

**ANA ERMELINDA MARQUES**

**ESTUDOS SOBRE O BLOQUEIO DO XILEMA NA PÓS-COLHEITA DAS  
INFLORESCÊNCIAS DE AVE-DO-PARAÍSO (*Strelitzia reginae* Aiton)**

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

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2008**

**ANA ERMELINDA MARQUES**

**ESTUDOS SOBRE O BLOQUEIO DO XILEMA NA PÓS-COLHEITA DAS  
INFLORESCÊNCIAS DE AVE-DO-PARAÍSO (*Strelitzia reginae* Aiton)**

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

**APROVADA: 27 de fevereiro de 2008.**

---

**José Geraldo Barbosa  
(Co-Orientador)**

---

**Raimundo Santos Barros  
(Co-Orientador)**

---

**Paulo José de Moraes**

---

**Dimas Mendes Ribeiro**

---

**Fernando Luiz Finger  
(Orientador)**

***A Deus  
minha rocha e minha fortaleza (Sl 31.3);***

***DEDICO.***

***Aos meus amados pais, Adolfo e Matutina;***

***Aos meus amados irmãos, José David, Francisco, Lucília, Aparecida,  
Juliano e Marco Aurélio;***

***Aos meus amados cunhados, Jones, Carla e Fabiana;***

***Aos meus amados sobrinhos, Kaiky, Pedro Henrique, Paola, João  
Victor, Luana, Jenifer, Catherine e Danúbia;***

**OFEREÇO.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Vegetal pela oportunidade da realização deste curso;

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

Ao professor Fernando Finger, pela orientação e suporte necessários para a execução desse trabalho;

Aos professores Raimundo Santos Barros e José Geraldo Barbosa, pelas sugestões, ensinamentos e co-orientações;

Ao Paulo José de Moraes e ao Dimas Mendes Ribeiro pela disposição em participar da banca examinadora;

Aos amigos do Laboratório Pós-Colheita (DFT): Geraldo, Sebastião, Daniela, Giselda, Daniel, Cristina, Ana Maria, Fernanda, Clarice, Hilton, Cláudia, Luciana Menolli, Juliane, Joyce, Luciana, Delaine e Tereza;

Ao Departamento de Fitopatologia pelo treinamento em bacteriologia, em especial ao professor Reginaldo e ao Flavinho;

Ao Cupertino, pela ajuda na esterilização da vidraria e aos funcionários da Horta Velha: Leite, Peroba e Táta, pela disposição nos momentos da colheita;

As amigas de república, Fátima Buenes, Lórence (e Flávio), Solange (e Dudu) e Paola, pelas freqüentes ajudas durante a realização dos experimentos e a Vânia e Deise, amigas do “finalzinho” da republica;

A grande amiga Sarita e ao seu filho Pablo, pelo amor, amizade e carinho nos momentos finais;

As amigas queridas Kelly Detman e Carolina Jaramillo, pela paciência e amor ao longo do curso;

Ao querido amigo Sérgio Belo pelo companheirismo e as queridas Liliá e Flaviá pela grande amizade e também pelas ajudas prestadas nos experimentos;

A querida Mallu pela grande amizade e companheirismo ao longo do curso;

Aos queridos ABUenses pela convivência e aprendizado, em especial ao Luís Gustavo pela valiosa ajuda com a estatística, a Lívia e a Sarita pela

ajuda com os gráficos e digitação, a Liliá com o português e ao Charles, meu fotógrafo particular;

A Cristina e ao Lucir pela amizade e grande ajuda nos preparativos finais da dissertação;

Aos estagiários Raul e Gisele pela valiosa ajuda durante os experimentos;

As famílias maravilhosas: Ângela, Leonardo e filhas; Emannuel, Délnia e filhos; Lôra, Délio e filhos; Jony, Lênia e filhos; Gínia, Marquinhos e filhos; Elben, Djanira e Júnia; Vera, Paulo e filhos; June, Carlos César e filhos; pela participação nas várias etapas da minha vida, pela amizade e amor dedicados;

A todas as pessoas que, mesmo não mencionadas aqui, contribuíram para a elaboração desse trabalho;

Ao povo brasileiro que financia tudo em nosso país e não é valorizado pelos seus governantes...

*...“Agradecer é admitir que houve um momento em que se precisou de alguém; é reconhecer que o homem jamais poderá lograr para si o dom de ser auto-suficiente. Ninguém cresce sozinho; sempre é preciso um olhar de apoio, uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão, uma atitude de amor.”*

**Grata!**

## **BIOGRAFIA**

Ana Ermelinda Marques, filha de Adolfo Marques Neto e Matutina Soares Marques, nasceu no dia 23 de janeiro de 1971, em São José do Goiabal - Minas Gerais.

Graduou-se Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Viçosa - Viçosa (MG), em julho de 2004.

Em agosto de 2005 iniciou o mestrado em Fisiologia Vegetal na Universidade Federal de Viçosa - Viçosa (MG).

Em março de 2008 iniciou o doutorado em Bioquímica Agrícola na Universidade Federal de Viçosa - Viçosa (MG).

## ÍNDICE

RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	x
INTRODUÇÃO .....	1
MATERIAL E MÉTODOS	
1 - Material Vegetal .....	6
2 - Tratamentos Pós-Colheita .....	6
3 - Produtos Químicos .....	7
4 - Peso da Matéria Fresca .....	8
5 - Número de Flores Abertas .....	8
6 – Longevidade .....	9
7 - Teor Relativo de Água .....	9
8 - Contagem da População Bacteriana .....	10
9 - Ensaio Enzimáticos .....	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	
1 - Efeito das Soluções Pós-Colheita na Atividade das enzimas Polifenoloxidase e Peroxidase .....	14
2 - Peso da Matéria Fresca .....	34
3 - Teor Relativo de Água .....	42
4 - Número de Flores Abertas .....	43
5 – Longevidade .....	44
6 - Contagem da População Bacteriana .....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	48
ANEXO .....	53

## RESUMO

MARQUES, Ana Ermelinda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2008. **Estudos sobre o bloqueio do xilema na pós-colheita das inflorescências de ave-do-paráíso (*Strelitzia reginae* Aiton).** Orientador: Fernando Luiz Finger. Co-Orientadores: José Geraldo Barbosa e Raimundo Santos Barros.

A *Strelitzia reginae* Aiton é popularmente conhecida como ave-do-paráíso e devido ao seu amplo uso como flor de corte ainda são poucos os estudos realizados na avaliação dos problemas ocorridos em sua pós-colheita. Com o objetivo de avaliar a oclusão vascular ocorrida no local cortado dos escapos florais, soluções pós-colheita contendo inibidores da atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase e do crescimento da população bacteriana foram aplicadas em três etapas. Aplicou-se 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada sem correção do pH, ou com pH ajustado para 6,0. Aplicou-se também AgNO<sub>3</sub> às concentrações 0,5; 1; 1,5 e 2 mM, metabissulfito de sódio e ácido ascórbico, ambos às concentrações 2,5; 5; 7,5 e 10 mM, e água destilada. Os escapos florais de cada tratamento foram avaliados a cada 48 horas, período no qual eram submetidos a cortes de 2 cm em suas bases, até o fim da longevidade das flores. Nesse material coletado avaliou-se a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase. As outras observações foram: peso da matéria fresca, teor relativo de água, número de flores abertas, longevidade das flores e número de unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL). A atividade da polifenoloxidase e da peroxidase foi determinada do segundo ao oitavo dia após a colheita e, dos tratamentos aplicados, o metabissulfito de sódio 10 mM apresentou a maior redução da atividade das enzimas após o segundo dia da aplicação. As soluções contendo AgNO<sub>3</sub> não foram capazes de inibir o crescimento da população bacteriana nos escapos florais. Em conjunto, a atividade das enzimas oxidativas e o alto número de colônias de bactérias influenciaram negativamente no peso da matéria fresca, no teor relativo de água, no número de flores abertas e na sua longevidade, pois promoveram a senescência precoce das flores devido ao estresse hídrico ocorrido pela baixa condutância hidráulica dos elementos de vaso do xilema.

## ABSTRACT

MARQUES, Ana Ermelinda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February of 2008. **Studies on the blockage of the xylem in the postharvest of the bird-of-paradise inflorescences (*Strelitzia reginae* Aiton).** Adviser: Fernando Luiz Finger. Co-Advisers: José Geraldo Barbosa and Raimundo Santos Barros.

The *Strelitzia reginae* Aiton is known popularly by bird-of-paradise and due to its wide use as cut flower there are still few the studies to evaluate the postharvest handling and longevity. With the objective of evaluating the vascular occlusion that might take place at the base of the stem, postharvest solutions containing inhibitors polyphenoloxidase and peroxidase, and reduction of bacterial population were applied. Flowers were pulsed with 10 mM 2-mercaptoethanol, 1 mM AgNO<sub>3</sub>, 5 mM catechol, 5 mM *p*-nitrophenol, 10 mM sodium metabissulfite and distilled water without pH adjustment or the pH of the solutions was adjusted for 6.0. Flowers were pulsed with AgNO<sub>3</sub> at concentrations of 0.5, 1, 1.5 and 2 mM, sodium metabissulfite and ascorbic acid, both containing 2.5, 5, 7.5 and 10 mM and distilled water. The floral stems of each treatment were evaluated at every 48 hours, period in which were submitted to cuts of 2 cm in their stem base, until the end of the longevity of the flowers. At this time, it was determined the activity polyphenoloxidase and peroxidase. The total fresh matter, relative water content of the sepals, number of open flowers, longevity of the flowers and number of colony forming units per mL (CFU/mL) were evaluated. The activity of the polyphenoloxidase and peroxidase measured from the second to the eighth day after harvest showed that the sodium metabissulfite at 10 mM presented the highest reduction of enzymes activities at the second day of analysis. It was also observed that the solutions containing AgNO<sub>3</sub> was not capable to inhibit the growth of the bacterial population in the base of floral stem. Together, the activity of the oxidative enzymes and the high number of colonies of bacteria influenced negatively in the weight of the fresh matter, in the relative water content, in the number of open flowers and in its longevity, because they promoted the precocious senescence of the flowers due to the water stress happened by the low hydraulic conductance of the elements of vase of the xylem.

## INTRODUÇÃO

O cultivo de flores e plantas ornamentais com excelente qualidade tem permitido o crescimento do setor de floricultura brasileiro. Assim, aumenta-se a expectativa de competir no mercado internacional e de expandir o mercado interno. Para isso, é necessário investimento em alguns setores da cadeia produtiva com objetivo de manter a qualidade dos produtos colhidos (Portal Fator Brasil, 2007).

A comercialização de flores e botões frescos torna-se difícil visto que, após o corte, a vida pós-colheita desses órgãos é reduzida devido ao estresse hídrico, em virtude da progressiva diminuição da condutividade hidráulica do xilema. O déficit hídrico promove a redução da massa fresca, afeta a turgescência e a firmeza dos produtos colhidos, de forma indesejável, altera a qualidade e, no caso das flores, pode promover descoloração de suas pétalas e acelerar a senescência (Kays, 1991).

A senescência é um processo normal do desenvolvimento controlado pelo código genético da planta, no qual enzimas hidrolíticas decompõem proteínas, carboidratos e ácidos nucléicos (Taiz e Zeiger, 2004). Mas sob déficit hídrico e devido à delicadeza dos órgãos florais, a senescência torna-se precoce quando se dá a colheita. A aplicação de tratamento de forma conjunta, ou separadamente, com produtos químicos no manejo pós-colheita melhora a longevidade e, por conseqüência, o período de comercialização (Paiva et al., 2005).

Após a colheita das flores, há perda prematura do turgor, pois ocorre a oclusão vascular devido ao acúmulo de substâncias, em reação ao corte, como lignina, suberina, tanino, mucilagem, látex e resinas, obstruindo parcial ou completamente os elementos condutores do xilema (van Doorn, 1997). A lignina e a suberina são polímeros produzidos em conseqüência da atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. van Doorn e Cruz (2000) mostraram o envolvimento dessas enzimas na região cortada das inflorescências de crisântemo e o aumento da longevidade, após o tratamento com substâncias capazes de abaixar o pH da água do vaso.

A condutância hidráulica do xilema pode ser afetada por microrganismos que crescem na região cortada, obstruindo fisicamente os

seus condutos devido ao aumento da população microbiana, à produção de materiais oriundos de seus processos metabólicos, ou pela liberação de substâncias do tecido da planta quando se dá a colonização (Tyree e Sperry, 1989; van Doorn, 1997).

Há também a formação de bolhas de ar dentro dos condutos abertos do xilema, quando as flores são colhidas. Dessa forma, a condutividade hidráulica do xilema é reduzida pela cavitação dos vasos (Holbrook e Zwieniecki, 1999). Em flores de crisântemo, o declínio da capacidade hidráulica do xilema é devido ao ar aspirado, que causa bloqueio vascular nas primeiras duas horas após o corte das hastes (van Meeteren et al., 2006).

No cultivo de flores e plantas ornamentais, as flores tropicais têm sido destinadas principalmente para o corte, devido à diversidade de formas, de cores e também à durabilidade das flores (Luz et al., 2005). Entretanto, as plantas ornamentais usadas em arranjos florais e em vasos possuem vida pós-colheita limitada. Para algumas espécies, essa limitação é devida à regulação hormonal, enquanto para outras o fator limitante é o estresse hídrico (van Doorn, 1997). O estresse hídrico em flores mantidas em água ocorre devido ao desbalanço hídrico, quando a transpiração torna-se maior que a absorção da água (van Doorn, 1997).

A ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) é uma planta herbácea rizomatosa; apresenta folhas firmes e coriáceas, inflorescência com flores contendo três sépalas alaranjadas e duas pétalas azuis, modificadas em forma de seta, que abrigam os órgãos sexuais. As flores se abrem sucessivamente dentro de uma bráctea de cor verde-avermelhada (Castro, 1995; Lorenzi e Souza, 2001). A ave-do-paraíso pertence à família Strelitziaceae, ordem Zingiberales e classe Monocotyledoneae; sua haste floral é o escapo, onde se encontra inserida a inflorescência (Judd, 1999).

Observa-se em ave-do-paraíso uma perda gradual na condutividade hidráulica quando a inflorescência é usada em vasos, limitando sua vida pós-colheita. Os escapos florais cortados na base a cada dois dias mantêm os tecidos das sépalas hidratados. Entretanto, os escapos florais não cortados apresentam declínio no conteúdo de água, mesmo com o fornecimento da água, o que traz como consequência a diminuição da

longevidade e do número de flores abertas em relação aos escapos florais cortados, provavelmente em virtude do bloqueio vascular (Campanha, 1997).

O declínio na absorção da água do vaso pode decorrer da atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase na região cortada das hastes florais (van Doorn e Cruz, 2000; van Doorn e Vaslier, 2002), bem como do crescimento de bactérias nessa região, na água do vaso (Bleeksma e van Doorn, 2003) e dentro dos elementos condutores do xilema (van Doorn, 1997).

O bloqueio vascular causado por crescimento bacteriano desenvolve-se principalmente na base da haste floral (van Doorn, 1997) e a quantidade de bactérias presente na água do vaso torna-se mais importante no bloqueio vascular do que a flora bacteriana (van Doorn et al., 1995). O aumento na absorção da água do vaso é obtido com o uso de biocidas presentes em preservativos florais que mantêm a água translúcida, prevenindo o bloqueio vascular (Knee, 2000), ou de outros biocidas como o  $\text{AgNO}_3$  que, após dissociação libera o íon  $\text{Ag}^+$  que se adere às paredes do xilema impedindo o crescimento das bactérias em seu interior (Ketsa et al., 1995; Son et al., 2003).

A oclusão vascular causada por processos fisiológicos resulta da atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase (van Doorn e Vaslier, 2002). Ao cortar-se a haste floral, induz-se o ferimento no tecido e aquelas enzimas iniciam a atividade, catalisando a síntese de compostos como lignina e suberina, as quais obstruirão os vasos condutores do xilema (van Doorn, 1997; van Huystee, 1987).

Peroxidases são enzimas amplamente distribuídas no reino animal e vegetal (van Huystee, 1987). As peroxidases de plantas são glicoproteínas que possuem o grupo prostético heme como co-fator (Vianello et al., 1997) e estão envolvidas em várias funções metabólicas como a regulação do alongamento celular, a ligação entre os polissacarídeos da parede celular, a lignificação, a proteção contra patógenos, a cicatrização de ferimentos, a suberização e a oxidação de fenóis (Lagrimini, 1991). As peroxidases são enzimas termorresistentes e no processamento de frutas e vegetais enlatados ocorre a formação de sabor indesejável durante o armazenamento, devido à sua atividade (Araújo, 2004). Por outro lado, a alta

atividade da peroxidase em *Salvia tomentosa* Miller é necessária para que essa espécie seja comercializada como chá-preto (Dogan et al., 2007).

Pertencente à classe das oxirredutases, as peroxidases oxidam compostos fenólicos como guaiacol, pirogalol, tirosina e flavonóides em presença de  $H_2O_2$  (Araújo, 2004). Extracelularmente, as peroxidases ocorrem nas paredes das células, participando da biossíntese de lignina e, intracelularmente, podem ocorrer na forma solúvel ou ligada às membranas (van Huystee, 1987).

Assim como a peroxidase, a polifenoloxidase é uma enzima envolvida nos processos de óxido-redução, sendo muito estudada na resistência das plantas contra ataque de patógenos e herbívoros (Mayer, 2006). Na área de alimentos, a polifenoloxidase está relacionada ao escurecimento dos vegetais processados. O escurecimento de algumas frutas, vegetais e bebidas, iniciado pela oxidação enzimática dos compostos fenólicos pela polifenoloxidase é, na maioria das vezes, indesejável, mas em café, cacau e ameixa seca, o escurecimento oxidativo é uma característica desejável (Araújo, 2004).

