

NATHÁLIA BANDEIRA DINIZ

AÇÃO DE FITORREGULADORES NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE FLORES DE
CORTE DE ANTÚRIO (*Anthurium andraeanum* L.) CV. ARIZONA

Serra Talhada - PE

2016

**D
I
N
I
Z**

**N
B**

**A
Ç
Ã
O**

**D
E**

**F
I
T
O
R
R
E
G
U**

·

·

·

2

0

1

6

NATHÁLIA BANDEIRA DINIZ

AÇÃO DE FITORREGULADORES NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE FLORES DE
CORTE DE ANTÚRIO (*Anthurium andraeanum* L.) CV. ARIZONA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Adriano do Nascimento Simões
Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Ribeiro da Silva Vieira

Serra Talhada - PE

2016

NATHÁLIA BANDEIRA DINIZ

AÇÃO DE FITORREGULADORES NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE FLORES DE
CORTE DE ANTÚRIO (*Anthurium andraeanum* L.) CV. ARIZONA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovado(a) em: ___/___/_____

Banca examinadora:

Prof. Dr. Adriano do Nascimento Simões UAST/UFRPE - Orientador

Prof. Dr. Sérgio Luiz Ferreira da Silva UAST/UFRPE – Examinador Interno

Prof^ª Dr^ª Ellen Karine Diniz Viégas UAST/UFRPE – Examinador Externo

Aos meus pais, Marilene Gomes Bandeira e José Ribamar Diniz Filho, aos meus irmãos Pedro Henrique Bandeira Diniz e João Otavio Bandeira Diniz, que me apoiaram nesta etapa.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser meu guia em todos os momentos.

Aos meus pais, José de Ribamar Diniz Filho e Marilene Gomes Bandeira, pelo amor, orações, carinho, compreensão e apoio em minha vida, e aos meus irmãos Pedro Henrique e João Otávio, pelo carinho, apoio e amizade.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE/UAST), e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida durante o curso.

Ao Prof^o. Dr^o. Adriano do Nascimento Simões pela orientação, por todo o conhecimento transmitido, pelas contribuições para meu crescimento profissional e pessoal, pela paciência e amizade.

Ao Prof^o. Dr^o. Sergio Luiz Ferreira da Silva pela orientação e paciência com as inúmeras dúvidas durante o trabalho.

A Prof^a Dr^a Giuseppina Pace Pereira Lima e a Mônica Bartira Silva, pela contribuição na realização de algumas análises presentes neste trabalho.

Aos amigos do Núcleo de Estudos em Fisiologia e Pós-colheita de Frutas e Hortaliças (NEFP), Luiz Ferreira, Daniel Coelho, Domingos Neto, Moab Andrade, Maria José e Sá, Valécia Nogueira, Maria Aparecida Santos, Janaina Renata, Vinicius Xavier, Vitoria Alves, Rafael Alves, Raquel Ferraz, Jaqueline Lima, Ricardo Albuquerque, Rúbia Maia, Samara Almeida e Darliclécia Fernandes.

Aos amigos do mestrado Aline de Oliveira, Aurielle Medeiros, Bruna Tuane, Carlos Alberto Souza, Debora da Silva, Douglas Oliveira, Ervanis Bezerra, Eugênio Júnior, Jessica Costa, Leandro Calixto, Maria da Penha, Michelle Justino, Pedro Mouzinho, Taciana Silva, Juliana Alves, Adaan Sudário, Ygor Leal e Yanne Carvalho pelo auxílio nos momentos difíceis, amizade, e pelo companheirismo ao longo de todo o período de estudos.

Aos amigos Alexandre Ferraz, Carolina Brito, Daniel Santos, Davi Tavares, Renata Vieira, Edson Soares Júnior, Elizangela Nunes, Poliana Caldas, Méry Assís pelos momentos de descontração.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A vida é luta renhida, que aos fracos abate, e aos fortes, só faz exaltar.

(Gonçalves Dias)

Resumo

A fisiologia e conservação de flores de corte, podem ser alteradas pela aplicação de fitorreguladores, como giberélinas e poliaminas. É evidenciado que ambos isoladamente aumentaram a vida útil de flores, demonstrando a variabilidade de respostas de flores aos fitorreguladores. Porém, estudos com a combinação de Ácido giberélico (GA₃) e Poliaminas (PAs) em flores tropicais são escassos. Com isso o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação de Ácido Giberélico e Espermina (SPM) na fisiologia e conservação de flores de Antúrio cv. Arizona. As hastes de Antúrio foram colhidas, transportadas, selecionadas e suas bases imersas, assim como, suas espádices pulverizadas. A solução de pulsing ou pulverização continham GA₃ a 144 µM, Spm a 2 µM e GA₃ a 144 µM + Spm a 2 µM. O controle correspondeu a imersão ou pulverização em água destilada. Após 24 horas, as soluções foram substituídas por água destilada e trocadas a cada 3 dias. Amostras das hastes e espádice foram coletadas a cada três dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial, composto por dois métodos de aplicação (*pulsing* e pulverização) três concentrações de Ácido Giberélico e Espermina (GA₃ a 144 µM, Spm a 2 µM e GA₃ a 144 µM + Spm a 2 µM) mais o controle, com cinco dias de análise (0, 3, 6, 9 e 12). Os gráficos foram gerados usando-se as medias e os desvios com auxílio do software Sigma Plot versão 12. O aumento significativo da conservação está associado a menores alterações físico-químicas, representada pela massa fresca, extravasamento de eletrólitos, fenóis solúveis totais, maior níveis de Putrescina, Espermina, Espermidina, Cadaverina e Serotonina, estabilidade de proteínas solúveis totais, e menores incremento nas atividades das enzimas PPO, POD e SOD. Assim, a pulverização com a combinação GA₃ e SPM nas concentrações 144 µM e 2µM respectivamente, dobrou o tempo de conservação de 6 para 12 dias. Enquanto pulsing de 6 para 9 dias das flores de Antúrio cv. Arizona, demonstrando que a aplicação dos fitorreguladores direto na flor foi mais eficaz em relação a solução, na qual as bases estavam submersas, na conservação das flores, uma vez que a pulverização possuem menos barreiras assim como menor, distância para as células florais, podendo os fitorreguladores testados atingir o alvo de forma mais eficiente.

Palavra-chave: Ácido Giberélico, Poliaminas, Flor tropical, Senescência, Conservação Pós-colheita

Abstract

The physiology and conservation of cut flowers, can be changed by the application of growth regulators such as gibberellins and polyamines. It is evident that both alone increased the shelf life of flowers, demonstrating the variability in responses to growth regulators flowers. However, studies with the combination of gibberellic acid (GA₃) and polyamines (PAs) in tropical flowers are scarce. Thus the aim of this study was to evaluate the effect of gibberellic acid and Spermine (SPM) in physiology and conservation of anthurium flowers cv. Arizona. The rods Anthurium were harvested, transported, and selected immersed bases as well as their espádices sprayed. The pulsing or spray solution containing 144 µM GA₃, Spm 2 µM and 144 µM GA₃ Spm + 2 µM. The control corresponded to immersion or spraying in distilled water. After 24 hours, the solutions were replaced with distilled water, changed every 3 days. Samples of the stems and the spadix were collected every three days, and subjected to analysis: visual quality; fresh pasta; electrolyte leakage; total soluble protein; soluble carbohydrates; polyamines (Putrescina, Spermine, Spermidine, Cadaverine Serotonin, Histamine, Tyramine and Dopamine); total phenolic compounds; enzymes were extracted and quantified superoxide dismutase, polyphenol oxidase and peroxidase. The experimental design was completely randomized in a factorial design, consisting of two application methods (pulsing and spraying) four concentrations of Gibberellic Acid and Spermine. The graphics were generated using the media and the deviations with software aid Sigma Plot version 12. The significant increase conservation is associated with lower physical and chemical changes, represented by fresh mass, electrolyte leakage, soluble phenols, higher levels Putrescine, Spermine, Spermidine and Cadaverine and serotonin, stability and total soluble proteins, and smaller increase in the activities of PPO, POD and SOD. Thus, spraying with GA₃ and SPM combination at concentrations 144 µM and 2µM respectively folded storage time of 6 to 12 days. While pulsing 6 to 9 days of anthurium flowers cv. Arizona demonstrating that the application of direct plant growth regulators in bloom was more effective relative to solution in which the bases were submerged in the storage of flowers, since the spray have less barriers as well as smaller distance to the flower cells, may the regulators tested hit the target more efficiently.

Keyword: Gibberellic Acid, Polyamines, Tropical Flower, Senescence, Post-harvest conservation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Flor de corte de Antúrio cv. Arizona com 3/4 da espádice apresentando alteração na coloração	17
Figura 2	Curva de ajustamento do tempo de incubação de hastes de flores de antúrio cv. Arizona.....	19
Figura 3	Valores de absorbância a 595 nm em função da concentração de BSA (Bovine Serum Albumin) para a curva de calibração.....	21
Figura 4	Valores de absorbância a 490 nm em função da concentração de Glicose para a curva de calibração.....	22
Figura 5	Valores de absorbância a 725 nm em função da concentração de ácido gálico para a curva de calibração.....	24
Figura 6	Escala da qualidade visual em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A) e Pulsing (B). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM) e Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.....	27
Figura 7	Quadro referente a qualidade visual em flores de antúrio cv. Arizona submetidas a Pulverização e Pulsing. Soluções contendo Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM) e Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle) onde o 0, 3, 6, 9 e 12 corresponde aos dias de conservação. As flores foram mantidas a 22° ± 2°C por 12 dias.....	27
Figura 8	Perda de massa fresca e Extravasamento de eletrólitos em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e <i>Pulsing</i> (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM), Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.....	28
Figura 9	Proteínas Solúveis e Carboidratos Solúveis em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e <i>Pulsing</i> (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM), Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.....	30
Figura 10	Determinação de Fenóis Solúveis Totais, PPO, POD E SOD em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A, C, E e G) e <i>Pulsing</i> (B, D, F e H). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM), Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22° ± 2°C por 12 dias.....	31
Figura 11	Putrescina e Cadaverina em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e <i>Pulsing</i> (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM), Ácido	

	Giberélico (GA ₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.....	33
Figura 12	Espermidina e Espermina em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e <i>Pulsing</i> (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM), Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.....	34
Figura 13	Histamina e Serotonina em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e <i>Pulsing</i> (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM), Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.....	35
Figura 14	Dopamina e Tiramina em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização e <i>Pulsing</i> . Soluções contendo Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM), Ácido Giberélico (GA ₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.....	36
Figura 15	Mecanismo referente a algumas respostas físico-químicas ao aumento da longevidade de flor de Antúrio cv. Arizona.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Imagens, critérios e notas, para quantificação da análise visual em hastes de Antúrio cv. Arizona, Serra Talhada-PE, UAST/UFRPE, 2016.....	18
Tabela 2	Solução padrão de Bovine Serum Albumin, Água destilada, volume final e concentração final para a confecção curva de calibração, Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.....	20
Tabela 3	Concentração de solução padrão de glicose e volumes, água destilada, Fenol e Ácido Sufúrico (H ₂ SO ₄) em tubos de ensaio para curva e calibração, Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.....	22
Tabela 4	Concentração de ácido galico e volumes de metanol, água destilada, Folin-Ciocalteau e Na ₂ CO ₃ em tubos de ensaio para a confecção calibração, Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.....	24

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO	14
2-MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	17
2.2 MANUSEIO PÓS-COLHEITA E CONSERVAÇÃO.....	17
2.3 ANÁLISE VISUAL.....	18
2.4 MASSA FRESCA DAS HASTES.....	19
2.5 EXTRAVASAMENTO DE ELETRÓLITOS.....	19
2.6 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS.....	20
2.7 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS.....	21
2.8 AMINAS BIOATIVAS.....	23
2.9 FENÓIS SOLÚVEIS TOTAIS.....	23
2.10 EXTRAÇÃO E ENSAIO DA ATIVIDADE DA POLIFENOLOXIDASE (PPO, EC:1.10.3.1) E DA PEROXIDASE (POD, EC:1.11.1.7).....	25
2.11 EXTRAÇÃO E ENSAIO DA ATIVIDADE DA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD, EC:1.15.1.1).....	25
2.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	26
3-RESULTADOS	27
4-DISCUSSÃO	38
5-CONCLUSÃO	45
6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

1. Introdução

O antúrio (*Anthurium andraeanum* L.) é uma planta pertencente à família Araceae, ordem Alismatales, classe Liliopsida, caracterizada por espécies com inflorescências em espádice, no qual se encontram agregadas a dezenas de pequenas flores, seguindo um delineamento espiralado e uma bráctea colorida denominada espata (CASTRO et al., 2012). É largamente utilizado na floricultura e no paisagismo, sua forma, coloração, tamanho e orientação da espádice e da espata determinam o valor comercial, como indicadores de qualidade das inflorescências (NOMURA et al., 2014).

O antúrio é uma planta cultivada em todo o mundo, ocupando o segundo lugar entre as flores tropicais de corte, seguido das orquídeas em valor comercial (BULDEWO e JAUFEEALLY – FAKIN 2002, DUOFUR e GUÉRIN, 2003). Os principais produtores de flores de antúrio no mundo são a Holanda, com 25 milhões de hastes comercializada por ano seguida por Estados Unidos da América, com 11,3 milhões de hastes (MIRELES-ORDAZ et al., 2015).

No Brasil, o antúrio vêm-se destacando na floricultura, em dados mais recentes demonstrou ser a principal flor tropical de interesse econômico, gerando 1,3 milhões de reais ao ano. (JUNQUEIRA e PEETZ, 2008; ANEFALOS et al., 2010). A região Sudeste, detém a maior produção destacando-se os municípios de Vale do Ribeira, Holambra e Atibaia, todas em São Paulo. No Vale do Ribeira há uma produção de 1,7 milhão de plantas cultivadas (TOMBOLATO et al., 2002). Entre os estados nordestinos, destacam-se Pernambuco, Ceará e Bahia, apresentando maior expressão nessa atividade (CUQUEL e GROSSI, 2004; TERAQ et al., 2005).

Um dos principais problemas que afetam a comercialização do antúrio é o manejo inadequado na pós-colheita, comprometendo até 40% da produção no Brasil (DIAS-TAGLIACOZZO e CASTRO, 2002). As flores perdem qualidade e se deterioram rapidamente, por causa de processos catabólicos, que são intensificados após a colheita (HARDENBURG et al., 1988). As flores de corte por serem um produto extremamente perecível perdem suas características ótimas para a comercialização de forma muito rápida, principalmente pelos aumento da atividade respiratória, resultando em um maior consumo das reservas energéticas (ASRAR, 2012; PROMYOU et al., 2012) conseqüentemente acelerando os efeitos da senescência.

Outra conseqüência do efeito da senescência, é o aumento das espécies reativas de oxigênio (ERO), que são moléculas danosas a membrana celular (MILLER et al., 2008), entretanto, são

produzidas normalmente, mas, quando submetidas a algum tipo de estresse tem seu níveis aumentados, resultando em extravasamento de conteúdo celular e morte (CAO et al., 2010). Para evitar isso ocorra, há formação de enzimas antioxidante que tem por função combater os efeitos maléfico das ERO's.

