade de luz azul-verde está disponível, para excitar as clorofilas, quando estão presentes (Pietrini & Massacci, 1998; Smillie & Hetherington, 1999), sugerindo que as antocianinas agem como filtros da luz visível e, portanto, possuem um papel fotoprotetor (Close & Beadle, 2003). No geral, as antocianinas são capazes de absorver até 17% da radiação fotossinteticamente ativa incidente (Neill & Gould, 1999). Outro papel de antocianinas que poderia potencialmente diminuir o efeito adverso das ERO é o seu ação como antioxidantes (Wang *et al.*, 1997).

A produção de variedades melhoradas é dependente do conhecimento das estratégias morfológicas e fisiológicas envolvidas na tolerância a estresses ambientais. Assim, este experimento teve o objetivo de estudar o comportamento de duas variedades de pimenta ornamental (*Capsicum annuum* L.) com diferentes pigmentações foliares, como forma de caracterizar algumas estratégias fisiológicas envolvidas na tolerância às condições de estresse provocadas pelo transporte.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Generalidades

As plantas foram crescidas em casa de vegetação na Universidade Federal de Viçosa, (UFV), em Viçosa/MG, (latitude 20° 45' 20" S e longitude 42° 52' 40" W, 651 m de altitude). Foram utilizadas sementes da espécie *C. annuum* L. das variedades BGH1039 (folhas com coloração verde) e Roxa (folhas com coloração verde-roxa), provenientes do Banco de Germoplasma do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa e EPAMIG, respectivamente (Figura 1). As sementes foram colocadas para germinar em bandeja de isopor contendo substrato comercial. Ao atingirem o estágio de três pares de folhas verdadeiras (aproximadamente 35 dias), as plantas foram transplantadas para vasos de 760 mL, 10 cm de altura e 13 cm de diâmetro da borda.



Figura 20 - Plantas de pimenta ornamental, variedade BGH1039 (folhas com coloração verde) à direita e Roxa (folhas com coloração verde-roxa) à esquerda, utilizadas no experimento.

Os tratos culturais durante o experimento foram: (i) remoção manual das plantas daninhas; (ii) Adubação foliar com Bioferti[®]; (iii) Adubação com 1,25 mg.vaso⁻¹ de sulfato de amônio e 0,625 mg vaso⁻¹ de cloreto de potássio, via solo; (iv) Uso de fungicida e inseticida quando necessários. As plantas foram desenvolvidas em casa de vegetação até atingirem ponto de comercialização, ou seja, 30% frutos maduros.

2.2 Do experimento

As plantas das duas variedades (BGH 1039 e Roxa) foram expostas, durante 48 h, a duas temperaturas diferentes, impostas com o auxílio de câmaras de crescimento. As plantas foram divididas dois grupos de plantas com 8 plantas (8 repetições) em cada grupo. Um grupo de plantas permaneceu por sob temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ (Controle) e o outro grupo de plantas permaneceu por sob temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ (Transporte). No interior das câmaras de crescimento, as plantas foram expostas a luz fluorescente de aproximadamente 18 mmols de fótons min^{-1} e UR 60-65%. Não foi realizada a simulação de movimento do transporte nas plantas.

2.3 Trocas gasosas e parâmetros de fluorescência

A taxa de assimilação líquida do carbono (A), a condutância estomática (g_s) e a concentração intercelular CO_2 (C_i) foram medidas, em sistema aberto, sob luz saturante ($750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e pressão parcial constante de CO_2 (40 Pa), com um analisador de gases a infravermelho (Li-6400, LICOR). Curvas de resposta de A à irradiância (curva A/RFA) foram produzidas, incrementando-se a RFA em 12 etapas, de 0 a $1600 \mu\text{mol}$ (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a 25°C e pressão parcial constante de CO_2 (40 Pa), como descrito em Iio *et al.*, (2005). O rendimento quântico aparente (α) e a irradiância de compensação (I_c) foram estimados por meio da regressão linear da porção inicial da curva [$0 \leq \text{RFA} \leq 150 \mu\text{mol}$ (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$]. Utilizou-se um modelo matemático para determinar a taxa de assimilação líquida do carbono sob luz saturante ($A_{\text{máx}}$) e a irradiância de saturação (I_s) (Quero *et al.*, 2006). A taxa respiratória no escuro (R_d) foi determinada na antemanhã.

Os parâmetros de fluorescência da clorofila a foram determinados nas mesmas duas folhas utilizadas para as medições de trocas gasosas, por meio do fluorômetro

modulado portátil (MINI-PAM, WALZ). A fluorescência inicial (F_0), a fluorescência máxima (F_m), a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema (FS) II (F_v/F_m), o rendimento quântico do transporte de elétrons (Φ_{FSII}) e o coeficiente de dissipação não-regulada de energia do FSII (NPQ) foram estimados conforme Baker (2008). Para calcular-se a taxa de transporte de elétrons (TTE), considerou-se que o FS II e o FSI absorvem quantidades iguais de luz; assim TTE foi estimada como: $TTE = [RFA \text{ efetivamente interceptada pela folha}] \times [\text{absortância foliar}] \times \Phi_{FSII} \times 0,5$; a absortância foliar foi calculada a partir da concentração de clorofila por unidade de área (Evans, 1993).

