Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Conservação pós-colheita de inflorescências de lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cv. Flare Deep Rose

Cristiane Calaboni

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2019

Cristiane Calaboni
Bacharel em Ciências Biológicas

Conservação pós-colheita de inflorescências de lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cv. Flare Deep Rose

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO ALFREDO KLUGE**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Calaboni, Cristiane

Conservação pós-colheita de lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cv. Flare Deep Rose / Cristiane Calaboni. - - Piracicaba, 2019.

82 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Solução de *pulsing* 2. Biorreguladores 3. Carboidratos 4. Qualidade 5. Fisiologia pós-colheita I. Título

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos...

Ao meu marido William Chiarini Deliberali por todo amor, compreenção, companheirismo e apoio nos momentos de dificuldade.

Aos meus pais e irmãos, Sérgio Carlos Calaboni, Sirlei Delatorre Calaboni, Adriane Calaboni e Rodrigo Calaboni por todo amor, carinho e compreensão.

Aos demais familiares e amigos por todo suporte e compreensão pelos momentos de ausência para condução dos experimentos.

Ao Prof. Ricardo Alfredo Kluge pela oportunidade de aprendizado, paciência e suporte, além da grande amizade!

À Profª Claudia Fabrino Machado Mattiuz por toda atenção, carinho, paciência, amizade e também pelo suporte na obtenção das inflorescências.

Ao Prof. Paulo Roberto de Camargo e Castro pelo auxílio na obtenção dos biorreguladores.

Aos queridos amigos do Laboratório de Fisiologia Pós-colheita: Ana Paula Preczenhak, Allan Patrick de Abreu Vieira, Yane Bezerra dos Anjos, Bruna Orsi, Bruna Filipin, Bruna Isadora Trennepohl, Lorena Pierina, Catherine Amorim e Magda Tesmmer. E aos amigos queridos de início de caminhada na pós-colheita: Cleucione Pessoa, Carlos Dornelles Soares, Natália Berno, Jaqueline Vizioni Tezotto Uliana, Luciane Mendes e Juliana Tauffer de Paula.

Aos queridos estagiários pelo auxílio nos experimentos e pela amizade.

À Cooperflora pelo fornecimento das inflorescências, principalmente à Monalisa Flores pela atenção e dedicação.

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

“Senhor, fazei-me instrumento da vossa paz
Onde houver ódio, que eu leve o amor
Onde houver ofensa, que eu leve o perdão
Onde houver discórdia, que eu leve a união
Onde houver dúvida, que eu leve a fé
Onde houver erro, que eu leve a verdade
Onde houver desespero, que eu leve a esperança
Onde houver tristeza, que eu leve a alegria
Onde houver trevas, que eu leve a luz.
Ó mestre, fazei que eu procure mais consolar do que ser consolado
Compreender do que ser compreendido
Amar que ser amado
Pois, é dando que se recebe
É perdoando que se é perdoado;
E morrendo que se vive
Para a vida eterna”.

São Francisco de Assis

SUMÁRIO

RESUMO 6
ABSTRACT 7
1. INTRODUÇÃO 9
REFERÊNCIAS 14
2. BIORREGULADORES NA MANUTENÇÃO PÓS-COLHEITA DE INFLORESCÊNCIAS DE LISIANTHUS (*EUSTOMA GRANDIFLORUM*) 21
RESUMO 21
ABSTRACT 21
2.1. INTRODUÇÃO 22
2.2. MATERIAL E MÉTODOS 23
2.3. RESULTADOS 26
2.4. DISCUSSÃO 31
REFERÊNCIAS 34
3. QUALIDADE FLORAL DE LISIANTHUS APÓS TRATAMENTOS COM BIORREGULADORES 41
RESUMO 41
ABSTRACT 41
3.1. INTRODUÇÃO 42
3.2. MATERIAL E MÉTODOS 43
3.3. RESULTADOS 47
3.4. DISCUSSÃO 53
REFERÊNCIAS 56
4. APLICAÇÃO DE *PULSING* COM ÁCIDO ABSCÍSICO E CARBOIDRATOS NA PÓS-COLHEITA DE LISIANTHUS 61
RESUMO 61
ABSTRACT 61
4.1. INTRODUÇÃO 62
4.2. MATERIAL E MÉTODOS 63
4.3. RESULTADOS 67
4.4. DISCUSSÃO 76
REFERÊNCIAS 79

RESUMO

Conservação pós-colheita de inflorescências de lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cv. Flare Deep Rose

A produção brasileira de flores é um dos segmentos mais promissores do agronegócio atual. O lisianthus configura neste panorama como uma das principais flores de corte. As flores em geral são caracterizadas como produtos de alta perecibilidade devido aos processos fisiológicos intensos que levam à senescência e por isso são extremamente dependentes do manejo pós-colheita adequado. O desenvolvimento de soluções conservantes baseadas nas alterações fisiológicas das plantas é um dos grandes avanços no manuseio das flores de corte. Além disso, as inflorescências de lisianthus apresentam desuniformidade de coloração após a colheita, devido aos botões florais que se abrem com coloração mais clara em relação às demais flores que compõem a haste. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação de solução de *pulsing* com três tipos de biorreguladores na conservação pós-colheita de lisianthus cv. Flare Deep Rose: 6-benzilaminopurina (BAP), ácido giberélico (GA_3) e ácido abscísico (ABA). Além disso, foi avaliada a associação do biorregulador mais eficaz a dois tipos de carboidratos (sacarose e glicose). O ABA foi o mais eficaz na manutenção pós-colheita, tendo mantido a turgescência e retardado a senescência das inflorescências. O GA_3 acelerou o desenvolvimento, reduzindo a vida de vaso, enquanto que o BAP não afetou a longevidade das flores. Porém, o ABA reduziu o acúmulo de antocianinas nas pétalas das flores e botões. A glicose intensificou a tonalidade das inflorescências que abriram após a colheita, enquanto que aquelas tratadas com ABA exibiram tonalidade mais clara. O ABA causou fechamento estomático e produção de superóxido nas pétalas, enquanto a sacarose provocou maior abertura estomática e inibiu a produção de espécies reativas de oxigênio. Assim, a aplicação de ABA pode induzir adaptação ao estresse, como fechamento estomático, porém reduz a coloração das pétalas. A aplicação de glicose pode auxiliar na manutenção da cor dos botões que se abrem após a colheita.

Palavras-chave: Solução de *pulsing*; Biorreguladores; Carboidratos; Qualidade; Fisiologia pós-colheita

ABSTRACT

Postharvest conservation of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cv. Flare Deep Rose

Professional braziliam floriculture is one of the most promising segments of intensive horticulture in current national agribusiness. Lisianthus is an importante cut flower, due to its large inflorescences, long stems and several color of flowers. However, flowers are products of high perishability due to intense physiological processes that cause senescence and therefore and require adequate postharvest techniques. Preservative solutions based on the physiological changes are one of the great advances in flower postharvest. In addition, lisianthus shows nonuniform coloration in buds that open after harvest. The aim of this work was to evaluate the effects of pulsing solutions of three types of plant bioregulators in lisianthus cv. Flare Deep Rose: 6-benzylaminopurine (BAP), gibberellic acid (GA_3) and abscisic acid (ABA). In addition, ally the most effective bioregulator to carbohydrates: glucose and sucrose. ABA was the most effective in postharvest maintenance, it delayed the senescence and turgescence loss, but reduced the accumulation of anthocyanins in flowers and buds. GA3 accelerated development, reducing vase life, while BAP did not affect flower longevity. ABA treatments (with or whitout carbohydrates) caused stomatal closure and superoxide production in the petals, while sucrose showed greater stomatal opening and inhibited production of superoxide. Thus pulsing with ABA may induce adaptation to stress, such as stomatal closure, but reduce the petal color. Glucose pulsing can improve the color of the flower petals that open after harvested.

Keywords: Pulsing solutions; Bioregulators; Carbohydrates; Quality; Postharvest physiology

1. INTRODUÇÃO

A produção brasileira de flores é um dos mais dinâmicos e promissores segmentos do agronegócio contemporâneo, exibindo indicadores de crescimento significativos como: número de produtores, área cultivada e valor bruto de produção (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). No Brasil existem 8.248 produtores de flores e plantas ornamentais distribuídos em 14.992 hectares, em propriedades com tamanho médio de 1,8 hectares, onde são produzidas mais de 350 espécies e mais de três mil variedades. O faturamento em 2016 foi de R$ 6,7 bilhões, o que representa crescimento na ordem de 8% (IBRAFLOR, 2017).

A distribuição da área cultivada com flores e plantas no Brasil é de 50,4% para mudas; 13,2% para flores envasadas; 28,8% para flores de corte; 3,1 % para folhagens em vaso; 2,6% para folhagens de corte e 1,9% para outros produtos da floricultura (JUNQUEIRA; PEETZ, 2013). Dentre as principais espécies comercializadas no país no segmento de flores de corte destacam-se as rosas, crisântemos, lisianthus e gérberas. O consumo médio per capita nacional é de R$ 26,68 , onde as plantas ornamentais direcionadas para paisagismo e jardinagem são responsáveis por 48,6% desse valor. Em seguida estão as flores de corte com 29,9%, flores e plantas envasadas com 20% e folhagens de corte com 1,5% (LIMA JUNIOR et al., 2015).

Estes índices ainda são considerados baixos em relação ao consumo per capita dos países com mercados mais desenvolvidos (JUNQUEIRA; PEETZ, 2013). Porém, nos últimos anos a floricultura brasileira cresceu em média de 8-10% ao ano e de 12-15% na quantidade de produtos ofertados no mercado (SEBRAE, 2016). O crescimento expressivo neste setor tem sido atribuído à evolução de indicadores socioeconômicos, a melhorias na cadeia de distribuição dos produtos e a expansão da cultura de consumo de flores e plantas como expoentes da qualidade de vida.

O lisianthus foi introduzido primeiramente no Japão em 1933, embora tenha sua origem nos Estados Unidos, onde foi introduzido comercialmente pela Sakata Seed Company no começo da década de 80 (HARBAUGH, 2007). No Brasil foi introduzido, também, na década de 80, porém apresentou destaque na produção nacional somente a partir da década de 90 (SALVADOR, 2000; CAMARGO et al., 2004).

Pertencente à família Gentianaceae foi catalogado nos anos 80 como *Lisianthus russellianus*, mas logo foi reclassificado cientificamente como *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn (syn. *E. andrewsii*, *E. russellianum*, *L. russellianun*) (HARBAUGH, 2007).

E. grandiflorum é uma espécie herbácea bienal quando em cultivo natural, as flores se formam no início da primavera e início do verão (LORENZI; SOUZA, 2008; BACKES, 2004). A planta apresenta inflorescência paniculada determinada, com uma única flor por pedúnculo floral (BAILEY, 1950). As flores são grandes (diâmetro entre 6 e 9 cm), em forma de sino, de pétalas simples ou dobradas, apresentam textura acetinada de coloração branca, amarela, róseas, roxas e esverdeadas, também apresentam cultivares bicolores, além de mesclas e tonalidades intermediárias, podem ser produzidas de 20 a 40 flores por planta. As cultivares destinadas ao corte devem apresentar hastes com comprimento médio entre 50 e 70 cm e folhas ovais e oblongas de coloração verde acinzentada. (BACKES, 2004; BACKES et al., 2007; MEJIA, 2009).

As flores em geral são caracterizadas como produtos de alta perecibilidade, devido à natureza efêmera dos tecidos e pelos processos fisiológicos intensos, assim, têm sua qualidade extremamente dependente do manejo pós-colheita adequado (NOWAK; RUDINICKI, 1990). Alterações bioquímicas, fisiológicas e estruturais ocorrem após a colheita, levando ao processo de desorganização e desagregação dos tecidos e órgãos, tais processos promovem a senescência que é de natureza irreversível (FINGER et al., 2003).

A senescência compreende os processos que dão sequência à maturidade fisiológica levando a morte da planta como um todo, órgão ou tecido a um nível macroscópico, envolvendo a expressão de genes altamente regulados e a presença de mecanismos combinados de degradação celular (YAMADA et al., 2007; SHAHRI; TAHIR, 2014). Mayak (1987) sugere a seguinte sequência de eventos, que ocorrem durante a senescência: alterações nas membranas celulares; elevação da produção de etileno; aumento da respiração; perda de permeabilidade e como consequência, o extravasamento de íons e redução da massa fresca devido à grande perda de água.

O período entre a maturidade e a senescência é menor nas pétalas em relação às folhas, (HALEVY; MAYAK, 1979) e seus efeitos depreciam as hastes. A senescência é caracterizada principalmente pelo aumento dos níveis de ácido abscísico (ABA) e redução de giberelinas. Inicia-se nos órgãos florais assim que as flores se abrem e é um processo altamente regulado que finaliza ao atingir a morte celular programada. Além disso, são características deste processo a produção de espécies reativas de oxigênio – ROS (ROGERS, 2012) e as alterações nos níveis de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos relacionados à eliminação de ROS (PRICE et al., 2008).

A variabilidade genética confere características próprias a cada cultura, de forma que os sintomas da senescência e a máxima duração de vida de vaso podem variar muito entre

espécies e cultivares (REID, 1992; VAN DOORN; DE WITTE, 1999). De maneira geral, a longevidade das flores cortadas é influenciada por fatores ambientais e endógenos, de natureza tanto pré como pós-colheita, destacando-se o estádio de desenvolvimento da flor durante a colheita, a nutrição e a disponibilidade de carboidratos de reserva (KADER, 2002).

As perdas são reflexo, principalmente, da inadequada condução e manuseio, transporte não apropriado, deterioração causada por microrganismos, uso inadequado de embalagens e deficiência na infraestrutura. Isto, também se deve à grande fragilidade das flores, principalmente das pétalas, pois não possuem proteção suficiente de cutícula e assim estão sujeitas a perda de água (CAVASINI, 2013).

A excessiva perda de água por transpiração causa murchamento das flores e limita a longevidade das hastes (VAN DOORN; WITTE, 1991). O turgor de um órgão vegetal é resultado do balanço entre a tendência de perder água por transpiração e a capacidade de drenar a água para as células. Após a colheita, esse equilíbrio é rompido, causando déficit hídrico permanente, com perda gradual da turgidez dos tecidos e consequências drásticas na qualidade do produto (BOROCHOV et al., 1982). Por isso, o aumento da vida de vaso das flores de corte está geralmente associado com os altos níveis de hidratação dos tecidos (MUÑOZ et al., 1982).

Os diversos fatores envolvidos na senescência e no estresse levam a uma série de mudanças no metabolismo fisiológico, assim como nos processos de desorganização celular, gerando aumento na quantidade de ROS. Estas são subprodutos do metabolismo do oxigênio e causam danos oxidativos nos lipídios, proteínas, entre outros, formando produtos tóxicos que afetam severamente as membranas celulares (SHIGEOKA et al., 2002).

A produção de enzimas antioxidantes pelas plantas diminui os danos provocados pelo excesso de ROS, interagindo direta ou indiretamente em vários processos fisiológicos, catalisando a oxidação de substratos como fenóis, aminas e certos compostos heterocíclicos como ácido ascórbico na presença de H_2O_2 (SCANDALIOS, 1993; JIN et al, 2006).

As enzimas antioxidativas atuam reduzindo as espécies reativas de oxigênio. (RABABAH et al., 2011). Algumas delas estão envolvidas no processo de escurecimento, tais como a polifenoloxidase (PPO), a qual age na oxidação de compostos fenólicos na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (TEREFE et al., 2014). Acredita-se que a PPO é um promotor da atividade da peroxidase (POD), uma vez que o peróxido é gerado como subproduto durante a oxidação dos substratos fenólicos pela PPO (TOMAS-BARBERAN; SPIN, 2001).

Os compostos fenólicos são produzidos pelo metabolismo secundário dos vegetais e têm função antioxidante devido à presença de hidroxilas e anéis aromáticos em sua estrutura química. Apesar dos compostos fenólicos apresentarem função de proteção contra as espécies reativas de oxigênio, que causam peroxidação dos lipídios, esta reação resulta em quinonas polimerizadas que propiciam o escurecimento de produtos hortícolas (DE MARTINO et al., 2006).

A aplicação de técnicas para prolongar a durabilidade das flores é de grande importância, tal como o emprego de soluções conservantes que mantêm a qualidade e prolongam a vida de vaso das hastes. Estas soluções podem fornecer substrato energético, antioxidante, hidratação dos tecidos, ação antimicrobiana, já que a colheita da flor interrompe o fornecimento de água, substratos respiratórios e outros elementos (De PIETRO, 2009).

O desenvolvimento de soluções conservantes baseadas nas alterações fisiológicas das plantas é um dos grandes avanços no manuseio das flores de corte (De PIETRO, 2009). Segundo Halevy e Mayak (1981), existem quatro tipos de soluções que podem ser utilizadas de acordo com o objetivo de seu uso: fortalecimento (*pulsing*), manutenção, indução de abertura floral e condicionamento.

As soluções de *pulsing* são consideradas um tratamento rápido antes do transporte ou armazenamento que prolonga a vida das flores, mesmo após a transferência para água ou para soluções de manutenção. O tratamento de *pulsing* é um procedimento que hidrata e nutre os tecidos florais utilizando-se, para este fim, açúcares e outros compostos químicos (HALEVY; MAYAK, 1981).

Os carboidratos são a principal fonte de carbono para as flores e a principal fonte de energia necessária para a manutenção de todos os processos bioquímicos e fisiológicos após a separação da planta mãe. Por isso a sacarose, e outros açúcares, são compostos muito utilizados para prolongar a longevidade das hastes (MATTIUZ, 2003).

Os açúcares possuem funções muito importantes como: redução do ponto de congelamento e sensibilidade dos tecidos às injúrias ao frio; auxílio no fechamento estomático (HALEVY; MAYAK, 1981); retardo da degradação de proteínas, lipídios, ácidos nucléicos; manutenção da integridade das membranas, da estrutura e função mitocondrial; inibição da produção e ação do etileno; e manutenção do balanço hídrico (NOWAK et al., 1991). O principal efeito da sacarose é atuar como substrato respiratório, mantendo o nível de carboidratos e reduzindo ou evitando a proteólise (MAROUSKY, 1972). Assim, o conteúdo desses substratos respiratórios pode indicar a vida potencial da flor cortada a uma determinada temperatura (NICHOLS, 1973). Apesar de vários trabalhos evidenciarem os resultados

benéficos do uso de sacarose em soluções conservantes para flores de corte, em lisianthus altas concentrações causaram clorose nas folhas e necrose próximo às nervuras (SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA 2007, 2009).

A aplicação de biorreguladores na pós-colheita de flores têm se tornado alternativa eficaz na manutenção das hastes, devido aos seus efeitos no metabolismo, os quais auxiliam na longevidade das inflorescências. A citocinina sintética 6-benzilaminopurina (BAP) retardou a senescência de flores cortadas de dália e mostrou ser mais eficiente que o 1-metilciclopropeno (1-MCP), um inibidor da ação do etileno (SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2013). O papel da citocinina no retardo da senescência ainda não está totalmente elucidado, é provável que esta possua um papel complexo no retardo da senescência, provavelmente agindo em diferentes processos (HUANG; CHEN, 2002) como alterações fisiológicas, bioquímicas e estruturais que ocorrem após a colheita (FINGER et al., 2003).

As giberelinas (GAs) desempenham funções importantes no metabolismo das flores, pois atuam desde a transição para o florescimento até o desenvolvimento floral. Entretanto, a giberelina mais importante é o ácido giberélico (GA_3), sendo este produzido e aplicado comercialmente (TAIZ; ZEIGER, 2013). O tratamento com GA_3 apresentou retardo de senescência em flores cortadas de Gladiolus (SING et al., 2008). Em gérbera, o GA_3 aumentou a quantidade de açúcares redutores nas flores e caules, reduzindo o potencial osmótico, o que contribuiu para absorção de água e manutenção da turgescência das hastes, além de reduzir a transpiração (EMONGOR, 2004). Em lisianthus, a interação sinérgica entre BAP e GA_3 retardou a senescência relacionada ao estresse hídrico, manifestado através do *bent-neck* e murchamento de pétalas (MUSEMBI et al., 2015).

O ABA, embora seja um biorregulador vegetal relacionado à senescência, pode ser utilizado na conservação de flores de corte quando utilizado em baixas concentrações. Associado à sacarose através de solução de *pulsing* causou efeito preservativo em hastes cortadas de lírio ‘Sorbonne’, aliviou os sintomas de clorose e aumentou significativamente o peso fresco das hastes (GENG et al., 2015a; GENG et al., 2015b). Segundo Geng et al. (2015a), o ABA atrasou a degradação de proteínas e promoveu a atividade de enzimas antioxidantes, diminuindo os danos celulares causados pelas espécies reativas de oxigênio.

Efeitos benéficos da aplicação conjunta de sacarose e ABA foram observados na qualidade pós-colheita de lisianthus cv. Mira Coral, houve atraso no murchamento das folhas, redução de danos foliares e aumento da longevidade floral (SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2009; SHIMIZU-YUMOTO et al., 2010) . Os autores relatam que a redução da

transpiração foi resultante do efeito do ABA na abertura estomática e o aumento da longevidade das hastes foi devido à translocação de carboidratos endógenos para as flores e botões de lisianthus. Segundo Shimizu-Yumoto e Ichimura (2009), hastes de lisianthus 'Mira Coral' tratadas com solução de pulsing, contendo ABA associado à sacarose, apresentaram atraso no murchamento das folhas e redução nos danos foliares.

Após a colheita de flores, os processos fisiológicos e os fatores ambientais adversos aceleram sua deterioração. Entretanto, o aumento da vida útil pode ser obtido com a utilização adequada de tecnologias de conservação (SONEGO; BRACKMANN, 1995). Embora o lisianthus apresente importante posição no mercado de flores brasileiro, os estudos pós-colheita desta espécie ainda são incipientes, tornando-se necessário o desenvolvimento de técnicas de conservação que possibilitem a manutenção da qualidade das flores.

Diante desses aspectos, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes tratamentos pós-colheita para manutenção da qualidade e da longevidade lisianthus 'Flare Deep Rose', Assim, os objetivos específicos foram avaliar a influência dos biorreguladores na conservação e fisiologia pós-colheita de inflorescências de lisianthus. Avaliar o efeito do biorregulador mais eficaz conjuntamente a dois tipos de carboidratos (glicose e sacarose).

Referências

BACKES, F. A. A. L. **Cultivo de lisianto (*Eustoma grandiflorum* (raf.) shinners) para corte de flor em sistemas convencional e hidropônico**. 2004. 118p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

BACKES, F. A.; BARBOSA, J.G.; CECON, P. R.; G, J. A.; BACKES, R. L., FINGER, F. L.. Cultivo hidropônico de lisianto para flor de corte em sistema de fluxo laminar de nutrientes. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v. 42, n. 11, p. 1561 – 1566, 2007.

BAILEY, L. H. 1950. *Eustoma*. In: Bailey, L. H**. The standard encyclopedia of horticulture**. New York: Macmillan. 1950, p. 1176.

BOROCHOV, A.; MAYAK, S.; BROUN, R. The envolviment of water stress and ethylene of cut carnation flowers. **Journal of Experimental Botany**, v.33, n.137, p.1202-1209, 1982.

CAMARGO, M.S.; SHIMIZU, L.K.; SAITO, M.A.; KAMEOKA, C.H.; MELLO, S.C.; CARMELLO, Q.A.C. Crescimento e absorção de nutrientes pelo lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cultivado em solo. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.1, p.143-146, 2004.

CAVASINI, R. Inibidores de etileno na pós-colheita de lisianthus. 2013. 93f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2013.

DAS, P.K.; SHIN, D.H.; CHOI, S. B.; PARK, Y.I. Sugar-hormone cross-talk in anthocyanin biosynthesis. **Molecules and Cells**, v.34, p.501-507, 2012.