Para combater os efeitos deletérios da senescência se requer o uso técnicas adequadas de conservação, que prologuem a qualidade pós-colheita. Dentre essas técnicas, a utilização de soluções conservantes nas inflorescências, tem sido uma prática na preservação da qualidade de flores de corte (NOMURA et al., 2014). As soluções podem ser constituídas por carboidratos, inibidores de etileno, reguladores de crescimento, germicidas, usados individualmente ou em conjunto (NOWAK e RUDINICK, 1990).

Os fitorreguladores são substâncias orgânicas que desempenham uma importante função na regulação do crescimento, estimulando ou inibindo, dependendo da sua concentração e das características intrínsecas da planta (TEIXEIRA e MARBACH, 2000). Os fitorreguladores Giberelina, Citocinina e Poliaminas (PAs), merecem destaque, pois, podem interferir na qualidade pós-colheita, retardando a senescência de plantas (FRANCO e HAN, 1997), sendo de grande importância para a conservação de flores de corte (BRACKAMANN et al., 2005).

Ácido giberélico (GA_3) desempenha um papel importante em muitos processos essenciais para o crescimento e desenvolvimento de plantas, incluindo germinação de sementes, alongamento de haste, expansão foliar e desenvolvimento reprodutivo (VIEIRA, 2001; CASTRO et al., 2002; RAZEM et al., 2006). O GA_3 bloqueia os processos relacionados à senescência, desfavorecendo o aumento da permeabilidade da membrana celular, diminuindo o extravasamento das células e conseqüentemente a morte dos tecidos (ZIESLIN et al., 2007).

Marsala et. al, (2014) relataram o uso do GA_3 , pulverizado na concentração 200 mg L^{-1} em folhas de antúrio, estendeu sua vida de vaso até 22 dias. Janowska e Jerzy (2004) relataram em copo-de-leite (*Zantedeschia elliottiana* (W. Wats) Engl) que o GA_3 aumentou a vida de vaso em 15 dias em comparação ao tratamento controle, que chegou a 10 dias de conservação. Isso, demonstra que o GA_3 possui ação eficiente na conservação pós-colheita de flores.

As Poliaminas (Putescina, Espermina, Espermidina, Cadaverina, Serotonina, Histamina, Tiramina e Dopamina) são reconhecidas como uma nova classe de fitorreguladores (DANTULURI et al., 2008). Participam de diversos processos bioquímicos e fisiológicos, tais como divisão e alongação celular, o alongamento celular, floração, frutificação e desenvolvimento, maturação, senescência (COHEN, 1998, IMAN et al., 2005). Elas também participam de vários processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, incluindo

respostas aos estresses, estímulo da divisão celular, regulação de enraizamento, embriogênese e desenvolvimento de frutas e flores (KAKKAR e SAWHNEY 2002; BASSARD et. al, 2010; MOSCHOU et. al, 2012).

Os métodos de aplicação de substâncias conservantes em flores mais usados são pulverização (WATERLAND et. al, 2010), *pulsing* (ELHINDI 2012) e manutenção (ELHINDI 2012; SCHMITT et. al, 2014), a qualidade e a longevidade das flores pode ser aumentadas ou diminuída dependendo do método de condicionamento a ser empregado (FAVERO, 2010), gerando uma variabilidade de respostas, dependendo das espécies e das cultivares tratadas.

Farahi et al, (2012) observaram que rosas (*Rosa hybrida*) cv. Dolcvita aumentaram a vida de vaso para 17 dias em flores submetidas a 1mM de poliaminas, em relação ao controle que obteve apenas 13 dias. Sardoei et. al, (2013) observaram em Narciso (*Narcissus tazetta*) que a utilização de PAs nas concentrações 100 mg L⁻¹ em combinação com ácido salicílico nas concentrações 100 mg L⁻¹ estendeu a vida de vaso da flor em 14,5 dias. Isso demonstra que PAs em combinação com ácido salicílico pode minimizar os fatores envolvidos na senescência de flores de corte estendendo sua vida de vaso.

O uso combinado de GA₃ e SPM foi estudado por Garcia e Moraes (2011) em sementes. Os trabalhos observados com GA₃ e SPM, foram estudados isoladamente em angélica (*Polianthes tuberosa*) (ABBASI e HASSANPOUR, 2011) e antúrio (MARSALA et. al, 2014) utilizando GA₃. Por outro lado, em rosas (FARAHI, et al 2012) e narciso (SARDOEI et. al, 2013) foram estudados o uso de PAs. Assim, os resultados do uso da combinação de GA₃ e PAs em flores tropicais são escassos. Além disso, sabendo-se que há um provável efeito sinérgico desses fitorreguladores em órgãos de plantas, em relação aos efeitos desses fitorreguladores isolados, a proposta do presente estudo foi aplicar a combinação de GA₃ e SPM para prolongar a vida de vaso de Antúrio cv. Arizona.

Logo, o objetivo deste trabalho foi estudar a ação de Ácido Giberélico e Espermina na fisiologia e conservação de flores de Antúrio cv. Arizona.

2. Material e Métodos

2.1 Obtenção do Material Vegetal

As hastes de Antúrio da cultivar Arizona foram adquiridas de produtores e colhidas no estágio de comercialização, quando $\frac{3}{4}$ da espádice apresentou alteração de coloração, de acordo com padrões exigidos para exportação (Figura 1) Paull (1982).

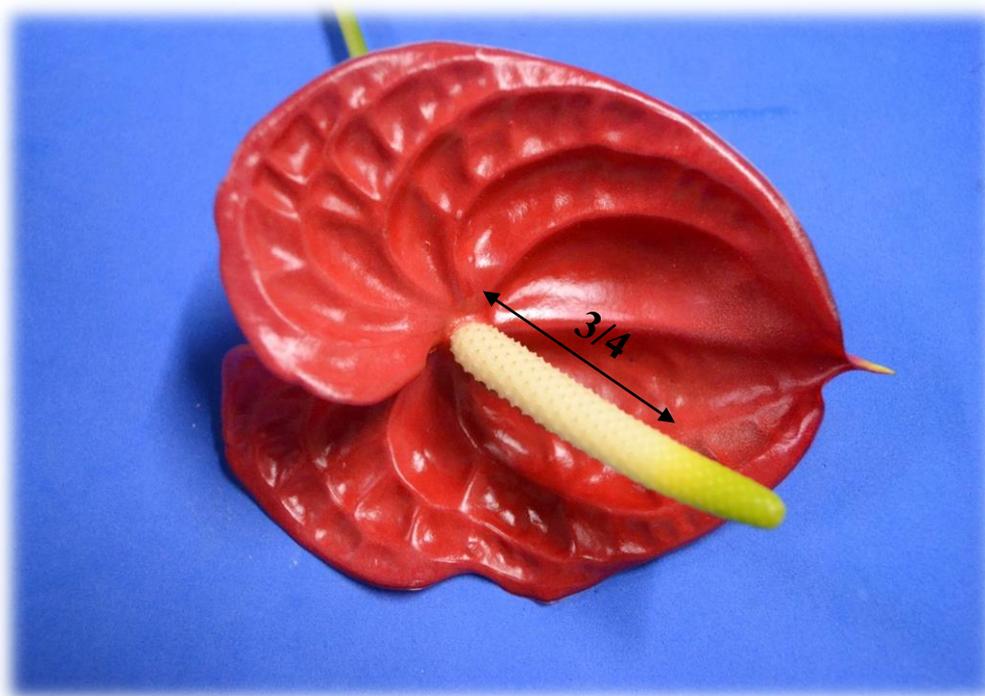


Figura 1: Flor de corte de Antúrio cv. Arizona com $\frac{3}{4}$ da espádice apresentando alteração na coloração.

As flores foram colhidas e transportadas a $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 7 horas, mantidas em tubetes individuais para o Núcleo da Pós-Graduação em Produção Vegetal, Unidade Acadêmica de Serra Talhada da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAST/UFRPE). As hastes foram selecionadas, identificadas de acordo com os tratamentos e cortadas na base para manter o padrão de 45 cm de comprimento.

2.2 Manuseio Pós-colheita e Conservação

Foram separadas 240 hastes, em que 120 tiveram suas brácteas pulverizadas, com auxílio de um borrifador, com soluções contendo Ácido Giberélico (GA_3) a $144\ \mu\text{M}$, Espermina (SPM) a $2\ \mu\text{M}$, Ácido Giberélico (GA_3) a $144\ \mu\text{M}$ + Espermina (SPM) a $2\ \mu\text{M}$ e água destilada como controle. Pulverizou-se as hastes até o escorrimento e foram mantidas as bases imersas em vasos contendo 1 litro de água destilada. Um outro grupo de hastes (120 hastes) foi mantidas

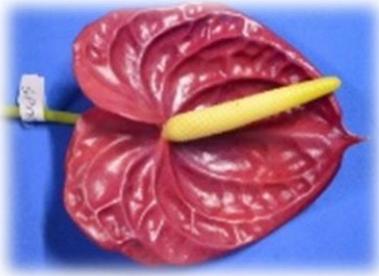
imersas em vasos contendo 1 litro das respectivas soluções, GA₃ e SPM nas mesmas concentrações, isoladas e/ou combinadas. Após 24 horas, substituíram-se as soluções por água destilada, denominada de *pulsing*.

As hastes foram mantidas a 22 ± 2 °C e UR 70% por 12 dias, a cada 3 dias foram realizadas análises visuais, com uso de escala de notas subjetiva (Tabela 1), a perda de massa fresca e extravasamento de eletrólitos. Coletou-se as amostras da espata para as análises de conteúdo Proteínas Solúveis e Carboidratos Solúveis, atividade de Superóxido Dismutase e Aminoácidos bioativos e da base da haste para as análises de Fenóis solúveis totais, atividade de Polifenoloxidase e Peroxidase, com auxílio de N₂ líquido no qual foram mantidas em Ultrafreezer (Vip Plus MDF U56VC) a -80°C.

2.3 Análise Visual

Utilizou-se uma escala notas visual subjetiva de acordo com Reis (2009) (Tabela 1).

Tabela 1: Imagens, critérios e notas, para quantificação da análise visual em hastes de Antúrio cv. Arizona, Serra Talhada-PE, UAST/UFRPE, 2016.

Imagens	Critérios	Notas
	Inflorescência túrgida com brilho e sem manchas aspecto excelente, para comercialização	3
	Aspecto geral bom, coloração da espata sem brilho, mas com qualidade comercial.	2
	Aspecto geral ruim, com murcha na inflorescência, mudança de cor para arroxeada, escurecimento do ápice da espádice, não apta para comercialização.	1

2.4 Massa Fresca das Hastes

As hastes foram pesadas em balança semianalítica (ARD110 OHAUS). Os valores de massa fresca das hastes foram obtidas por meio da diferença percentual da massa fresca inicial e a massa fresca do dia da análise. A porcentagem de perda de massa fresca foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\text{PMF: } \left(\frac{\text{Mfi} - \text{Mff}}{\text{Mff}} \right) \times 100$$

PMF: Perda de Massa fresca (%);

Mfi: Massa fresca inicial;

Mff: Massa fresca final, no dia da análise 3, 6, 9 ou 12 dias.

2.5 Extravasamento de Eletrólitos

Foi determinado, como descrito por Shanahan et al., (1990). Pesou-se 0,3 g de discos de 4 cm da espádice e imergiu-se em 10 mL de água destilada em tubos de ensaio fechados e encubados por seis horas, tempo estabelecido com base em curva de ajuste (Figura 1), obtendo-se o extrato denominado de C1 a 28° C. Em seguida, foi medido a condutividade elétrica com auxílio de um condutivímetro (DDS-12DW). Os mesmos tubos foram incubados a 100° C por 1 hora. Após esse período, foram mantidos em temperatura ambiente até atingirem 25° C, obtendo-se o extrato C2, no qual foi medido a condutividade elétrica.

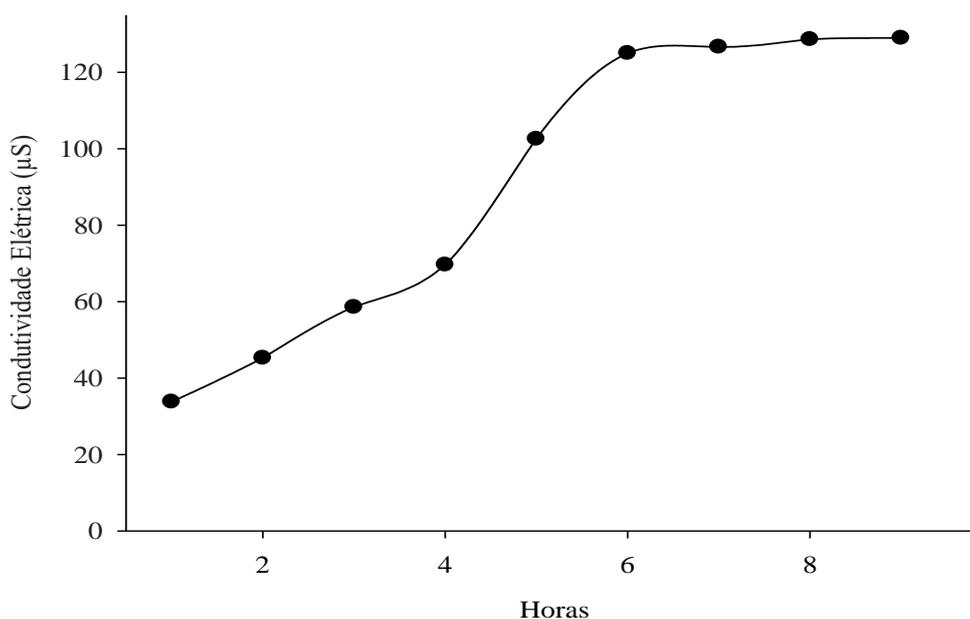


Figura 2: Curva de ajustamento do tempo de incubação de hastes de flores de antúrio cv. Arizona.

Estimou-se o extravasamento de eletrólitos (EE) pela relação abaixo. O resultado foi expresso em percentagem.

$$EE = \frac{C1}{C2} \times 100$$

EE: Extravasamento de eletrólitos;

C1: Leitura após 6 horas de incubação a 28° C;

C2: Leitura após 1 hora de incubação a 100° C.

2.6 Extração e Determinação de Proteínas Solúveis

A extração foi realizada de acordo com Cavalcante et al. (2006). Com o auxílio de nitrogênio líquido, realizou-se a homogeneização de 0,1 g tecido em 1,3 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,0). O extrato foi centrifugado a 13.000 x g por 21 minutos a 4 °C.

O ensaio foi realizado de acordo com Bradford (1976). Em tubos de ensaio adicionou-se 100 µL do extrato, 2,5 mL do reagente de Bradford, e agitou-se em agitador de solução (AP 56). Após 15 minutos foram realizadas leituras em espectrofotômetro (Biochrom; modelo libra S8) a 595 nm.

O teor de proteínas solúveis foi quantificado utilizando curva padrão com Bovine Serum Albumin (BSA) (Tabela 2). Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ MF.

Tabela 2: Solução padrão de Bovine Serum Albumin, Água destilada, volume final e concentração final para a confecção curva de calibração, Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.

