



DRUCYLLA GUERRA MATTOS

**SISTEMA ANTIOXIDANTE DE COPO-DE-LEITE
SUBMETIDO À BAIXA TEMPERATURA**

**LAVRAS – MG
2019**

DRUCYLLA GUERRA MATTOS

**SISTEMA ANTIOXIDANTE DE COPO-DE-LEITE SUBMETIDO À BAIXA
TEMPERATURA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Profa. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva
Orientadora

Pesq. Dr. Diogo Pedrosa Corrêa da Silva
Coorientador

**LAVRAS - MG
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Mattos, Drucylla Guerra.

Sistema antioxidante de copo-de-leite submetido à baixa
temperatura / Drucylla Guerra Mattos. - 2019.

65 p. : il.

Orientador(a): Patrícia Duarte de Oliveira Paiva.

Coorientador(a): Diogo Pedrosa Corrêa da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. *Zantedeschia aethiopica* (L) K Spreng. 2. superóxido
dismutase. 3. malondialdeído. I. Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira.
II. da Silva, Diogo Pedrosa Corrêa. III. Título.

DRUCYLLA GUERRA MATTOS

**SISTEMA ANTIOXIDANTE DE COPO-DE-LEITE SUBMETIDO À BAIXA
TEMPERATURA**

**ANTIOXIDANT SYSTEM OF CALLA LILY SUBMITTED TO LOW
TEMPERATURE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 29 de março de 2019.

Dra. Leila Aparecida Salles Pio	UFLA
Dra. Simone Novaes Reis	EPAMIG
Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas	UFLA
Dra. Elisa Monteze Bicalho	UFLA

Profa. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva
Orientadora

Pesq. Dr. Diogo Pedrosa Corrêa da Silva
Coorientador

**LAVRAS - MG
2019**

*Aos meus amados pais, Carlos Otávio e Aparecida,
A todos que me encorajaram e colaboraram para a realização desse trabalho.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me iluminar.

Aos meus pais, Carlos Otávio e Aparecida, pelo amor e apoio incondicional.

Aos meus avós, Dirceu, Maria Cândida, José e Amanda, pelas orações.

Ao Rafael, pelo amor e grande incentivo.

À professora Patrícia Duarte de Oliveira Paiva, pela orientação, oportunidade, confiança, paciência e enorme compreensão.

Ao pós-doutorando Diogo, pelos direcionamentos e ensinamentos.

À pós-doutoranda Michele, pela solicitude nos momentos de dúvida.

A todos os membros do Nepaflor (Núcleo de Estudos em Paisagismo e Floricultura), pela amizade, aprendizagem, oportunidades, ajuda e agradáveis momentos, e também ao Sr. Antônio, pela agradável convivência.

Aos grandes amigos Ângela, Carolinny, José Matheus, Mateus, Néilton e Laodicéia, que me ajudaram na condução e avaliação dos experimentos, me acompanharam nas coletas noturnas e, principalmente, por me oferecerem as dádivas da amizade: apoio, incentivo e momentos memoráveis!

À Mariel, pela grande ajuda nas análises bioquímicas, e à Rafaela Malheiros por auxiliar na organização das fotos dos experimentos.

A todos do LCTP (Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas), pelo agradável convívio, em especial, à Caroline, pela paciência e solicitude em ensinar sobre as análises bioquímicas realizadas nesse trabalho. À Rafaela, por contribuir na avaliação visual dos experimentos.

Aos responsáveis pelo LBFMP (Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas) por concederem o laboratório para a realização das análises bioquímicas.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Agricultura e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho,

MUITO OBRIGADA!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.” (José de Alencar)

RESUMO

A refrigeração é uma das técnicas mais eficazes para a manutenção da qualidade e aumento da durabilidade de flores de corte, fatores estes, essenciais na comercialização desses produtos. Tanto a manutenção da qualidade como o aumento da durabilidade são dependentes do metabolismo da planta. Desse modo, objetivou-se avaliar o efeito de baixa temperatura em pré-resfriamento e armazenamento, no metabolismo de copo-de-leite [*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng] por meio da avaliação do sistema antioxidante e níveis de peróxido de hidrogênio e malondialdeído. O primeiro experimento consistiu na avaliação pós-colheita do copo-de-leite sob duas temperaturas de armazenamento: 4 °C (câmara fria) e 21 °C. A atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) foi aumentada com armazenamento sob baixa temperatura (4 °C), assim como também a durabilidade no padrão comercial (aproximadamente 12 dias). Em armazenamento sob 21 °C, os níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA) foram maiores, e a redução da qualidade visual das inflorescências foi mais acelerada. Dessa forma, o armazenamento em baixa temperatura demonstrou maior atividade das enzimas do sistema antioxidante (CAT e SOD) e maior longevidade pós-colheita para o copo-de-leite. O segundo experimento consistiu na aplicação da técnica de pré-resfriamento das hastes florais (câmara fria a 4 °C) por diferentes períodos (0; 2; 6; 12 e 24 horas) seguido de transferência para 21 °C. As inflorescências foram avaliadas visualmente e procedeu-se a extração de material vegetal, em nove intervalos de tempo ao longo do armazenamento, para análise da atividade das enzimas CAT e SOD, e análise dos níveis H₂O₂ e MDA. O pré-resfriamento não influenciou na qualidade visual e longevidade do copo-de-leite. Maiores períodos de exposição à baixa temperatura, 12 e 24 horas de pré-resfriamento, e a diferença de temperatura, provocaram um estresse, comprovado pelos altos níveis de MDA e alta atividade da CAT. Menores períodos de exposição à baixa temperatura durante o pré-resfriamento, proporcionaram melhor atividade do sistema antioxidante e menores níveis de MDA.

Palavras-chave: *Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng. Superóxido dismutase. Malondialdeído. Longevidade. Pré-resfriamento.

ABSTRACT

Cooling is one of the most effective techniques for maintaining the quality and durability of cut flowers, which are essential factors in the marketing of these products. Both quality maintenance and increased durability are dependent on plant metabolism factors. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of low temperature on pre-cooling and storage, on the metabolism of calla lily (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) by the evaluation of the antioxidant system and levels of hydrogen peroxide (H₂O₂) and malondialdehyde (MDA). Therefore, the first experiment consisted of the post-harvest evaluation of calla lily under two storage temperatures: 4 °C (cold room) and 21 °C. The activity of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) was increased with storage at low temperature (4 °C), as well as durability in the commercial standard (approximately 12 days). For storage at 21 °C, the content of H₂O₂ and MDA was higher and the visual quality reduction of the inflorescences was more accelerate. Thus, the low temperature leads to a higher activity of the enzymes of the antioxidant system (CAT and SOD) and yields greater post-harvest longevity for calla lily. The second experiment consisted of the application of the pre-cooling technique (cold room at 4 °C) for different periods (0, 2, 6, 12 and 24 hours), followed by storage of floral stems at 21 °C. The inflorescences were visually evaluated and the plant material was extracted in several collections at 9 time intervals during storage to analyze the activity of the enzymes CAT and SOD, and the levels of H₂O₂ and MDA. Pre-cooling did not influence the visual quality and longevity of calla lily. SOD activity was related to the low temperature. Higher exposure periods to low temperature, with 12 and 24 hours of pre-cooling, besides the temperature difference in relation to storage at 21 °C, caused stress, evidenced by the high levels of MDA and high CAT activity. Shorter exposure periods to low temperatures during pre-cooling resulted in better antioxidant system activity and lower levels of MDA.