DE MARTINO, G.; VIZOVITS, K.; BOTONDI, R.; BELLINCONTRO, A.; MENCARELI, F. 1-MCP controls ripening induced by impact injury on apricots by affecting SOD and POX activity. **Postharvest and Biology Technology**, v. 39, n.1, p.38-47, 2006.

DE PIETRO, J. de. **Fisiologia pós-colheita de rosas cortadas cv. Vega**. 2009. 125 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

EMONGOR,V.E. Effects of gibberellic acid on postharvest quality and vase life of gerbera (*Gerbera jamesonii*) . **Journal of Agronomy**, n.3, v.3, p.191-195, 2004.

FINGER, F.L.; BARBOSA, J.G.; GROSSI, J.A.S.; MORAES, P.J. **Colheita, classificação e armazenamento de inflorescência**. In: BARBOSA, J.G. (Ed.). Crisântemos. Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 2003, p. 123-140.

GENG, X. M.; LI, M.; LU, L.; OKUBO, H.; OZAKI, Y. ABA improves postharvest quality of cut *Lilium* "Sorbonne" harvested in late period. **Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University**, v.60, n.1, p.81-86, 2015a.

GENG, X. M.; LIU, J.; LI, M.; OKUBO, H.; OZAKI, Y. Pulsing treatment of abscisic acid and sucrose for improving postharvest quality of cut lily flowers. **Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University**, v.60, n.1, p.87-92, 2015b.

HALEVY, A.H.; MAYAK, S. Senescence and postharvest physiology of cut flowers. **Horticultural Review**, v.1, p.204-236, 1979.

HALEVY, A.H.; MAYAK, S. Senescence and postharvest physiology of cut flowers. **Horticultural Reviews**, v.3, p.59-143, 1981.

HARBAUGH, B.K. Lisianthus: *Eustoma grandiforum*. In: ANDERSON, N.O. **Flower Breeding and Genetics: Issues, challenges and Opportunities**. Netherlands: Springer, 2007, p.644-663.

HUANG, K.L.; CHEN, W.S. BA and sucrose increase vase life of cut *Eustoma* flowers. **HortScience,** v.37, n.3, p.547-549, 2002.

IBRAFLOR. **O mercado de flores no Brasil**. 2017. Disponível em <http://www.ibraflor.com/site/wp-content/uploads/2017/11/release-imprensa-ibraflor-10-2017.pdf> Acesso em: 01 dez. 2018.

JIN, J. ;SHAN, N.; MA, N.; BAI, J.; GAO, J. Regulation of ascorbate peroxidase of the transcript level is envolved in tolerance to postharvest water deficit stress in the cut rose (Rosa hybrida L.) cv. Samantha. **Postharvest Biology and Technology**, n.40, v.3, p.236-243, 2006.

JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.20, n.2, p.115-120, 2014.

JUNQUEIRA, H.A.; PEETZ, M.S. **Balanço da floricultura brasileira em 2013**. Jornal Entreposto, São Paulo, 2013. Disponível em: < http://www.hortica.com.br>. Acesso em: 29 nov.2018.

KADER, A. A. **Postharvest Technology of Horticultural Cro**ps. University of California Agriculture and Natural Resources, 2002. 535p.

LIMA JUNIOR, J.C.; NAKATANI, J.K.; NETO, L.C.M.; LIMA, L.A.C.V.; KALAKI, R.B.; CAMARGO, R.B. **Mapeamento e quantificação da cadeia de flores e plantas ornamentais de Brasil.** 2015. Disponível em: < http://www.ibraflor.com/site/wp-content/uploads/2017/10/diagnostico-do-setor.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2018.

LORENZI, H.; SOUZA, V.C. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas do Brasil, baseado em APGII**. 2ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MAROUSKY, F.J. Influence of storage temperatures, handling and floral preservatives on postharvest quality of Gypsophila. Florida **State Horticultural Society**, v.85, p.419-422, 1972.

MATTIUZ, C.F.M. **Fisiologia pós-colheita de inflorescências de *Alpinia purpurata* (VIEILL) K. Schum**. 2003. 124p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

MAYAK, S. Senescence of cut flowers. **HortScience**, v.22, n.5, p.863-865, 1987.

MEJIA, D. J. N. **Inducción floral em plantas ornamentales com ácido salicílico**. San Nicolás de Hildalgo: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hildalgo. 2009. 68p.

MUÑOZ, C.E.; DAVIS, F.S; SHERMAN, W.B. Hydraulic conductivity and ethylene production in detached flowering peach shoots. **HortScience**, v. 71, n.5, p. 226-228, 1982.

MUSEMBI, N.N.; HUTCHINSON, M.J; WAITAKA, K. The effects of 6-benzylaminopurine and gibberellic acid on postharvest physiology of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) flowers: I. Novel synergism improves water balance and vase life. **Acta Horticulturae**, n.1077, p.47-56, 2015.

NICHOLS, R. **Senescence and sugar status of the cut flowers**. In: Symposium on Postharvest Physiology of cut flowers 41. 1973. p.21-30.

NOWAK, J.; RUDNICKI, R.M. **Postharvest handling and storage of cut flowers, florest greens and potted plants.** Portland: Timber Press, 1990. 210p.

NOWAKI, J.; GOSZCYNSKA, D.M.; RUDNICKI, R.M. Storage of cut flowers and ornamental plants: present status and future prospects. **Postharvest News and Information**, v.2, n.4, p.255 – 260, 1991.

PRICE, R.K.; WELCH, R.W.; LEE-MANION, A.M.; BRADBURY, I.; STRAIN, J.J. Total phenolics and antioxidant potential in plasma and urine of human after consumption of wheat bran. **Cereal Chemistry**, v. 85, n.2, p.152-157, 2008.

RABABAH, T. M.; MAHASNEH, M. A.; KILANI, I.; YANG, W.; ALHAMAD, M.; EREIFEJ, K.; DATT, M. A. Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity and anthocyanins of different fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 1096–1102, 2011.

REID, M. S. **Postharvest handling systems: ornamental crops**. In: Kader, A. A. Postharvest Technology of Horticultural Crops. Oakland: University of California, v. 22, p. 201-209, 2002.

ROGERS, H.J. Is there an important role for reactive oxygen species and redox regulation during floral senescence? **Plant, Cell & Environment**, v.35, p.217-233, 2012.

SALVADOR, E.D. **Caracterização física e formulação de substrato de algumas espécies ornamentais**. 2000. 148f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant physiology**, v. 101, n. 1, p. 7, 1993.

SEBRAE. **O Mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais**. 2016. <www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-mercado-brasileiro-de-flores-e-plantas-ornamentais> Acesso em 14 maio 2019.

SHAHRI, W.; TAHIR, I. Flower senescence: some molecular aspects. **Planta**, v.239, p.277-297, 2014.

SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YAKUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, v.53, n.372, p.1305-1319, 2002.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; ICHIMURA, K. Abscisic acid, in combination with sucrose, is effective as a pulse treatment to supress leaf damage and extend foliage vase-life in cut

Eustoma flowers. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v.85, n.1, p.107-111, 2009.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; ICHIMURA, K. Effect of relative humidity and sucrose concentration of leaf injury and vase-life during sucrose pulse treatment in cut *Eustoma* flowers. **Horticultural Research**, v.6, p. 301-305, 2007.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; ICHIMURA, K. Postharvest characteristics of cut dahlia flowers on ethylene and effectiveness of 6-benzylaminopurine treatments in extending vase life. **Postharvest Biology and Technology**, v.86, p. 479-486, 2013.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; KONDO, M.; SANOH, Y.; OHSUMI, A.; ICHIMURA, K. Effect of abscisic acid on the distribution of exogenous carbon derived from sucrose applied to cut *Eustoma* flowers. **Journal of Horticultural Science & Technlogy**, v.85, n.1, p.83-87, 2010.

SING, A.; KUMAR, J.; KUMAR, P. Effects of plant growth regulators and sucrose on postharvest physiology, membrane stability and vase life of cut spikes of gladiolus. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.55, p.221-229, 2008.

SONEGO, G.; BRACKMANN, A. Conservação pós-colheita de flores. Ciência Rural, v.25, n.03, p.473-479, 1995.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2013.

TEREFE, N. S.; BUCKOW, R.; VERSTEEG, C. Quality related enzymes in fruit and vegetable products: effects of novel food processing technologies, part 1: highpressure processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutriticion**, v. 54, p. 24–63, 2014.

TOMAS-BARBERAN, F.A.; ESPIN, J.C.; Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 81, pag. 853–876. 2001.

VAN DOORN, W.G.; DE WITTE, Y. Effect of dry storage on bacterial counts in stems o cu rose flowers. **HortScience**, v.26, n.12, p.1521-1522, 1991.

VAN DOORN, W. G.; WITTE, Y. D. Sources of the bacteria involved in vascular occlusion of cut rose flowers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.2, n.122, p.263-266, 1999.

YAMADA, T.; ICHIMURA, K.; KANEKATSU, M.; van DOORN, W.G. Gene expression in opening and senescing petals of morning glory (*Ipomoea nil*) flowers. **Plant Cell Reports**, v.26, p.823-835, 2007.

ZHANG, C.; FU, J.; WANG, Y.; GAO, S.; DU, D.; WU, F.; GUO, J.; DONG, L. Glucose supply improves petal coloration and anthocyanin biosynthesis in *Peonia suffruticosa*

“Luoyang Hong” cut flowers. **Postharvest Biology and Technology**, v. 101, p. 73-81, 2015.

2. BIORREGULADORES NA MANUTENÇÃO PÓS-COLHEITA DE INFLORESCÊNCIAS DE LISIANTHUS (*Eustoma grandiflorum*)

RESUMO

O lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) é uma das mais importantes flores de corte, entretanto os sintomas de senescência depreciam as inflorescências após a colheita, reduzindo a vida de vaso e a qualidade comercial. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de biorreguladores na manutenção pós-colheita de lisianthus cv. Flare Deep Rose, aplicados em solução *pulsing* de 24 horas. Foram aplicados 70 µM de 6-benzilaminopurina (BAP), 5 µM de ácido giberélico (GA_3), 10 µM de ácido abscísico (ABA) e água destilada como controle. As análises foram realizadas antes da montagem do experimento (dia 0) e a cada quatro dias para avaliação dos aspectos visuais (turgescência e desenvolvimento floral), assim como para a determinação do teor dos açúcares totais, açúcares redutores e taxa respiratória. O BAP não interferiu na manutenção pós-colheita das inflorescências. O ABA apresentou maior turgescência e atraso da senescência até o último dia de armazenamento (12º dia). O GA_3 acelerou a senescência das inflorescências. Apesar deste tratamento ter apresentado resultado satisfatório até o 8º dia de análise nos parâmetros visuais, as hastes perderam a qualidade decorativa no 12º dia. Houve aumento na taxa respiratória nos tratamentos com ABA e GA_3, sendo que o GA_3 apresentou a maior taxa no último dia de análise. Houve variação no teor de açúcares totais entre os tratamentos, sendo que o ABA apresentou o maior teor ao final dos 12 dias de armazenamento. Todos os tratamentos apresentaram redução dos açúcares redutores e no último dia não apresentaram diferenças entre si. Dessa forma, o tratamento com ABA auxilia na manutenção da turgescência das inflorescências, promove a abertura de botões e proporciona maior longevidade floral.

Palavras-chave: Ácido abscísico; Ácido giberélico; 6-benzilaminopurina

ABSTRACT

Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) is an important cut flower, however symptoms of senescence depreciate the inflorescences after harvesting, decreasing vase life and commercial value. This work aimed to evaluate the effects of bioregulators on postharvest maintenance of lisianthus cv. Flare Deep Rose, in pulsing solutions for 24 hours. The experiment consisted of 6-benzyaminopurine 70 µM (BAP), gibberellic cid 5 µM (GA_3) , abscísico acid 10 µM (ABA) and destilled water. In this experiment turgescence, floral opening and development were monitored from grading scales, and were evaluated total sugar contents, reducing sugars and respiratory rate. ABA treatments showed higher turgescence and delayed the senescence until 12th day of storage. GA_3 maintained the visual quality on the 8th days, but he flowers showed loss of quality on the 12th days and

they were discarded. Flowers treated with ABA and GA_3 caused respiratory rate enhancement, but GA_3 showed higher respiratory rate on the 12th days. ABA showed higher total sugar content on the 12th days, and all the treatments caused decrease of reducing sugar contents. Thus, pulsing solution with ABA maintain the turgescence of the inflorescences promotes bud opening and provide great floral longevity.

Keywords: Abscisic acid; Gibberellic acid; 6-benzylaminopurine

2.1. Introdução

O lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) é uma importante flor de corte no mercado nacional, foi introduzida no Brasil na década de 80, entretanto despertou interesse dos produtores e consumidores somente a partir da década de 90 (CAMARGO et al., 2004; JUNQUEIRA; PEETZ, 2013). Sua grande popularidade se deve à beleza de suas inflorescências e variedade de cores (CHUANG; CHANG, 2013; ZHOU et al., 2014). Além disso, as inflorescências são grandes com hastes longas o que confere fácil manuseio, sendo estas muito utilizadas em arranjos florais.

Entretanto, as flores são produtos de alta perecibilidade devido à natureza efêmera dos tecidos, onde os processos fisiológicos ocorrem de forma intensa e por isso as flores perdem seu valor comercial em um curto período de tempo após a colheita (NOWAK; RUDNICKI, 1990). A senescência é a principal causa de depreciação das flores, cujos sintomas surgem logo após o corte e são evidenciados pela perda de água (murchamento), perda de cor e brilho das flores (DIAS, 2016).

A senescência envolve a expressão de genes altamente regulados e a presença de mecanismos combinados de degradação celular (YAMADA et al., 2007; SHAHRI; TAHIR, 2014). Como resultado deste processo, os tecidos senescentes apresentam perda de água, geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), peroxidação lipídica e perda da permeabilidade de membrana, assim como hidrólise de proteínas, ácidos nucléicos, lipídeos e carboidratos (TRIPATHI; TUTEJA, 2007).

Diante disso, torna-se necessária a utilização de tecnologias pós-colheita que garantam o retardo da senescência e dos sintomas característicos que depreciam as inflorescências levando ao descarte, gerando grandes perdas pós-colheita e prejuízo aos produtores. A utilização de soluções conservantes baseadas na fisiologia pós-colheita das inflorescências é uma alternativa eficaz para manutenção da qualidade e redução dos efeitos da senescência (NOWAK; RUDNICKI, 1990). A solução de *pulsing* é uma solução

conservante de tratamento rápido que pode ser aplicado antes das hastes serem transportadas, prolongando a vida de vaso mesmo depois de serem transferidas para água. Trata-se de um procedimento que garante hidratação e nutrição dos tecidos florais, para tanto diversos compostos podem ser utilizados nessas soluções, como açúcares, ácidos orgânicos, antioxidantes, inibidores de etileno e/ou hormônios vegetais como citocininas, GA_3, auxinas e ABA (HALEVY; MAYAK, 1981; CASTRO, 1984).

A utilização de biorreguladores em soluções de *pulsing* têm mostrado efeitos benéficos na manutenção pós-colheita de flores devido a diversas funções nos processos fisiológicos e estruturais das inflorescências. A aplicação exógena de BAP provocou atraso na senescência em flores de corte de vários gêneros, como *Eustoma* (HUANG; CHEN, 2002; KARIMI; ASIL, 2010), flor de lótus *Nelumbo* (CHATHURY; SARANANDA, 2011) e *Dahlia* (SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2013).

O tratamento pós-colheita com GA_3 se mostrou eficiente no retardo da senescência de hastes de gladíolos (SING et al., 2008) e reduziu o potencial osmótico e a transpiração das hastes de gérbera (EMONGOR, 2004). Hastes de lisianthus cv. Mira Coral tratadas com solução *pulsing* com ABA, associada à sacarose, apresentaram atraso no murchamento das folhas e redução nos danos foliares (SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2009).

Sendo assim, sabe-se que os biorreguladores alteram o metabolismo dos açúcares nas flores de corte e os carboidratos endógenos auxiliam na manutenção da respiração e turgescência, contribuindo para longevidade das hastes. Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos da aplicação de biorreguladores (BAP, GA_3 e ABA) em solução *pulsing* na manutenção pós-colheita de lisianthus cv. Flare Deep Rose.

2.2. Material e Métodos

2.2.1. Material vegetal e tratamentos

As hastes de lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cv. Flare Deep Rose foram obtidas de produção comercial da empresa “Monalisa Flores”, localizada no município de Paranapanema, SP (23º23'19"S e 48º43'22"W, altitude: 610 m). As hastes foram colhidas quando apresentavam de duas a três flores abertas e foram transportadas para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita no Departamento de Ciências Biológicas, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, em Piracicaba (SP). No laboratório, as hastes foram padronizadas em 50 cm de comprimento e as folhas dos primeiros

15 cm da parte inferior do caule foram retiradas, em seguida foram aleatorizadas para a aplicação dos tratamentos.

Os tratamentos consistiram de três tipos de biorreguladores e foram aplicados através de solução de *pulsing*, por 24 horas. As dose de BAP 70 µM (6-benzylaminopurina Sigma-Aldrich) e GA_3 5 µM (≥ 90% A3 Sigma- Aldrich) foram determinadas como doses adequadas para manutenção pós-colheita de lisianthus por Musembi et al. (2015) e de ABA 10 µM (≥ 98,5% Nº CAS 14375-45-2 Sigma-Aldrich) por Shimizu-Yumoto et al. (2010). Assim, os tratamentos foram: 1 - controle (água destilada); 2 - 70 µM BAP; 3 – 5 µM GA_3; 4 – 10 µM ABA.

Após a aplicação dos tratamentos, as hastes foram mantidas em solução de água destilada e dicloroisocianurato de sódio em concentração de 0,25% (StartClor®), que foi substituída a cada dia de análise. As hastes foram armazenadas a 20°C e umidade relativa de 80±2%. O monitoramento da qualidade das hastes foi realizado a cada quatro dias, até o décimo segundo dia de armazenamento, que correspondeu ao fim da vida útil, quando as hastes apresentavam qualidade inviável para comercialização. Para a determinação da inviabilidade comercial foi fixado um padrão de 50% das flores apresentando murcha e/ou sintomas de senescência. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (4 soluções de *pulsing* X 4 dias de armazenamento) com três repetições de quatro hastes cada, exceto para a taxa respiratória onde foram utilizadas quatro repetições com quatro hastes cada. Para as análises bioquímicas foram utilizadas somente as flores que apresentavam abertura completa desde primeiro dia de análise (D0), sendo desconsideradas aquelas que abriram durante o período de armazenamento. As amostras de pétalas foram coletadas, congeladas em nitrogênio líquido, liofilizadas, moídas e armazenadas a -20°C, para posteriores análises bioquímicas.

2.2.2. Análises Visuais

As análises visuais foram feitas nos dias de avaliação, através de atribuições de notas que se iniciaram no dia de colheita das hastes e continuaram até o encerramento da vida decorativa, ou seja, quando estas se apresentarem inviáveis para comercialização. Para determinação da inviabilidade comercial foi fixado um padrão onde 50% das flores da haste estiverem murchas. Os aspectos qualitativos foram definidos de acordo com os seguintes critérios e respectivas atribuições de notas: Turgescência: (1) Murcha; (2) Levemente Murcha e (3) Túrgida.

As hastes de lisianthus são compostas por botões (em diversas fases de desenvolvimento), antese floral e por flores abertas. Foram quantificados os botões que estavam em fase de desenvolvimento adequada para abertura completa e estes foram acompanhados juntamente com as flores que se encontravam abertas no momento da colheita. E os aspectos qualitativos citados abaixo foram definidos através da atribuição das seguintes notas: Desenvolvimento das flores: (1) Botão; (2) Início Antese; (3) Abertura Total e (4) Flores Senescentes.

2.2.3. Taxa Respiratória

O monitoramento da taxa respiratória das inflorescências foi realizado por cromatografia gasosa. A evolução do CO_2 foi determinada colocando-se três hastes, mantidas em vasos de acrílico contendo 500 mL de água, em um recipiente hermético, durante 1 hora. Após este período, uma amostra de 0,5 mL de cada um dos recipientes foi retirada e injetada em cromatógrafo a gás (Thermofinigan, modelo Trace GC Ultra), equipado com detector de ionização por chama (FID) e coluna de aço inox de 1/8” e 4,0 m de comprimento, preparada com Porapak N 50/80. As temperaturas da coluna, injetor e detector foram 110, 140 e 200 ºC, respectivamente, com hidrogênio como gás de arraste a um fluxo de 25 mL min^{-1}. A taxa respiratória foi expressa em mL de CO_2 por kg de massa fresca por hora (mL CO_2 kg^{-1} h^{-1}).

2.2.4. Teor de Açúcares Totais

Para extração dos açúcares foram utilizados 5 mg de amostra de pétalas em 5 mL de etanol 80 %, agitados em vórtex e levadas ao banho-maria à 60ºC, por 30 minutos. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 6440 x *g* (Jouan BR4i, Paris, França) por 5 minutos e o sobrenadante foi coletado. Para completa extração dos açúcares da amostra os procedimentos foram repetidos, combinando-se os sobrenadantes. Após isso, etanol 80% foi adicionado de modo a completar o volume do extrato para 10 mL.

A quantificação do teor de açúcares totais foi realizada de acordo com a metodologia fenol-sulfúrico de Dubois et al. (1956). Para a reação, acrescentou-se 100 µL de extrato, 900 µL de água destilada, 500 µL de fenol 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico P.A. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 490 nm (Biochrom Libra S22 UV-Vis, Cambrige, UK) e os resultados foram expressos em mg de glicose g^{-1} de massa seca.

2.2.5. Teor de Açúcares Redutores

Para a análise de açúcares redutores utilizou-se o mesmo extrato de açúcares totais. O ensaio foi realizado seguindo a metodologia de Somogyi-Nelson (Nelson, 1944), com modificações. Foram adicionados 80 µL de extrato e 160 µL de solução de Somogyi-Nelson I. Após agitação, os tubos foram levados ao banho-maria em ebulição por 6 minutos, sendo então resfriados em banho de gelo por 5 minutos. Acrescentou-se 160 µL de Somogyi-Nelson II e o extrato foi deixado em repouso por 5 minutos, em temperatura ambiente, posteriormente foram adicionados 2 mL de água destilada. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nm (Biochrom Libra S22 UV-Vis, Cambrige, UK) e os resultados expressos em mg de glicose g^{-1} de massa seca.

2.2.6. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software R Studio (versão 3. 2. 5). Os resultados foram submetidos a análise de variância e expressos como média ± erro padrão. A normalidade e homogeneidade dos dados foram verificadas pelo teste de Shapiro-Wilk e de Bartlett, respectivamente. A diferença estatística entre as médias foi calculada pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

2.3. Resultados

2.3.1. Análises Visuais

Após quatro dias, todos os tratamentos apresentavam aproximadamente 10% das flores com murcha leve e/ou acentuada (FIGURA 1). Ao oitavo dia de análise, os tratamentos controle e BAP já estavam com aproximadamente 40% das inflorescências comprometidas com murcha, sendo estas descartadas no 12º dia, com mais de 50% de murcha acentuada.