BSA (µL)	H ₂ O destilada (µL)	Vol. final (mL)	Concent. final (µg 100µL ⁻¹)
0	1000	1000	0
100	900	1000	10
200	800	1000	20
300	700	1000	30
400	600	1000	40
500	500	1000	50
600	400	1000	60
700	300	1000	70
800	200	1000	80
900	100	1000	90
1000	0	1000	100

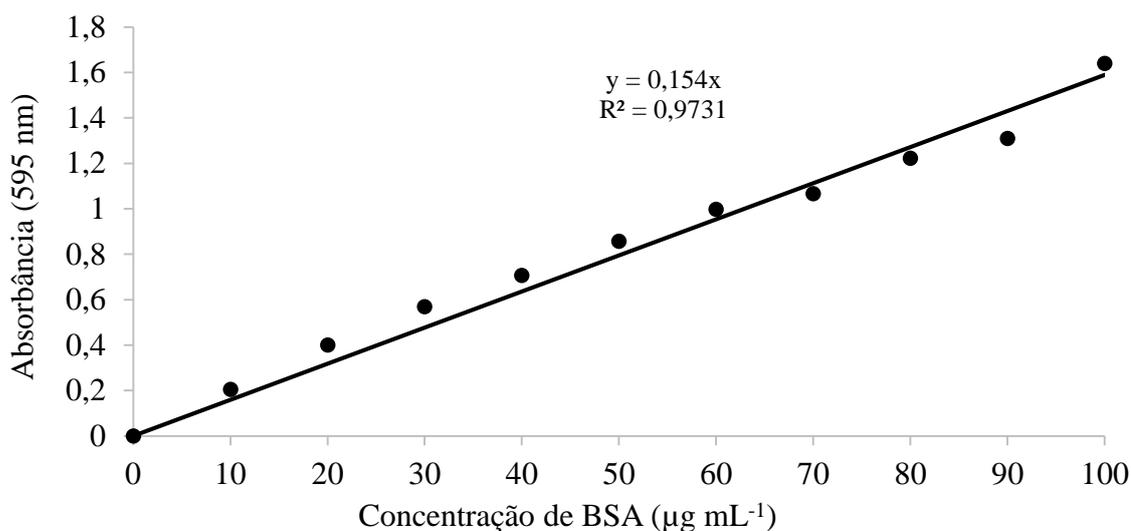


Figura 3. Valores de absorbância a 595 nm em função da concentração de BSA (Bovine Serum Albumin) para a curva de calibração.

2.7 Extração e Determinação de Carboidratos Solúveis

A extração e determinação de carboidratos solúveis foi realizada de acordo com Dubois et al. (1956). Com o auxílio de nitrogênio líquido, homogeneizou-se 0,05 g da espádice em 1,3 mL de água destilada. O extrato foi centrifugado a 13.000 x g por 21 minutos a 4 °C.

Foi coletado 25 µL de sobrenadante e adicionado 475 µL de água destilada e colocados em tubos de ensaio, juntamente com 500 µL de fenol 5 % e 2,5 mL de ácido sulfúrico PA. O extrato permaneceu em repouso por 10 minutos, após esse período, agitados e mantidos em bandeja contendo água a 25 °C por 20 minutos. As leituras foram feitas em espectrofotômetro (Biochrom; modelo libra S8) a 490 nm.

Os carboidratos solúveis foram quantificados com uso de curva padrão utilizando glicose como padrão (Tabela 3). Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ MF.

Tabela 3: Concentração de solução padrão de glicose e volumes, água destilada, Fenol e Ácido Sufúrico (H₂SO₄) em tubos de ensaio para curva e calibração, Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.

Padrão (μL)	H ₂ O dest (μL)	Fenol (μL)	H ₂ SO ₄ (μL)	Vol. Fin (μL)	Conc (μmol mL ⁻¹)
0	1000	250	1500	2750	0,36
100	900	250	1500	2750	0,32
200	800	250	1500	2750	0,28
300	700	250	1500	2750	0,24
400	600	250	1500	2750	0,20
500	500	250	1500	2750	0,16
600	400	250	1500	2750	0,12
700	300	250	1500	2750	0,08
800	200	250	1500	2750	0,04
900	100	250	1500	2750	0,03
1000	0	250	1500	2750	0

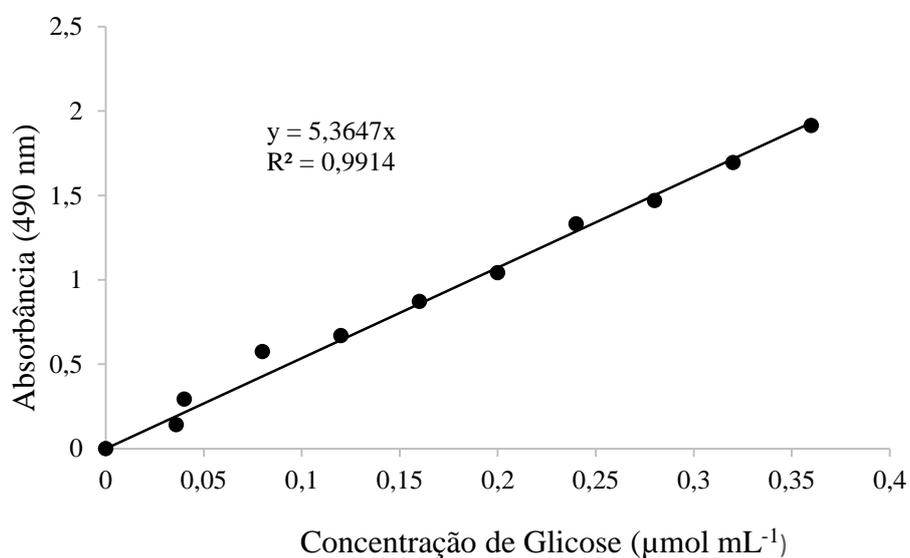


Figura 4. Valores de absorbância a 490 nm em função da concentração de Glicose para a curva de calibração.

2.8 Poliaminas

As poliaminas foram extraídas de acordo com Lima et al. (2008) e determinadas através da cromatografia de ultra performance (HPLC) com detector fotodiodo em coluna C18 de acordo por Dadáková et al. (2009).

A extração foi realizada pesando-se 20 mg de tecido vegetal em tubos, ao qual foram adicionados 3 mL de ácido perclórico. Os tubos foram agitados em vortex por 10 segundos e mantidos em banho de gelo por 30 minutos. Posteriormente foram centrifugados a 5000 x g a 5° C por 10 segundos, e o sobrenadante armazenado em freezer a -18° C.

Foram retirados 200 µl dos extratos, e colocados em tubos de vidro, adicionando-se 200 µl tampão carbonato (50 mL de NaHCO₃ a 0,5M, 12 mL de Na₂CO₃ a 0,5M com pH 9,2 e 16,65 g de K₂CO₃ com pH 11). Também adicionados 400 µl de cloreto de dansil (5 mg mL⁻¹) posteriormente agitados em vórtex por 10 segundos e mantidos no escuro por 2 horas. Após esse período foram adicionados 200 µl de prolina e mantidos no escuro por 1 hora, sendo agitação em vórtex a cada 15 minutos. Aos tubos foram acrescentados 1000 µl de tolueno e agitados por 1 min. O sobrenadante foi seco em linha de nitrogênio e ressuspendido em 200 µl de acetonitrila, grau HPLC, agitado por 1 min, submetidos a banho ultrassônico por 2 min, centrifugado a 4000 x g a 4° C por 5 minutos e injetados em HPLC (Thermo Scientific).

Para a separação cromatográfica, foi utilizado um gradiente de eluição de (A) acetonitrila (100%) e (B) acetonitrila (50%), com o seguinte gradiente: 0-2 minutos, A 40% e B 60%; 2-4 minutos, A 40-60% e B 60-40%; 4-8 minutos, A 60- 65% e B 40-35%; 8-12 minutos, A 65- 85% e B 35-15%; 12-15 minutos, A 85-95% e B 15-5%; 15-20 minutos, A 95% e B 5%; 20-21 minutos, A 95-85% e B 5-15%; 21-22 minutos, A 85-75% e B 15-25%; 22-25 minutos, A 75-40% e B 25-60%; 25-28 minutos, A 40% e B 60%. A alteração de concentração linear foi realizada em todos os casos. A taxa de fluxo foi mantida a 0,7 ml min⁻¹, com injeção de 20 µL por amostra. A temperatura da coluna foi de 25° C, e as detecções foram realizadas a 225 nm. Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de espemina, espermidina, putrescina, serotonina, cadaverina, histamina, tiramina e dopamina.

2.9 Fenóis Solúveis Totais

Foi quantificado de acordo com método de Folin-Ciocalteau (1927). A extração foi realizada a partir da maceração de 0,1 g do tecido em almofariz contendo 1,3 mL de metanol. Em seguida, as amostras permaneceram em repouso por 20 horas no escuro a 4 °C. Após esse período o extrato metanólico foi centrifugado a 13.000 x g a 4 °C por 21 minutos.

O ensaio, foi realizado com a utilização de 150 μL do sobrenadante, 2400 μL de água destilada, 150 μL de Folin Cioucauteu (0,25 N). A mistura foi agitada por 3 minutos e adicionado 300 μL de carbonato de cálcio (1 N). Os tubos foram mantidos no escuro a 25 $^{\circ}\text{C}$ por 2 horas.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Biochrom; modelo libra S8) a 725 nm e os resultados expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$ MF. Os fenóis solúveis totais foram quantificados com auxílio curva padrão utilizando o ácido gálico.

Tabela 4: Concentração de ácido gálico e volumes de metanol, água destilada, Folin-Ciocalteau e Na_2CO_3 em tubos de ensaio para a confecção calibração .

Ác gálico (μL)	Ác gálico (μL)	CH_3OH (μL)	H_2O dest (mL)	FCR (μL)	Na_2CO_3 (μL)
0	0	150	2,4	150	300
20	30	120	2,4	150	300
40	60	90	2,4	150	300
60	90	60	2,4	150	300
80	120	30	2,4	150	300
100	150	0	2,4	150	300

FCR: Folin-Cioucauteu reagente (0,25 N); Na_2CO_3 : Carbonato de Sódio (1 N); CH_3OH : Metanol

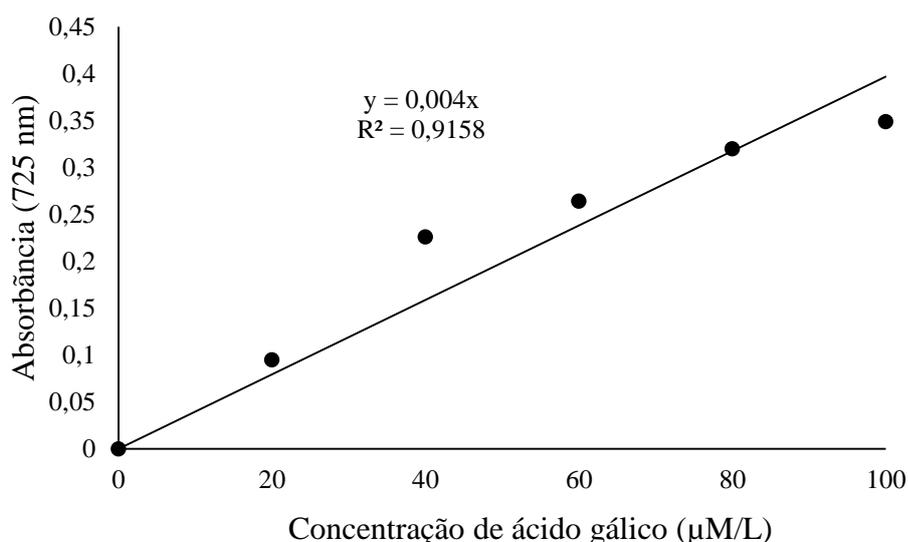


Figura 5. Valores de absorbância a 725 nm em função da concentração de ácido gálico para a curva de calibração.

2.10 Extração e Ensaio da Atividade da Polifenoloxidase (PPO, EC:1.10.3.1) e da Peroxidase (POD, EC:1.11.1.7)

Realizou-se a extração conforme a metodologia descrita por Silva (1981) e adaptada por Simões, et al., (2015). Com o auxílio de nitrogênio líquido foi realizada a homogeneização de 0,1 g tecido fresco das hastes, em 1,3 mL de tampão fosfato de sódio 0,2 M (pH 6,0) mantido previamente a 4 °C. O extrato foi centrifugado a 13.000 x g por 21 minutos a 4 °C.

O ensaio da PPO foi determinado pela adição de 500 µL do sobrenadante ao meio de reação contendo 1,2 mL de tampão de fosfato 0,2 M (pH 6,0) e 1,3 mL de catecol (0,2 M). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Biochrom; modelo libra S8) a 425 nm, a uma temperatura de 25 °C, por dois minutos. A atividade da PPO foi calculada com base no coeficiente de extinção molar de 34 mM cm⁻¹ para catecol e expressa em µmol g⁻¹ MF min⁻¹.

O ensaio da POD foi determinado pela adição de 300 µL do sobrenadante ao meio de reação contendo 1,0 mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 6,0), 100 µL de guaiacol (0,5 %) e 100 µL de peróxido de hidrogênio (0,08 %). Realizou-se as leituras em espectrofotômetro (Biochrom; modelo libra S8) a 470 nm, a uma temperatura de 30 °C, por três minutos. A atividade da peroxidase foi calculada com base no coeficiente de extinção molar de 26,6 mM cm⁻¹ para guaiacol, e expressa em µmol g⁻¹ MF min⁻¹.

2.11 Extração e Ensaio da Atividade da Superóxido Dismutase (SOD, EC:1.15.1.1).

A extração foi realizada de acordo com Cavalcanti et al. (2006). Com o auxílio de nitrogênio líquido realizou-se a homogeneização de 0,1 g tecido em 1,3 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,0). O extrato foi centrifugado a 13.000 x g por 21 minutos a 4 °C.

A SOD foi determinada como descrito por Giannopolitis e Ries (1977). Alíquotas de 100 µL do sobrenadante adicionadas a 1.660 µl de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,8) contendo (1 mM EDTA e 13 mM de metionina), 40 µL de riboflavina 2mM e 200 µl de Nitro blue tetrazolium chloride (NBT) a 750 µM.

O meio de reação, permaneceu sob incidência de luz (duas lâmpadas fluorescente de 18 W) por seis minutos para posterior leitura em espectrofotômetro a 560 nm. A atividade foi determinada com base na inibição da redução de NBT, definiu-se como unidade de atividade, como a quantidade da enzima necessária para inibir 50 % da fotoredução (BEAUCHAMP e FRIDOVICH, 1971). A atividade foi expressa em U.A. min⁻¹ g⁻¹ MF.

2. 12 Análises Estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial, com dois métodos de aplicação (*pulsing* e pulverização) três combinações de fitorreguladores (GA₃ a 144 µM, Spm a 2 µM e GA₃ a 144 µM + Spm a 2 µM) mais o controle. Cada repetição foi constituída de um vaso, contendo seis hastes, em um total de cinco repetições. Os gráficos foram gerados por meio do software Sigma Plot versão 12 com as medias e os desvios.