Keywords: *Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng. Superoxide dismutase. Malondialdehyde. Longevity. Pre-cooling.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO 11
2	REFERENCIAL TEÓRICO..... 13
2.1	Mercado floricultor brasileiro 13
2.2	Copo-de-leite: descrição botânica, uso e cultivo 13
2.3	Colheita, pós-colheita e classificação de copo-de-leite 14
2.4	Armazenamento a frio e pré-resfriamento de flores de corte 15
2.5	Sistema antioxidante 17
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS 20
	REFERÊNCIAS 21
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS* 25
	ARTIGO 1 - AÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM COPO-DE-LEITE APÓS A COLHEITA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA 26
	ARTIGO 2 - PRÉ-RESFRIAMENTO E SISTEMA ANTIOXIDANTE NO ARMAZENAMENTO DE COPO-DE-LEITE 46

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A manutenção da qualidade e durabilidade das flores são importantes fatores na sua pós-colheita. Tratando-se de flores, a qualidade se refere ao aspecto visual dos produtos, uma vez que são destinados principalmente a ornamentação. Adicionalmente, a durabilidade reflete um maior período para comercialização do produto.

Dentre as bulbosas de clima tropical e subtropical destaca-se o copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng), também denominado por cala-branca ou lírio-do-Nilo, sendo comercializada como flor de corte, destinada à composição de buquês e arranjos florais.

A inflorescência é composta por uma espata branca com formato muito delicado e textura aveludada, e uma espádice de colocaração amarela. Devido a cor e sutileza formada pelo conjunto da espata envolvendo a espádice, carrega grande simbologia, remetendo-se à pureza, inocência, paz, e ao sagrado, sendo muito utilizado em buquês de noivas e ornamentações em cerimônias e festas de casamentos.

Entretanto, o copo-de-leite é uma flor frágil, exigindo cuidados na sua manipulação, e com baixa durabilidade pós-colheita, sendo muito sensível a altas temperaturas, o que requer uso imediato ou armazenamento a frio. Esse aspecto é um gargalo para expansão de seu cultivo e comercialização.

A refrigeração é a técnica mais utilizada não só no armazenamento de flores, como da maioria dos produtos hortícolas frescos. A baixa temperatura das câmaras frias é responsável por desacelerar o metabolismo da planta, garantindo sua qualidade original por maior período de tempo.

A perda de qualidade se relaciona, em grande parte, com a oxidação dos tecidos da planta. A oxidação celular é resultado de desbalanço entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e capacidade das enzimas do sistema antioxidante metabolizarem essas substâncias tóxicas. Esse desbalanço pode ocorrer durante a etapa pós-colheita devido, dentre outros aspectos, à temperatura de armazenamento. Portanto, uma gestão adequada da temperatura nessa etapa é essencial para a manutenção da qualidade e longevidade das flores.

Entretanto, existem aspectos ainda pouco conhecidos sobre a ação do frio no metabolismo bioquímico das flores para que o processo de oxidação dos tecidos, que culmina na senescência, seja desacelerado. Entender como as enzimas do sistema antioxidante atuam sobre a produção de ERO's em condições de refrigeração é essencial para se entender a relação entre metabolismo e qualidade das flores. Assim como entender como a baixa temperatura atua

sobre a ação das enzimas, condicionando essa ação de forma positiva ou não, e avaliar como isso pode afetar a ação das ERO'S e, conseqüentemente, afetar a durabilidade e qualidade do copo-de-leite.

Assim, objetivou-se avaliar o comportamento de enzimas do sistema antioxidativo sob baixa temperatura no armazenamento pós-colheita de inflorescências de copo-de-leite, e relacionar esse comportamento com a produção de ERO's, longevidade e manutenção da qualidade do copo-de-leite.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Mercado floricultor brasileiro

O mercado consumidor brasileiro de flores e plantas ornamentais apresenta baixos níveis de consumo per capita, com demanda mais concentrada em datas especiais e em produtos mais tradicionais (JUNQUEIRA; PEETZ, 2017). Apesar desse cenário, o mercado é um dos seguimentos do agronegócio brasileiro mais promissores, apresentando resultados positivos de crescimento nos últimos anos. No ano de 2017, o ramo da floricultura movimentou R\$ 6,9 bilhões, um crescimento de 6% em relação a 2016. Para o ano de 2018, o valor estimado foi de R\$ 7,2 bilhões, representando um crescimento de 4% em relação ao ano anterior (JUNQUEIRA; PEETZ, 2018). Dessa forma, há uma sinalização positiva e promissora para todos os participantes da cadeia produtiva, como produtores, atacadistas, varejistas, designers florais e paisagistas (JUNQUEIRA; PEETZ, 2017).

O mercado florícola se apresenta segmentado em três setores: o setor de produção de espécies de plantas ornamentais para paisagismo, o setor de flores e folhagens de corte, e o setor de flores e plantas envasadas (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). Abastecendo dois desses setores há a produção de bulbosas ornamentais, que são cultivadas e comercializadas tanto para consumo como flor de corte, quanto como flores envasadas, e utilização no paisagismo e jardinagem. A exemplo das bulbosas ornamentais mais cultivadas e comercializadas estão alstroeméria (*Alstroemeria sp.*), amarílis (*Hyppastrum sp.*), gladiolo (*Gladiolus x grandiflorus*), hemerocale (*Hemerocallis sp.*), lírio (*Lilium sp.*) e copo-de-leite (*Zantedeschia sp.*) (TOMBOLATO et al., 2010).

2.2 Copo-de-leite: descrição botânica, uso e cultivo

Originário de locais úmidos da África do Sul, pertencente à família Araceae, o copo-de-leite é uma planta perene, herbácea de hábito entouceirante, com folhas verde-escuras e brilhantes, e porte entre 0,60 a 1,00 m (LORENZI; SOUZA, 2008). Sua inflorescência é formada por uma espata, que pode atingir até 25 cm de comprimento, possuindo coloração branca a creme, e por outra denominada como espádice, que possui coloração amarela e fica protegida pela espata, sendo a parte inferior da espádice, formada pelas flores femininas, e a superior, por flores masculinas (ALMEIDA; PAIVA, 2012).

Utilizado tanto como flor de corte como componente paisagístico, o copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) é uma planta que exprime suavidade e pureza, sendo seu uso muito apreciado para decoração de casamentos e confecção de buquês de noivas. A rusticidade do cultivo, facilidade de manejo, alta rentabilidade por área plantada e baixos custos de implantação, tornam essa planta ornamental uma boa opção de cultivo para agricultores familiares (ALMEIDA; PAIVA, 2005).

O copo-de-leite é uma espécie bulbosa ornamental de introdução muito antiga no país, sendo seu cultivo feito quase que exclusivamente por pequenos produtores, e não é considerado como de grande interesse por médias e grandes empresas floricultoras, a não ser como produto de exploração alternativa. As principais regiões produtoras se encontram no estado de São Paulo, especialmente nos municípios de Guarulhos, Arujá, Cotia e Ibiúna, no estado de Minas Gerais nas regiões centro-sul, e região serrana do Espírito Santo. Nos meses mais frios, entre maio e setembro, o copo-de-leite floresce em abundância e é produzido em telado ou túnel plástico para obtenção de hastes mais longas. Ainda assim, a necessidade de cultivo protegido devido às condições climáticas pouco favoráveis, mais o controle de água e temperatura, oneram muito a atividade (TOMBOLATO et al., 2010).

