

JÚLIEN DA SILVA LIMA

**MATURAÇÃO DE SEMENTES E APLICAÇÃO PRÉ-PRODUÇÃO DE
SUBSTÂNCIAS ANTIETILÊNICAS EM PIMENTA ORNAMENTAL**

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

L732m
2012

Lima, Júlien da Silva, 1980-

Maturação de sementes e aplicação pré-produção de substâncias antietilênicas em pimenta ornamental / Júlien da Silva Lima. – Viçosa, MG, 2012.

ix, 73f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Fernando Luiz Finger.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Pimenta - Efeito do etileno. 2. Pimenta - Conservação.
3. Pimenta - Fisiologia pós-colheita. 4. Pimenta - Semente -
Maturação. 5. Pimenta - Semente - Qualidade. I.
Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 635.643

JÚLIEN DA SILVA LIMA

**MATURAÇÃO DE SEMENTES E APLICAÇÃO PRÉ-PRODUÇÃO DE
SUBSTÂNCIAS ANTIETILÊNICAS EM PIMENTA ORNAMENTAL**

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: 16 de março de 2012.

Paula Acácia Silva Ramos

Raimundo Santos Barros
(Coorientador)

José Geraldo Barbosa

Cleide Maria Ferreira Pinto

Fernando Luiz Finger
(Orientador)

A DEUS.

Aos meus pais Airton (in memoriam) e Júlia.

Ao meu companheiro, amigo e amado Frederico.

DEDICO.

“Ninguém é suficientemente perfeito, que não possa aprender com o outro, e ninguém é totalmente desprovido de valores, que não possa ensinar algo ao seu irmão.”

São Francisco de Assis

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa – UFV;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro;

Ao Prof. Fernando Finger, pela orientação e dedicação;

À Prof^ª.Elizanilda Ramalho do Rego, pela atenção e orientação estatística;

Às minhas grandes amigas Rithielen e Teresa Maria, pela valiosa amizade e pelo apoio jamais dispensado.

Aos funcionários da “Horta Nova”, principalmente ao Gabriel, pela ajuda na condução dos experimentos;

Aos colegas do Laboratório de Pós-colheita, pelo companheirismo, em especial à Juliane, Ruxton, Ana Paula, Deise e Tênia e ao funcionário Geraldo;

A minha mãe Júlia, pelo exemplo de força, coragem e amor;

Ao Frederico pelos conselhos, paciência, carinho, e por sempre estar ao meu lado.

CONTEÚDO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVOS	3
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
CAPÍTULO I.....
Alterações Fisiológicas e Bioquímicas em Sementes de Pimenta em Função do Estádio de Maturação e do Processo de Deterioração	5
RESUMO	5
1. INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1. Experimento 1 - Alterações físicas e fisiológicas em sementes de pimenta ornamental durante o processo de maturação	9
2.2. Experimento 2 - Alterações enzimáticas em sementes de pimenta envelhecidas artificialmente	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
3.1. Experimento 1 - Alterações físicas e fisiológicas em sementes de pimenta ornamental durante o processo de maturação	14
3.2. Experimento 2 - Alterações enzimáticas em sementes de pimenta envelhecidas artificialmente	26
4. CONCLUSÕES	32
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO II
Ação da aminoetoxivinilglicina (AVG) e 1-metilciclopropeno (1-MCP) em pimenta ornamental	37
RESUMO	37
1. INDRODUÇÃO	39

2. MATERIAL E MÉTODOS	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4. CONCLUSÕES	50
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
CONCLUSÕES GERAIS	68
APÊNDICE	69

RESUMO

LIMA, Júlien da Silva, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2012. **Maturação de sementes e aplicação pré-produção de substâncias antitelêmicas em pimenta ornamental.** Orientador: Fernando Luiz Finger. Coorientadores: Raimundo Santos Barros e Elizanilda Ramalho do Rêgo.

As pimentas são importantes plantas para o setor de agricultura, ornamentação e indústria alimentícia por ser fonte de pigmentos, aroma e sabor peculiares. Como a planta de pimenta é propagada por semente, é importante o controle da qualidade fisiológica e conhecimento prévio do processo de formação e desenvolvimento do fruto, possibilitando a obtenção de sementes com elevada germinação e vigor. Objetivou-se nesse trabalho avaliar as alterações físicas, fisiológicas e enzimáticas em sementes de pimenta ornamental, variedade MG 302, obtidas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação. Frutos de pimenta foram colhidos aos 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 e 80 dias após a abertura floral (DAA) e as sementes foram extraídas e submetidas a testes de qualidade fisiológica e tiveram determinadas as atividades enzimáticas da peroxidase (POD) e álcool desidrogenase (ADH) após o envelhecimento acelerado. As sementes até os 45 DAA não apresentaram capacidade de germinar, a partir dos 50 DAA, as médias passaram de 0 para 66%, alcançando 90% aos 80 DAA. Observou-se a tendência de distinção de duas fases de desenvolvimento das sementes, uma provável fase de intensa divisão celular e outra de acúmulo de matéria seca. O momento de transição das duas prováveis fases, entre 55 e 60 dias, coincidiu com a modificação da coloração dos frutos do verde escuro para o vermelho. A colheita dos frutos de pimenta ornamental MG 302 pode ser realizada acompanhando as modificações da coloração do fruto, quando os frutos encontravam-se totalmente vermelhos. O ponto de maturidade fisiológica das sementes de pimenta da variedade MG 302, ocorreu entre 75 e 80 DAA. As sementes

de pimenta tornaram-se tolerantes à dessecação a partir de 50 DAA. A atividade das enzimas ADH e POD mostrou-se reduzida em sementes com o aumento do tempo de envelhecimento e aumentada ao longo da maturação, de acordo com o teste de envelhecimento acelerado. Com o objetivo de aumentar a longevidade de pimenteiros ornamentais, outro estudo foi realizado com o objetivo de testar a eficiência do uso de inibidores da biossíntese e da ação do etileno aplicados isolados ou combinados na fase de produção em plantas de pimenta ornamental envasadas da variedade Calypso. Para isso, plantas de pimenta, variedade Calypso, foram tratadas com inibidores da biossíntese e ação do etileno, aplicados isoladamente e combinados, seguidos da exposição ou não ao etileno. Foram avaliadas a qualidade e durabilidade comercial das plantas, mediante a determinação da intensidade de coloração verde das folhas, determinada com o aparelho SPAD e abscisão foliar acumulada. Os valores de SPAD e abscisão mostraram que houve crescente aumento na queda de folhas, com médias superiores a 50%, para os tratamentos em que as plantas foram tratadas com etileno. As plantas responderam melhor aos inibidores quando estas não foram tratadas com etileno, pulverizadas com aminoetoxivinilglicina (AVG) e 1-metilciclopropeno (1-MCP), com abscisão total próximo a 50% no término das avaliações aos 22 dias. As plantas pulverizadas na fase que antecedeu a fase de pós-produção, com AVG e 1-MCP, sem posterior exposição ao etileno, tiveram maior durabilidade pós-colheita, variedade Calypso. O tratamento das plantas com 1-MCP fumigado e posterior aplicação de etileno foi eficiente em minimizar o amarelecimento e queda de folhas da pimenta. A aplicação simultânea dos inibidores AVG e 1-MCP em plantas de pimenta não resultaram em efeito aditivo.

ABSTRACT

LIMA, Júlien da Silva, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2012. **Seed maturation and application of anti-ethylene substances in ornamental pepper at pre-production stage.** Adviser: Fernando Luiz Finger. Co-advisers: Raimundo Santos Barros and Elizanilda Ramalho do Rêgo.

Peppers are important commercial plants, as for ornamental and food industries source of pigments, flavor and peculiar taste. Since pepper is propagated by seed, it is important to control the physiological quality and processes of seed and fruits formation, allowing to obtain seeds with elevated germination and vigor. This work had the goal to evaluate the physical, physiological and enzymatic changes in seeds of ornamental peppers of variety MG 302, harvested from fruits in different stages of maturation. Fruits were collected at 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 and 80 days after flowering (DAF) and the seeds were extracted and submitted to physiological quality tests and the activity of peroxidase (POD) and alcohol dehydrogenase (ADH) after accelerated ageing. Seeds with 45 DAF did not germinate, beginning at 50 DAF, the germination jumped from 0 to 66%, reaching 90% at 80 DAF. It determined two phases of seeds development, one with probable cell division and another with accumulation of dry matter. The transition of the two phases probably occurred between 55 and 60 DAF, parallel to the color change from dark green to red. The fruits harvest of the ornamental pepper MG 302 can be done by following the changes in the fruit color, which happens when the fruits are completely red. The physiological maturation of the seeds for the MG 302 occurred between 75 and 80 DAF. The seeds became tolerant to drying after 50 DAF. The activities ADH and POD were reduced in the seeds with the time of ageing and increased with the maturation, according to the accelerated ageing test. With the goal to increase the longevity of ornamental peppers, another study was conducted to determine the

efficiency of the ethylene synthesis and action inhibitors, applied alone and in combination during growth in potted variety Calypso. For that, pots of cultivar Calypso were treated with the inhibitors followed or not by ethylene treatment. It was determined the quality and commercial duration by the leaf color, determined with the SPAD apparatus and total abscission. The values of SPAD and abscission showed elevation of leaf abscission, with average superior to 50% for the plants treated with ethylene. Better response was obtained when the plants were treated with the ethylene inhibitors aminoethoxyvinylglycine (AVG) and 1-methylcyclopropene (1-MCP), without treatment with ethylene accounting with less than 50% abscission after 22 days. The plants of Calypso sprayed with AVG and 1-MCP, without ethylene treatment, had longer postharvest longevity. Plants fumigated with 1-MCP, followed by ethylene was efficient in minimizing leaf yellowing. The simultaneous use of AVG and 1-MCP had no additive effect in the pepper plants.

INTRODUÇÃO GERAL

O nome pimenta vem da forma latina *pigmentum*, “material corante” e entre as espécies domesticadas há *Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense* e *Capsicum pubescens*, que são classificadas quanto a pungência, coloração, tamanho e formato dos frutos e porte da planta (Reifschneider, 2000).

As pimentas são importantes para o setor da agricultura e da indústria, por apresentarem características como fonte de pigmentos, aroma e sabor peculiares. Os frutos podem ser consumidos *in natura*, desidratados e comercializados inteiros ou ainda, na forma de conservas e molhos.

A variabilidade genética no gênero *Capsicum* é consideravelmente elevada, principalmente nos frutos, que podem apresentar diferentes tamanhos, formatos, ardor e coloração. A cor dos frutos varia do vermelho, amarelo, alaranjado, preto e ainda uma mistura de cores em um mesmo fruto (Moreira *et al.*, 2006). O ardor ou pungência das pimentas deve-se a presença de alcalóides, principalmente a capsaicina que, além de empregados na indústria de alimentos como condimentos, também estão sendo utilizados como componentes de medicamentos para aliviar dores musculares e inflamações (Moreira *et al.*, 2006). Isoladamente, a capsaicina é hidrofóbica, incolor e inodora, além disso, é um agente irritante para os mamíferos (Bontempo, 2007).

Como a planta de pimenta é propagada por semente, é importante o controle da qualidade fisiológica e conhecimento prévio do processo de formação e desenvolvimento do fruto, possibilitando a obtenção de sementes com elevada germinação e vigor. Para isso, faz-se necessária a realização da colheita no momento adequado, próxima ao ponto de maturidade fisiológica, minimizando perdas por ataque de pragas e patógenos (Carvalho & Nakagawa, 2000).

No caso de frutos de pimenta, o conhecimento prático do período de colheita assume grande importância, pois com florescimento contínuo, frutos de diferentes estádios de maturação estão presentes na mesma planta. Desse modo, a coloração do fruto pode ser um indicativo da maturidade da semente, podendo coincidir com o máximo de germinação e vigor. O processo de desenvolvimento da semente se inicia com a polinização, logo após ocorre a fertilização e desenvolvimento do óvulo em semente e culmina com a maturidade fisiológica da semente, quando cessa o fluxo de fotoassimilados oriundos da planta para a semente (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Variações no tamanho, cor e textura do fruto, características relacionadas a qualidade fisiológica e alterações bioquímicas podem ser analisadas durante o processo de desenvolvimento da semente, conhecendo-se o estágio de máximo vigor.

Os frutos de pimenta são utilizados na produção de condimentos devido ao aroma e sabor característicos e ainda são consumidos *in natura*, em molhos e conservas. Em razão da grande variabilidade na coloração, tamanho e formato dos frutos e o porte anão de algumas pimenteiras, há grande interesse e mercado para utilização das plantas de pimentas como ornamentais em vasos (Moreira *et al.*, 2006).

No intuito de aumentar a longevidade de plantas envasadas, inibidores de etileno são alvos de estudos, por reduzirem os efeitos danosos desse fitormônio. O etileno é um fitormônio produzido por flores, frutos e órgãos vegetativos das plantas e sua função é importante em processos como crescimento, desenvolvimento, floração, amadurecimento de frutos e senescência. Eventos como murchamento, secagem do botão, epinastia, abscisão de folhas, flores e frutos ocorrem em plantas sensíveis ao etileno. No entanto, a concentração de etileno requerida para causar esses efeitos é dependente de fatores como o tempo de exposição, temperatura, estágio de desenvolvimento e sensibilidade da espécie ou variedade (Hoyer, 1996; Woltering *et al.*, 1996).

Um exemplo de inibidor da síntese de etileno é a AVG (aminoetoxivinilglicina) que foi introduzida para aumentar a retenção de frutos nas plantas de maçã, conferindo maior firmeza aos frutos, porém é menos efetiva em aplicações pós-colheita, por não controlar o efeito do etileno externo. Já o 1-MCP (1-metilciclopropeno), um inibidor da ação do etileno, é eficiente por se ligar ao receptor do etileno, reagindo eficientemente na manutenção das características do

fruto recém-colhido durante armazenamento ou transporte. Usualmente o 1-MCP, formulado em pó, é liberado como gás em câmaras, porém em trabalho com maçãs, a aplicação pré-colheita desse produto na forma de spray foi testada, possibilitando a utilização no campo, reduzindo a queda dos frutos (Yuan & Carbaugh, 2007).

Segatto (2007), ao estudar quatro variedades de pimenta ornamental, constatou sensibilidade distinta, cujos efeitos do etileno são inibidos após tratamento com 1-MCP. Contudo, não há relatos sobre a aplicação de inibidores da síntese do etileno em pimenta ornamental, bem como sobre o estudo da aplicação simultânea dos inibidores da síntese e ação do etileno sobre a conservação das plantas. Desse modo, a aplicação na fase de produção dos inibidores de etileno combinados sugere respostas positivas no controle de queda de folhas e frutos e um possível efeito aditivo, prolongando a pós-produção de plantas de pimenta ornamental e ainda possibilitando o estudo do 1-MCP disponibilizado na forma de spray.

OBJETIVOS

Avaliar as alterações físicas e fisiológicas em sementes de pimenta ornamental, da variedade MG 302, obtidas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação e alteração enzimática pelo processo de deterioração;

Testar a eficiência do uso de inibidores da biossíntese e da ação do etileno aplicados isoladamente ou combinados na fase de produção em plantas de pimenta ornamental envasadas, da variedade Calypso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BONTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios**. São Paulo: Alaúde, 2007.
- CARVALHO, N.M. DE & NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- 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 (4): 621-628, 1996.
- MOREIRA, G.R.; CALIMAN, F.R.B.; SILVA, D.J.H.; RIBEIRO, C.S.C. Espécies e variedades de pimenta. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, 27 (235): 16-29, 2006.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B. **Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 2000. 113p.
- SEGATTO, F.B. **Avaliação da qualidade “Pós-produção” de pimenta ornamental (*Capsicum annum* L.) cultivada em vaso**. Viçosa, 2007. 88 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- WOLTERING, E. Effects of ethylene on ornamental pot plants: A classification. **Scientia Horticulturae**, 31: 283-94, 1996.
- YUAN, R. & CARBAUGH, D.H. Effects of NAA, AVG, and 1-MCP on ethylene biosynthesis, preharvest fruit drop, fruit maturity, and quality of Golden Supreme and Golden Delicious apples. **HortScience**, 42 (1): 101-105, 2007.

CAPÍTULO I

Alterações Fisiológicas e Bioquímicas em Sementes de Pimenta em Função do Estádio de Maturação e do Processo de Deterioração

RESUMO

O ponto de maturidade fisiológica indica a máxima qualidade das sementes e, em alguns casos, pode ocorrer juntamente com o máximo acúmulo de matéria seca. Como a máxima qualidade das sementes ocorre no campo torna-se viável conhecer o momento exato da colheita dos frutos, reduzindo possíveis danos ocorridos pelo maior tempo de exposição do fruto a variações climáticas e ataque de patógenos. Desse modo, a hipótese do trabalho foi a determinação da idade adequada de colheita dos frutos para obtenção de sementes com alto vigor e conhecimento do processo de deterioração envolvendo alterações enzimáticas. O experimento foi realizado em casa de vegetação em área experimental denominada “Horta Nova”, pertencente à Universidade Federal de Viçosa. Foram colhidos frutos de pimenta ornamental, variedade MG 302, aos 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 e 80 dias após a abertura da flor (DAA). Em seguida foram determinados massa fresca, diâmetro e comprimento dos frutos. Após a extração das sementes foram realizados os seguintes testes e determinações: massa seca, umidade, teste de primeira contagem, germinação, índice de velocidade de emergência, condutividade elétrica, deterioração controlada e análise de proteínas resistentes ao calor. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, em quatro repetições, para a maioria das variáveis analisadas, exceto: massa fresca, diâmetro e comprimento dos frutos, com 3

repetições de 10 frutos/repetição; o grau de umidade e a massa seca por semente, com 3 repetições. Os valores obtidos para cada variável foram inicialmente transformados em função arco-seno e, posteriormente, submetidos à análise de variância e regressão polinomial, a 1% de probabilidade, pelo teste F. Para avaliação do nível de deterioração, frutos foram colhidos aos 50, 60, 70 e 80 DAA e as sementes extraídas submetidas ao envelhecimento acelerado e determinados o grau de umidade, teste de primeira contagem, germinação e atividade das enzimas peroxidase (POD) e álcool desidrogenase (ADH). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em parcela subdividida, sendo as parcelas constituídas pelos dias de maturação (50, 60, 70, 80 DAA) e as subparcelas constituídas por horas de envelhecimento artificial (0, 12, 24, 48 h), com quatro repetições. As sementes até os 45 DAA não apresentaram capacidade de germinar, a partir dos 50 DAA, a média de germinação aumentou significativamente de 0 para 66%, alcançando 90% aos 80 DAA. Observou-se a tendência de distinção de duas fases de desenvolvimento das sementes, uma provável fase de intensa divisão celular e outra de acúmulo de matéria seca. O momento de transição das duas prováveis fases, entre 55 e 60 dias, coincidiu com a modificação da coloração dos frutos do verde escuro para o vermelho. A colheita dos frutos de pimenta ornamental MG 302 pode ser realizada acompanhando as modificações da coloração do fruto, quando os frutos encontravam-se totalmente vermelhos. O ponto de maturidade fisiológica das sementes de pimenta, variedade MG 302, ocorreu entre 75 e 80 DAA. As sementes de pimenta tornaram-se tolerantes à dessecação a partir de 50 DAA. A atividade das enzimas ADH e POD mostrou-se reduzida em sementes com o aumento do tempo de envelhecimento e aumentada ao longo da maturação, de acordo com o teste de envelhecimento acelerado.

1- INTRODUÇÃO

O ponto de maturidade fisiológica indica a máxima qualidade das sementes e, em alguns casos, pode ocorrer juntamente com o máximo acúmulo de matéria seca. Como a máxima qualidade das sementes ocorre no campo, torna-se viável conhecer o momento exato da colheita dos frutos, reduzindo possíveis danos ocorridos pelo maior tempo de exposição do fruto a variações climáticas e ataque de patógenos (Carvalho & Nakagawa, 2000). O ponto de maturidade fisiológica das sementes varia em função das condições ambientais, espécie e cultivar, e pode estar associado a uma característica visual como a cor do fruto (Costa *et al.*, 2006).

A pimenta é uma espécie de crescimento indeterminado com floração contínua e por isso, encontram-se na mesma planta flores, frutos imaturos e maduros, o que dificulta determinar a época em que ocorre a maturidade fisiológica das sementes e o momento ideal para a colheita dos frutos, visando obter o máximo rendimento em sementes de alto vigor (Dias *et al.*, 2006).

No decorrer da maturação das sementes ocorrem modificações bioquímicas, morfológicas e fisiológicas, desde a fertilização até o momento da colheita. Inicialmente, ocorre intensa divisão e expansão celular, seguidas por aumento progressivo da massa seca das sementes, devido à síntese e deposição de reservas. Nessa fase, a semente permanece com elevado teor de água e exibe alto poder germinativo, sendo o final dessa fase determinado pelo ponto de maturidade fisiológica. Em seguida, a semente se desidrata, fase denominada de secagem ou desidratação, característica das sementes ortodoxas (Bewley & Black, 1994; Marcos Filho, 2005).

Sementes que toleram a desidratação contêm proteínas, cujas funções ainda não estão elucidadas; contudo, a estabilidade, a alta afinidade com moléculas de água e abundância em sementes que toleram a desidratação, evidenciam um papel importante na tolerância à dessecação (Blackman *et al.*, 1991).

A síntese de proteínas LEA (*Late Embriogenesis Accumulating*) e a síntese de açúcares solúveis, como sacarose, rafinose e estaquiose, são mecanismos protetores nas sementes antes ou durante a fase final de secagem (Hoeskstra *et al.*, 2001). As proteínas LEA são hidrofóbicas, estáveis, moduladas pela ação do ácido abscísico (ABA) e acumuladas nos embriões. Além disso, também podem se acumular em

resposta a situações de estresse hídrico, baixa temperatura, salinidade ou aplicação de ABA, indicando função protetora dessas proteínas na desidratação celular (Hong-Bo *et al.*, 2005).