2.4. Pigmentos e Nitrogênio

a. Clorofila e carotenóides

Os níveis de clorofilas e carotenóides foram determinados de acordo com o método descrito por Dere *et al.*, (1998), com modificações. As amostras foram provenientes de folhas completas sem o pecíolo e colocadas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80°C . Aproximadamente em média de 0,4 g da amostra foram pesados e macerados sob condições de baixa luminosidade. Os pigmentos foram extraídos dos tecidos foliares por maceração em almofariz com pistilo, contendo 2 mL de metanol 95%. Após maceração e filtragem, o papel de filtro foi lavado com metanol e o volume foi ajustado em balão volumétrico de 25 mL. Foi realizada a leitura com o espectrofotômetro a 666, 653 e 470 nm.

b. Antocianina

Os níveis de antocianina antes e após aplicação dos tratamentos foram determinados de acordo com o método descrito por Giusti & Wrolstad, (2001), com modificações. As amostras foram provenientes de folhas completas sem o pecíolo e colocadas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80°C . Aproximadamente uma média de 0,4 g da amostra foram pesados e macerados sob condições de baixa luminosidade. Os pigmentos foram extraídos dos tecidos foliares por maceração em almofariz com pistilo, contendo 2 mL de metanol P.A. Após maceração e filtração, o papel de filtro foi lavado com metanol e o volume ajustado em balão volumétrico de 25 mL. Como meio de reação, utilizou-se tampão cloreto de potássio 0,025 M, pH 1,0 e

tampão acetato de sódio 0,4 M, pH 4. Amostras de 1 mL do extrato foi adicionado 1 mL do tampão de cloreto de potássio, pH 1,0 e, em uma outra amostra de 1mL do mesmo extrato foi acrescentado o outro tampão de acetato de sódio, pH 4,5, a estabilização da reação ocorria durante 15 min. Foram feitas as leituras com o espectrofotômetro a 700 e 543nm para cada amostra.

A fórmula usada para o cálculo dos níveis de antocianina foi:

$$A = (A_{543} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{543} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

Giusti & Wrolstad, (2001)

c. Nitrogênio

Amostras foliares, antes e após os tratamentos, foram secas a 70°C, por 72 h, nas quais se determinaram o nitrogênio orgânico (Jackson, 1958) e o nitrogênio nítrico (Cataldo *et al.*, 1975). A soma das duas frações representa o nitrogênio total.

2.5 Análises enzimáticas

Na determinação da atividade das enzimas e de metabólitos, amostras foliares, foram coletadas antes e após os tratamentos, e o material foi congelado em nitrogênio líquido e armazenado a - 80°C.

Os extratos enzimáticos brutos para as determinações das atividades da catalase (CAT), da peroxidase (POX), da ascorbato peroxidase (APX) e da superóxido dismutase (SOD) foram obtidos pela maceração de aproximadamente 0,3 g de tecido vegetal em N₂ líquido, seguido da adição de 2 mL do seguinte meio de homogeneização: tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) a 1% (p/v) (Peixoto *et al.*, 1999). Seguiu-se filtração através de quatro camadas de gaze e centrifugação a 12000 g por 15 min, a 4°C, obtendo-se um extrato enzimático bruto.

a. Determinação da atividade da catalase

A atividade da catalase foi determinada pela adição de 20 µL do extrato enzimático foliar em 880 µL de um meio de reação constituído de tampão fosfato de

potássio 50 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM (Havir & McHale, 1987 modificado). O decréscimo na absorbância a 240 nm, à temperatura de 25°C, foi medido durante o primeiro minuto de reação, sendo, a atividade da CAT determinada com base na inclinação da reta nos primeiros segundos, após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 36 M⁻¹ cm⁻¹ (Anderson *et al.*, 1995) e o resultado expresso em μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

b. Determinação da atividade da peroxidase

A atividade da peroxidase nos tecidos foliares foi determinada pelo método de Kar & Mishra (1976), modificado. Alíquotas de 40 μL do extrato enzimático foram adicionados 780 μL de uma mistura de reação constituída de tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, guaiacol 20 mM e H₂O₂ 20 mM. O acréscimo na absorbância a 470 nm, à temperatura de 25°C, foi medido durante o primeiro minuto de reação, sendo, a atividade da POX determinada com base na inclinação da reta nos primeiros segundos, após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 26,6 mM⁻¹ cm⁻¹ (Chance & Maehley, 1955) e o resultado expresso em μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

c. Determinação da atividade da ascorbato peroxidase

A atividade da ascorbato peroxidase foi determinada de acordo com o método de Nakano & Asada (1981), porém modificado por Koshihira (1993). Alíquotas de 30 μL do extrato enzimático bruto foliar, foram adicionados a 770 μL de um meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0, ácido ascórbico 0,8 mM e H₂O₂ 1 mM. O decréscimo na absorbância a 290 nm, à temperatura de 25°C, foi medido durante o primeiro minuto de reação, sendo, a atividade da APX determinada com base na inclinação da reta nos primeiros segundos, após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 2,8 mM⁻¹ cm⁻¹ (Nakano & Asada, 1981) e o resultado expresso em μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

d. Determinação da atividade da superóxido dismutase

A atividade da superóxido dismutase foi determinada pela adição de 30 μL do extrato enzimático bruto foliar a 2,97 mL de um meio de reação constituído de tampão de fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, contendo metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) a 75 μM, EDTA 0,1 mM e riboflavina 2 μM (Del Longo *et al.*, 1993).

A reação foi conduzida a 25°C, numa câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W mantida no interior de uma caixa fechada. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul produzida pela fotorredução do NBT foi medida a 560 nm (Giannopolitis & Ries, 1977). A absorbância a 560 nm, de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro, por igual tempo, serviu de “branco” e foi subtraído da leitura da amostra que recebeu iluminação. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade da enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (Beauchamp & Fridovich, 1971).