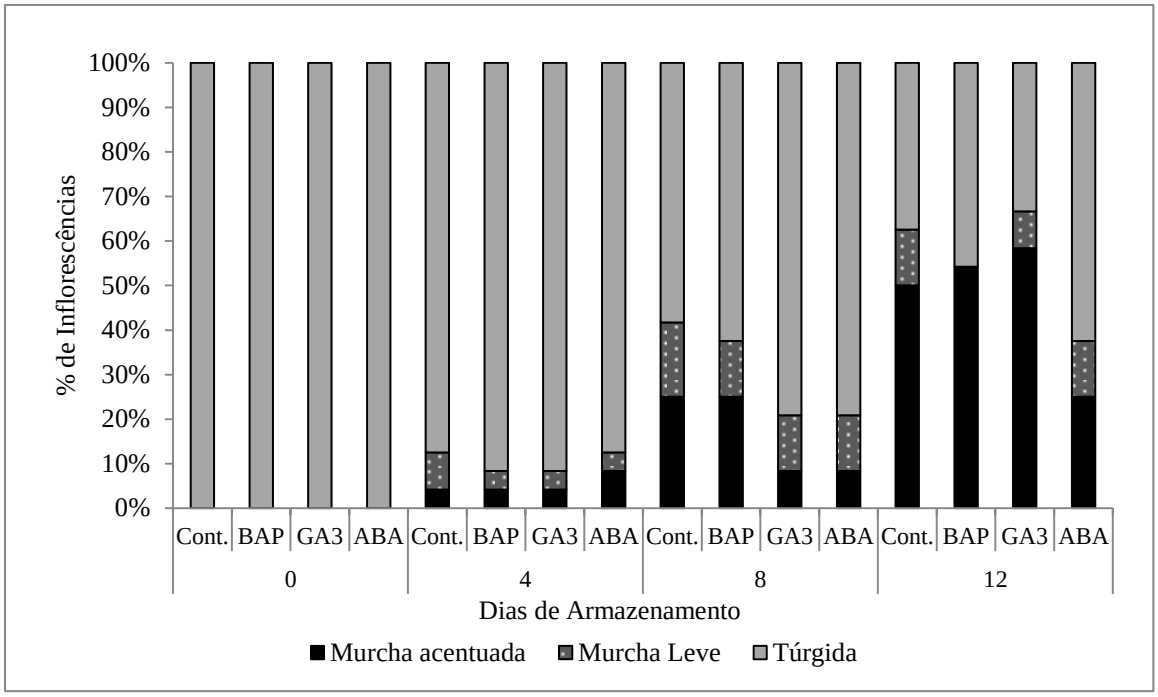

Figura 1. Porcentagem de inflorescências de lisianthus cv. Flare Deep Rose com sintomas de murchamento, tratadas com biorreguladores e armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. Cont. (Controle); BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico).

O tratamento com GA_3 mostrou-se eficaz até o 8º dia, porém no 12º resultou em hastes com aproximadamente 60% de murcha. O ABA não diferiu do GA_3 até o 8º dia, entretanto apresentou 50% de inflorescências com sintomas de murcha leve/acentuada, sendo esta a menor porcentagem entre os demais tratamentos. (FIGURA 1).

Ao longo do tempo de vida de vaso, os botões se abriram e as flores que se encontravam abertas na colheita começaram a entrar em senescência, alterando o visual das hastes florais. No quarto dia de análise, os tratamentos controle e BAP não apresentavam diferenças entre si, e assim, permaneceram até o 12º dia de armazenamento quando atingiram 50% de hastes com sintomas de senescência (FIGURA 2).

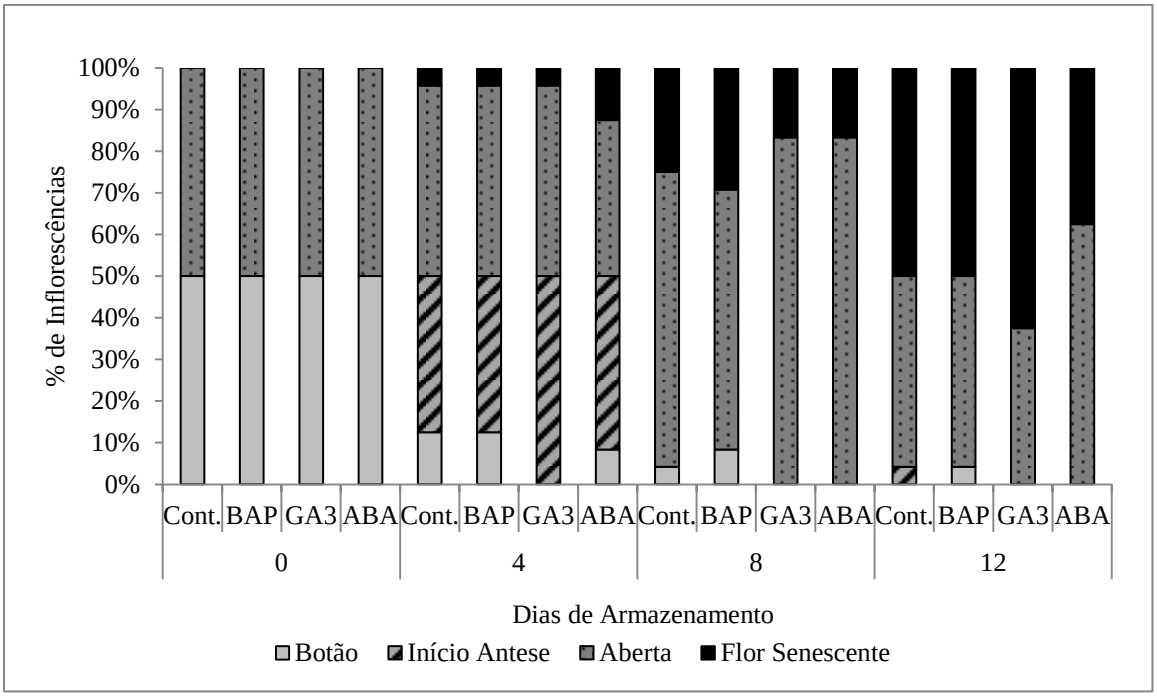

Figura 2. Desenvolvimento das inflorescências de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. Cont. (Controle); BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico).

As hastes tratadas com GA_3 apresentaram abertura de todos os botões florais no 4º dia de armazenamento, indicando antecipação da antese em relação aos demais tratamentos (FIGURA 2 e 3). Ao 8º dia, o tratamento com GA_3 apresentava mais de 80% de flores abertas e apenas 20% de senescentes. Entretanto, no 12º dia, já apresentava mais de 60% de flores com sinais de senescência, o que causou o descarte das inflorescências. O ABA induziu a abertura de todos os botões florais no 8º dia de armazenamento e aos 12 dias tinha 60% de inflorescências abertas e sem sintomas de senescência (FIGURA 3).

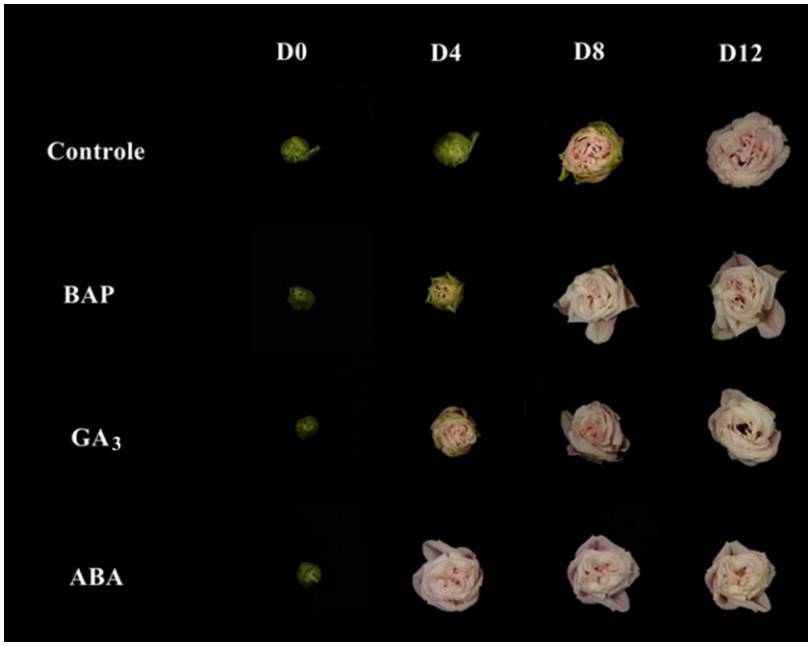

Figura 3. Monitoramento da abertura floral de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. Dias armazenamento (D0, D4, D8 e D12). BAP (6-benzilaminopurina), GA_3 (ácido giberélico) e ABA (ácido abscísico).

2.3.2. Taxa respiratória

As inflorescências dos tratamentos controle e BAP apresentaram as menores taxas respiratórias até o 12º dia de armazenamento, não diferindo entre si (FIGURA 4).

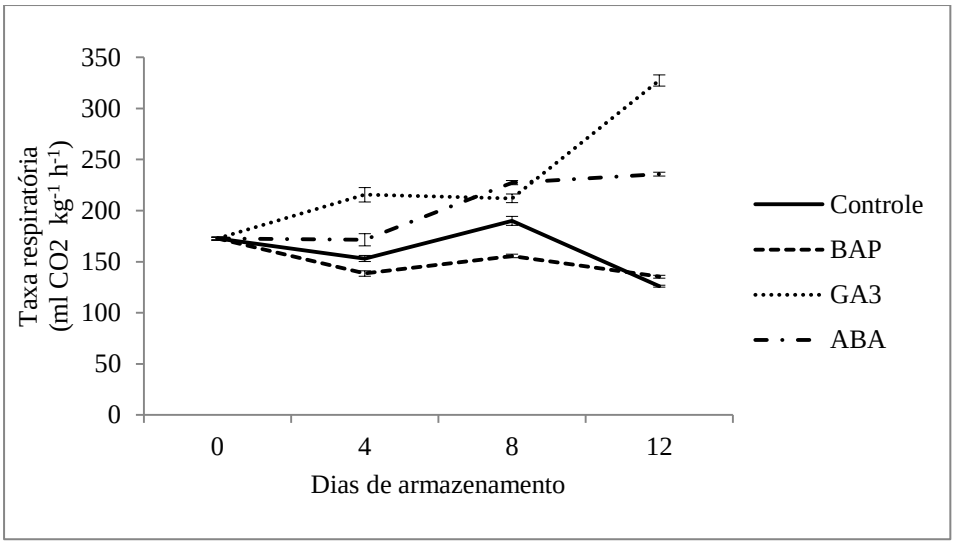

Figura 4. Taxa respiratória de inflorescências de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico). Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4).

O tratamento GA_3 diferiu ao longo do tempo, apresentando aumento da taxa respiratória, sendo que no 12º dia foi a maior taxa entre todos os tratamentos. O ABA também apresentou aumento da taxa respiratória ao longo do tempo, exceto no 8º dia não houve diferença entre os tratamentos ABA e GA_3 com o controle**.**

2.3.3. Teor de Açúcares Totais

Houve variação no teor de açúcares totais dos tratamentos ABA e GA_3, onde estes apresentaram aumento significativo no 4º dia de armazenamento, sendo que ao final dos 12 dias o ABA exibiu o maior conteúdo de açúcares entre todos os tratamentos. O tratamento *pulsing* com BAP não apresentou diferenças estatísticas com o controle até o 12º dia de armazenamento (FIGURA 5).

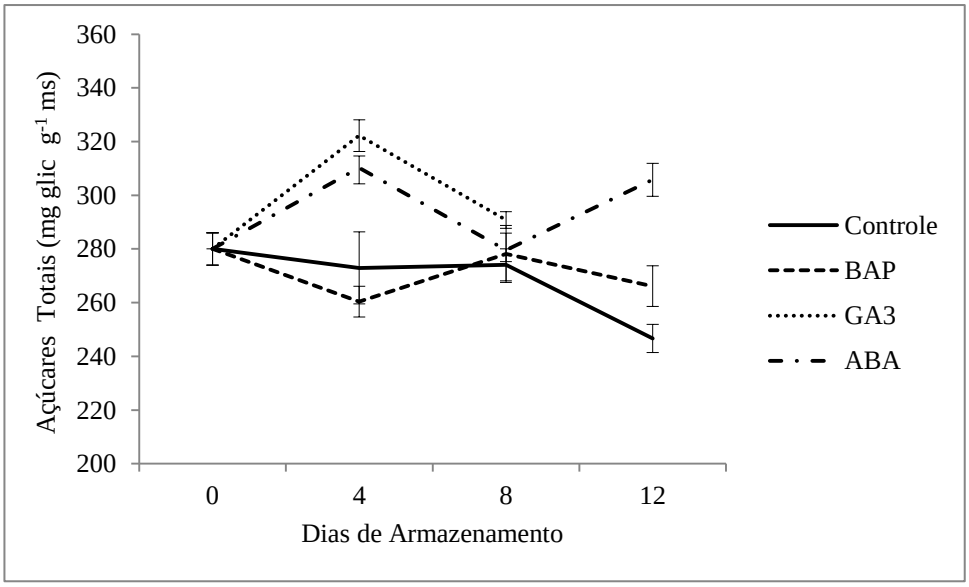

Figura 5. Teor de açúcares totais em pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico). Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

2.3.4. Teor de Açúcares Redutores

Todos os tratamentos apresentaram diminuição no teor de açúcares redutores, sendo que no 12º dia de armazenamento estes não apresentaram diferença entre si. O tratamento com GA_3 apresentou redução do teor de açúcares redutores no dia 4, enquanto que no dia 8 houve aumento, porém sem diferença em relação ao controle (FIGURA 6). O ABA manteve

maior teor de açúcares redutores até 8º dia quando comparado aos demais tratamentos. Assim como no teor de açúcares totais, não houve diferença significativa no teor de açúcares redutores entre os tratamentos controle e BAP (FIGURA 6).

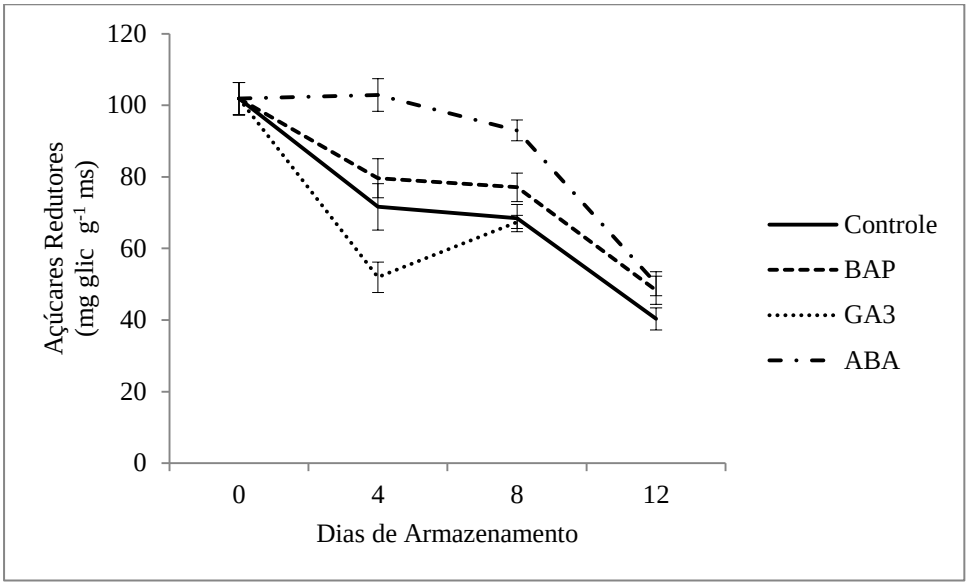

Figura 6. Teor de açúcares redutores em pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

2.4. Discussão

Após o corte da haste floral, as inflorescências deixam de receber água e outros compostos essenciais para a abertura dos botões e desenvolvimento das flores. As inflorescências são órgãos reprodutivos, não possuem reserva energética e a perda de água é intensa através da parte aérea assim que as hastes são cortadas. Por isso, as flores são caracterizadas como produtos de alta perecibilidade, onde após a colheita sofrem alterações bioquímicas e fisiológicas que promovem a senescência (VAN DOORN; WITTE, 1991; FINGER et al., 2003; WOJCIECHOWSKA et al., 2018).

A senescência é um processo de natureza irreversível e seus sintomas causam danos que reduzem a vida de vaso, depreciam visualmente as flores e geram perdas pós-colheita. Dessa forma, a utilização de soluções conservantes baseadas nas alterações fisiológicas das plantas é um dos grandes avanços no manuseio das flores de corte (NOWAKI; RUDNICKI, 1990; FINGER et al., 2003; DE PIETRO, 2009).

No presente trabalho foi observado que a aplicação de solução de *pulsing* de ABA manteve a qualidade pós-colheita das inflorescências de lisianthus até o último dia de armazenamento. A manutenção da turgescência é um aspecto extremamente importante e está diretamente relacionada à abertura dos botões, além disso, inflorescências túrgidas mantem a qualidade comercial durante maior período de tempo. O efeito de manutenção da turgescência causada pelo ABA provavelmente tem relação com a capacidade de regulação do balanço hídrico das hastes cortadas através do controle da abertura estomática, que reduz a transpiração e consequentemente a intensa perda de água (HALEVY et al., 1974; POMPODAKIS; JOYCE, 2003; SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2010).

O ABA é um importante biorregulador relacionado com a resposta fisiológica da planta ao estresse, conferindo adaptação ao ambiente. Este induz a formação de superóxido que logo é convertido em peróxido, estas espécies reativas de oxigênio (ROS) também podem desempenhar função de moléculas sinalizadoras de estresse abiótico, sendo este um papel importante no ajuste do metabolismo, causando o fechamento estomático. As ROS são moléculas conhecidas devido à capacidade de gerar danos celulares, porém, quando as células possuem reservas energéticas elevadas estes danos são reduzidos (MITTLER; BLUMWALD, 2015; CHOUDHURY et al., 2017).

Os altos teores de açúcares totais e redutores mantidos pelas hastes tratadas com ABA nos primeiros dias de armazenamento, provavelmente, auxiliaram no combate aos possíveis danos causados pelas ROS. Os açúcares solúveis possuem capacidade de atuar como antioxidantes, protegendo a célula contra o estresse oxidativo (KEUNEN et al., 2013; PESHEV; VAN DEN END, 2013). Além disso, o ABA tem a capacidade de aumentar a translocação de carboidratos endógenos para flores e botões, o que contribui para o aumento da longevidade de lisianthus, sendo que o aumento do teor destes açúcares nas partes superiores das hastes torna o potencial osmótico mais negativo, intensificando a absorção de água que auxilia na manutenção da turgescência e abertura dos botões (EMONGOR, 2004; SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2010). Isto também explica o resultado deste trabalho com relação à abertura floral das hastes tratadas com ABA, os botões florais adiantaram a abertura ao mesmo tempo em que houve aumento nos teores de açúcares totais.

A abertura floral é resultado do desenvolvimento e expansão das células das pétalas e estes processos são regulados pela presença de carboidratos solúveis no tecido (SATO et al., 2006; PUN; ICHIMURA, 2003). Consequentemente, a abertura floral também está relacionada com o efeito do ABA no teor dos açúcares totais e redutores em lisianthus. O aumento de açúcares causados pela aplicação de ácido abscísico, em flores de corte, pode ser

reflexo da sua capacidade de interferir no metabolismo destes compostos presentes nas pétalas e folhas (GENG et al., 2015).

Dessa forma, o ABA provavelmente induziu a translocação de sacarose para as pétalas, o que causou o aumento de açúcares totais no 4º dia de armazenamento e estes podem ter sido hidrolisados, mantendo altos teores de açúcares redutores até o 8º dia. Pesquisas relatam a capacidade dos biorreguladores em influenciar a atividade da invertase, enzima responsável pela hidrólise da sacarose em hexoses (TROUVERIE et al., 2004; PAN et al., 2006; WU et al., 1993; MIYAMOTO et al., 1993). A sacarose é translocada das folhas através do floema até os demais tecidos onde é hidrolisada pela invertase e o ABA pode agir aumentando a atividade desta enzima (HORIBE et al., 2009; TAUZIN; GIARDINA, 2014).

Interessantemente, mesmo com o aumento da taxa respiratória ao longo do tempo nas inflorescências tratadas com ABA, este biorregulador retardou o processo de senescência e manteve a qualidade das hastes. O que denota a importância do acúmulo de açucares nas inflorescências para suprir sua taxa metabólica sem degradar os tecidos e, consequentemente, conservar a sua vida útil. Da mesma forma, os compostos altamente energéticos gerados pela respiração a partir dos carboidratos também são utilizados na formação de esqueletos de carbono necessários para reações de síntese e manutenção que ocorrem após a colheita (SILVA, 2003; MARTÍNEZ-VILALTA et al., 2016), este fato provavelmente auxiliou no retardo da senescência das flores tratadas pelo ABA.

A aplicação de GA_3 também afetou o teor de açúcares nas pétalas de lisianthus. Houve aumento dos açúcares solúveis totais e diminuição dos redutores no 4º dia de armazenamento, podendo estes resultados ser relacionados com o aumento na taxa respiratória para GA_3, principalmente aos 12 dias de armazenamento.

O metabolismo acelerado pode estar envolvido com a antecipação da abertura dos botões florais em GA_3, uma vez que o transporte de açúcares solúveis das folhas para as pétalas parece ser promovido por GA_3 exógeno (ALONI et al., 1986). Além disso, as giberelinas podem aumentar a hidrólise de amido, frutanos e sacarose em glicose e frutose, reduzindo o potencial osmótico dos tecidos, propiciando o influxo de água para as partes superiores da haste (EMONGOR, 2004). Assim, em resposta à manutenção da turgescência causada pelo GA_3 até o 8º dia de armazenamento, ocorreu a abertura floral. O GA_3 pode induzir a expressão de genes relacionados à enzima invertase, assim como aumentar sua atividade (ROBOT et al., 2014). A aplicação de GA_3 em rosa de corte cv. Meivildo influenciou a hidrólise da sacarose através do aumento da atividade da enzima invertase. Além disso, a indução da hidrólise dos açúcares pelo GA_3, mantem o suprimento de

substratos respiratórios principalmente nas pétalas, promovendo a respiração (HALEVY; MAYAK, 1979; HORIBE et al., 2009;).

O GA_3 foi eficaz até o 8º dia de armazenamento, entretanto antecipou a senescência quando comparado aos demais tratamentos, resultando em descarte das hastes no 12º dia. Assim, diferentemente de ABA, GA_3 parece não acumular açúcares suficientes para suprir a taxa respiratória, consumindo as reservas de açúcares das pétalas e induzindo a senescência. O papel dos açúcares na senescência dos diversos órgãos das plantas ainda não foi totalmente elucidado, porém sabe-se que os carboidratos podem retardar a senescência quando presentes em altos teores nas inflorescências, e que do contrário, baixos teores destes açúcares nas pétalas e folhas podem induzi-la (WOJCIECHOWSKA et al., 2018).

Resultado semelhante foi relatado com crisântemos, onde a utilização de GA_3 em hastes de três variedades de corte acelerou a senescência de folhas e inflorescências, reduzindo a vida de vaso (BRACKMANN et al., 2005). Embora alguns trabalhos tenham relatado eficiência da aplicação de GA_3 na longevidade de flores de corte, a fisiologia de cada espécie parece preponderante para respostas positivas de conservação (DANEE et al., 2011; CHEN et al., 2001; SAKS; VAN STADEN, 1993).

As hastes tratadas com BAP não apresentaram diferenças representativas em relação ao controle nas análises visuais e bioquímicas, embora a dose de 70 µM tenha sido eficaz no trabalho de Musembi et al. (2015), esta não teve efeito em lisianhus cv. Flare Deep Rose utilizada neste trabalho. É possível que diferentes doses do biorregulador causem efeito nesta cultivar e que assim como GA_3 a efetividade de BAP para conservação de flores de corte seja relacionada as particularidades da fisiologia de cada espécie, para acúmulo de açúcares e poder de translocação de água nos tecidos.

Em conclusão, os resultados deste trabalho mostram que o biorregulador ABA aplicado em solução de *pulsing* auxilia na manutenção da turgescência das inflorescências, promove a abertura de botões e proporciona maior longevidade floral. Por outro lado, a aplicação de GA_3 compromete a longevidade das inflorescências de lisianthus cv. Flare Deep Rose.

Referências

ALONI, B.; PASHKAR, T.; LIBEL, R. The possible involvement of gibberellins and calcium in tipburn of chinese cabbage: study of intact plants and detached leaves. **Plant Growth Regulation**, v.4, n.1, p.3-11, 1986.

BRACKMANN, A.; BELLÉ, R.A.; FREITAS, S.T.; MELLO, A.M. Qualidade pós-colheita de crisântemos (*Dedrantema grandiflora*) mantidos em soluções de ácido giberélico. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1451-1455, 2005.