A deterioração das sementes é evidenciada por alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas que ocorrem a partir da maturidade fisiológica, reduzindo a qualidade e culminando com a morte da semente. Eventos danosos como a perda da integridade do sistema de membranas, redução da capacidade seletiva, peroxidação de lipídios, lixiviação de solutos, mudanças na atividade enzimática e síntese de proteínas ocorrem durante a deterioração (Marcos Filho, 2005). Além disso, ocorrem alterações fisiológicas como o atraso da germinação, redução do crescimento e vigor das plântulas, aumento do número de plantas anormais e redução do potencial de armazenamento (Wilson & McDonald, 1986; Basavarajappa *et al.*, 1991).

Para Copeland e McDonald (2001), o início da deterioração das sementes pode ser relacionado à atividade de enzimas associadas à biossíntese em tecidos novos, visto que, no decorrer da deterioração as enzimas perdem a capacidade de exercer o máximo de sua atividade catalítica. Como no processo de deterioração ocorre uma redução progressiva do vigor das sementes, tornam-se indispensáveis estudos na identificação de eventos anteriores à perda da capacidade germinativa. Dessa forma, variações no perfil de proteínas e de enzimas específicas, principalmente aquelas relacionadas ao processo respiratório, peroxidação de lipídios e remoção de radicais livres, pode ser uma ferramenta eficiente no acompanhamento das alterações bioquímicas resultantes da deterioração (Chauhan, 1985). O teste de envelhecimento acelerado avalia o nível de deterioração da semente; contudo, poucos trabalhos mostram as conseqüências em termos de alterações enzimáticas.

O alvo de pesquisas relacionado à maturação de sementes está no estudo de alterações no conteúdo de massa seca, germinação e vigor. Entretanto, o conhecimento das alterações na atividade de proteínas durante o processo de deterioração permanece insuficiente. Deste modo, a hipótese do trabalho foi a determinação da idade adequada de colheita dos frutos para obtenção de sementes com alto vigor e conhecimento do processo de deterioração envolvendo alterações enzimáticas.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Experimento 1 – Alterações físicas e fisiológicas em sementes de pimenta ornamental durante o processo de maturação

O experimento foi realizado em casa de vegetação em área experimental denominada “Horta Nova”, pertencente à Universidade Federal de Viçosa, no período de março a agosto de 2010.

Foram utilizadas sementes de pimenta *Capsicum annum* L, variedade MG 302, proveniente do banco de germoplasma de hortaliças da EPAMIG, para a condução dos experimentos 1 e 2. As sementes foram colocadas para germinar em bandeja de isopor contendo substrato comercial, em casa de vegetação. Após obtenção das mudas, estas foram transplantadas, aos 50 dias de idade, em vasos de 760 mL, 10 cm de altura e 13 cm de diâmetro da borda, sendo uma planta por vaso.

Durante a fase de florescimento, as flores foram etiquetadas diariamente, desde o início da abertura floral até se obter um número suficiente para posterior colheita dos frutos. Foram colhidos frutos aos 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 e 80 dias após a abertura da flor (DAA). Posteriormente, foi feita uma classificação visual dos frutos, com base na coloração, e definidos quanto ao estágio fenológico (frutos roxos, verdes e vermelhos).

Logo após a colheita, as sementes foram extraídas dos frutos manualmente, lavadas em água corrente e colocadas para secar em condição de ambiente de laboratório até atingirem grau de umidade compatível com o armazenamento (aproximadamente 10%). Em seguida, as sementes foram armazenadas em câmara a 10°C, até realização das análises. Foram realizados os seguintes testes e determinações:

Massa fresca do fruto – 30 frutos colhidos foram pesados, sendo 3 repetições de 10 frutos/repetição.

Diâmetro e comprimento de fruto – 30 frutos colhidos tiveram o diâmetro e o comprimento mensurados, em milímetros, com o auxílio de um paquímetro, sendo

3 repetições de 10 frutos/repetição. Foi determinado o diâmetro e o comprimento médio dos frutos (mm/fruto).

Massa seca da semente – foi determinada juntamente com o grau de umidade das sementes (Brasil, 2009), sendo o valor, a média dos 3 valores das sub amostras de 50 sementes após a secagem a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 h. Os resultados foram expressos em mg/semente.

Grau de umidade – O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, por um período de 24 h, utilizando-se de 3 repetições para cada tratamento, sendo os resultados expressos em porcentagem (base úmida) (Brasil, 2009).

Teste de germinação (TG) – foi realizado, com 4 repetições de 50 sementes, distribuídas em papel germitest, previamente umedecidos com água destilada na quantidade de 2,5 vezes a sua massa inicial, em caixas gerbox. As caixas foram mantidas em germinador à temperatura de 25°C . As avaliações foram feitas no décimo e décimo sétimo dias, após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Primeira contagem de germinação (PCG) – consistiu do registro da porcentagem de plântulas normais obtidas no décimo dia após a montagem do teste de germinação.

Índice de velocidade de emergência (IVE) – quatro sub amostras de 50 sementes foram distribuídas em bandejas plásticas contendo substrato comercial. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação. Foram feitas contagens diárias do número de plântulas emergidas até 30 dias após semeadura, calculando-se o índice de velocidade de emergência, conforme Maguire (1962).

Condutividade elétrica – Foram utilizadas quatro sub amostras de 50 sementes, com massas conhecidas, imersas em 25 mL de água destilada e mantidas em incubadora BOD, a 25°C , por 24 horas (Vidigal *et al*, 2008). Após esse período, a condutividade elétrica de cada solução foi determinada em condutivímetro, e os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes.

Deterioração controlada - inicialmente, 350 sementes foram hidratadas sobre papel toalha umedecido, pelo método da adição de água calculada (Ista, 1995), até atingirem 24% de água. Em seguida, foram acondicionadas em sacos aluminizados, que foram hermeticamente fechados e mantidos por uma noite a 10°C .

Decorrido esse período, as embalagens contendo as sementes foram colocadas em banho-maria, a 45°C, por 24 horas. Após esse período, foram submetidas ao teste de germinação, conforme já descrito, avaliando-se a porcentagem de plântulas normais, aos 14 dias após a semeadura.

Análise eletroforética de proteínas LEA – para essa determinação foram utilizadas apenas sementes extraídas de frutos colhidos aos 40, 50, 60, 70 e 80 dias após a abertura da flor (DAA). Uma amostra de sementes de cada tratamento foi acondicionada em papel toalha umedecido, durante cinco horas, em germinador, a 25°C, para embebição e outra porção não foi submetida à embebição, para comparação dos géis. No momento da extração das proteínas, as sementes foram maceradas em solução tampão de extração (50 mM de Tris-HCl pH 7,5; 500 mM NaCl; 5 mM de MgCl₂; 1 mM de PMSF) e transferidos para microtubos de capacidade de 1500 µL. Os homogeneizados foram centrifugados a 16000 x g, por 30 min a 4°C, e o sobrenadante incubado em banho-maria, a 85°C, por 15 minutos, e novamente, centrifugado como anteriormente. O sobrenadante foi vertido em microtubos novos e o pellet descartado. Antes da aplicação no gel, 40 µL de tampão da amostra (2,5 mL de glicerol; 0,46 g de SDS; 20 mg de azul de Bromofenol; Tris-HCl pH 7,5) foram adicionados em 70 µL de cada extrato, seguindo-se uma incubação em banho-maria, com água em ebulição por 5 min. Em seguida foram aplicados 60 µL de cada amostra em gel de poliacrilamida SDS-PAGE, a 12,5% (gel separador) e 6% (gel concentrador). A corrida eletroforética foi realizada em sistema vertical, à temperatura ambiente e voltagem constante de 140 V. Após a corrida, os géis foram corados em solução de Coomassie Blue a 0,05% por 12 horas e descorados em solução de ácido acético 10%, conforme Alfenas (2006).

Delineamento experimental e análise estatística – foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, em quatro repetições para a maioria das variáveis analisadas, exceto: massa fresca, diâmetro e comprimento dos frutos, 3 repetições de 10 frutos/repetição; grau de umidade e a massa seca por semente, com 3 repetições. Os valores obtidos para cada variável foram inicialmente transformados pela função arco-seno e, posteriormente, submetidos à análise de variância e regressão polinomial a 1% de probabilidade, pelo teste F. Foram apresentados apenas os resultados significativos e para as equações lineares e quadráticas referentes às

regressões, verificou-se a significância e optou-se pela equação com valor de r^2 superior a 70% e interpretação menos complexa.

2.2 - Experimento 2 – Alterações enzimáticas em sementes de pimenta envelhecidas artificialmente

Como descrito anteriormente, foram utilizadas plantas do experimento 1 para a realização deste experimento.

O método para avaliar o nível de deterioração da semente foi o envelhecimento acelerado. Para isso, foram colhidos frutos aos 50, 60, 70 e 80 dias após a abertura da flor (DAA). Logo após a colheita, as sementes foram extraídas dos frutos manualmente, lavadas em água corrente e colocadas para secar em condição de ambiente de laboratório, até atingirem grau de umidade compatível com o armazenamento (aproximadamente 10%).

Envelhecimento Artificial – foram utilizadas 200 sementes, distribuídas em sub amostras de 50 sementes, para cada época de colheita dos frutos. A seguir, as sementes foram colocadas sobre uma bandeja de tela de alumínio, fixada no interior de caixas gerbox. Para esse teste foram colocados 40 mL de água destilada nas caixas, que permaneceram em incubadora à temperatura de 42°C e avaliadas nos tempos: 0, 12, 24 e 48 horas.

Grau de umidade – O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, por um período de 24 h, utilizando-se três repetições para cada tratamento, sendo os resultados expressos em porcentagem (base úmida) (Brasil, 2009).

Teste de germinação (TG) – foi realizado com 4 repetições de 50 sementes, distribuídas em papel germitest, previamente umedecido com água destilada na quantidade de 2,5 vezes a sua massa inicial, em caixas gerbox. As caixas foram mantidas em germinador, à temperatura de 25°C. As avaliações foram feitas no décimo e décimo sétimo dia após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Primeira contagem de germinação (PCG) – consistiu do registro da porcentagem de plântulas normais obtidas no décimo dia após a montagem do teste de germinação.

Ensaio enzimático da peroxidase e álcool desidrogenase (POD e ADH) – as sementes utilizadas para a determinação da atividade enzimática da peroxidase e álcool desidrogenase foram submetidas ao envelhecimento artificial por 0, 12, 24 e 48 h e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -20°C para posterior análise. Para a extração de cada enzima, 1000 µL de tampão de extração foram adicionados a 0,1 g de semente, maceradas no almofariz até a obtenção de massa homogênea, que foi então centrifugada a 17.000 g durante 30 min, a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para determinação da atividade enzimática e quantificação das proteínas (Bradford, 1976).

Peroxidase (POD) - A composição do tampão de extração utilizado para a peroxidase foi: tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 6,5, bissulfito de sódio 0,1% e cloreto de sódio 0,15 M (Neves, 2003). Para a determinação da atividade enzimática da peroxidase, foi adicionada uma alíquota de extrato enzimático ao meio de reação contendo 0,5 mL de guaiacol (1,7%), 1,5 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 6,0) e 0,5 mL de H₂O₂ (1,8%), 100 µL de extrato enzimático e 400 µL de água desionizada. O branco apresentou todos os componentes do meio de reação, exceto o extrato enzimático que foi substituído por água. A atividade enzimática foi analisada em espectrofotômetro, observando-se a variação na absorbância em comprimento de onda de 470 nm, a 25°C e expressa em UA/min/mg de proteína (Neves, 2003).

Álcool desidrogenase (ADH) - A composição do tampão de extração utilizado foi: Tris-HCl 100 mM (pH 8,5), PVP 1%, CaCl₂ 20 mM, ZnSO₄ 0,1 mM e polimetilsulfonilclorida (PMSF) 0,8 mM (Mitchell & Jelenkovic, 1995). Para determinação da atividade foram adicionados 0,02 mL de extrato enzimático ao meio de reação contendo 0,5 mL de glicina-KOH 100 mM (pH 9,5), 0,1 mL de NAD 1,3 mM, 0,1 mL de etanol 40 mM e 0,28 mL de água deionizada. A atividade enzimática foi analisada em espectrofotômetro, observando-se a variação na absorbância em comprimento de onda de 340 nm, a 25 °C e expressa em µM NADH/min/mg de proteína (Mitchell & Jelenkovic, 1995).

Delineamento experimental e análise estatística – foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em parcela subdividida, sendo as parcelas

constituídas pelos dias de maturação (50, 60, 70, 80 DAA) e as subparcelas constituídas por tempo de envelhecimento artificial (0, 12, 24, 48 h), com quatro repetições. Os dados foram inicialmente transformados pela função arco-seno e, posteriormente, submetidos à análise de variância e regressão polinomial, apresentando-se apenas resultados significativos. Como critério para escolha entre equações lineares ou quadráticas significativas, referentes às regressões, se deu pela interpretação menos complexa dos resultados, observando valores de r^2 superiores a 60%.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Experimento 1 - Alterações físicas e fisiológicas em sementes de pimenta ornamental durante o processo de maturação

Conforme os resultados observados nas Figuras 1 e 2 os frutos apresentaram aumento no comprimento, massa fresca e diâmetro ao longo dos estádios de maturação, sendo que os dados de massa fresca mostraram um aumento máximo aos 70 dias após abertura floral (DAA) e uma tendência a queda a partir daí. O comprimento e diâmetro do fruto não apresentaram incrementos acentuados. Assim, não podem ser utilizados como indicativos seguros para determinação do ponto de colheita (Figuras 1 e 2).

Como os dados de germinação e deterioração controlada não se ajustaram aos modelos de regressão linear, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (Tabela 1). As sementes até os 45 DAA não apresentaram capacidade de germinar; a partir dos 50 DAA, a germinação aumentou significativamente de 0 para 66%, alcançando 90% aos 80 DAA (Tabela 1). Embora as condições ideais em que foi conduzido o teste de germinação, os valores de emergência coincidiram com os valores de germinação aos 80 DAA. Isto pode ser explicado pelo maior tempo de avaliação do teste de emergência, em que as contagens foram realizadas durante 30 dias, enquanto a germinação foi calculada no décimo sétimo dia.

O acompanhamento do desenvolvimento da semente baseia-se em modificações fisiológicas como conteúdo de água, matéria seca, germinação e vigor. No caso da massa seca, o acúmulo se processa de forma lenta após a fertilização da semente, devido ao aumento do número de células. Em seguida, ocorre um aumento expressivo e contínuo da matéria seca coincidindo com o máximo de vigor (Carvalho & Nakagawa, 2000). No geral, analisando-se as Figuras 1, 2, 3 e 4, houve uma tendência de distinção de duas fases de desenvolvimento das sementes: até os 55 DAA e dos 60 aos 80 DAA. Uma provável fase de intensa divisão celular até os 55 DAA, caracterizada pelo teor de água elevado, entre 78-90%, germinação praticamente nula e vigor baixo. Em seguida, verifica-se uma fase de acúmulo de matéria seca acompanhada pela elevação da germinação, dos 60 aos 80 DAA, em que as sementes reduziram o teor de água para valores próximos a 40% e alcançaram valores elevados para germinação e vigor. O momento de transição das duas prováveis fases, entre 55 e 60 dias, coincidiu com a modificação da coloração dos frutos do verde escuro para o vermelho (Figura 5).

Durante o desenvolvimento dos frutos, observou-se a modificação da coloração dos mesmos (Figura 5). A mudança de cor dos frutos progrediu do preto aos 30 DAA até vermelho-escuro, aos 80 DAA, passando pelo verde-escuro aos 40 DAA, frutos com manchas avermelhadas e predominância da cor verde-escuro aos 50 DAA, vermelho claro aos 60 DAA, vermelho aos 70 DAA e por fim, vermelho-escuro e frutos murchos aos 80 DAA (Figura 5).

O conteúdo de massa seca pode ser o melhor indicativo do ponto de maturidade fisiológica, visto que, a partir desse ponto, a semente não recebe mais nutrientes da planta, porém o conteúdo de água continua alto, variando de 30 a 50% dependendo da espécie (Carvalho & Nakagawa, 2000). O mesmo foi constatado para sementes de pimenta ao observar-se a Figura 3, em que, ao alcançar o máximo de massa seca, entre 75 e 80 DAA, o teor de água, apesar de ter-se reduzido durante a maturação, ainda mostrou-se elevado, com cerca de 40% (Figura 2).

Apesar de as modificações fisiológicas na semente indicarem o máximo de maturidade, o acompanhamento no campo dessas avaliações é inviável, justificando encontrarem-se outras determinações como características do fruto (Dias *et al.*, 2006). Assim, como já relatado, a modificação da coloração do fruto para vermelho, aos 60 DAA, aponta com clareza o momento em que os valores dos testes analisados

tornaram-se superiores e a presença de proteínas resistentes ao calor podem ser detectadas (Figuras 1, 2, 3, 4 e 5).

Quanto às proteínas resistentes ao calor (HSPs) e as LEAs, as bandas foram visualizadas a partir dos 50 DAA, tornando-se mais espessas nos estádios de maturação mais avançados, sendo mais bem definidas nas sementes sem embebição (Figura 6). Em sementes ortodoxas, como em sementes de pimenta, a tolerância à desidratação é caracterizada pela manutenção da integridade da membrana, prevenindo a desnaturação de proteínas durante a perda de água. Essa tolerância é adquirida após deposição de reserva e aparecimento de proteínas LEA (Marcos Filho, 2005).

As HSPs (heat shock protein, proteínas de choque térmico) são proteínas produzidas em plantas submetidas ao déficit hídrico e como resposta ao estresse ao calor (Kalemba & Pukacka, 2007) e conferem à semente a habilidade de reparo das estruturas de moléculas no momento da desidratação. Já as proteínas LEA são produzidas em abundância durante o final do desenvolvimento do embrião e desidratação das sementes e estão relacionadas com o período de tolerância a dessecação, desaparecendo durante a germinação da semente (Marcos Filho, 2005).

Blackman *et al.* (1991) em pesquisa com sementes de soja, em estádios diferentes de maturação, observaram o início do acúmulo de LEA em sementes com 44 dias após florescimento, caracterizando o momento de tolerância a desidratação. Ainda observaram redução das proteínas LEA após 18 horas de embebição da semente, quando a tolerância a dessecação foi perdida. Nesse contexto, no presente trabalho, verificaram-se bandas menos demarcadas e com maior dificuldade de identificação nas sementes em que foram submetidas à embebição por 5 horas, não justificando a embebição das sementes anteriormente à extração das proteínas (Figura 6). Gallardo *et al.* (2001) constataram que algumas LEA e HSPs reduziram-se com o progresso da germinação enquanto outras permaneceram ao longo desse processo.

Segundo Nakada *et al.* (2011), em sementes de pepino, as proteínas LEA foram detectadas a partir de 35 dias após abertura floral, com maior abundância nos estádios de 45 e 50 dias. De acordo com aqueles autores, as proteínas LEA servem de referência para o ponto de colheita adequado em sementes ortodoxas, por conferirem à semente a capacidade de desidratação, visto que são colhidas com teor de água

próximo a 35% e passando pelo processo de secagem para 7% de umidade. Guimarães (2000), em pesquisa com sementes de café, observou aumento de proteínas LEA ao longo do desenvolvimento da semente, e ainda enfatizou a contribuição dessas proteínas na tolerância a dessecação.

Kalembe *et al.* (2009) sugeriram que, durante o desenvolvimento de sementes ortodoxas, eventos estão fortemente correlacionados com a aquisição de tolerância à dessecação, como quantidade reduzida de extravazamento de eletrólitos, alta capacidade germinativa e acúmulo de proteínas resistentes ao calor. No presente trabalho, a diminuição de lixiviação de eletrólitos foi detectada a partir dos 60 DAA, sugerindo que a integridade da membrana não foi danificada após redução do teor de água, pois as sementes já atingiram a tolerância a dessecação (Figura 3). Do mesmo modo, Blackman *et al.* (1991) verificaram que à medida que os níveis de LEA aumentavam em sementes de soja, menor a taxa de lixiviação de solutos, indicando proteção da membrana celular.

As sementes de pimenta atingiram o máximo de massa seca entre 75 e 80 DAA, coincidindo com máximo de germinação, que seria o ponto de maturidade fisiológica, ou seja, com o potencial máximo de vigor e deterioração mínima. Isto pode ser verificado ao analisarem-se os dados de condutividade que apresentaram-se reduzidos na maturidade e elevados nos gráficos de vigor (Figura 3).

Altos valores de extravazamento de eletrólitos observados no início da regressão mostraram possível sensibilidade e danos na membrana celular, perdendo a seletividade. Da mesma forma, nas primeiras colheitas dos frutos, as sementes extraídas mostraram-se incapazes de germinar e não vigorosas (Tabela 1 e Figura 4). A redução progressiva da condutividade elétrica deve-se à maior organização da membrana, minimizando-se as perdas na integridade e indicando conclusão da organização da membrana ao final da maturação da semente.

Queiroz *et al.* (2011), trabalhando com sementes de pimenta Habanero estabeleceram o ponto de maturidade fisiológica aos 67 DAA. Resultados semelhantes foram constatados por Vidigal *et al.* (2009a) em pimenta amarela comprida, em que a máxima qualidade deu-se entre 65 e 70 DAA, quando os frutos encontraram-se vermelhos. De forma diferente, em pimenta ornamental, o máximo de qualidade das sementes ocorreu mais tardiamente, entre 75 e 80 DAA. Contudo, houve coincidência com os resultados de Vidigal *et al.* (2009b), verificando-se

valores superiores na germinação e no vigor para sementes extraídas de frutos em estádios posteriores a 60 DAA.