2.6 Peróxido de hidrogênio

Para o meio extração, aproximadamente 0,150 g de amostra foliar em 2,5 mL tampão fosfato-Na 100 mM foram maceradas (pH 6,8) + PVPP 8 % e, após centrifugadas a 18000g por 20 min a 4°C. Em seguida, adicionou-se a 790 µL do tampão fosfato-Na, 100µL do extrato, 100 µL de Guaiacol, 10 µL da enzima peroxidase purificada. Foi realizada a leitura da absorvância imediata com o espectrofotômetro a 410nm (Lee & Lee, 2000) modificado.

2.7 Abscisão foliar

Para medir-se a senescência prematura das folhas, as plantas, ao chegar da casa de vegetação, eram colocadas sobre a bancada do laboratório Pós-colheita do departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, onde se procedia a contagem total das folhas de cada planta. Cada vaso era revestido com sacos plásticos antes da aplicação dos tratamentos. Após 48 h, tempo que marca o final do experimento, era contado o número de folhas caídas de cada planta. A diferença entre o número de folhas total e as folhas de cada planta que haviam caído era usado para o cálculo da percentagem de abscisão foliar.

2.8 Análises estatísticas

O experimento foi instalado sob delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 x 2 (duas variedades e duas

temperaturas), com oito repetições. Cada unidade experimental consistiu-se de uma única planta. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas entre si pelo teste *F* em 5% de probabilidade, utilizando-se do Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas da UFV (SAEG-UFV, 1997).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros derivados do ajuste de curvas *A* x RFA (hipérbole retangular) foram determinados para as duas variedades submetidas a condições normais, antes da imposição dos tratamentos pós-produção (Tabela 1). A variedade Roxa apresentou maior α (28%) em relação à variedade BGH 1039 (0,0058 e 0,00042 respectivamente). A I_c e I_s foram menores nas folhas da variedade Roxa [16 e 320 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente], valores 22 e 43 % inferiores os apresentados nas folhas da variedade BGH 1039 [28 e 412 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente]. Ademais, R_d foi 25% inferior nas folhas da variedade Roxa em relação à variedade BGH 1039. Entretanto, sob condições de luz saturante, a variedade BGH 1039, apresentou maior capacidade de fixação de CO_2 , a julgar pelos maiores valores (33%) de $A_{\text{máx}}$ (Tabela 1).

O α expressa a eficiência do uso da luz do aparato fotossintético para a assimilação de CO_2 , teoricamente, o valor máximo que α pode assumir é 0,125; equivalente a 8 moles de fótons requeridos para reduzir um mol de CO_2 na ausência de fotorrespiração. Contudo, sob condições de estresse esse valor pode diminuir significativamente (Singsaas *et al.*, 2003). Normalmente, plantas sob condições de sombreamento apresentam maior α em relação a plantas cultivadas sob alta irradiância (Lambers *et al.*, 1998).

Fisiologicamente, baixos valores de I_c devem permitir a obtenção de um balanço positivo de carbono sob irradiâncias extremamente baixas, evento esse, provavelmente, associado à menor R_d . Desta forma, maior inclinação inicial da curva *A* x RFA (maior α) associada à menor R_d e I_c , apresentados pela variedade Roxa em relação à BGH 1039, contribuem para um maior ganho de carbono sob condições limitantes de luminosidade.

Tabela 1: Parâmetros derivados das curvas A x RFA [rendimento quântico aparente (α), irradiância de compensação (I_c); irradiância saturada (I_s), taxa de assimilação de carbono máxima ($A_{m\acute{a}x}$) e respiração no escuro (R_d)] de duas variedades de pimenta ornamental (BGH 1039 e Roxa).

Parâmetros	BGH 1039 (verde)	Roxa (roxa)
α [$\mu\text{mol (CO}_2\text{)} \mu\text{mol}^{-1}\text{fótons}$]	0,0042 \pm 0,002 b	0,0058 \pm 0,006 a
$A_{m\acute{a}x}$ [$\mu\text{mol (CO}_2\text{)} \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$]	8,6 \pm 0,6 a	5,7 \pm 1,4 b
I_c [$\mu\text{mol fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$]	28,1 \pm 5,0 a	16,4 \pm 2,3 b
I_s [$\mu\text{mol fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$]	411,8 \pm 48,2 a	320,1 \pm 19,6 b
R_d [$\mu\text{mol (CO}_2\text{)} \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$]	1,6 \pm 0,2 a	1,2 \pm 0,2 b

* Para a mesma variável, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste *F*, em 5% de probabilidade.

Os maiores valores pontuais de *A* (32%) obtidos pela variedade BGH 1039 em relação à variedade Roxa, na condição controle (Tabela 2), ajudam a confirmar a maior capacidade fotossintética potencial naquela variedade. Destaca-se que, nessa condição, a variedade BGH1039 apresentou maiores valores de g_s (33%), o que pode explicar os maiores valores de C_i (20%) e, conseqüentemente, maior *A* (Tabela 2).

Quando as condições de estresse de transporte foram simuladas, o comportamento fisiológico dos parâmetros de trocas gasosas da variedade Roxa é evidenciado. Nesta variedade, quando as plantas foram submetidas à simulação de transporte em relação às plantas que permaneceram na condição controle, não houve redução de *A* e nos demais parâmetros de trocas gasosas avaliados (g_s e C_i). Contudo, nas plantas da BGH 1039, ao se fazer essa mesma comparação, observa-se que *A* foi severamente reduzido (75%), acompanhada por redução em g_s (38%) e ligeiro aumento de C_i (Tabela 2).