O copo-de-leite é propagado por meio da divisão de suas touceiras e rizomas, por cultura de tecidos e por sementes, sendo essa última via de propagação não recomendável devido à polinização cruzada, que pode resultar em mudas desuniformes (ALMEIDA; PAIVA, 2012). O cultivo pode ser a meia sombra ou a pleno sol, sendo bastante resistente a climas frios e pouco tolerante a climas quentes (LORENZI; SOUZA, 2001). Temperaturas entre 16 °C e 22 °C garantem um bom desenvolvimento, sendo o limite de 4 °C suportável pela cultura (ALMEIDA; PAIVA, 2012).

2.3 Colheita, pós-colheita e classificação de copo-de-leite

Previamente à colheita, há uma seleção das hastes que estejam dentro dos padrões de qualidade, eliminando-se plantas com danos mecânicos, deficiência nutricional, problemas fitossanitários e deformações (CUQUEL; FINGER; LOGES, 2009). O copo-de-leite pode ser colhido em estádios de abertura que podem variar desde espata fechada até totalmente aberta, sendo o estágio de colheita, escolhido conforme o mercado de destino ou finalidade do uso. Quando colhido com espata totalmente aberta, sua ponta deve estar virada para cima, e se colhido, mais fechado, a espata não se abre completamente, permanecendo a inflorescência com seu tamanho reduzido. A presença de pólen nas flores não é um aspecto favorável, pois o evento

da polinização é responsável por acelerar o aparecimento de sintomas da senescência como murcha da espata, diminuindo assim, a durabilidade (ALMEIDA; PAIVA, 2012).

Para comercialização, as hastes florais de copo-de-leite podem ser dispostas em pacotes com 12 hastes ou embaladas em papelão (ALMEIDA, PAIVA, 2005). O armazenamento em câmara fria a 4 °C também é essencial para garantir a qualidade e a longevidade, permitindo uma vida de prateleira de até 12 dias. Quando o armazenamento a frio não é possível, a colheita deve ser feita próxima a comercialização, em função da sensibilidade das flores e permanência no padrão de qualidade, por no máximo 5 dias (ALMEIDA; PAIVA, 2012).

Um procedimento pós-colheita que se realiza com o intuito de se assegurar o padrão de qualidade, uniformidade e, indiretamente, longevidade de flores de corte em geral, é a avaliação visual (MOTOS, 2000). O Instituto Brasileiro de Floricultura - IBRAFLOR (2008), estabelece um padrão de qualidade pós-colheita para comercialização da maioria das espécies de flores e plantas ornamentais. Pesquisadores também estabelecem padrões visuais próprios ou adaptados, com o objetivo de associar qualidade à aparência, como Almeida et al. (2007) para copo-de-leite, Costa et al. (2011) para helicônias e Cavalcante et al. (2006) para sorvetão.

Na ausência de um padrão de qualidade pós-colheita para o copo-de-leite, estabelecido pelo Instituto Brasileiro de Floricultura - IBRAFLOR, Almeida et al. (2008) elaboraram um padrão de qualidade com base nos princípios estabelecidos por esse instituto e utilizados para outras espécies. Dessa forma, o padrão considerado ideal para a comercialização de hastes florais de copo-de-leite abrange duas classes, A1 e A2, sendo A1, a classe de qualidade máxima (inflorescências túrgidas, com a ponta da espata inclinada e ausência de rugas ou necroses). A classe A2 apresenta algumas restrições quanto a qualidade, mas ainda assim, é comercializável (inflorescências túrgidas, com a ponta da espata levemente enrolada para baixo e ausência de rugas ou necroses). O padrão não considerado como ideal para o copo-de-leite, porém, ainda comercializável, classifica as hastes florais como B (inflorescências túrgidas, ponta da espata levemente enrolada para baixo, presença de rugas, ausência de necroses). E quando não apresentam mais características da classificação B, são consideradas como C (inflorescência murcha com a ponta da espata enrolada para baixo e presença de necroses) e descartadas.

2.4 Armazenamento a frio e pré-resfriamento de flores de corte

As flores permanecem metabolicamente ativas quando colhidas e, assim, o processo de senescência tem continuidade ou é acelerado (CUQUEL; FINGER; LOGES, 2009). Esse processo pode se relacionar a numerosos fatores, como falta de carboidratos nos tecidos florais, que gera falta de reserva energética para que se conservem por mais tempo (VAN GORSEL, 1994); sensibilidade ao etileno e produção deste hormônio, que aceleram as reações de deterioração (FERRANTE et al., 2006); a obstrução dos vasos condutores, pela formação de bolhas de ar no xilema (HE et al., 2006) as quais levam à murcha devido a não reposição da água perdida na transpiração (VAN MEETEREN et al., 2001); ao aumento da atividade respiratória e à atividade de peroxidases, e presença de peróxidos e radicais livres (HODGES, 2004).

Para desacelerar o processo de deterioração desses órgãos, diversas técnicas são empregadas comercialmente, visando a longevidade e a manutenção da qualidade, como o armazenamento a frio, que diminui perdas hídricas e inibe diferentes processos de senescência (NOWAK; RUDNICKI, 1990; AGHDAM et al., 2013). O efeito da baixa temperatura pode ser atribuído à redução do metabolismo que, conseqüentemente, resulta em menores taxas do processo de respiração, transpiração, deterioração dos tecidos, além de reduzir a produção de etileno e crescimento de microrganismos (FERNANDES et al., 2019). A técnica é eficientemente usada em culturas ornamentais como o copo-de-leite (ALMEIDA et al., 2007; ALMEIDA et al., 2009; ALMEIDA et al., 2011; CASTRO et al., 2014), helicônias (COSTA et al., 2011) lírios (VAN DOORN; HAN, 2011) e rosas (DIAS et al., 2016; DIAS et al., 2017).

A relação entre temperatura e longevidade se dá na medida em que esta é prolongada com o uso de armazenamento a frio, o qual promove a redução na taxa de respiração (REID, 2009), conseqüentemente mantendo por mais tempo os carboidratos disponíveis (MATTIUZ et al., 2010) e diminuindo as perdas de massa fresca (MOSCA et al., 2009).

O manejo da temperatura tem início ainda na colheita, realizada em horários de temperaturas amenas e, logo após, realizando o resfriamento inicial (THOMPSON, 2004). O resfriamento do produto recém-colhido, denominado de pré-resfriamento, deve ocorrer tão logo o produto é colhido no campo, sendo considerada uma etapa importante da gestão da temperatura em produtos hortícolas. Ainda contribui para manutenção da qualidade, aumento da durabilidade, e conseqüente satisfação do cliente final (BROSNAN; SUN, 2001).

O método é capaz de contribuir para a redução da perda de água e diminuição da respiração. A redução da temperatura logo no início da etapa pós-colheita ainda tem o efeito adicional da redução da produção de etileno, efeito importante quando há transporte dos produtos por longas distâncias (PRASATH; VISWANATH; GANAPATHY, 2018).