3. Resultados

No início do experimento (dia zero), as hastes estavam com cor característica, túrgida e brilhante, sem manchas, aspectos que refletiam boa características para a comercialização, obtendo nota 3 (Figuras 6A, 6B e 7). Durante a conservação, a partir do sexto dia, observou-se queda das notas das hastes submetidas a GA₃ e SPM isolados e controle, em ambos os métodos de aplicação (Figuras 6A, 6B e 7).

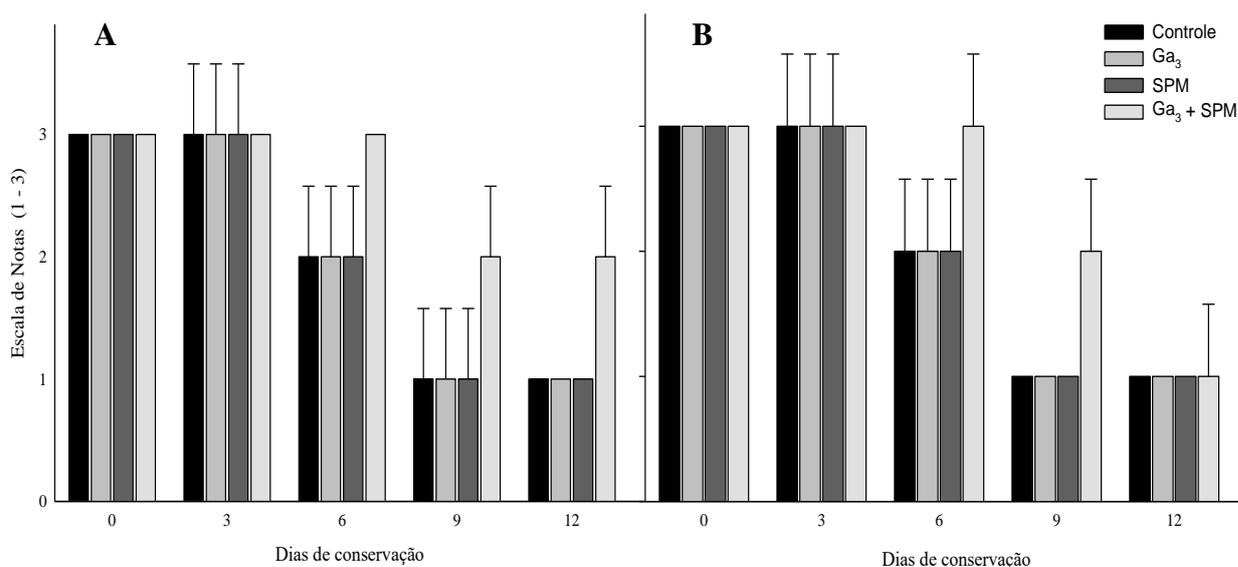


Figura 6: Escala de notas referente a análise visual em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A) e Pulsing (B). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM), Espermina (SPM a 2 μM) e Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM) + Espermina (SPM a 2 μM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2 °C por 12 dias.

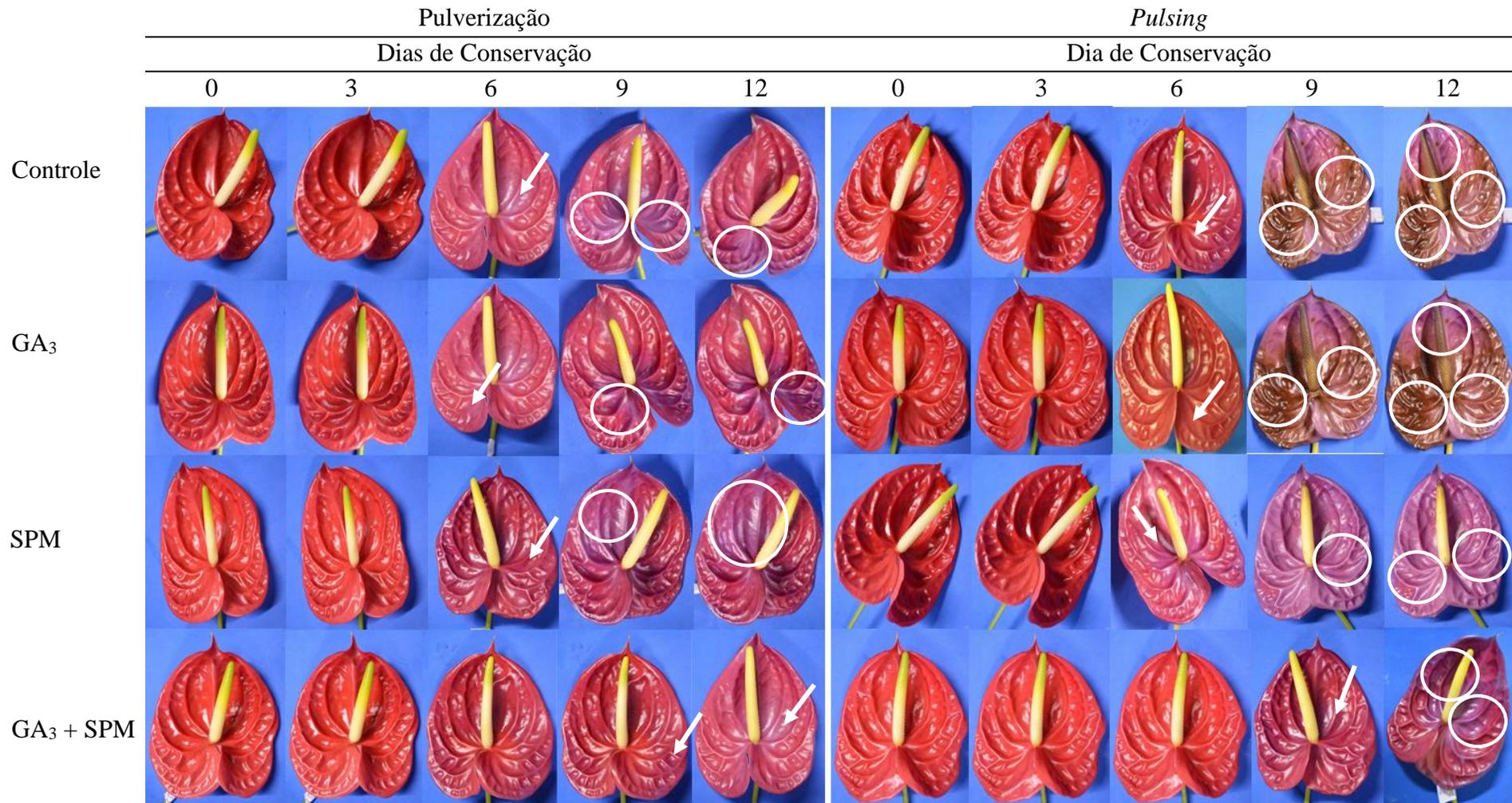


Figura 7: Aspecto visual em flores de antúrio cv. Arizona submetidas a Pulverização e *Pulsing*. Soluções contendo Ácido Giberélico (GA₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM) e Ácido Giberélico (GA₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle) de flores aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de conservação, a 22° ± 2°C por 12 dias. As setas indicam flores com aspecto geral bom, apenas com perda de brilho. Círculos indicam aspecto geral ruim, com mudança de coloração.

Apenas nas hastes pulverizadas com a combinação GA₃ + SPM mantiveram as maiores notas (nota 2) até 12 dias de conservação (Figuras 6 A e 7). Enquanto a combinação GA₃ + SPM via *pulsing*, essa mesma nota se manteve até 9 dias (Figuras 6 B e 7).

Verificou-se que houve aumento na perda de massa fresca e de extravasamento de eletrólitos, nas hastes submetidas aos dois métodos de aplicação, até 12 dias (Figura 8A a 8D). Além disso, a combinação GA₃ + SPM resultou, ao final do experimento, menor perda de massa e menores valores de extravasamento de eletrólitos em relação ao controle, nos dois métodos de aplicação, com perda de massa de aproximadamente 4,5 % para pulverização e 2,5 % para *pulsing* (Figura 8 A e 8 B) e com extravasamento de eletrólitos de 30,5 % para pulverização e 23,5 % para *pulsing* (Figura 8 C e 8 D).

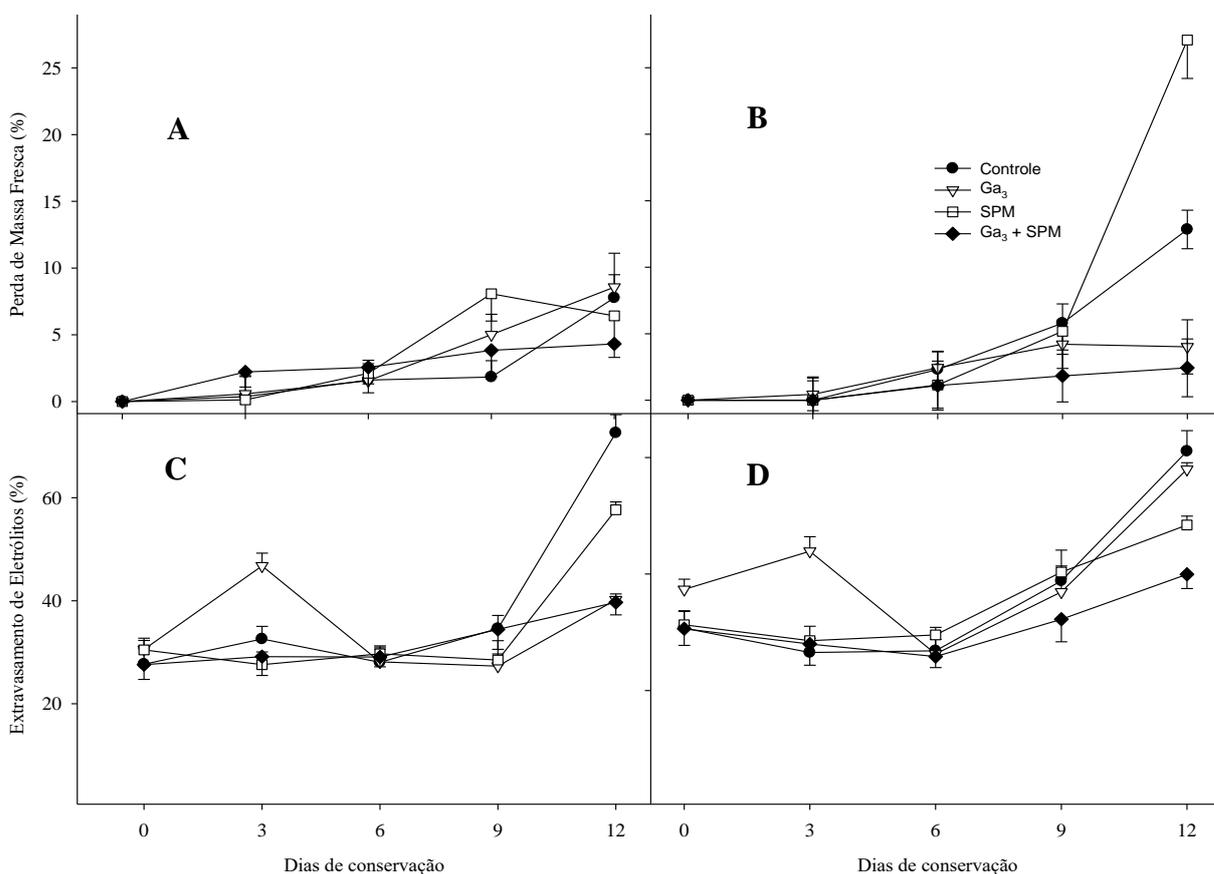


Figura 8: Perda de massa fresca e Extravasamento de eletrólitos em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e *Pulsing* (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM), Espermina (SPM a 2 μM), Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM) + Espermina (SPM a 2 μM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.

Observou-se que no início (dia 0) tanto a perda de massa, quanto o extravasamento foram semelhantes para todas as flores tratadas, em ambos os métodos de aplicação (Figura 8A a 8 D). Ao final de 12 dias, as flores denominadas controle, sempre apresentaram dentro dos maiores valores médios de perda de massa e de extravasamento (Figura 8 A a 8 D). Por outro lado, no mesmo período, as flores tratadas com a combinação GA₃ + SPM sempre obtiveram dentro dos menores valores de perda de massa e de extravasamento (Figura 8 A a 8 D).

Observou-se, em geral, queda nos teores de proteínas solúveis e carboidratos solúveis no decorrer dos 12 dias (Figura 9 A a 9 D). Entretanto, flores submetidas a *pulsing*, mantiveram os níveis de carboidratos mais estáveis na conservação, em comparação com as flores Pulverizadas (Figura 9 C e 9 D). Por outro lado, flores pulverizadas até 9 dias tiveram valores superiores de carboidratos solúveis totais em relação aquelas submetidas a *pulsing* (Figura 9 C e 9 D).

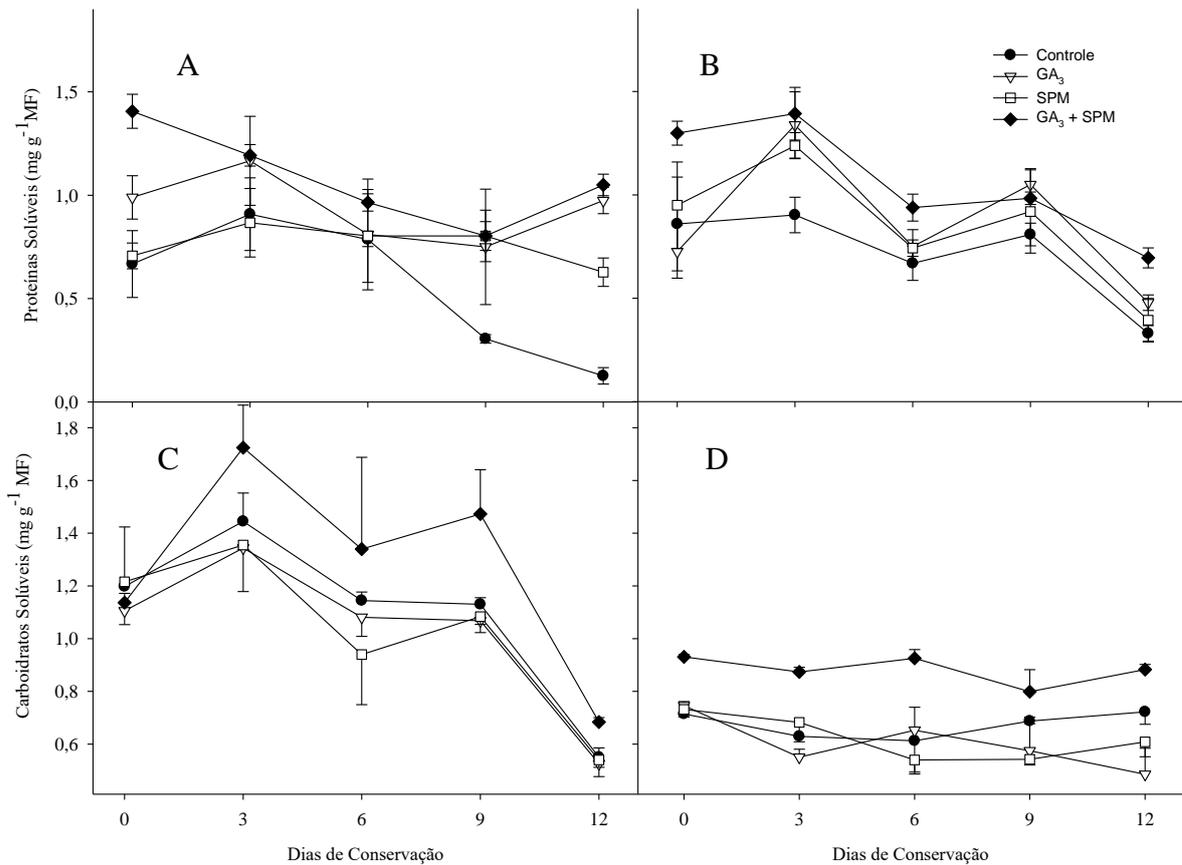


Figura 9: Proteínas Solúveis e Carboidratos Solúveis em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e *Pulsing* (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA₃ a 144 µM), Espermina (SPM a 2 µM), Ácido Giberélico (GA₃ a 144 µM) + Espermina (SPM a 2 µM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.