A polifenoloxidase compreende a catecol oxidase e a lacase (Mayer, 1987) e possui em sua estrutura o cobre como grupo prostético (Walker e McCallion, 1980). São encontradas nos cloroplastos, mas são sintetizadas no citoplasma (Lax e Vaughn, 1991), encontrando-se latente nas membranas e, uma vez solubilizadas, tornam-se ativas (Underhill e Critchley, 1995). Os fatores responsáveis pela ativação dessas enzimas têm sido estudados (Mayer, 2006). A polifenoloxidase catalisa dois tipos de reação: como monoxigenase, atua na hidroxilação de monofenóis a diidrofenois; e como oxidase, oxida os difenóis a quinonas e, em seguida, as quinonas polimerizam-se ou reagem não-enzimaticamente com outros compostos fenólicos, aminoácidos e proteínas, formando pigmentos escuros nos vegetais (Araújo, 2004; Underhill e Critchley, 1995; Mayer, 2006).

Na floricultura, a vida pós-colheita das flores é aumentada quando se utiliza compostos químicos capazes de inibir a atividade da polifenoloxidase e da peroxidase, os quais podem atuar diretamente sobre as enzimas ou sobre os intermediários da reação (Araújo, 2004). Esses compostos são largamente empregados na indústria de alimentos, em vegetais processados

e armazenados e, atualmente, têm sido usados como solução pós-colheita de flores. Em flores de bouvardia, a aplicação de 4-hexilresorcinol, inibidor da catecol oxidase, aumentou a longevidade das flores, mostrando-se um bom inibidor da polifenoloxidase (Vaslier e van Doorn, 2003). O mesmo resultado foi obtido com esse inibidor na inflorescência de *Grevillea*, prevenindo o bloqueio fisiológico (He et al., 2006).

Além disso, alguns estudos mostram que as reações promovidas pelas enzimas peroxidase e polifenoloxidase, em hastes de crisântemo e rosa, são interrompidas com a aplicação de outros compostos como fenilidrazina, hidroquinona, nitrofenol, metabissulfito de sódio e tropolone (Loubaud e van Doorn, 2004; van Doorn e Vaslier, 2002). Adicionalmente, o ácido ascórbico, um agente antioxidante, triplicou a longevidade das inflorescências de *Dendranthema grandiflora* após a colheita, em relação ao controle (van Doorn e Cruz, 2000).

Em pós-colheita de flores, são poucos os trabalhos realizados na investigação da atividade de enzimas oxidativas induzidas por meio do corte no tecido, o que mostra a necessidade de mais estudos nessa área, com o objetivo de diminuir-se as perdas pós-colheitas por aumentar a longevidade das flores. Dessa forma, teve-se como objetivo, averiguar se o bloqueio vascular nos escapos florais de ave-do-paraíso, após a colheita, decorre da atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase ou do crescimento da população bacteriana, utilizando-se soluções pós-colheita contendo inibidores dessas enzimas e do crescimento bacteriano.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **1 - Material Vegetal**

Para a realização dos experimentos foram utilizados escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton), com apenas a primeira flor aberta, colhidos no campo de cultivo da Horta Velha da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de dezembro/2006 a julho/2007.

Após a colheita, os escapos florais foram levados ao laboratório e cortados dentro de um recipiente com água, para evitar a entrada de ar nos elementos de vaso do xilema, sendo padronizados em 80 cm de comprimento. Em seguida, distribuíram-se os escapos florais ao acaso para cada tratamento. Os experimentos foram conduzidos em temperatura e umidade ambientes,  $25 \pm 5^\circ \text{C}$  e UR  $60 \pm 20\%$ , respectivamente.

### **2 - Tratamentos Pós-Colheita**

Os tratamentos consistiram na aplicação de soluções pós-colheita por um período de 5 horas. Os produtos químicos foram colocados em frascos de vidro contendo água destilada e em seguida distribuíram-se os escapos florais em cada frasco. Após 5 horas de absorção, as soluções eram substituídas por água destilada e os escapos florais permaneciam absorvendo a água destilada durante 48 horas após o início do tratamento. Completadas as 48 horas os frascos foram esvaziados, lavados com detergente e hipoclorito de sódio 2% e, em seguida, foi novamente adicionada a água destilada. Para todos os tratamentos aplicados os frascos eram sempre lavados a cada 48 horas, conforme descrito acima. A água destilada era sempre substituída por outra e os escapos florais eram mantidos nos frascos até o término da longevidade das flores.

### **3 - Produtos Químicos**

Os produtos químicos foram utilizados nos tratamentos para o controle de bactérias e a inibição da atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. Esses produtos, após serem adicionados à água destilada, foram aplicados aos escapos florais como soluções pós-colheita.

Para o controle das bactérias foi usado  $\text{AgNO}_3$  (Son et al., 2003) às concentrações 0,5 mM; 1 mM; 1,5 mM e 2 mM. Para a avaliação da atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase foram utilizados o catecol, o metabissulfito de sódio, o *p*-nitrofenol, o 2-mercaptoetanol e o ácido ascórbico, com algumas modificações (van Doorn e Vaslier, 2002; Duangmal e Apenten, 1999).

A aplicação dos produtos descritos acima foi dividida em três partes. Na primeira aplicação foram utilizados 2-mercaptoetanol 10 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM, catecol 5 mM,  $\text{AgNO}_3$  1 mM e água destilada.

Uma segunda aplicação desses produtos foi preparada visto que alguns produtos usados para inibir a atividade das enzimas diminuem o pH da solução para valores menores do que 5,0,. Em valores de pH baixo, as enzimas podem ter suas atividades inibidas. Nessa segunda aplicação as soluções foram preparadas com as mesmas concentrações descritas para a primeira etapa e tiveram o pH ajustado para 6,0. A água destilada também teve o pH ajustado para 6,0. Para ajustar os pHs usou-se NaOH 0,25%.

A terceira aplicação foi preparada quando se observou o escurecimento na região do corte dos escapos florais em que foi aplicado o catecol 5 mM. Nessa terceira etapa usou-se o metabissulfito de sódio e o ácido ascórbico às concentrações 2,5 mM; 5 mM; 7,5 mM e 10 mM. Nessa etapa o  $\text{AgNO}_3$  foi novamente aplicado às concentrações 0,5 mM; 1 mM; 1,5 mM e 2 mM. A água destilada foi o controle e o pH das soluções e da água destilada não foi ajustado.

#### **4 - Peso da Matéria Fresca**

Os escapos florais, após serem cortados e padronizados em 80 cm de comprimento, foram pesados obtendo-se a massa fresca inicial (g) (MFI). As novas pesagens foram feitas a cada troca da água destilada, após o período de 48 horas do início dos tratamentos, adquirindo-se assim a massa fresca final (g) (MFF). Até ao término da longevidade das flores, os escapos florais eram sempre pesados a intervalos de 48 horas. Os resultados foram expressos em porcentagem de matéria fresca (PMF), sendo:  $PMF (\%) = [(MFF/MFI)] \times 100$ . Ao primeiro peso atribuiu-se o valor de 100% (Mizobutsi, 2003).

O peso da matéria fresca foi determinado nos intervalos de 0, 2, 4, 6 e 8 dias após a colheita das flores, em três repetições. Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva de médias e erro padrão da média. Nas etapas 1 e 2, as análises foram realizadas para as seis soluções pós-colheita utilizadas (incluindo-se a água destilada) e, na etapa 3, para as quatro concentrações de cada produto químico aplicado e para a água destilada.

#### **5 - Número de Flores Abertas**

Para a observação e a avaliação desta etapa do experimento foram utilizados escapos florais quando a inflorescência abria a primeira flor, no ponto de colheita comercial (Nowak e Rudnicki, 1990). Após a uniformização dos escapos florais em 80 cm de comprimento e a aplicação das soluções pós-colheita, verificou-se o número de flores abertas, conforme a determinação da escala de abertura floral descrita por Campanha (1997). As observações eram feitas a cada 48 horas após o início de cada tratamento, até ao término da longevidade da última flor aberta (flor mais nova).

O experimento foi conduzido no delineamento em blocos casualizados, sendo cada bloco formado por um conjunto de recipientes contendo escapos florais colhidos no mesmo período e cada recipiente continha cinco escapos florais. Após a obtenção dos dados, foi realizada a

análise da variância do número de flores abertas em função dos tratamentos aplicados, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Nas etapas 1 e 2, os tratamentos aplicados foram as seis soluções pós-colheita utilizadas (incluindo-se a água destilada), em três blocos. Na etapa 3, foram aplicados cinco tratamentos, constituídos pelas quatro concentrações de cada produto químico utilizado e pela água destilada, em quatro blocos.

## **6 - Longevidade**

A longevidade das flores foi avaliada após a aplicação dos tratamentos pós-colheita. Os escapos florais colhidos com a primeira flor aberta foram avaliados de acordo com a abertura e senescência de suas flores a cada 48 horas após o início do tratamento. O término da vida pós-colheita do escapo floral ocorria quando a última flor aberta (flor mais nova) apresentava-se murcha (Campanha, 1997).

O experimento foi conduzido no delineamento em blocos casualizados, sendo cada bloco formado por um conjunto de recipientes contendo escapos florais colhidos no mesmo período e cada recipiente continha cinco escapos florais. Após a obtenção dos dados, foi realizada a análise da variância da longevidade das flores, em dias após a colheita, em função dos tratamentos aplicados, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Nas etapas 1 e 2, os tratamentos aplicados foram as seis soluções pós-colheita utilizadas (incluindo-se a água destilada), em três blocos. Na etapa 3, foram aplicados cinco tratamentos constituídos pelas quatro concentrações de cada produto químico utilizado e pela água destilada, em quatro blocos.

## **7 - Teor Relativo de Água**

Para esse procedimento foram usados escapos florais colhidos com uma flor aberta e, após receberem os tratamentos pós-colheita, foi avaliado o conteúdo de água das flores a cada 48 horas, até o murchamento da última flor aberta (flor mais nova).

Nessa avaliação foram retirados 5 discos das sépalas das flores com um furador de 12 mm de diâmetro. Os discos retirados foram pesados e colocados para hidratar em espuma de poliuretano, de aproximadamente 2 cm de espessura, contendo furos de 14 mm de diâmetro. A espuma foi saturada com água destilada e colocada em um recipiente. Em seguida, envolveu-se o recipiente com embalagem plástica, mantendo-se a atmosfera úmida para evitar o ressecamento da espuma.

Para o cálculo do teor relativo de água (TRA), procedeu-se a pesagem dos discos no momento em que eram retirados das sépalas, para assim obter-se a massa fresca. Após a pesagem, os discos foram saturados conforme descrito acima e, sendo novamente pesados, obteve-se a massa máxima. Para a obtenção da massa seca, os discos foram levados à estufa ventilada por três dias (a 70 °C).

O teor relativo de água foi calculado de acordo com a seguinte fórmula (Catsky, 1974; Weatherley, 1950):

$TRA (\%) = (MF-MS/MM-MS) \times 100$ , em que MF é a massa da matéria fresca (g), MM é a massa da matéria túrgida (g) e MS é a massa da matéria seca (g).

O experimento foi conduzido no delineamento em blocos casualizados, sendo cada bloco formado por um conjunto de recipientes contendo os escapos florais colhidos no mesmo período. Cada recipiente continha 12 escapos florais e cada parcela era constituída por duas flores. Aplicou-se a análise da variância do teor relativo de água em função dos tratamentos ao nível de 5% de probabilidade de erro. Nas etapas 1 e 2, os tratamentos foram as seis soluções pós-colheita utilizadas (incluindo-se a água destilada), em dois blocos e quatro repetições por bloco. Na etapa 3, foram aplicados cinco tratamentos constituídos pelas quatro concentrações de cada produto químico e pela água destilada, em quatro blocos e cinco repetições por bloco.

## **8 - Contagem da População Bacteriana**

A contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs) foi realizada a cada 48 horas após a aplicação dos tratamentos pós-colheita,

até o término da longevidade das flores. Para a quantificação das UFCs, foi utilizado o método de diluição em placas das células bacterianas viáveis em suspensão (Romeiro, 2001). Para o semeio e o crescimento das bactérias, usou-se o Meio 523 de Kado e Heskett (Romeiro, 2001). Após o preparo e a homogeneização do meio, procedeu-se a sua autoclavagem durante 25 minutos a uma temperatura de 120 °C. O meio foi vertido em placas de Petri, previamente esterilizadas a seco a 120 °C durante duas horas.

Para o preparo da suspensão de células bacterianas, retirou-se 0,5 cm da base dos escapos florais, que foram macerados em cadinhos de porcelana estéreis contendo 20 mL da solução de extração [tampão fosfato de sódio (0,05 M, pH 7,0) e polivinilpirrolidona 1% (PVP 1%)(m/v)]. Para a diluição em série da suspensão de células bacterianas, usou-se tampão fosfato de sódio (0,05 M, pH 7,0). A solução de extração e o tampão fosfato de sódio foram autoclavados a 120 °C por 25 minutos. A suspensão bacteriana, assim como as diluições dela oriundas, foram mantidas em banho de gelo durante todo o procedimento.

Após o preparo, com toda assepsia, da suspensão de células bacterianas procedeu-se as diluições em série, retirando-se uma alíquota de 0,5 mL da suspensão bacteriana e adicionando-a em tubo de ensaio contendo 4,5 mL do tampão fosfato de sódio (0,05 M, pH 7,0). O tubo de ensaio era agitado e, após homogeneização dessa primeira diluição, retirava-se nova alíquota de 0,5 mL e adicionava-a em outro tubo de ensaio com 4,5 mL do tampão fosfato de sódio (0,05 M, pH 7,0), preparando-se assim a segunda diluição. Do segundo tubo era preparada a terceira diluição, conforme o procedimento descrito para a primeira diluição. Dessa forma, as demais diluições foram preparadas até completar-se a quinta diluição.

Após a suspensão de células bacterianas ter sofrido diluições em série, uma alíquota de 100 µL de cada diluição foi semeada em placa de Petri. As placas de Petri foram levadas para estufa a 28 °C, sendo incubadas por um período de 24 a 72 horas. Após a incubação, contou-se o número de colônias em cada placa de Petri. A contagem foi feita nas diluições onde as colônias apresentaram-se individualizadas. Em seguida, calculou-se quantas UFCs haviam por mililitro.

O experimento foi conduzido no delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições, sendo que cada dia de avaliação (2, 4, 6 e 8 dias após a aplicação dos tratamentos pós-colheita) constituiu um bloco. Aplicou-se a análise da variância do número de bactérias por mililitro de suspensão em função dos tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Nas etapas 1 e 2, os tratamentos aplicados foram as seis soluções pós-colheita utilizadas (incluindo-se a água destilada) e a comparação das médias, no caso em que houve diferença estatística significativa entre os tratamentos, foi realizada pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Na etapa 3, os tratamentos foram as quatro concentrações de cada produto químico utilizado, além da água destilada.

## **9 - Ensaio Enzimáticos**

Nessa etapa foram determinadas as atividades das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. As enzimas foram extraídas utilizando-se almofariz e pistilo pré-resfriados, com 4 mL de meio de extração específico para cada enzima. Para isso, foi retirada uma amostra de aproximadamente 2 cm na base dos escapos florais e congelada imediatamente em nitrogênio líquido. As amostras foram coletadas e congeladas a cada 48 horas após o início dos tratamentos pós-colheita. Em seguida, essas amostras eram armazenadas em freezer horizontal a temperatura de 20 °C negativos. A coleta foi feita até o término da longevidade das flores.

O meio de extração para a enzima peroxidase continha tampão fosfato de sódio (0,1 M e pH 6,5), bissulfito de sódio [0,1% (m/v)] e cloreto de sódio (0,15 M) (Neves, 2003). Para a extração da enzima polifenoloxidase foi utilizado tampão fosfato de sódio (20 mM, pH 6,8), polivinilpirrolidona [(PVP 1%) (m/v)] e 1% de Triton X-100 (v/v) (Underhill e Critchley, 1995). O homogenato resultante foi centrifugado a 17000 g, por 15 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e usado para quantificações protéicas (Bradford, 1976) e atividades enzimáticas.

Para os ensaios de atividade da peroxidase, uma alíquota do extrato enzimático (250 µL) foi aplicada a 3 mL (volume final) de meio de reação

contendo 1,5 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 6,5), 0,5 mL de guaiacol 0,56% (v/v), 0,5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,88 M e 250 µL de água deionizada. As reações foram acompanhadas em espectrofotômetro, pela variação da absorbância no comprimento de onda de 470 nm, durante 2,5 minutos, a 25 °C, imediatamente após a mistura. A atividade enzimática foi expressa em Unidades de Absorbância (UA). min<sup>-1</sup>. mg<sup>-1</sup> de proteína.

A atividade da polifenoloxidase foi determinada de acordo com Aquino-Bolaños e Mercado-Silva (2004), com algumas modificações. O ensaio enzimático foi realizado em espectrofotômetro, após a adição de 150 µL de extrato enzimático ao meio de reação contendo 2,75 mL de tampão fosfato de sódio 0,2 mM (pH 7,0) e 100 µL de catecol (60 mM). A atividade da enzima foi determinada pelo decréscimo da absorbância a 420 nm, durante 2,5 minutos, a 25 °C, logo após a mistura. A atividade da polifenoloxidase foi expressa em Unidades de Absorbância (UA). min<sup>-1</sup>. mg<sup>-1</sup> de proteína.

As atividades das enzimas foram determinadas nos intervalos de 2, 4, 6 e 8 dias após o início dos tratamentos, em três repetições. Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva de médias e erro padrão da média. Nas etapas 1 e 2, as análises foram realizadas para as seis soluções pós-colheita (incluindo-se a água destilada) e, na etapa 3, para as quatro concentrações de cada produto químico e para a água destilada.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **1 - Efeito das Soluções Pós-Colheita na Atividade das Enzimas Polifenoloxidase e Peroxidase**

A atividade da polifenoloxidase (PPO) avaliada a partir do segundo dia após a colheita foi semelhante em todos os tratamentos, com exceção do tratamento com metabissulfito de sódio 10 mM (Figura 1). Para controlar a atividade enzimática e evitar que reações indesejáveis ocorram, é necessário bloquear a participação da enzima, do substrato ou do oxigênio (Araújo, 2004).