Em sementes de abóbora, o potencial máximo de germinação ocorreu após o máximo de massa seca da semente (Costa *et al.*, 2006). Segundo os autores, as sementes ainda necessitaram de um período adicional para estruturação e diferenciação dos tecidos. Diferentemente, os resultados do presente trabalho mostraram que a máxima germinação foi alcançada concomitantemente com o máximo de massa seca (Tabela 1 e Figura 3).

Em frutos de tomate, as sementes de elevada qualidade fisiológica foram produzidas por frutos colhidos aos 50 e 60 dias após abertura floral (Vidigal *et al.*, 2006). No presente estudo, os dados analisados mostraram que as sementes de pimenta ornamental MG se tornaram tolerantes à dessecação a partir dos 50 DAA e atingiram o ponto de maturidade fisiológica aos 75 DAA (Figuras 3, 4 e 6).

No presente trabalho, verificou-se para os testes realizados, que o desempenho das sementes a partir dos 60 DAA foi satisfatório em relação aos dados de germinação e vigor, momento em que os frutos encontraram-se na coloração avermelhada. Desse modo, a coloração dos frutos pode ser utilizada como indicativo visual na identificação do ponto de maturidade fisiológica da semente no campo.

Tabela 1 – Teste de germinação (TG) e deterioração controlada (DC), de acordo com os dias após abertura floral (DAA)

Tratamentos (DAA)	Teste de Germinação	Deterioração Controlada
30	0 f	0 d
35	0 f	0 d
40	4 f	1 d
45	4 f	1 d
50	66 de	39 c
55	59 e	47 c
60	74 cd	58 b
65	77 cd	59 b
70	79 bc	61 b
75	86 ab	74 a
80	90 a	75 a
Dms	16,52	9,18

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 1% de probabilidade.

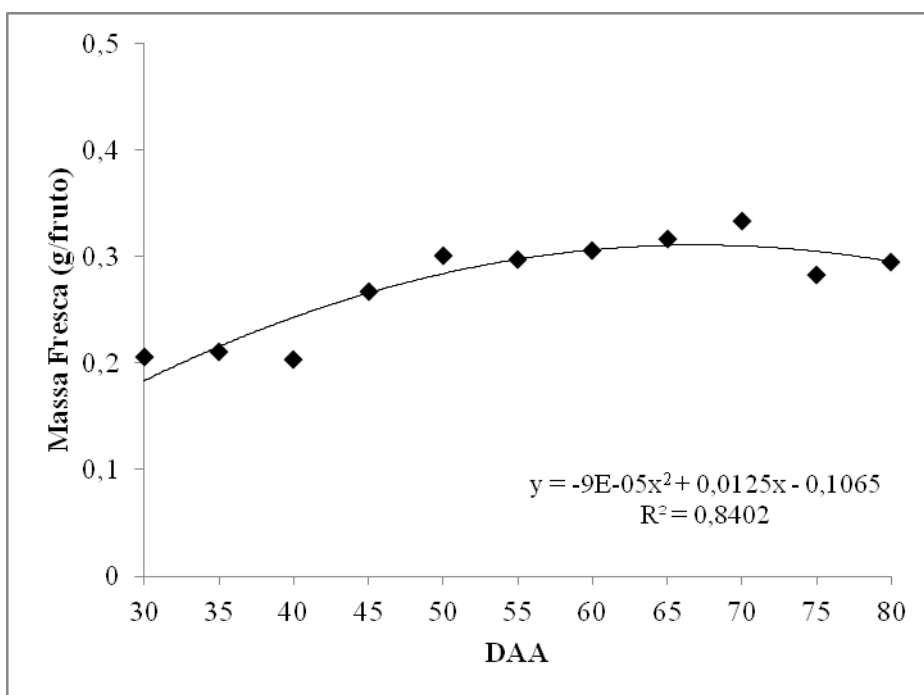
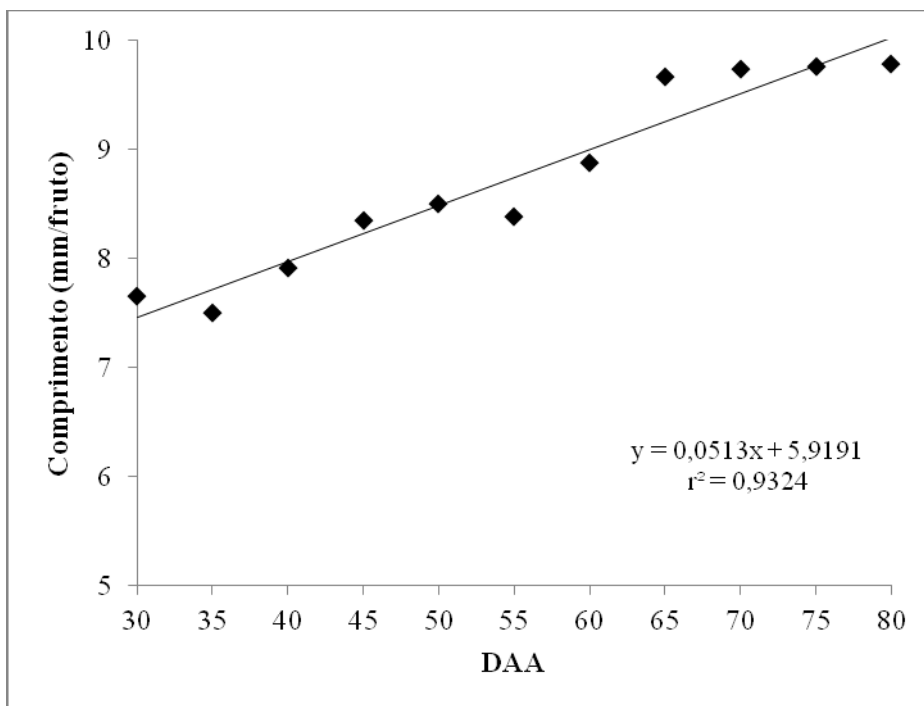


Figura 1 – Comprimento e massa fresca do fruto, em função dos dias após abertura floral (DAA).

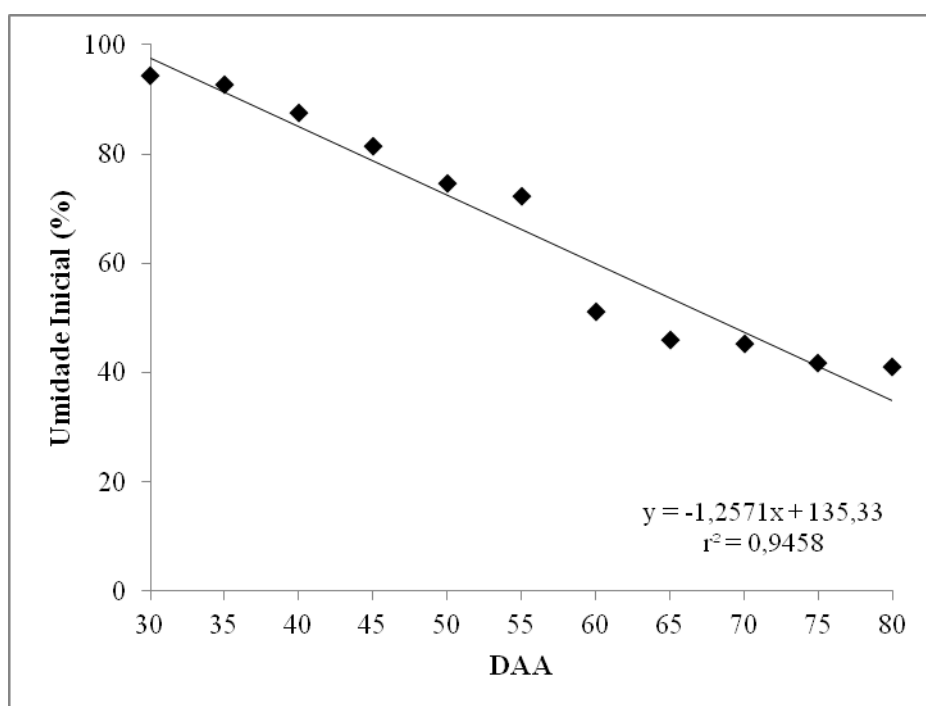
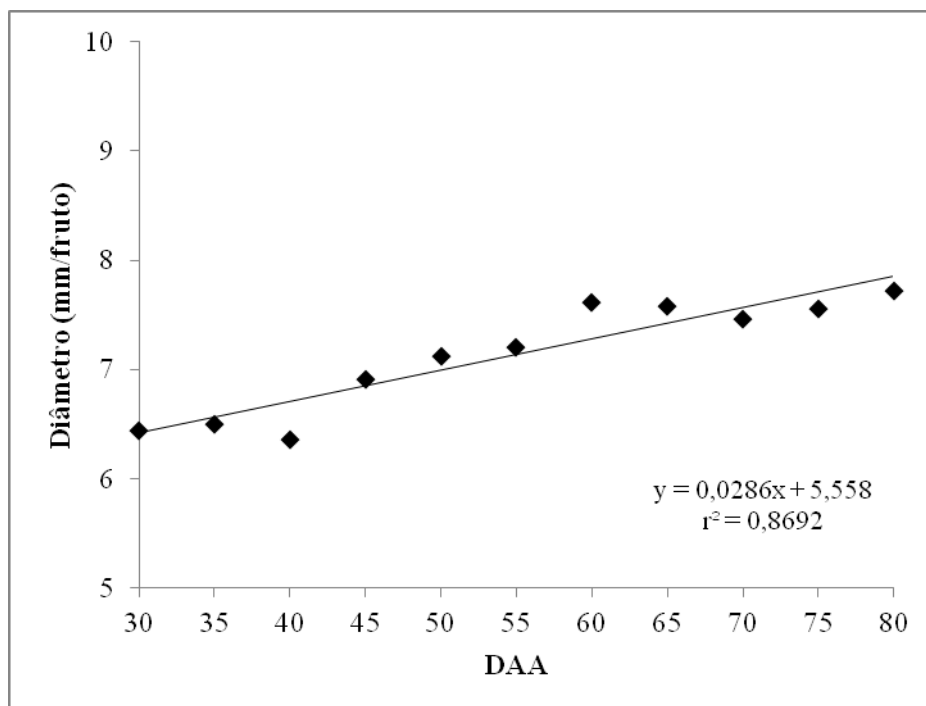


Figura 2 – Diâmetro do fruto e umidade inicial da semente, em função dos dias após abertura floral (DAA).

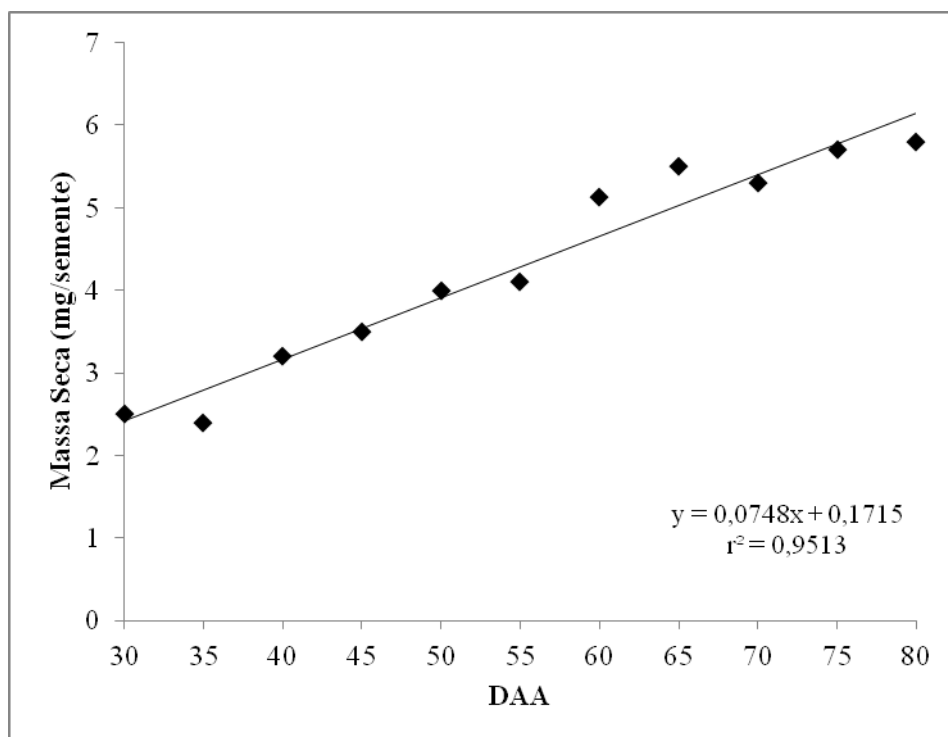
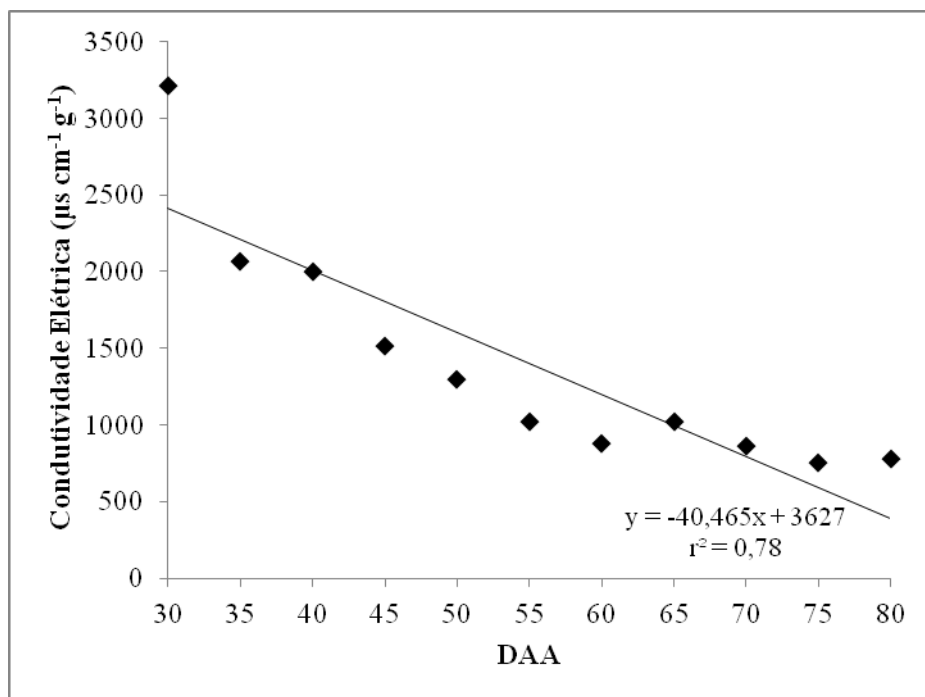


Figura 3 – Condutividade elétrica e massa seca da semente, em função dos dias após abertura floral (DAA).

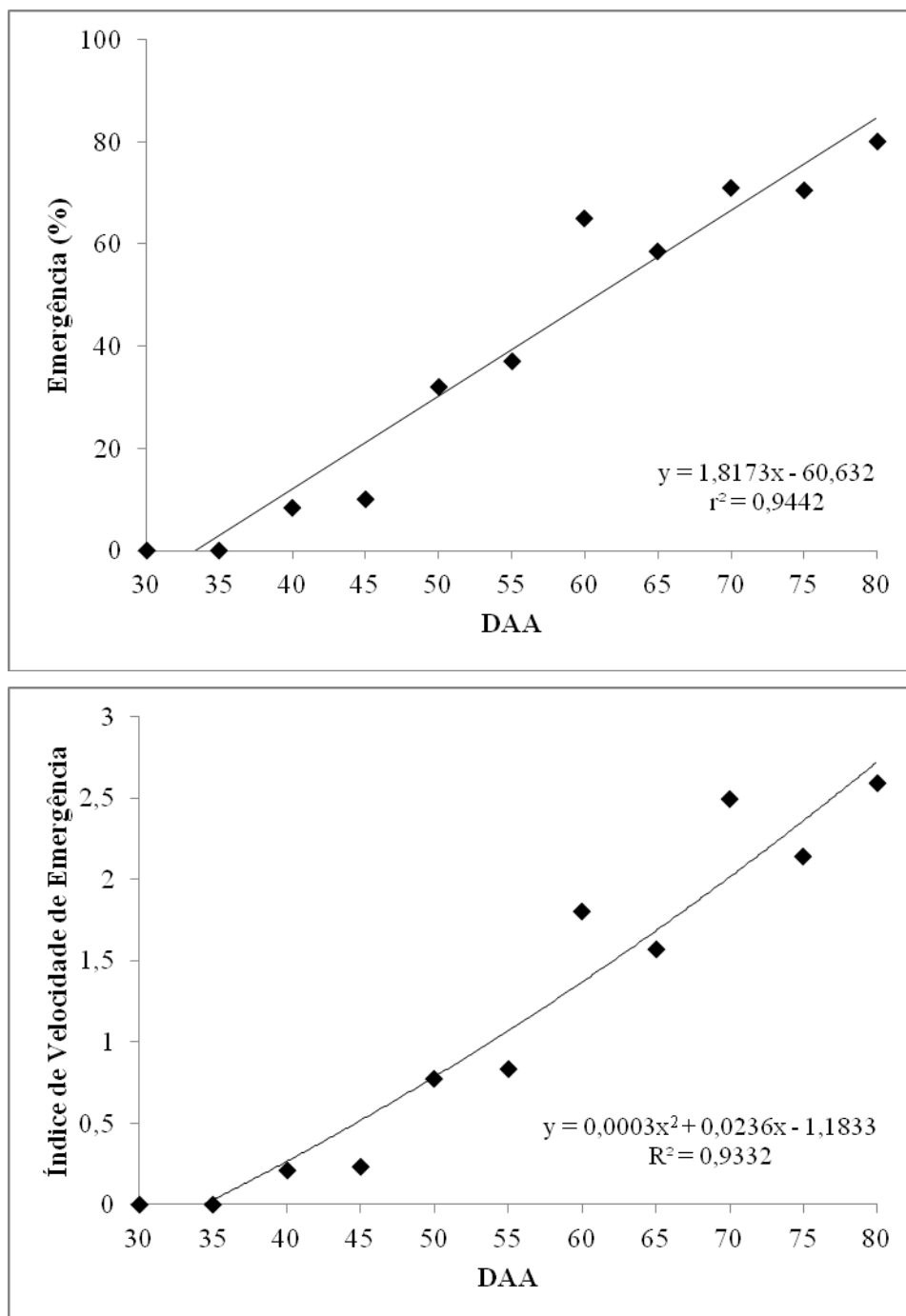


Figura 4 – Emergência e índice de velocidade de emergência de sementes, em função dos dias após abertura floral (DAA).



Figura 5 – Acompanhamento da variação da coloração de frutos de pimenta ornamental, colhidos aos 30 dias após abertura floral (DAA) até os 80 DAA.

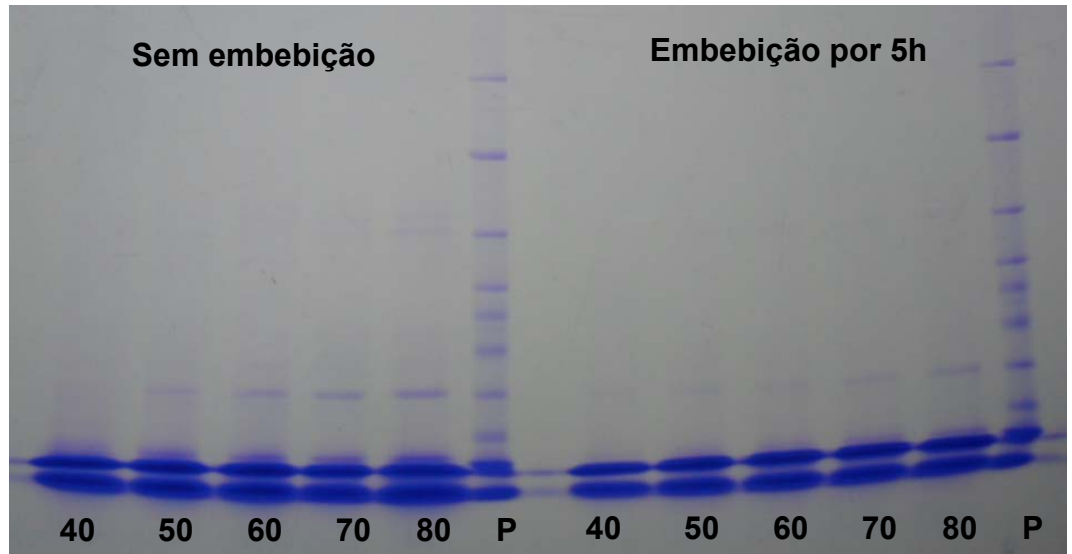


Figura 6 – Perfil eletroforético de proteínas resistentes ao calor em sementes de pimenta ornamental, submetidas ou não à embebição aos 40, 50, 60, 70 e 80 dias após abertura floral. P: padrão com peso molecular 10-220 kDa.

3.2 – Experimento 2 – Alterações enzimáticas em sementes de pimenta envelhecidas artificialmente

Após as sementes atingirem o ponto máximo de qualidade fisiológica, os processos degenerativos, como alterações fisiológicas e bioquímicas, se iniciam na semente, caracterizando a deterioração. Um método eficaz para avaliação do nível da deterioração da semente é o envelhecimento acelerado que é fundamentado na elevação da deterioração pelo aumento da temperatura e umidade (Santos *et al.*, 2004). A detecção da alteração na atividade das enzimas ADH e POD em sementes durante o envelhecimento acelerado pode estar associada com a qualidade da semente e possivelmente com o potencial de armazenamento.