CAMARGO, M.S.; SHIMIZU, L.K.; SAITO, M.A.; KAMEOKA, C.H.; MELLO, S.C.; CARMELLO, Q.A.C. Crescimento e absorção de nutrientes pelo lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cultivado em solo. **Horticultura Brasileira,** v.22, n.1, p.143-146, 2004.

CASTRO, C.E.F. Tratamentos químicos pós-colheita critérios de avaliação de qualidade de cravos (*Dyanthus caryophyllus*) cv. Scania Red Srin. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" USP.

CHATHURY, K.B.B.; SARANANDA, K.H. Effect of 6-BAP and sucrose pusing on vase life of lotus (Nelumbo nucifera). Tropical Agriculture Research, v.33, n.4, p.402-409, 2011.

CHEN, W.S.; LIAO, L.J.; CHEN, C.Y.; HUANG, K.L. Kinetin, gibberellic acid and sucrose affect vase life in *Oncidium* spp. **Acta Botanica Gallica**, v.148, n.3, p.177-181, 2001.

CHOUDHURY, F.K.; RIVERO, R.M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress ande stress combination. **The Plant Journal**, v.90, p.856-867, 2017.

CHUANG, Y.C.; CHANG, Y.C.A. The role of soluble sugars in vase life of *Eustoma grandiflorum*. **HortScience**, v. 48, n.2, p.222-226, 2013.

DANEE, E.; MOSTOFI, Y.; MORADI, P. Effect of GA_3 and BA on postharvest quality and vase life of gerbera (*Gerbera jamesonii* cv. Good Timing) cut flowers. **Horticulture, Environmental, and Biotechnology**, v.53, n.2, p.140-144, 2011.

DE PIETRO, J. de. **Fisiologia pós-colheita de rosas cortadas cv. Vega**. 2009. 125 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

DIAS, M.D. Quality management of tropical plants. **Ornamental Horticulture**, v.22, n.3, p.256-258, 2016.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; BEBERS, P.A. SMITH, F. Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.248-254, 1956.

EMONGOR, V.E. Effects of gibberelic acid on postharvest quality and vaselife life of gerbera cut flower (*Gerbera jamesonii*). **Journal of Agronomy,** v.3, n.3, p.191-195, 2004.;

FINGER, F.L.; BARBOSA, J.G.; GROSSI, J.A.S.; MORAES, P.J. **Colheita, classificação e armazenamento de inflorescência**. In: BARBOSA, J.G. (Ed.). Crisântemos. Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 2003, p. 123-140.

GENG, X.M.; LI, M.; LU, L.; OKUBO, H.; OZAKI, Y. ABA improved postharvest quality of cut Lilium 'Sorbonne' harvested in late period. **Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University**, v.60, n.1, p.81-86, 2015.

HALEVY, A.H.; MAYAK, S. Senescence and postharvest physiology of cut flowers. **Horticultural Reviews**, v.3, p.59-143, 1981.

HALEVY, A.H.; MAYAK, S. Senescence and postharvest physiology of cut flowers. **Horticultural Review,** v.1, p.204-236, 1979.

HALEVY, A.H.; MAYAK, S.; TIROSH, T.; SPIEGELSTEIN, H.; KOFRANEK, A.M. Opposing effects of abscisic acid on senescence of rose flowers. **Plant and Cell Physiology**,v.15, n.5, p.813-821, 1974.

HARDENBURG, R.E.; WATADA, A.E.; WANG, C.Y. The commercial storage of fruits, vegetables and florists and nursery stocks. **U.S Departament of Agriculture** – ARS, Agriculture Handbook, n.66, 1986. 136p.

HORIBE, T.; ITO, M.; YAMADA, K. Effect of plant hormones on invertase activity and on petal growth of cut rose. V International Symposium on Rose Research and Cultivation, 870, p.279-284, 2009.

HUANG, K.L.; CHEN, W.S. BA and sucrose increase vase life of cut Eustoma flowers. **HortScience**, v.37, n.3, p.547-549, 2002.

JUNQUEIRA A.H.; PEETZ, M.S. Análise conjuncional do comércio exterior da floricultura brasileira: balanço 2013 e perspectiva para 2014. <http://www.hortica.com.br/artigos/ 2014/2013_Comercio_Exterior_ Floricultura.pdf >

KARIMI, M.; ASIL, M. H. Role of benzyladenina on vase life and quality of cut lisianthus flowers. **Horticulture, Environment and Biotechnology**, n. 51, v. 4, p.284-287, 2010.

KEUNEN, E.; PESHEV, D.; VANGRONSVELD, J.; VAN DER END, W.; AIYPERS, A. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress; extending the traditional concept. **Plant, Cell & Environment**, v.36, 2013.

MARTÍNEZ-VILALTA, J.; SALA, A.; ASENSIO, D.; GALIANO, L.; HOCH, G.; PALACIO, S.; PIPER, F.I.; LLORET, F. Dynamics of non-structural carbohydrates in terrestrial plants: a global synthesis. **Ecological Monographs**, v.86, n.4, 2016.

MATTIUZ, C.F.M.; RODRIGUES, T.J.D.; MATTIUZ, B.H.; PIETRO, J.D.; MARTINS, R.N. Armazenamento refrigerado de inflorescências cortadas de *Oncidium varicosum* 'Samurai'. **Ciência Rural**, v.40, n.11, p. 2288-2293, 2010.

MITTLER, R.; BLUMWALD, E. The roles of ROS and ABA in systemic acquired acclimation. **The Plant Cell**, v.27, p.64-70, 2015.

MIYAMOTO, K.; UEDA, J.; KAMISAKA, S. Gibberellin-enhanced sugar accumulation in growing subhooks of etiolated *Pisum sativum* seedlings. Effects og gibberellic acid, indoleacetic acid and cycloheximide on invertase activity, sugar accumulation and growth. **Physiologia Plantarum**, v.88, n.2, p.301-306, 1993.

MUSEMBI, N.N.; HUTCHINSON, M.J; WAITAKA, K. The effects of 6-benzylaminopurine and gibberellic acid on postharvest physiology of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) flowers: I. Novel synergism improves water balance and vase life. **Acta Horticulturae**, n.1077, p.47-56, 2015.

NELSON, N. A photometric adaptation of Somogyi method for determination of glucose. **Journal of Biologic Chemistry**, v.153, n.2, p.375-380, 1944.

NOWAK, J.; RUDNICKI, R.M. **Postharvest handling and storage of cut flowers, florest greens and potted plants.** Portland: Timber Press, 1990. 210p.

PAN, Q.H.; YU, X.C.; ZHANG, N.; ZOU, X.; PENG, C.C; WANG, X.L.; ZOU, K.Q.; ZHANG, D.P. Activity, but not expression, of soluble and cell wall-bound acid invertase is induced by abscisic acid in developing apple fruit. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.48, n.5, p.536-549, 2006.

PESHEV, D.; VERGAWEN, R.; MOGLIA, A.; HIDEG, E.; VAN DER END. Towards understanding vacuolar antioxidant mechanism: a role of frutans? **Journal of Experimental Botany**, v.64, n.4, p.1025-1038, 2013.

POMPODAKIS, N.E.; JOYCE, D.C. Abscisic acid analogue effects on the vase life and leaf crisping of cut Bacara roses. **Australian Jounal of Experimental Agriculture,** v. 43, n.4, p.425-428, 2003.

PUN, U.K.; ICHIMURA, K. Role of sugars in senescence and biosynthesis of ethylene in cut flowers. **Japan Agricultural Research Quaterly: JARQ**, v.37, n.4, p.219-224, 2003.

ROBOT, A.; PORTEME, V.; PÉRON, T.; MORTREAU, E.; LEDUC, N.; HAMAMA, L.; COUTOS-THÉVENOT, P.; ATANASSOVA, R.; SAKR, S.; GOURRIEREC, J. L. Interplay of sugar, light and gibberellins in expression of Rosa hybrid vacuolar invertase 1 regulation. **Plant & Cell Physiology,** v.55, n.10, p.1734-1748, 2014.

SAKS, Y.; VAN STADEN, J. Evidence for the involvement of gibberellins in developmental phenomena associated with carnation flower senescence. **Plant Growth Regulation**, v.12, n.1-2, p.105-110, 1993.

SATO, K.; ITO, K.; INAMOTO, K.; DOI, M.; MORI, G. Influences of preharvest relative humidity on yield, vase life and transpiration of cut roses. **Environmental Control in Biology,** v.44, n.4, p.257-263, 2006.

SHAHRI, W.; TAHIR, I. Flower senescence: some molecular aspects. **Planta,** v.239, p.277-297, 2014.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; ICHIMURA, K. Abscisic acid, in combination with sucrose, is effective as a pulse treatment to supress leaf damage and extend foliage vase-life in cut *Eustoma* flowers. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology,** v.85, n.1, p.107-111, 2009.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; ICHIMURA, K. Postharvest physiology and technology of cut Eustoma flowers. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.79, n.3, p.227-238, 2010.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; KONDO, M.; SANOH, Y.; OHSUMI, A.; ICHIMURA, K. Effect of abscisic acid on the distribution of exogenous carbon derived from sucrose applied to cut *Eustoma* flower. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 85, n.1, p.83-87, 2010.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; ICHIMURA, K. Postharvest characteristics of cut Dahlia flowers with focus on ethylene and effectiveness of 6-benzylmaninopurine treatments in extend vase life. **Postharvest Biology and Technology**, v.86, p.479-486, 2013.

SILVA, J.A.T. The cut flower: postharvest considerations. **Online Journal of Biological Sciences**, v.3, n.4, p.406-442, 2003.

SING, A.; KUMAR, J.; KUMAR, P. Effects of plant growth regulators and sucrose on post-harvest physiology, membrane stability and vase life of cut spikes of gladiolus. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.55, p.221-229, 2008.

TAUZIN, A.S.; GIARDINA, T. Sucrose and invertases, a part of plant defense response to the biotic stresses. **Frontiers in Plant Science**, v.5, p.293, 2014.

TRIPATHI, S..; TUTEJA, N. Integrated signaling in flower senescence. **Plant Signaling & Behavior,** v.2, n.6, p.437-445, 2007.

TROUVERIE, J.; CHATEAU-JOUBERT, S.; THÉVENOT, C.; JACQUEMOT, M.P.; PRIOUL, J.L. Regulation of vacuolar invertase by abscisic acid or glucose in leaves and roots from maize plantlets. **Planta**, v.219, n.5, p.894-905, 2004.

VAN DOORN, W.G.; DE WITTE, Y. Effect of dry storage on bacterial counts in stems o cu rose flowers. **HortScience**, v.26, n.12, p.1521-1522, 1991.

WOJCIECHOWSKA, N.; SOBIESZCZUK-NOWICHA, E.; BAGNIEWSKA-ZADWORNA, A. Plant organ senescence – regulation by manifold pathways. **Plant Biology**, v.20, p.167-181, 2018.

WU, L.L.; MITCHELL, J.P.; COHN, N.S.; KAUFMANN, P.B. Gibberellin (GA_3) enhances cell wall invertase activity and mRNA levels in elongating dwarf pea (*Pisum sativum*) shoots. **International Journal Plant Science**, v.154, n.2, p.280-289, 1993.

YAMADA, T.; ICHIMURA, K.; KANEKATSU, M.; van DOORN, W.G. Gene expression in opening and senescing petals of morning glory (*Ipomoea nil*) flowers. **Plant Cell Reports**, v.26, p.823-835, 2007.

ZHOU, X.; MO, X.; QU, S.; TIAN, M.; WU, X.; WU, M.; LI, J.; LUO, Y; WANG, J.; GUI, M. Comparison of Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cultivars based on the selected regeneration media using anther culture. **Horticulture, Environment and Biotechnology**, v.55, n.2, p.125-128, 2014.

3. QUALIDADE FLORAL DE LISIANTHUS APÓS TRATAMENTOS COM BIORREGULADORES

RESUMO

A utilização de biorreguladores em soluções de *pulsing* têm mostrado efeitos benéficos na manutenção pós-colheita de flores, devido às diversas funções nos processos fisiológicos e estruturais das inflorescências. Após a colheita as flores podem sofrer alterações na coloração das pétalas, devido à degradação de pigmentos que ocorre durante o processo de senescência. Por este motivo a presente pesquisa objetivou avaliar os efeitos de três biorreguladores na coloração das pétalas de lisianthus 'Flare Deep Rose'. Para tanto, aplicou-se em solução *pulsin*g de 24 horas 6-benzilamonopurina - BAP (70 µM), ácido giberélico - GA_3 (5 µM) e ácido abscísico - ABA (10 µM) e água destilada como controle. Foram realizadas as análises de colorimetria (luminosidade e cromaticidade), teor de antocianinas, teor de fenólicos totais, atividade da peroxidase (POD) e da fenilalanina amônia-liase (PAL). O tratamento com BAP apresentou maior acúmulo de antocianinas, enquanto que o tratamento com ABA apresentou o menor acúmulo de antocianinas, o que causou aumento da luminosidade e redução da cromaticidade. O ABA apresentou aumento expressivo no teor de fenólicos totais no 4º dia de armazenamento. O GA_3 apresentou maior acúmulo de antocianina no 4º dia, porém este tratamento acelerou a senescência das hastes causando descarte no 12º dia. A atividade da PAL foi maior no tratamento com BAP, menor no GA_3, enquanto que o ABA não afetou a atividade desta enzima. O ABA provocou menor atividade da POD até o 8º dia de armazenamento. O tratamento pós-colheita de lisianthus 'Flare Deep Rose' com ABA afetou a coloração das pétalas, reduzindo o acúmulo de antocianinas em detrimento ao acúmulo de fenólicos, provavelmente devido ao efeito de sinalização de estresse causado por este biorregulador.

Palavras-chave: *Eustoma grandiflorum*; Antocianinas; Cor

ABSTRACT

The use of bioregulators in pulsing solutions has shown beneficial effects in the postharvest maintenance of flowers due to their functions in the physiological and structural processes of the inflorescences. After harvest, the color of petals changes due to the degradation of pigments that occurs during the senescence process. The aim of this study was to evaluate the effects of three different bioregulators with pre-established doses in the petals color of lisianthus 'Flare Deep Rose'. The experiment consisted of pulsing solutions with three types of bioregulators: 6-benzylaminopurine BAP (70 µM), gibberellic acid GA_3 (5 µM) and abscísico acid ABA (10 µM) and destilled water. In this experiment were evaluated petals color (chromaticity and luminance), total anthocyanin content, total phenolic content, peroxidase activity (POD) and phenylalanine ammonia

lyase activity (PAL). The BAP treatment showed greater accumulation of anthocyanin, whereas the treatment with ABA showed the lowest accumulation of anthocyanins, that causes an increase of luminance and decrease of chromaticity. The ABA showed an expressive increase in the total phenolic compounds on the 4th day of storage. The GA_3 pulsing presented accumulation of anthocyanins on the 4th day, but this treatment induced senescence and caused discard of the flowers on the 12th day of storage. PAL activity was higher in BAP treatment and lower in GA_3, but the pulse with ABA did not affect the activity of this enzyme. ABA showed lower POD activity until 8th day of storage. The ABA pulse treatment of lisianthus 'Flare Deep Rose' affected the color of petals, reducing the anthocyanin accumulation, but enhancing total phenolic content, probably due to the stress signaling caused by ABA.

Keywords: *Eustoma grandiflorum*; Anthocyanins; Color

3.1. Introdução

O lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) é originário da América do Norte (HALEVY; KOFRANEK, 1984) e é muito apreciado pelos consumidores à ampla variedade de cores e quantidade deflores individuais (CHO et al., 1999). As flores são estruturas reprodutivas de natureza frágil, quando comparada a alguns produtos hortícolas, possui vida de vaso reduzida devido aos intensos processos fisiológicos e, dessa forma, é extremamente dependente de manuseio pós-colheita adequado (NOWAK; RUDNICKI, 1990).

Os biorreguladores estão envolvidos no desenvolvimento floral e estão sendo considerados alternativas eficazes na manutenção pós-colheita de flores. A aplicação de BAP reduziu os efeitos da senescência em dracena, dendrobium e lisianthus (NISHA et al., 2012; SUBHASHINI et al., 2011; MUSEMBI et al., 2015). O GA_3 tem apresentado bons resultados na manutenção pós-colheita de diversas inflorescências como antúrio, flor de lótus e lisianthus (SIMÕES et al., 2018; IMSABAI; VAN DOORN, 2013; MUSEMBI et al., 2015). Segundo Emongor (2004), o GA_3 tem capacidade de manter a estabilidade das membranas celulares e dessa forma reduz a senescência das flores de corte. A aplicação pós-colheita de ABA em pelargônio e petúnia induziu a tolerância ao estresse hídrico, aumentando assim a longevidade das flores (RUNKLE et al., 2007). Em lírio cv. Sorbonne a aplicação de ABA reduziu a clorose nas folhas que deprecia a hastes (GENG et al., 2015).

Além destes efeitos, as flores podem sofrer alterações na coloração das pétalas durante a vida de vaso (BOROHOV et al., 1976). A descoloração está relacionada com a degradação de pigmentos durante a senescência, como as antocianinas (LÜ et al., 2014). A

perda da cor é prejudicial à qualidade decorativa das hastes florais, resultando na redução de valor comercial (MATTIUZ et al., 2010).

O efeito dos biorreguladores no acúmulo de antocianinas é indireto, como demonstrado por Hung et al. (2008) com aplicação de ABA em plântulas de arroz, pois atuou no aumento da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), enzima chave do metabolismo fenilpropanoide. A utilização de GA_3 em plantas de vasos de *Hibiscus sabdariffa* L. aumentou a concentração de antocianina nas folhas (ALI et al., 2012). O BAP pulverizado em hastes de lisianthus reduziu a degradação de antocianina causada pela senescência (HASSANPOUR; KARIMI, 2010).

A expressão de genes relacionados à biossíntese de antocianinas em diversos órgãos dos vegetais pode ser afetada por biorreguladores (DAS et al., 2012; LAI et al., 2014), e consequentemente auxilia r na manutenção da coloração das pétalas. As antocianinas são formadas na via de biossíntese dos fenilpropanoides a partir da atividade da PAL., Além de antocianinas outros compostos são formados nesta via, como as proantocianidinas, catequinas e epicatequinas (CHOUHAN et al., 2017).

Portanto, a aplicação exógena de biorreguladores pode favorecer a biossíntese de antocianinas e, consequentemente, conservar a coloração das pétalas por maior período de armazenamento após a colheita. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar as possíveis alterações causadas pelos biorreguladores (BAP, GA_3 e ABA) nas pétalas de flores abertas de lisianthus cv. Flare Deep Rose.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Material Vegetal e Tratamentos

As hastes de lisisnthus (*Eustoma grandiflorum*) cv. Flare Deep Rose foram obtidas de produção comercial da empresa “Monalisa Flores”, localizada no município de Paranapanema-SP (23º23'19"S e 48º43'22"W, altitude: 610 m). As hastes foram colhidas quando apresentavam de duas a três flores abertas e foram transportadas para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita no Departamento de Ciências Biológicas, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, em Piracicaba (SP). No laboratório, as hastes foram padronizadas em 50 cm de comprimento e as folhas dos primeiros 15 cm da parte inferior do caule foram retiradas e, em seguida, foram aleatorizadas para a aplicação dos tratamentos.

Os tratamentos consistiram de três tipos de biorreguladores e foram aplicados através de solução de *pulsing*, por 24 horas. As doses de BAP 70 µM (6-benzylaminopurina Sigma-Aldrich) e GA_3 5 µM (≥ 90% A3 Sigma- Aldrich) foram determinadas como doses adequadas para manutenção pós-colheita de lisianthus por Musembi et al. (2015) e de ABA 10 µM (≥ 98,5% Nº CAS 14375-45-2 Sigma-Aldrich) por Shimizu-Yumoto et al. (2010). Assim, foram estabelecidos os seguintes tratamentos: 1 - Controle (água destilada); 2 - 70 µM BAP; 3 – 5 µM GA_3; 4 – 10 µM ABA.

Após a aplicação dos tratamentos, as hastes foram mantidas em solução de água destilada e dicloroisocianurato de sódio em concentração de 0,25% (StartClor®), que foi substituída a cada dia de análise. As hastes foram armazenadas a 20°C e umidade relativa de 80±2%. O monitoramento da qualidade das hastes foi realizado a cada quatro dias, até o décimo segundo dia de armazenamento, que correspondeu ao fim da vida útil, quando as hastes apresentavam qualidade inviável para comercialização. Para a determinação da inviabilidade comercial foi fixado um padrão de 50% das flores apresentando murcha e/ou sintomas de senescência.

Todas as análises de colorimetria e bioquímicas foram realizadas com inflorescências que apresentavam abertura completa desde o primeiro dia de análise (Dia 0), sendo desconsideradas aquelas que abriram durante o período de armazenamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (4 soluções de *pulsing* X 4 dias de armazenamento) com três repetições de quatro hastes para cada análise, exceto para taxa respiratória, onde foram utilizadas quatro repetições com 3 hastes cada. As amostras de pétalas foram coletadas, congeladas em nitrogênio líquido, liofilizadas, moídas e armazenadas a -20°C, para posteriores análises bioquímicas.

3.2.2. Colorimetria

As leituras foram feitas em colorímetro Minolta modelo CR-400 utilizando seis flores por repetição. Foram feitas 5 leituras na face interna de cada flor. Os resultados foram calculados baseados nos parâmetros L, a*, b* e expressos em luminosidade (intervalo entre o claro e o escuro) e cromaticidade (intensidade de cor). A cromaticidade foi calculada segundo as equações $C = (a^{*2} + b^{*2})^{0,5}$ (GONNET, 1998).

3.2.3. Teor de Antocianinas

O teor de antocianinas foi feito de acordo com o método descrito por Lee e Francis (1972), com modificações. Alíquotas de 0,1 g de pétalas acrescidas de 10 mL de metanol acidificado com HCl 1%, foram mantidas por 24 horas em repouso a 4ºC ao abrigo da luz. Em seguida, o extrato foi filtrado e o resíduo foi lavado com a solução extratora até a remoção completa do pigmento. O extrato final foi deixado em temperatura ambiente e ao abrigo da luz por duas horas, com posterior leitura da absorbância a 510 nm (Biochrom Libra S22 UV-Vis, Cambrige, UK). O teor de antocianinas totais foi quantificado utilizando a seguinte fórmula: Antocianinas Totais = (Absorbância x Fator de Diluição) / 98,2. Onde: Fator de Diluição = (Volume do extrato/ Volume da alíquota) x 100. Os resultados foram expressos em mg g^{-1} de massa seca.

3.2.4. Teor de Fenólicos Totais

Os teores de compostos fenólicos foram mensurados pela extração de 0,1 g de amostra com adição de 10 mL de metanol 80%, as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente, protegidas da luz, durante três horas. Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 6440 x *g* (Jouan BR4i, Paris, França) e o sobrenadante coletado. Para reação foi utilizado o reativo de Folin- Ciocalteu, conforme metodologia de Singleton e Rossi (1965), com modificações. Foram adicionados 1,5 mL de água destilada, 0,1 mL de reagente Folin-Ciocalteu em 0,2 mL do extrato da amostra e, após 5 minutos, 0,2 mL de carbonato de cálcio 20%. A reação foi encubada durante duas horas no escuro, sendo, em seguida, realizadas as leituras espectrofotométricas a 765 nm (Biochrom Libra S22 UV-Vis, Cambrige, UK) e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (padrão) por g da massa seca (EAG mg g^{-1} ms).