Assim, na variedade BGH 1039, a limitação de *A* quando as condições de transporte foram simuladas, pode ser atribuída a limitações difusivas e bioquímicas. Sob condição de transporte, outra limitação importante que contribui para a redução de *A* nas plantas da variedade BGH 1039 é a redução de F_v/F_m (10%), associada a redução de ϕ_{FSII} (67%) e, conseqüentemente, redução na TTE (68%) (Tabela 2). A ocorrência de altas temperaturas pode inibir a *A* devido ao declínio de g_s , decréscimo no estado de ativação da Rubisco via inibição da ativase da Rubisco, limitação no transporte de

elétrons e pela redução na capacidade de regeneração da ribulose 1,5 bifosfato (Wise *et al.*, 2004).

As folhas da variedade Roxa, quando submetidas às condições de transporte, apresentaram respostas fotoquímicas semelhantes às folhas de plantas da condição controle, destacando-se, a manutenção dos valores de F_v/F_m (0.80) (Tabela 2). A manutenção das reações fotoquímicas nessa variedade pode ser explicada pela maior capacidade de dissipação de energia na forma fotoquímica (maior ϕ_{FSII}) e maior capacidade de dissipação de energia na forma não fotoquímica, como verificado pelo aumento do NPQ (72%), fato que não ocorreu na variedade BGH 1039 (Tabela 2).

A redução da relação F_v/F_m é um excelente indicador de efeito fotoinibitório quando as plantas estão submetidas a qualquer tipo de estresse e pode representar tanto uma regulação fotoprotetora reversível (fotoinibição dinâmica), ou por uma inativação irreversível do FS II (fotoinibição crônica). Entretanto, especificamente na variedade BGH 1039, quando o transporte foi simulado, como as reduções de F_v/F_m foram associadas a limitações bioquímicas da fotossíntese, sugere-se que a inativação seja irreversível em função da ocorrência de danos causados pela condição estressante, principalmente a exposição a temperaturas elevadas.

Tabela 2: Parâmetros de trocas gasosas [taxa de assimilação líquida de carbono (A), condutância estomática (g_s) e concentração intercelular de CO_2 (C_i)] de fluorescência da clorofila a [eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m), rendimento quântico do FII (ϕ_{FSII}), coeficiente de dissipação não-regulada de energia do FSII (NPQ) e taxa de transporte de elétrons (TTE)] em folhas de duas variedades de pimenta ornamental sob condições ambiente (Controle) e simulando uma condição parcial de transporte (Transporte).

Parâmetros	BGH 1039 (verde)		Roxa (roxa)	
	Controle	Transporte	Controle	Transporte
A	6,8 ± 0,7 aA	1,7 ± 0,4 bB	4,6 ± 0,3aB	4,2 ± 0,2 aA
g_s	146 ± 41 aA	60 ± 21 bA	98 ± 18 aB	71 ± 12 aA
C_i	275 ± 30 aA	288 ± 62 aA	220 ± 28 aB	198 ± 26 bB
F_v/F_m	0,81 ± 0,01aA	0,74 ± 0,00 bB	0,80 ± 0,00 aA	0,80 ± 0,00 aA
ϕ_{FSII}	0,18 ± 0,01aA	0,06 ± 0,00 bB	0,20 ± 0,03 aA	0,16 ± 0,01 bA
NPQ	0,93 ± 0,04aA	1,09 ± 0,05 aB	1,12 ± 0,09 bA	1,93 ± 0,03 aA
TTE	55,1 ± 1,3 aA	17,8 ± 0,9 bB	59,7 ± 1,0 aA	48,9 ± 1,1 aA

* Para a mesma variável, dentro de cada variedade, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não são significativamente diferentes entre variedades dentro de uma mesma condição. As médias foram comparadas entre si pelo teste F , a 5% de probabilidade.

Independentemente da condição de pós-produção (controle ou transporte) a qual as plantas foram submetidas, a variedade Roxa apresentou uma maior concentração de clorofilas, não havendo diferença entre os tratamentos pós-produção. Essa variedade, além de maior concentração de clorofilas, apresentou menor relação clorofilas a/b , e maior concentração de N (Tabela 3), características marcantes de plantas que se desenvolvem em ambientes sombreados. Resultados muito distintos foram obtidos pela variedade BGH 1039.

Além de apresentar menor concentração de clorofilas ($a + b$), houve redução da concentração de clorofilas nas folhas de plantas submetidas à simulação do transporte (Tabela 3). De fato, nessa condição, foi evidente o amarelecimento das folhas. Nessa variedade, a redução da concentração de clorofilas esteve associada com redução da concentração de N (Tabela 3), confirmando a intensificação do processo de senescência foliar em plantas dessa variedade quando submetidas à simulação de transporte. Um dos

eventos que caracteriza a senescência foliar são o amarelecimento e a degradação de clorofilas foliar (Krupinska & Humbeck, 2008).

Durante a senescência, macromoléculas são degradadas, remobilizadas e transportadas de órgãos senescentes para as partes da planta em crescimento. O mais importante nutriente reciclado no caso é o nitrogênio, em função do alto investimento e assimilação desse nutriente (Krupinska & Humbeck, 2008). A redução de clorofilas podem também ajudar a explicar a queda dos valores do ϕ_{FSII} , pois essa diminuição contribui para uma menor absorção de energia para a etapa fotoquímica da fotossíntese. Esse fato, associado à manutenção da concentração de clorofilas *b* e redução da concentração de clorofilas *a* e, portanto, redução da relação clorofila *a/b*, também contribuem para reduções da *A*.