Enzimas que atuam como antioxidantes conferem proteção às sementes removendo radicais livres. Ocorre a redução na atividade de enzimas removedoras de peróxido durante o processo de deterioração, tornando as sementes mais sensíveis aos efeitos do O₂ e radicais livres (Basavarajappa *et al.*, 1991).

Houve uma tendência de queda da atividade da ADH e POD de acordo com o aumento das horas de envelhecimento e aumento da atividade em estádios de maturação mais avançados (Figuras 8 e 9). O mesmo foi constatado por Vidigal *et al.* (2009b), ao estudar a maturação de sementes de pimenta amarela, observando-se maior atividade da ADH em sementes oriundas de frutos colhidos aos 60 e 70 DAA, relacionando-se o aumento da ADH com a maior proteção contra danos ocasionados pelo acetaldeído, que é reduzido a etanol pela enzima. Do mesmo modo, Brandão *et al.* (2002) observaram maior intensidade de bandas da enzima ADH em sementes de café maduras.

Em pesquisa com sementes de milho envelhecidas, houve uma diminuição da intensidade das bandas das enzimas ADH e POD com o aumento do tempo de envelhecimento (Brandão Júnior *et al.*, 1999). Resultados semelhantes foram encontrados por Carvalho *et al.* (2006), em que bandas menos espessas foram visualizadas a partir de 48 h de envelhecimento da enzima peroxidase em sementes de copaíba. Os autores ressaltaram as conseqüências com a redução da atividade enzimática, como o acúmulo de peróxidos na membrana, resultando em aumento de

danos. Resultados semelhantes podem ser verificados em análise à Figura 9, em que houve redução da peroxidase com o aumento das horas de envelhecimento.

Analisando-se a germinação, não se observou diferença durante o processo de maturação para cada tempo de envelhecimento, revelando-se a necessidade de prolongar o período do teste de envelhecimento, para a produção de informações do início da perda da capacidade germinativa em cada estágio de maturação. Contudo, observaram-se diferenças entre os estádios de maturação, ao longo do tempo de envelhecimento, em que a germinação aos 50 DAA permaneceu próxima aos 50%, aos 60 DAA esteve entre 60 e 70% e alcançou valor de aproximadamente 80%, aos 70 e 80 DAA, sendo justificado pela evolução do processo de maturação das sementes (Figura 7).

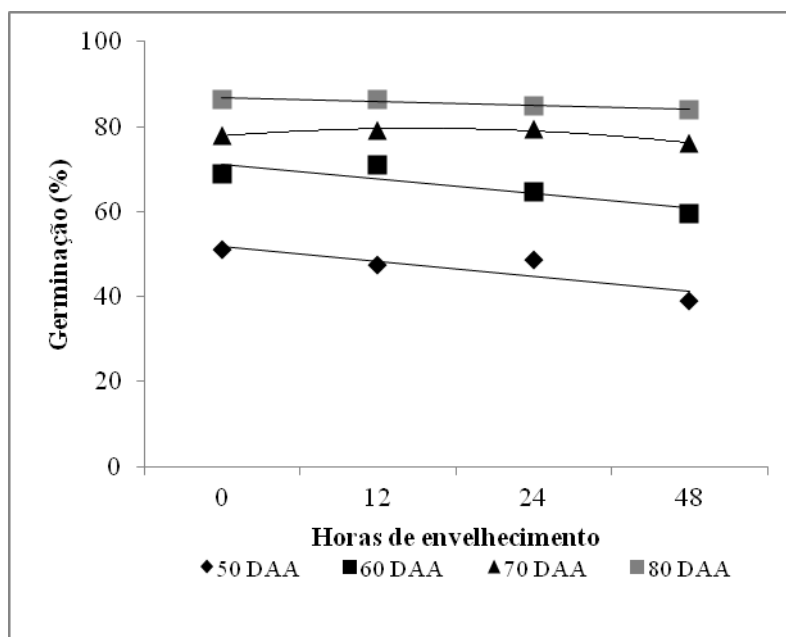
Na tentativa de obter resultados com maior tempo de exposição das sementes em temperatura e umidade elevadas, as sementes foram mantidas por períodos superiores a 48 h; contudo, houve perda das sementes pelo surgimento de fungos, mesmo com um reduzido tempo de armazenamento anteriormente à execução dos testes. Maior incidência de fungos no decorrer do envelhecimento também foi observada em sementes de copaíba (Carvalho *et al.*, 2006).

A peroxidase remove peróxido de hidrogênio e, quando sua atividade é reduzida, as sementes tornam-se mais vulneráveis aos efeitos dos radicais livres, reduzindo-se o vigor (Brandão Júnior *et al.*, 1999). Nesse sentido, no decorrer do envelhecimento, houve uma tendência de decréscimo da atividade e de forma contrária, ocorreu aumento quando as sementes encontraram-se maduras, indicando intensificação dos mecanismos de defesa (Figura 9).

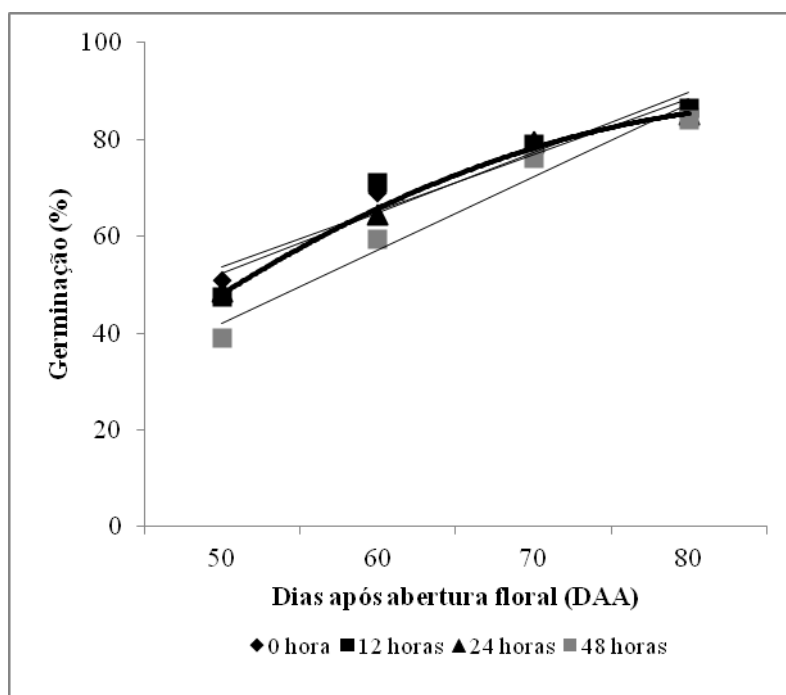
A redução da atividade das enzimas ADH e POD representada pelas Figuras 8 e 9 nos períodos de envelhecimento, pode ter-se dado em função do aumento do estresse causado pelo envelhecimento, acarretando em maior produção de radicais livres.

Como já mencionado no teste de germinação, o período de 48 h não foi suficiente para perda da capacidade germinativa, porém houve uma redução das enzimas ADH e POD nos períodos mais avançados de envelhecimento (Figuras 8 e 9). Esses resultados confirmam afirmações de Delouche (2002), de que a capacidade germinativa das sementes é evidenciada nos instantes finais do processo de deterioração, enquanto os danos a membrana ocorrem no início. Desse modo, quando

as sementes têm o vigor reduzido pelo envelhecimento, ocorre redução da atividade das enzimas anteriormente à perda do poder germinativo, indicando o início do processo degenerativo.

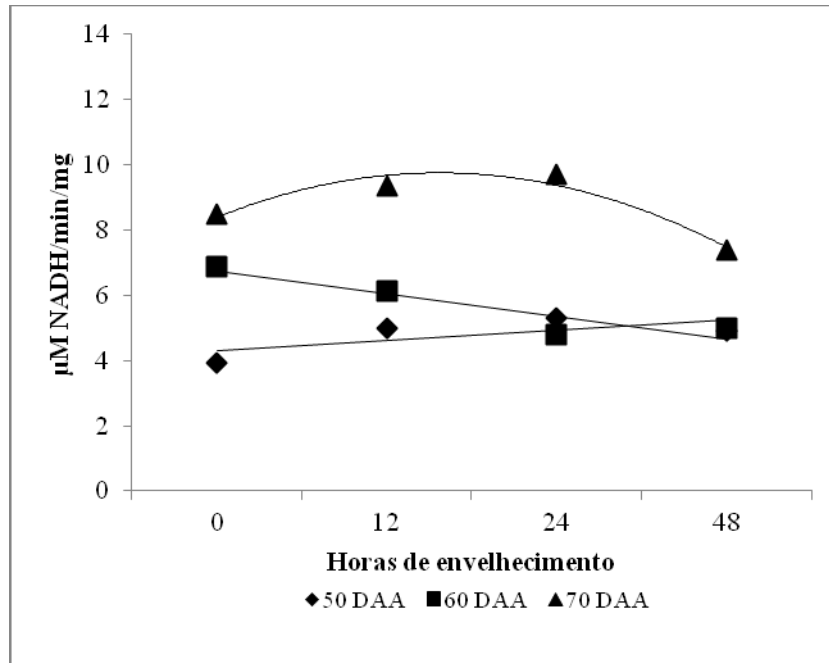


50 DAA $y = -0,2381x + 51,5$ $r^2 = 0,8764$ 60 DAA $y = -0,2286x + 70,8$ $r^2 = 0,8386$
 70 DAA $y = -0,0464x + 79,1$ $r^2 = 0,9148$ 80 DAA $y = -0,0571x + 86,7$ $r^2 = 0,9143$

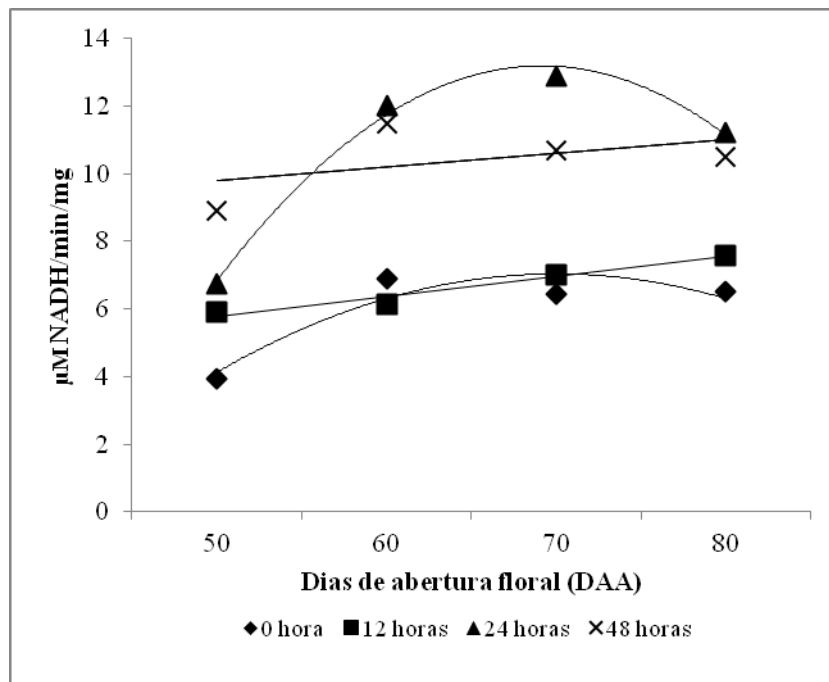


0h $y = 1,155x - 3,95$ $r^2 = 0,9622$ 12h $y = 1,25x - 10,25$ $r^2 = 0,9121$
 24h $y = -0,0263x^2 + 4,6575x - 119,18$ $R^2 = 0,9955$ 48h $y = 1,515x - 33,85$
 $r^2 = 0,9663$

Figura 7 – Porcentagem de germinação em função das horas de envelhecimento e dias após abertura floral, em sementes de pimenta submetidas ao envelhecimento acelerado.

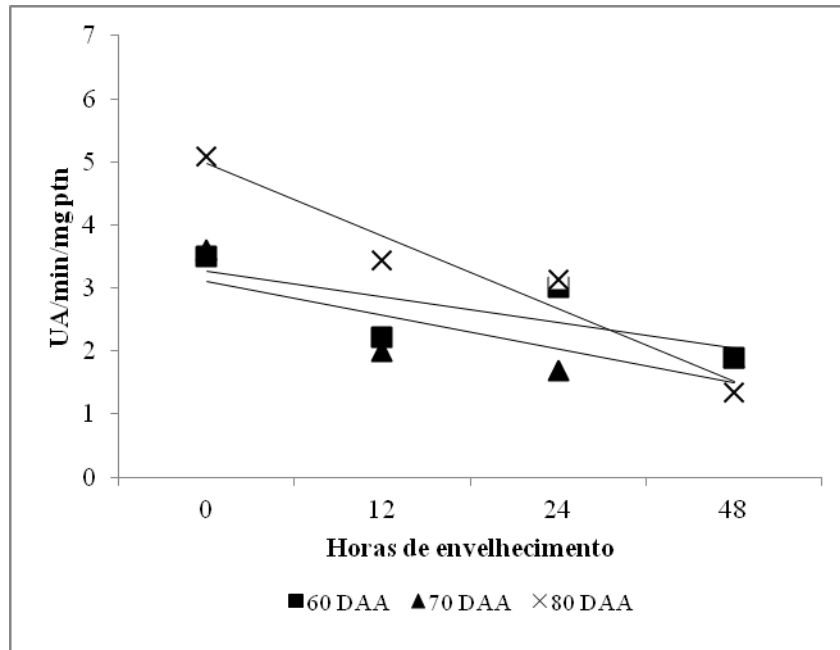


50 DAA $y = 0,3179x + 3,9921$ $r^2 = 0,9788$ 60DAA $y = -0,0402x + 6,5513$ $r^2 = 0,6971$
 70DAA $y = -0,0029x^2 + 0,119x + 8,4594$ $R^2 = 0,9938$

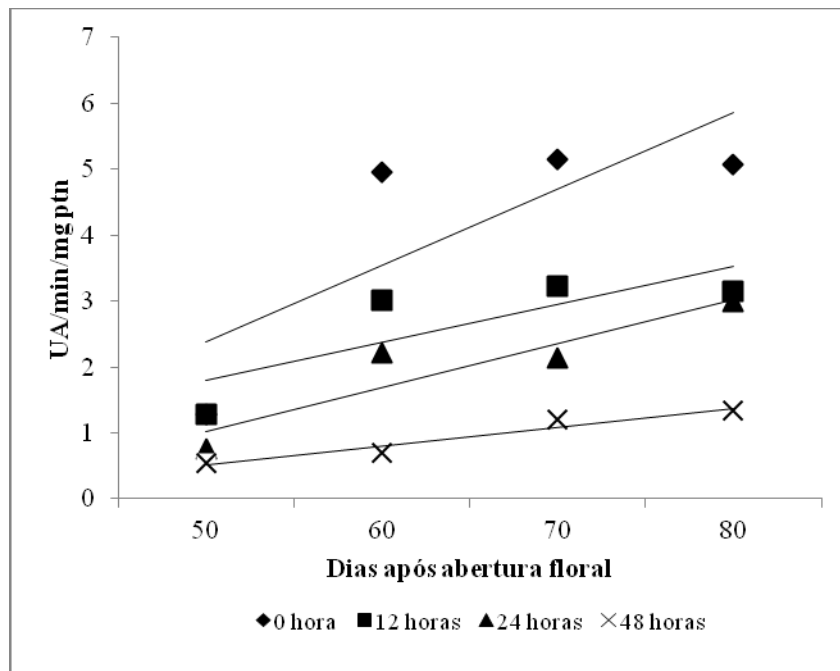


0h $y = -0,0073x^2 + 1,0218x - 28,717$ $R^2 = 0,8652$ 12h $y = 0,0597x + 2,777$ $r^2 = 0,9593$
 24h $y = -0,0174x^2 + 2,4026x - 69,863$ $R^2 = 0,9926$ 48h $y = 0,04x + 7,8$ $r^2 = 0,7687$

Figura 8 – Atividade enzimática da álcool desidrogenase em função das horas de envelhecimento e dias após abertura floral, em sementes de pimenta submetidas ao envelhecimento acelerado.



60 DAA $y = -0,0263x + 3,2086$ $r^2 = 0,9763$ 70 DAA $y = 0,0021x^2 - 0,1323x + 3,5155$ $R^2 = 0,962$
 80 DAA $y = 0,0005x^2 - 0,0992x + 4,938$ $R^2 = 0,965$



0h $y = 0,1157x - 3,398$ $r^2 = 0,6245$ 12h $y = 0,0577x - 1,083$ $r^2 = 0,6517$
 24h $y = 0,0665x - 2,3$ $r^2 = 0,849$ 48h $y = 0,0287x - 0,918$ $r^2 = 0,9423$

Figura 9 – Atividade enzimática da peroxidase em função das horas de envelhecimento e dias de abertura floral, em sementes de pimenta submetidas ao envelhecimento acelerado.

4- CONCLUSÕES

A colheita dos frutos de pimenta ornamental MG 302 pode ser realizada acompanhando as modificações da coloração do fruto, quando os frutos encontravam-se totalmente vermelhos.

O ponto de maturidade fisiológica das sementes de pimenta variedade MG 302 ocorreu entre 75 e 80 dias após abertura floral.

As sementes de pimenta tornaram-se tolerantes à dessecação a partir de 50 dias após a abertura da flor.

A atividade das enzimas álcool desidrogenase e peroxidase mostrou-se reduzida em sementes com o aumento do tempo de envelhecimento e aumentada ao longo da maturação, de acordo com o teste de envelhecimento acelerado.

5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2 ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. 627p.
- BASAVARAJAPPA, B.S.; SHETTY, H.S.; PRAKASH, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated ageing of maize seeds. **Seeds Science and Technology**, 19 (2): 279-286, 1991.
- BEWLEY, J. D. & BLACK, M. **Seed: physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BLACKMAN, S.A.; WETTLAUFER, S.H.; OBENDORF, R.L.; LEOPOLD, A.C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, 96 (3): 868-874, 1991.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72: 248-254, 1976.
- BRANDÃO JÚNIOR, D.S.; CARVALHO, M.L.M.; VIEIRA, M.G.G.C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, 21(1): 114-121, 1999.
- BRANDÃO JÚNIOR, D.S.; VIEIRA, M.G.G.C.; HILHORST, H.W.M. Aquisição da tolerância à dessecação nos diferentes estádios de desenvolvimento de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, 26 (4): 673-681, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. p. 398.

- CARVALHO, D.; FERREIRA, R.A.; OLIVEIRA, L.M.; OLIVEIRA, A.F.; GEMAQUE, R.C.R. Eletroforese de proteínas e isoenzimas em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae Caesalpinoideae) envelhecidas artificialmente. **Revista Árvore**, 30 (1): 19-24, 2006.
- CARVALHO, N.M. DE & NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- CHAUHAN, Z.P.S. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. **Seed Science and Technology**, 13: 629-641, 1985.
- COPELAND, L.O. & McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 4 ed., New York, Chapman & Hall, 2001. 467p.
- COSTA, C.J.; CARMONA, R.; NASCIMENTO, W.M. Idade e tempo de armazenamento de frutos e qualidade fisiológica de sementes de abóbora híbrida. **Revista Brasileira de Sementes**, 28 (1): 127-132, 2006.
- DELOUCHE, J.C. Deterioração de sementes. **SEED News**, 6 (6): 24-31, 2002.
- DIAS, D.C.F.S.; RIBEIRO, F.P.; DIAS, L.A.S.; SILVA, D.H.; VIDIGAL, D.S. Tomato seed quality in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**, 34 (3): 691-699, 2006.
- GALLARDO, K.; JOB, C.; GROOT, S. P. C.; PUYPE, M.; DEMOL, H.; VANDEKERCKHOVE, J.; JOB, D. Proteomic analysis of *Arabidopsis* seed germination and priming. **Plant Physiology**, 126 (2): 835-848, 2001.
- GUIMARÃES, R. M. **Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica*, L.)**. 2000. 180 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, 6 (9): 431-438, 2001.

- HONG-BO, S.; ZONG-SUO, L.; MING-AN, S. LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 45: 131-135, 2005.
- ISTA – International Seed Testing Association. **Handbook of vigour test methods**. 3 ed. Zurich, 1995. 117p.
- KALEMBA, E.M.; JANOWIAK, F.; PUKACKA, S. Desiccation tolerance acquisition in developing beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds: the contribution of dehydrin-like protein. **Trees**, 23: 305-315, 2009.
- KALEMBA, E.M. & PUKACKA, S. Possible roles of LEA proteins and sHSPs in seed protection: short review. **Biological Letters**, 44 (1): 3-16, 2007.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination – AID seedling emergence and vigor. **Crop Science**, 2 (2): 176-177, 1962.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de semente de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.
- MITCHELL, W.C.; JELENKOVIC, G. Characterizing NAD and NAD-dependent Alcohol Dehydrogenase Enzymes of Strawberries. **Journal of the American Society for Horticultural Science**. 120 (5): 798-801, 1995.
- NAKADA, P.G.; OLIVEIRA, J.A.; MELO, L.C.; GOMES, L.A.A.; VONPINHO, L.V.R. Desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de pepino nos diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, 33 (1): 113-122, 2011.
- NEVES, L.L. de M. **Envolvimento de enzimas oxidativas no escurecimento do quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)**. 72p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2003.
- QUEIROZ, L.A.F.; VON PINHO, E.V.R.; OLIVEIRA, J.A. FERREIRA, V.F. CARVALHO, B.O.; BUENO, A.C.R. Época de colheita e secagem na qualidade de sementes de pimenta habanero yellow. **Revista Brasileira de Sementes**, 33(3): 472 - 481, 2011.