O 2-mercaptoetanol 10 mM não reduziu a atividade da PPO no segundo dia após a colheita, a atividade foi praticamente a mesma em todos os dias analisados (Figura 1). O 2-mercaptoetanol é um retardante da oxidação de compostos biológicos em soluções (Sigma-Aldrich, 2007) e, assim, sua atuação provavelmente deve ter ocorrido sobre as *o*-quinonas produzidas pela PPO, reduzindo-as. No segundo dia após a colheita não houve pigmentação na região cortada dos escapos florais (Figura 16 - B), mas nos demais dias, a cada corte realizado, houve pigmentação conforme ocorreu para a água destilada (Figura 16 - A).

Em semente de girassol, a atividade da PPO depois de purificada teve redução parcial de 69,1% quando se usou o 2-mercaptoetanol 0,05 mM (Raymond et al., 1993). Negishi e Ozawa (2000) extraíram, purificaram parcialmente a PPO de *Rhododendron mucronatum* e observaram redução na formação dos compostos intermediários da reação catalisada pela PPO, usando como substrato a (-)epicatequina, indicando, portanto, a ação redutora do 2-mercaptoetanol ao inibir a polimerização das *o*-quinonas. Desse modo, no corte dos escapos florais não houve pigmentação até o segundo dia após a colheita, provavelmente devido ao efeito redutor do 2-mercaptoetanol sobre as quinonas produzidas durante a reação e não sobre atividade da enzima PPO.

O nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub> 1 mM) foi aplicado para controle do crescimento bacteriano nos elementos condutores de água (Son et al., 2003) e a atividade da PPO obtida nesse tratamento, no segundo dia da colheita,

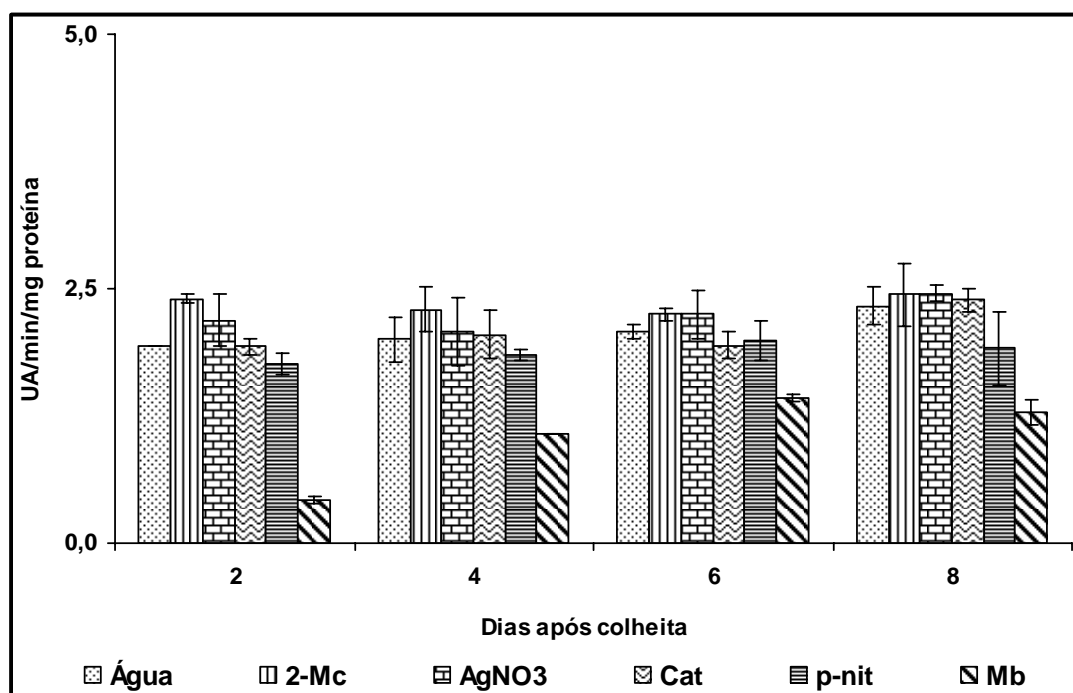


Figura 1: Atividade da enzima polifenoloxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Compostos químicos aplicados como soluções pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): 2-mercaptoetanol 10 mM (2-Mc), AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM (Cat), *p*-nitrofenol 5 mM (*p*-nit), metabissulfito de sódio 10 mM (Mb) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

foi semelhante a da água destilada. O mesmo ocorreu nos demais dias analisados (Figura 1).

Nos escapos que receberam solução pós-colheita contendo catecol 5 mM a atividade da PPO foi praticamente a mesma em todos os dias analisados, em comparação com a água destilada (Figura 1). Catecol é um substrato bastante usado para estudo da caracterização da PPO extraída de vegetais. Durante sua aplicação, observou-se a formação de intensa pigmentação escura na região do corte em todos os escapos florais, devido à oxidação ocorrida ao longo das 5 horas de aplicação do pulso (Figura 16 - C). Na água destilada, a pigmentação ocorrida no corte não foi tão intensa como no tratamento com catecol (Figura 16 - A)

A atividade da PPO tem sido analisada em alguns trabalhos quando o catecol é comparado a outros substratos. Em haste de cogumelo, o extrato enzimático contendo PPO apresentou atividade maior quando se usou catecol em comparação a outros compostos *o*-difenois como (+)catequina e 4-metilcatecol (Simsek e Yemeniciogeu, 2007). Em maçã 'Jonagored' ocorreu o contrário, a PPO mostrou uma baixa afinidade pelo catecol em relação aos substratos L-dopa, 4-metilcatecol e (+)catequina (Rocha e Moraes, 2001). No presente trabalho, a atividade da enzima e a formação da melanina em presença do catecol são indicativos de provável proteção ao tecido em resposta à injúria mecânica, após a colheita de ave-do-paráiso.

A aplicação da solução com *p*-nitrofenol 5 mM não apresentou inibição da atividade da PPO no segundo dia após a colheita, comparando-se a água destilada. Nos demais dias, a atividade manteve-se semelhante (Figura 1). Na base dos escapos florais observou-se o aspecto de encharcamento no tecido, como se as células tivessem sido rompidas e extravasado o seu conteúdo. Assim, a concentração 5 mM usada pode ter sido fitotóxica e, por conseqüência, causou dano ao tecido. Em alguns escapos florais, o aspecto de encharcamento foi aumentando ao longo dos dias após a colheita (Figura 16 - D).

van Doorn e Vaslier (2002) verificaram um efeito positivo do *p*-nitrofenol 5 mM como solução pós-colheita para crisântemo, pois o tempo para que houvesse murcha da inflorescência foi retardado em aproximadamente cinco dias, comparando-se ao controle. Esse efeito não foi

observado em ave-do-paráiso, mas se realmente houve fitotoxidez na base dos escapos florais causando o extravasamento do conteúdo celular, a oxidação enzimática dos compostos fenólicos ocorreu espontaneamente após a descompartimentalização da PPO e seus respectivos substratos.

O tratamento com metabissulfito de sódio 10 mM resultou em redução de 78% na atividade da PPO em relação água destilada, no segundo dia após colheita. Nos outros dias analisados, as atividades foram maiores que a atividade do segundo dia, porém inferiores a água destilada e aos demais tratamentos (Figura 1). Conforme foi observado no tratamento com o 2-mercaptoetanol, não houve formação de pigmentos no tecido cortado até o segundo dia após a colheita com o uso do metabissulfito de sódio (Figura 16 - E).

A atividade da PPO mostra-se correlacionada com danos causados aos tecidos das plantas por ataque de herbívoros, patógenos, processamento e armazenamento de alimentos (Araújo, 2004; Mayer, 2006). As raízes de jicama, quando processadas, apresentam altos valores de fenóis ao longo dos dias de armazenamento em resposta ao dano mecânico causado ao tecido, indicando que o seu escurecimento é devido à atividade da PPO (Aquino-Bolaños e Mercado-Silva, 2004). Na caracterização da PPO de extrato bruto de taro, o metabissulfito de sódio inibiu efetivamente a enzima (100%) em todas as concentrações usadas, em condições de pré-incubação, o que não ocorreu com a atividade da PPO em batata (Duangmal e Apenten, 1999).

As substâncias redutoras como sulfitos e tióis previnem o escurecimento do tecido por reduzir as o-quinonas formadas para a sua forma fenólica correspondente, pela inativação da PPO ou por interagir com a quinona, formando sulfoquinonas (Araújo, 2004). Essas substâncias capazes de inibir a atividade da PPO são muito estudadas na indústria de alimentos, devido às perdas promovidas pela enzima envolvendo o escurecimento do tecido vegetal processado, a alteração do sabor do alimento e a redução da disponibilidade de nutrientes essenciais (Araújo, 2004).

As PPOs são enzimas que catalisam reações de óxido-redução dos compostos fenólicos, transformando-os em suas quinonas correspondentes

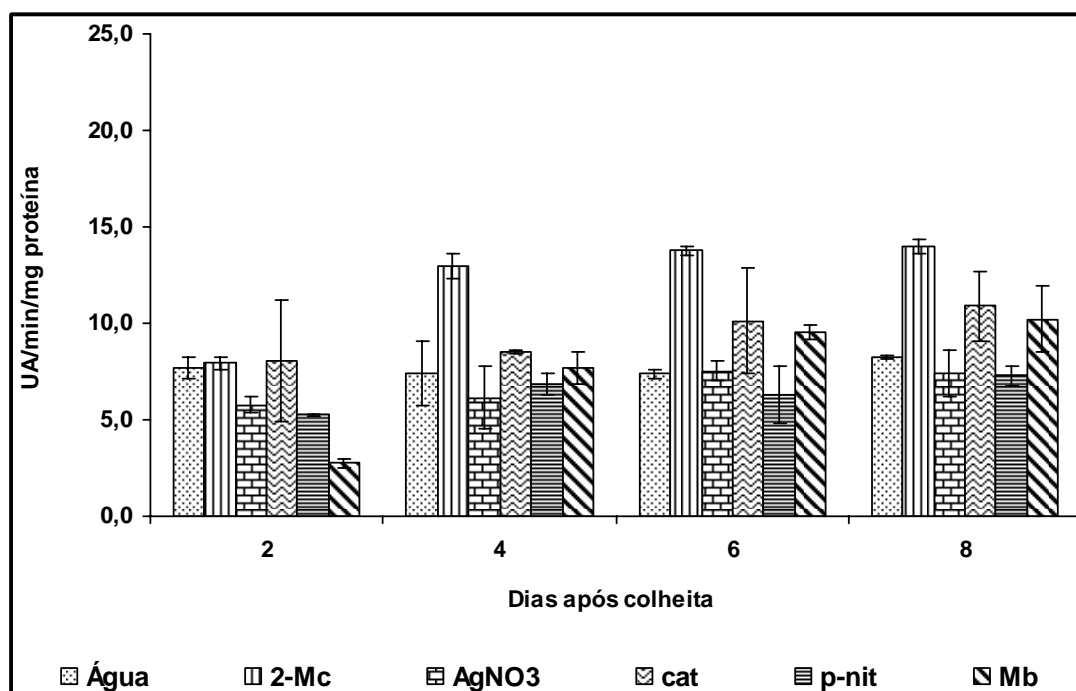


Figura 2: Atividade da enzima peroxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Compostos químicos aplicados como soluções pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): 2-mercaptoetanol 10 mM (2-Mc), AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM (Cat), *p*-nitrofenol 5 mM (*p*-nit), metabissulfito de sódio 10 mM (Mb) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

(Mayer, 2006). Após sua descompartimentalização e formação das quinonas, as reações subseqüentes ocorrem espontaneamente. As quinonas podem polimerizar-se e formar pigmentos insolúveis escuros denominados melanina ou reagir não enzimaticamente com outros compostos fenólicos, aminoácidos e proteínas, formando também melanina (Araújo, 2004). De igual forma, os escapos florais quando cortados têm seu tecido exposto e a atividade de enzimas oxidativas altera o aspecto do local cortado depreciando o produto.

A atividade da enzima peroxidase (POD) foi analisada em ave-do-paráiso de forma semelhante ao que foi descrito para a PPO, sendo o efeito dos produtos aplicados avaliados no segundo dia após a colheita das flores.

Nos ensaios realizados, a POD apresentou atividades semelhantes para os tratamentos com  $\text{AgNO}_3$  1 mM e *p*-nitrofenol 5 mM em todos os dias analisados (Figura 2). A solução contendo *p*-nitrofenol 5 mM não exerceu ação inibidora sobre a atividade da POD. van Doorn e Vaslier (2002) não encontraram função de inibição do *p*-nitrofenol sobre a atividade da peroxidase em inflorescência de crisântemo. Conforme ocorreu com a PPO, a base dos escapos florais apresentou o mesmo aspecto de encharcamento. Assim, devido à fitotoxidez, os danos causados ao tecido, de alguma forma, influenciaram a atividade da POD. O  $\text{AgNO}_3$  1 mM foi aplicado apenas para inibir o crescimento bacteriano da mesma maneira que para a PPO (Figura 2).

O 2-mercaptoetanol 10 mM não alterou a atividade da POD em relação à água destilada no segundo dia analisado. Nos demais dias, as atividades foram maiores que as da água destilada e semelhantes entre si (Figura 2). O 2-mercaptoetanol, além de ser usado como retardante da oxidação de compostos biológicos em solução, é também apropriado para reduzir ligações dissulfeto de proteínas em gel de poliacrilamida em eletroforese (Sigma-Aldrich, 2007). Dessa forma, o 2-mercaptoetanol provavelmente agiu reduzindo as quinonas formadas durante a atividade da POD, sobre a própria POD, ou sobre outra enzima importante na rota dos compostos fenólicos, a fenilalanina amonialiase. Apesar de a atividade nessa situação ser igual a da água destilada, não houve pigmentação no corte. Então, de alguma forma houve atuação do 2-mercaptoetanol, pois no

segundo dia, o valor da atividade da POD foi menor em relação aos outros dias. Na caracterização da peroxidase de rabanete, os dois compostos do grupo tiol testados, 2-mercaptoetanol e ácido mercaptoacético, mostraram-se muito eficientes na inibição da atividade da peroxidase, sugerindo que seu mecanismo de ação seria de se ligar no sítio ativo da enzima (Sariri et al., 2006).

O metabissulfito de sódio 10 mM reduziu 65% da atividade da POD no segundo dia da colheita, comparando-se sua atividade à da água destilada. Nos outros dias, a atividade aumentou gradativamente (Figura 2). Além da PPO, os sulfitos agem inibindo outras enzimas como a peroxidase, ascorbato oxidase, lipoxigenase e enzimas dependentes da tiamina (Machado et al., 2006). Embora seu mecanismo de ação não seja bem conhecido, sua interferência na reação pode dar-se das seguintes formas: inibição direta sobre a enzima, combinar-se com as quinonas evitando condensações adicionais ou reduzi-las à sua forma fenólica inicial (Araújo, 2004).

O catecol 5 mM não mostrou efeito inibitório sobre a atividade da POD (Figura 2). A peroxidase catalisa reações com vários substratos fenólicos. Dogan et al (2007) avaliaram a especificidade de cinco substratos para a POD, em três espécies de *Salvia* e, dentre eles, usaram o catecol e o guaiacol e obtiveram a atividade da POD com esses dois substratos, mas a atividade maior foi obtida com o guaiacol. Em ave-do-paraíso, a aplicação do catecol apenas em solução pós-colheita não permitiu fazer-se essa inferência, pois, para isso, é necessário purificar a POD e investigar a sua atividade na presença desse composto.

A enzima peroxidase apresenta importantes funções fisiológicas na planta, como a ligação entre os componentes *o*-difênol na parede celular e a polimerização de ligninas e suberinas (Hernández-Ruiz et al, 2000). Em vegetais em que ocorre alguma injúria mecânica, ataque de patógenos e de herbívoros, a peroxidase está presente (van Huystee, 1987). Diante dos ensaios com a POD, verifica-se que essa enzima assim como a PPO, exibe atividade em ave-do-paraíso associada à proteção da região cortada quando a flor é colhida para a comercialização.

A capacidade catalítica das enzimas para exercer a função em

soluções aquosas depende das condições de temperatura e pH. A mudança no estado de ionização no sítio ativo é uma razão comum para variar a atividade (Lehninger et al., 2006). Dos compostos aplicados na primeira etapa de análise da atividade da PPO e da POD, o catecol 5 mM, o *p*-nitrofenol 5 mM e o metabissulfito de sódio 10 mM alteraram o pH das soluções para valores menores que 5,0. Diante disso, preparou-se a segunda etapa do experimento com todos os compostos da primeira etapa e às mesmas concentrações; apenas o pH das soluções foi ajustados para 6,0.

Foi detectada a redução de 75% da atividade da PPO no segundo dia após a colheita, com a aplicação do metabissulfito de sódio 10 mM (Figura 3). Com a POD, ocorreu efeito inibitório de aproximadamente 50% com o 2-mercaptoetanol 10 mM e de 77% com o metabissulfito de sódio 10 mM, conforme observado no segundo dia de análise (Figura 4). Verifica-se, portanto, que o 2-mercaptoetanol, de alguma forma atuou sobre a atividade da peroxidase nesta segunda etapa.

Observa-se nos tratamentos com 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM e na água destilada, que as atividades da PPO mostraram variações do segundo dia após a colheita das flores até o oitavo dia em relação à primeira etapa (Figura 3). Situação semelhante ocorreu com a POD, com exceção do 2-mercaptoetanol e do metabissulfito, no segundo dia, nessa segunda etapa (Figura 4). Quanto ao aspecto do tecido na região cortada, as soluções causaram os mesmos efeitos do que quando aplicadas sem o ajuste de seus respectivos pHs.