Verificou-se que aos 12 dias, flores que foram pulverizadas e aos 9 dias submetidas a *pulsing*, em ambos os casos a combinação GA₃ + SPM apresentou os maiores níveis de carboidratos e proteínas em relação aos demais tratamentos, coincidindo com a maior nota 2 para estes tratamentos (Figura 6 A e 6 B e Figura 9 A a 9 D).

Flores pulverizadas, o teor de fenóis solúveis totais apresentou uma curva em forma de parábola, com uma ascendência rápida e máxima entre 3 e 6 dias, dependendo do tratamento, seguindo de queda nos valores de forma mais sutil, a partir do 3 ou 6 dias (Figura 10 A). Diferente para flores submetidas a *pulsing*, no qual os valores incrementaram a partir dos três primeiros dias, seguido de estabilização (Figura 10 B). Entretanto, nas flores submetidas a GA₃ por *pulsing*, os valores permaneceram mais estáveis, não apresentando o mesmo padrão de comportamento descrito (Figura 10 B).

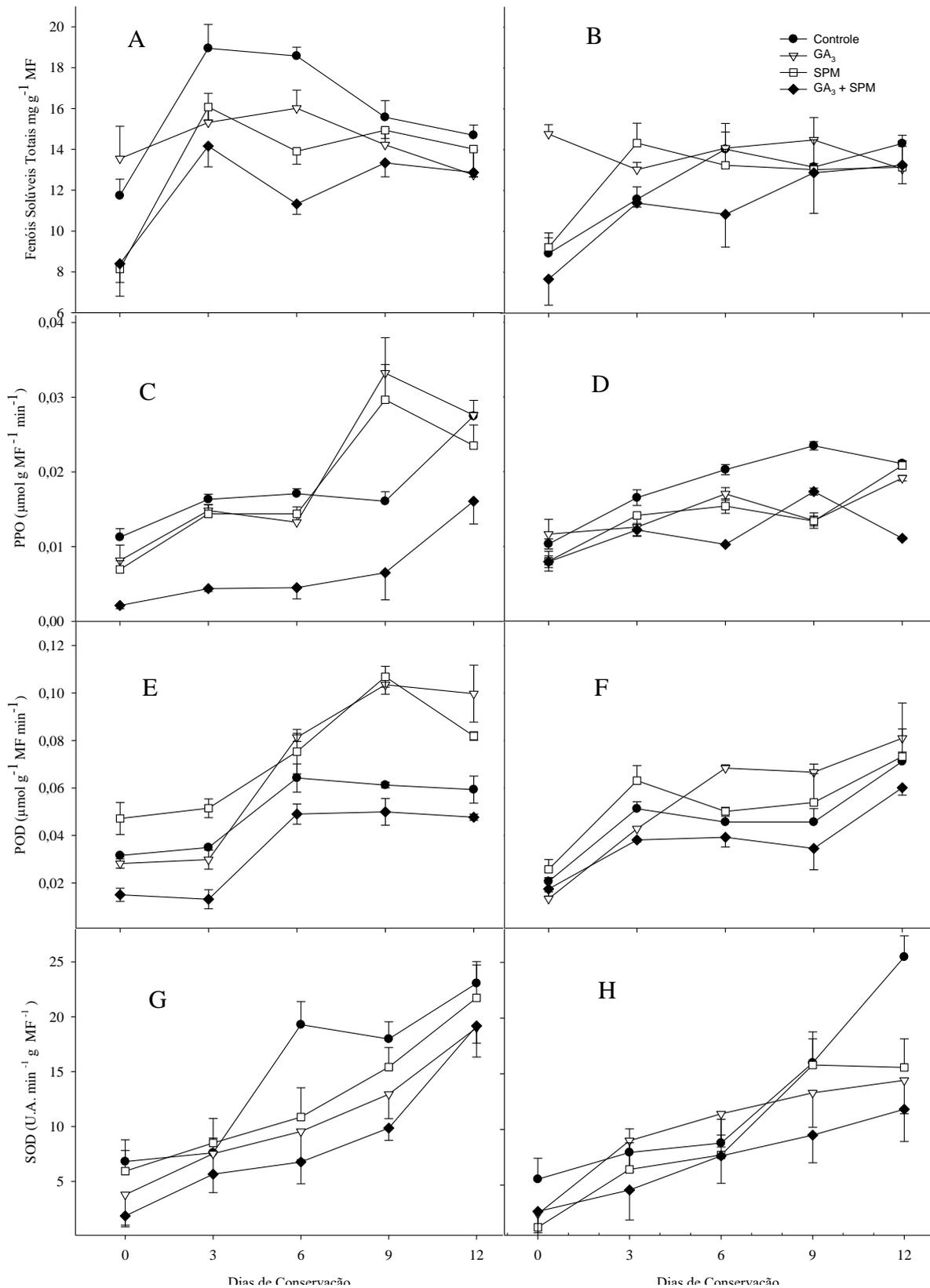


Figura 10: Determinação de Fenóis Solúveis Totais, e atividade das enzimas PPO, POD E SOD em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A, C, E e G) e *Pulsing* (B, D, F e H). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM), Espermina (SPM a 2 μM), Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM) + Espermina (SPM a 2 μM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22° ± 2°C por 12 dias.

Observou-se ainda que em ambos os métodos de aplicação estudados, a combinação GA₃ + SPM sempre permaneceu com teores médios de fenóis solúveis totais inferiores ou igual ao controle e demais aplicações isoladas, em todos os dias de análise (Figura 10 A e 10 B).

No início da conservação (dia 0) as flores submetidas a *pulsing* mantiveram semelhantes atividades da PPO e POD, independente do fitorregulador aplicado (Figura 10 D e 9 F). Por outro lado, nas flores pulverizadas com GA₃ + SPM resultou em menores atividades dessas enzimas, nesse mesmo dia, em relação aos fitorreguladores aplicados sozinhos e ao controle (Figura 10 C e 10 E). De forma geral, a combinação GA₃ + SPM apresentou menor atividades em comparação ao controle para PPO, POD e SOD em todos os dias estudados, mais evidentes nas flores pulverizadas (Figura 10).

Nas flores pulverizadas, os níveis de Putrescina aumentaram ou se mantiveram altos entre o início e 9 dias, a partir daí caiu, com exceção da combinação GA₃ + SPM (Figura 11 A). Enquanto flores submetidas a *pulsing* os níveis de Putrescina em todos os tratamentos sempre caíram até 12 dias com exceção do controle, com exceção do controle (Figura 11 B).

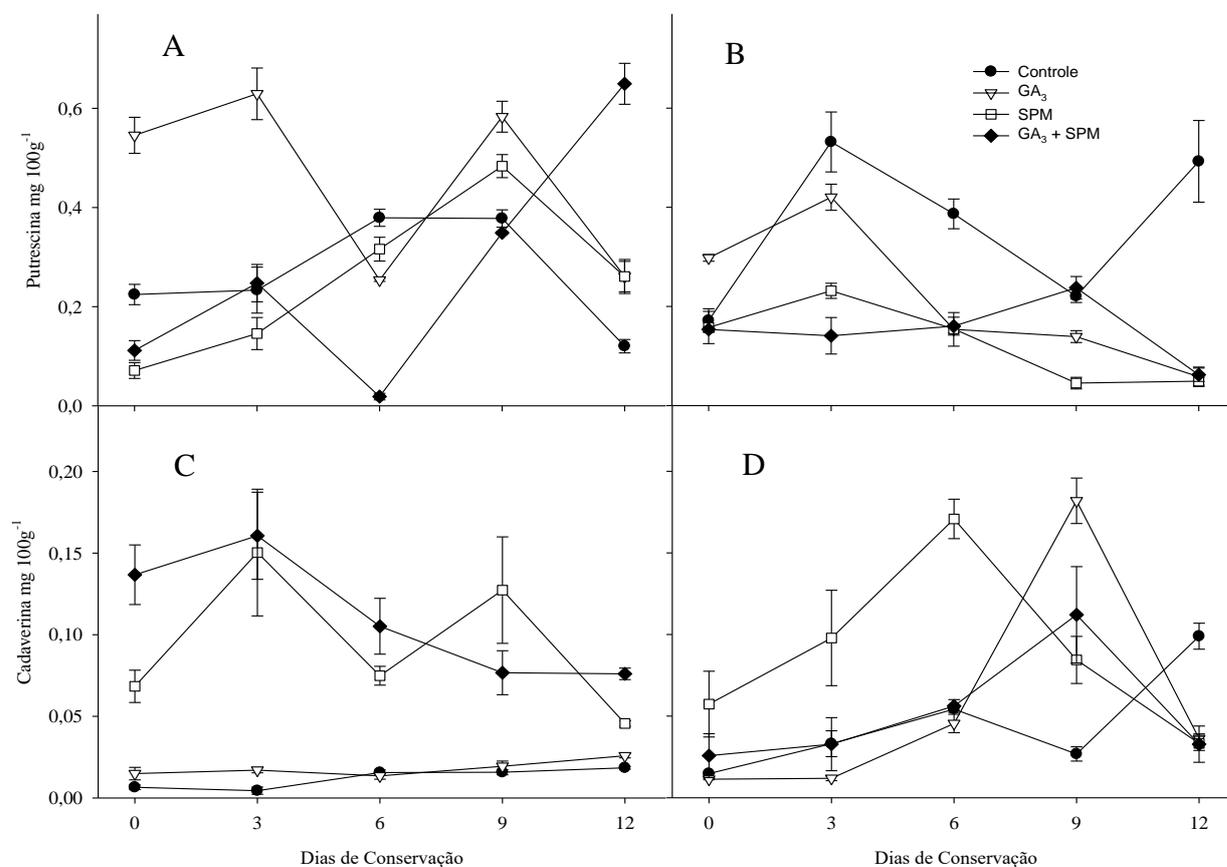


Figura 11: Putrescina e Cadaverina em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e *Pulsing* (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM), Espermina (SPM a 2 μM), Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM) + Espermina (SPM a 2 μM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.

As flores que foram pulverizadas com a combinação GA₃ + SPM e apenas SPM, os níveis de Cadaverina, mantiveram-se mais instáveis, como também com valores médios superiores, em comparação àquelas flores controle e submetidas a GA₃ (Figura 11 C). As flores submetidas a *pulsing*, houve um aumento dos níveis de Cadaverina para combinação GA₃ + SPM e GA₃ até o dia 9, enquanto para SPM esse aumento foi até 6 dia (Figura 11 D). Ao final de 12 dias, em todos os casos, com exceção do controle, os níveis de Cadaverina caíram significativamente (Figura 11 D)

Em geral, flores pulverizadas com a combinação GA₃ + SPM, obtiveram maiores níveis de Cadaverina em comparação ao controle, em todos os dias de conservação (Figura 11C). Enquanto flores submetidas a *pulsing*, essas diferenças não foram perceptíveis (Figura 11 D).

Observou-se nas flores pulverizadas, os níveis de Espemidina aumentaram até 3 dias e depois até 9 dias para GA₃ e SPM. Para a combinação, esse incremento se estendeu até 12 dias (Figura 12 A). Os níveis de Espermina, em geral mantiveram-se mais estáveis na conservação, com exceção das hastes pulverizadas com SPM, no qual aos 6 dias, apresentaram um aumento transiente entre 3 e 9 dias (Figura 12 C). No caso, das flores submetidas a *pulsing*, ocorreu um aumento transiente no início até o sexto dia (Figura 12 B). O mesmo comportamento foi observado para Espermina, apenas nas flores controle sob *pulsing* (Figura 12 D).

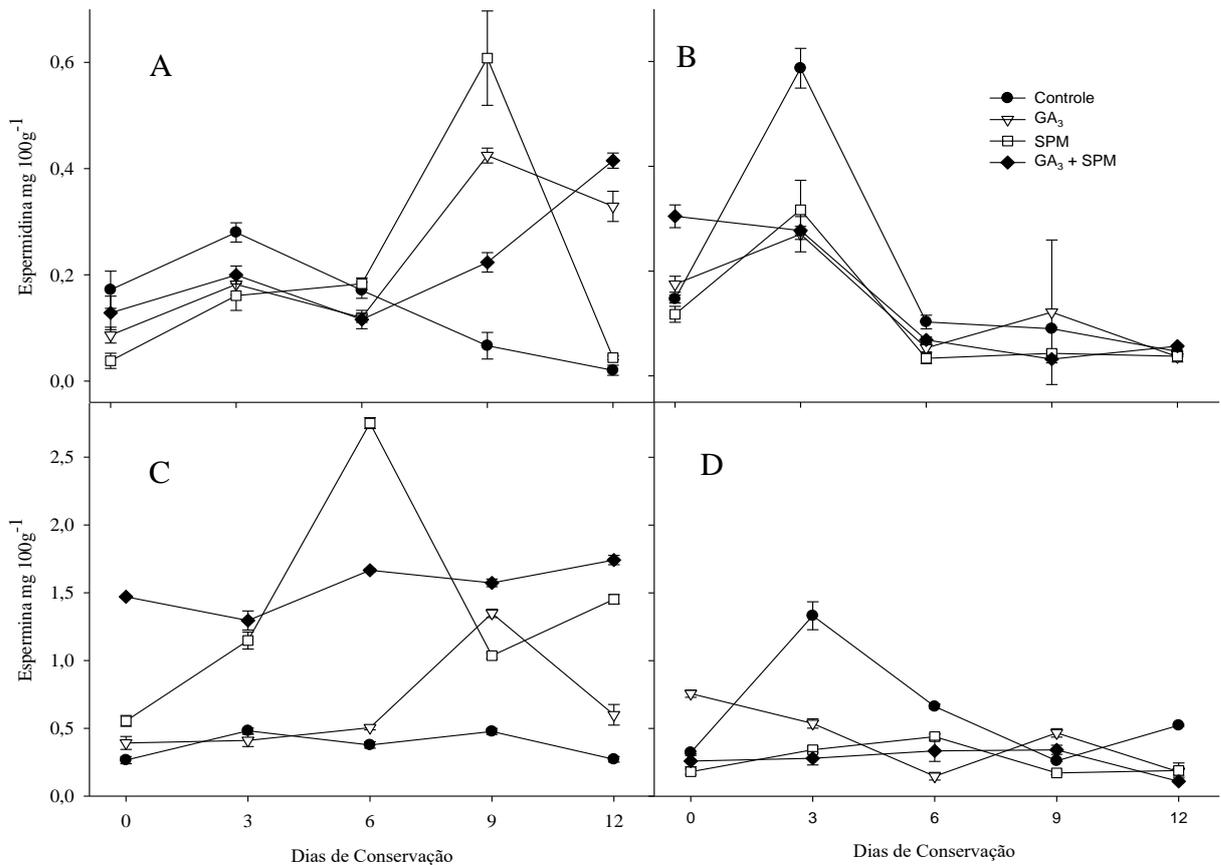


Figura 12: Espermidina e Espermina em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e *Pulsing* (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM), Espermina (SPM a 2 μM), Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM) + Espermina (SPM a 2 μM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2 °C por 12 dias.