3.2.5. Atividade da Fenilalanina amônia-liase (PAL) (EC 4.3.1.5)

A atividade da enzima PAL foi feita seguindo metodologia proposta por Peixoto et al., (1999), com modificações. Amostras de 1 mg de pétalas foram homogeneizadas em buffer borato de sódio (0,1 moL L^{-1} pH 8,8) contendo polivinil pirrolidona 10 (50 g L^{-1}) e β-mercaptoetanol (0,0002 moL L^{-1}). A solução foi centrifugada a 6440 x *g* por 15 minutos a 4ºC e o sobrenadante foi coletado e armazenado em vidros âmbar no freezer a -20ºC. Todo o

processo de extração foi efetuado em temperatura de 17ºC. A reação foi feita em temperatura ambiente (25ºC). Para isso1 ml do extrato enzimático foi encubado a 40ºC em banho-maria por 1 hora em 1 mL de buffer borato de sódio (0,2 mol L^{-1}, pH 8,8) e 1 mL de L-fenilalanina (0,1 moL L^{-1}). A reação foi parada com adição de solução de ácido clorídrico (6 moL L^{-1}) e a quantidade de ácido cinâmico foi estimado através da leitura em espectrofotômetro a 290 nm. Os dados foram expressos em µkatals g^{-1} de massa seca.

3.2.6. Atividade da Peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7)

A atividade enzimática da POD foi mensurada segundo o método proposto por Hemeda e Klein (1990) com adaptações. Foram pesados 0,1 g de amostra, sendo adicionados 5 mL de tampão acetato de sódio 100 mM pH 5,0, contendo 10 g L^{-1} de polivinilpirrolidona 10. O extrato foi centrifugado a 6440 x *g* (Jouan BR4i, Paris, França) e o sobrenadante coletado, sendo este o extrato enzimático. Todo o processo de extração foi realizado sob temperatura baixa e protegido de luminosidade. A reação foi realizada em temperatura ambiente, na qual 0,05 mL do extrato enzimático foram adicionados a 2,5 mL de substrato. O substrato consistiu de uma solução de 0,1 mL de peróxido de hidrogênio 30% mais 0,1 mL de guaiacol P.A. completando o volume para 100 mL com Tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,0. A mistura foi encubada a 30°C durante 5 minutos, seguido de leitura à 470 nm (Biochrom Libra S22 UV-Vis, Cambrige, UK). Os dados foram expressos em Upod min^{-1} mg^{-1}, em que a cada unidade da enzima foi considerada a mudança de leitura em 0,001 nm.

3.2.7. Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software R Studio (versão 3. 2. 5). Os resultados foram submetidos a análise de variância e expressos como média ± erro padrão. A normalidade e homogeneidade dos dados foram verificadas pelo teste de Shapiro-Wilk e de Bartlett, respectivamente. A diferença estatística entre as médias foi calculada pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

3.3. Resultados

As hastes dos tratamentos controle, BAP e ABA apresentaram viabilidade comercial até o 12º dia de armazenamento, entretanto as hastes tratadas com GA_3 foram descartadas neste mesmo dia devido à intensidade dos sintomas depreciativos apresentados pelas inflorescências.

3.3.1. Colorimetria

O tratamento com BAP não apresentou diferenças significativas nos parâmetros de cor quando comparado com o controle. Além disso, todos os tratamentos apresentaram médias estatisticamente iguais até o 4º dia em todos os parâmetros de cor analisados (cromaticidade e luminosidade) (FIGURA 1 A-B).

Entretanto, as pétalas das inflorescências tratadas com ABA apresentaram diferenças significativas nos parâmetros de cromaticidade e luminosidade nos dias 8 e 12 (FIGURA 1A-B). Houve redução na cromaticidade e aumento da luminosidade no tratamento ABA com relação aos demais tratamentos. O GA_3 não apresentou diferença significativa quando comparado aos demais tratamentos.

Quanto maior a luminosidade e menor cromaticidade, mais clara é a coloração das pétalas. Pode-se observar que tratamento controle e BAP apresentaram aumento gradativo de cor, enquanto que o tratamento com ABA apresentou coloração mais clara no 8º e 12º dia de armazenamento (FIGURA 2). Embora os tratamentos tenham apresentado diferenças de coloração observados na Figura 2, visualmente essas diferenças não foram evidentes (FIGURA 3).

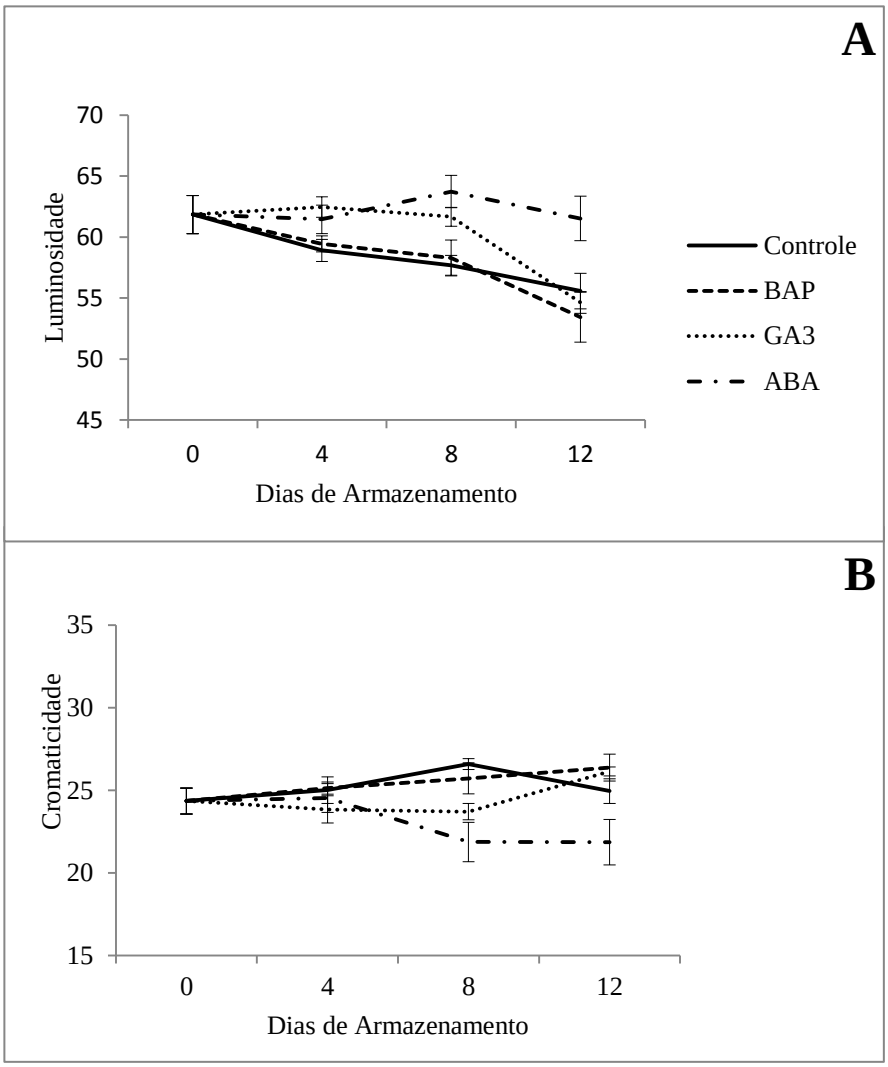

Figura 1. Cromaticidade (A) e luminosidade (B) de pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

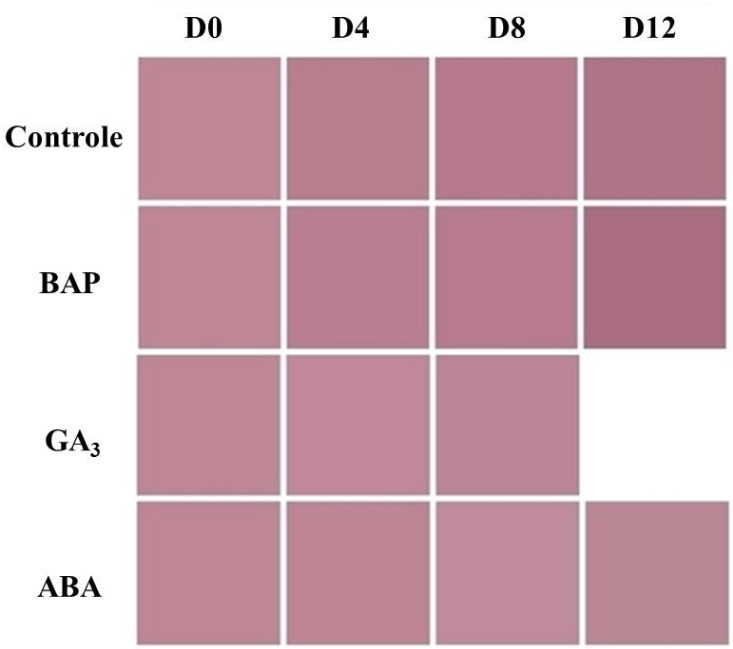

Figura 2. Representação da percepção de cores das pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico). Dias de análise (D0, D4, D8, e D12).

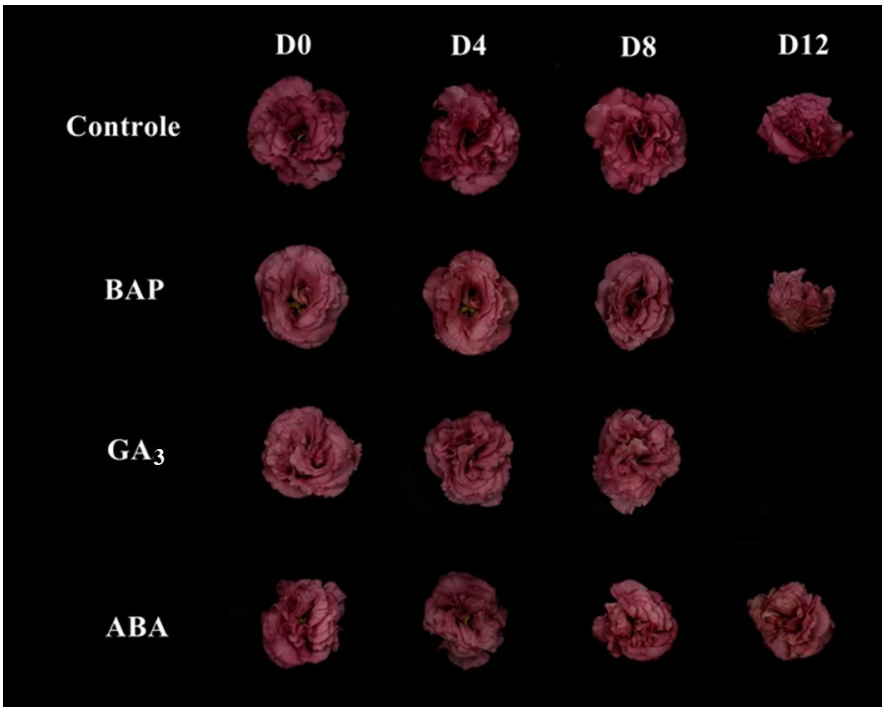

Figura 3. Monitoramento de cor de flores abertas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico). Dias de armazenamento (D0, D4, D8, e D12).

3.3.2. Teor de Antocianinas

Todos os tratamentos apresentaram aumento no teor de antocianinas ao longo dos dias de armazenamento. O tratamento BAP não apresentou diferença em relação ao controle nos dias 4 e 8. (FIGURA 4). Aos 12 dias de vaso, o tratamento com BAP apresentou o maior teor de antocianinas, justificando a coloração. (FIGURAS 2 e 4). O tratamento com GA_3 exibiu o maior teor de antocianinas entre todos os tratamentos no dia 4 até o dia 8 e neste dia não apresentou diferença com os tratamentos controle e BAP.

O tratamento ABA apresentou os menores valores de teor de antocianinas nos dias 4 e 8, entretanto no dia 12 não se diferenciou do tratamento controle (FIGURA 4). As inflorescências tratadas com ABA apresentaram menor aumento em relação aos demais. Dessa forma, pode-se inferir que o ABA reduziu o acúmulo de antocianinas. Estes resultados confirmam os dados de parâmetros de cor e demonstram que o acúmulo de antocianinas está diretamente envolvido com a aplicação dos biorreguladores.

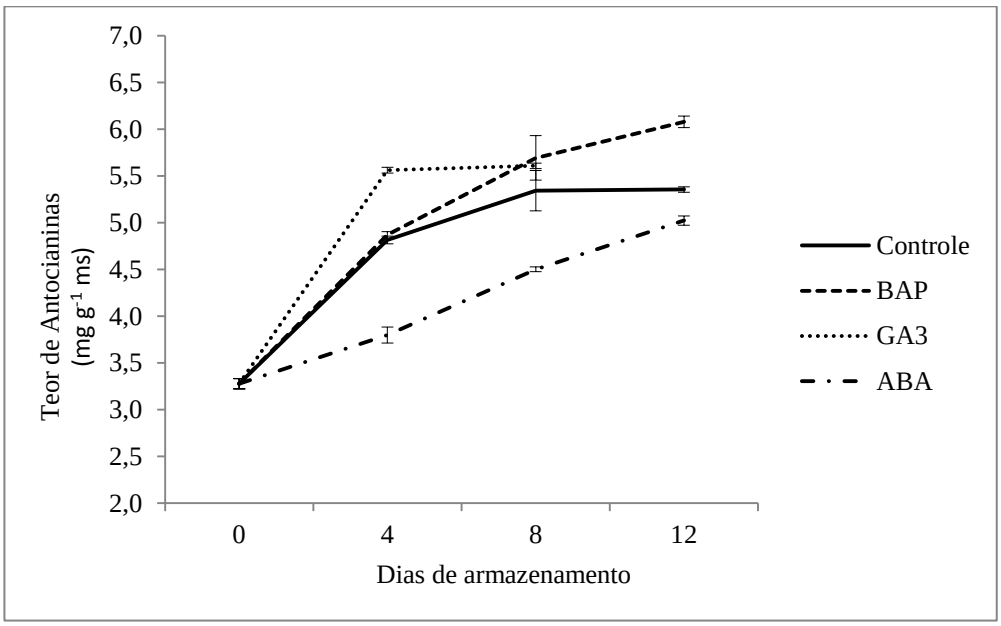

Figura 4. Teor de antocianinas de pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas soluções de *pulsing* com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico).. Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

3.3.3. Teor de Fenólicos Totais

O tratamento com BAP manteve o teor de fenólicos totais até o 8º dia, com aumento somente no 12º dia. Enquanto que o controle apresentou redução do teor de fenólicos até o 8º dia de armazenamento. No 4º dia de armazenamento, todos os tratamentos apresentaram maiores teores que o controle. No 8º dia o BAP se destacou dos demais tratamentos com o maior teor de fenólicos. (FIGURA 5).

O tratamento com ABA apresentou maior teor de fenólicos totais dentre todos os tratamentos, esse expressivo aumento foi seguido de redução para o 8º dia de armazenamento. Todos os tratamentos apresentaram aumento no teor de compostos fenólicos do dia 8 para o dia 12, entretanto não houve diferença entre os tratamentos no 12º dia.

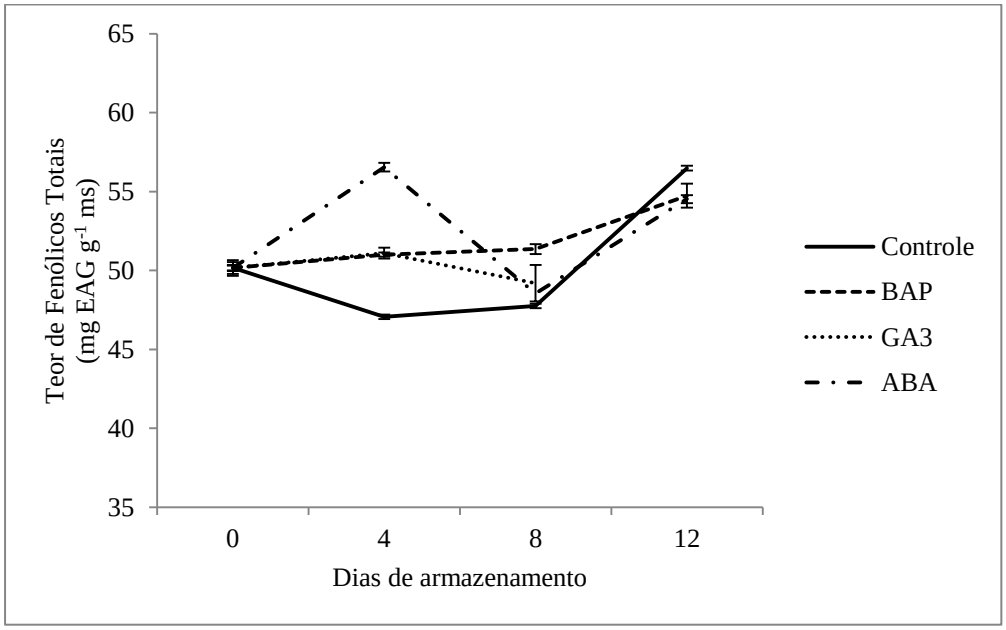

Figura 5. Teor de fenólicos totais de pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

3.3.4. Atividade da Fenilalanina amônia-liase (PAL)

Todos os tratamentos apresentaram redução da atividade da PAL ao longo do tempo. Entretanto, o tratamento BAP apresentou a maior atividade entre todos os tratamentos. (FIGURA 6). Este resultado é corroborado no 12º dia de armazenamento pelo maior acúmulo de antocianinas (FIGURA 4) e coloração mais intensa (FIGURA 2) apresentada pelas inflorescências do tratamento BAP em comparação aos demais tratamentos. O GA_3 parece interferir na atividade da PAL, pois sua atividade apresentou a maior queda em comparação

aos outros tratamentos. O tratamento com ABA não causou efeito na atividade da PAL, pois seus resultados não diferiram do controle. (FIGURA 6).

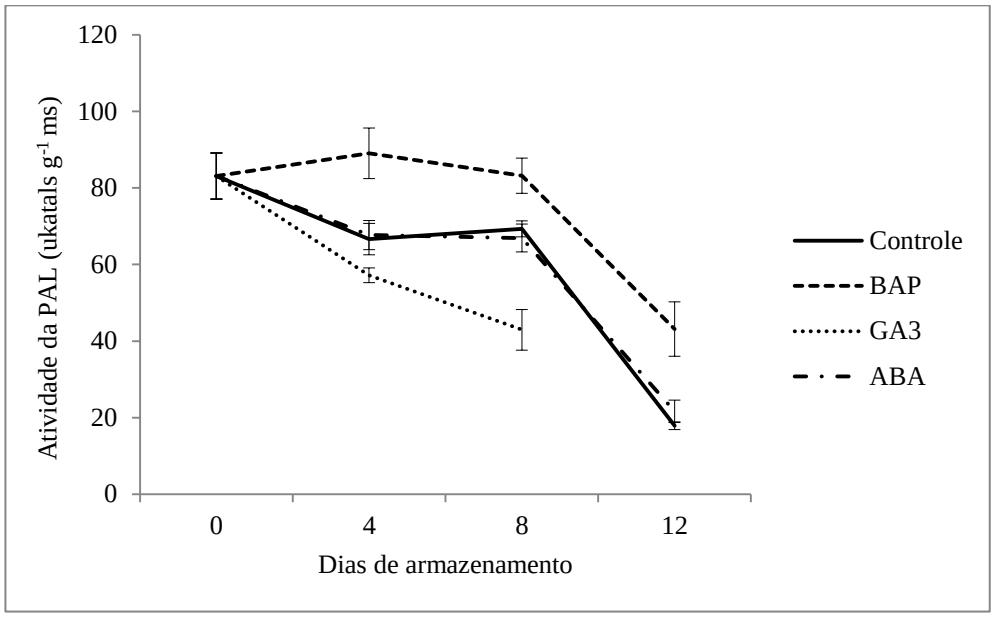

Figura 6. Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) em pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* com biorreguladores, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

3.3.5. Atividade da Peroxidase (POD)

Todos os tratamentos apresentaram aumento da atividade da POD no dia 4, entretanto todos os tratamentos com biorreguladores apresentaram menor atividade que o controle (FIGURA 7). O BAP manteve a mesma atividade do dia 4 ao dia 8, além disso, apresentou a maior atividade entre os tratamentos no dia 8. O ABA também manteve a atividade do dia 4 ao dia 8, entretanto no dia 12 houve expressivo aumento em relação aos demais tratamentos.

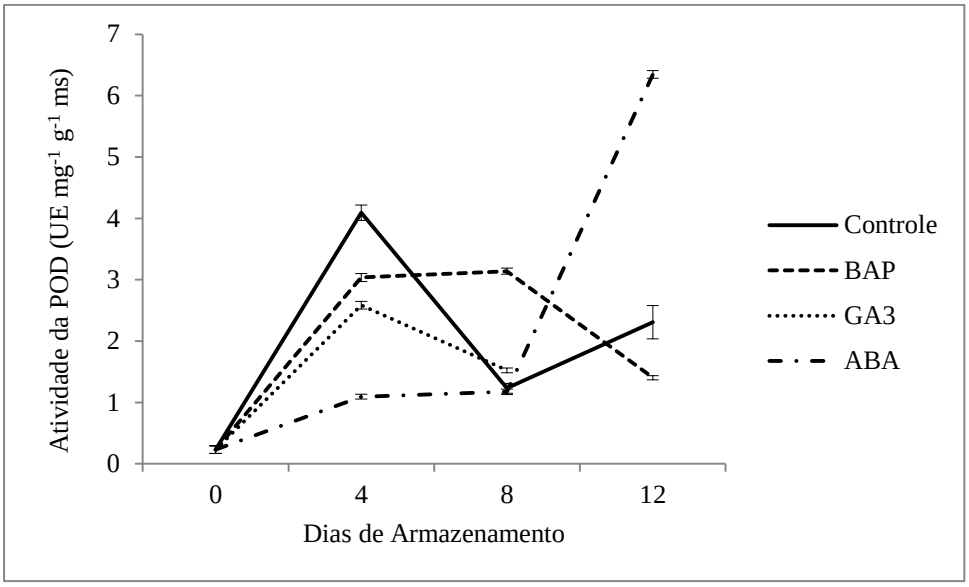

Figura 7. Atividade da peroxidase (POD) em pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing*, armazenadas à 20ºC e 80% UR. BAP (6-benzilaminopurina); GA_3 (ácido giberélico); ABA (ácido abscísico). . Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

3.4. Discussão

A coloração das pétalas é fator muito importante na pós-colheita de lisianthus, pois influencia na decisão de compra dos consumidores, já que é diretamente relacionada com a percepção visual de um produto atraente ao consumo. A coloração de lisianthus é devido ao acúmulo de antocianinas em suas pétalas, estes pigmentos são produtos do metabolismo secundário das plantas e, sendo assim, podendo ser influenciados pelos reguladores vegetais tanto endógenos quanto por meio de aplicação exógena. A fim de entender a relação entre a aplicação de biorreguladores e os aspectos visuais como o acúmulo de antocianias, avaliou-se seus teores, além da atividade da PAL e dos parâmetros de cor como cromaticidade e luminosidade.

A aplicação dos biorreguladores apresentou diferentes efeitos na coloração das pétalas de lisianthus (FIGURA 1). O acumulo de antocianinas não parece ser afetado pela aplicação de BAP nos primeiros 8 dias de armazenamento, diferentemente a aplicação de ABA resultou em menor acúmulo de antocianinas ao longo de todo armazenamento (FIGURA 4). A aplicação de BAP em solução de *pulsing* em gérbera e lisianthus apresentou aumento no teor de antocianinas, auxiliando na manutenção da coloração das pétalas após a colheita (DANAEE et al., 2011; HASSANPOUR; KARIMI, 2010). Além disso, o BAP apresentou maior atividade da PAL, embora a atividade desta enzima tenha diminuído ao

longo do tempo em todos os tratamentos (FIGURA 6). O BAP exógeno pode induzir a expressão de genes ligados à via de biossíntese da antocianina como *PAL1* (fenilalanina amônia-liase), *CHS* (chalcona sintase), *CHI* (chalcona isomerase) e *DFR* (diidroflavonol 4-redutase) causando acúmulo deste pigmento (DAS et al., 2012).