- SANTOS, C.M.R.; MENEZES, N.L.; VILLELA, F.A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, 26(1): 110-119, 2004.
- VIDIGAL, D.S.; DIAS, D.C.F.S.; NAVEIRA, D.S.P.C.; ROCHA, F.B.; BHERING, M.C. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, 28 (3): 87-93, 2006.
- VIDIGAL, D.S.; LIMA, J.S.; BHERING, M.C; DIAS, D.C.F.S. Teste de condutividade elétrica para sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, 30 (1): 168-174, 2008.
- VIDIGAL, D.S; DIAS, D.C.F.S.; PINHO, E..R.V.; DIAS, L.A.S. Sweet pepper seed quality and Lea-protein activity in relation to fruit and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**, 31: 192-201, 2009a.
- VIDIGAL, D.S; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; PINHO, E.R.V. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, 31: 129-136, 2009b.
- WILSON, D.O. & MCDONALD, M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, 14: 269-300, 1986.

CAPÍTULO II

Ação da aminoetoxivinilglicina (AVG) e 1-metilciclopropeno (1-MCP) em pimenta ornamental

RESUMO

As espécies do gênero *Capsicum* possuem excelente potencial para a comercialização como planta ornamental de vaso por apresentarem folhas e frutos com tamanhos, colorações e formatos variáveis. Além dos frutos, características como facilidade de propagação via semente, harmonia de vaso e baixo porte das plantas, são fatores determinantes na comercialização para decoração de ambientes internos. A exposição ao etileno na fase de pós-produção é prejudicial por reduzir a durabilidade da planta, em que as plantas muitas vezes são expostas a condições de baixa luminosidade e altas temperaturas. A durabilidade pós-colheita de muitas espécies de plantas ornamentais pode ser prolongada pelo uso de compostos que inibem a síntese do etileno, como a aminoetoxivinilglicina (AVG), ou ação pelo uso do 1-metilciclopropeno (1-MCP). O objetivo neste trabalho foi o de avaliar o efeito de inibidores da biossíntese e da ação do etileno aplicados isolados e combinados, na fase de produção, em plantas de pimenta envasadas. O experimento foi realizado em casa de vegetação em área experimental denominada “Horta Nova”, da Universidade Federal de Viçosa. Plantas de pimenta ornamental, variedade Calypso, foram tratadas com inibidores da biossíntese e ação do etileno, aplicados isoladamente e

combinados, sendo que após cada tratamento, as plantas foram expostas ou não ao etileno. Foram 12 tratamentos com quatro repetições, sendo cada repetição representada por um vaso contendo uma planta. Foram avaliadas a qualidade e durabilidade comercial das plantas, mediante as seguintes determinações: intensidade de coloração verde das folhas, determinada com o aparelho SPAD e abscisão foliar acumulada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em parcela subdividida, sendo as parcelas constituídas pelos inibidores de etileno (1-MCP e AVG isolados ou combinados) e as subparcelas constituídas pelo tempo de avaliação (1°, 4°, 7°, 10°, 13°, 16°, 19°, 22° dias após aplicação dos inibidores e do etileno), com quatro repetições, sendo uma planta por vaso. Os valores de SPAD e abscisão mostraram que houve crescente aumento na queda de folhas, com médias superiores a 50%, para os tratamentos em que as plantas foram tratadas com etileno. As plantas responderam melhor aos inibidores quando estas não foram tratadas com etileno, pulverizadas com aminoetoxivinilglicina (AVG) e 1-metilciclopropeno (1-MCP), com abscisão total próximos a 50% no término das avaliações aos 22 dias. As plantas pulverizadas na fase que antecedeu a fase de pós-produção, com AVG e 1-MCP, sem posterior exposição ao etileno, apresentaram maior durabilidade pós-colheita, em pimenta ornamental, variedade Calypso. O tratamento das plantas com 1-MCP fumigado e posterior aplicação de etileno foi eficiente em minimizar o amarelecimento e queda de folhas de pimenta ornamental. A aplicação simultânea dos inibidores AVG e 1-MCP em plantas de pimenta não resultaram em efeito aditivo.

1- INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Capsicum* possuem excelente potencial para a comercialização como planta ornamental de vaso por apresentarem folhas e frutos com tamanhos, colorações e formatos variáveis. A coloração do fruto varia do vermelho, amarelo-forte, amarelo-leitoso, roxo, preto e até combinações de cores no mesmo fruto. Além dos frutos, características como facilidade de propagação via semente, harmonia de vaso e baixo porte das plantas, são fatores determinantes na comercialização para decoração de ambientes internos (Backes *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2007; Stommel & Bosland, 2006).

O setor de floricultura, desde a produção até a comercialização encontra diversas dificuldades que afetam a qualidade e durabilidade das plantas envasadas, sendo a exposição ao etileno na fase de pós-produção a maior delas, principalmente durante o transporte, quando as plantas muitas vezes são expostas a condições de baixa luminosidade e altas temperaturas (Hoyer, 1996).

O etileno, produzido pelas plantas, é formado a partir da metionina, que é convertida em S-adenosil-metionina (SAM) e em seguida a ácido 1-carboxílico-1-amino-ciclopropano (ACC) pela enzima sintase do ACC, e por fim, o ACC é transformado em etileno pela oxidase do ACC. A produção de etileno é induzida durante germinação de sementes, amadurecimento e senescência de frutos, abscisão de folhas e flores, estresse por injúria, baixas temperaturas e estresse hídrico.

O etileno acelera a senescência, reduz a vida pós-colheita de flores e frutos. Contudo, a sensibilidade varia entre as espécies e entre cultivares da mesma espécie, pois a sensibilidade é dependente da abundância do receptor nos tecidos. Este gás pode exercer uma retroalimentação positiva ou negativa sobre sua biossíntese, dependendo do órgão, ou estágio de desenvolvimento (Hoyer, 1996). Devido aos efeitos diversos do etileno em grande número de espécies de plantas, muitos deles indesejáveis, há necessidade de manejar esses efeitos durante a fase pós-colheita dos produtos.

A durabilidade pós-colheita de muitas espécies de plantas ornamentais pode ser prolongada pelo uso de compostos que inibem a síntese ou ação do etileno (Serek

et al., 1994). A aminoetoxivinilglicina (AVG), um inibidor da síntese do etileno, é utilizada na conservação de flores e plantas ornamentais, pois impede a transformação da SAM em ACC ao inibir a atividade da enzima sintase do ACC (Yang & Hoffman, 1984; Serek & Sisler, 2001). A pesquisa de técnicas e tratamentos pré e pós-colheita vêm sendo realizada com a finalidade de retardar o amadurecimento e senescência, prolongando a qualidade do fruto, aumentando a vida de prateleira. A aplicação pré-colheita de AVG e a combinação de inibidores da síntese e ação do etileno mostraram resultados promissores para controlar a queda pré-colheita de maçãs e retardar o amadurecimento dos frutos na planta (Greene, 2005; Yuan & Carbaugh, 2007; Yuan & Li, 2008).

Inibidores da ação do etileno são aplicados contra os efeitos deste gás em flores, sendo ainda mais eficazes do que os inibidores da síntese, pois bloqueiam o efeito do etileno da atmosfera de armazenamento, durante o transporte e a comercialização do produto (Porat *et al.*, 1995). Este bloqueio é explicado pelo impedimento da ligação do etileno ao seu receptor, reduzindo a produção autocatalítica e sua ação, diminuindo ou retardando os efeitos na planta.

O 1-metilciclopropeno (1-MCP ou C₄H₆) é um composto volátil e que tem-se mostrado um potente inibidor da ação do etileno (Serek *et al.*, 1995), pois se liga ao sítio de ligação do etileno na célula, minimizando a ação do mesmo sobre processos fisiológicos do amadurecimento e senescência. Embora o 1-MCP seja um gás, é formulado como pó, o qual libera o ingrediente ativo quando misturado a uma solução básica ou água. O 1-MCP retarda a senescência de flores cortadas e plantas envasadas, em baixíssimas concentrações (Serek *et al.*, 1994, 1995; Porat *et al.*, 1995; Sisler *et al.*, 1996).

Segatto (2007), avaliando quatro variedades de pimenta ornamental cultivadas em vaso, obteve diferentes níveis de sensibilidade ao etileno dentre elas, sendo a variedade Calypso altamente sensível. Constatou, também, que ao aplicar 1 µL.L⁻¹ de 1-MCP anteriormente ao tratamento com etileno, obteve aumento na qualidade e durabilidade das variedades. No entanto, não foram testados inibidores da biossíntese do etileno.

Em trabalho com maçã, Yuan & Carbaugh (2007) estudaram o efeito do ácido naftaleno acético (ANA) aplicado isolado ou combinado com o inibidor da síntese do etileno, AVG, e aplicação do 1-MCP, para controlar a queda pré-colheita e

manutenção da qualidade dos frutos. O ANA é uma auxina sintética, importante no controle de abscisão de frutos, que reduz significativamente a queda pré-colheita de frutos, por manter a zona de abscisão insensível ao etileno, porém seu uso aumenta a degradação do amido, reduz a firmeza da polpa e conseqüentemente diminui a conservação pós-colheita do fruto (Yuan & Carbaugh, 2007). O 1-MCP, formulado em pó, é liberado como gás quando aplicado em câmaras, como uma fumigação. Nesse trabalho, os autores testaram uma formulação de 1-MCP na forma de spray, viabilizando a pulverização e aplicação no campo. Não há informação sobre a ação conjunta dos inibidores AVG e 1-MCP aplicados na forma de fumigação e pulverizados na planta. Assim, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar o efeito dos inibidores da biossíntese e da ação do etileno aplicados isolados e combinados, na fase de produção, em plantas de pimenta ornamental envasadas.

2- MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação em área experimental denominada “Horta Nova”, pertencente à Universidade Federal de Viçosa, no período de fevereiro a maio de 2010. Foram utilizadas sementes de pimenta *Capsicum annum* L, variedade Calypso. Essa variedade foi escolhida por apresentar alta sensibilidade ao etileno, causando abscisão de folhas, não afetando a queda dos frutos, como demonstrado por Segatto (2007). As sementes de pimenta foram colocadas para germinar em bandeja de isopor contendo substrato comercial, em casa de vegetação. Após obtenção das mudas, essas foram transplantadas, aos 50 dias de idade, em vasos de 760 mL, 10 cm de altura e 13 cm de diâmetro da borda, sendo uma planta por vaso. As plantas foram produzidas em casa de vegetação até atingirem ponto de comercialização, ou seja, 30% de frutos maduros com cor final amarela e nenhuma flor. Essa variedade tem floração concentrada e não apresenta flores nesse estágio de desenvolvimento. Para a avaliação da qualidade e vida pós-produção, após os tratamentos, as plantas foram transferidas para ambiente interno,

simulando lojas, supermercados e casa do consumidor final, com temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $8-10\ \mu\text{mol s}^{-1}\text{ m}^{-2}$ luz fluorescente e os vasos irrigados quando necessário.

As plantas foram tratadas com inibidores da biossíntese e ação do etileno, aplicados isoladamente e combinados, sendo que após cada tratamento, as plantas foram expostas ou não ao etileno. Foram 12 tratamentos com quatro repetições, sendo cada repetição representada por um vaso contendo uma planta (Tabela 1).

As plantas tratadas com 1-MCP fumigado foram tratadas com o produto comercial EthylBloc a 0,14% de 1-MCP (Rohm and Hass Química Ltda., São Paulo, Brasil) dissolvido em água a 50°C , $1\ \text{g m}^{-3}$. As plantas foram tratadas com EthylBloc em câmaras herméticas de 90 L por 6 horas. Logo após, os tratamentos em que as plantas foram expostas ao etileno, essas receberam uma concentração de $10\ \mu\text{L L}^{-1}$, em condições de temperatura ambiente de aproximadamente 25°C pelo período de 48 horas.

Nas plantas tratadas com AVG (Retain® a 15% de AVG, Valent BioSciences Corporation) e 1-MCP pulverizados, primeiramente dissolvidos em solução aquosa contendo Tween a 0,1% foram aplicados sobre as plantas com auxílio de um pulverizador de pressão.

Tabela 1 – Esquema dos tratamentos

CE	Plantas não tratadas com inibidores, expostas a 10 $\mu\text{L L}^{-1}$ de etileno por 48h
CNE	Testemunha - Plantas não tratadas com inibidores, sem exposição ao etileno
AVGp+MCPf E	Plantas com tratamento combinado, pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG seguido de fumigação com 1 g m^{-3} de ethylbloc, e posterior exposição ao etileno
AVGp+MCPf NE	Plantas com tratamento combinado, pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG seguido de fumigação com 1 g m^{-3} de ethylbloc, sem exposição ao etileno
AVGp+MCPp E	Plantas com tratamento combinado, pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG seguido de pulverização com 500 mg L^{-1} de ethylbloc e posterior exposição ao etileno
AVGp+MCPp NE	Plantas com tratamento combinado, pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG seguido de pulverização com 500 mg L^{-1} de ethylbloc, sem exposição ao etileno
AVGp E	Plantas tratadas apenas com pulverização de 250 mg L^{-1} de AVG e posterior exposição ao etileno
AVGp NE	Plantas tratadas apenas com pulverização de 250 mg L^{-1} de AVG, sem exposição ao etileno
MCPf E	Plantas tratadas apenas com fumigação de 1 g m^{-3} de ethylbloc e posterior exposição ao etileno
MCPf NE	Plantas tratadas apenas com fumigação de 1 g m^{-3} de ethylbloc, sem exposição ao etileno
MCPp E	Plantas tratadas apenas com pulverização de 500 mg L^{-1} de ethylbloc e posterior exposição ao etileno
MCPp NE	Plantas tratadas apenas com pulverização de 500 mg L^{-1} de ethylbloc, sem exposição ao etileno

Foram avaliadas a qualidade e durabilidade comercial, mediante as seguintes determinações: intensidade de coloração verde das folhas, determinada com o aparelho SPAD-502 (Minolta Co. LTd), sendo analisadas folhas escolhidas aleatoriamente da base, centro e ápice de cada planta e abscisão foliar acumulada. Os valores de SPAD e abscisão foram determinados a cada 3 dias, a partir do primeiro dia após tratamento, sendo as plantas descartadas quando não mais apresentaram valor comercial (50% de abscisão de folhas e frutos e/ou 50% amarelecimento de folhas).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em parcela subdividida, sendo as parcelas constituídas pelos inibidores de etileno (1-MCP e AVG isolados ou combinados) e as subparcelas constituídas pelo tempo de avaliação (1°, 4°, 7°, 10°, 13°, 16°, 19°, 22° dias após aplicação dos inibidores e do etileno), com quatro repetições, sendo uma planta por vaso. Os dados foram inicialmente transformados pela função arco seno, posteriormente, submetidos à análise de variância e regressão polinomial, apresentando-se apenas tratamentos significativos. As médias dos tratamentos foram comparadas pela aplicação do teste Tukey, em 1% de probabilidade. Como critério para escolha entre equações lineares ou quadráticas significativas, referentes às regressões, se deu pela interpretação menos complexa dos resultados, observando valores de r^2 superiores a 70%.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Figuras 1, 2, 3 e 4 encontram-se os valores de SPAD referentes as avaliações, relacionado com o progresso do amarelecimento das folhas. Já nas Figuras 5, 6, 7 e 8 encontram-se os resultados de abscisão foliar durante as avaliações. Observaram-se diferenças estatísticas significativas entre os inibidores a partir do 7° dia de aplicação dos tratamentos dos valores de SPAD e logo no 4° dia para abscisão foliar (Figuras 1 e 5).

Nas Figuras 9 e 10 encontram-se as regressões significativas referentes ao comportamento de cada inibidor ao longo das avaliações.

Nos tratamentos onde as plantas não foram expostas ao etileno (NE), os valores de SPAD permaneceram superiores até o 13º dia após a aplicação dos tratamentos, com valores próximos a 70 unidades SPAD. Em seguida as plantas que foram pulverizadas com AVG e fumigadas com 1-MCP (AVG+MCPf NE), também o tratamento das plantas com AVG e 1-MCP pulverizado NE e por fim, o tratamento com 1-MCP fumigado NE mostraram valores de SPAD superiores a testemunha até o término das avaliações (Figuras 1, 2, 3 e 4).

As plantas em que ao final do tratamento com inibidores foi realizado exposição ao etileno (E), logo no 7º dia de avaliação, as plantas tratadas com AVG+MCPf e MCPf apresentaram médias superiores ao controle. Sustentando essa tendência, o tratamento MCPf E não apresentou redução acentuada no valor de SPAD, sendo capaz de minimizar o amarelecimento das folhas, mostrando-se superior ao controle por mais 9 dias (Figuras 1, 2, 3 e 4). Os valores de SPAD baixos estão relacionados com a provável degradação das clorofilas. De acordo com Segatto (2007), o aumento das concentrações de etileno e maior tempo de exposição das plantas ao hormônio resultaram em amarelecimento das folhas pela aceleração do processo de degradação da clorofila, em plantas de pimenta ornamental.

Além de o 1-MCPf ter evitado a degradação das clorofilas segundo os maiores valores de SPAD, em plantas expostas ao etileno, os valores de abscisão foram inferiores aos do controle, no 7º dia e as plantas estavam visualmente mais atrativas ao consumidor (Figura 5 e 11). Contudo, os valores de abscisão foram superiores a 50%, resultando em perda do valor comercial das plantas.

Segundo Segatto (2007), a aplicação de etileno na variedade Calypso causou a abscisão das folhas, não afetando a queda de frutos. De forma semelhante, no presente trabalho, não houve queda de frutos e os resultados demonstraram que a folha responde à aplicação de etileno em relação ao controle sem etileno (Figura 5 e 6). No 4º dia após a aplicação de etileno, os tratamentos apresentaram valores de abscisão foliar próximos a 40% (Figura 5).

O etileno pode causar efeitos indesejáveis à planta, influenciando a degradação de carotenóides, determinando assim a mudança da coloração dos frutos, durante o amadurecimento (Casas & Mallent, 1989). O etileno aumenta a expressão

de genes de enzimas responsáveis pela degradação de clorofila em folhas (Khan, 2006). Promove o amarelecimento de folhas de alstroemeria, crisântemo, rosas em miniatura e Poinsettia (Hibma, 1988; Tjosvold *et al.*, 1994; Ferrante *et al.*, 2002) e induz abscisão das folhas em feijão selvagem (*Phaseolus vulgaris*), segundo Fang *et al.* (1998), e diminuição no conteúdo de clorofila total e carotenóides, em folhas de tomateiro mutantes (Akhtar *et al.*, 1999). Em estudo com rosa “Osiana”, Cordeiro *et al.* (2011) constataram sensibilidade ao etileno em flores tratadas com, no mínimo de 10 $\mu\text{L L}^{-1}$ de etileno, causando necrose, murcha e abscisão prematura das pétalas ainda túrgidas.

Analisando-se os resultados de abscisão foliar, no 4º dia após a aplicação dos inibidores as plantas dos tratamentos AVGP+MCPp e AVGP com subsequente aplicação de etileno, apresentaram queda de mais de 60% das folhas, não sendo portanto mais atrativas ao consumidor (Figura 5 e 12).

A sensibilidade das folhas ao etileno, causando abscisão e, conseqüentemente menor vida pós-produção de plantas envasadas, foi também observada ao analisarem-se os gráficos de regressão referentes aos fatores tempo de avaliação em função dos inibidores de etileno (Figura 10). As avaliações mostraram que houve crescente aumento na queda de folhas, com médias superiores a 50%, no início das avaliações, nos tratamentos em que as plantas foram tratadas com etileno (Figura 10). Entretanto, as plantas responderam melhor aos inibidores quando não foram expostas ao etileno, apresentando menores valores de abscisão foliar e com efeito benéfico da AVG e 1-MCP pulverizados, com abscisão total próximos a 50% no término das avaliações aos 22 dias (Figura 10).

Pesquisas mostram o efeito promissor da AVG na conservação pós-colheita de várias espécies. Contudo, como esse inibidor bloqueia a síntese do etileno, a planta continua sensível ao etileno exógeno. Desse modo, maçãs tratadas com AVG na pré-colheita, apesar de possuírem qualidade superior na colheita, no armazenamento podem ter o amadurecimento acelerado pelo etileno (Amarante & Steffens, 2009).

A forma de aplicação e concentração de AVG varia entre espécies para prolongar a vida pós-colheita. Em orquídeas da espécie *Epidendrum*, tanto a pulverização ou AVG em solução são efetivos em prolongar a longevidade das inflorescências (Mapeli *et al.*, 2009). Segundo Paull & Goo (1985), o tratamento das

hastes de antúrio Ozaki Red em soluções de pulsing contendo AVG inibiram a produção de etileno, prolongando sua vida de vaso.

Hastes florais de helicônia submetidas ao tratamento de pulsing com AVG e sacarose exibiram menor perda de água, melhor aparência e maior intensidade da cor laranja (Souza, 2008). Aplicações pré-colheita, no estágio de início de abertura floral, de AVG em inflorescências de crisântemo cv. Bronze Repin prolongaram a vida de vaso (Brackmann *et al.*, 2004).

Diferentemente da AVG, o 1-MCP, potente inibidor da ação do etileno, se liga ao sítio receptor do hormônio na célula, impedindo a ação do mesmo sobre processos indesejáveis como o amadurecimento e senescência (Serek *et al.*, 1995). Nesse sentido, a superioridade do 1-MCP fumigado, com exposição das plantas ao etileno, em relação aos tratamentos com AVG, é observado nos valores de SPAD e abscisão foliar, que pode ser justificada pelo bloqueio do etileno exógeno exercido pelo 1-MCP. Como a AVG atua no bloqueio da síntese do etileno, as plantas ainda são sensíveis à aplicação do hormônio. Já, o 1-MCP fumigado mostrou-se mais eficiente em minimizar a queda de folhas, quando o etileno foi aplicado no início da pós-produção.