As enzimas requerem um pH ótimo ou uma região de pH ótimo no qual sua atividade é máxima. Sob pHs maiores ou menores, a atividade diminui (Lehninger et al., 2006). Em estudos com pericarpo de lichia, Mizobutsi (2003) encontrou uma faixa de atividade de pH de 4,0 a 6,5 para a POD, e para a PPO essa faixa estendeu-se de 3,0 a 7,5. A PPO do taro e da batata apresentou dois picos de atividade em dois pHs diferentes (Duangmal e Apenten, 1999). Em batata baroa (Menolli, 2006) e frutos de quiabo (Neves, 2002), houve uma faixa crescente de atividade da POD em pHs de 2,5 a 6,0 e de 2,5 a 6,5, respectivamente, e a atividade da PPO foi de 6,5 a 7,5 para a batata baroa e de 2,5 a 5,17 para os frutos de quiabo.

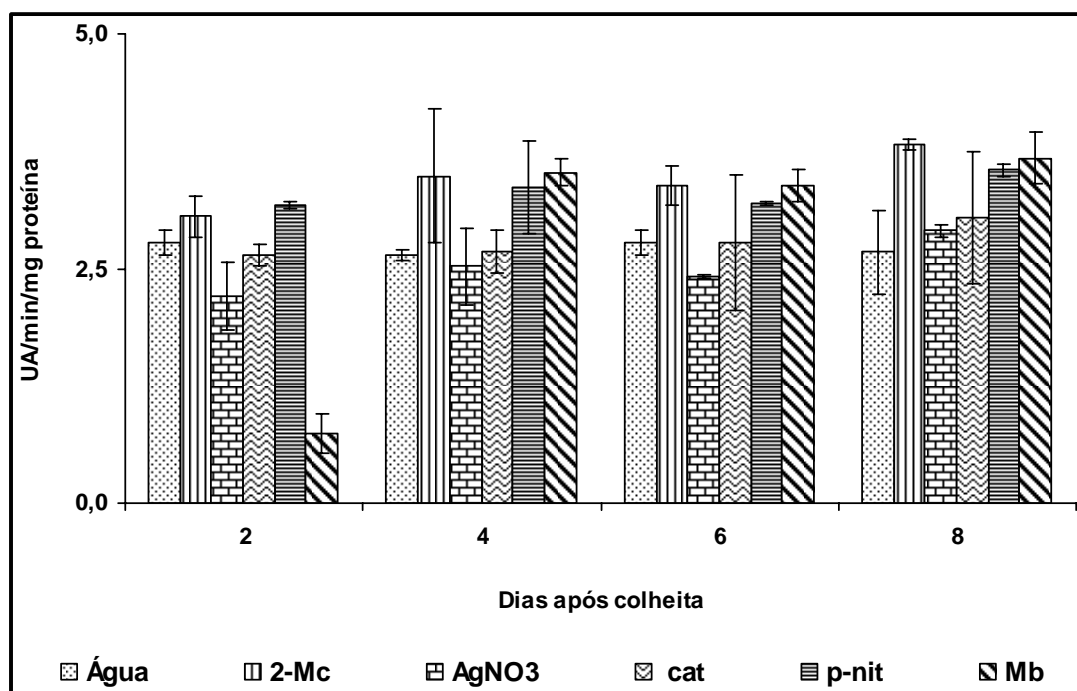


Figura 3: Atividade da enzima polifenoloxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Compostos químicos aplicados como soluções pós-colheita (pH ajustado para 6,0, pulso por 5 horas): 2-mercaptoetanol 10 mM (2-Mc),  $\text{AgNO}_3$  1 mM, catecol 5 mM (Cat), *p*-nitrofenol 5 mM (*p*-nit), metabissulfito de sódio 10 mM (Mb) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

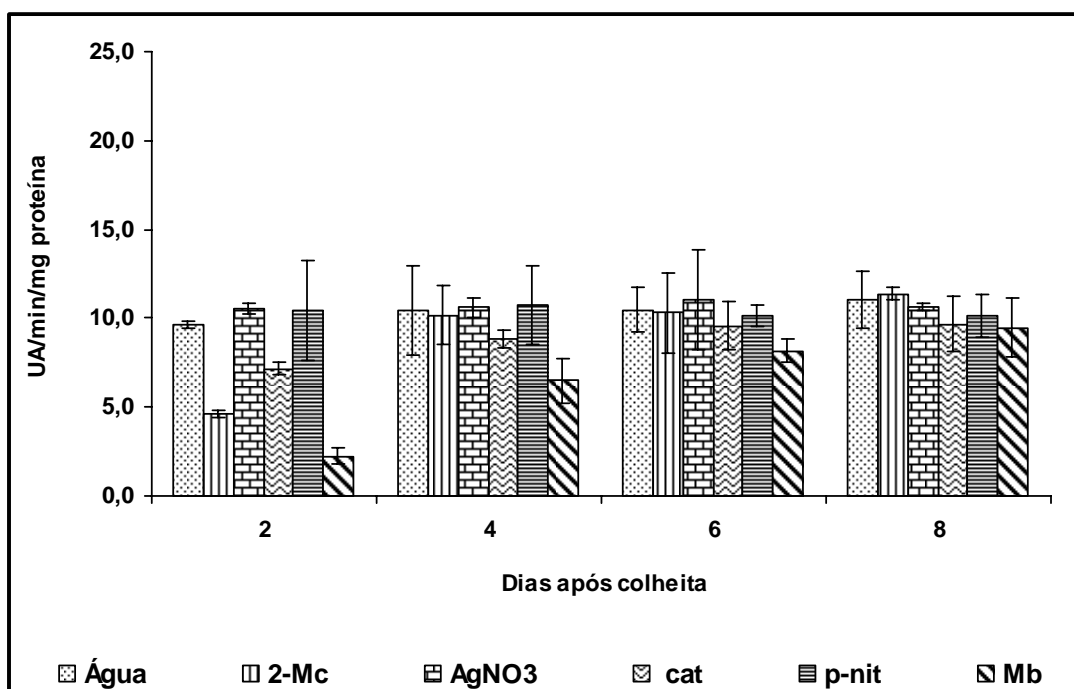


Figura 4: Atividade da enzima peroxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Compostos químicos aplicados como soluções pós-colheita (pH ajustado para 6,0, pulso por 5 horas): 2-mercaptoetanol 10 mM (2-Mc),  $\text{AgNO}_3$  1 mM, catecol 5 mM (Cat), *p*-nitrofenol 5 mM (*p*-nit), metabissulfito de sódio 10 mM (Mb) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

Na etapa 1 e 2 deste trabalho, verificou-se a eficiência do metabissulfito de sódio 10 mM em reduzir a atividade tanto da PPO quanto da POD até o segundo dia da colheita. Observou-se em todas as repetições em que se usou o metabissulfito de sódio, a presença de pequenos “flocos esbranquiçados” na água do vaso durante os dois dias após a colheita das flores. De acordo com Araújo (2004), problemas de corrosão podem ocorrer no tecido se os sulfitos forem usados em excesso. Por isso, na terceira etapa, trabalhou-se com concentrações crescentes do metabissulfito de sódio e testou-se também a eficiência redutora do ácido ascórbico como solução pós-colheita. O  $\text{AgNO}_3$  foi novamente aplicado e em concentrações crescentes para controlar microrganismos.

Nessa terceira etapa, observou-se atividade da PPO e da POD nos tratamentos com  $\text{AgNO}_3$  às concentrações 0,5; 1; 1,5 e 2 mM. Observou-se ainda valores heterogêneos dessas atividades em todos os dias analisados, em relação a água destilada (Figuras 5 e 6). Na base dos escapos florais, em todas as etapas em que o  $\text{AgNO}_3$  foi aplicado, observou-se o escurecimento do corte, com progressão ao longo dos dias após a colheita, em alguns escapos (Figura 16 - F,G,H, I). O escapo floral da ave-do-paraíso tem aspecto tenro e o escurecimento causado pelo nitrato de prata pode possivelmente atrapalhar a comercialização das flores, uma vez que deu ao tecido a aparência de deteriorado. Mesmo que o  $\text{AgNO}_3$  seja um bactericida eficiente em outras espécies de flores (Ketsa et al., 1995; Son et al., 2003), sua ação nos escapos florais de ave-do-paraíso em termos de aparência não foi boa.

O ácido ascórbico às concentrações 2,5; 5; 7,5 e 10 mM não reduziu a atividade da PPO, no segundo dia após a colheita, e as atividades foram semelhantes em todos os ensaios realizados nos demais dias, dentro de cada tratamento (Figura 7). As soluções de ácido ascórbico não foram capazes de reduzir a atividade da POD no segundo dia após a colheita e nos demais dias, as atividades foram crescentes (Figura 8).

O ácido ascórbico é utilizado como antioxidante em frutas e em vegetais processados, em carnes, em peixes e em bebidas, podendo funcionar de várias maneiras na remoção do oxigênio, sinergisticamente com os agentes complexantes ou na redução de produtos indesejáveis da

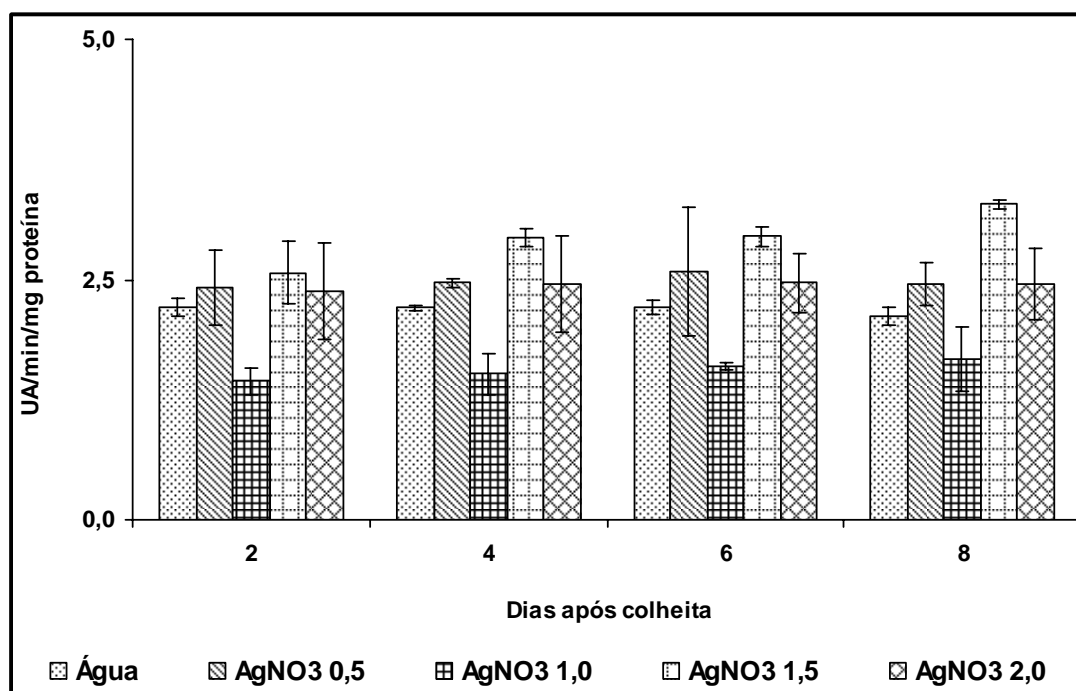


Figura 5: Atividade da enzima polifenoloxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Composto químico aplicado como solução pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): AgNO<sub>3</sub> (0,5; 1; 1,5; 2 mM) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

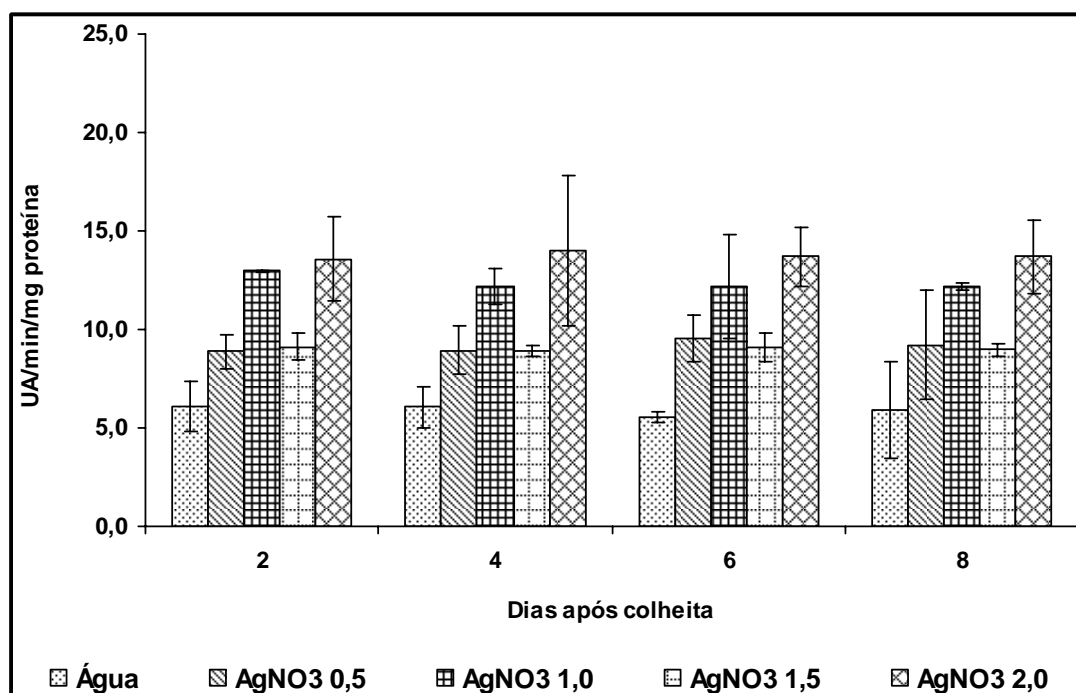


Figura 6: Atividade da enzima peroxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Composto químico aplicado como solução pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): AgNO<sub>3</sub> (0,5; 1; 1,5; 2 mM) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

oxidação (Araújo, 2004). Verifica-se, portanto que o ácido ascórbico não exerceu ação eficiente sobre a atividade das enzimas PPO e POD, mas pode ter exercido ação redutora sobre as o-quinonas produzidas por essas enzimas (Abreu e Faria, 2007), pois no corte não houve pigmentação como ocorreu com a água destilada; o tecido ficou apenas com aspecto amarelado (Figura 16 - J). Segundo Araújo (2004), o ácido ascórbico é rapidamente consumido no processo de redução das quinonas formadas pela ação das enzimas oxidativas sobre os substratos. O ácido ascórbico pode ser usado por outro tipo de peroxidase, a ascorbato peroxidase (APX), que protege o tecido vegetal contra os efeitos tóxicos do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Mehlhorn et al., 1996).

O metabissulfito de sódio foi aplicado às concentrações 2,5; 5; 7,5 e 10 mM e a atividade da PPO e da POD foi analisada a cada dois dias até o fim da longevidade da ave-do-paraíso. O metabissulfito às concentrações 2,5; 5 e 7,5 mM não demonstrou a mesma eficiência na redução da atividade da PPO como ocorreu sob 10 mM e os valores da inibição foram 7%, 22%, 40% e 65%, respectivamente, em relação a água destilada (Figura 9). Quanto à POD, a maior redução da atividade também foi obtida com o metabissulfito de sódio 10 mM, ou seja, 40% de redução, comparando-se com a água destilada (Figura 10). Estudos com *Cynara scolynus* L., mostraram que a PPO quando caracterizada, tem sua atividade reduzida com mais eficiência quando se usou metabissulfito de sódio em relação ao ácido ascórbico (Aydemir, 2004). Esse resultado foi obtido no ensaio enzimático feito em ave-do-paraíso, mostrando que não houve inibição na atividade da PPO, quando o ácido ascórbico foi usado como solução pós-colheita.