O pré-resfriamento pode ser aplicado por meio de diferentes métodos: resfriamento por ventilação forçada; refrigeração hídrica; resfriamento a vácuo; resfriamento a vácuo com spray de água; resfriamento com gelo nas embalagens; e sala refrigerada ou câmara fria (THOMPSON, 2004; ALIBAS; KOKSAL, 2018). O método depende, dentre outros fatores, da natureza do produto, tipo de embalagem do produto e viabilidade econômica (BROSNAN; SUN, 2001). A refrigeração hídrica pode ser aplicada pela imersão de hastes ou para flores que permitem o contato com água, e a câmara fria permite uma rápida redução da temperatura de flores recém-colhidas e acomodadas em baldes com água (THOMPSON, 2004).

2.5 Sistema antioxidante

As espécies reativas de oxigênio (ERO's) são originárias de reações inerentes ao metabolismo da planta como a fotossíntese e a respiração, e são encontradas em diversos compartimentos celulares (MITTLER, 2002).

As plantas utilizam as ERO's como o radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH), como mensageiros secundários para transdução de sinais em diversos processos inerentes ao ciclo celular, e sua acumulação é importante tanto para o desenvolvimento como para a reação da planta aos estímulos ambientais (FOYER; NOCTOR, 2005).

Organelas como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos são os principais compartimentos celulares envolvidos na produção de ERO's, como também existem locais secundários de produção como o apoplasto, paredes celulares e membrana plasmática (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014). Assim, o radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$) pode ser encontrado nos cloroplastos, mitocôndrias, membrana plasmática, peroxissomos e parede celular; o oxigênio singleto (O_2^1) encontra-se nos cloroplastos e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pode ser encontrado nos peroxissomos, apoplasto e parede celular (MITTLER, 2002).

As plantas possuem um sistema de defesa contra as ERO's podendo atuar na limitação da sua formação ou na sua remoção (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002). Esse sistema é formado por antioxidantes enzimáticos como a superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), e antioxidantes não enzimáticos como o ácido ascórbico e glutatona. Todo sistema funciona para desintoxicação celular do $\cdot\text{O}_2^-$ e H_2O_2 , e o equilíbrio entre as enzimas e demais agentes antioxidantes, essencial para manter níveis não tóxicos de $\cdot\text{O}_2^-$ e H_2O_2 (MITTLER et al., 2004).

As enzimas desse sistema atuam removendo, neutralizando ou sequestrando radicais livres e oxintermediários. Dentre essas, as enzimas CAT e SODs são consideradas as mais eficientes, sendo suas ações combinadas responsáveis por converter o radical superóxido ($\cdot\text{O}_2$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água (H_2O) e oxigênio molecular (O_2) (SCANDALIOS, 1993).

A SOD catalisa a dismutação de $\cdot\text{O}_2$ para O_2 e H_2O_2 , e assim, se encontra em compartimentos celulares em que ocorrem a produção de espécies ativas de oxigênio. Enquanto que a CAT dismuta H_2O_2 em água e oxigênio molecular, e o principal local de produção dessa enzima é o peroxissomo (SHARMA et al., 2012).

As ERO's funcionam como mensageiros secundários em fenômenos fisiológicos, entretanto, podem causar dano oxidativo em situações de estresse como frio, salinidade, metais pesados e radiação UV (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014). Dessa maneira, um quadro de estresse oxidativo ocorre quando o organismo é incapaz de administrar altos níveis de ERO's (HODGES et al., 2004). O estresse oxidativo é resultante de um desequilíbrio redox (redução/oxidação) severo e de longo prazo devido à falta de elétrons (DEMIDCHIK, 2015).

Os distúrbios decorrentes do estresse oxidativo podem incluir escaldadura superficial e escurecimento do núcleo, senescência induzida, perda de cor, peroxidação lipídica e perda da integridade de membrana (HODGES et al., 2004).

Vários fatores influenciam o estresse oxidativo após a colheita, podendo ocorrer de forma isolada ou conjunta. Dentre esses fatores estão o nível maturidade com que o vegetal é colhido, a temperatura e atmosfera do local de armazenamento, status de hidratação, sensibilidade ao etileno e senescência (HODGES et al., 2004).

A deterioração dos tecidos de produtos vegetais é foco de muitas pesquisas na área de alimentos e horticultura, e, pode ser resultado do processo natural de senescência ou consequência de um estresse pós-colheita (MARANGONI; PALMA; STANLEY, 1996). A senescência é parte do ciclo de vida vegetal, afetando diretamente a qualidade comercial, sendo as espécies reativas de oxigênio (ERO's) mediadoras desse processo (TIAN; QIN; BOQIANG, 2013).

Durante a senescência avançada ocorre um considerável aumento no processo de peroxidação lipídica, uma alteração nos lipídeos de membrana, resultando na geração de ERO'S, além de aldeídos tóxicos e cetonas como o malondialdeído e o 4-hidroxinonenal, capazes que causar dano protéico (JYOTHSNA; MURTHY, 2016).

Dessa forma, o estudo do sistema antioxidante é de grande relevância para a pós-colheita por ser uma poderosa ferramenta para neutralizar a deterioração oxidativa ao nível celular, e,

consequentemente, também inibir o surgimento de sintomas que afetam a qualidade final de produtos colhidos (RACCHI, 2013). Por exemplo, em damasco (*Prunus armeniaca*), foi verificado que a atividade antioxidante é aumentada, melhorando a qualidade e valor nutricional dos frutos, quando esses são submetidos durante a pós-colheita à técnica de pré-resfriamento (YAN et al., 2017).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O sucesso do mercado de flores de corte é altamente dependente da qualidade das flores, e esse atributo se relaciona também com a durabilidade. Flores cortadas são produtos altamente perecíveis, que podem ter sua qualidade diminuída por uma série de fatores bióticos e abióticos, como também pela ação conjunta desses fatores. A redução da qualidade e durabilidade por ação desses fatores ocorre devido à influência sobre a senescência, que é um processo natural, mas que pode ser acelerado. A senescência resulta da deterioração dos tecidos que, por sua vez, é causada por uma série de reações bioquímicas, e as ERO's tem papel fundamental nesse fenômeno, sendo sua participação um evento natural, mas que pode se tornar um agravante e acabar acelerando a senescência. Nesse aspecto, as enzimas antioxidantes possuem um papel fundamental, uma vez que possuem a capacidade de reverter a ação nociva das ERO's. Por isso, é de fundamental importância avaliar como uma das principais técnicas utilizadas na pós-colheita de flores, que é a utilização da baixa temperatura, se relaciona com a ação das enzimas antioxidantes. O conhecimento dessa relação pode auxiliar na otimização do uso de refrigeração na pós-colheita, como também demonstrar como a técnica pode ser eficaz, justificando assim, seu custo/benefício na comercialização do copo-de-leite.