Plantas da variedade Roxa tinham folhas, não surpreendentemente (dada a sua coloração), com maior (80%) conteúdo de antocianinas do que as folhas da variedade BGH 1039, que possuíam folhas de coloração verde (Tabela 3). Observações anteriores com outras espécies mostram que folhas com maior concentração de antocianinas são menos susceptíveis à fotoinibição, embora que a concentração de antocianinas esteja associada com menores concentrações dos componentes do ciclo das xantofilas (Manetas *et al.*, 2002). Isso sugere que as antocianinas diminuem a necessidade de dissipação de energia pelo ciclo das xantofilas (podendo levar a menores valores de NPQ) ou, inversamente, as antocianinas favoreceriam a fotoproteção em situações onde a produção de xantofilas é suprimida.

Assim, folhas da variedade Roxa, podem compensar uma menor capacidade de fotoproteção, devido à deficiência de xantofilas [a julgar pela não alteração na concentração de carotenóides (Tabela 3)], promovendo um efeito fotoprotetor equivalente, pela grande quantidade de antocianinas, apesar de não possuir a mesma capacidade fotossintética das folhas verdes da variedade BGH 1039.

Os resultados mostram uma maior concentração de clorofilas em folhas com maior concentração de antocianinas, como ocorreu na variedade Roxa. Isso está em contraste com trabalhos anteriores que indicam que a concentração de clorofila é inversamente relacionada à concentração de antocianinas (Manetas *et al.*, 2003; Zeliou *et al.*, 2009).

Em folhas da variedade Roxa, uma maior concentração de clorofilas associada a uma maior concentração de antocianinas, juntamente com a menor relação clorofila *a/b*

(na condição de controle), podem promover uma menor incidência de luz nos cloroplastos (sombra), uma vez que folhas de sombra geralmente exibem maior concentração de clorofilas do que folhas de sol (Björkman, 1982) e menor proporção de clorofila *a/b* (Anderson, 1995). Assim, as antocianinas estariam agindo como uma molécula fotoprotetora, reduzindo a possibilidade de acúmulo de energia na cadeia de transporte de elétrons fotossintética e, assim, a probabilidade de ocorrência de fotoinibição.

Devido à elevada concentração de antocianinas nas folhas da variedade Roxa, menos luz atinge os cloroplastos (fotossistemas) e, portanto, menor será a capacidade fotossintética dessas folhas (menor $A_{\text{máx}}$). O aumento da concentração de antocianinas promove a redução da expressão de enzimas do Ciclo de Calvin, como forma de regular o processo fotossintético, a fim de estabelecer um equilíbrio entre a produção e utilização de fotoassimilados, evitando a ocorrência de fotoinibição e subsequentes danos oxidativos (Jeannette *et al.*, 2000). Contudo, uma vez que menos luz atinge os fotossistemas, a eficiência do uso da luz será maior (maior α). Antocianinas têm sido associadas com a maior capacidade de fotoproteção em outras espécies (Li *et al.*, 2008; Nielsen & Simonsen, 2011). Além do mais, uma alta concentração de antocianinas além de ser capaz de reduzir os danos fotooxidativos pode contribuir para o aumento da eficiência de recuperação de nutrientes durante o período de senescência (Fiel *et al.*, 2001).

Tabela 3: Concentração de pigmentos (mg g^{-1} MF) e de nitrogênio (% na MS) em folhas de duas variedades de pimenta ornamental sob condições ambiente (Controle) e simulando uma condição parcial de transporte (Transporte).

Parâmetros	BGH 1039 (verde)		Roxa (roxa)	
	Controle	Transporte	Controle	Transporte
Clorofila <i>a</i>	1,25 ± 0,03 aB	0,72 ± 0,05 bB	1,73 ± 0,02 aA	1,74 ± 0,03 aA
Clorofila <i>b</i>	0,48 ± 0,01 aB	0,43 ± 0,03 aB	0,83 ± 0,01 aA	0,88 ± 0,02 aA
Clorofila <i>a/b</i>	2,60 ± 0,03 aA	1,67 ± 0,05 bB	2,06 ± 0,06 aB	1,98 ± 0,15 aA
Clorofilas (<i>a + b</i>)	1,74 ± 0,10 aB	1,16 ± 0,19 bB	2,57 ± 0,15 aA	2,62 ± 0,20 aA
Carotenóides	0,18 ± 0,01 aA	0,13 ± 0,01 aA	0,14 ± 0,01 aA	0,11 ± 0,05 aA
Antocianinas	1,63 ± 0,06 aB	1,46 ± 0,13 aB	7,16 ± 0,40 aA	8,22 ± 0,33 aA
Nitrogênio	1.94 ± 0.09 aB	1.09 ± 0.08 bB	3.05 ± 0.12 aA	2.82 ± 0.18 aA

* Para a mesma variável, dentro de cada variedade, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não são significativamente diferentes entre variedades dentro de uma mesma condição. As médias foram comparadas entre si pelo teste *F*, a 5% de probabilidade.

Os danos provocados pela condição de transporte foram avaliados por meio da abscisão foliar (Tabela 4). Quando as condições de transporte foram simuladas, a variedade BGH 1039 apresentou uma elevada porcentagem de abscisão foliar (45%), enquanto a variedade Roxa, nessa mesma condição, apresentou menor abscisão foliar (10%), valores esses semelhantes à condição-controle (Tabela 4). A relação entre a concentração de antocianinas e abscisão foliar, quando as condições de transporte foram simuladas, está caracterizada na Figura 2. Na medida em que ocorre o aumento da concentração de antocianinas (até aproximadamente 4 mg g^{-1} MF), observa-se uma redução acentuada na abscisão foliar.