Em todos os tratamentos aplicados durante as três etapas deste trabalho, verificou-se que as atividades da PPO e da POD apresentaram variações dentro de cada dia analisado após a colheita. Com exceção da inibição das atividades promovida pelo metabissulfito de sódio no segundo dia e também da provável interferência do 2-mercaptoetanol na atividade da POD, observou-se que houve uma tendência à estabilidade das atividades para as duas enzimas ou um aumento gradativo. Em algumas situações, a atividade foi crescente e diminuiu no oitavo dia, como pode ser observado com o metabissulfito 2,5 mM (Figura 9) e com o metabissulfito 7,5 mM

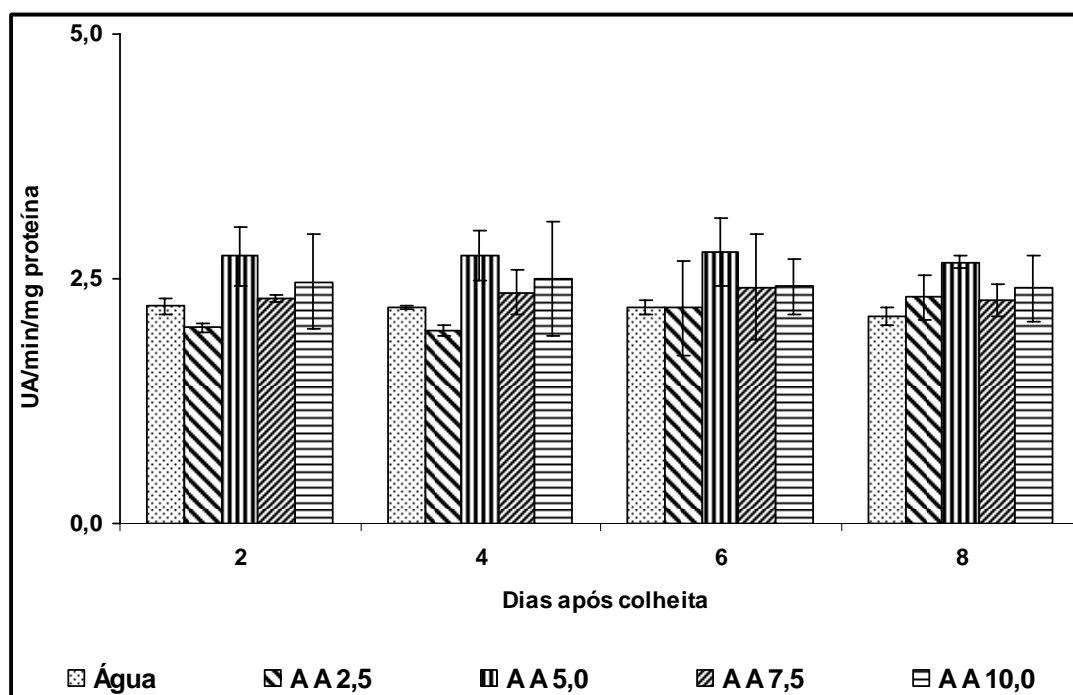


Figura 7: Atividade da enzima polifenoloxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Composto químico aplicado como solução pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): Ácido Ascórbico (A Asc 2,5; 5; 7,5; 10 mM) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

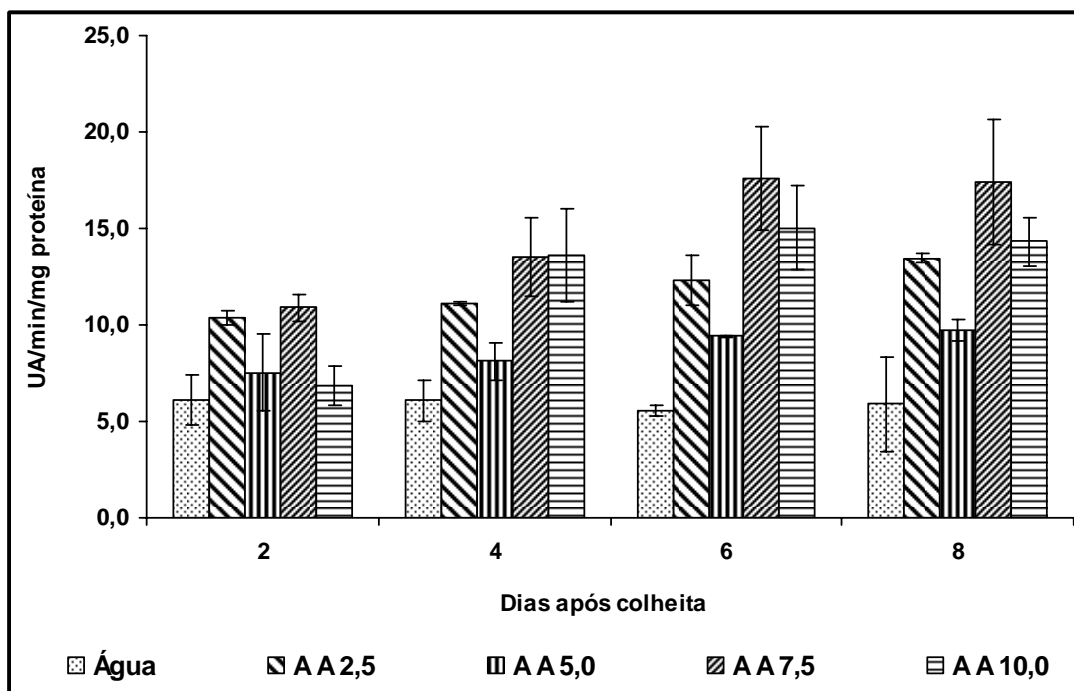


Figura 8: Atividade da enzima peroxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Composto químico aplicado como solução pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): Ácido Ascórbico (A Asc 2,5; 5; 7,5; 10 mM) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

(Figura 10), mas, com o 2-mercaptoetanol 10 mM (Figura 1) ocorreu uma leve queda no quarto e no sexto dias e, em seguida, a atividade aumentou.

Em plantas de *Nicotiana tabacum* cultivar Coker, alterações nas atividades da PPO e da POD foram observadas nos caules feridos até o sétimo dia, tanto nas plantas transgênicas quanto no controle (Lagrimini, 1991). A atividade da PPO em raízes de jicama mostrou-se variável desde o momento do ferimento (dia zero) até o oitavo dia, enquanto a POD, no mesmo período, exibiu aumentos gradativos na atividade até o sexto dia e, em seguida, houve queda brusca na atividade até o oitavo dia (Aquino-Bolaños e Mercado-Silva, 2004). De forma semelhante, as folhas primárias de *Capsicum annuum* submetidas a pequenos ferimentos, apresentou crescente atividade da POD até o quarto dia, do quarto ao sexto dia a atividade manteve-se constante e, posteriormente, houve um aumento acentuado em sua atividade até o oitavo dia analisado (Diaz e Merino, 1998).

As enzimas polifenoloxidase e peroxidase têm suas atividades relatadas sempre que há necessidade de defesa dos vegetais, por ataque de fungos, animais herbívoros ou outros tipos de ferimentos, incluindo o mecânico (Mayer, 2006; Campos et al, 2004; Diaz e Merino, 1998). Em batata, as folhas mais velhas feridas induzem sistematicamente um aumento gradativo na atividade da PPO das folhas novas na região apical, por até 48 horas (Thipyapong et al., 1995). Situação semelhante ocorreu no caule de tomate, pois detectou-se um acúmulo de RNAm da peroxidase a 2 cm do ferimento em quantidade similar a do local cortado, 48 horas após o corte (Botella et al., 1994).

Observou-se então, que a atividade das enzimas PPO e POD em ave-do-paráíso ocorreu desde o segundo dia da colheita até o oitavo dia analisado, provavelmente em resposta ao corte executado a cada 48 horas nos escapos florais. A ação conjunta dessas enzimas na região cortada oxidando os compostos fenólicos pode resultar no bloqueio fisiológico do xilema, pois assim que são oxidados ou causam o escurecimento do corte ou são usados para a formação de ligninas e suberinas.

A lignina é um polímero formado por três diferentes álcoois de fenilpropanóides, o coniferil, o cumaril e o sinapil. Além de dar suporte

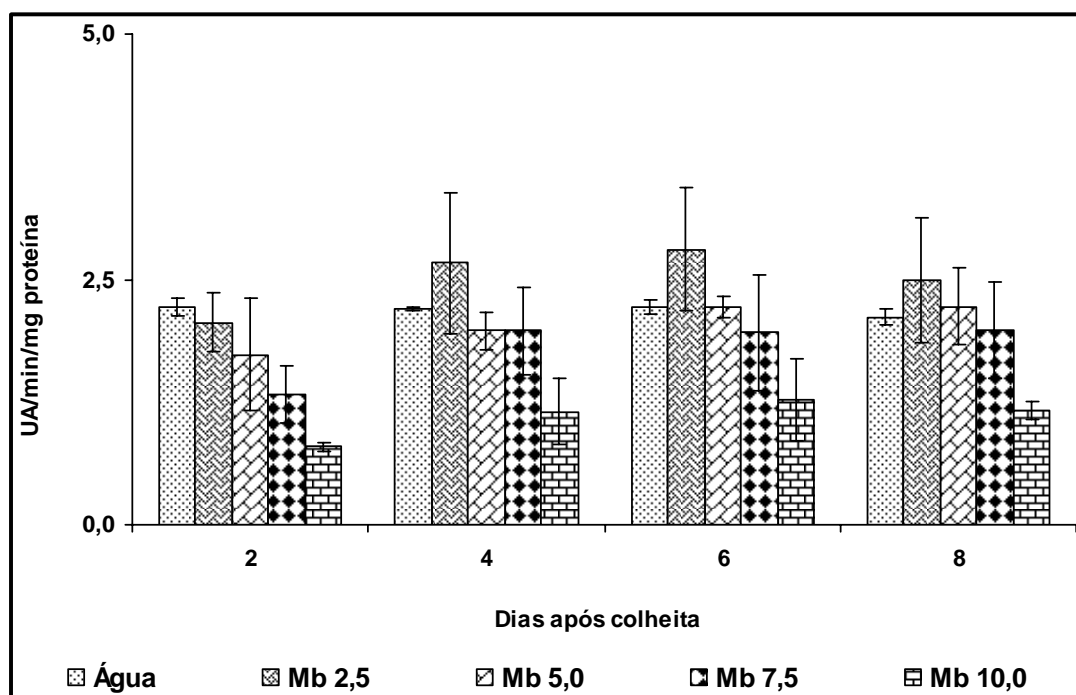


Figura 9: Atividade da enzima polifenoloxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Composto químico aplicado como solução pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): Metabissulfito de sódio (Mb 2,5; 5; 7,5; 10 mM) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

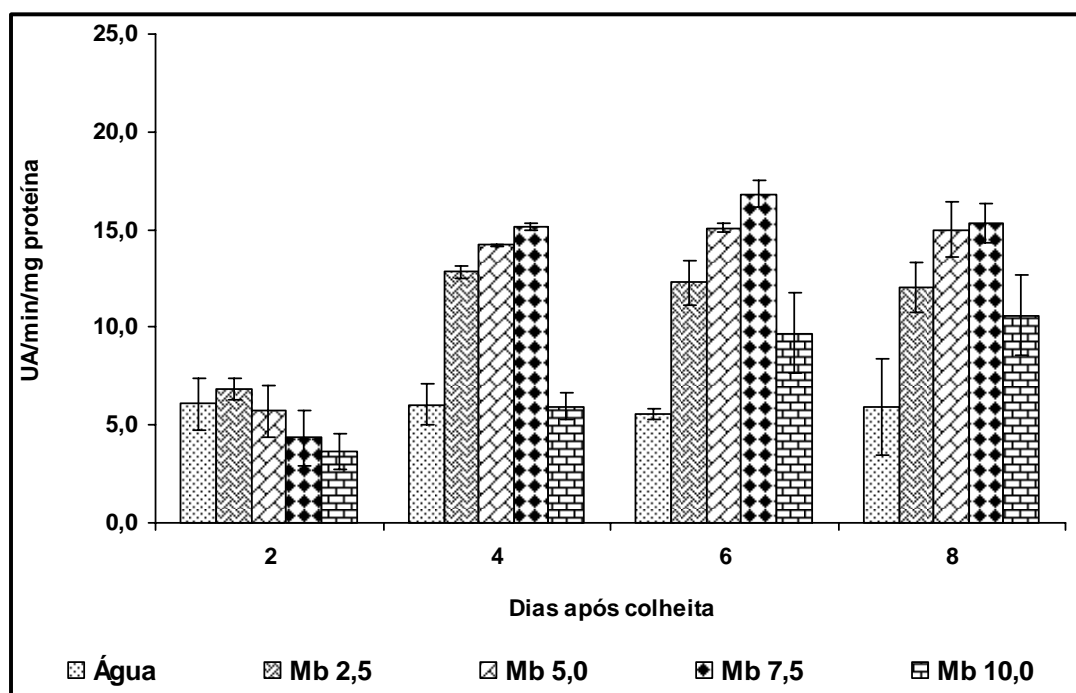


Figura 10: Atividade da enzima peroxidase (UA/min/mg proteína), em escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, em função dos dias após a colheita.

Composto químico aplicado como solução pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): Metabissulfito de sódio (Mb 2,5; 5; 7,5; 10 mM) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

mecânico à planta, a lignina desempenha também funções protetoras. Assim como as ligninas, a suberina é um composto complexo formado por ácidos graxos hidróxi e epóxi e por uma porção significativa de compostos fenólicos (Taiz e Zeiger, 2004). Assim, deve-se determinar se a atividade das enzimas oxidativas em ave-do-paráíso resulta em lignificação e/ou suberização do corte após a colheita.

Em floricultura, os produtos colhidos devem ser transportados e comercializados com a máxima hidratação possível e a manutenção do estado hídrico envolve a interferência na atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase que afetam a aparência desses produtos e, conseqüentemente, as perdas pós-colheitas tornam-se altas. As flores e os botões frescos são adquiridos pela sua aparência, e a aplicação de inibidores ou agentes redutores de enzimas oxidativas, normalmente usados na área de alimentos, pode ter uso potencial na conservação pós-colheita de flores, aumentando sua vida de vaso.

## **2 - Peso da Matéria Fresca**

Nas três etapas de aplicação dos tratamentos verificou-se uma queda brusca do peso da matéria fresca (PMF) dos escapos florais entre o segundo e o quarto dias após a colheita e, em seguida, o PMF manteve-se praticamente estável até o oitavo dia. Em alguns tratamentos, houve um pequeno aumento no PMF próximo do oitavo dia.

Na etapa 1 de aplicação das soluções pós-colheita, o maior PMF foi obtido com a aplicação do metabissulfito de sódio 10 mM, 106% (Figura 11). Com exceção da água destilada e do catecol 5 mM, que tiveram o PMF em torno de 102%, o *p*-nitrofenol 5 mM, o 2-mercaptoetanol 10 mM e o AgNO<sub>3</sub> 1 mM mantiveram os seus valores de PMF próximos de 104%. Na etapa 2, em que as soluções tiveram seus pHs ajustados para 6,0 (Figura 12), o PMF foi semelhante ao dos tratamentos aplicados na etapa 1, apresentando também o maior valor para o metabissulfito de sódio 10 mM.

Na etapa 3 do trabalho, os valores do PMF do AgNO<sub>3</sub> nas concentrações de 0,5; 1; 1,5 e 2 mM foram semelhantes e pouco maior que o PMF da água destilada (Figura 13). O ácido ascórbico às concentrações de 2,5; 5; 7,5 e 10 mM também teve o PMF com comportamento semelhante nas quatro concentrações aplicadas e não se mostraram tão melhores que o PMF da água destilada (Figura 14). Para o metabissulfito de sódio os valores do PMF comparados ao da água destilada foram pouco maiores nas concentrações de 2,5; 5 e 7,5 mM e para a concentração de 10 mM, o valor foi em torno de 106%, como nas etapas 1 e 2 do trabalho (Figura 15).

Portanto, observa-se que o estresse hídrico em ave-do-paraíso instalou-se pronunciadamente logo após o segundo dia da colheita, devido à queda na absorção da água do vaso ocorrida em todos os tratamentos.

Em todos os tratamentos analisados observou-se a atividade das enzimas PPO e POD. A atividade dessas enzimas é uma resposta ao ferimento feito no tecido dos escapos florais logo após a colheita. Tanto a PPO como a POD são ativadas quando a planta passa por estresses que produzem danos aos tecidos (Mayer, 2006; Van Huystee, 1987).

Considerando o corte apenas como um dano causado aos escapos florais, a atividade da PPO e da POD tem como função a defesa da planta,

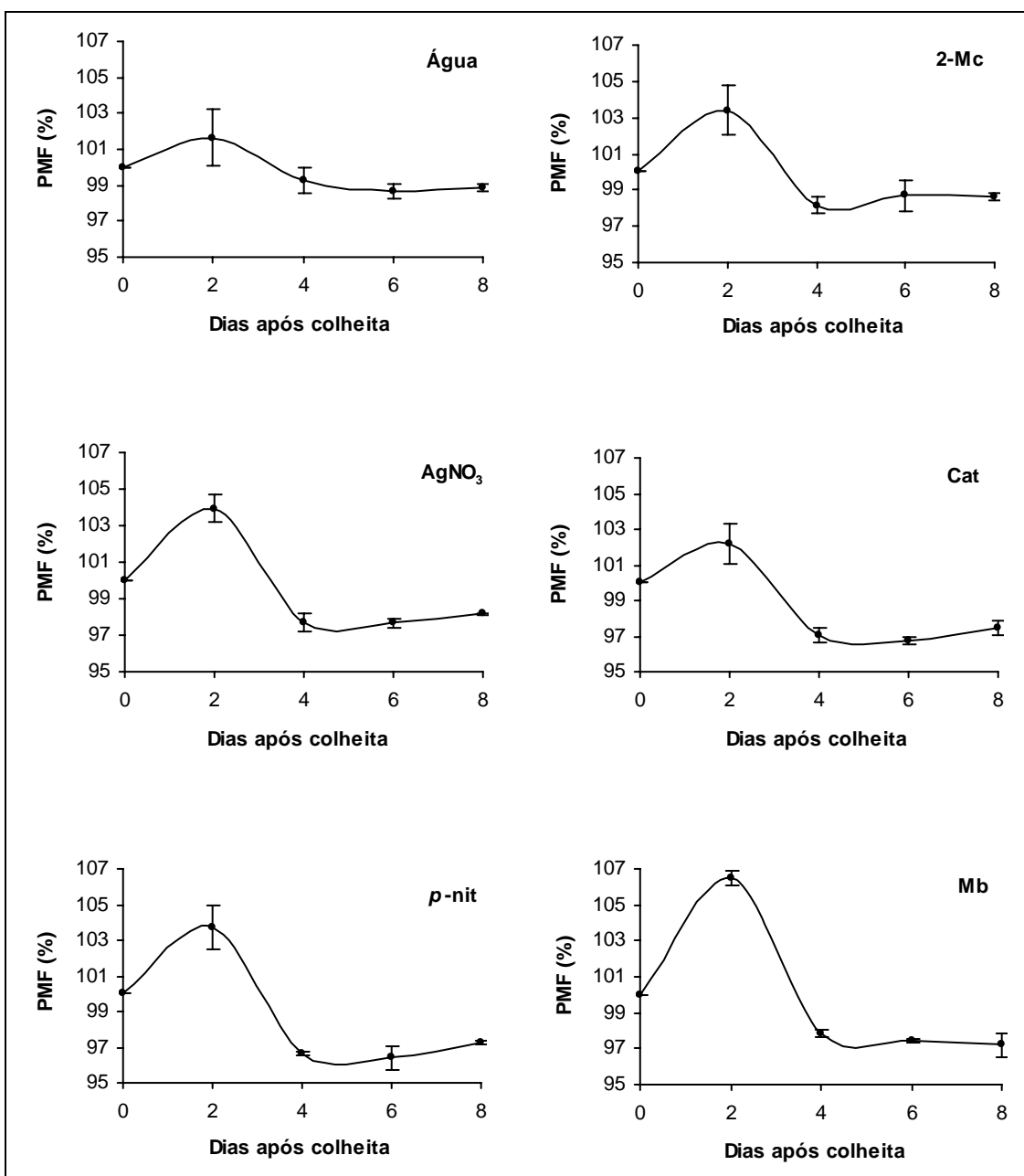


Figura 11: Peso da Matéria Fresca (%) dos escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton em função dos dias após a colheita.