REFERÊNCIAS

- AGHDAM, M.S. et al. Heat shock proteins as biochemical markers for postharvest chilling stress in fruits and vegetables. **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v. 160, p. 54-64, 2013.
- ALIBAS, I.; KOKSAL, N. The Importance of Pre-cooling Methods and Usage Possibilities in Ornamental Plants. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, [S.l.], v. 6, n. 5, p. 586-595, 2018.
- ALMEIDA, E.F.A.; PAIVA, P.D.O. Copo-de-leite. In: PAIVA, P.D.O.; ALMEIDA, E.F.A. **Produção de flores de corte**. Lavras: UFLA, 2012. v.1. 678 p.
- _____. Cultivo de copo-de-leite. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 227, p. 30-35, 2005.
- ALMEIDA, E.F.A. et al. Calla lily inflorescences postharvest: pulsing with different sucrose concentrations and storage conditions. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 4, p. 657-663, 2011.
- ALMEIDA, F.A.E. et al. Senescência de inflorescências de copo-de-leite: influência de diferentes armazenamentos e procedimentos pós-colheita. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 15, n. 1, p. 71-76, 2009.
- ALMEIDA, F. A. E. et al. Pós-colheita de copo-de-leite: efeito de diferentes conservantes comerciais e armazenamento a frio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1189-1194, 2008.
- ALMEIDA, E.F.A. et al. Soluções de condicionamento para conservação pós-colheita de inflorescências de copo-de-leite armazenadas em câmara fria. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1442-1445, 2007.
- ALSCHER, R.G.; ERTUK, N.; HEATH, L.S. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, [S.l.], v. 53, n. 372, p. 1331-1341, 2002.
- BROSNAN, T.; SUN, D. Precooling techniques and applications for horticultural products - a review. **International Journal of Refrigeration**, [S.l.], v.24, n. 2, p. 154-170, 2001.
- CAVALCANTE, R.A. et al. Conservação pós-colheita de Sorvetão (*Zingiber spectabile* Griff.) utilizando filme plástico em diferentes pontos de colheitas. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 12, n. 2, p. 117-121, 2006.
- CASTRO, M.L.R. et al. Estádio de abertura floral e qualidade pós-colheita em armazenamento de copo-de-leite. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 20, n. 2, p. 131-136, 2014.
- COSTA, A.S. et al. Storage of cut *Heliconia bihai* (L.) cv. Lobster Claw flowers at low temperatures. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [S.l.], v. 15, n. 9, p. 966-972, 2011.

CUQUEL, F.L.; FINGER, F.L.; LOGES, V. Colheita e pós-colheita de flores de corte. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 249, p. 56-53, 2009.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, [S.l.], v. 2, p. 1-13, 2014.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, [S.l.], v. 109 p. 212-228, 2015.

DIAS, G.M. et al. Armazenamento úmido e seco de rosas cortadas. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 22, n. 2, p. 166-171, 2016.

DIAS, G.M. et al. Controlled atmosphere and refrigerated storage in cut roses ‘Avalanche’. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 23, n. 3, p.363-369, 2017.

FERNANDES, L. et al. Post-harvest technologies applied to edible flowers: A review. **Food Reviews International**, [S.l.], v. 35, n. 2, p. 132-154, 2019.

FERRANTE, A. et al. Evaluation of postproduction performance of *Salvia splendens* potted plants for interiors use. **Acta Horticulturae**, [S.l.], v. 723, p. 415-420, 2006.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant, Cell & Environment**. [S.l.], v. 28, n. 8, p. 1056-1071, 2005.

HE, S. et al. Stem end blockage in cut *Grevillea* ‘Crimson Yul-lo’ inflorescences. **Postharvest Biology and Technology**, [S.l.], v. 41, n. 1, p. 78-84, 2006.

HODGES, D.M. et al. Oxidative stress: importance for postharvest quality. **Hortscience**, [S.l.], v. 39, n. 5, p. 924-929, 2004.

IBRAFLOR. Instituto Brasileiro de Floricultura. **Padrão Ibraflor de qualidade**. São Paulo: IBRAFLOR, 2000. 87 p.

JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M. da S. Sustentabilidade na floricultura brasileira: apontamentos introdutórios para uma abordagem sistêmica. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 24, n. 2, p. 155-162, 2018.

_____. Consumo brasileiro de flores e plantas ornamentais: hábitos, práticas e tendências contemporâneas. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 23, n. 2, p. 178-184, 2017.

_____. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 20, n. 2, p. 115-120, 2014.

JYOTHSNA, P.; MURTHY, S.D.S. A review on effect of senescence in plants and role of phytohormones in delaying senescence. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 152-161, 2016.

LORENZI, H.; DE SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 4 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 1088 p.

_____. Araceae. In: LORENZI, H.; DE SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil**. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2001. 791 p.

MARANGONI, A.G.; PALMA, T.; STANLEY, D.W. Membrane effects in postharvest physiology. **Postharvest Biology and Technology**, [S.l.], v.7, n. 3, p. 193-217, 1996.

MATTIUZ, C.F.M. et al. Armazenamento refrigerado de inflorescências cortadas de *Oncidium varicosum* 'Samurai'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 11, p. 2288-2293, 2010.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, [S.l.], v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MITTLER, R. et al. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, [S.l.], v. 9, n.10, p. 490-498, 2004.

MOSCA, J.L. et al. O. Efeito da temperatura e da solução conservante na qualidade pós-colheita de *Zingiber spectabile* Griff. **Ornamental Horticultural**, [S.l.], v. 14, n. 2, p. 197-204, 2009.

MOTOS, J.R. **Padrão Ibraflor de qualidade**. Campinas: Instituto Brasileiro de Floricultura, 2000. 87 p.

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

PRASATH, V.A.; VISWANATH, A.; GANAPATHY, S. A review on physicochemical changes in fresh horticultural produce under cold storage condition. **International Journal of Pure & Applied Bioscience**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 1558-1563, 2018.

RACCHI, M.L. Antioxidant Defenses in Plants with Attention to *Prunus* and *Citrus* spp. **Antioxidants**, [S.l.], v. 2, n. 4, p. 340-369, 2013.

REID, M.S. Factores que afetam la calidad em la poscosecha. In: **Poscosecha de las flores cortadas**: manejo y recomendaciones. Traducción de Marta Pizano. Bogotá: Hortitecna, 2009. 154 p.

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 101, n. 1, p. 7-12, 1993.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, [S.l.], v. 2012, p. 1-26, 2012.

TIAN, S.; QIN, G.; LI, B. Reactive oxygen species involved in regulating fruit senescence and fungal pathogenicity. **Plant Molecular Biology**, [S.l.], v. 82, n. 6, p. 593-602, 2013.

THOMPSON, J.F. Pre-cooling and storage facilities. **The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks**. p. 11, 2004.

TOMBOLATO, A.F.C. et al. Bulbosas ornamentais no Brasil. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 16, n. 2, p. 127-138, 2010.

VAN DOORN, W.G.; HAN, S.S. Postharvest quality of cut lily flowers. **Postharvest Biology and Technology**, [S.l.], v. 62, n. 1, p. 1-6, 2011.

VAN GORSEL, R. Postharvest Technology of Imported and Trans-shipped Tropical Floricultural Commodities. **HortScience**. [S.l.], v. 29, n. 9, p. 979-981, 1994.

VAN MEETEREN, U. et al. Processes and xylem anatomical properties involved in rehydration dynamics of cut flowers. **Acta Horticulturae**, [S.l.], v. 543, p.199-205, 2001.