A atividade das enzimas SOD, CAT e APX foi significativamente maior na variedade Roxa (Tabela 4), atribuindo a essa variedade maior capacidade de remoção de EROs. Nas duas variedades houve aumento significativo na atividade da POD, quando as plantas foram submetidas à simulação do transporte. Possivelmente, em função de um sistema antioxidante enzimático mais robusto, a variedade Roxa apresentou uma menor concentração de H_2O_2 na condição controle (46%) e, também, quando o transporte foi simulado (54%) (Tabela 4).

Quando a capacidade de dissipação do excesso de energia é saturada, a atuação eficiente do sistema antioxidante enzimático age de forma fundamental na proteção celular, diminuindo a ocorrência de estresse oxidativo. Assim, a menor atividade das enzimas do sistema antioxidante e menor concentração de antocianinas, apresentado pela variedade BGH 1039, imprimem a essa variedade uma baixa capacidade fotoprotetora, levando à maior ocorrência de danos oxidativos o que, possivelmente, promove a maior taxa de abscisão foliar (Tabela 4, Figura 2).

Tabela 4: Atividade de enzimas do sistema antioxidativo ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) [dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbado (APX), peroxidases (POD)] e concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em folhas de duas variedades de pimenta ornamental sob condições ambiente (Controle) e simulando uma condição parcial de transporte (Transporte).

Parâmetros	BGH 1039 (verde)		Roxa (roxa)	
	Controle	Transporte	Controle	Transporte
SOD	1,29 ± 0,03 aB	1,15 ± 0,03 aB	2,94 ± 0,13 aA	2,68 ± 0,12 aA
CAT	0,11 ± 0,01 bB	0,22 ± 0,01 aB	0,41 ± 0,01 aA	0,38 ± 0,01 aA
APX	0,20 ± 0,01 aB	0,23 ± 0,01 aB	1,20 ± 0,05 bA	1,53 ± 0,07 aA
POD	0,48 ± 0,04 bA	1,89 ± 0,06 aA	0,42 ± 0,01 bA	2,18 ± 0,08 aA
H₂O₂	2,08 ± 0,25 aA	2,73 ± 0,17 aA	1,12 ± 0,35 aB	1,28 ± 0,13 aB
Abscisão foliar	5,2 ± 2,1 bA	45,2 ± 9,7 aA	6,2 ± 3,3 aA	10,8 ± 4,2 aB

* Para a mesma variável, dentro de cada variedade, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não são significativamente diferentes entre variedades dentro de uma mesma condição. As médias foram comparadas entre si pelo teste *F*, a 5% de probabilidade.

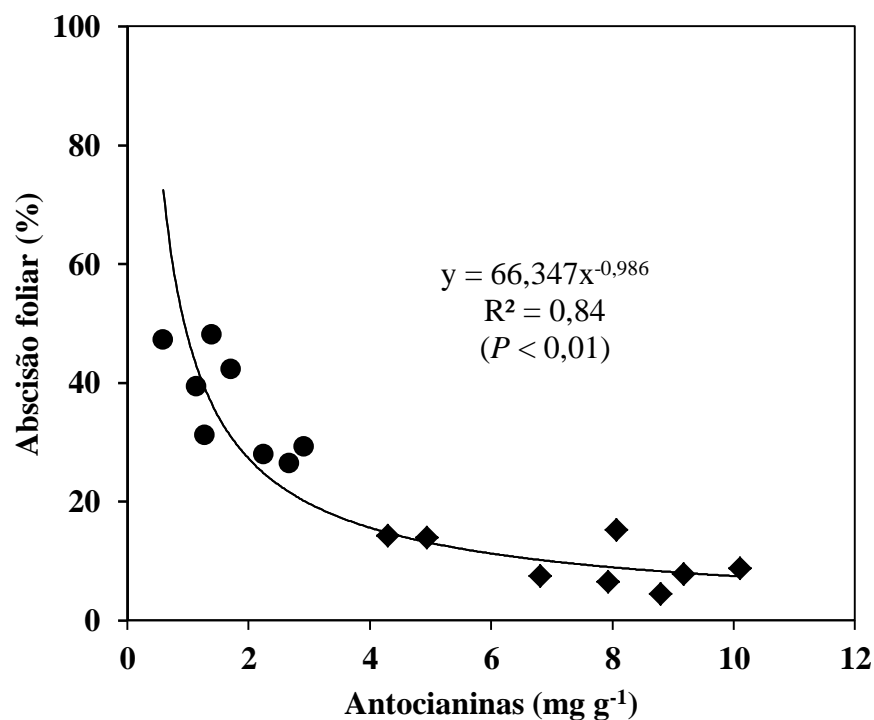


Figura 21- Relação entre a concentração de antocianinas (mg g⁻¹ MF) e abscisão foliar (%) em folhas de duas variedades de pimenta ornamental [BGH 1039 (círculos) e Roxa (losangos)] sob condição parcial de transporte.

4. CONCLUSÕES

As variedades de pimenta ornamental (*Capsicum annuum* L.) com diferentes pigmentações foliares apresentam estratégias fisiológicas de tolerância diferentes em respostas às condições de estresse provocadas pelo transporte.