Compostos químicos aplicados como soluções pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): 2-mercaptoetanol 10 mM (2-Mc), AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM (Cat), *p*-nitrofenol 5 mM (*p*-nit), metabissulfito de sódio 10 mM (Mb) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

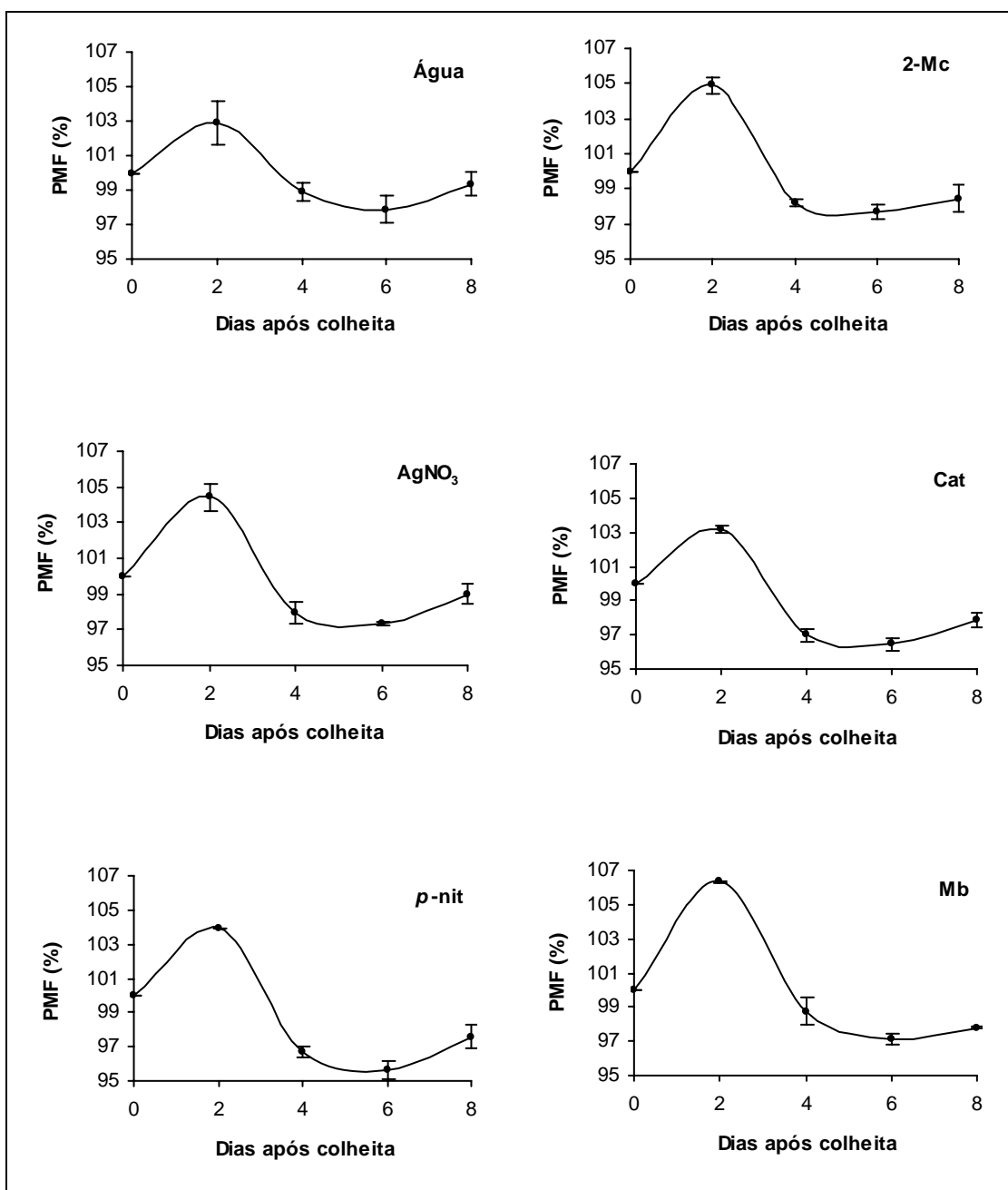


Figura 12: Peso da Matéria Fresca (%) dos escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton em função dos dias após a colheita.

Compostos químicos aplicados como soluções pós-colheita (pH ajustado para 6,0, pulso por 5 horas): 2-mercaptoetanol 10 mM (2-Mc), AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM (Cat), *p*-nitrofenol 5 mM (*p*-nit), metabissulfito de sódio 10 mM (Mb) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

mas, em contrapartida, as flores são produtos que precisam ser comercializados com a qualidade na qual foram colhidas e deve-se evitar o estresse hídrico, controlando a atividade dessas enzimas. Para isso, a cada corte realizado na base dos escapos florais, soluções pós-colheitas que exerçam bom controle da atividade da PPO e POD devem ser aplicadas, de forma a minimizar o bloqueio fisiológico.

van Doorn e Vaslier (2002) verificaram que o metabissulfito de sódio 10 mM e o 2-mercaptoetanol 13 mM, aplicados em sistema de pulso nas hastes de crisântemo dobraram a longevidade dessas inflorescências. Em inflorescências de *Grevillea*, quatro concentrações diferentes de 4-hexilresorcinol aumentaram o peso fresco nos dois primeiros dias da vida de vaso, mas, às concentrações mais altas, ocorreu o escurecimento das folhas e a abscisão das flores (He et al., 2006).

Além da inibição da atividade das enzimas oxidativas, a população bacteriana deve ser controlada, reduzindo-se assim, a oclusão vascular causada pelo crescimento da população. Em rosas *Astilbe* cultivar Erica o alto número de unidades formadoras de colônias por mL ocorrente no controle (água pura) causou murcha severa nas flores, reduzindo drasticamente sua vida pós-colheita, em relação às flores que receberam tratamentos para inibir o crescimento bacteriano (Loubaud e van Doorn, 2004).

Verifica-se, portanto, que a ação de dois bloqueios simultaneamente, o fisiológico causado pela atividade da PPO e da POD, e o físico causado provavelmente pelo crescimento das colônias de bactérias, limita a vida pós-colheita de ave-do-paraíso, reduzindo a condutividade hidráulica do xilema, quando os cortes são feitos periodicamente a cada 48 horas.

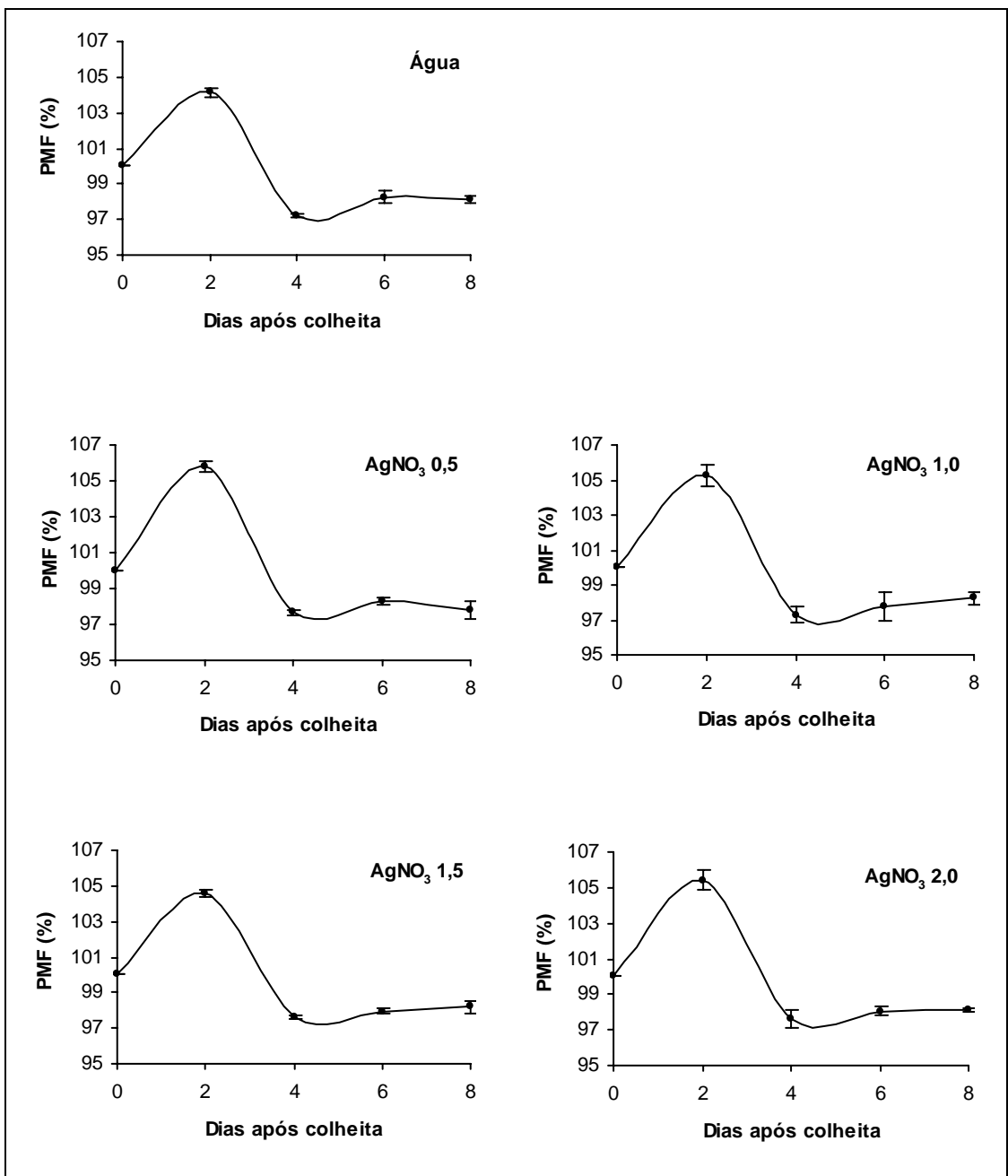


Figura 13: Peso da Matéria Fresca (%) dos escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton em função dos dias após a colheita.

Composto químico aplicado como solução pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): AgNO<sub>3</sub> (0,5; 1; 1,5; 2 mM) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

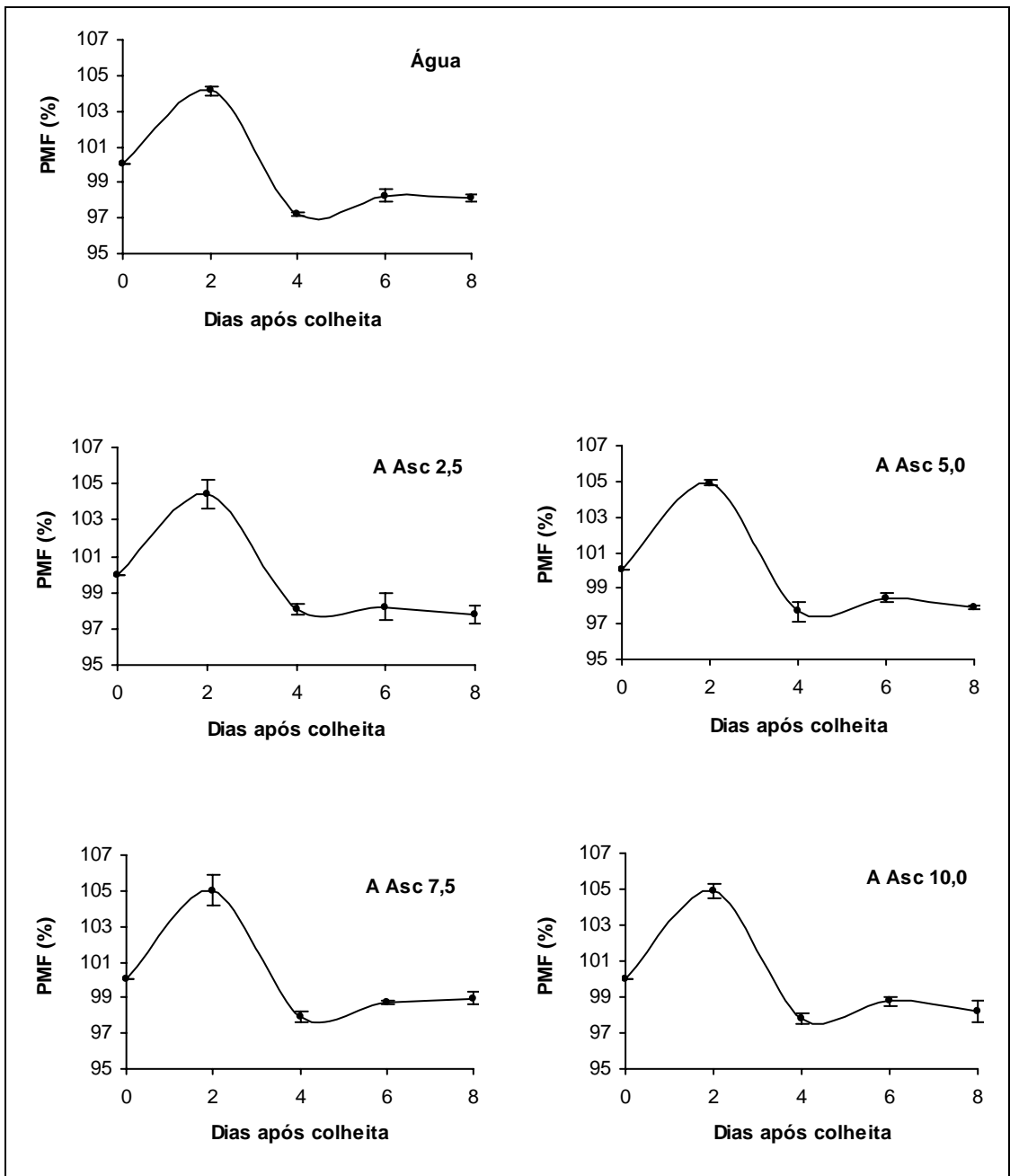


Figura 14: Peso da Matéria Fresca (%) dos escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton em função dos dias após a colheita.

Composto químico aplicado como solução pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): ácido ascórbico (A Asc 2,5; 5; 7,5; 10 mM) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

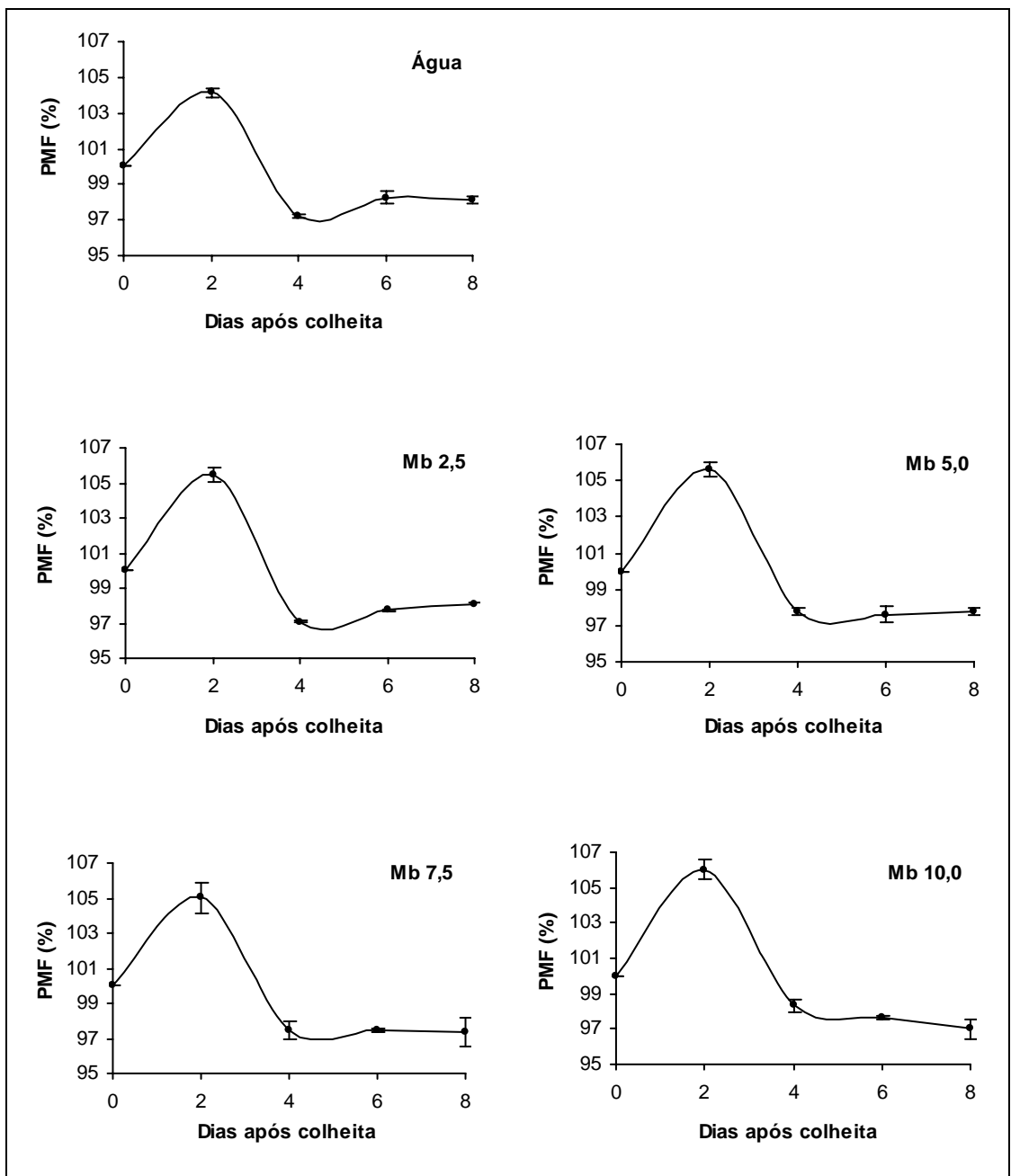


Figura 15: Peso da Matéria Fresca (%) dos escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton em função dos dias após a colheita.