Além disso, verificou-se que aos 12 dias a combinação GA₃ + SPM em pulverização, obteve maiores valores médios de Espermidina e Espermina em comparação ao controle (Figura 12 A e 12 C) isso não foi evidenciado para *pulsing* (Figura 12 B e 12 D).

As flores que foram submetidas a *pulsing* e pulverizadas, os níveis de Histamina e Serotonina se mantiveram em geral, mais estáveis, ao longo de 12 dias (Figura 13). Porém, aquelas pulverizadas com GA₃, apresentaram um aumento transiente no início (até 3 dias para Histamina e 3 a 6 dias para Serotonina) (Figura 13 A e 13 C). Por outro lado, sob *pulsing* as flores submetidas a GA₃ esse aumento parabólico ocorreu no final (6 a 9 dias) (Figura 13 D)

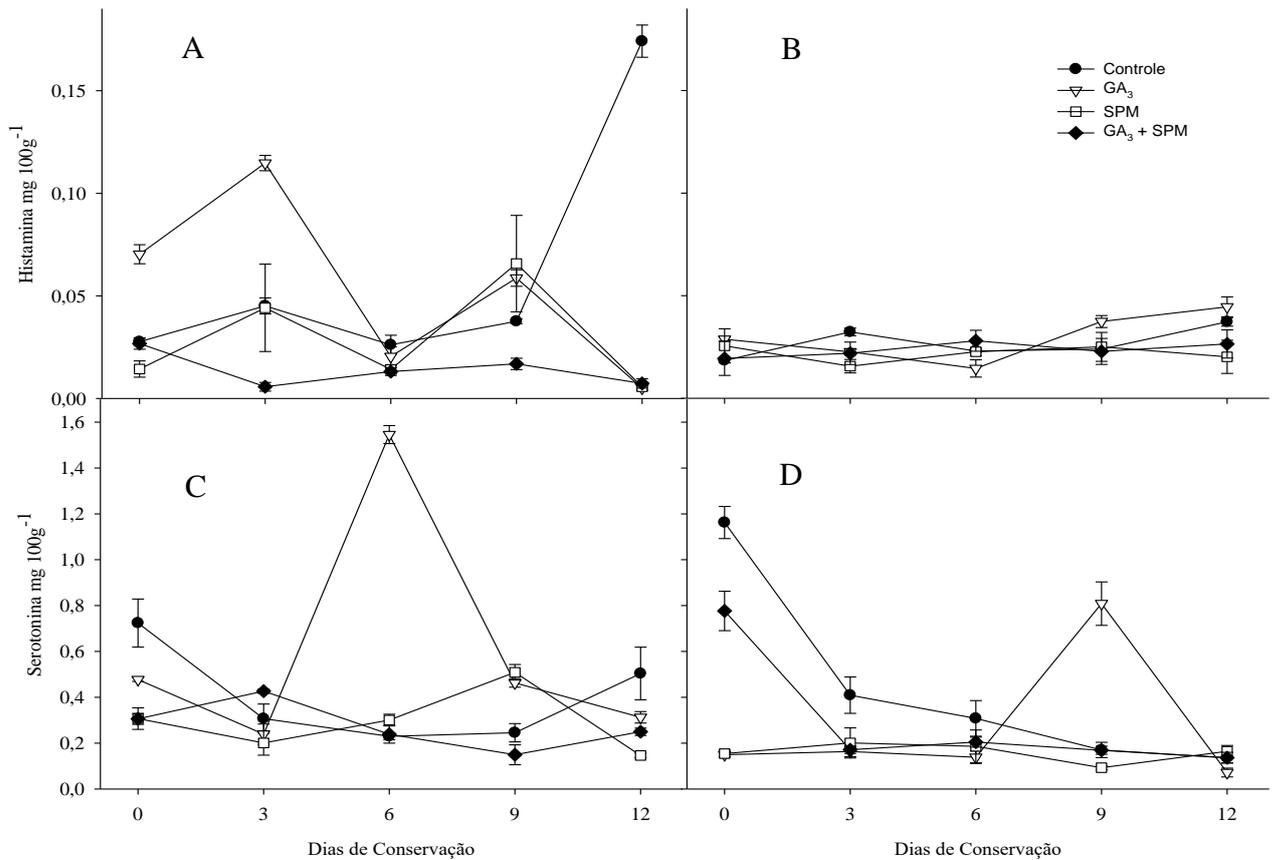


Figura 13: Histamina e Serotonina em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e *Pulsing* (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM), Espermina (SPM a 2 μM), Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM) + Espermina (SPM a 2 μM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2°C por 12 dias.

Com relação aos níveis de Dopamina, observou-se que nas flores pulverizadas, o controle sempre teve maior concentração e a combinação GA₃ + SPM os menores, tanto aos 9 como aos 12 dias (Figura 14 A). Os maiores níveis para flores sob *pulsing* nesse mesmo período, foram verificados quando as flores foram submetidas ao controle e os menores as flores com combinação GA₃ + SPM (Figura 14 B). Verificou-se que ocorreu o contrário em Tiramina, as flores pulverizadas a combinação GA₃ + SPM obtivam os menores níveis enquanto que as flores submetidas a *pulsing* a combinação permaneceu entre os maiores níveis (Figura 14 C e 14 D).

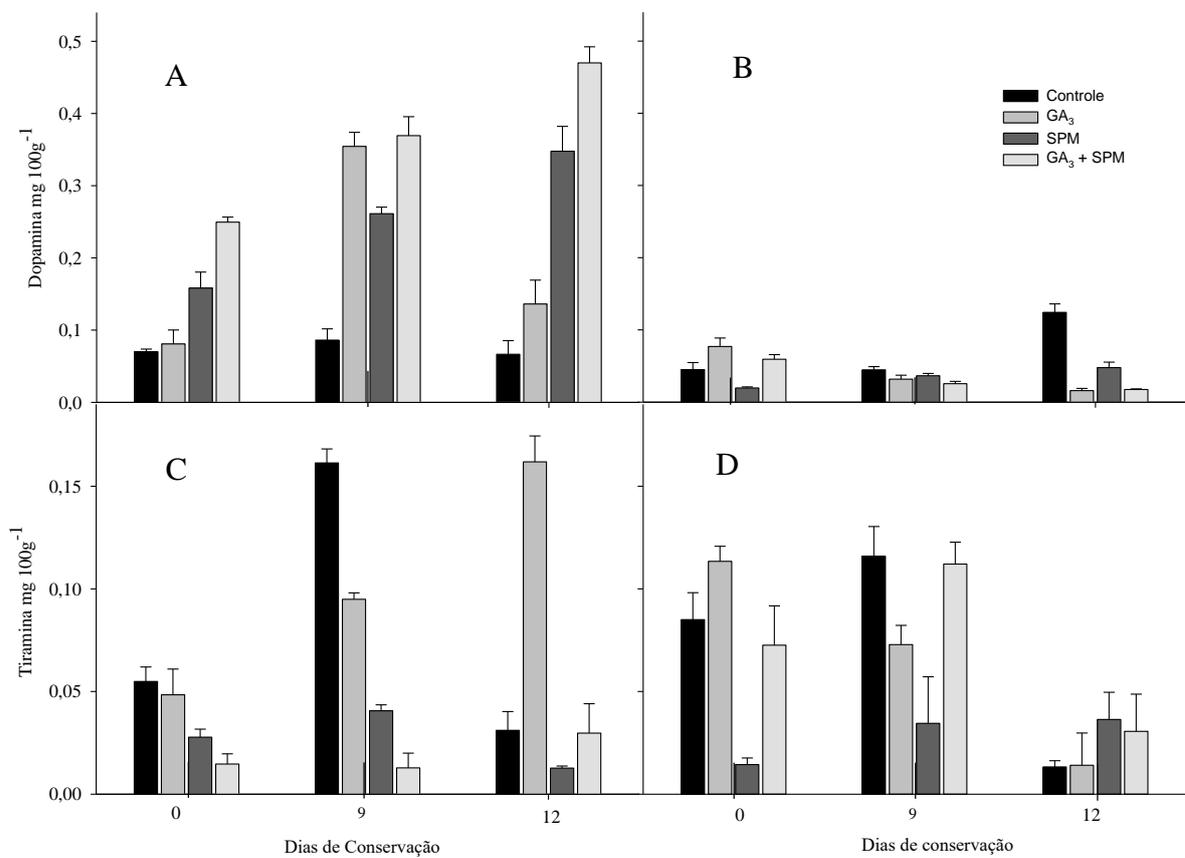


Figura 14: Dopamina e Tiramina em flores de antúrio de corte cv. Arizona submetidas a Pulverização (A e C) e *Pulsing* (B e D). Soluções contendo Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM), Espermina (SPM a 2 μM), Ácido Giberélico (GA₃ a 144 μM) + Espermina (SPM a 2 μM) e Água destilada (Controle). As flores foram mantidas a 22 ± 2 °C por 12 dias.

4. Discussão

Nos dois métodos de aplicação estudados, a combinação GA₃ + SPM, estendeu a vida de vaso de Antúrio de corte cv. Arizona, em 12 dias para flores pulverizadas e 9 dias para flores submetidas a *pulsing*. Ambos os casos com nota 2, considerado ainda comercial (Figura 6). Enquanto GA₃ e SPM aplicados isoladamente, e controle atingiram nota 2 até 6 dias de conservação (Figuras 6 e 7). Esses resultados demonstraram a maior eficiência, da combinação GA₃ e SPM, principalmente sob pulverização.

As respostas de aumento de longevidade de flores de corte tropicais são muito variáveis dependendo da espécie e da cultivar. Em antúrio, pode variar de poucos dias, até semanas, dependendo da cultivar (ELIBOX e UMAHARAN, 2010). Pode chegar a 8 dias para cv. Yellow Butterfly (ASRAR, 2012), 20 dias para a cv. Rubi (NASCIMENTO et al. 2008) e 28 dias para a cv. Cassino (PROMYOU et al. 2012).

O GA₃ aplicado por pulverização isoladamente estendeu a vida de vaso de flor de helicônia cv. Golden Torch (MANGAVE, et al. 2013). Espermina em rosa cv. Dolcvita não houve aumento na vida de vaso (FARAHI, et al. 2012), demonstrando variabilidade de respostas de flores aos fitorreguladores. No presente trabalho, a aplicação de GA₃ e SPM de forma isolada não prolongou ainda mais a conservação de flores de Antúrio cv. Arizona, como observados por Marsala et al. (2014) e Farahi, et al. (2012). Porém, a combinação prolongou de 3 a 6 dias, *pulsing* ou pulverização, respectivamente, em relação ao controle, representando um ganho significativo na comercialização de flor de antúrio cv. Arizona.

Flores pulverizadas e submetidas a *pulsing* com a solução formada de GA₃ + SPM perderam menos massa fresca em comparação ao controle, mais evidente aos 12 dias (Figura 8 A e 8 B). Esse comportamento resultou em hastes florais mais hidratadas, possivelmente com menor estresse hídrico. Associado a isso, a combinação GA₃ + SPM resultou em menores valores médios de extravasamento de eletrólitos, mais evidente também aos 12 dias, independentemente do método de aplicação (Figura 8 C e 8 D). Isso pode indicar membranas mais estáveis, resultando em flores mais duradouras.

A desidratação e a intensificação do extravasamento de eletrólitos são medidas que podem indicar perda de qualidade de flores (MIRDEHGHAN E RAHIMI 2016). No presente estudo, os danos causados pela senescência foram minimizados pelo uso da combinação GA₃ + SPM. O GA₃ é notavelmente conhecido pelo aumento da força motriz osmótica, resultando em potencial hídrico celular mais baixo, o que promove uma maior absorção de água

(EMONGOR 2004; SINGH et al. 2011). Além disso, é conhecido que as PAs, Putrescina, Espermina e Espermina podem também regular abertura estomática reduzindo o efeito do estresse hídrico (LIU et al. 2000; AN et al. 2008). No presente trabalho, a combinação GA₃ + SPM induziram Putrescina, Espermina e Espermina endógenas (Figuras 11 e 12) o que pode ter favorecido essa regulação estomática.

A medição da condutividade elétrica, pode ser usado como indicativo de permeabilidade da membrana em sépalas de flores, no qual aumenta com o estágio de desenvolvimento de *Ranunculus asiaticus* L. e *Consolida ajacis* L. cv. Violet Blue (SHAHRI e TAHIR, 2011). É noticiado também atividade de lipoxigenases (LOX) na senescência de flores de corte estimulando a deterioração das membranas (FUKUCHI-MIZUTANI et al. 2000). Os efeitos benéficos do GA₃ e da SPM combinados, sugerem uma maior manutenção da integridade celular e conseqüentemente maior durabilidade das hastes florais, mantendo características comerciais, além de retardar os efeitos da senescência.

Geralmente, os níveis de carboidratos e proteínas diminuem durante o processo de senescência em plantas (EASON et al. 1997), devido, em parte, pelo uso na respiração (HALEVY e MAYAK, 1981) e por ação das proteases específicas (SHAHI, et al. 2011). No presente trabalho, observou-se queda nos níveis de proteína do dia 0 ao dia 12 (Figura 8A e 8B), devido o *turnover* está favorecendo a degradação, ao invés de síntese. Além disso, a combinação GA₃ + SPM aplicados por *pulsing*, manteve mais estáveis os níveis de carboidratos (Figura 9 D). Diferente das flores pulverizadas, no qual a queda desse fitoquímico foi mais evidente (Figura 9 C). Por outro lado, as flores que foram pulverizadas até o dia 9, seus níveis de carboidratos solúveis foram maiores em relação aquelas submetidas a *pulsing* (Figura 9 C). Os carboidratos, são fontes de energia, controlam o metabolismo, desenvolvimento e expressão gênica em procariotos e eucariotos (KUMAR et al. 2008). A redução dos níveis de açúcares é um dos mais importantes eventos associados a senescência de flor de *Consolida ajacis* L.