Os resultados deste trabalho indicam que as limitações bioquímicas inerentes ao estresse no transporte na variedade BGH 1039 é devido principalmente ao fato de que essa variedade apresenta um mecanismo antioxidativo ineficiente e uma baixa capacidade de dissipação de energia, atribuída a uma menor concentração de antocianinas em suas folhas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, M.D.; Prasad, T.K.; Stewart, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiology**, 109: 1247-1257, 1995.
- Apel, K.; Hirt, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, 55: 373-399, 2004.
- Asada, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 50: 601-639, 1999.
- Baker, N.R. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Physiology**. 59:89-113, 2008.
- Barth, C., Krause G.H.; Winter, K. Response of photosystem I compared with photosystem II to high-light stress in tropical shade and sun leaves. **Plant Cell Environ**, 24, 163-176, 2001.
- Beauchamp, C.; Fridovich, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, 44: 276-287, 1971.
- Bertamini, M.; Nedunchezian, N. Photoinhibition of photosynthesis in mature and young leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Plant Science**, 164: 635-644, 2003.
- Björkman, O.; Demmig, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, 170: 489-504, 1987.
- Cataldo, D.A.; Haroon, M.; Schrader, L.E.; Youngs, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 6: 71-80, 1975.
- Chance, B.; Maehley, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, 2: 764-775, 1955.
- Close, D.C.; Beadle, C.L. The ecophysiology of foliar anthocyanin. **The Botanical Review**, 69: 149-161, 2003.

- Del Longo, O.T.; González, A.; Pastori, G.M.; Trippi, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, 34:1023-1028, 1993.
- Demmig-Adams, B.; Adams III, W.W.; Baker, D.H.; Logan B.A., Bowling D.R.; Verhoeven A.S. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. **Physiology Plantarum**, 98: 253-264, 1996.
- Dere, S.; Gunes, T.; Sivaci, R. Spectrophotometric determination of chlorophyll - A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. **Turkish Journal of Botany** 22: 13-17, 1998.
- Dias, P.C. **Variação especial da fotossíntese e de mecanismos de fotoproteção no cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, Dissertação (Mestrado). 2006, 49p.
- Evans J. Photosynthetic acclimation and nitrogen partitioning within a Lucerne canopy II. Stability through time and comparison with a theoretical optimum. **Australian Journal of Plant Physiology**, 20: 69-82, 1993.
- Field, T.S.; Lee, D.W.; Holbrook, N.M. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of redosier dogwood. **Plant Physiology**, 127: 566-574, 2001.
- García-Plazaola, J.I.; Faria, T.; Abadía, A.; Chaves, M.M.; Pereira, J.S. Seasonal changes in xanthophylls composition and photosynthesis of cork oak (*Quercus suber* L.) leaves under Mediterranean climate. **Journal of Experimental Botany**, 48: 1667-1674, 1997.
- Giannopolitis, C. N.; Ries, S. K. Superoxide dismutases: Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, 59:309-314, 1977.
- Giusti, M.; Wrolstad, R. E. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. 2001, 1.2.1- 2.13p.
- Havir, E.A.; Mchale, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, 84: 450-455, 1987.

- Hoch, W.A.; Singsaas, E.L.; McCown, B.H. Resorption protection. Anthocyanins facilitate nutrient recovery in autumn by shielding leaves from potentially damaging light levels. **Plant Physiology**, 133: 1296-1305, 2003.
- Hughes, N.M., Smith, W.K.: Seasonal photosynthesis and anthocyanin production in 10 broadleaf evergreen species. *Funct. Plant Biology*, 34: 1072-1079, 2007.
- Hughes, N.M.; Morley, C.B.; Smith, W.K.: Coordination of anthocyanin decline and photosynthetic maturation in juvenile leaves of three deciduous tree species. – **New Phytologist**, 175: 675-685, 2007.
- Hughes, N.M.; Neufeld, H.S.; Burkey, K.O. Functional role of anthocyanins in high-light winter leaves of the evergreen herb *Galax urceolata*. **New Phytologist**, 168: 575-587, 2005.
- Iio A.; Fukasawa H.; Nose, Y.; Kato, S.; Kakubari, Y. Vertical, horizontal and azimuthal variations in leaf photosynthetic characteristics within a *Fagus crenata* crown in relation to light acclimation. **Tree Physiology**, 25: 525-536, 2005.
- Jackson, M.L. **Soil chemical analysis**. Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1958, 498p.
- Jeannette, E.; Reyss, A.; Grégory, N.; Gantet, P.; Prioul, J.L. Carbohydrate metabolism in heat-girdled maize source leaf. **Plant Cell Environmental**, 23: 61-69, 2000.
- Kar, M.; Mishra, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, 57: 315-319, 1976.
- Koshiha, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedling and leaves of maize (*Zea mays*), **Plant Cell Physiology**, 34: 713-721, 1993.
- Krause, G.H.; Weis, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 42: 313-249, 1991.
- Krupinska, K.; Humbeck, K. Senescence processes and their regulation. **Plant Biology**, 10: 1-3, 2008.
- Kytridis, V.P.; Manetas, Y. Mesophyll versus epidermal anthocyanins as potential in vivo antioxidants: evidence linking the putative antioxidant role to the proximity of oxyradical, **Journal of Experimental Botany**, 57: 2203-2210, 2006.