YAN, J. et al. Forced-air precooling treatment enhanced antioxidant capacities of apricots. **Journal of Food Process and Preservation**., [S.l.], v. 42, n.1, p. 1-7, 2018.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS*

ARTIGO 1

Ação de enzimas antioxidantes em copo-de-leite após a colheita em função da temperatura

(Elaborado conforme as normas do periódico Postharvest Biology and Technology)

Resumo

O uso de baixas temperaturas em flores é uma técnica muito eficaz para desacelerar a senescência e garantir maior durabilidade, no entanto, há poucas informações sobre como a temperatura influencia o sistema antioxidante durante esse tratamento. Para o copo-de-leite, uma flor de corte muito apreciada em arranjos florais, a rápida senescência é um desafio para a sua comercialização. Assim, objetivou-se avaliar a ocorrência de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e a atividade de enzimas antioxidantes em copo-de-leite sob baixa temperatura de armazenamento, bem como a relação com a qualidade e durabilidade pós-colheita. Para isso, hastes florais de copo-de-leite [*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng] foram armazenadas sob as temperaturas de 4 e 21 °C, e umidade relativa de 85 ± 5 %. As avaliações ocorreram por 13 dias e consistiram na verificação da qualidade visual por meio de notas e de análises bioquímicas [catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD); e níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA)]. Observou-se maior atividade das enzimas CAT e SOD para inflorescências armazenadas a 4 °C, assim como maior durabilidade da qualidade visual. No armazenamento a 21 °C, ocorreu uma redução mais acelerada da qualidade visual das inflorescências e os níveis de H₂O₂ e MDA foram maiores ao final do armazenamento. Dessa forma, o sistema antioxidativo é afetado pela temperatura de armazenamento, sendo que a temperatura mais baixa (4 °C) proporciona maior atividade das enzimas CAT e SOD, menores níveis de H₂O₂ e MDA, e maior manutenção da qualidade pós-colheita de inflorescências de copo-de-leite.

Palavras-chave: *Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng; flor de corte; padrão de qualidade; superóxido dismutase; senescência.

Abstract

Flower cooling is a very effective technique to desaccelerate senescence and ensure greater durability, however, there is a few information on how temperature influences the antioxidant system during this treatment. For calla lily, a cut flower greatly appreciated in floral arrangements, rapid senescence is a challenge for its commercialization. Thus, the objective of this study was to evaluate the occurrence of reactive oxygen species (ROS) and the activity of antioxidant enzymes in calla lily under low storage temperature, and the relationship with quality and post-harvest durability. For this purpose, flower stems (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) were stored under temperatures of 4 and 21 °C, and relative humidity of 85 ± 5%. The evaluations were made for 13 days and consisted in verifying the visual quality through notes and biochemical analyzes [catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD); and levels of hydrogen peroxide (H₂O₂) and malondialdehyde (MDA)]. Greater activity of CAT and SOD enzymes was observed for flower stems inflorescences stored at 4 °C, as well as greater visual quality durability. At storage at 21 °C, a faster reduction of the visual quality of the inflorescences occurred and the H₂O₂ and MDA levels were higher at the end of storage. Thus, the antioxidative system is affected by the storage temperature, and the lower temperature (4 °C) provides higher activity of CAT and SOD enzymes, lower levels of H₂O₂ and MDA, and higher post-harvest quality maintenance of calla lily inflorescences.

Keywords: *Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng; cut flower; quality standard; superoxide dismutase; senescence.

1. Introdução

A qualidade de uma flor de corte é grandemente relacionada com sua longevidade, sendo este, um dos atributos mais importantes para sua comercialização, e por isso, o estudo da senescência é essencial na busca de formas para aumento da longevidade das flores (Shibuya, 2018). Entretanto, flores e plantas ornamentais são produtos de alta perecibilidade, necessitando de cuidados em toda a cadeia pós-colheita, uma vez que perdas em qualidade afetam a aceitação do consumidor (Senapati et al., 2016)

Uma das principais técnicas pós-colheita para garantir longevidade e qualidade é o uso da baixa temperatura de armazenamento, que é capaz de reduzir a proliferação de microrganismos, reduzir a respiração e desecelerar a senescência (Aghdam et al., 2015). A técnica é eficiente para flores de corte como o copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng), que possui baixa durabilidade pós-colheita, ou seja, rápido processo de senescência após o corte (Almeida et al., 2009; Almeida et al., 2011; Castro et al., 2014)

A senescência é um processo de deterioração oxidativo que culmina na morte celular programada e as espécies reativas de oxigênio (ERO's) estão envolvidas em várias etapas desse fenômeno celular (Cavaiuolo et al., 2013). Assim, as ERO's, a exemplo do oxigênio singlete (1O_2), superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($\bullet OH$), podem agir como sinalizadoras ou, quando em excesso, podem agir de forma danosa às células (Kanojia e Dijkwelet, 2018). É no ápice da senescência que ocorre um considerável aumento no processo de peroxidação lipídica, uma alteração nos lipídeos de membrana, resultando na geração de ERO'S, além de aldeídos tóxicos e cetonas como o malondialdeído e o 4-hidroxinonal, capazes que causar dano protéico (Jyothsna e Murthy, 2016).

Devido a nocividade das ERO'S, seu aumento é acompanhado também pelo aumento da atividade de compostos antioxidantes que tentam proteger as células e, posteriormente, com o avanço do processo da senescência, a atividade desses compostos diminui (Cavaiuolo et al., 2013). Compostos enzimáticos, como a catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), e não-enzimáticos, como o ácido ascórbico e a glutatona, formam a maquinaria do sistema antioxidante que é responsável por controlar os efeitos da oxidação celular (Gill e Tuteja, 2010).

Dessa forma, o estudo do sistema antioxidante é de grande relevância para a pós-colheita, por ser uma poderosa ferramenta para neutralizar a deterioração oxidativa ao nível celular, e, conseqüentemente, também inibir o surgimento de sintomas que afetam a qualidade final de produtos colhidos (Racchi, 2013).

Assim, objetivou-se avaliar a ocorrência de ERO's e a atividade de enzimas antioxidantes em copo-de-leite sob baixa temperatura de armazenamento, e a relação com a qualidade e durabilidade pós-colheita.

2. Material e Métodos

As hastes florais de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) utilizadas no experimento foram obtidas em cultivo comercial, e transportadas a seco para o laboratório de pós-colheita. Foi realizado um corte nas bases das hastes florais, e, em seguida, dispostas com a base imersa em água destilada.

As hastes florais foram selecionadas conforme o padrão de comercialização da inflorescência (formada por espata e espádice) estabelecido por Almeida et al. (2008): classe de qualidade A1 + A2 (A1 - inflorescências túrgidas, com a ponta da espata inclinada e ausência de rugas ou necroses e A2 - inflorescências túrgidas, com a ponta da espata levemente enrolada para baixo e ausência de rugas ou necroses). Todas as hastes florais foram padronizadas em 50 cm, e foram inseridas individualmente, em recipiente plástico contendo 600 mL de água destilada. As hastes florais foram armazenadas sob duas temperaturas: 4 °C em câmara fria e 21 °C e umidade relativa de 85% ± 5%. O período de avaliação foi de 13 dias, quando se atingiu a senescência de mais de 50% das hastes florais mantidas a 21 °C.

2.1 Delineamento experimental

Para cada temperatura de armazenamento, 4 °C e 21 °C, foram utilizadas 7 repetições, sendo cada uma constituída de 2 hastes florais de copo-de-leite. As repetições foram dispostas no espaço de armazenamento de forma inteiramente casualizada. Cada um dos 3 avaliadores fez a avaliação visual de um total de 14 plantas (7 repetições x 2 hastes florais por parcela) para cada uma das duas temperaturas de armazenamento.

Para as avaliações bioquímicas, diariamente, durante o período de 13 dias, foram retiradas 3 espatas de hastes florais de copo-de-leite, de cada local de armazenamento, previamente separadas para serem destinadas para as análises destrutivas. Para determinação tanto da atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) como da quantificação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e peroxidação lipídica (MDA), foram utilizadas três amostras (extratos) em triplicata.