Os compostos fenólicos, pode ser utilizado como marcador bioquímico de senescência de plantas (LEJA et al. 1994; FRANCK et al. 2007; CAVAIUOLO et al. 2013). Menores teores de fenóis podem ser indicativo de menores danos às membranas celular. Seus níveis são aumentados, geralmente, quando plantas são submetidas a algum tipo de estresse (LEJA et al., 2003). Uma vez que se encontram principalmente nos vacúolos e em outros espaços celulares sob estresse extravasam podendo reagir com as polifenoloxidasas (HOLDERBAUM et al. 2010). No presente trabalho, os teores de fenóis solúveis totais (Figura 10 A), demonstraram

possuir altos níveis, podendo ser explicado por a flor de Antúrio apresentar como principal pigmento da espata os flavonoides (COLLETTE, 2004) que são conhecidos por possuírem anéis fenólicos. A aplicação de GA₃ e SPM na forma isolada e o controle, mantiveram, quase sempre, intensos aumentos parabólicos. Diferentemente, a combinação GA₃ e SPM, sempre obteve os menores valores (Figura 10 A e 10 B).

O conteúdo de compostos fenólicos e a atividade de PPO estão intimamente correlacionados, no qual o aumento do conteúdo dos fenóis resulta em maior atividade da PPO (HOLDERBAUM, et al. 2010). Menores atividades de PPO (Figura 10 C e 10 D), POD (Figura 10 E e 10 F) e SOD (Figura 10 G e 10 H), pode ter contribuído para que as flores tratadas com a combinação de GA₃ e SPM estendesse a vida útil, por alguns dias (Figura 6). Essa combinação, possivelmente, favoreceu menores danos oxidativo, causados pelas EROs (SHIGEOKA et al. 2002) o que pode ter gerado menores atividades de POD (Figura 10 E e 10 F) e SOD (Figura 10 G e 10 H).

Geralmente a POD e SOD são medidas enzimáticas para se determinar o nível de estresse oxidativo em flores (RUBINOWSKA e MICHALEK, 2009; YU et al. 2009; MANGAVE, et al. 2013). Quanto maior a atividade dessas enzimas, maior o nível de estresse dos tecidos (SHIGEOKA et al. 2002; YU et al. 2009). Resultados semelhantes foram visto no presente trabalho, as flores não tratadas (controle) ou submetidas aos fitorreguladores isolados apresentaram mais curto tempo de conservação, possivelmente, resultado em maior dano oxidativo, evidenciado indiretamente por meio de maiores atividades de POD e SOD.

Geralmente, as PAs encontram-se em maior concentração em tecidos jovens em relação aos velhos, um dos argumentos é a competição pelo precursor do etileno (S-adenosilmetionina - SAM) (TIBURCIO et al. 1997). Embora, o antúrio seja uma flor tropical moderadamente sensível ao etileno. Assim, o prolongamento da vida de vaso de flor, foi explicado em parte, por altos níveis ou a estabilidade das poliaminas. No presente trabalho, as flores pulverizadas com a combinação GA₃ + SPM, os níveis endógenos de Putrescina, Cadaverina, Espermidina, Espermina e Dopamina sempre estiveram dentre os mais altos, e estáveis no final do experimento, ou mesmo, significativamente superior em relação aos demais (Figura 11 A e 11 C; Figura 12 A e 12 A). Por outro lado, o tratamento via *pulsing* isso não aconteceu (Figura 11 B e 11 D; Figura 12 B e 12 D). Isso pode indicar um desvio para síntese/produção de PAs, Espermina e Espermidina, ao invés de etileno, favorecendo a maior conservação observada nas flores pulverizadas com GA₃ + SPM.

As aminas de forma geral, agem como indicadoras de deterioração de tecidos (REMANTANIS et al., 1985). Podendo atuar auxiliando a remoção de EROs e também na manutenção da integridade das membranas celulares (GROPPA e BENAVIDES, 2008). Embora o seu papel como antioxidantes seja ainda bastante discutido (CHATTOPADHAYAY et al. 2002; KAKKAR e SAWHNEY, 2003). Entretanto, este efeito não foi observado para Histamina, Serotonina e Tiramina uma vez que flores sob *pulsing* e a pulverização, a combinação GA₃ + SPM seus níveis permaneceram dentre os menores e mais estáveis em relação aos fitorreguladores aplicados isolados e ao controle (Figuras 13, 14 C e 14 D), e no mesmo período para os níveis de Tiramina pulverizados (Figura 14 C e 14 D). Isso pode indicar que estas PAs tiveram menor contribuição para uma maior longevidade dessas flores.

As poliaminas possuem um efeito antioxidante através de sua utilização em reações catalisadas pela peroxidase (BOUCHEREAU et al. 1999; CHATTOPADHYAY et al. 2002). Assim como, podem ter um efeito protetor no que diz respeito a conservação das estruturas celulares diminuindo sua degradação por meio da inibição da peroxidação lipídica. No presente trabalho, verificou-se que as enzimas envolvidas na desintoxicação celular estudados POD e SOD, apresentaram menores atividades naquelas flores pulverizadas com a combinação GA₃ + SPM. Associados a isso, evidenciaram-se maiores níveis endógenos das PAs Putrescina, Cadaverina, Espermidina e Espermina e Dopamina (Figura 11, 12, 14 C e 14 D). Isso pode evidenciar que a combinação GA₃ + SPM usada pode aumentar a proteção celular induzindo moléculas ainda desconhecidas (LIU et al. 2007).

Uma novidade do presente trabalho foi que antúrio cv. Arizona parece ser as PAs Putrescina, Cadaverina, Espermidina, Espermina e Dopamina, associadas de forma ainda desconhecida, na proteção das células em adição aos mecanismos conhecidos envolvendo remoção de espécies reativas de oxigênio observado pela POD e SOD (Figura 10 E, 10 F, 10 G e 10 H). Possivelmente genes e metabolitos desconhecidos induzidos por PAs endógenos parecem ser mais evidentes quando se aplica GA₃ e SPM combinados diretamente no tecido alvo.

De modo geral, a combinação dos reguladores GA₃ + SPM aplicados por pulverização, sempre mantiveram os níveis de Putrescina, Cadaverina, Espermina, Espermidina e Dopamina crescentes ou estáveis, significativamente altos, em relação ao controle, durante os 12 dias estudados (Figuras 11, 12, 14 C e 14 D). Por outro lado, a aplicação dessa mesma combinação por *pulsing* os níveis das mesmas poliaminas foram menores ou iguais ao controle (Figura 11,

12, 14 C e 14 D). Isso mostra que a aplicação por imersão via *pulsing* no qual ocorre translocação dos fitorreguladores nos vasos do xilema, para depois atingir as células da flor, ou seja, na translocação via xilema, por haver uma infinidade de barreiras que dificulta a ação dos fitorreguladores estudados nas células-alvo, isso parece não ter sido tão eficiente, em relação a pulverização, no qual os fitorreguladores passam por contato direto, menos barreiras menor distância para atingir as células-alvo de forma mais eficiente. Assim, para os fitorreguladores estudados, a pulverização foi mais eficiente na manutenção da qualidade de flores de antúrio cv. Arizona.

Com base nos dados obtidos, assim como em outros trabalhos, acreditasse que em flores de antúrio cv. Arizona o manuseio e manutenção à 20 ° C estimula danos celulares conhecidos como: desidratação, vazamento de eletrólitos, queda dos níveis de proteínas e açúcares, como também, pode estimular danos oxidativos por meio das EROs (Figura 15). Porém, quando o manuseio for associado a aplicação exógenos direta na flor, ou via solução de GA₃ e SPM, principalmente misturados em solução, estimula acúmulos endógenos de Putrescina, Cadaverina, Espermina, Espermidina e Dopamina mais evidente e significativo que as PAs Tiramina, Histamina, Serotonina, Dopamina. O acúmulo dessas PAs parecem estar, em parte, ligadas aos mecanismos de defesas, representado pelo metabolismo antioxidante via SOD e POD; metabolismo fenólico, PPO e fenóis solúveis total, no qual são mais conhecidos. Porém, acredita-se ainda que outros mecanismos de proteção sejam mais evidentes, no qual ainda são desconhecidos, mas, que trabalhos evidenciam algumas possíveis moléculas candidatas, como óxido nítrico (NO); ácido gama-aminobutírico (GABA), genes, prolina assim como produtos do metabolismo do N₂, e o ciclo do ácido tricarboxílico. Isolados ou em conjunto essas moléculas em mudanças genética e metabólicas devem estar estimulando, ainda mais, as defesas celulares resultando em maior longevidade da flor de antúrio cv. Arizona (Figura 15).

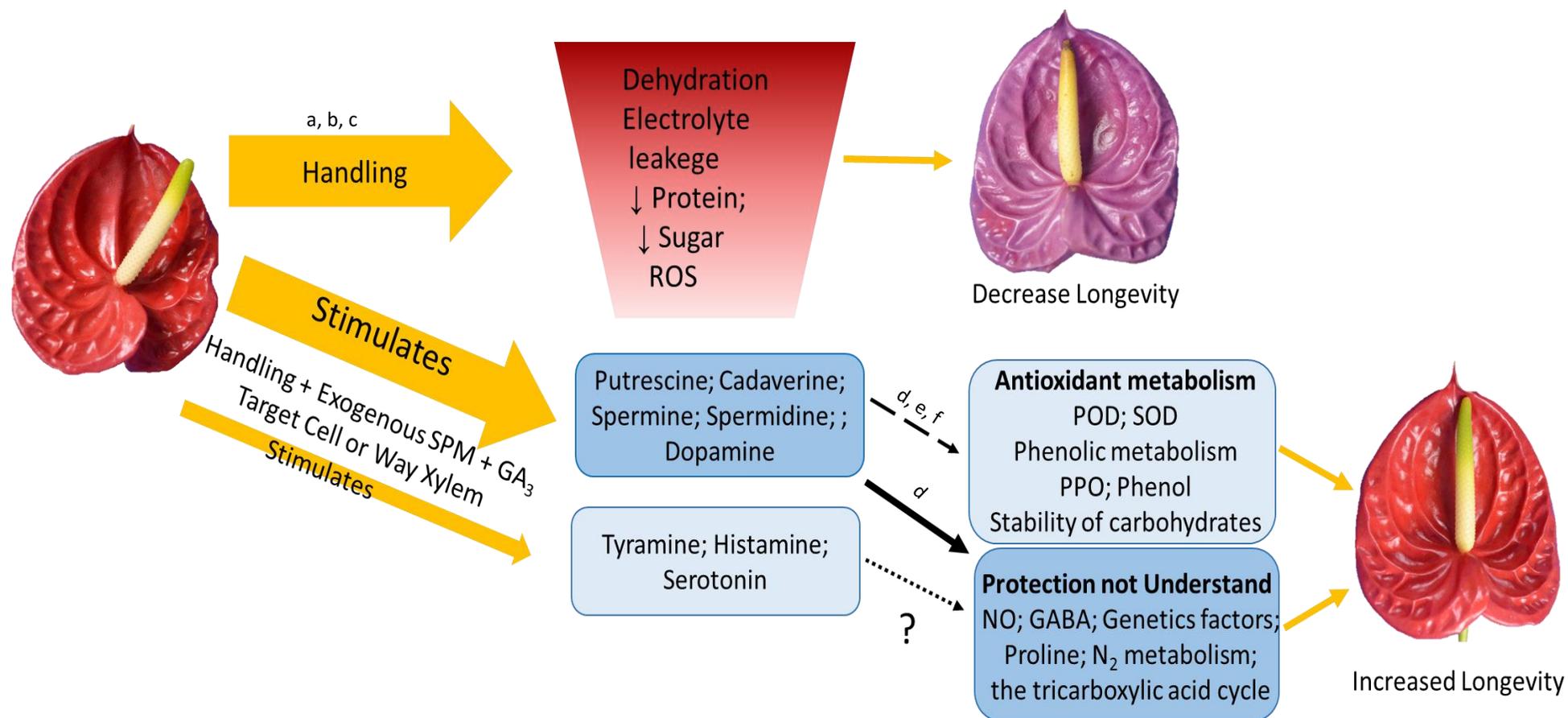


Figura 15: Mecanismo referente a algumas respostas físico-químicas ao aumento da longevidade de flor de Antúrio cv. Arizona. As referências sobescritas são: (a) Van Doorn, 2013; (b) Marsala et. al, 2014; (c) Mangave, et al. 2013; (d) Alcázar et al. 2006; (e) Alcázar et al. 2010; (f) Chattopadhyay et al. 2002.

5 Conclusão

A utilização da combinação de Ácido Giberélico (GA₃) a 144 µM + Espermina (SPM) a 2 µM demonstrou ser mais eficiente no retardamento da senescência em flor de corte de Antúrio cv. Arizona.

A pulverização foi o método mais adequado para a aplicação dos fitorreguladores estudados, visto que dobrou o tempo de conservação em relação ao controle.

6. Referências Bibliográficas

- ABBASI, J.; HASSANPOUR ASIL, M. Study on prolonging the vase life of tuberose cut flowers (*Polianthes tuberosa* L.) **South-Western Journal of Horticulture, Biology & Environment** 2, (2011), pp.157-165.
- ALCÁZAR, R.; CUEVAS, J. C.; PATRON, M.; ALTABELLA, T.; TIBURCIO, A. F. Abscisic acid modulates polyamine metabolism under water stress in *Arabidopsis thaliana*. **Physiol. Plant** 128, (2006) 448-455.
- ALCÁZAR, R.; ALTABELLA, T.; MARCO, F.; BORTOLOTTI, C.; REYMOND, M.; KONCZ, C.; CARRASCO, P.; TIBURCIO, A. F. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. **Planta.**, 231, (2010), pp. 1237-1249
- AN, Z. F.; JING, W.; LIU, Y.L.; ZHANG, W. H. Hydrogen peroxide generated by copper amine oxidase is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. **J Exp Bot.**, 59, (2008), pp. 815-825
- ANEFALOS, L. C.; TOMBOLATO, A. F. C.; RICORDI, A. Panorama atual e perspectivas futuras da cadeia produtiva de flores tropicais: o caso do antúrio. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, 16, (2010), pp. 107-111.
- BASSARD J. E.; ULLMANN, P; BERNIER, F; WERCK-REICHHART D. Phenolamides: bridging polyamines to the phenolic metabolism. **Phytochemistry.**, 71 (2010), pp.1808–1824.
- BEAUCHAMP, C. E.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assay applicable to acrylamide gels. **Anal Biochem**, 44, (1971), pp. 276–287.
- BOUCHEREAU, A.; AZIZ, A.; LARHER, F.; MARTIN-TANGUY, J. Polyamines and environmental challenges: recent development. **Plant Physiology.**, 140, (1999), pp. 103-125.
- BRACKMANN, A.; BELLÉ, R. A.; DE FREITAS, S.T.; DE MELLO, A. M. Qualidade pós-colheita de crisântemos (*Deinandra grandiflora*) mantidos em soluções de ácido giberélico **Ciência Rural.**, 35, (2005), pp.1451-1455.
- BRADFORD, M. M. A. rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry.**, 72, (1976) pp. 248-254.