O teor de antocianinas interferiu nos parâmetros de cor em pétalas de lisianthus tratadas com *pulsing* de ABA. Pois, as inflorescências deste tratamento apresentaram menor acúmulo no teor de antocianinas, aumento da luminosidade e redução da cromaticidade ao longo dos dias de armazenamento quando comparada aos demais tratamentos (FIGURA 1). A luminosidade é representada pelo intervalo de claro e escuro e quanto mais altos os valores de L*, mais clara é a superfície analisada O parâmetro de cromaticidade está relacionado com a pureza da cor. Assim, quanto maiores seus valores, mais intensa será a coloração das pétalas e estes podem ser relacionados com o teor de antocianinas presentes em pétalas de lisianthus (UDDIN et al., 2001).

Neste contexto, a redução no teor de antocianinas refletiu diretamente na tonalidade mais clara das pétalas das inflorescências tratadas com ABA. Isto provavelmente ocorreu devido ao desvio da rota de biossíntese, onde outros tipos de flavonoides estariam sendo formados ao invés das antocianinas. Isso é interessante, pois os flavonoides estão entre os principais antioxidantes não enzimáticos produzidos durante o estresse oxidativo, envolvidos na redução das ROS (BASKAR et al., 2018), enquanto que o ABA induz a formação de ROS para sinalização e adaptação da planta ao estresse oxidativo (CHOUDHURY et al., 2017). Isto justifica a redução do acúmulo de antocianinas e o fato do tratamento com ABA formar mais fenólicos totais nos primeiros dias de armazenamento (FIGURA 5) e não afetar a atividade da enzima PAL (FIGURA 6).

Além disso, plantas expostas ao estresse oxidativo podem formar proantocianidinas em detrimento às antocianinas. As proantocianidinas estão envolvidas na indução de tolerância e expressão de genes de resposta ao estresse (LI et al., 2019). A ativação da via de sinalização do ABA pode interferir nos processos fisiológicos regulados pelas proantocianidinas induzindo a expressão de genes relacionados ao combate das ROS (LUO et al., 2016).

A superexpressão do gene *RrANR* de *Rosa rugosa*, para síntese da enzima antocianidina redutase (ANR) , que catalisa a reação de formação de proantocianidina ao custo de antocianidina , em flores de tabaco (*Nicotiana tabacum*) sujeitas ao estresse hídrico. Esta condição causou aumento do conteúdo de proantocianidinase redução do conteúdo de antocianinas, e além de aumento do ABA endógeno. Isto conferiu às plantas de tabaco

transgênicas maior resistência ao estresse oxidativo, porém as flores apresentaram pétalas de coloração branca, o que significa que esta enzima utilizou o precursor antocianidina para formação de protoantocianidinas ao invés deste ser utilizado para formação de antocianinas. É razoável que pelo menos parte dos processos fisiológicos regulados pelas PAs é mediado pela ativação da via de sinalização do ABA (LUO et al., 2016).

O mecanismo enzimático responsável pela resposta ao estresse causado pelas ROS é composto por reações de alta complexidade desempenhadas por enzimas antioxidantes. A baixa atividade da POD nas inflorescências tratadas com ABA, mesmo sob estresse, demonstra que as resposta podem pode ter ocorrido por meio da atividade de outras enzimas envolvidas neste mecanismo. O ABA tem importante papel na sinalização e adaptação das plantas ao estresse hídrico ou salino, induzindo a formação de superóxido através da enzima NADPH oxidase. No apoplasto, o superóxido é convertido em peróxido de hidrogênio pela enzima superóxido dismutase (SOD), e este está ligado à abertura dos canais de cálcio regulados por ROS presentes nas membranas das células-guarda, resultando em fechamento estomático e adaptação da planta ao estresse (CHOUDHURY et al., 2017).

Resultado semelhante foi observado em plantas de calêndula (*Calendula afficinalis* L.) cultivadas em vaso que receberam tratamento com ABA através de pulverização para avaliação de possíveis efeitos deste biorregulador na atividade antioxidante nas pétalas. Foi verificado que as plantas apresentaram maior atividade da SOD e da CAT em detrimento a da POD (SEDHIG et al., 2012).

Assim, o aumento expressivo na atividade da POD no último dia de análise das inflorescências tratadas com ABA (FIGURA 7) provavelmente ocorreu devido ao processo de senescência, onde possivelmente houve redução da atividade das enzimas antioxidantes e aumento de ROS, que são eventos que antecedem a morte celular programada (ROGERS; MUNNÉ-BOSCH, 2016).

A aplicação pós-colheita de GA_3 em lisianthus, além de aumentar o teor de antocianinas, provavelmente promoveu o desenvolvimento das inflorescências, levando à senescência. O mesmo foi constatado em crisântemos ‘Flippo’, ‘Recital’ e ‘Bronze Repim’, onde a aplicação em doses crescentes de GA_3 em solução conservante antecipou a senescência de folhas e flores, reduzindo a vida de vaso das inflorescências (BRACKMANN et al., 2005).

É sabido que as giberelinas são produzidas nas anteras em desenvolvimento e transportadas para a corola onde atuam na expansão celular e no acúmulo de pigmentos, dentre eles a antocianina (WEISS, 2000). Após esta fase, a corola não depende mais da presença de giberelina para completar o desenvolvimento ou pigmentação. Dessa forma, as

giberelinas são necessárias somente para iniciar o processo de desenvolvimento das inflorescências (PHARIS; KING, 1985) e sua aplicação exógena de giberelina pode aumentar o teor de antocianinas nas pétalas de flores de corte (WEISS, 2000).

Embora a PAL tenha apresentado a menor atividade no tratamento com GA_3 (FIGURA 6), houve aumento no teor de antocianinas até o dia 4 (FIGURA 4), como já mencionado anteriormente. Entretanto, o fato dos compostos fenólicos totais não sofrerem alteração (FIGURA 5) sugere-se que o tratamento induziu a formação de antocianinas em detrimento aos demais fenólicos nos primeiros dias de armazenamento. As giberelinas atuam indiretamente na expressão de genes ligados à via de biossíntese de antocianinas, entretanto, após a antese, a expressão destes genes começa a reduzir (WEISS et al., 1995).

A atividade da POD nas flores tratadas com GA_3 foi baixa no dia 8 de armazenamento, no entanto a perda da qualidade levou ao descarte das inflorescências no dia 12 (FIGURA 7). Assim, a baixa atividade dessa enzima pode ser sinal da senescência adiantada apresentada por este tratamento. A aplicação de GA_3 aumentou a expressão do gene *GhMPK* em plantas modelo de tabaco (*Nicotiana benthamiana*), reduzindo a atividade das enzimas POD, CAT e SOD. Dessa forma, a redução da atividade dessas enzimas, responsáveis pela resposta de defesa ao estresse, causou aumento nas espécies reativas de oxigênio nas plantas (WANG et al., 2016). Resultado semelhante foi observado em pimenta (*Capsicum annum* L.), onde a pulverização de GA_3 reduziu drasticamente a atividade da POD e CAT (ALTAEY, 2018).

Em conclusão, a aplicação de ABA na pós-colheita de lisianthus contribui para manutenção da qualidade das inflorescências, entretanto reduz o teor de antocianinas, proporcionando às pétalas coloração mais clara. Entretanto, a aplicação de GA_3 antecipa a senescência, reduzindo a qualidade pós-colheita das inflorescências.

Referências

ALI, H.M.; SIDDIQUI, M.H.; BASALAH, M.O.; ALI-WHAIBI, M.H.; SAKRAN, A.M.; AL-AMRI, A. Effects of gibberellic acido in growth and photosynthetic pigments of *Hibiscus sabdariffa* L. under salt stress. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.4, p.800-804, 2012.

ALTAEY, D. K. A. The role of GA and organic matter to reduce the salinity effect on growth and leaves contents of elements and antioxidant in pepper. **Plant Archives**, v. 18, n. 1, p. 479-488, 2018.

BASKAR, V.; VENKATESH, R.; RAMALINGAM, S. **Flavonoids (antioxidants systems) in higher plants and their response to stresses**. In: Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants. Springer, p. 253-268, 2018.

BOROHOV, A.T.; TIROSH, T.; HALEVY, A.H. Abscisic acid content of senescing petals on cut rose flowers as affected by sucrose an water stress. **Plant Physiology**, v.58, n.2, p.175-178, 1976.

BRACKMANN, A.; BELLÉ, R.A.; FREITAS, S.T.; MELLO, A.M. Qualidade pós-colheita de crisântemos (*Dedrantema grandiflora*) mantidos em soluções de ácido giberélico. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1451-1455, 2005.

CHO, M.S.; CELIKEL, F.; DODGE, L. Sucrose enhances the postharvest quality of cut flowers of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. **In. VII International Symposium on Postharvest Physiology of Ornamental Plants**, v. 543, p. 305-315, 1999.

CHOUDHURY, F.K.; RIVERO, R.M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, v.90, p.856-867, 2017.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; ZHA, J.; GULERIA, S.; KOFFAS, M.A.G. Recent advances in the recombinant biosynthesis of polyphenols. **Frontiers in Microbiology**, v.8, p.2259, 2107.

DANAEE, E.; MOSTOFI, Y.; MORADI, P. Effect of GA_3 and BA on postharvest quality and vase life of gerbera (*Gerbera jamesonii* cv. Good Timing) cut flowers. **Horticulture, Environmental, and Biotechnology**, v.53, n.2, p.140-144, 2011.

DAS, P.K.; SHIN D.H.; CHOI, S.B.; YOO, S.D.; CHOI, G.; PARK, Y.I. Cytokinins enhance sugar-induced anthocyanin biosynthesis in Arabdopsis. Molecules and Cell, v.34, n.1, p.93-101, 2012.

EMONGOR, V.E. Effects of gibberellic acid on postharvest quality and case life of gerbera cut flowers (*Gerbera jamesanii*). **Journal of Agronomy,** v.3, p.191-195, 2004.

GENG, X.M.; LI, L.; LU, L.; OKUBO, H.; OZAKI, Y. ABA improves postharvest quality of cut lilium ‘Sorbonne’ harvested in late period. **Journal of the Faculty of Agriculture, University of Kyushu,** v.60, n.1, p.81-86, 2015.

GONNET, J.F. Color effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited. A colorimetric definition using CIELAB scale. **Food Chemistry**. V. 63, p. 409-415, 1998.

HALEVY, A.H.; KOFRANEK, A.M. Evaluation of lisianthus as a new flower crop. **HortScience,** v.19, p.845-847, 1984.

HASSANPOUR, M.A.; KARIMI, M. Efficiency of benzyladenine reduced ethylene production and extended vase life of cut Eustoma flower. **Plant Omics**, v.3, n.6, p.199, 2010.

HEMEDA, H.M.; KLEIN, B.P. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. Journal of Foods Science, v.55, n.1, p.184-185, 1990.

HUNG, K.T.; CHENG, D.G.; HSU, Y.T.; KAO, C.H. Abscisic acid-induced hydrogen peroxide is required for anthocyanin accumulation in leaves of rice seedlings. **Journal of Plant Physiology,** v.165, n.12, p.1280-1287, 2008.

IMSABAI, W.; VAN DOORN, W.G. Effects of auxin, gibberellin and cytokinin on petal blackening and flower opening in cut lotus flowers (*Nelumbo nucifera*). **Postharvest Biology Technology,** v. 75, p. 54-57, 2013.

LAI, B.; LI, X.J.; HU, B.; QIN, Y.H.; HUANG, X.M.; WANG, H.C.; HU, G.B. LcMYB1 is a key determinant of differential anthocyanin accumulation among genotypes, tissues, developmental phases and ABA and light stimuli in *Litchi chinensis*. **Plos One**, v.9, n.1, e86293, 2014.

LEE, D.H.; FRANCIS, F.J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortiScience,** v.7, n.1, p. 83-84, 1972.

LI, Z.; CHEN, W.; ZHANG, C.; DU, C.; SHAO, G.; CUI, Y.; LUO, P. RcMYBPA2 of *Rosa chinensis* functions in proanthocyanidin biosynthesis and enhances abiotic stress tolerance in transgenic tobacco. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, p.1-14, 2019.

LÜ, P.; ZHANG, C.; LIU, J.; LIU, X.; JIANG, G.; JIANG, X.; KHAN, M.A.; WANG, L.; HONG, B.; GAO, J. RhHB1 mediates the antagonism of gibberellins to ABA and ethylene during rose (*Rosa hybrid*) petal senescence. **The Plant Journal**, v.78, p.578-590, 2014.

LUO, P.; SHEN, Y.; JEN, S.; HUANG, S.; CHENG, X.; WANG, Z.; LI, P.; ZHAO, J.; BAO, M.; NING, G. Overexpression of *Rosa rugosa* anthocyanidin redutase enhances tobacco tolerance to abiotic stress through increased ROS scavenging and modulation of ABA signaling. **Plant Science**, v.245, p. 35-49, 2016.

MATTIUZ, C.F.M.; RODRIGUES, T.J.D.; MATTIUZ, B.H.; PIETRO, J.D.; MARTINS, R.N. Armazenamento refrigerado de inflorescências cortadas de *Oncidium varicosum* 'Samurai'. **Ciência Rural**, v.40, n.11, p. 2288-2293, 2010.

MUSEMBI, N.N.; HUTCHINSON, M.J; WAITAKA, K. The effects of 6-benzylaminopurine and gibberellic acid on postharvest physiology of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) flowers: I. Novel synergism improves water balance and vase life. **Acta Horticulturae**, n.1077, p.47-56, 2015.

NISHA, N.; TEE CHONG, S.; MAHMOOD, M. Effect of 6-Benzylaminopurine on flowering of a 'Dendobrium' orchid. **Australian Journal of Crop Science**, v.6, n.2, p.225, 2012.

NOWAK, J.; RUDNICKI, R.M. **Postharvest handling and storage of cut flowers, florest greens and potted plants.** Portland: Timber Press, 1990. 210p.

PEIXOTO, P.H.P., CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation ando n the activities of enzymes of oxydatives metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n.3, p. 137-143, 1999.

PHARIS, R.P.; KING, R.W. Gibberellins and reproductive development in seed plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v.36, n.1, p.517-568, 1985.

ROGERS, H.; MUNNÉ- BOSCH, S. Production and scavenging of reactive oxygen species and redox signaling during leaf and flower senescence: similar but different. **Plant Physiology,** v.171, n.3, p.1560-1568, 2016.

RUNKLE, E.S.; WOOLARD, D.; CAMPBELL, C.A.; BLANCHARD, M.G.; NEWTON, L.A. Exogenous applications of abscisic acid improved the postharvest drought tolerance of several annual bedding plants. In International Conference on Quality Management in Supply Chains of Ornamentals, 755, p.127-133, 2007.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; KONDO, M.; SANOH, Y.; OHSUMI, A.; ICHIMURA, K. Effect of abscisic acid on the distribution of exogenous carbon derived from sucrose applied to cut *Eustoma* flower. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 85, n.1, p.83-87, 2010.

SIMÕES, A.N.; DINIZ, N.D.; DA SILVA VIEIRA, M.R..; FERREIRA-LIMA, S.L.; DA SILVA, M.B; MINATEL, I.O.; LIMA, G.P.P. Impacto f GA_3 and spermine on postharvest quality of anthurium cut flowers (*Anthurium andaeanum*) cv. Arizona. **Scientia Horticulturae**, v.241, p. 178-186, 2018.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, n.3, p.144, 1965.

SUBHASHINI, R.M.B.; AMARATHUNGA, N.L.K.; KRISHNARAJAH, S.A.; EESWARA, J.P. Effects of benzylaminopurine, gibberellic acid, silver nitrate and silver thiosulphate, on postharvest longevity of cut leaves of dracaena. **Ceylon Journal of Science**, v.40, n.2, p.157-162, 2011.

UDDIN, A.F.M.J.; HASHIMOTO, F.; KAETANI, M.; SHIMIZU, K.; SAKATA, Y. Analysis of light and sucrose potencies on petal coloration and pigmentation of lisianthus cultivars (in vitro). **Scientia Horticulturae**, v.89, p.73-82, 2001.

WANG, F.; WANG, C.; YAN, Y.; JIA, H.; GUO, X. Overexpression of cotton *GhMPK11* decreases disease resistance throught the gibberellin signaling pathway in transgenic *Nicotiana benthamiana*. **Frontiers in Plant Science**, v.7, n.689, 2016.

WANG, W.; XIA, M. X.; CHEN, J.; YUAN, R.; DENG, F.N.; SHEN, F.F. Gene expression characteristics and regulation mechanisms of superoxide dismutase and its physiological roles in plants under stress. **Biochemistry**, v.81, n.5, 2016.

WEISS, D. Regulation of flower pigmentation and growth: multiple signaling pathways control anthocyanin synthesis in expanding petals. **Physiologia Plantarum**, v.110, p.152-157, 2000.

WEISS, D.; VAN DER LUIT, A.; KNERGT, E.; VERMEER, E.; MOL, J.N.M.; KOOTER, J.M. Identification of endogenous gibberellins in petunias flowers. **Plant Physiology,** v.107, p.695-702, 1995.

4. APLICAÇÃO DE *PULSING* COM ÁCIDO ABSCÍSICO E CARBOIDRATOS NA PÓS-COLHEITA DE LISIANTHUS

RESUMO

As inflorescências de lisianthus apresentam desuniformidade de coloração após a colheita, em consequência dos botões florais que se abrem e não adquirem a cor característica, este problema é prejudicial à qualidade decorativa, pois resultam na depreciação comercial das flores. Os carboidratos e ácido abscísico (ABA) quando empregados em tratamentos pós-colheita podem interferir na manutenção da coloração de flores. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do ABA e dois tipos de carboidratos em inflorescências de lisianthus 'Flare Deep Rose'. Para tanto, aplicou-se em solução de *pulsing* por 24 horas doses de ABA, glicose e sacarose nos seguintes tratamentos: Controle (água destilada); glicose 250 mM; sacarose 58 mM; ABA 10 µM; glicose 250 mM + ABA 10 µM; sacarose 58 mM + ABA µM. Foram realizadas as seguintes avaliações: cor (flores abertas e botões florais), teor de antocianinas, açúcares totais e redutores, detecção histoquímica de peróxido de hidrogênio e superóxido em flores abertas, e abertura estomática. As inflorescências tratadas com glicose apresentaram botões florais que originaram pétalas de coloração mais intensa, em contrapartida, o ABA apresentou pétalas mais claras. O tratamento com sacarose apresentou os maiores teores de açúcares totais e redutores no 4º dia e antocianinas no 12º dia, além disso, inibiu a produção de superóxido nas pétalas e apresentou maior abertura estomática. Em contrapartida, os tratamentos contendo ABA apresentaram maior detecção de superóxido e consequentemente menor abertura estomática. Dessa forma, a aplicação do ABA em solução de *pulsing* causou redução da abertura estomática, entretanto esse tratamento induziu a abertura de botões florais com pétalas de coloração mais clara. A glicose induziu coloração mais intensa nos botões, sendo este tratamento viável para manutenção da coloração dos botões de lisianthus que se abrem após a colheita.

Palavras-chave: *Eustoma grandiflorum*; Ácido abscísico; Glicose; Sacarose

ABSTRACT

Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) shows nonuniform coloration of buds that open after harvest. Pulsing solutions with ABA (abscísico acid) and cahbohydrates can change the petals color. The aim of this work was to evaluate the effects of ABA and two types of carbohydrates (glucose and sucrose) in lisianthus using pulsing solutions for 24 hours. The treatments were destilled water (control), glucose 250 mM, sucrose 58 mM, ABA µM, glucose 250 mM + ABA µM and sucrose 58 mM + ABA µM. In this experiment were evaluated color parameters (flowers and buds), anthocyanin contents, total and reducing sugar content, determination of superoxide and hydrogen peroxide, and stomatal opening. The petals of buds treated with glucose showed more intense coloration,

but ABA showed buds with lighter petals. The treatment with sucrose showed higher contents of total and reducing sugar on the 4th days of storage and highest anthocyanin content on the 12th days. In addition, sucrose inhibited he production of superoxide in the petals and presented higher stomatal opening. The treatments with ABA presented increased contents of superoxide and decreased stomatal opening. Thus, pulsing solution with ABA caused decreased stomatal opening and buds with lighter petals. Glucose treatment was more effective in the maintenance of color in buds that opened after harvest.

Keywords: *Eustoma grandiflorum*; Abscisic acid; Glucose; Sucrose

4.1. Introdução

O lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) é uma importante flor de corte e atualmente está entre as principais flores comercializadas no país. No Brasil, o lisianthus tem sido cultivado desde a década de 90 e se destaca no mercado de flores devido suas inflorescências grandes, ampla variedade de cores e hastes longas (CHO et al., 1999; SALVADOR, 2000; CAMARGO et al., 2004).

A coloração das pétalas é um aspecto extremamente importante no segmento de flores de corte, já que está relacionada essencialmente com o aspecto visual do produto e influencia de maneira direta a decisão de compra do consumidor. O lisianthus apresenta acúmulo de antocianinas durante a vida de vaso, entretanto, os botões florais que se abrem após a colheita apresentam pétalas de coloração mais clara que as flores que já estavam abertas e assim, há um contraste de cores na mesma haste floral (MIZUNO et al., 2017).

Dessa forma, a utilização de tecnologias pós-colheita adequadas às necessidades fisiológicas das flores de corte é extremamente necessária para a manutenção dos aspectos visuais da qualidade e não somente da longevidade. O aumento da vida de vaso das inflorescências está baseado no fornecimento de compostos para manutenção das atividades metabólicas através de soluções conservantes que, além disso, tenham a capacidade de atenuar os processos fisiológicos que depreciam as inflorescências após a colheita.

Os carboidratos são uns dos principais compostos utilizados devido a sua importante função no metabolismo energético das plantas. Entretanto, foi demostrado que estes compostos também são capazes de induzir o acúmulo de antocianinas nas plantas, tanto nas folhas quanto em pétalas (ZHANG et al., 2015; MENG et al., 2018; GU et al., 2019). Além disso, os carboidratos possuem a capacidade de atuar como antioxidantes protegendo as

células de possíveis estresses oxidativos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ROS) que são formadas durante o estresse abiótico (KEUNEN et al., 2013).

A utilização de biorreguladores em soluções conservantes têm se tornado alternativa interessante na manutenção pós-colheita de flores. O ácido abscísico (ABA) é um biorregulador responsável pela sinalização de estresse hídrico que induz respostas de adaptação, como fechamento estomático. O ABA exógeno pode induzir a expressão de genes relacionados ao sistema de resposta ao estresse oxidativo, além de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes em vários tecidos da planta para atenuar os efeitos danosos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ROS) (LUO et al., 2016). A aplicação foliar de ABA induziu resposta ao estresse hídrico através do aumento de antioxidantes como as antocianinas e açúcares solúveis, além das enzimas como superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT) (GHASSEMI et al., 2019). A aplicação de solução de *pulsing* com ABA em lírio e lisianthus auxiliou na manutenção pós-colheita das inflorescências, além de aumentar o conteúdo de açúcares solúveis nas pétalas (GENG et al., 2015; SHIMIZU-YUMOTO et al., 2010).

Considerando que a aplicação de ABA e carboidratos pode interferir na coloração das pétalas, afetando o acúmulo de antocianinas, e ao fato de que o ABA pode induzir resistência ao estresse hídrico (causando fechamento estomático), o objetivo do trabalho foi avaliar alterações de cor das pétalas de inflorescências abertas e botões florais e na abertura estomática causada pela aplicação de soluções de *pulsing* contendo ABA, sacarose e glicose.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Material Vegetal e Tratamentos

As inflorescências de *Eustoma grandiflorum* cv. Flare Deep Rose foram obtidas de produção comercial da empresa “Monalisa Flores”, localizada no município de Paranapanema-SP (23º23'19"S e 48º43'22"W, altitude: 610 m). As hastes foram colhidas quando apresentavam de duas a três flores abertas e foram transportadas para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita no Departamento de Ciências Biológicas, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, em Piracicaba (SP). No laboratório, as hastes foram padronizadas em 50 cm de comprimento e as folhas dos primeiros 15 cm da parte inferior do caule foram retiradas, em seguida foram aleatorizadas para a aplicação dos tratamentos.