2.2 Avaliação da qualidade visual

Para a avaliação de qualidade visual do copo-de-leite, diariamente, durante o período de 13 dias, foram realizadas avaliações por três avaliadores fixos, os quais classificaram a qualidade visual apenas das inflorescências, das hastes florais, conforme Almeida et al. (2008): A1- Inflorescências túrgidas, ponta da espata inclinada, ausência de rugas ou necroses; A2- Inflorescências túrgidas, base da espata levemente enrolada para baixo, ausência de rugas ou necroses; B- Inflorescências túrgidas, ponta da espata levemente enrolada para baixo, presença de rugas, ausência de necroses; C- Inflorescências murchas, ponta da espata enrolada para baixo, presença de necrose.

Para a avaliação do experimento, foi considerado o número de dias em que as inflorescências de copo-de-leite permaneceram em cada classificação.

2.3 Avaliações bioquímicas

Para as análises bioquímicas, as espatas foram excisadas por completo (Fig. 1), dispostas em nitrogênio líquido (NL) (-196 °C) e então em ultrafreezer (-80 °C). Procedeu-se as análises bioquímicas para determinação da atividade das enzimas do sistema antioxidante, catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), e quantificação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e de peroxidação lipídica (MDA).



Fig. 1. Hastes florais de copo-de-leite após a excisão da espata.

2.3.1 Peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

Para a quantificação do peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, foram macerados 200 mg de espata de copo-de-leite em NL acrescido de Polivinilpolipirrolidona (PVPP). Em

seguida, o macerado foi homogeneizado em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% e centrifugado a 12.0000 G por 15 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e armazenado em ultrafreezer (-80 °C).

A quantificação do peróxido de hidrogênio foi realizada conforme Velikova et al., (2000) por meio da adição de uma alíquota da amostra ao meio de reação, contendo tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e iodeto de potássio 1 M. A quantificação foi obtida medindo-se a absorvância a 390 nm e com base em uma curva padrão com concentrações conhecidas de H₂O₂.

A quantificação da peroxidação lipídica foi realizada conforme Buege e Aust (1978) por meio da adição de alíquotas da amostra ao meio de reação contendo 0,5% de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% de ácido tricloroacético (TCA), seguido de incubação a 90 °C por 30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo, e as leituras foram realizadas por meio de espectrofotômetro, a 535 nm e 600 nm. O TBA forma complexos de cor avermelhada com aldeídos de baixa massa molecular, como o malondialdeído (MDA), produto secundário do processo de peroxidação. A peroxidação lipídica foi expressa em mmol de MDA g⁻¹ de matéria fresca.

2.3.2 Enzimas antioxidantes

Para avaliação da atividade das enzimas CAT e SOD, após a coleta e armazenamento, prosseguiu-se com a obtenção dos extratos enzimáticos por meio da maceração a frio de 200 mg de espata de copo-de-leite em nitrogênio líquido (NL) acrescido de PVPP (Polivinilpolipirrolidona). O macerado foi homogeneizado em 1,5 mL da solução tampão de extração (Fosfato de potássio 400 mM – pH 7,8; EDTA 10 mM, ácido ascórbico 200 mM e água) (Biemelt et al., 1998) e, em seguida, centrifugado a 13.000 G por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e armazenado em ultrafreezer (-80 °C).

A atividade da CAT foi determinada conforme Havir e McHale (1987). Alíquotas do extrato enzimático foram adicionadas ao meio de incubação contendo fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), água e peróxido de hidrogênio 250 mM. A atividade da enzima foi determinada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm, a cada 15 segundos durante 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de extinção molar utilizado foi de 36 mM⁻¹ cm⁻¹ (Azevedo et al., 1998). Os resultados foram expressos em μM H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ MF (massa fresca).

A atividade da SOD foi determinada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (Giannopolitis e Ries, 1977). As leituras para determinação da atividade da enzima foram realizadas a 560 nm. Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio.

2.4 Análises estatísticas

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância por meio do software estatístico SISVAR 5.6 (Ferreira, 2011), e a comparação das médias feita pelo teste de Scott-knott ($p < 0,05$).

3. Resultados

3.1 Qualidade visual

A temperatura de armazenamento exerceu efeito significativo sobre a classificação da qualidade visual das inflorescências de hastes florais de copo-de-leite, de modo que, o número de dias em que as inflorescências permaneceram em cada classe de qualidade visual, variou conforme a temperatura sob a qual estavam armazenadas (Figs. 2 e 3).

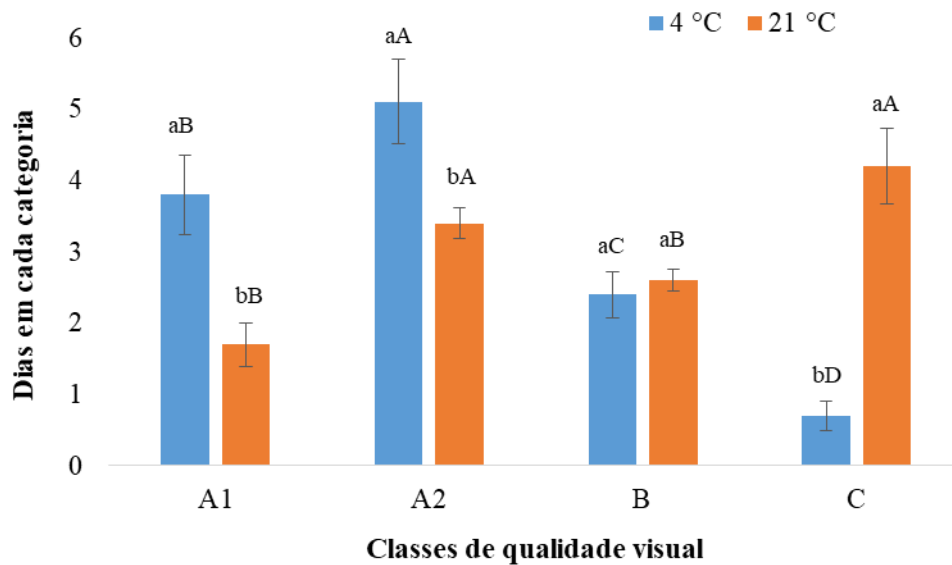


Fig. 2. Classificação da qualidade visual das hastes florais de copo-de-leite em função dos dias de sua permanência em cada classe, a 4 e 21 °C. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (comparam as temperaturas de armazenamento em cada categoria de classificação da qualidade visual) ou maiúsculas (comparam cada categoria de classificação da qualidade visual conforme a temperatura de armazenamento) pertencem a um mesmo grupo pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de probabilidade.

As inflorescências de hastes florais armazenadas a 4 °C, permaneceram por mais dias classificadas como A1 e A2, logo apresentando o melhor padrão para comercialização, quando comparadas às inflorescências de hastes florais armazenadas a 21 °C. Assim, as inflorescências de copo-de-leite permaneceram na classificação A1 por aproximadamente 4 dias quando armazenadas a 4 °C, e por apenas 2 dias quando armazenadas a 21 °C. Na classificação A2, a 4 °C as inflorescências permaneceram por 5 dias, enquanto que a 21 °C permaneceram nessa classificação por 3 dias. Dessa maneira, foi possível verificar a contribuição da temperatura de armazenamento mais baixa, para a manutenção da qualidade das inflorescências de copo-de-leite.

Entretanto, na classe B, uma qualidade inferior das inflorescências de copo-de-leite, porém, ainda comercializáveis, não houve diferença entre as temperaturas de armazenamento com relação à permanência de dias.