Em estudo com plantas de gerânio envasadas, variedade Pulsar Red, o 1-MCP prolongou a vida de prateleira por 13,6 dias (Silva, 2004). Hichimura *et al.* (2002) trabalhando com flores de ervilha doce recomendaram a combinação de 1-MCP e sacarose para prolongar a vida de vaso. Esses autores observaram que o 1-MCP não foi promissor na conservação de flores de cravo, sendo a ineficiência atribuída a produção de novos receptores de etileno durante a senescência das flores.

Pietro *et al.* (2010) observaram redução na atividade respiratória e manutenção da cor e turgescência em hastes de rosa cv. Vega quando aplicaram 1-MCP, o que conservou as hastes por mais 7 dias em comparação com o controle.

O 1-MCP tem efeito promissor em inibir a abertura e queda de flores de rosa Osiana (Cordeiro, 2008), bloqueio da abscisão causada pelo etileno em flores de flox e lírio (Porat *et al.*, 1995; Celikel & Reid, 2002), *Dendrobium* (Uthaichay *et al.*, 2007), o murchamento e abscisão em flores de petúnia e begônia (Serek *et al.*, 1994), cravos (Serek *et al.*, 1995) e senescência de flores abertas de Gipsófila (Newman *et al.*, 1998).

Analisando os dados de abscisão foliar e visualização das plantas após os tratamentos, os resultados revelaram que as plantas tratadas com 1-MCP, via fumigação mesmo com posterior aplicação de etileno apresentaram valores inferiores aos demais tratamentos com aplicação de etileno. Contudo, sem o hormônio, o 1-MCP aplicado na forma de gás, não se mostrou superior, em comparação aos tratamentos sem o etileno (Figura 5, 6, 7, 8 e 11). Portanto há necessidade de uma concentração mínima de etileno para que as pimentas testadas mostrem os efeitos deletérios do regulador na indução da abscisão das folhas.

De forma contrária, o tratamento das plantas com 1-MCP na forma de spray (pulverizado) e posterior exposição ao etileno mostrou-se ineficiente em impedir a queda e amarelecimento das folhas, tendo sido as plantas descartadas juntamente com as plantas-controle, no 7º dia após aplicação dos tratamentos (Figuras 2 e 5). Entretanto, a resposta do 1-MCP pulverizado sem exposição ao etileno, amenizou a queda e o amarelecimento das folhas em pimenta ornamental (Figura 2 e 5). Portanto, a pulverização na fase de produção exerce efeitos positivos, provavelmente diminuindo a sensibilidade a estresses abióticos.

Quando combinado ao AVG, o tratamento das plantas com 1-MCP pulverizado, seguido de aplicação de etileno, também apresentou valores elevados de abscisão foliar final próxima a 70%. Contudo, quando as plantas não foram expostas ao etileno, mas os tratamentos aplicados isolados ou combinados prolongaram a conservação das plantas por mais 9 dias em relação ao controle sem etileno (Figura 5, 6, 7 e 8).

Blankenship & Dole (2003), em uma revisão sobre o 1-MCP, questionaram o funcionamento desse inibidor nas plantas. Discutiu-se que o 1-MCP pode ser efetivo, em alguns casos, apenas na presença de etileno, sem uma explicação para o fato. Os mesmos autores afirmaram que o 1-MCP está apenas iniciando o entendimento sobre a ação do etileno no desenvolvimento das plantas e no processo de pós-colheita, pela diversidade de concentrações com efeito positivo e ainda possibilidade de regeneração de sítios receptores de etileno em algumas culturas.

Observando-se as Figuras 6 e 7, foi possível constatar que não houve efeito aditivo das combinações dos inibidores AVG e 1-MCP pulverizados, sem etileno. Isto pode ser verificado pelo fato de as médias de abscisão dos tratamentos combinados, não terem apresentado valores inferiores dos dados de AVG e MCP

aplicados isoladamente. Resultado diferente foi obtido por Yuan & Carbaugh (2007) que trabalhando com frutos de maçã, pesquisaram o efeito do ácido naftaleno acético (ANA) aplicado isolado ou combinado com o inibidor da síntese do etileno, AVG, e aplicação do 1-MCP, para controlar a queda pré-colheita e manutenção da qualidade dos frutos. Foram constatados efeitos negativos do ANA, diminuindo a conservação pós-colheita do fruto. Contudo, quando combinado ao AVG diminuiu o amolecimento dos frutos, atrasou o amadurecimento e degradação do amido e reduziu a abscisão dos frutos. O AVG reduziu a queda pré-colheita de frutos de maçã, entretanto os resultados foram mais eficientes quando combinado ao ANA, sugerindo um efeito aditivo entre ANA e AVG no controle da queda dos frutos. Além disso, os autores encontraram resultados positivos na redução de queda de frutos quando aplicaram 1-MCP na forma de spray (Yuan & Carbaugh, 2007; Yuan & Li, 2008). No presente trabalho, um possível efeito aditivo da aplicação conjunta de 1-MCP e AVG não foi verificado. Contudo, houve maior conservação das plantas tratadas com 1-MCP e AVG pulverizados, sem posterior exposição ao etileno.

No presente trabalho o desempenho das plantas na pós-produção, o etileno reduziu a conservação das plantas. Na ausência da aplicação de etileno, o melhor desempenho ocorreu com o fornecimento dos inibidores AVG e 1-MCP pulverizados. Desse modo, a aplicação na fase que antecede a pós-produção dos inibidores de etileno controlou o amarelecimento e a queda de folhas em plantas de pimenta ornamental, variedade Calypso, prolongando a vida pós-colheita por mais 9 dias em relação ao controle nas plantas tratadas com AVG e 1-MCP pulverizados, não expostas ao etileno. O 1-MCP aplicado na forma de spray requer experimentações futuras para constatar o provável efeito benéfico em diversas espécies e averiguar a real possibilidade de aplicações pré-colheita em nível de campo.

4- CONCLUSÕES

As plantas pulverizadas na fase que antecedeu a fase de pós-produção, com AVG e 1-MCP, sem posterior exposição ao etileno, apresentaram maior durabilidade pós-colheita, em pimenta ornamental, variedade Calypso;

O tratamento das plantas com 1-MCP fumigado e posterior aplicação de etileno foi eficiente em minimizar o amarelecimento e queda de folhas de pimenta ornamental;

A aplicação simultânea dos inibidores AVG e 1-MCP em plantas de pimenta não resultaram em efeito aditivo.

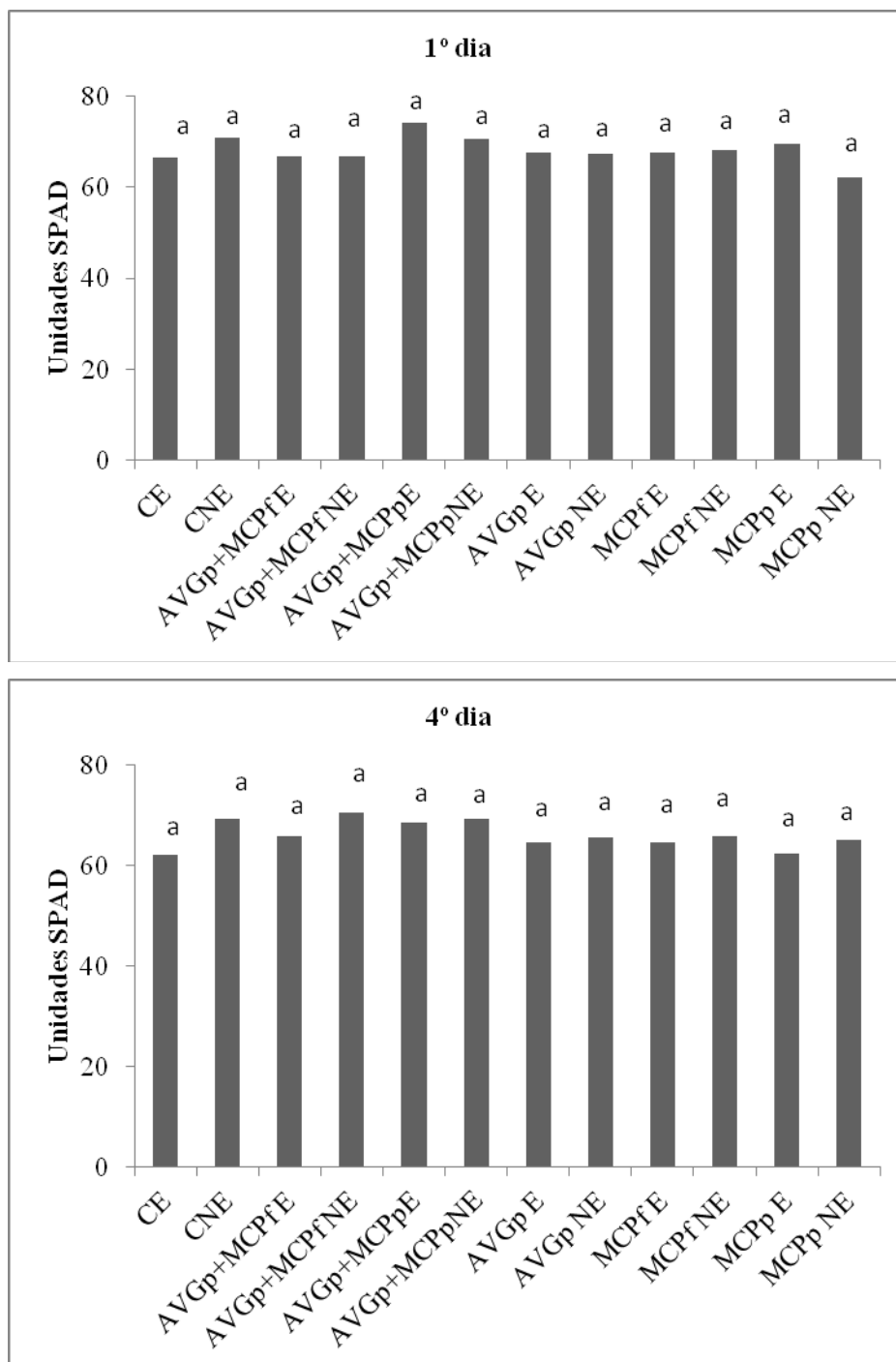


Figura 1 – Valores de SPAD de folhas de pimenta ornamental no 1º e 4º dias de avaliação das plantas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey, em 1% de probabilidade.

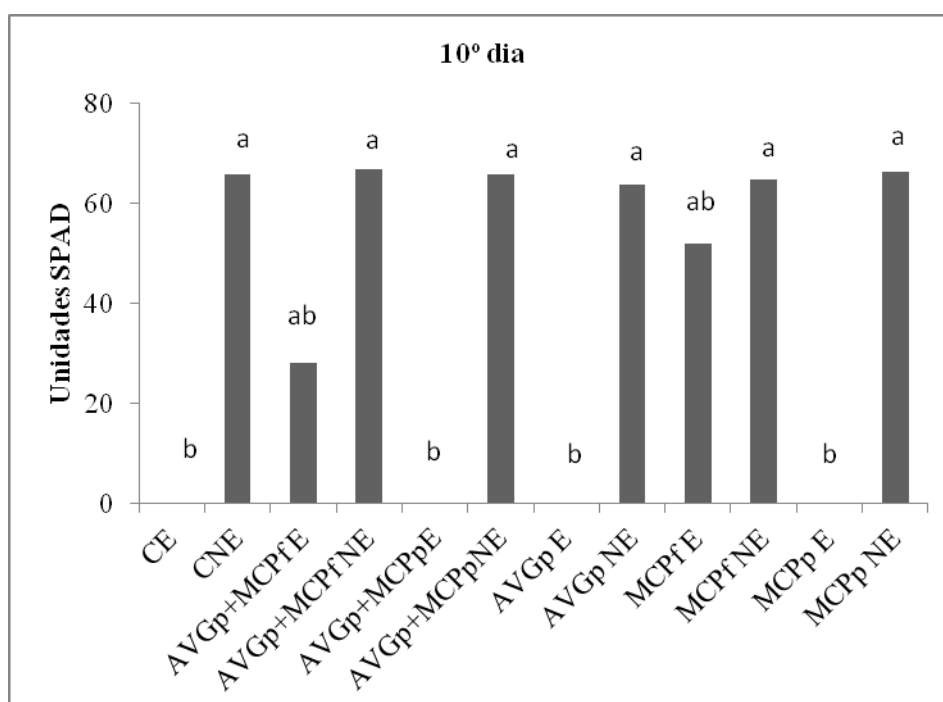
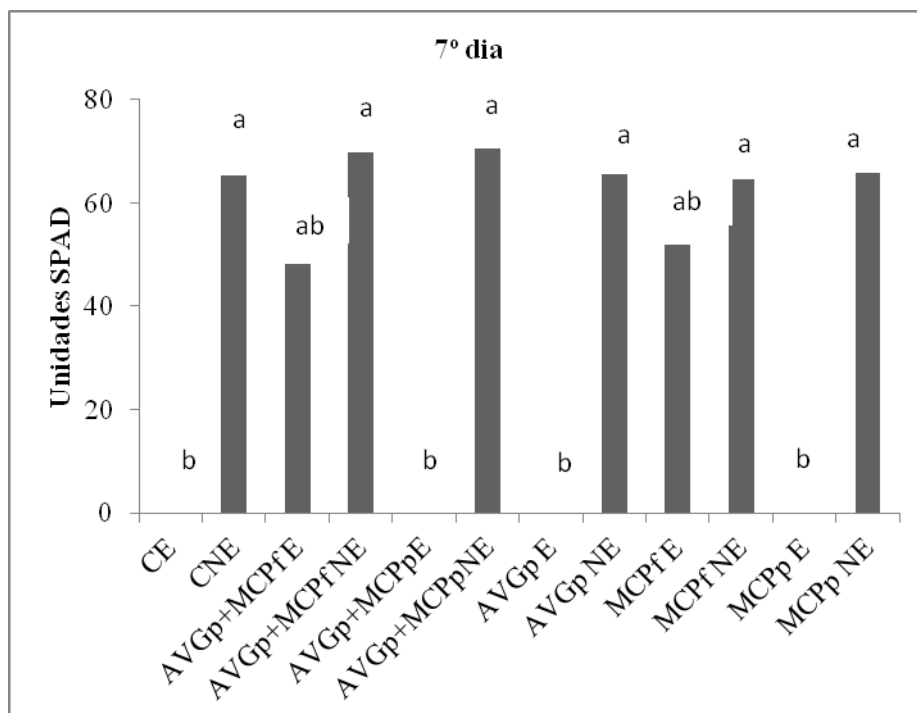


Figura 2 – Valores de SPAD de folhas de pimenta ornamental no 7º e 10º dias de avaliação das plantas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.

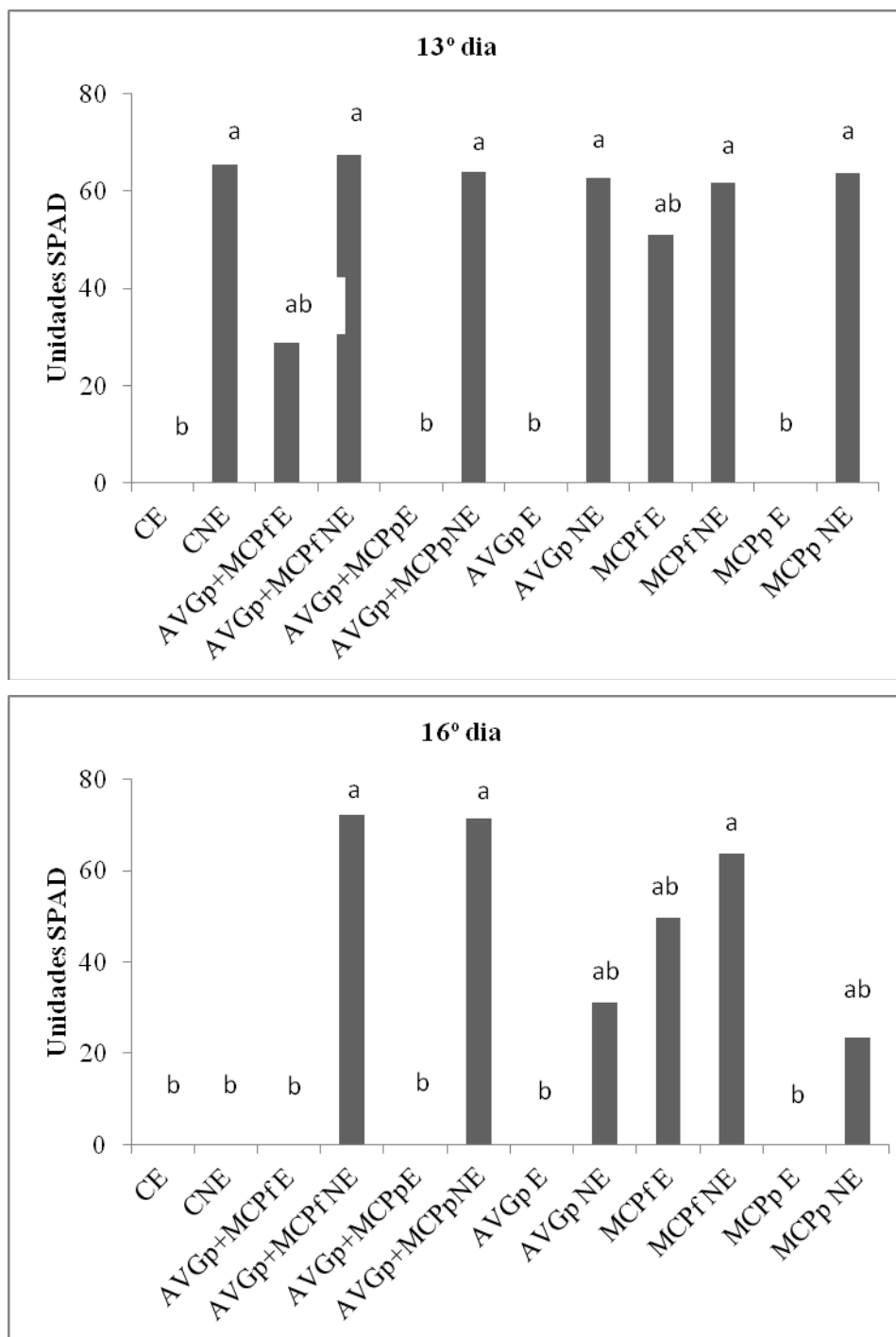


Figura 3 – Valores de SPAD de folhas de pimenta ornamental no 13º e 16º dias de avaliação das plantas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.

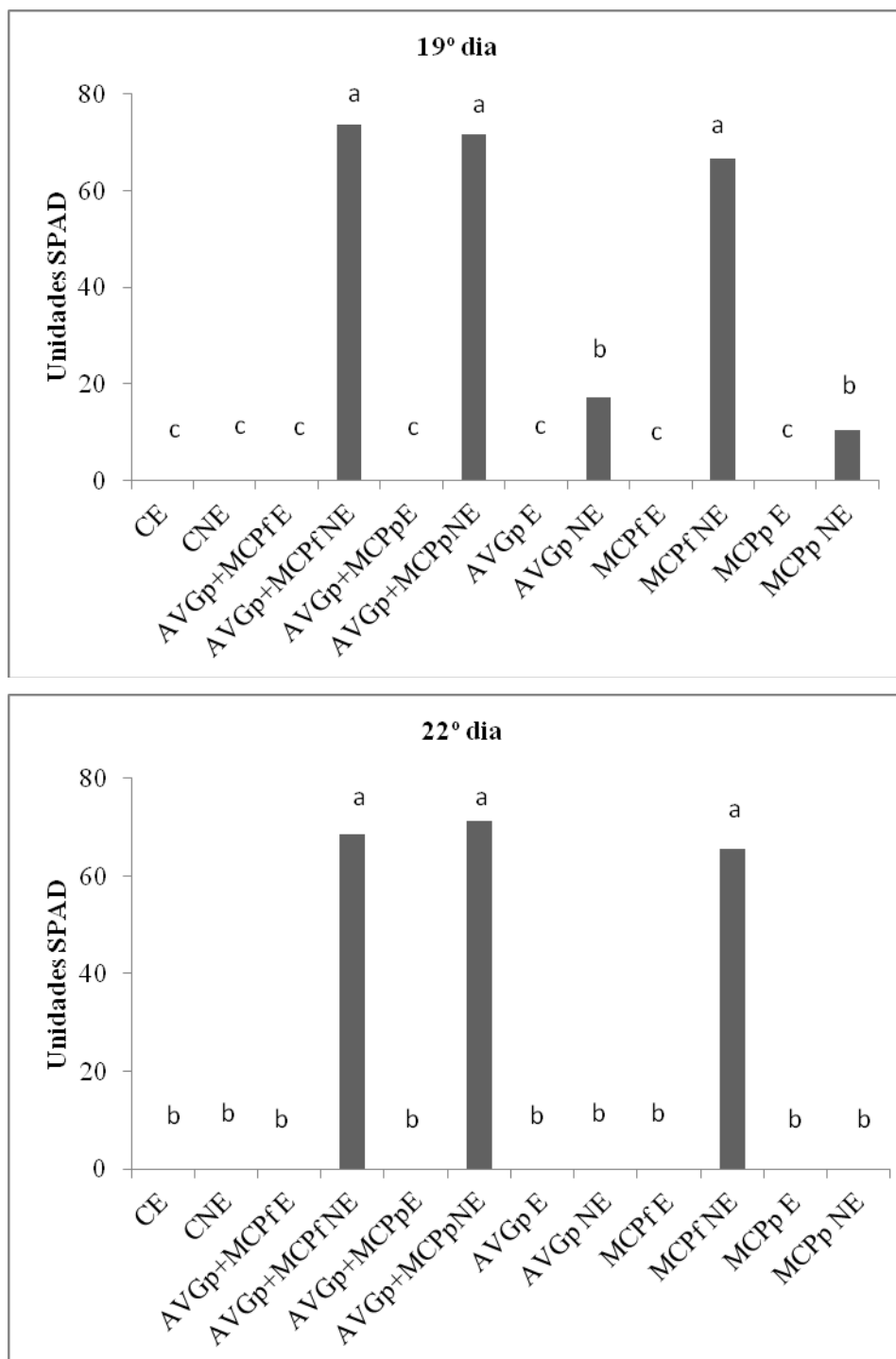


Figura 4 – Valores de SPAD de folhas de pimenta ornamental no 19º e 22º dias de avaliação das plantas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.