- Lambers, H.; Chapin, III F.S.; Pons, T.L. **Plant physiological ecology**, 1998, 539 p.
- Lee, D.H.; Lee, C.B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. **Plant Science**, 159: 78-85, 2000.
- Li, N.; Liu, J.H.; Zhang, J.; Yu, B.Y. Comparative evaluation of cytotoxicity and antioxidative activity of 20 flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56: 3876–3883, 2008.
- Manetas, Y.; Drinia, A.; Petropoulou, Y. High contents of anthocyanins in young leaves are correlated with low pools of xanthophyll cycle components and low risk of photoinhibition. **Photosynthetica**, 40: 349-354, 2002.
- Manetas, Y. Petropoulou, G.K. Psaras, A. Drinia. Exposed red (anthocyanic) leaves of *Quercus coccifera* display shade characteristics. **Functional Plant Biology**, 30: 265–270, 2003.
- Manetas Y.; Buschmann C. The interplay of anthocyanin biosynthesis and chlorophyll catabolism In: Senescing leaves and the question of photosystem II photoprotection **Photosynthetica**, 49: 515-522, 2011.
- Mascher R.; Lippmann, B.; Holzinger, S.; Bergmann, H. Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants. **Plant Science**, 163: 961-969, 2002.
- Maxwell, K.; Johnson, G.N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, 51: 659-668, 2000.
- Nagata, T.;Todoriki, S.; Masumizu, T.; Suda, I.; Furuta, S.; Du, Z., Kikuchi; S.: Levels of active oxygen species are controlled by ascorbic acid and anthocyanin in *Arabidopsis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51: 2992-2999, 2003.
- Nakano, Y.; Asada, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology** 22:867-880, 1981.
- Neill, S.O.; Gould, K.S. Optical properties of leaves in relation to anthocyanin concentration and distribution. **Canadian Journal of Botany**, 77: 1777-1782, 1999.

- Nielsen, S.L.; Simonsen, A.-M. Photosynthesis and photoinhibition in two differently coloured varieties of *Oxalis triangularis* – the effect of anthocyanin content. **Photosynthetica**, 49: 346-352, 2011.
- Noctor, G.; Foyer, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 49: 249-279, 1998.
- Ort, D.R.; Baker, N.R. A photoprotective role for O₂ as an alternative electron sink in photosynthesis? **Current Opinion in Plant Biology**, 5: 193-198, 2002.
- Osório, M.L.; Breia, E.; Rodrigues, A.; Osório, J.; Roux, X.L.; Daudet, F.A.; Ferreira, I.; Chaves, M.M. Limitations to carbon assimilation by mild drought in nectarine trees growing under field conditions. **Environmental and Experimental Botany**, 55: 235-247, 2006.
- Pandey, D.M.; Kang, K.H.; Yeo, U.D. Effects of excessive photon on the photosynthetic pigments and violaxanthin de-epoxidase activity in the xanthophylls cycle of spinach leaf. **Plant Science**, 168: 161-166, 2005.
- Peixoto, P.H.P., Cambraia, J., Santanna, R., Mosquim, P.R., Moreira, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 11:137-143, 1999.
- Pietrini, F.; Massacci, A. Leaf anthocyanin content changes in *Zea mays* L. grown at low temperature: Significance for the relationship between quantum yield of PS II and the apparent quantum yield of CO₂ assimilation. **Photosynthetic Research**, 58: 213-219, 1998.
- Quero, J.L.; Villar, R.; Maranhón, T.; Zamora, R. Interactions of drought and shade effects on seedlings of four *Quercus* species: physiological and structural leaf responses. **New Phytology**, 170: 819-834, 2006.
- Singsaas E.L.; Ort D.R.; DeLucia E.H. 2001. Variation in measured values of photosynthetic quantum yield in ecophysiological studies. **Oecologia**, 128: 15-23, 2003.
- Sistema de Análises Estatísticas E Genéticas – SAEG. versão 7.1. Viçosa, MG, Fundação Arthur Bernardes, 1997.

- Smillie, R.M.; Hetherington, S.E. Photoabatement by anthocyanin shields photosynthetic systems from light stress. **Photosynthetica**, 36: 451-463, 1999.
- Steyn W.; Wand, S.; Holcroft, D.; Jacobs, G. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. **New Phytologist**, 155: 349-36, 2002
- Taiz, L.; Zeiger, E. **Fisiologia vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.
- Wang, H.; Cao, G.; Prior, R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45: 304-309, 1997.
- Wise, R.R.; Olson, A.J.; Schrader, S.M.; Sharkey, T.D. Electron transport is the functional limitation of photosynthesis infield-grown *Pima cotton* plants at high temperature. **Plant, Cell and Environment**, 27: 717-724, 2004.
- Yu, Q.; Rengel, Z. Drought and salinity differentially influence activities of superoxide dismutase in narrow-leafed lupines. **Plant Science**, 142: 1-11, 1999.
- Zeliou, K.; Manetas, Y.; Petropoulou, Y. Transient winter leaf reddening characterizes weak (stress sensitive) individuals, yet anthocyanins cannot alleviate the adverse effects on photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, 60: 3031-3042, 2009.
- Zhang, X.D.; Allan, A.C.; Yi, Q.; Chen, L.C.; Li, K.; Shu, Q.; Su, J. Differential gene expression analysis of yunnan red pear, *Pyrus Pyrifolia*, during fruit skin coloration. **Plant Molecular Biology Reporter**, 29: 305-314, 2011.

CONCLUSÃO GERAL

Uma vida de prateleira mais longa de pimentas ornamentais é observada com o uso do inibidor da ação do etileno 1-MCP, pois inibe drasticamente a queda das folhas decorrentes do estresse térmico. Entretanto, a resposta das plantas ao 1-MCP para inibir os efeitos deletérios do etileno, depende da variedade e das condições de luminosidade as quais as plantas são submetidas.

A manutenção da qualidade pós-produção em pimentas ornamentais, visando reduzir os efeitos decorrentes da simulação do transporte, em condições de estresse, pode ser obtida com trabalhos de melhoramento, selecionando variedades que apresentam maior concentração de antocianinas e um eficiente sistema antioxidativo.