- BULDEWO, S. AND JAUFEEERALLY-FAKIM, Y.F. Isolation of clean and PCR-amplifiable DNA from *Anthurium andreanum*. **Plant Molecular Biology Reporter.**, 20, (2002), pp.71-71.
- CASTRO, A. C. R.; TERAPO, D.; CARVALHO, A. C. P. P. Antúrio. Brasília, **EMBRAPA**. (2012) pp.163.
- CASTRO, P. R. C.; SENA, J. O. A.; KLUGE, R. A. Introdução a fisiologia do desenvolvimento vegetal. **Maringá: Universidade Estadual de Maringá**, 2002. pp. 255.
- CAO, S.; HU, Z.; ZHENG, Y.; LU, B. Synergistic effect of heat treatment and salicylic acid on alleviating internal browning in cold-stored peach fruit. **Postharvest Biol. Technol.** 58, (2010), pp. 93–97.
- CAVAIUOLO, M.; COCETTA G. FERRANTE, A. The antioxidants changes in ornamental flowers during development and senescence. **Antioxidants.** 2, (2013), pp. 132-155.
- CAVALCANTE, R. MOSCA, J. L.; MACIEL, V. T.; PAIVA, W. O. DE. Armazenamento refrigerado de *Heliconia chartaceae* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet colhidas em diferentes pontos de abertura. **Horticultura Brasileira.**, 23 (2005), pp. 563.
- CHATTOPADHAYAY, M. K.; TIWARI, B. S.; CHATTOPADHYAY, G.; BOSE, A.; SENGUPTA, D. N. GHOSH B. Protective role of exogenous polyamines on salinity stressed rice (*Oryza sativa*) plants. **Physiologia Plantarum.**, 116, (2002), pp. 192-199.
- COHEN S. A. Guide to the Polyamines. New York, NY: **Oxford University Press** (1998).
- CUQUEL, F. L.; GROSSI, M. L. Produção de antúrio no litoral do Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental.**, 10, (2004), pp. 35-37.
- DANTULURI, V. S. R.; MISRA, R. L.; SINGH, V. P. Effect of polyamines on postharvest life of gladiolus spikes. **Journal of Ornamental Horticulture.**, 11, (2008), pp. 66-68.
- DADAKOV, A. E.; NOVA, T. P.; KALAC, P. Content of biogenic amines and polyamines in some species of European wild-growing edible mushrooms. **European Food Research and Technology.**, 230, (2009), pp. 163–171.
- DIAS-TAGLIACOZZO, G. M.; CASTRO, C. E. F. Fisiologia da pós-colheita de espécies ornamentais. In: WACHOWICH, C. M.; CARVALHO, R. I. N. (Org.). Fisiologia vegetal: produção e pós-colheita. Curitiba: **Champagnat.**, (2002), pp. 359-382.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry.**, 28, (1956), pp. 350-356.

DUFOUR, L; GUÉRIN, V. Growth, developmental features and flower production of *Anthurium andreaeanum* Lind. In tropical conditions. **Scientia Horticulturae.**, 98, (2003), pp. 25-35.

EASON J. R., VRÉ L. A. DE, SOMERFIELD S. D., HEYES J. A. Physiological changes associated with *Sandersonia aurantiaca* flower senescence in response to sugar. **Postharvest Biol Technol** 12, (1997), pp. 43-50.

ELIBOX, W., UMAHARAN, P. Morphophysiological characteristics associated with vase life of cut flowers of anthurium. **HortScience.** 43, (2008), pp. 825–831.

ELHINDI, K.M. Effects of postharvest pretreatments and preservative solutions on vase life longevity and flower quality of sweet pea (*Lathyrus odoratus* L.). **Photosynthetica.**, 50, (2012) pp. 371-379

EMONGOR VE (2004) Effects of gibberellic acid on postharvest quality and vase life of gerbera cut flowers (*Gerbera jamesonii*). **J Agron.**, 3, (2004), pp. 191–195.

FARAH, M.H.; KHALIGHI, A.; KHOLDBARIN, B.; AKBAR-BOOJAR, M.M.; ESHGHI, S.; ABOUTALEBI, A.; Morphological responses and vase life of *Rosa hybrida* cv. Dolcvita to polyamines spray in hydroponic system. **Annals of Biological Research.**, 3, (2012) pp. 4854-4859.

FOLIN, C.; CIOCALTEU, V. Tyrosine and tryptophan determination in protein. **Journal Biological Chemistry.**, 73, (1927), pp. 627-650

FRANCO, R. E.; HAN, S. S. Respiratory changes associated with growth-regulator delayed leaf yellowing in Easter lily. **Journal American Society Horticultural Science.**, 122, (1997) pp. 117-121.

FUKUCHI-MIZUTANI, M.; ISHIGURO, K.; NAKAYAMA, T.; UTSUNOMIYA, Y.; TANAKA, Y.; KUSUMI, T.; UEDA, T. Molecular and functional characterization of a rose lipoxygenase cDNA related to flower senescence. **Plant Science**, 160, (2000), pp. 129-137.

- GARCIA, SANDRA MULLER AND MORAES, DARIO MUNT de. Efeito da espermina na qualidade fisiológica de sementes de alface. **Revista brasasileira sementes.**, 33, (2011), pp. 671-679
- GIANNOPOLITIS, C.N. E RIES, S.K. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology.**, 59, (1977), pp. 309-314
- HALEVY, A. H.; MAYAK, S. Senescence and postharvest physiology of cut flowers, Part 2. **Horticultural Reviews.**, 3, (1981), pp. 59-143.
- HARDENBURG, R. E.; WATADA, A. E.; WANG, C. Y. The commercial storage of fruits, vegetables, florist and nursery stocks. Washington: Department of Agriculture, **Agricultural Research Service.**, 66, (1988), pp. 136.
- HOLDERBAUM, D. F.; KON, T.; KUDO, T.; GUERRA, M. P. Enzymatic Browning, Polyphenol Oxidase Activity, and Polyphenols in Four Apple Cultivars: Dynamics during Fruit Development. **HortScience.**, 45, (2010), pp. 1150-1154.
- IMAN TALAAT, M., BEKHETA, M. A.; MAHGOUB, M. M. Physiological response of periwinkle plants (*Catharanthus roseus* L.) to tryptophan and putrescine. **Int. J. Agric. Biol.**, 7, (2005), pp. 210-213.
- JANOWSKA, B.; JERZY, M. Effect of gibberellic acid on postharvest leaf longevity of *Zantedeschia elliottiana* (W. Wats.) **Engl. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research.**, Skierniewice., 11, (2004), pp. 69-76.
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importâncias sócio-econômica recente. **Revista. Brasileira de Horticultura Ornamental.**, 14, (2008), pp. 37-52.
- GROPPIA, M. D.; BENAVIDES, M. P. Polyamines and abiotic stress: recent advance. **Amino Acids.**, 34,(2008), pp. 35-45.
- KAKKAR, R. K.; SAWHNEY, V. P. Polyamine research in plants: a changing perspective. **Physiol. Plant.**, 116, (2002), pp. 281–292.
- KUMAR, N.; SRIVASTAVA, G. C.; DIXIT, K. Hormonal regulation of flower senescence in roses (*Rosa hybrida* L.). **Plant Growth Regulation.**, 55, (2008), pp. 65–71.

- LEJA, M.; ROZEK, S.; MYCZKOWSKI, J. The effect of fertilization with different forms of nitrogen on greenhouse lettuce quality and its changes during storage. III. Phenolic metabolism. **Folia Horticulturae.**, 6, (1994), pp. 63-72.
- LEJA, M.; MARECZEK, A.; BEN, J. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. **Food Chemistry.**, 80, (2003), pp. 303-307.
- LIMA, G. P. P.; ROCHA, S. A.; TAKAKI, M.; RAMOS, P. R. R.; ONO, E. O. Comparison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and organic methods. **International Journal of Food Science and Technology.**, 43, (2008), pp.1838-1843.
- LIU, K.; FU, H.; BEI, Q.; LUAN, S. Inward potassium channel in guard cells as a target for polyamine regulation of stomatal movements. **Plant Physiol.**, 124, (2000), pp. 1315–1326.
- LIU, J. H.; KITASHIBA, H.; WANG, J.; BAN, Y.; MORIGUCHI, T. Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. **Plant Biotechnol.** 24, (2007), pp. 117-126.
- MANGAVE, B. D.; SINGH, A.; MAHATMA, M. K. Effects of different plant growth regulators and chemicals spray on post-harvest physiology and vase life of heliconia inflorescence cv. Golden Torch. **Plant Growth Regulation.**, 69, (2013), pp. 259-264
- MARSALA, J.; FERRAZ, M. V.; DA SILVA, S. H. M. G.; PEREIRA, D. DE M. G.; Post-harvest of *Anthurium andraeanum* L. cv. Apalai foliage. **Hornamental Horticulture.**, 20, (2014), pp. 137-142
- MIRDEHGHAN, S.H., RAHIMI, S. Pre-harvest application of polyamines enhances antioxidants and tablemrape (*Vitis vinifera* L.) quality during postharvest period. **Food Chemistry.**, 196, (2016), pp. 1040–1047
- MIRELES-ORDAZ J.; ARELLANO-PERUSQUIA, A.; ESPINAL-CENTENO, A.; SÁNCHEZ-SEGURA, L.; ESTRADA-LUNA, A.; CRUZ-RAMÍREZ, L. A.; Reprogramación celular de embriones de *Anthurium andraeanum* por fitohormonas para micropropagación masiva. **Nova Scientia.**, 7, (2015), pp. 49-67.
- MOSCHOU P. N., WU J., CONA A., TAVLADORAKI P., ANGELINI R., ROUBELAKIS-ANGELAKIS K. A. The polyamines and their catabolic products are significant players in the turnover of nitrogenous molecules in plants. **J. Exp. Bot.**, 63, (2012), pp. 5003–5015

NOMURAI, E. S.; FUZITANI, E. J.; DAMATTO JUNIOR, E. R.; Soluções de condicionamento em pós-colheita de inflorescências de antúrio. **Rev. Ceres.**, 61, (2014), pp.2

NOWAK, J., RUDNICKI, R. M. Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens, and potted plants. **Portland: Timber Press.**, (1990), pp. 210

MILLER, G.; VLADIMIR SHULAEV, V.; MITTLER, R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. **Physiol. Plant.** 133, (2008), pp. 481 - 489.

PAULL, R. E.; GOO, T. Ethylene and water stress in the senescence of cut anthurium flowers. **Amer. Soc. Hort. Sci.**, 110, (1982), pp. 84-88.

PROMYOU S. KETSA S. VAN DOORN W.G. Salicylic acid alleviates chilling injury in Anthurium (*Anthurium andraeanum* L.) flowers. **Postharvest Biol and Technol.**, 64, (2012), pp. 104- 110.

RAZEM, F. A.; EL-KEREAMY, A.; ABRAMS, S. R.; HILL, R. D. The RNA-binding protein FCA is an abscisic acid receptor. **Nature.**, 439, (2006), pp. 290-294

REIS, S. V. **Soluções de pulsing e de manutenção pós-colheita de flores de corte.** 2009. 79 p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras. Lavras.

REMANTANIS, C. P.; FASSBENDER, S.; WENZEL. Investigations concerning the production of histamine, tyramine and tryptamine in dry sausages. **Archiv Fur Lebensmittel Hygiene.**, 36, (1985), pp. 9-11.

RUBINOWSKA, K.; MICHAŁEK, W. Influence of putrescine on leaf senescence of *Helianthus annuus* L. potted plants., 30, (2009), pp. 57–65.

SARDOEI, A. S.; H. SARHADI, P.; RAHBARIAN, M. R.; YAZDI, M.; ARBABI, A.; JAHANTIGH, M. Effect of plant growth regulators on rooting of henna (*Lawsonia inermis* L.). **J. Adv. Biol. Biomed. Res.**, 1, (2013), pp. 1466-1470

SCHMITT, F.; MILANI, M.; DUARTE, V.; SCHAFER, G.; BENDER, R. J.; Conservantes florais comerciais nas soluções de manutenção de hastes florais de gérbera de corte. **Ciência Rural, Santa Maria.**, 44, (2014), pp. 2124-2128

SHAHRI W.; TAHIR, I.; ISLAM, S. T.; BHAT, M. A. Physiological and biochemical changes associated with flower development and senescence in so far unexplored *Helleborus orientalis* Lam. cv. Olympicus. **Physiol Mol Biol Plants.**, 17, (2011), pp. 33-39.

- SHANAHAN, J. F.; EDWARDS, I. B.; QUICK, J. S.; E FENWICK, J. R. Membrane thermostability and heat tolerance of spring wheat. **Crop Sci.**, 30, (1990), pp. 247-251
- SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **J. Exp. Bot.**, 53, (2002), pp. 1305-1319
- SILVA, E. **Estudos da atividade enzimática da polifenoloxidase e da peroxidase em algumas frutas e hortaliças in natura e processadas**. 1981. 108 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de alimentos). Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- SIMÕES, A. N.; MOREIRA, S. I.; MOSQUIM, P. R.; SOARES, N. F. F.; PUSCHMANN, R. Effect of conservation temperature on quality and phenolic metabolism of intact and minimally processed kale leafs. **Acta Scientiarum**, 37, (2015), pp. 101-107
- SINGH, P.; DHADUK, B. K.; CHAWLA, S. L. Standardization of growing medium for anthurium cv. Flame under protected conditions. **Indian Journal of Horticulture.**, 68, (2011), pp. 86-90.
- TEIXEIRA, J. B.; MARBACH, P. A. S. **Fitormônios**. Universa., 8, (2000), pp. 101-132
- TERAO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; BARROSO, T. C. S. F. **Flores Tropicais (Tropical flowers)**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, (2005), pp. 225
- TIBURCIO AF, ALTABELLA T, BORRELLI A, MASGRAU C (1997) Polyamine metabolism and its regulation. **Physiol Plant.**, 100, (1997), pp. 664-674
- TOMBOLATO, A. F. C. et al. **O cultivo de antúrio: produção comercial**. Campinas: IAC, 2002. 47 p. (Série Tecnologia APTA, Boletim Técnico IAC, n. 194).
- VAN DOORN, W. G.; DOLE, I.; CELIKEL, F. G.; HARKEMA, H. Opening of *Iris* flowers is regulated by endogenous auxins. **Journal of Plant Physiology**, 170, (2013), pp. 161-164.
- VIEIRA, E. L. **Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2001. 122p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

WATERLAND, N.L.; CAMPBELL, C. A.; FINER, J. J.; JONES M. L. Abscisic Acid Application Enhances Drought Stress Tolerance in Bedding Plants. **Hortscience.**, 45, (2010), pp. 409-413

YU, J. M.; TANG, S.; BAO, E. D.; ZHANG, M.; HAO, Q. Q.; YUE, Z. H. The effect of transportation on the expression of heat shock proteins and meat quality of *M. longissimus dorsi* in pigs. **Meat Sci.** 83, (2009), pp. 474-478.

ZIESLIN, N.; AGBARIA, H.; ZAMSKI, E. Involvement of gibberellins in development and senescence of rose flowers. **Acta Horticulturae**, 751, (2007), pp. 441-54