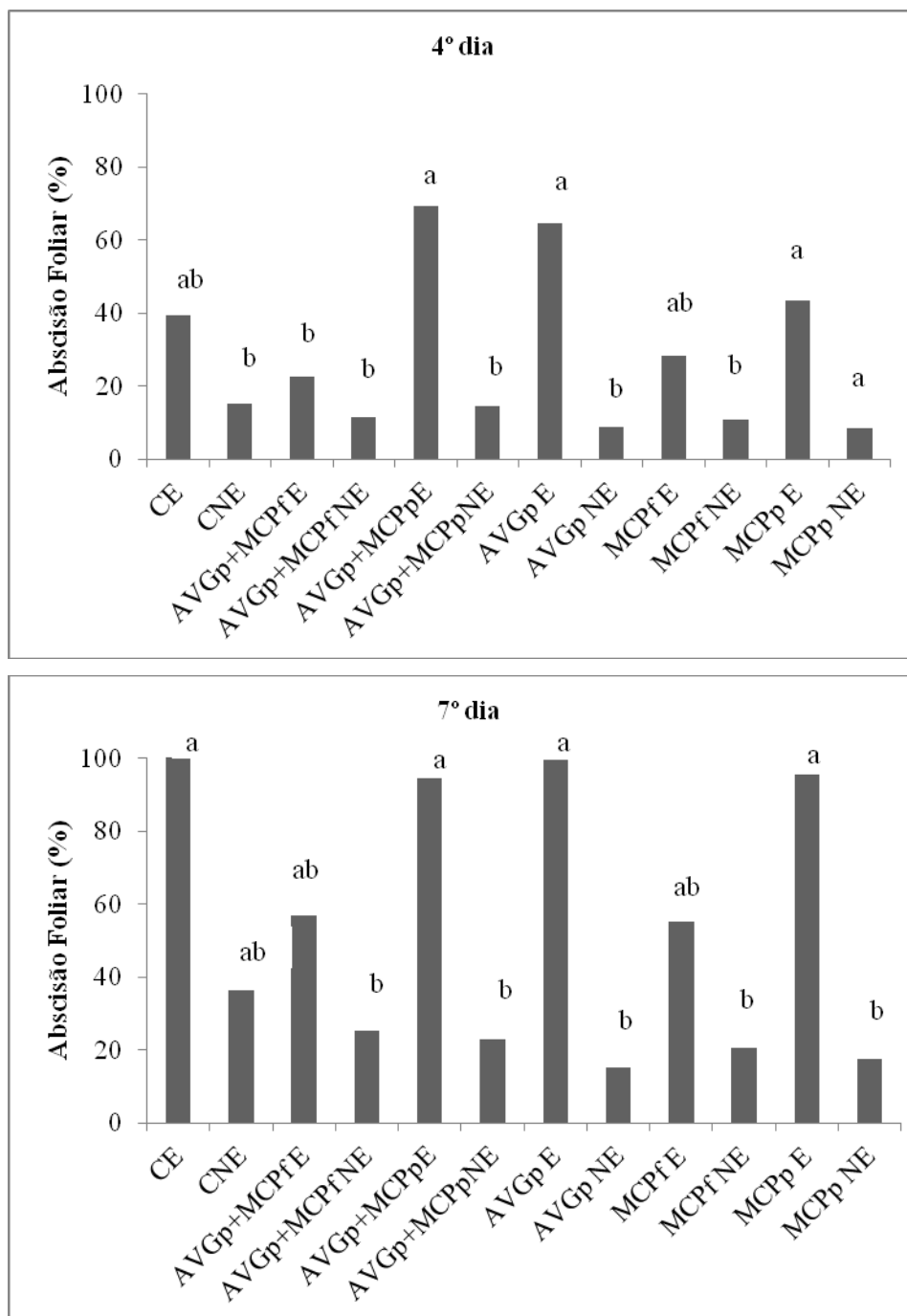


Figura 5 – Valores de abscisão foliar de pimenta ornamental no 4º e 7º dias de avaliação das plantas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.

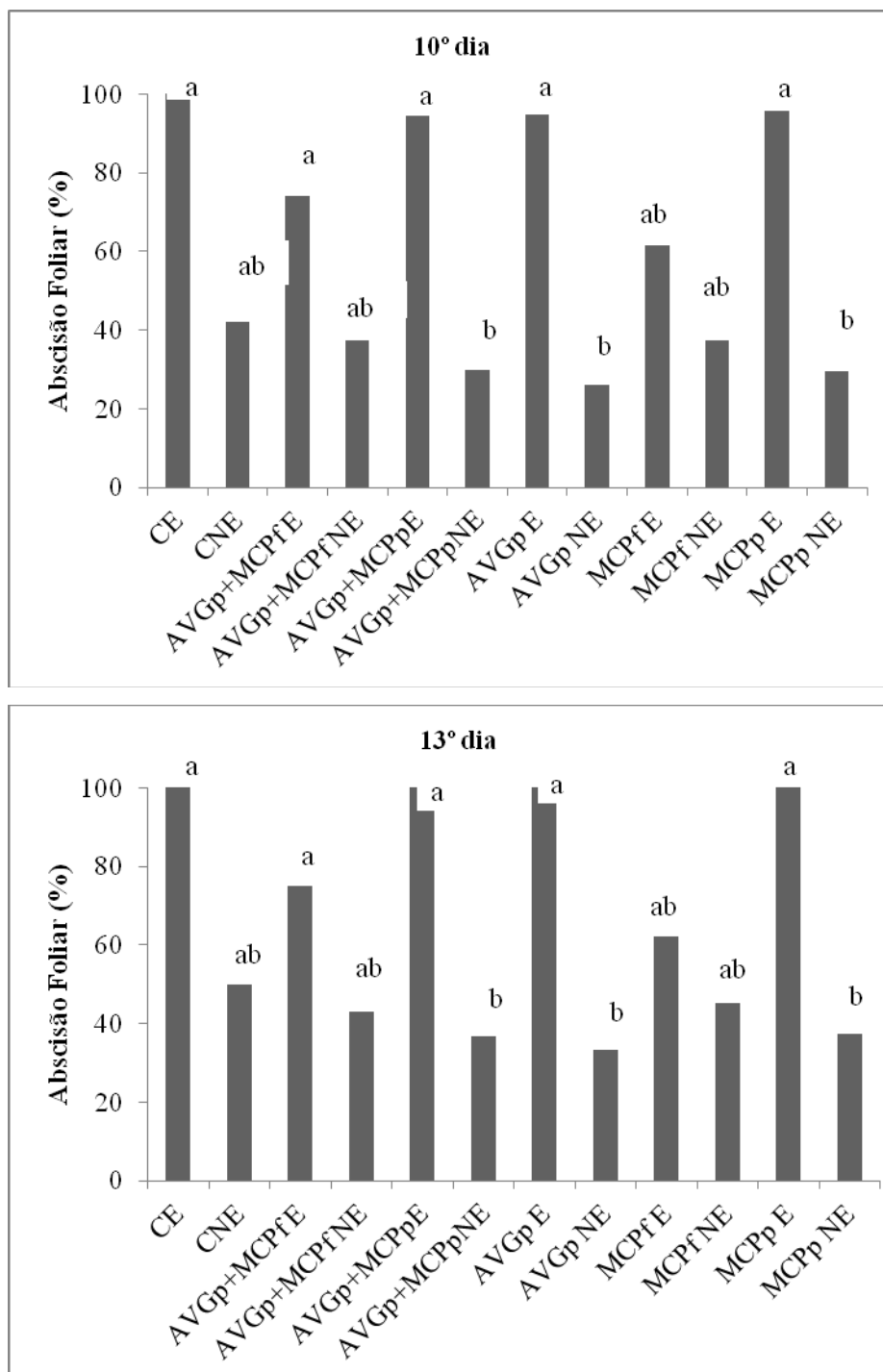


Figura 6 – Valores de abscisão foliar de pimenta ornamental no 10° e 13° dias de avaliação das plantas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.

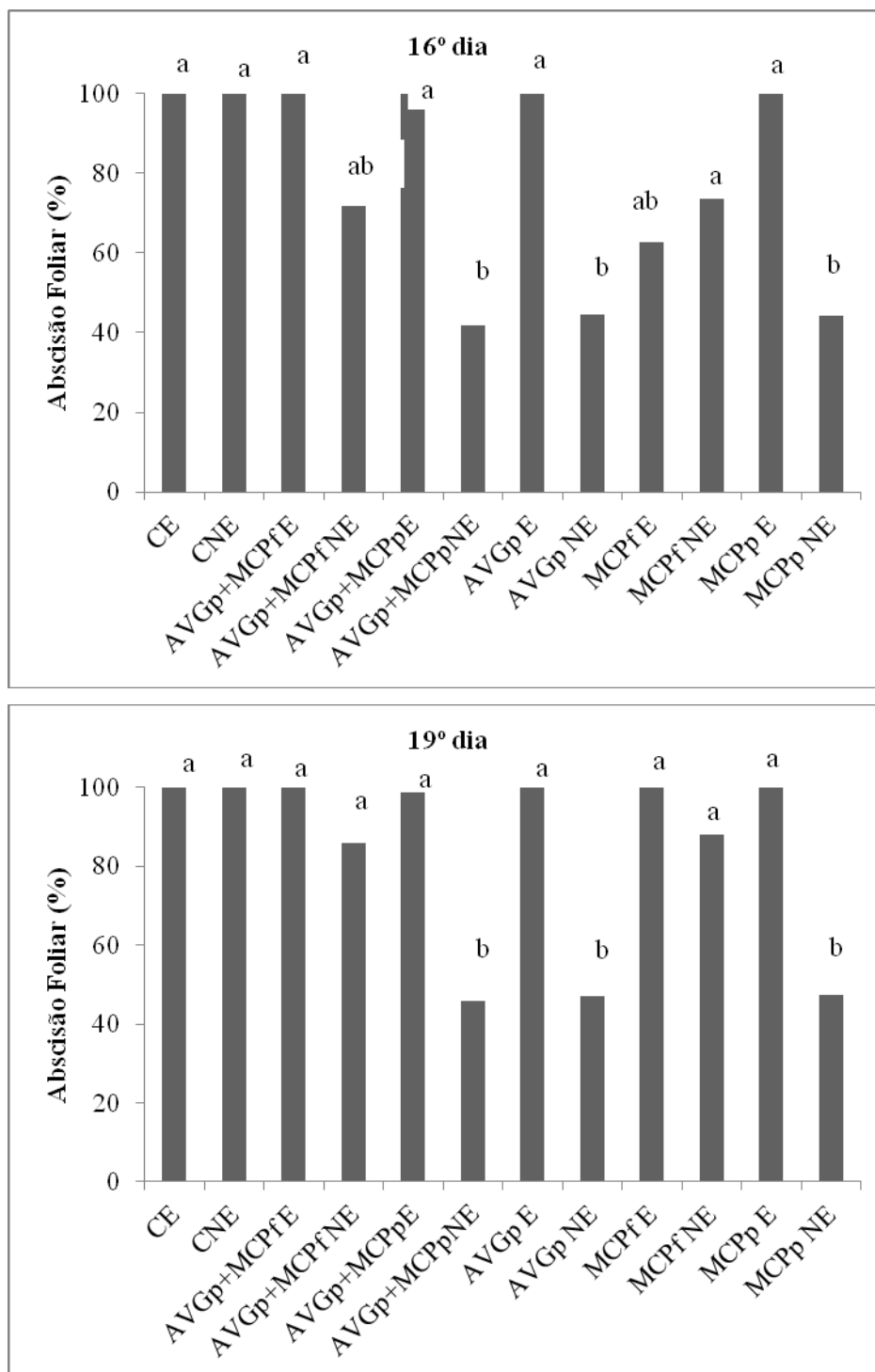


Figura 7 – Valores de abscisão foliar de pimenta ornamental no 16º e 19º dias de avaliação das plantas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.

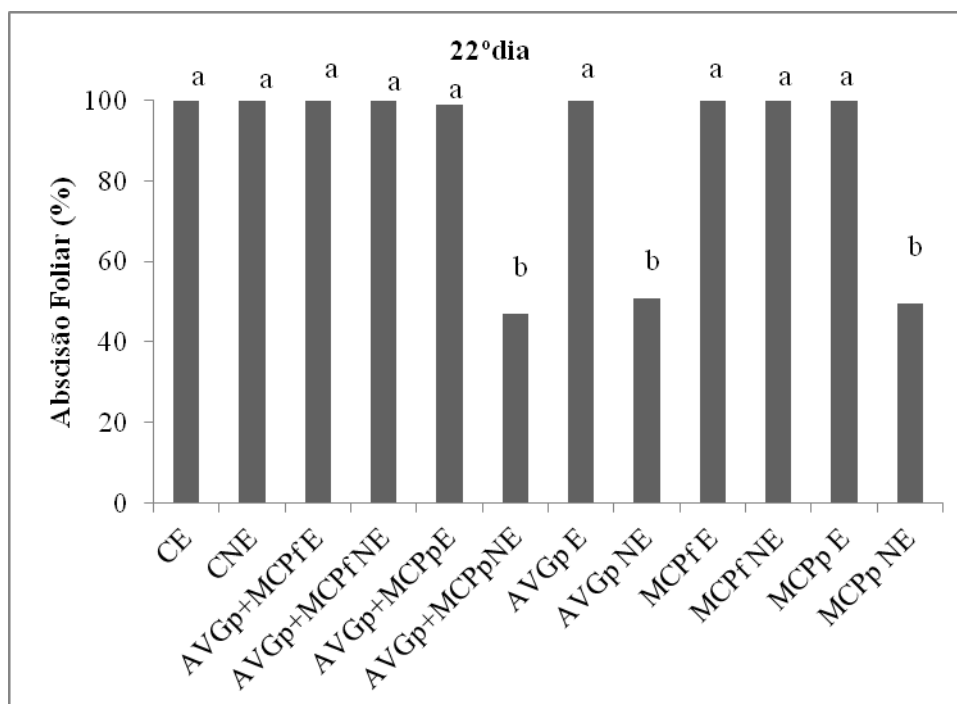
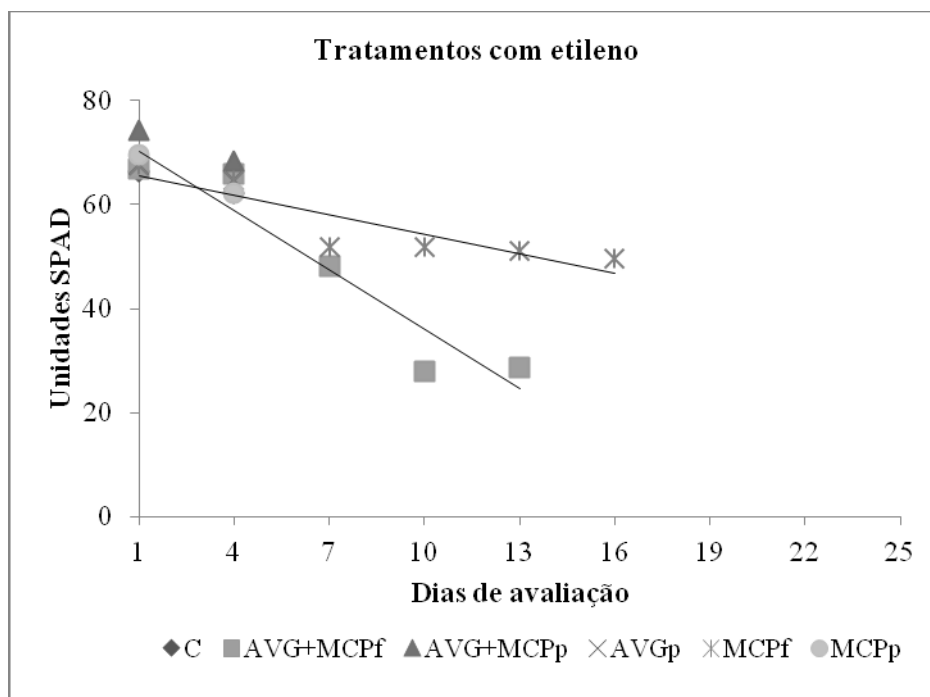
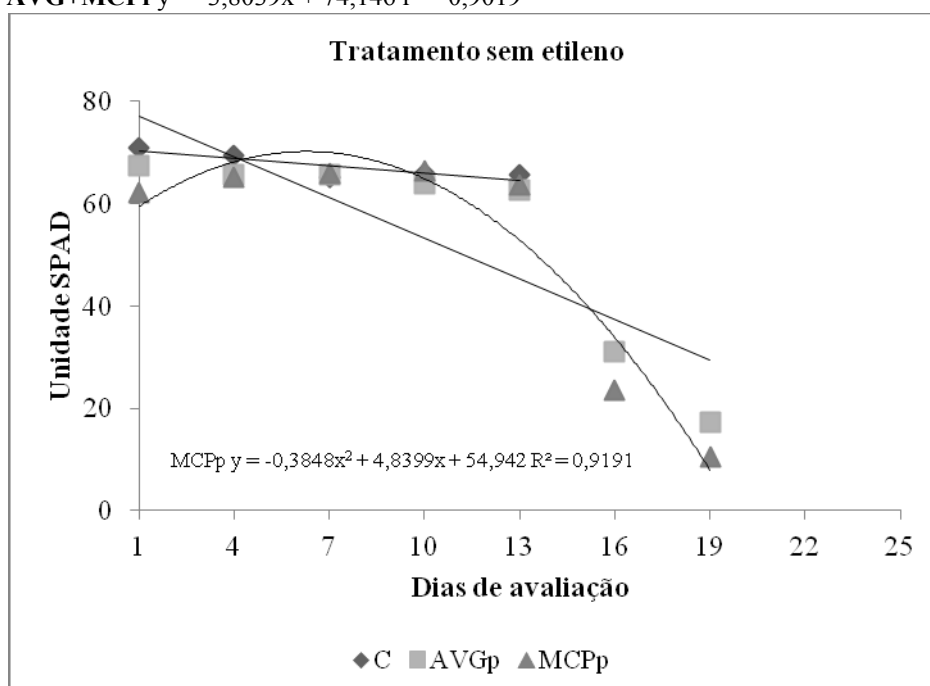


Figura 8 – Valores de abscisão foliar de pimenta ornamental no 22º dia de avaliação das plantas. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.



$MCPf\ y = -1,2421x + 66,665\ r^2 = 0,7907$

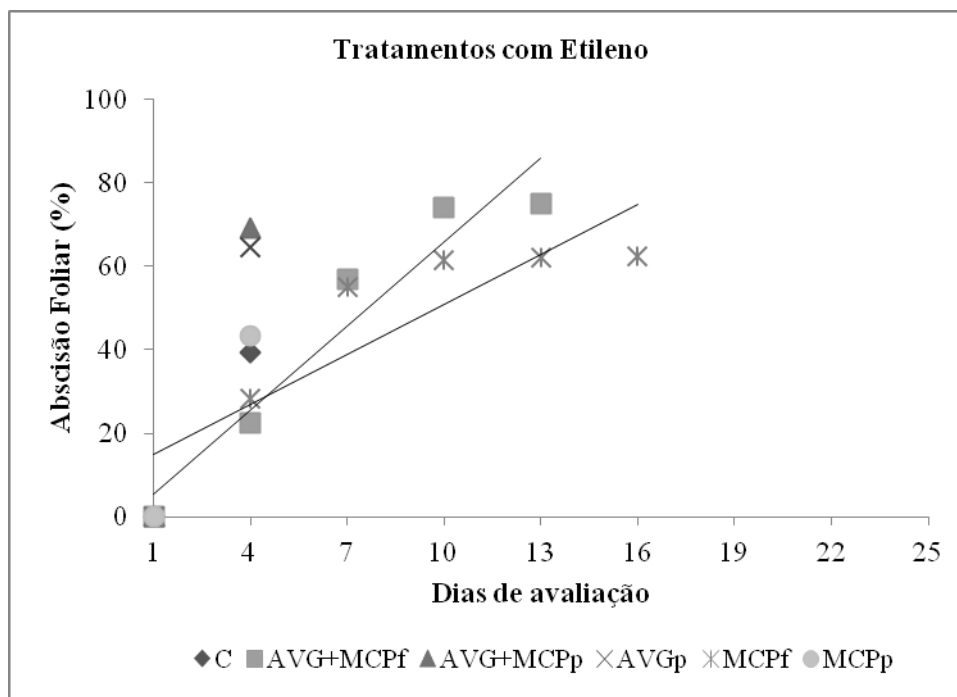
$AVG+MCPf\ y = -3,8039x + 74,146\ r^2 = 0,9019$



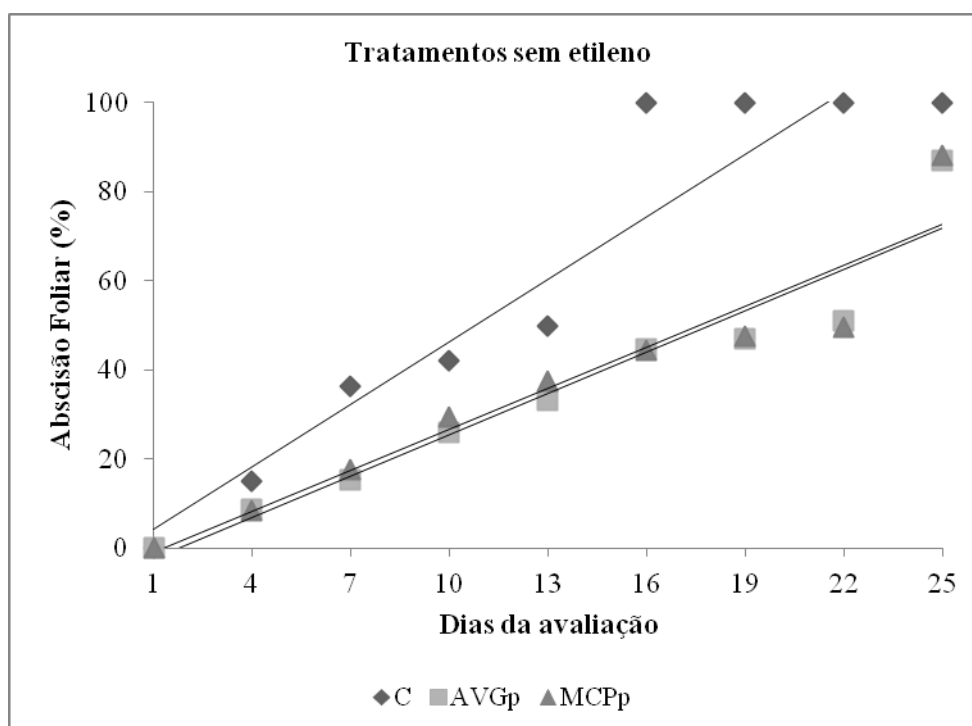
$MCPp\ y = -0,3848x^2 + 4,8399x + 54,942\ R^2 = 0,9191$

$C\ y = -0,4681x + 70,648\ r^2 = 0,7468\ AVGp\ y = -2,6454x + 79,752\ r^2 = 0,7067$

Figura 9 – Regressão dos valores de SPAD para os tratamentos com e sem exposição ao etileno durante o tempo de avaliação.