Composto químico aplicado como solução pós-colheita (sem ajuste do pH, pulso por 5 horas): metabissulfito de sódio (Mb 2,5; 5; 7,5; 10 mM) e água destilada (controle).

As barras verticais representam o erro padrão da média

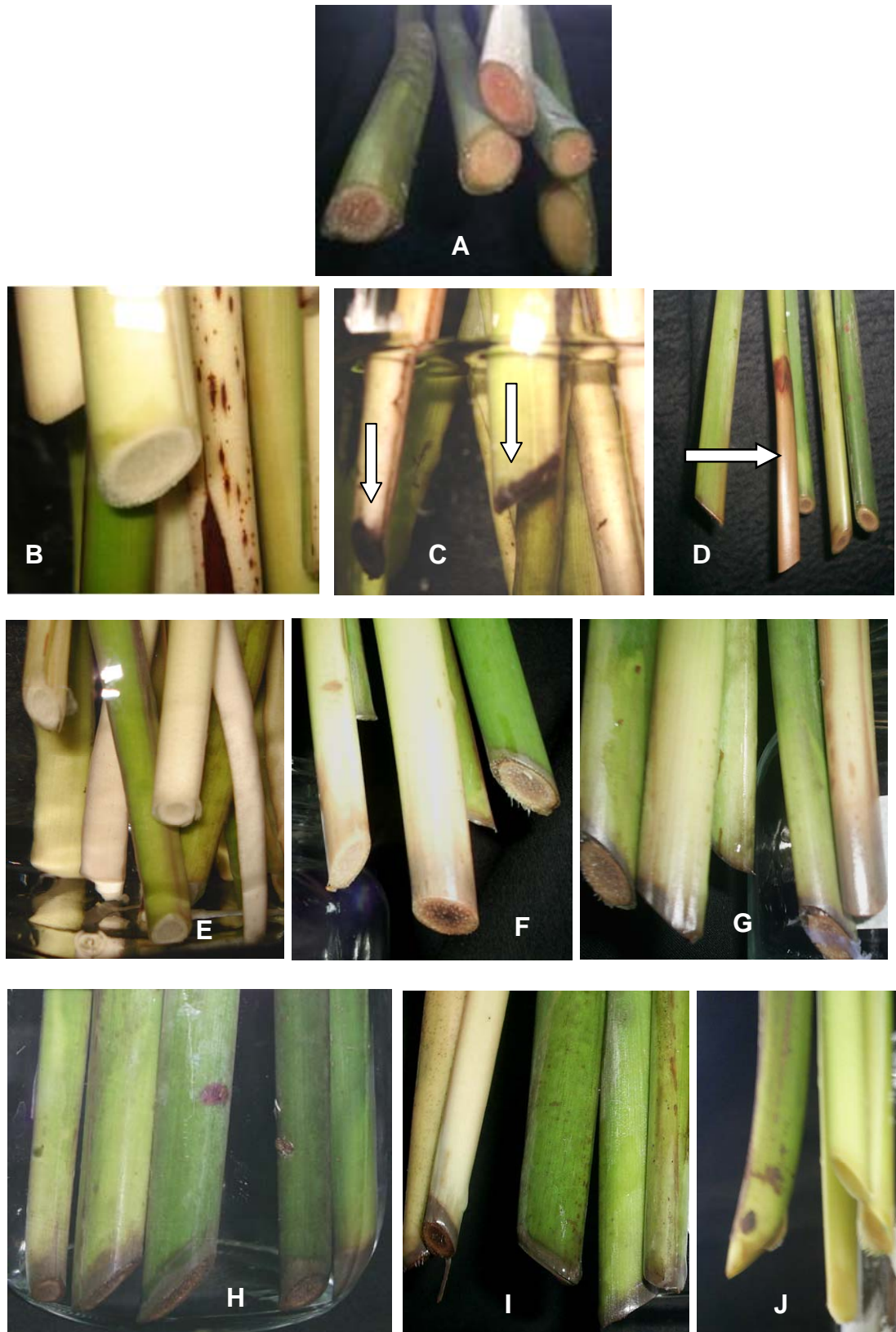


Figura 16: Aspecto do corte dos escapos florais de *Strelitzia reginae* Aiton, após a aplicação das soluções pós-colheita: água destilada (A), 2-mercaptoetanol 10 mM (B), catecol 5 mM (C), *p*-nitrofenol 5 mM (D), metabissulfito de sódio 10 mM (E), AgNO<sub>3</sub> (0,5; 1; 1,5; 2 mM) (F, G, H, I), ácido ascórbico 2,5 mM (J).

### 3 - Teor Relativo de Água

O teor relativo de água (TRA) avaliado das sépalas das flores de ave-do-paraíso não mostrou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos aplicados. Na etapa 1 a média geral do TRA foi 67% (Anexo 1), na etapa 2 foi 69% (Anexo 5) e na etapa 3, para o  $\text{AgNO}_3$  (0,0; 0,5; 1; 1,5; 2 mM) (Anexo 9), o ácido ascórbico (0,0; 2,5; 5; 7,5; 10 mM) (Anexo 13) e metabisulfito de sódio (0,0; 2,5; 5; 7,5; 10 mM) (Anexo 17) a média geral para cada TRA foi 76%, 75% e 76% respectivamente.

A água é essencial para a vida das plantas por constituir a matriz e o meio onde ocorrem os processos bioquímicos essenciais à vida (Taiz e Zeiger, 2004). Os valores baixos do TRA em cada tratamento expressam a restrição hídrica sofrida pelas sépalas, devido à baixa condutividade hidráulica do xilema ao longo dos dias após a colheita, visto também no peso da matéria fresca dos escapos florais.

Os tratamentos pós-colheita aplicados quando os escapos foram cortados não se mostraram capazes de manter o contínuo hidráulico nos elementos condutores do xilema, evidenciando que o problema pós-colheita de ave-do-paraíso inicia-se com o corte. He et al (2002) verificaram a queda na condutividade hidráulica em flores de *Grevillea* ao longo do período em que foi avaliada sua vida de vaso, e isso ocorreu até a altura de 4 cm na base das hastes florais. A senescência em flores de gladiolo ocorreu à medida que o conteúdo de água de suas sépalas (TRA) decrescia gradualmente, correspondendo à diminuição do seu peso fresco no período analisado (Hossain et al., 2006).

A oclusão do xilema tem sido atribuída à atividade das enzimas PPO e POD (van Doorn e Cruz, 2000; van Doorn e Vaslier, 2002; van Doorn, 1997), ao crescimento da população bacteriana na superfície cortada das hastes florais, no interior do xilema e na água do vaso (van Doorn, 1997; Son et al, 2003; Loubaud e van Doorn, 2004).

O alto número de unidade formadora de colônia por mL (UFC/mL) ocorrente em todos os tratamentos, juntamente com a atividade da PPO e da POD, limitaram a condutividade hidráulica nos escapos de ave-do-paraíso, o que pode ser verificado pelo baixo conteúdo de

água das sépalas, causando a senescência precoce por meio do bloqueio vascular.

#### **4 - Número de Flores Abertas**

Em cada etapa de aplicação dos tratamentos pós-colheita não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para o número de flores abertas (NFA) nos escapos florais de ave-do-paraíso. A média geral do número de flores abertas foi 1,79 para a etapa 1, em que os tratamentos consistiram de água destilada, 2-mercaptoetanol 10 mM,  $\text{AgNO}_3$  1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM e metabissulfito de sódio 10 mM (Anexo 2). Na etapa 2, em que se aplicaram os mesmos tratamentos acima e apenas ajustou-se o pH para 6,0, a média geral das flores abertas foi de 1,69 (Anexo 6). Na etapa 3, para o  $\text{AgNO}_3$  (0,0; 0,5; 1; 1,5; 2 mM) (Anexo 10), ácido ascórbico (0,0; 2,5; 5; 7,5; 10 mM) (Anexo 14) e metabissulfito de sódio (0,0; 2,5; 5; 7,5; 10 mM) (Anexo 18) a média geral do número de flores abertas foi 1,80, 1,78 e 1,69, respectivamente.

A condutividade hidráulica do xilema não permitiu a manutenção da hidratação dos escapos florais, de forma a aumentar o número de flores abertas em cada tratamento aplicado. Daí verifica-se o efeito negativo do bloqueio vascular causado pela população bacteriana na base dos escapos, provavelmente dentro dos elementos de vaso e pela atividade das enzimas oxidativas, PPO e POD. De acordo com a escala de abertura floral feita por Campanha (1997), o estresse hídrico em ave-do-paraíso foi tão severo que não se alcançou o estágio de abertura 2 (E2), ou seja, quando a segunda flor abrisse, as duas flores deveriam estar com ótimo aspecto, sendo esse resultado também obtido nesse trabalho.

Ketsa et al (1995), ao trabalharem com *Dendrobium*, observaram que além do suprimento de carboidrato requerido para abertura dos botões florais e para aumentar a sua vida de vaso, outro fator necessário seria o fornecimento de água com boa qualidade, ou seja, livre de bactérias. Hastes florais cortadas com ferramentas estéreis e que receberam tratamento com hipoclorito antes do armazenamento apresentaram baixos números de UFC por grama de matéria fresca (van Doorn e Cruz, 2000).

As flores necessitam de vários cuidados após a colheita, não apenas para aumentar a sua vida de vaso, mas também para que as inflorescências como a de ave-do-paraíso, abram o maior número de flores antes de sofrerem desidratação decorrente do estresse hídrico, ainda dentro de suas brácteas.

## **5 - Longevidade**

Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) na longevidade das flores abertas nos tratamentos aplicados nas três etapas do trabalho. A média geral da longevidade das flores obtida na etapa 1 (Anexo 3), em que se aplicou água destilada, 2-mercaptoetanol 10 mM,  $\text{AgNO}_3$  1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM e metabissulfito de sódio 10 mM foi 4,99 dias. Na etapa 2, quando foram aplicados os mesmos tratamentos, apenas ajustou-se o pH para 6,0 (Anexo 7), a média geral da longevidade foi de 4,97 dias. Na última etapa do trabalho, para os tratamentos com  $\text{AgNO}_3$  (0,0; 0,5; 1; 1,5; 2 mM) (Anexo 11), ácido ascórbico (0,0; 2,5; 5; 7,5; 10 mM) (Anexo 15) e metabissulfito (0,0; 2,5; 5; 7,5; 10 mM) (Anexo 19), a longevidade média das flores foi de 4,85, 4,94, e 4,90 dias, respectivamente.

Considerando-se o número médio de flores abertas e suas respectivas longevidades, em cada etapa da aplicação das soluções pós-colheitas, a longevidade dos escapos florais de ave-do-paraíso ficou dentro da faixa de 7 a 9 dias, conforme descrito por Campanha (1997). A longevidade do escapo floral de ave-do-paraíso obtida nesse trabalho foi: etapa 1: 8,93 dias; etapa 2: 8,39 dias e na etapa 3, a longevidade para o  $\text{AgNO}_3$  foi de 8,73 dias, para o ácido ascórbico e metabissulfito, 8,79 e 8,28 dias, respectivamente.

Esses resultados concordam com os de Moraes (1999), pois a longevidade dos escapos florais de ave-do-paraíso armazenados por 7 dias ( $10\text{ }^\circ\text{C}$ ) e em seguida submetidos a pulso com solução de sacarose 40% (24 horas) foi 8,56 dias. Para aumentar o número de flores abertas e também suas respectivas longevidades, devem-se realizar mais estudos sobre o uso de soluções pós-colheitas que sejam eficientes na inibição da atividade das

enzimas oxidativas e ao mesmo tempo do crescimento de microrganismos, principalmente as bactérias.

## **6 - Contagem da População Bacteriana**

Não houve diferença significativa entre os tratamentos aplicados na primeira etapa do trabalho (água destilada,  $\text{AgNO}_3$  1 mM, 2-mercaptoetanol 10 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM e metabissulfito de sódio 10 mM) ( $P > 0,05$ ) e a média geral da população bacteriana foi de  $7,72 \times 10^6$  UFC/mL (Anexo 4). Na etapa 2, em que se aplicaram os produtos acima e ajustou-se o pH para 6,0, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na população bacteriana (Quadro 1). Na etapa 3, não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) resultante dos tratamentos com  $\text{AgNO}_3$  (0,0; 0,5; 1; 1,5; 2 mM) (Anexo 12), ácido ascórbico (0,0; 2,5; 5; 7,5; 10 mM) (Anexo 16) e metabissulfito de sódio (0,0; 2,5; 5; 7,5; 10 mM) (Anexo 20). As médias gerais para os tratamentos acima foram  $3,62 \times 10^5$  UFC/mL,  $2,30 \times 10^5$  UFC/mL e  $5,81 \times 10^5$  UFC/mL, respectivamente.

As flores frescas deterioram-se por várias razões e a mais comum é a incapacidade de absorção de água causada por proliferação de microrganismos (Blessington, 2006). O bloqueio vascular causado por bactérias é um processo aparentemente físico, portanto, vivas ou mortas, as bactérias formam uma fina camada e juntamente com o material produzido em seu metabolismo cobrem o xilema na superfície cortada (van Doorn, 1997). Ichimura (1998) verificou que a aplicação do germicida 8-hidroxiquinolina sulfato manteve a condutividade hidráulica próxima do original ao longo dos dias após a colheita em hastes de rosas, devido ao controle dos microrganismos.

O nitrato de prata é um agente químico anti-séptico capaz de matar ou inibir o crescimento de microrganismos e suficientemente não tóxico quando aplicado em tecidos vivos (Brock et al., 1984). Son et al (2003) observaram que o  $\text{AgNO}_3$  absorvido pelas hastes de rosas 'Red Sandra' manteve-se presente até a altura de 15 cm controlando os microrganismos após cortes periódicos, indicando a ação germicida ao ser aplicado em sistema de pulso, devido a sua aderência aos elementos de vaso.

Em ave-do-paráíso, o AgNO<sub>3</sub> aplicado em sistema de pulso nas três etapas não se mostrou efetivo em inibir o crescimento bacteriano após os cortes feitos, a cada 48 horas, na base dos escapos florais, até o oitavo dia da colheita. Possivelmente o AgNO<sub>3</sub> não foi absorvido o suficiente para que o íon Ag<sup>+</sup> pudesse permanecer aderido às paredes do xilema de modo que, nos cortes posteriores, o crescimento da população bacteriana fosse controlado, pois o crescimento ocorreu sob todos os tratamentos aplicados com o AgNO<sub>3</sub>, da mesma forma como ocorreu para os demais tratamentos.

Para obterem-se resultados semelhantes ao de Ketsa et al (2003), em que a população bacteriana não ultrapassou 10<sup>2</sup> UFC/mL, o AgNO<sub>3</sub> deveria ser aplicado até o último dia após a colheita de ave-do-paráíso, a cada momento em que o corte fosse realizado. Como isso não foi feito, observou-se então que o crescimento da população bacteriana variou de 2,30 x 10<sup>5</sup> UFC/mL a 1,36 x 10<sup>7</sup> UFC/mL.

O efeito do crescimento da população bacteriana na água do vaso foi observado por van Doorn et al (1995) com flores de cravo, cuja longevidade dessas flores gradativamente quando a população estava entre 10<sup>6</sup> e 10<sup>7</sup> UFC/mL, mas ao atingir 10<sup>8</sup> UFC/mL, a longevidade reduziu-se rapidamente, após o quarto dia da colheita. Bleeksma e van Doorn (2003) verificaram que a cavitação dos vasos em *Rosa hybrida* L. aumentou gradualmente com o aumento da população bacteriana e esse efeito foi mais grave quando a população bacteriana ultrapassou 10<sup>8</sup> UFC/mL.

Antes que efeitos drásticos sejam observados na longevidade de ave-do-paráíso, quando a população bacteriana estiver alta, soluções pós-colheita devem ser aplicadas para manter essa população controlada, de forma que a condutividade hidráulica seja suficiente para manter os escapos hidratados e a vida pós-colheita aumentada.

Para verificar se as populações bacterianas encontradas em ave-do-paráíso causaram efeitos drásticos na absorção de água conforme é observado no peso da matéria fresca (PMF), deve-se preparar suspensões bacterianas e submeter os escapos florais aos níveis de UFC/mL obtidos acima (2,30 x 10<sup>5</sup> UFC/mL a 1,36 x 10<sup>7</sup> UFC/mL) até que se observe o efeito negativo do crescimento bacteriano.

**Quadro 1** - População bacteriana em escapos florais de ave-do-paraíso, após a aplicação das soluções pós-colheita, na segunda etapa (pH 6,0).