Neste trabalho foram realizados dois experimentos compostos pelos mesmos tratamentos e seguindo a mesma metodologia de condução e delineamento experimental, entretanto com análises distintas. Os tratamentos consistiram de ABA e dois tipos de carboidratos que foram aplicados através de solução de *pulsing*, por 24 horas. As doses dos carboidratos foram determinadas previamente por meio de experimentos preliminarese a dose de ABA foi preestabelecida por Shimizu-Yumoto et al. (2010). Os tratamentos foram: 1 - controle (água destilada); 2 - glicose 250 mM (Dinâmica®), 3 - sacarose 58 mM (Dinâmica®); 4 - ABA 10 µM (≥ 98,5% Nº CAS 14375-45-2 Sigma-Aldrich); 5 - 250 mM glicose + 10 µM ABA; 6 - sacarose 58 mM + 10 µM ABA.

Após a aplicação dos tratamentos, as hastes foram mantidas em solução de água destilada e dicloroisocianurato de sódio em concentração de 0,25% (StartClor®), que foi substituída a cada dia de análise. As inflorescências foram armazenadas à 20°C e umidade relativa de 80±2%. O monitoramento da qualidade foi realizado a cada quatro dias, até o décimo segundo dia de armazenamento, que correspondeu ao fim da vida útil, quando as inflorescências apresentavam qualidade inviável para comercialização. Para a determinação da inviabilidade comercial foi fixado um padrão de 50% das flores apresentando murcha e/ou sintomas de senescência.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (6 soluções de *pulsing* x 4 dias de armazenamento) com três repetições de quatro hastes cada para análise. As amostras de pétalas foram coletadas, congeladas em nitrogênio líquido, liofilizadas, moídas e armazenadas a -20°C, para posteriores análises bioquímicas.

No Experimento 1 foram realizadas as análises de colorimetria de flores abertas, açúcares totais e redutores, teor de antocianinas, detecção histoquímica de peróxido e superóxido e microscopia eletrônica de varredura das folhas. No Experimento 2 foram realizadas as análises de colorimetria de botões e índice de abertura estomática.

4.2.2. Colorimetria

As leituras foram feitas em colorímetro Minolta modelo CR-400 utilizando seis flores por repetição, foram feitas 5 leituras na face interna de cada flor. Para a análise dos botões, foram utilizados 5 botões por repetição com 4 leituras cada. Os resultados foram calculados baseados nos parâmetros L, a*, b* e expressos em luminosidade (intervalo entre o claro e o escuro) e cromaticidade (intensidade de cor). A cromaticidade foi calculada segundo Gonnet (1998). O índice de cor (IC) foi utilizado para acompanhamento da alteração de cor

durante a abertura dos botões florais, para tanto foi utilizada a seguinte fórmula: IC = 1000 x a*/(L x b*). Os botões foram acompanhados até o 10º dia de armazenamento, quando apresentaram abertura completa.

4.2.3. Teor de Antocianinas

O teor de antocianinas foi feito de acordo com o método descrito por Lee e Francis (1972), com modificações. Alíquotas de 0,1 g de pétalas acrescidas de 10 mL de metanol acidificado com HCl 1%, foram mantidas por 24 horas em repouso a 4ºC ao abrigo da luz. Em seguida, o extrato foi filtrado e o resíduo foi lavado com a solução extratora até a remoção completa do pigmento. O extrato final foi deixado em temperatura ambiente e ao abrigo da luz por duas horas, com posterior leitura da absorbância a 510 nm (Biochrom Libra S22 UV-Vis, Cambrige, UK). O teor de antocianinas totais foi quantificado utilizando a seguinte fórmula: Antocianinas Totais = (Absorbância x Fator de Diluição) / 98,2. Onde: Fator de Diluição = (Volume do extrato/ Volume da alíquota) x 100. Os resultados foram expressos em mg g^{-1} de massa seca.

4.2.4. Açúcares Totais

Para extração dos açúcares foram utilizados 5 mg de amostra de pétalas em 5 mL de etanol 80%, agitados em vórtex e levadas ao banho-maria à 60ºC, por 30 minutos. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 6440 x *g* (Jouan BR4i, Paris, França) por 5 minutos e o sobrenadante foi coletado. Para completa extração dos açúcares da amostra os procedimentos foram repetidos, combinando-se os sobrenadantes. Após isso, etanol 80% foi adicionado de modo a completar o volume do extrato para 10 mL.

A quantificação do teor de açúcares totais foi realizada de acordo com a metodologia fenol-sulfúrico de Dubois et al. (1956). Para a reação, acrescentou-se 100 µL de extrato, 900 µL de água destilada, 500 µL de fenol 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico P.A. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 490 nm (Biochrom Libra S22 UV-Vis, Cambrige, UK) e os resultados foram expressos em mg de glicose g^{-1} de massa seca.

4.2.5. Açúcares Redutores

Para a análise de açúcares redutores utilizou-se o mesmo extrato de açúcares totais. O ensaio foi realizado seguindo a metodologia de Somogyi-Nelson (Nelson, 1944), com modificações. Foram adicionados 80 µL de extrato e 160 µL de solução de Somogyi-Nelson I. Após agitação, os tubos foram levados ao banho-maria em ebulição por 6 minutos, sendo então resfriados em banho de gelo por 5 minutos. Acrescentou-se 160 µL de Somogyi-Nelson II e o extrato foi deixado em repouso por 5 minutos, em temperatura ambiente, posteriormente foram adicionados 2 mL de água destilada. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nm (Biochrom Libra S22 UV-Vis, Cambrige, UK) e os resultados expressos em mg de glicose g^{-1} de massa seca.

4.2.6. Detecção Histoquímica de Peróxido de Hidrogênio e Superóxido

Para estas análises foram coletadas pétalas externas de flores abertas logo após a aplicação do *pulsing* de 24 horas. A visualização da produção de superóxido foi feita por teste histoquímico. Os tecidos foram mantidos por 4 horas em solução de tetrazólio nitroazul (NBT) para detecção de superóxido. Antes de avaliar as lesões, os tecidos foram infiltrados a vácuo dentro da solução, por 30 minutos. A solução foi composta de 0,1% de NBT em 50 mM de buffer fosfato de potássio e 10 mM de azida de sódio. O princípio deste método baseia-se na reação de superóxido com NBT e consequente produção de formazan, que possui coloração roxa (GRELLET BOURNONVILLE; DÍAZ-RICCI, 2011).

Para a visualização do peróxido (H_2O_2) os tecidos foram mantidos por 4 horas em solução 3’3-Diaminobenzedina (DAB). Após esse período os tecidos foram infiltrados a vácuo dentro da solução, por 30 minutos. A solução para a detecção de H_2O_2 foi feita pela diluição de 0,1% de DAB em água destilada. O pH da solução foi corrigido com HCl até 3,8. O princípio deste método baseia-se na formação de um polímero insolúvel entre H_2O_2 e DAB, como descrito por (THORDAL-CHRISTENSEN et al., 1997). As imagens foram capturadas em microscópio trinocular Leica DM LB acoplado na câmera de vídeo Leica DC 300F e processada em computador para confecção das imagens.

4.2.7. Abertura Estomática

Para medir a abertura dos estômatos foi utilizada a técnica de *imprints* (POLLE et al., 1996), na qual se adiciona uma camada de esmalte incolor sobre a epiderme das folhas, seguida da retirada do *imprint* após secagem com auxílio de pinça e colocadas sobre lâminas histológicas e identificadas. Foram utilizadas 5 folhas, com *imprint* na face abaxial em 2 áreas opostas a nervura principal, na região mediana da folha, totalizando 24 imagens, por tratamento nos dias 0 (antes da aplicação dos tratamentos), 1 (logo após o tratamento *pulsing* de 24 horas) e 2 (48 horas após a aplicação). Nestas imagens foram feitas medidas transversais na região central do ostíolo de cada estômato das imagens (comprimento transversal da abertura). As imagens foram capturadas em microscópio trinocular Leica DM LB acoplado na câmara de vídeo Leica DC 300 F e a utilizado o programa *Image J* para as medidas da abertura dos ostíolos nas imagens. Os resultados foram expressos em µm.

4.2.8. Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software R Studio (versão 3. 2. 5). Os resultados foram submetidos a análise de variância e expressos como média ± erro padrão. A normalidade e homogeneidade dos dados foram verificadas pelo teste de Shapiro-Wilk e de Bartlett, respectivamente. A diferença estatística entre as médias foi calculada pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

4.3. Resultados

4.3.1. Colorimetria

- Parâmetros de cor das flores abertas

Os tratamentos não apresentaram diferença quanto à cromaticidade e luminosidade no 4º dia, entretanto, foram observadas diferenças nos tratamentos a partir do 8º dia (FIGURA 1,2 e 3).

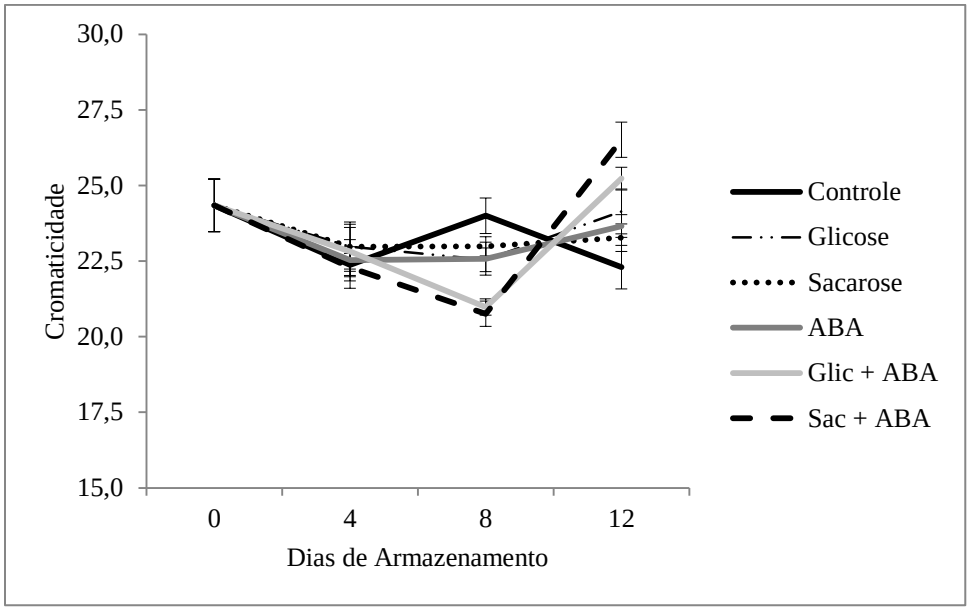

Figura 1. Cromaticidade das pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* com ABA, sacarose e glicose, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

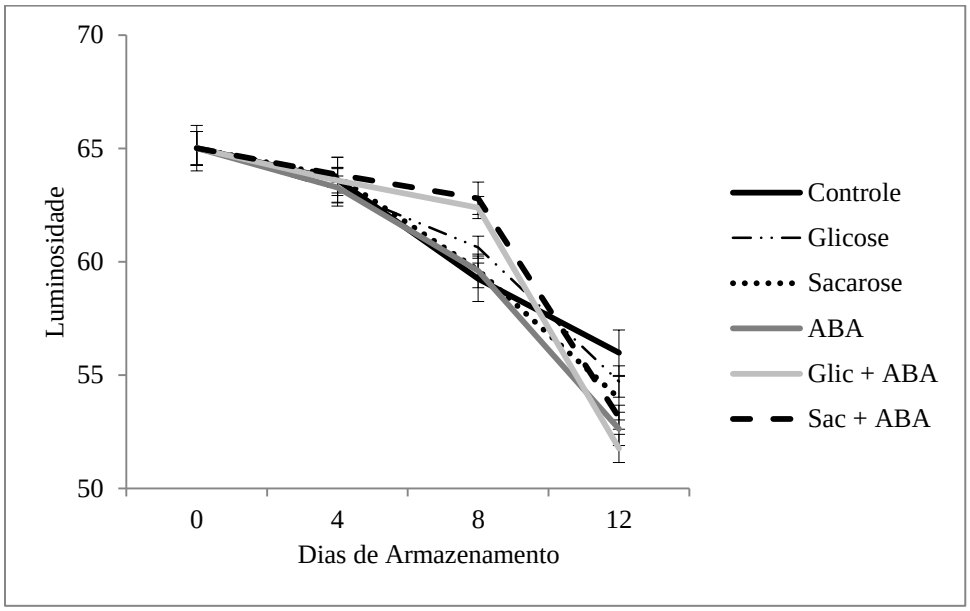

Figura 2. Luminosidade de pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* com ABA, sacarose e glicose, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

Quanto à cromaticidade, os tratamentos ABA + sacarose e ABA + glicose apresentaram redução quando comparados ao controle no 8º dia de armazenamento. Os tratamentos glicose, sacarose e ABA não diferiram entre si e também dos demais tratamentos. No 12º dia, os tratamentos ABA + sacarose e ABA + Glicose diferiram do controle

apresentando maior cromaticidade, os demais tratamentos não apresentaram diferença (FIGURA 1).

Todos os tratamentos apresentaram redução dos valores de luminosidade ao longo do tempo. Os tratamentos ABA + glicose e ABA + sacarose apresentaram os maiores valores de luminosidade no 8º dia de armazenamento quando comparados ao controle. Os tratamentos com glicose, sacarose e ABA não diferiram do controle. No 12º e último dia de armazenamento, o tratamento ABA + glicose apresentou o menor valor de luminosidade em relação ao controle (FIGURA 2), os demais não apresentaram diferença neste dia.

Figura 3. Representação da percepção da cores das pétalas de flores abertas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções *pulsing* com ABA, glicose e sacarose, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA).

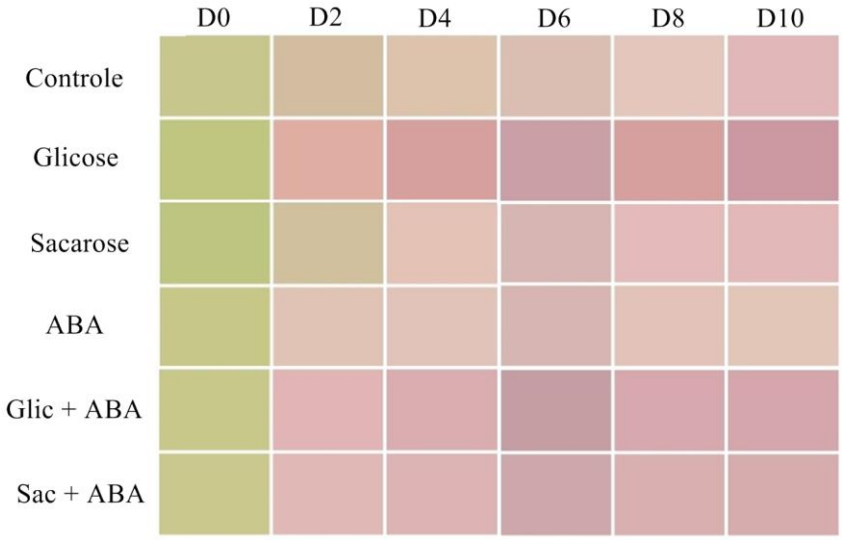

Figura 4. Representação da percepção de cores das pétalas dos botões de lisianthus cv. Flare Deep Rose durante a antese até a abertura total. Inflorescências armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA).

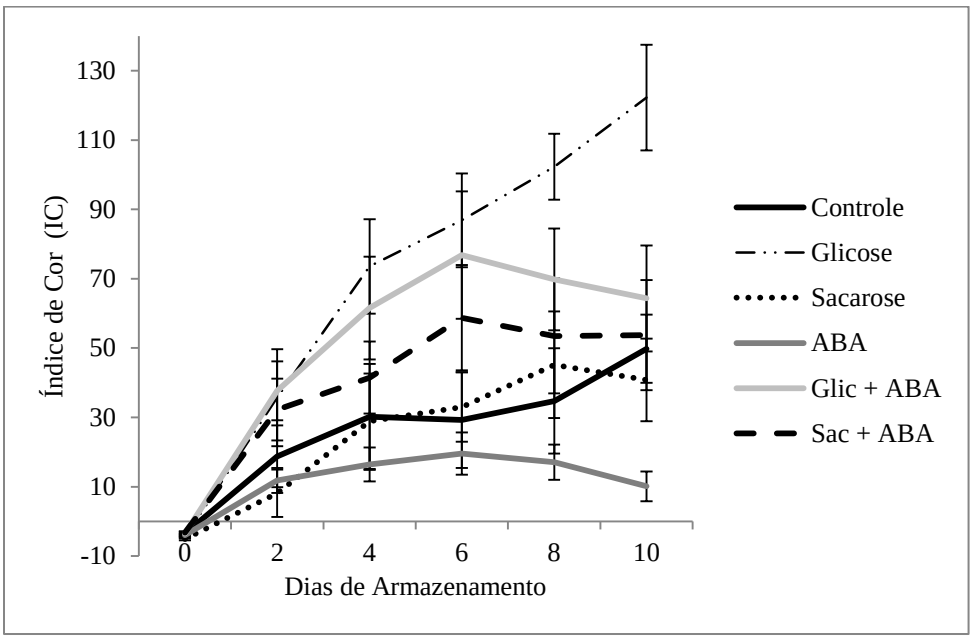

Figura 5. Índice de cor (IC) das pétalas dos botões de lisianthus cv. Flare Deep Rose durante a antese até a abertura total. Inflorescências armazenadas por 10 dias à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

- Parâmetros de cor dos botões

Os tratamentos alteraram a coloração dos botões durante a abertura. Embora os botões estivessem aparentemente do mesmo tamanho e estágio de desenvolvimento, estes

apresentaram grande variação na coloração durante a abertura. Este fato foi observado inclusive dentro das repetições de um mesmo tratamento. Dessa forma, essas variações levaram alguns tratamentos a não apresentarem diferenças entre si, como observado na figura 5.

Para representar a mudança de cor característica das pétalas durante a abertura floral foi determinado o índice de cor (IC), onde os valores negativos representam as tonalidades de verde e quanto mais altos os valores mais próximos são da tonalidade vermelha. O tratamento com *pulsing* de glicose apresentou IC mais alto em comparação ao controle até último dia de armazenamento, além disso, nos dois últimos dias foi o maior índice entre todos os tratamentos. Isto pode ser observado na escala de cor, onde a glicose foi o tratamento com maior intensidade de rosa (FIGURA 4).

O tratamento ABA apresentou menor índice de cor no 12º dia de armazenamento. Entretanto, quando comparado com o tratamento glicose fica evidente a tonalidade mais clara deste tratamento (FIGURAS 4 e 5).

Os tratamentos com sacarose e ABA + sacarose não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle. O tratamento ABA + glicose se diferenciou do controle apenas no 6º dia de armazenamento com maior índice de cor.

4.3.2. Teor de Antocianinas

Todos os tratamentos de *pulsing* e o controle apresentaram aumento do teor de antocianinas ao longo dos dias de armazenamento. Aparentemente, este acúmulo de antocianinas durante o desenvolvimento pós-colheita é uma característica das inflorescências de lisianthus cv. Flare Deep Rose. Entretanto, os tratamentos de *pulsing* interferiram neste acúmulo. No 8º dia, o tratamento ABA+ sacarose apresentou o maior teor de antocianinas, enquanto os tratamentos sacarose e ABA + glicose apresentaram menor teor quando comparado aos demais tratamentos (FIGURA 6). No 12º dia de armazenamento o tratamento com sacarose apresentou o maior teor de antocianinas entre todos os tratamentos.

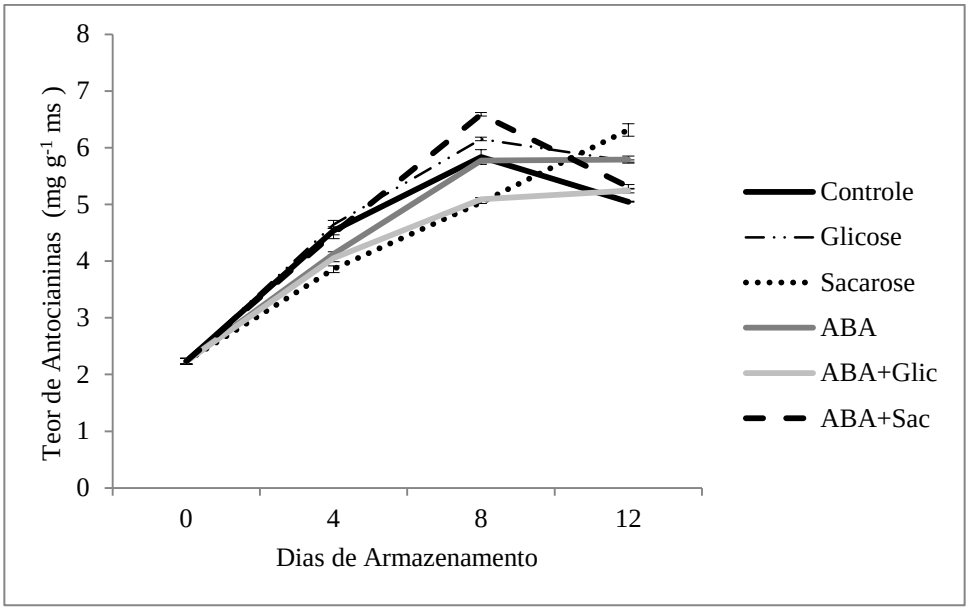

Figura 6. Teor de antocianinas em pétalas de flores abertas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* de ABA, glicose e sacarose, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

4.3.3. Teor de Açúcares Totais

Todos os tratamentos apresentaram redução do teor de açúcares totais. Exceto o tratamento com sacarose que provocou aumento no teor de açúcares totais no 4º dia de armazenamento, sendo que o menor teor foi apresentado pelo controle. Os demais tratamentos não apresentaram diferença entre si (FIGURA 7).

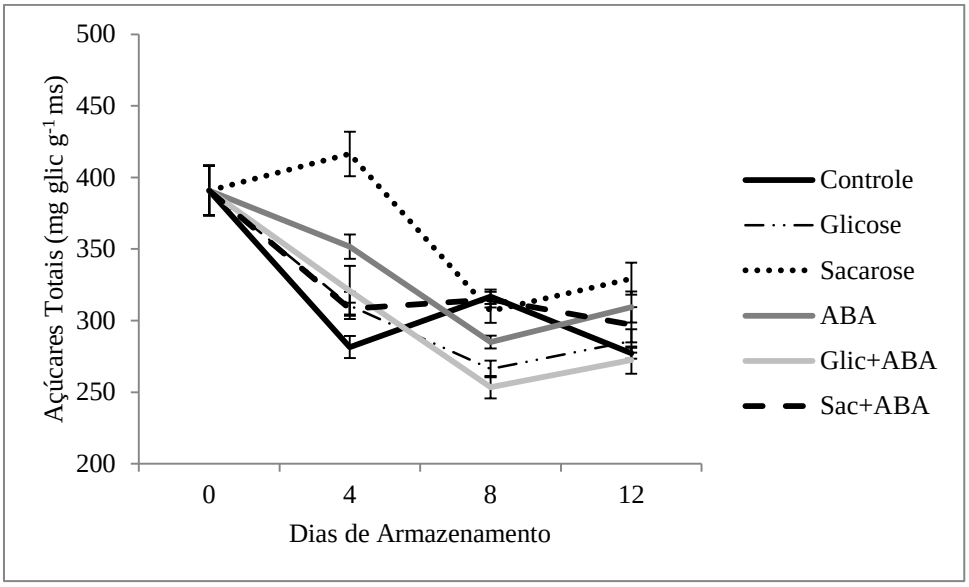

Figura 7. Teor de açúcares totais em pétalas de flores abertas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* de ABA, glicose e sacarose, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

No 8º dia, os tratamentos ABA + glicose e glicose apresentaram os menores teores de açúcares totais quando comparados com o controle. Os demais tratamentos não apresentaram diferença neste dia em relação ao controle e entre si. No 12º dia de armazenamento, as inflorescências tratadas com sacarose apresentaram maior teor de açúcares totais quando comparadas aos tratamentos controle e ABA + glicose, entretanto não apresentou diferença entre os demais tratamentos.