$AVG+MCPf\ y = 6,7213x - 1,3163\ r^2 = 0,9198$ $MCPf\ y = 4,0036x + 10,91\ r^2 = 0,77$



$C\ y = 4,6686x - 0,3336\ r^2 = 0,9047$ $AVGp\ y = 3,0959x - 5,544\ r^2 = 0,9247$
 $MCPp\ y = 3,0623x - 3,9879\ r^2 = 0,9115$

Figura 10 - Regressão dos valores de abscisão foliar para os tratamentos com e sem exposição ao etileno durante o tempo de avaliação.

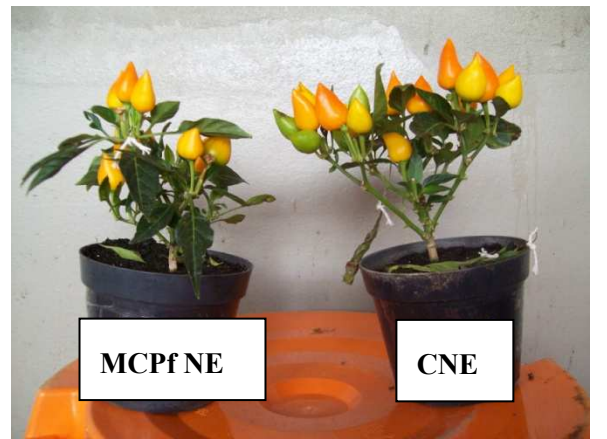
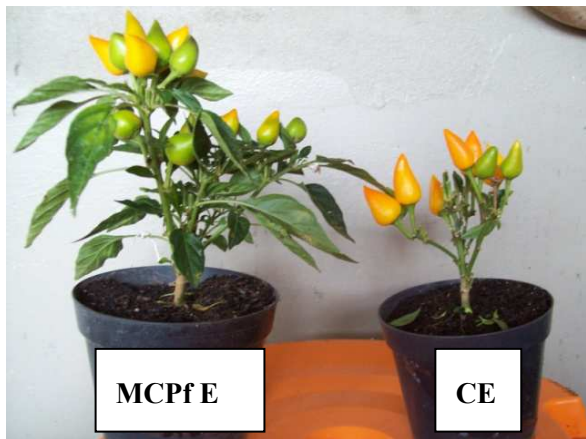
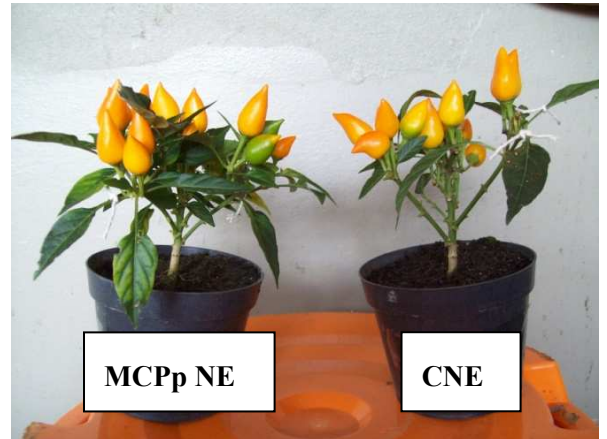
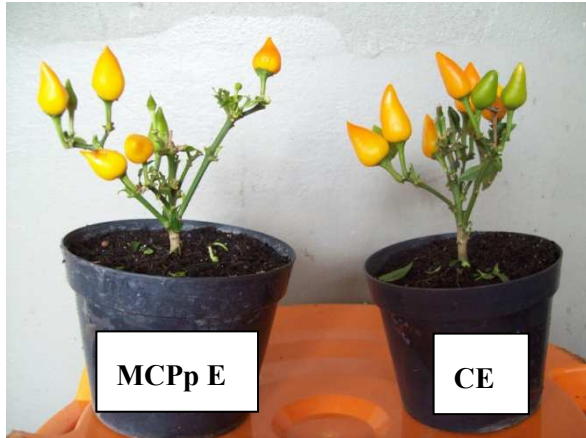


Figura 11 – Efeito dos inibidores nas plantas de pimenta, variedade Calypso.

MCPp E - Plantas pulverizadas com 500 mg L^{-1} de ethylbloc e posterior exposição ao etileno; **MCPp NE** - Plantas pulverizadas com 500 mg L^{-1} de ethylbloc, sem exposição ao etileno; **MCPf E** – Plantas fumigadas com 1 g m^{-3} de ethylbloc e posterior exposição ao etileno; **MCPf NE** - Plantas fumigadas com 1 g m^{-3} de ethylbloc, sem exposição ao etileno. **CE** - Plantas não tratadas com inibidores, expostas a $10 \text{ } \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno; **CNE** - Plantas não tratadas com inibidores, sem exposição ao etileno.

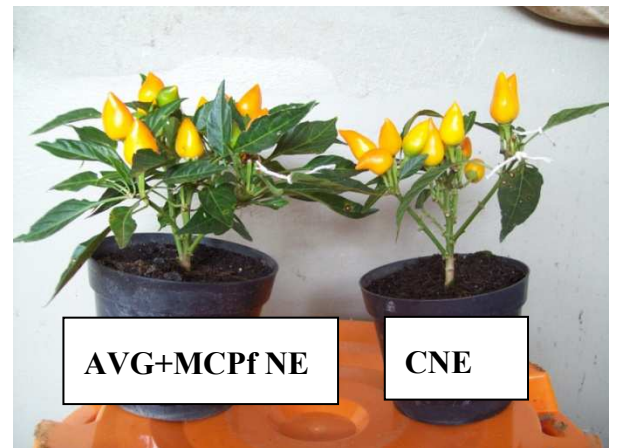
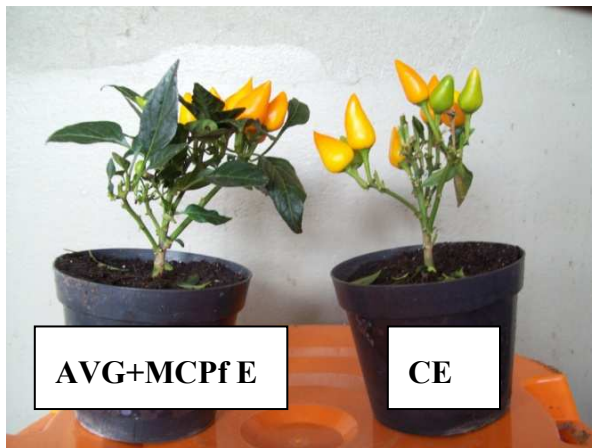
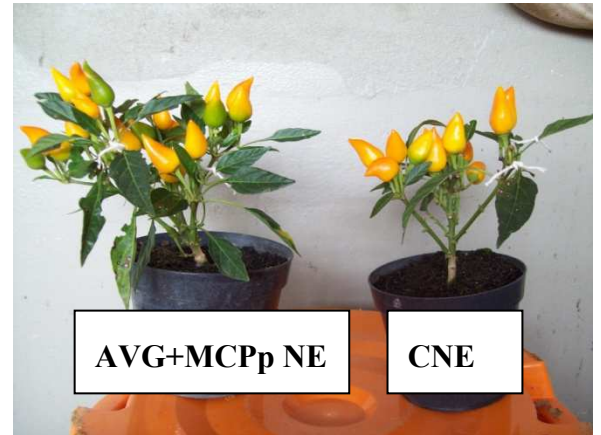
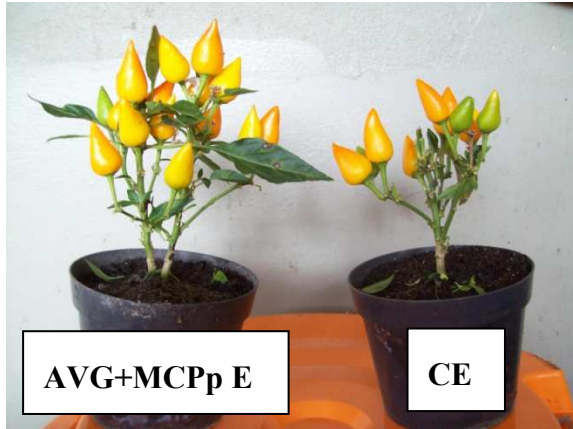


Figura 12 – Efeito dos inibidores nas plantas de pimenta, variedade Calypso.

AVG+MCPp E - Plantas pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG seguido de pulverização com 500 mg L^{-1} de ethylbloc e posterior exposição ao etileno; **AVG+MCPp NE** - Plantas pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG seguido de pulverização com 500 mg L^{-1} de ethylbloc, sem exposição ao etileno; **AVG+MCPf E** - Plantas pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG seguido de fumigação com 1 g m^{-3} de ethylbloc, e posterior exposição ao etileno; **AVG+MCPf NE** - Plantas pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG seguido de fumigação com 1 g m^{-3} de ethylbloc, sem exposição ao etileno; **CE** - Plantas não tratadas com inibidores, expostas a $10 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno; **CNE** - Plantas não tratadas com inibidores, sem exposição ao etileno.



Figura 13 – Efeito dos inibidores nas plantas de pimenta, variedade Calypso. **AVG E** - Plantas pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG e posterior exposição ao etileno; **AVG NE** - Plantas pulverizadas com 250 mg L^{-1} de AVG, sem exposição ao etileno; **CE** - Plantas não tratadas com inibidores, expostas a $10 \text{ } \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno; **CNE** - Plantas não tratadas com inibidores, sem exposição ao etileno.

5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARANTE, C.V.T. & STEFFENS, C.A. O tratamento pré-colheita com AVG, aliado à absorção do etileno durante o armazenamento refrigerado, preserva a qualidade de Maçãs ‘Gala’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 31 (2): 334-342, 2009.
- AKHTAR, M.S.; GOLDSCHMIDT, E.E.; JOHN, I.; MATILE, P. Altered patterns of senescence and ripening in gf, stay green mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Journal of Experimental Botany**, 50: 1115-1122, 1999.
- 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.
- BLANKENSHIP, S. M. & DOLE, J. M. 1-Methylcyclopropene: a review. **Postharvest Biology and Technology**, 28 (1): 1-25, 2003.
- BRACKMANN, A.; BELLÉ, R.A.; FREITAS, S.T.; MELLO, A.M. Qualidade de pré-colheita e vida de vaso de inflorescências de crisântemo ‘bronze repin’ com aplicação de aminoetoxivinilglicina. **Revista da FZVA**, 11 (1): 107-115, 2004.
- CASAS, A. & MALLENT, D.; El color de los frutos cítricos. I. Generalidades. II. Factores que influyen en el color. Influencia de la especie, de la variedad y de la temperatura. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, 28 (2): 185-202, 1989.
- CELIKEL, F.G. & REID, M.S. Postharvest handling of stock (*Matthiola incana*). **HortScience**, 37: 144-147, 2002.
- CORDEIRO, D.C.; FINGER, F.L.; SANTOS, J.S.; KARSTEN, J.; BARBOSA, J.G. Sensibilidade da rosa ‘Osiana’ ao etileno. **Bragantia**, 70: (3): 677-681, 2011.
- CORDEIRO, D.C. **Efeito do 1-MCP sobre a vida de vaso de rosa Osiana**. Viçosa, MG: UFV, 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, 2008.

- FANG, Z.; BOUWKAMP, J.C.; SOLOMOS, T. Chlorophyllase activities and chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Experimental Botany**, 49 (320): 503-510, 1998.
- FERRANTE, A.; HUNTER, D.A.; HACKETT, W.P.; REID, M.S. Thidiazuron – a potent inhibitor of leaf senescence in *Alstroemeria*. **Postharvest Biology and Technology**, 25 (3): 333-338, 2002.
- GREENE, D.W. Time of aminioethoxyvinylglycine application influences preharvest drop and fruit quality of “McIntosh” apples. **HortScience**, 40 (7): 2056-2060, 2005.
- HIBMA, J.T.; Development of a test for the control of the use of pre-treatment conditioning materials against leaf yellowing in *Alstroemeria*. **Verslag Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek**, 91: 26. 1988.
- HICHIMURA, K.; SHIMIZU, H.; HIRAYA, T.; HISAMATSU, T. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the vase life of cut carnation, *Delphinium* and sweet pea flowers. **Bulletin of the National Institute for Floricultural Science**, 2: 1-8, 2002.
- 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 (4): 621-628, 1996.
- KHAN, A.A. **Ethylene action in plants**. Netherlands; Springer, 2006, 205p.
- MAPELI, A.M.; FINGER, F.L.; OLIVEIRA, L.S.; BARBOSA, J.G. Longevidade de inflorescências de *Epidendrum ibaguense* tratadas com aminoetoxivinilglicina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 44 (3): 258-262, 2009.
- NEWMAN, J.P.; DODGE, L.L.; REID, M.S. Evaluation of ethylene inhibitors for postharvest treatment of *Gypsophila paniculata* L. **Hortecology**, 8 (1): 58-63, 1998.
- PAULL, R.E. & GOO, T.T.C. Ethylene and water stress in the senescence of cut anthurium flowers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 110 (1): 84-85, 1985.

- PIETRO, J.; MATTIUZ, B.; MATTIUZ, C.F.M. Influência do 1-MCP na conservação pós-colheita de rosas cv.vega. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 34 (5): 1176-1183, 2010.
- PORAT, R.; HALEVY, A.H.; SEREK, M.; BOROCHOV, 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.
- SEGATTO, F.B. **Avaliação da qualidade “Pós-produção” de pimenta ornamental (*Capsicum annum* L.) cultivada em vaso**. Viçosa, 2007. 88 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- 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.; 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.
- 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.
- SILVA, D.D. **Sensibilidade de duas variedades de gerânio ao etileno e tratamento com 1-MCP**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 50 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- 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.; SILVA, E.B. **Avaliação da longevidade em vaso de pimenteiros ornamentais (*Capsicum spp.*)**. In: XV ENIC UFPB, 2007. Anais.
- 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.

- SOUZA, S.O. **Longevidade de *Heliconia psittacorum* x *H. spathocircinata* Golden Torch e *H. bihai* em resposta ao uso de reguladores de crescimento.** Viçosa, MG: UFV, 2008. 121 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2008.
- 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. p. 561-599. 2006.
- TJOSVOLD, S.A.; W.U, M.; REID, M.S. Reduction of postproduction quality loss in potted miniature roses. **HortScience**. 29 (4): 293-294, 1994.
- UTHAICHAY, N.; KETSA, S.; VAN DOON, W.G. 1-MCP pretreatment prevents bud and flower abscission in *Dendrobium orchids*. **Postharvest Biology and Technology**, 43: 374-380. 2007.
- YANG, S.F. & HOFFMAN, N.E. Ethylene biosynthesis and its regulation in high plants. **Annual Review of Plant Physiology**, 35: 155-189, 1984.
- YUAN, R. & CARBAUGH, D.H. Effects of NAA, AVG, and 1-MCP on ethylene biosynthesis, preharvest fruit drop, fruit maturity, and quality of “Golden Supreme” and “Golden Delicious” Apples. **HortScience**, 42 (1): 101-105, 2007.
- YUAN, R. & LI, J. Effect of sprayable 1-MCP, AVG, and NAA on ethylene biosynthesis, preharvest fruit drop, fruit maturity, and quality of “Delicious” apples. **HortScience**, 43 (5): 1454-1460, 2008.

CONCLUSÕES GERAIS

A colheita dos frutos de pimenta ornamental MG 302 pode ser realizada acompanhando as modificações da coloração do fruto, quando os frutos encontravam-se totalmente vermelhos.

O ponto de maturidade fisiológica das sementes de pimenta variedade MG 302 ocorreu entre 75 e 80 dias após abertura floral.

As sementes de pimenta tornaram-se tolerantes à dessecação a partir de 50 dias após a abertura da flor.

A atividade das enzimas álcool desidrogenase e peroxidase mostrou-se reduzida em sementes com o aumento do tempo de envelhecimento e aumentada ao longo da maturação, de acordo com o teste de envelhecimento acelerado.

As plantas pulverizadas na fase que antecedeu a fase de pós-produção, com AVG e 1-MCP, sem posterior exposição ao etileno, apresentaram maior durabilidade pós-colheita, em pimenta ornamental, variedade Calypso;

O tratamento das plantas com 1-MCP fumigado e posterior aplicação de etileno foi eficiente em minimizar o amarelecimento e queda de folhas de pimenta ornamental;

A aplicação simultânea dos inibidores AVG e 1-MCP em plantas de pimenta não resultaram em efeito aditivo.

APÊNDICE

Tabela 1 - Resumo da análise de variância dos dados dos testes de primeira contagem (PCG), germinação (TG), condutividade elétrica (CE), deterioração controlada (DC), índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência (EMERG), obtidos para sementes de pimenta, de acordo com os dias de maturação

		TESTES DE QUALIDADE FISIOLÓGICA					
FV	GL	QM					
		PCG	TG	CE	DC	IVE	EMERG
DIAS MATURAÇÃO	10	0,188**	0,754**	2309294,84**	0,406**	0,001**	0,448**
CV (%)	-	12,93	9,90	15,97	7,47	37,39	11,70
L	-	0,919*	-	18011424,998**	-	0,003 ^{ns}	4,183**
Q	-	0,280 ^{ns}	-	3905488,115**	-	0,008**	0,011 ^{ns}

* , ** significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente; ns: não significativo.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância dos dados de umidade inicial da semente (UI), massa seca da semente (MS), massa fresca do fruto (MF), diâmetro do fruto (DF) e comprimento do fruto (CF), obtidos para sementes e frutos de pimenta, de acordo com os dias de maturação

FV	GL	AVALIAÇÕES				
		QM				
		UI	MS	MF	DF	CF
DIAS MATURAÇÃO	10	1379,914**	5,034701**	0,006**	0,718**	2,263**
CV (%)	-	3,22	3,20	12,68	4,8	5,12
L	-	13054,919**	48,231**	0,041**	6,194**	20,903**
Q	-	23,348 ^{ns}	0,458*	0,013*	0,154*	0,0005 ^{ns}

* , ** significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente; ns: não significativo.

Tabela 3 - Resumo da análise de variância dos dados dos testes de primeira contagem (PCG), germinação (TG), peroxidase (POD) e álcool desidrogenase (ADH), obtidos para sementes de pimenta, de acordo com os dias de maturação (M) e horas de envelhecimento (ENV)

FV	GL	AVALIAÇÕES			
		QM			
		PCG	TG	POD	ADH
DIAS MATUREAÇÃO (M)	3	22,562 ^{ns}	148,229 **	27,754 **	71,974 **
Erro a	12	16,562	10,687	0,701	5,941
HORAS ENVELHECIMENTO (ENV)	3	5043,062**	4644,062**	16,709**	81,715**
Erro b	36	14,229	9,020	0,802	8,738
M X ENV	9	15,284 ^{ns}	26,895**	2,123*	17,120*
CV _a (%)	-	12,18	4,73	33,88	26,98
CV _b (%)	-	11,29	4,35	36,23	32,72

* , ** significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. ns = não significativo

Tabela 4 - Resumo da análise de variância dos dados de SPAD e abscisão foliar, obtidos para plantas de pimenta, de acordo com os inibidores de etileno (INE) e tempo de avaliação (TEA)

FV	GL	QM	
		SPAD	ABSCISÃO
INIBIDORES DE ETILENO (INE)	11	131184,699**	1,359**
Erro a	36	418,671	0,050
TEMPO DE AVALIAÇÃO (TEA)	8	22348,380**	2,267**
Erro b	288	130,028	0,013
INE x TEA	88	1262,085**	0,128**
CVa (%)	-	57,21	52,97
CVb (%)	-	31,88	27,86

* , ** significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.