<b>Tratamentos</b>	<b>UFC/mL</b>
<i>p</i> -nitrofenol 5 mM	1,36 x 10 <sup>7</sup> A
catecol 5 mM	1,00 x 10 <sup>7</sup> A B
metabissulfito de sódio 10 mM	3,63 x 10 <sup>6</sup> B
água destilada	1,88 x 10 <sup>6</sup> B
2-mercaptoetanol 10 mM	1,84 x 10 <sup>6</sup> B
AgNO <sub>3</sub> 1 mM	6,28 x 10 <sup>5</sup> B

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, L. F., Faria, J. A. F. 2007. Influência da temperatura e do ácido ascórbico sobre a estabilidade físico-química e atividade enzimática da água de coco (*Cocos Nucifera* L.) acondicionada assepticamente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. 27(2), 226-232.
- Aquino-Bolaños, E. N., Mercado-Silva, E. 2004. Effects of polyphenol oxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. **Postharvest Biology and Technology**. 33, 275-283.
- Araújo, J. M. A. 2004. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. ed. Viçosa: UFV. 478p.
- Aydemir, T. 2004. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. **Food Chemistry**. 87, 59-67.
- Bleeksma, H. C., van Doorn, W. G. 2003. Embolism in rose stems as a result of vascular occlusion by bacteria. **Postharvest Biology and Technology**. 29, 334-340.
- Blessington, T. M. **Post Harvest handling of cut flowers**. Disponível em <<http://www.agnr.umd.edu/ipmnet/cutpost.htm>>. Acesso em 21/02/2006.
- Botella, M. A., Quesada, M. A., Medina, M. I., Pliego, F., Valpuesta, V. 1994. Induction of a tomato peroxidase gene in vascular tissue. **Federation of European Biochemical Societies**. 347, 195-198.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. 72, 248-254.
- Brock, T. D., Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. 1984. **Biology of microorganisms**. New Jersey: Prentice-Hall International. 2004p.
- Campanha, M. M. 1997. **Manejo pós-colheita de inflorescências de ave-do-paráíso (*Strelitzia reginae* Ait.)**. 60p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Campos, A. D., Ferreira, A. G., Hampe, M. M. V., Antunes, I. F., Brancão, N., Silveira, E. P. da, Osório, V. A., Augustin, E. 2004. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. 39 (7), 637-643.
- Castro, C. E. F. 1995. Inter-relações das famílias das zingiberales. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. 1 (1), 2-11.
- Catsky, J. 1974. Water content: In: Slavik, B. **Methods of studying plant water relations**. Berlim: Springer-Verlag. 1170-1172.

Diaz, J., Merino F. 1998. Wound-induced shikimate dehydrogenase and peroxidase related to lignification in pepper (*Capsicum annuum* L.) leaves. **Journal of Plant Physiology**. 152, 51-57.

Dogan, S., Turan, P., Dogan, M., Arslan O., Alkan, M. 2007. Variations of peroxidase activity among *Salvia* species. **Journal of Food Engineering**. 79, 375-382.

Duangmal, K., Apenten, R. K. O., 1999. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**. 64, 351-359.

He, S., Joyce, D. C., Irving, D. E., Faragher, J. D. 2006. Stem end blockage in cut *Grevillea* 'Crimson Yul-lo' inflorescences. **Postharvest Biology and Technology**. 41, 78-84.

Hernández-Ruiz, J., Rodríguez-López, J. N., García-Cánovas, F., Acosta, M., Arnao, M. B. 2000. Characterization of isoperoxidase-B2 inactivation in etiolated *Lupinus albus* hypocotyls. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1478, 78-88.

Holbrook, N. M., Zwieniecki, M. A. 1999. Embolism repair and xylem tension: do we need a miracle? **Plant Physiology**. 120, 7-10.

Hossain, Z., Mandal, A. K. A., Datta, S. K., Biswas, A. K. 2006. Decline in ascorbate peroxidase activity - A prerequisite factor for tepal senescence in gladiolus. **Journal of Plant Physiology**. 163, 186-194.

Ichimura, K., Kojima, K., Goto, R. 1999. Effects of temperature, 8-hydroxyquinoline sulphate and sucrose on the vase life of cut rose flowers. **Postharvest Biology and Technology**. 15, 33-40.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A. Setevens, P. F. 1999. **Plant systematics : a phylogenetic approach**. Massachusetts, Sinauer Associates. 464p.

Kays, S. J. 1991. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: An avi Book. 532p.

Ketsa, S., Piyasaengthong, Y., Prathuangwong, S. 1995. Mode of action of AgNO<sub>3</sub> in maximizing vase life of *Dendrobium* 'Pompadour' flowers. **Postharvest Biology and Technology**. 5, 109-117.

Knee, M. 2000. Selection of biocides for use in floral preservatives. **Postharvest Biology and Technology**. 18, 227-234.

Lagrimini, L. M. 1991. Wound-induced deposition of polyphenols in transgenic plants overexpressing peroxidase. **Plant Physiology**. 96, 577-583.

Lax, A. R., Vaughn, K. C. 1991. Colocalization of polyphenol oxidase and photosystem II proteins. **Plant Physiology**. 96, 26-31.

Lehninger, A. L., Nelson, D. L., Cox, M. M. 2006. **Princípios de bioquímica**. 4ª ed. São Paulo: Sarvier. 1202p.

Lorenzi, H., Souza, H. M. de. 2001. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa: Plantarum. 1088p.

Loubaud, M., van Doorn, W. G. 2004. Wound-induced and bacteria-induced xylem blockage in roses, *Astilbe* and *Viburnum*. **Postharvest Biology and Technology**. 32, 281-288.

Luz, P. B. da, Almeida, E. F. A, Paiva, P. D. de O., Ribeiro, T. R. 2005. Cultivo de flores tropicais. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte. 26(227), 62-72.

Machado, R. M. D., Toledo, M. C. F., Vicente, E. 2006. Sulfitos em Alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**. 9(4), 265-275.

Mayer, A. M. 1987. Polyphenol oxidases in plantas – recent progress. **Phytochemistry**. 26(1), 11-20.

Mayer, A. M. 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. **Phytochemistry**. 67, 2318-2331.

Mehlhorn, H., Lelandais, M., Korth, H. G., Foyer, C. H. 1996. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases. **Federation of European Biochemical Societies**. 378, 203-206.

Menolli, L. N. 2006. **Atuação das enzimas oxidativas em raízes de batata-baroa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)**. 63p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Mizobutsi, G. P. 2003. **Envolvimento de peroxidase e de polifenoloxidase no escurecimento pós-colheita do pericarpo de lichia (*Litchi chinensis* Sonn)**. 95p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Moraes, P. J. de. 1999. **Efeito da refrigeração e do condicionamento em sacarose sobre a conservação pós-colheita de flores de *Strelitzia reginae* Ait.** 48p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Neves, L. L. de M. 2003. **Envolvimento de enzimas oxidativas no escurecimento do quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench]**. 72p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Negishi, O., Ozawa, T. 2000. Inhibition of enzymatic browning and protection of sulfhydryl enzymes by thiol compounds. **Phytochemistry**. 54, 481-487.

Nowak, J., Rudnicki, R. M. 1990. **Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens and potted plants**. Portland: Timber Press. 210 p.

Paiva, R., Oliveira, L. M. de, Nogueira, R. C., Santos, B. R. dos, Martinotto, C., Paiva, P. D. de O., Menegucci, J. L. P. 2005. Aspectos fisiológicos da produção de flores e plantas ornamentais. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte. 26(227), 62-72.

Portal Fator Brasil. 2007. **Potencial brasileiro faz com que produtores de flores e plantas invistam no mercado interno**.

<[http://www.revistafator.com.br/ver\\_noticia.php?not=18455](http://www.revistafator.com.br/ver_noticia.php?not=18455)>. Acesso em 19/09/2007

Raymond, J., Rakariyathan, N., Azanza, J. L. 1993. Purification and some properties of polyphenoloxidase from sunflower seeds. **Phytochemistry**. 34(4), 927-931.

Rocha, A. M. C. N., Morais, A. M. M. B. 2001. Characterization of polyphenoloxidase (PPO) extracted from 'Jonagored' apple. **Food Control**. 12, 85-90.

Romeiro, R. da S. 2001. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: UFV. 279p.

Sariri, R., Jafarian, V., Sajedi, R. H., Khajeh, K. 2006. Inhibition of horseradish peroxidase by thiol type inhibitors: Mercaptoethanol and mercaptoacetic acid. **Journal of Molecular Liquids**. 128, 175-177.

Simsek, S., Yemenicioglu, A. 2007. Partial purification and kinetic characterization of mushroom stem polyphenoloxidase and determination of its storage stability in different lyophilized forms. **Process Biochemistry**. 42, 943-950.

Sigma-Aldrich. 2007. M 6250 2- mercaptoethanol.

<<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail?ProdNo=M6250&Brand=SIGMA>> Acesso em 24/10/2007

Son, K. C., Byoun, H. J., Yoo, M. H. 2003. Effect of pulsing with AgNO<sub>3</sub> or STS on the absorption and distribution of silver and the vase life of cut rose 'Red Sandra'. **Acta Horticultural**. 624, 365-372.

Taiz, L., Zeiger, E. 2004. **Fisiologia vegetal**. 3<sup>nd</sup> ed. Porto Alegre: Artmed. 719p.

Thipyapong, P., Hunt, M. D., Steffens, J. C. 1995. Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase. **Phytochemistry**. 40(3), 673-676.

Tyree, M. T., Sperry, J. S. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. 40, 19-38.

Underhill, S. J. R., Critchley, C. 1995. Cellular localisation of polyphenol oxidase and peroxidase activity in *Litchi chinensis* Sonn pericarp. **Australian Journal Plant Physiology**. 22, 627-632.

van Doorn, W. G., Witte, Y. de, Harkema, H. 1995. Effect of high numbers of exogenous bacteria on the water relations and longevity of cut carnation flowers. **Postharvest Biology and Technology**. 6, 111-119.

van Doorn, W. G. 1997. Water relations of cut flowers. **Horticultural Reviews**. 18, 1-85.

van Doorn, W. G., Cruz, P. 2000. Evidence for a wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers. **Postharvest Biology and Technology**. 19, 73-83.

van Doorn, W. G., Vaslier, N. 2002. Wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers: roles of peroxidase and catechol oxidase. **Postharvest Biology and Technology**. 26, 275-284.

van Huystee, R. B. 1987. Some molecular aspects of plant peroxidase biosynthetic studies. **Annual Review of Plant Physiology**. 38, 205-217.

van Meeteren, U., Arévalo-Galarza, L., van Doorn, W. G. 2006. Inhibition of water uptake after dry storage of cut flowers: role of aspired air and wound-induced processes in Chrysanthemum. **Postharvest Biology and Technology**. 41, 70-77.

Vaslier, N., van Doorn, W. G. 2003. Xylem occlusion in bouvardia flowers: evidence for a role of peroxidase and catechol oxidase. **Postharvest Biology and Technology**. 28, 231-237.

Vianello, A., Zancani, M., Nagy, G., Macri, F. 1997. Guaiacol peroxidase associated to soybean root plasma membranes oxidizes ascorbate. **Journal Plant Physiology**. 150, 573-577.

Walker, J. R. L., McCallion, R. F. 1980. The selective inhibition of *ortho*- and *para*-diphenol oxidases. **Phytochemistry**. 19, 373-377.

Weatherley, P. E. 1950. Studies in the water relations of cotton plant. In: The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytology**. 49, 81-97.

## **ANEXO**

Anexo 1 - Resumo da análise da variância do Teor Relativo de Água (%) em flores de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita (sem ajustes do pH): 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	1	188,72 <sup>ns</sup>
Tratamentos	5	173,29 <sup>ns</sup>
Resíduo	41	137,73
Total	47	
CV (%)		17,51%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 2 - Resumo da análise da variância do número de flores abertas em escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita (sem ajustes do pH): 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	2	0,169 <sup>ns</sup>
Tratamentos	5	0,141 <sup>ns</sup>
Resíduo	10	0,044
Total	17	
CV		11,67%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 3 - Resumo da análise da variância da longevidade das flores abertas em escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita (sem ajustes do pH): 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	2	0,651 <sup>ns</sup>
Tratamentos	5	0,486 <sup>ns</sup>
Resíduo	10	0,172
Total	17	
CV		8,30%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 4 - Resumo da análise da variância da contagem da população bacteriana em escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita (sem ajustes do pH): 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	7,14 x 10 <sup>13</sup> ns
Tratamentos	5	4,90 x 10 <sup>13</sup> ns
Resíduo	15	3,24 x 10 <sup>13</sup>
Total	23	
CV		73,76%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

ns: não significativo.

Anexo 5 - Resumo da análise da variância do Teor Relativo de Água (%) em flores de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita (pHs ajustados para 6,0): 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	1	336,39 ns
Tratamentos	5	49,32 ns
Resíduo	41	121,76
Total	47	
CV		15,99%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

ns: não significativo.

Anexo 6 - Resumo da análise da variância do número de flores abertas em escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita (pHs ajustados para 6,0): 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	2	0,116 ns
Tratamentos	5	0,052 ns
Resíduo	10	0,073
Total	17	
CV		15,99%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

ns: não significativo.

Anexo 7 - Resumo da análise da variância da longevidade das flores abertas em escapos florais de ave-do-paráiso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita (pHs ajustados para 6,0): 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	2	0,062 <sup>ns</sup>
Tratamentos	5	0,333 <sup>ns</sup>
Resíduo	10	0,309
Total	17	
CV		11,19%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 8 - Resumo da análise da variância da contagem da população bacteriana em escapos florais de ave-do-paráiso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita (pHs ajustados para 6,0): 2-mercaptoetanol 10 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, catecol 5 mM, *p*-nitrofenol 5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	6,83 x 10 <sup>13</sup> *
Tratamentos	5	1,11 x 10 <sup>14</sup> *
Resíduo	15	1,67 x 10 <sup>13</sup>
Total	23	
CV		77,68%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 9 - Resumo da análise da variância do Teor Relativo de Água (%) em flores de ave-do-paráiso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: AgNO<sub>3</sub> 0,5 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, AgNO<sub>3</sub> 1,5 mM, AgNO<sub>3</sub> 2 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	452,63 <sup>ns</sup>
Tratamentos	4	294,49 <sup>ns</sup>
Resíduo	92	188,79
Total	99	
CV		17,96%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 10 - Resumo da análise da variância do número de flores abertas em escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: AgNO<sub>3</sub> 0,5 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, AgNO<sub>3</sub> 1,5 mM, AgNO<sub>3</sub> 2 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	0,315 *
Tratamentos	4	0,040 <sup>ns</sup>
Resíduo	12	0,081
Total	19	
CV		15,84%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 11 - Resumo da análise da variância da longevidade das flores abertas em escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: AgNO<sub>3</sub> 0,5 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, AgNO<sub>3</sub> 1,5 mM, AgNO<sub>3</sub> , mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	1,429 *
Tratamentos	4	0,386 <sup>ns</sup>
Resíduo	12	0,234
Total	19	
CV		9,97%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 12 - Resumo da análise da variância da contagem da população bacteriana em escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: AgNO<sub>3</sub> 0,5 mM, AgNO<sub>3</sub> 1 mM, AgNO<sub>3</sub> 1,5 mM, AgNO<sub>3</sub> 2 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	3,31 x 10 <sup>11</sup> <sup>ns</sup>
Tratamentos	4	2,60 x 10 <sup>11</sup> <sup>ns</sup>
Resíduo	12	3,66 x 10 <sup>11</sup>
Total	19	
CV		166,87%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 13 - Resumo da análise da variância do Teor Relativo de Água (%) em flores de ave-do-paráiso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: ácido ascórbico 2,5 mM, ácido ascórbico 5 mM, ácido ascórbico 7,5 mM, ácido ascórbico 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	610,84 *
Tratamentos	4	122,16 <sup>ns</sup>
Resíduo	92	151,00
Total	99	
CV		16,34%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 14 - Resumo da análise da variância do número de flores abertas em escapos florais de ave-do-paráiso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: ácido ascórbico 2,5 mM, ácido ascórbico 5 mM, ácido ascórbico 7,5 mM, ácido ascórbico 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	0,109 <sup>ns</sup>
Tratamentos	4	0,053 <sup>ns</sup>
Resíduo	12	0,121
Total	19	
CV		19,54%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 15 - Resumo da análise da variância da longevidade das flores abertas em escapos florais de ave-do-paráiso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: ácido ascórbico 2,5 mM, ácido ascórbico 5 mM, ácido ascórbico 7,5 mM, ácido ascórbico 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	0,414 <sup>ns</sup>
Tratamentos	4	0,352 <sup>ns</sup>
Resíduo	12	0,263
Total	19	
CV		10,39%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 16 - Resumo da análise da variância da contagem da população bacteriana em escapos florais de ave-do-paráiso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: ácido ascórbico 2,5 mM, ácido ascórbico 5 mM, ácido ascórbico 7,5 mM, ácido ascórbico 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	2,67 x 10 <sup>11</sup> ns
Tratamentos	4	3,56 x 10 <sup>11</sup> ns
Resíduo	12	2,39 x 10 <sup>11</sup>
Total	19	
CV		212,04%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

ns: não significativo.

Anexo 17 - Resumo da análise da variância do Teor Relativo de Água (%) em flores de ave-do-paráiso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: metabissulfito de sódio 2,5 mM, metabissulfito de sódio 5 mM, metabissulfito de sódio 7,5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	367,10 ns
Tratamentos	4	335,07 ns
Resíduo	92	156,54
Total	99	
CV		16,45%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

ns: não significativo.

Anexo 18 - Resumo da análise da variância do número de flores abertas em escapos florais de ave-do-paráiso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: metabissulfito de sódio 2,5 mM, metabissulfito de sódio 5 mM, metabissulfito de sódio 7,5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	0,109 ns
Tratamentos	4	0,142 ns
Resíduo	12	0,129
Total	19	
CV		21,22%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

ns: não significativo.

Anexo 19 - Resumo da análise da variância da longevidade das flores abertas em escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: metabissulfito de sódio 2,5 mM, metabissulfito de sódio 5 mM, metabissulfito de sódio 7,5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	0,285 <sup>ns</sup>
Tratamentos	4	0,244 <sup>ns</sup>
Resíduo	12	0,477
Total	19	
CV		14,10%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.

Anexo 20 - Resumo da análise da variância da contagem da população bacteriana em escapos florais de ave-do-paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton) em função das soluções pós-colheita: metabissulfito de sódio 2,5 mM, metabissulfito de sódio 5 mM, metabissulfito de sódio 7,5 mM, metabissulfito de sódio 10 mM e água destilada. Viçosa, MG, 2007.

Causas de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Bloco	3	9,77 x 10 <sup>11</sup> *
Tratamentos	4	1,45 x 10 <sup>11</sup> <sup>ns</sup>
Resíduo	12	2,61 x 10 <sup>11</sup>
Total	19	
CV		87,88%

\*: significativo em nível de 5% de probabilidade de erro.

<sup>ns</sup>: não significativo.