4.3.4. Teor de Açúcares Redutores

Assim como observado no teor de açúcares totais, todos os tratamentos apresentaram diminuição dos açúcares redutores durante os dias de armazenamento (FIGURA 8). No 4º dia, o tratamento com sacarose apresentou maior teor de açúcares redutores quando comparado aos demais tratamentos. (FIGURA 8).

Não houve diferença entre o controle e os demais tratamentos no 8º dia de armazenamento. Entretanto, no último dia, a sacarose apresentou maior teor de açúcares redutores quando comparada com o controle ABA + glicose e ABA + sacarose, os tratamentos glicose e ABA não diferiram dos demais tratamentos, incluindo do controle.

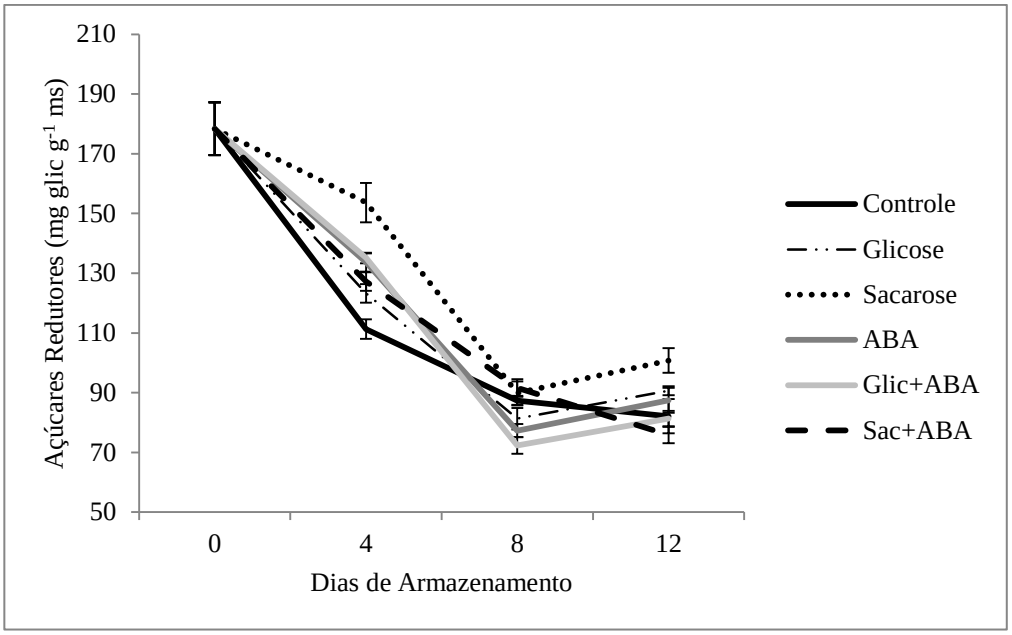

Figura 8. Teor de açúcares redutores em pétalas de flores abertas de lisianthus cv. Flare Deep Rose tratadas com soluções de *pulsing* de ABA, glicose e sacarose, armazenadas por 12 dias à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA). Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

4.3.5. Detecção Histoquímica de Superóxido (NBT) e Peróxido de Hidrogênio (DAB)

Os tratamentos ABA, ABA + glicose e ABA + sacarose causaram maior produção de superóxido nas pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose. Dessa forma, o ABA parece induzir a produção dessa ROS mesmo em associação com os dois tipos de carboidratos. Interessantemente, o pulsing de sacarose parece inibir a produção desta ROS, já que este tratamento não apresentou alteração na coloração das pétalas (FIGURA 9).

O tratamento ABA induziu a produção de peróxido, pois foi observada alteração de cor na região das nervuras causadas pelo DAB, deixando-as mais evidentes. Os demais tratamentos parecem não afetar a produção de peróxido, pois não houve alteração de cor nas pétalas.

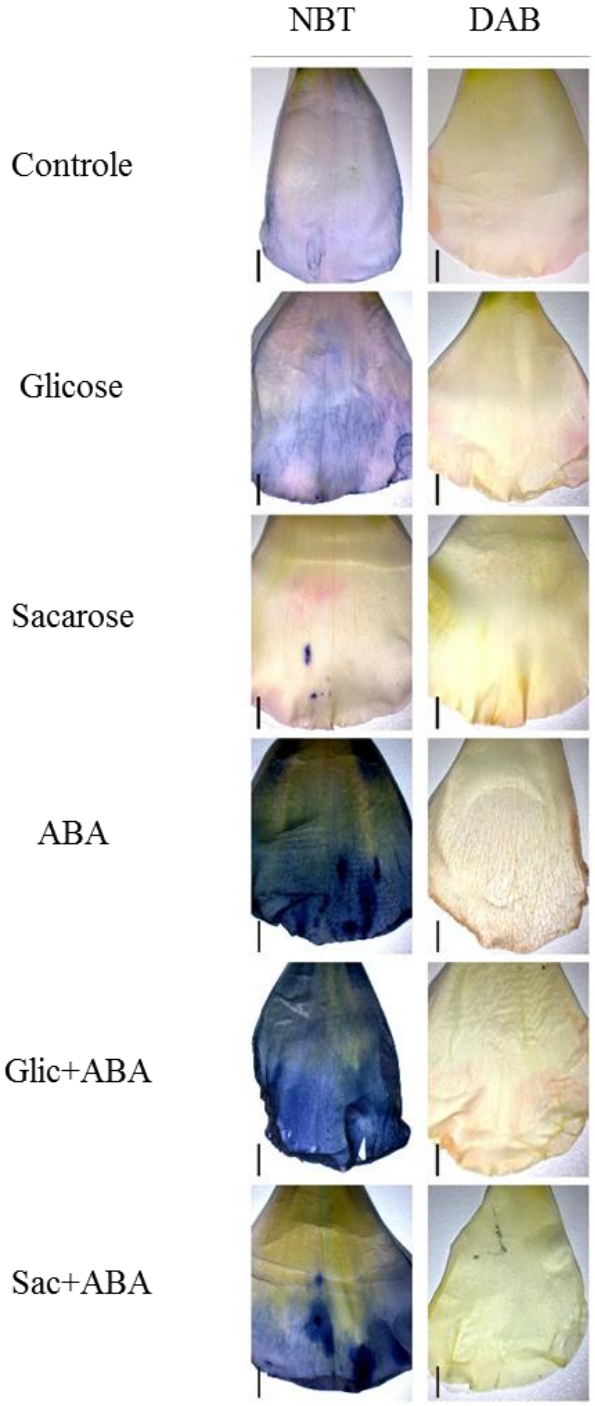

Figura 9. . Detecção histoquímica de superóxido (NBT) e peróxido de hidrogênio (DAB) em pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose 24 horas após a aplicação dos tratamentos de *pulsing* (Dia 1). Inflorescências armazenadas à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA).

4.3.6. Abertura Estomática

A aplicação de *pulsing* contendo ABA, isoladamente ou em associação com glicose ou sacarose, causou redução da abertura estomática, verificada no primeiro e segundo dia após o tratamento. A sacarose aumentou a abertura estomática no segundo dia, enquanto a glicose parecer ter causado pouco efeito (FIGURA 10).

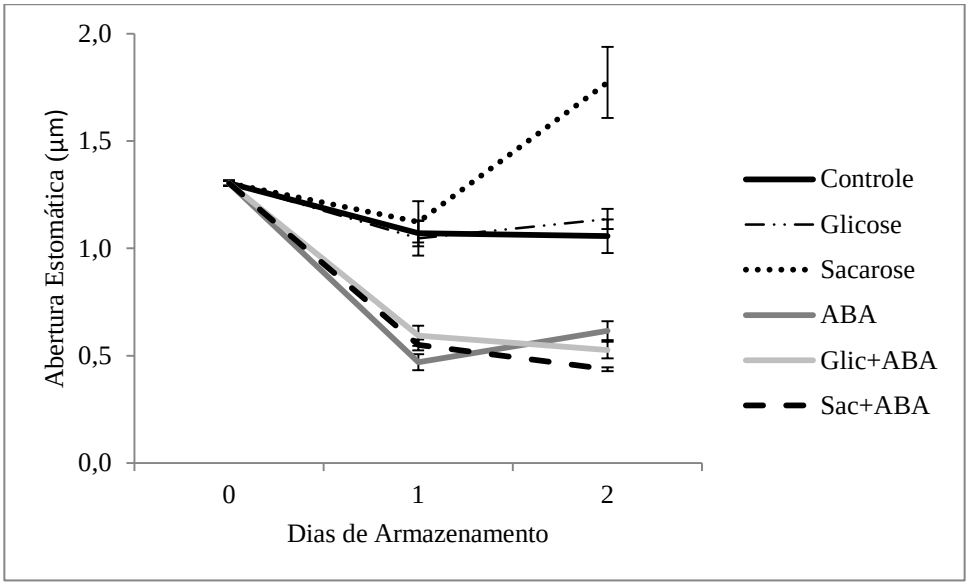

Figura 10. Medidas da abertura dos estômatos em folhas de lisianthus cv. Flare Deep Rose nos dias 0, 1 e 2, armazenadas à 20ºC e 80% UR. ABA (Ácido abscísico); Glic + ABA (Glicose + ABA); Sac + ABA (Sacarose + ABA). Dia 0 = antes da aplicação dos tratamentos de *pulsing;* Dia 1 = após a aplicação dos tratamentos de *pulsing*. Barras verticais representam erro padrão da média (n=3).

4.4. Discussão

A cor é um dos principais fatores que determinam a qualidade das inflorescências, principalmente após a colheita, quando começam a ocorrer alterações fisiológicas que interferem na pigmentação das pétalas. Os parâmetros de cor (cromaticidade e luminosidade) estão relacionados com o conteúdo de antocianinas nas inflorescências Assim, durante o desenvolvimento da maioria das espécies de flores há redução da cromaticidade e aumento da luminosidade, devido à redução dos teores de antocianinas (ZHANG et al., 2014; LIU et al., 2019). Entretanto, neste trabalho foi observado aumento na cromaticidade no último dia de armazenamento e redução da luminosidade nas flores abertas (FIGURAS 1 e 2), e isto esteve

relacionado ao aumento no teor de antocianinas nas pétalas de lisianthus cv. Flare Deep Rose ao longo do armazenamento (FIGURA 6).

A biossíntese de antocianinas em lisianthus somente começa pouco antes da abertura floral, quando os botões atingem o tamanho máximo de desenvolvimento, e continua mesmo após a abertura floral (DAVIES et al., 1993; OREN-SHAMIR et al., 1999). Assim, os botões das inflorescências que abriram posteriormente à colheita não desenvolveram pigmentação característica (FIGURAS 4 e 5). Quando as hastes de lisianthus são separadas da planta-mãe, há redução no acúmulo de antocianinas e os botões dão origem a inflorescências de coloração desuniforme em comparação às demais inflorescências que compõem a haste (MIZUNO et al., 2017).

As pétalas de lisianthus permanecem com coloração verde clara durante os primeiros estádios de desenvolvimento dos botões, pois há acúmulo de flavonóis em detrimento de antocianinas. Os genes responsáveis pela enzima flavonol sintase são expressos antes das enzimas responsáveis pela produção de antocianinas em lisianthus. Dessa forma o acúmulo desses compostos é dividido temporalmente durante o desenvolvimento dos botões (NODA et al., 2004), ao contrário do que ocorre com a maioria das inflorescências, onde o acúmulo de antocianinas nos botões acorre paralelamente ao desenvolvimento do tecido das pétalas (MARTIN; GERATS, 1993).

O tratamento com *pulsing* de glicose resultou em botões que abriram com coloração mais intensa em relação aos demais tratamentos (FIGURAS 4 e 5), embora não seja de mesma tonalidade das flores colhidas abertas. Entretanto, esta é uma alternativa viável para a disparidade de cor ocasionada pelo corte das hastes em lisianthus. Os carboidratos podem induzir a produção e acúmulo de antocianinas nas pétalas, atuando como moléculas sinalizadoras que participam da expressão de genes relacionados à produção destes pigmentos (GU et al., 2019). Os efeitos positivos da aplicação de carboidratos na coloração e no conteúdo de antocianinas foram estudados em diversas flores de corte, como lisianthus, lírio e peônia (UDDIN et al., 2001; MINAKUCHI et al., 2009; ZHANG et al., 2015).

Ao contrário do tratamento com glicose, o ABA resultou em botões que abriram com pétalas de coloração mais clara (FIGURA 5), provavelmente devido à redução do acúmulo de pigmentos. A aplicação de ABA provavelmente aumentou à resistência das inflorescências de lisianthus e como reflexo produziu outros tipos de fenólicos como antioxidantes ao invés das antocianinas para pigmentação das pétalas. Segundo Li et al. (2019), plantas sujeitas ao estresse abiótico podem formar proantocianidinas (PAs) em detrimento de antocianinas, já

que as PAs estão envolvidas na indução de tolerância ao estresse e na expressão de genes de resposta ao estresse oxidativo.

A superexpressão do gene *RrANR* (antocianidina redutase) de *Rosa rugosa* em plantas de tabaco sujeitas ao estresse hídrico causou aumento no conteúdo de PAs e redução de antocianinas, o que ocasionou aumento na resistência das plantas aos estresses abióticos, porém as flores apresentaram pétalas de coloração branca. O aumento do conteúdo de PAs foi acompanhado pelo aumento do conteúdo endógeno de ABA nestas plantas. Foi observado pelos autores através da aplicação de ABA que possivelmente os processos fisiológicos de indução de resistência ao estresse regulados pelas PAs é mediado pela via de sinalização do ABA (LUO et al., 2016).

Além disso, os tratamentos com ABA induziram fechamento estomático nas folhas de lisianthus (FIGURA 10). Este biorregulador tem importante função de molécula sinalizadora de estresse hídrico nas plantas, impulsionando a formação de superóxido através da enzima NADPH oxidase e no apoplasto o superóxido é convertido em peróxido de hidrogênio pela enzima SOD. O peróxido de hidrogênio formado causa abertura dos canais de cálcio presentes nas células-guarda resultando em fechamento estomático (CHOUDHURY et al., 2017).

No presente trabalho, os tratamentos com ABA, isoladamente ou associados aos carboidratos, provocaram expressiva produção de superóxido nas pétalas (FIGURA 9). O aumento na produção destas ROS nas pétalas é semelhante ao que ocorre nas folhas para indução do fechamento estomático causada pelo ABA. O mesmo foi observado em cravo-amarelo (*Tagetes erecta* L.) sujeitos ao estresse hídrico que apresentaram produção de superóxido e peróxido tanto nas pétalas quanto nas folhas (TIAN et al., 2012).

Interessantemente, a sacarose não causou produção de ROS nas pétalas, provavelmente devido ao fato deste carboidrato ter apresentado função antioxidante inibindo à produção de superóxido. Os açúcares solúveis, como sacarose, oligossacarídeos da família da rafinose e frutose, são capazes de atuar como antioxidantes. A variação no teor destes carboidratos pode alterar a expressão de genes envolvidos na resposta ao estresse oxidativo (KEUNEN et al., 2013). Além disso, o tratamento com sacarose afetou o metabolismo dos estômatos, causando maior abertura estomática. A sacarose é considerada um importante osmólito orgânico, podendo auxiliar ou mesmo substituir o potássio, principal íon orgânico envolvido na abertura estomática (TALBOT; ZEIGER, 1996; MEDEIROS et al., 2019).

Em suma, o tratamento com *pulsing* de glicose é o mais eficaz na manutenção da coloração de lisianthus cv. Flare Deep Rose, sendo esta uma alternativa viável para a

manutenção da cor dos botões que se abrem após a colheita. O ABA causa fechamento estomático nas inflorescências de lisianthus, mas interfere na coloração dos botões que se abrem após a colheita, dando origem à inflorescências com pétalas mais claras.

Referências

CAMARGO, M.S.; SHIMIZU, L.K.; SAITO, M.A.; KAMEOKA, C.H.; MELLO, S.C.; CARMELLO, Q.A.C. Crescimento e absorção de nutrientes pelo lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cultivado em solo. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.1, p. 143-146, 2004.

CHO, M.S.; CELIKEL, F.; DODGE, L. Sucrose enhances the postharvest quality of cut flowers of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. **In. VII International Symposium on Postharvest Physiology of Ornamental Plants**, v. 543, p. 305-315, 1999.

CHOUDHURY, F.K.; RIVERO, R.M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, v.90, p.856-867, 2017.

DAVIES, K.M.; BRADLEY, J.M.; SHWIM, K.E.; MARKHAM, K.R.; PODIVINSKY, E. Flavonoid biosynthesis in flower petals of five lines of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Grise). Plant Science, v.95, p.38-43, 1993.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; BEBERS, P.A. SMITH, F. Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.248-254, 1956.

GENG, X.M.; LI, M.; LU, L.; OKUBO, H.; OZAKI, Y. ABA improves postharvest quality of cut lilium 'Sorbonne' harvested in late period. **Faculty of Agriculture, Kyushu University**, v. 60, n.1, p.81-86, 2015.

GHASSEMI, S.; GHASSEMI-GOLEZANI, K.; SALMASI, S.Z. Changes in antioxidants activities and physiological traits of ajowan in response to water stress and hormonal application. **Scientia Horticulturae,** v. 246, p.957-964, 2019.

GONNET, J.F. Color effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited. A colorimetric definition using CIELAB scale. **Food Chemistry**, v. 63, p. 409-415, 1998.

GRELLET BOURNONVILLE, C.F.; DÍAZ-RICCI, J.C. Quantitative determination of superoxide in plant leaves using a modified NBT staining method. **Phytochemical Analysis**, v.22, n.3, p.268-271, 2011.

GU, K.D.; WANG, C.K.; HU, D.G.; HAO, Y.J. How do anthocyanins paint our horticultural products. **Scientia Horticulturae,** v.249, p.257-262, 2019.

KEUNEN, E.; PESHEV, D.; VANGRONSVELD, J.; VAN DEN END, W.; CUYPERS, A. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. **Plant, Cell and Environment**, v.36, p.1242-1255, 2013.

LEE, D.H.; FRANCIS, F.J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortiScience,** v.7, n.1, p. 83-84, 1972.

LI, Z.; CHEN, W.; ZHANG, C.; DU, C.; SHAO, G.; CUI, Y.; LUO, P. RcMYBPA2 of *Rosa chinensis* functions in proanthocyanidin biosynthesis and enhances abiotic stress tolerance in transgenic tobacco. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, p.1-14, 2019.

LIU, Y.; LIN, T.; DU, L.; WANG, J.; YANG, X.; JIANHUA, Z.; ZHANG, P.; LI, Y.; SHI, J.; YANG, X. Sampling for DUS test of flower colors of *Ranunculus asiaticus* L. in view of spatial and temporal changes of flower colorations, anthocyanins contents, and gene expression levels. Molecular, v.24, n.3, 2019.

LUO, P.; SHEN, Y.; JEN, S.; HUANG, S.; CHENG, X.; WANG, Z.; LI, P.; ZHAO, J.; BAO, M.; NING, G. Overexpression of *Rosa rugosa* anthocyanidin redutase enhances tobacco tolerance to abiotic stress through increased ROS scavenging and modulation of ABA signaling. **Plant Science**, v.245, p. 35-49, 2016.

MARTIN, G.; GERATS, T; Control of pigments biosynthesis genes during petal development. **Plant Science**, v.5, p. 1253-1264, 1993.

MEDEIROS, D.B.; LUZ, L.M.; OLIVEIRA, H.O.; ARAÚJO, W.L.; DALOSO, D.M.; FERNIE, A.R. Metabolomic for understanding stomatal movements. **Theoretical and Experimental Plant Physiology,** v.31, n.1, p. 91-102, 2019.

MENG, L.S.; XU, M.K.; WAN, W.;YU, F.; LI, C.; WANG, J.Y.; WEI, Z.Q.; LV, M.J.; CAO, X.Y.; LI, Z.Y.; JIANG, J.H. Sucrose signaling regulates anthocyanin biosynthesis through a MAPK cascade in *Arabidopsis thaliana.* **Genetics**, v.210, p.607-619, 2018.

MINAKUCHI, S.; ICHIMURA, K.; NAKAYAMA, M.; HISAMATSU, T.; KOSHIOKA, M. Effects of high-sucrose concentration treatments on petal color pigmentation and concentration of sugars and anthocyanins in petals of but carnations (*Dianthus caryophyllus*). **Horticultual Research** (Japan), 2008.

MIZUNO, T.; FUKUTA, N.; SHIMIZU-YUMOTO, H. Nonuniform coloration of harvested flower buds of double-flowered *Eustoma* is reduced by methyl jasmonate treatment. **The Japanese Society for Horticultural Science,** p. OKD-001, 2017.

NELSON, N. A photometric adaptation of Somogyi method for determination of glucose. **Journal of Biologic Chemistry**, v.153, n.2, p.375-380, 1944.

NODA, N.; KANNO, Y.; KATO, N.; KAZUMA, K.; SUZUKI, M. Regulation of genes expression involved in flavonol and anthocyanin biosynthesis during petal development in lisianthus (*Eustoma grandiflorum*). **Physiologia Plantarum**, v.22, p.305-313, 2004.

OREN-SHAMIR, M.; SHAKED-SACHRAY, L.; LEVI-NISSIM, A.; ECKER, R. Anthocyanin pigmentation of lisianthus flower petals. **Plant Science**, v.140, p.81-86, 1999.

POLLE, I.; WEIYERS, J.D.; LAWSON, T.; RAVEN, J.A. Variations in stomatal density and index: implications for palaeoclimatic reconstructions. **Plant Cell & Environment,** v.19, n.6, p.705-712, 1969.

SALVADOR, E.D. **Caracterização física e formulação de substrato de algumas espécies ornamentais.** 2000. 148f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; KONDO, M.; SANOH, Y.; OHSUMI, A.; ICHIMURA, K. Effect of abscisic acid on the distribution of exogenous carbon derived from sucrose applied to cut *Eustoma* flower. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 85, n.1, p.83-87, 2010.

TALBOT, L.D.; ZEIGER, E. Central roles for potassium and sucrose in guard-cell osmoregulation. **Plant Physiology**, v.111, n.4, p.1051-1057, 1996.

THORDAL-CHRISTENSEN, H.; ZHANG, Z.; WEI, Y.; COLLING, D.B. Subcellular localization of H_2O_2 in plants. H_2O_2 accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. **The Plant Journal,** v.11, n.6, p.1187-1194, 1997.

TIAN, Z.;WANG, F.; ZHANG, W.; LIU, C.; ZHAO, X. Antioxidant mechanism and lipid peroxidation patterns in leaves ad petal of marigold in response to drought stress. **Horticulture, Environmental and Biotechnology**, v.53, n.3; p.183-192, 2012.

UDDIN, A.F.M.J.; HASHIMOTO, F.; KAETANI, M.; SHIMIZU, K.; SAKATA, Y. Analysis of light and sucrose potencies on petal coloration and pigmentation of lisianthus cultivars (in vitro). **Scientia Horticulturae**, v.89, p.73-82, 2001.

ZHANG, C.; FU, J.; WANG, Y.; GAO, S.; DU, D.; WU, F.; GO, J.; DONG, L. Glucose supply improves petal coloration and anthocyanin biosynthesis in *Paeonia sufrutticosa* 'Luoyang Hong' cut flowers. **Postharvest Biology and Tecnology**, v.101, p.73-81, 2015.

ZHANG, C.; WANG, W.; WANG, Y.; GAO, S.; DU, D.; FU, J.; DONG, L. Anthocyanin biosynthesis and accumulation in developing flowers of three peony (*Paeonia*

suffruticosa) ‘Luoyang Hong’. **Postharvest Biology and Technology**, v.97, p.11-22, 2014.