Já na classe C, que representa a impossibilidade de comercialização e descarte das hastes florais, a permanência de dias foi maior para as inflorescências de hastes florais armazenadas a 21 °C comparadas aquelas armazenadas a 4 °C. Considerando que a classificação nas categorias

foi realizada dentro de um período determinado de dias, a maior permanência de dias na classe B para hastes mantidas a 21 °C, indica que as inflorescências de copo-de-leite perderam sua qualidade comercial mais rapidamente. Assim, na temperatura de armazenamento de 21 °C, o processo de senescência foi acelerado.

Considerando o período utilizado para a avaliação visual do copo-de-leite, para hastes armazenadas a 4 °C, as inflorescências permaneceram na classe A1 até o 4º dia de avaliação, como A2 entre o 5º e o 10º dia de avaliação, como B entre o 11º e 12º dia de avaliação. Dessa forma, quando armazenadas a 4 °C, as inflorescências de copo-de-leite permaneceram comercializáveis até o 12º dia de avaliação, sendo o descarte realizado a partir do 13º dia de avaliação (Fig. 3).

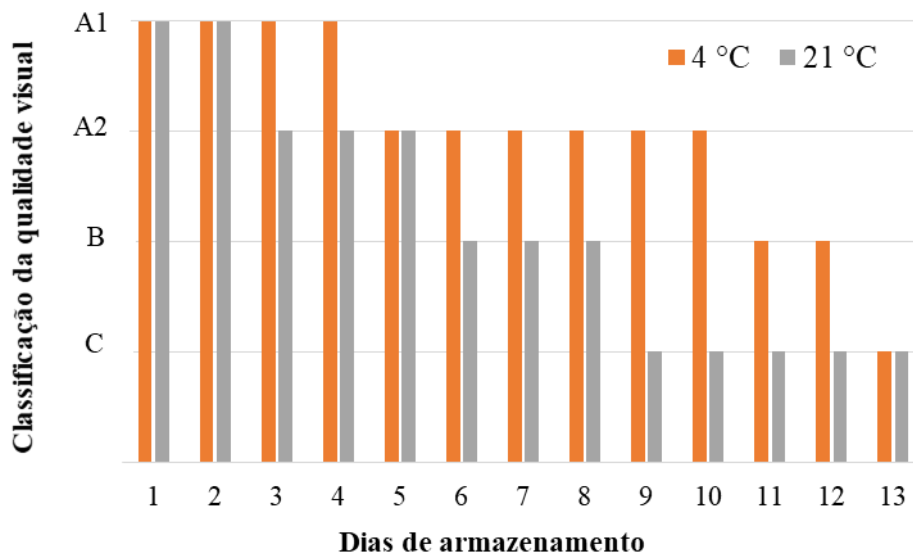


Fig. 3. Classificação pós-colheita em função dos dias de avaliação das hastes-florais de copo-de-leite. A1 - Inflorescências túrgidas, ponta da espata inclinada, ausência de rugas ou necroses; A2 - Inflorescências túrgidas, base da espata levemente enrolada para baixo, ausência de rugas ou necroses; B - Inflorescências túrgidas, ponta da espata levemente enrolada para baixo, presença de rugas, ausência de necroses; C - Inflorescências murchas, ponta da espata enrolada para baixo, presença de necrose.

Armazenadas a 21 °C, as inflorescências de copo-de-leite permaneceram na classe A1 entre o 1º e 2º dia de armazenamento, na classe A2 entre o 3º e 5º dia de armazenamento e na classe B entre o 6º e o 8º dia de armazenamento. Portanto, a 21 °C, as inflorescências permaneceram comercializáveis do 1º ao 8º dia dentro do período de armazenamento avaliado e conforme a classificação A1+A2+B.

No armazenamento a 4 °C, o maior período de permanência das inflorescências em uma das classes foi de 5 dias na classe A2. Considerando a classificação A1+A2 como apresentando o melhor padrão de comercialização, as inflorescências apresentaram esse padrão até o 9º dia de armazenamento (Fig. 4).

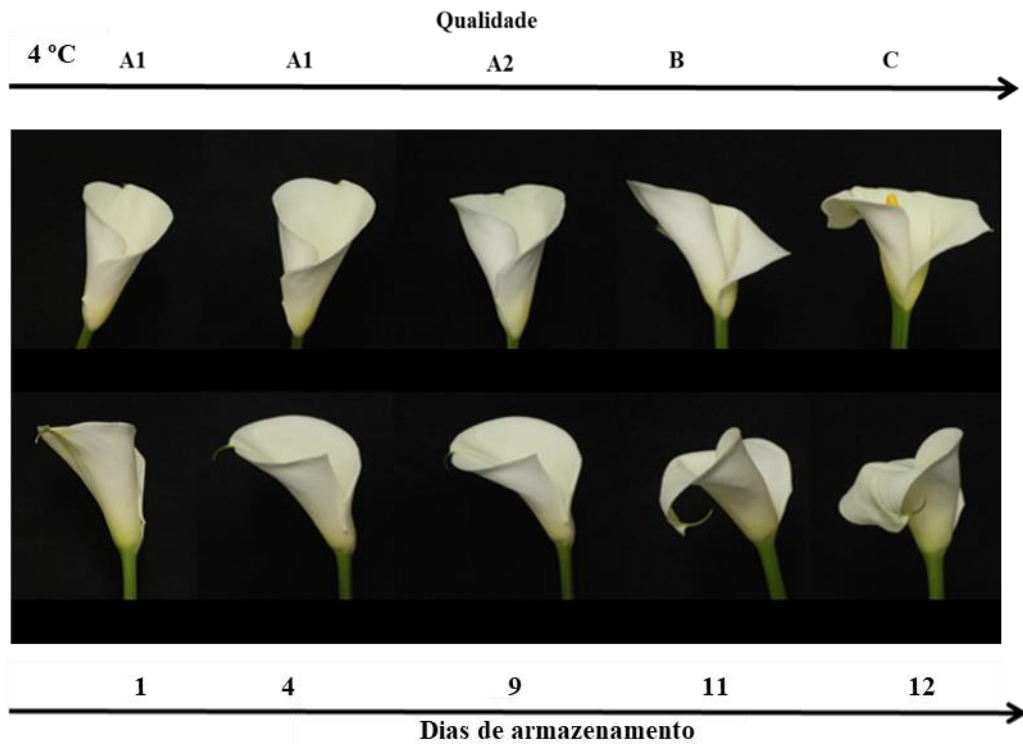


Fig. 4. Classificação da qualidade pós-colheita de inflorescências de copo-de-leite em função dos dias de armazenamento a 4 °C. Os dias de armazenamento selecionados são as médias obtidas para cada classe de qualidade conforme o teste de Scott-knott ao nível de 5% de probabilidade.

Enquanto que, no armazenamento a 21 °C (Fig. 5), a maior permanência das inflorescências foi nas classes A2 e B. Mesmo sendo a classe B inferior com relação à qualidade visual, ainda assim, inflorescências com essa classificação são comercializáveis. Portanto, considerando A1+A2+B, as inflorescências de hastes florais armazenadas a 21 °C permaneceram comercializáveis até 8º dia de armazenamento. Entretanto, para essa mesma temperatura de armazenamento, as inflorescências apresentaram a classificação de descarte (classe C) mais rapidamente, a partir do 8º dia.

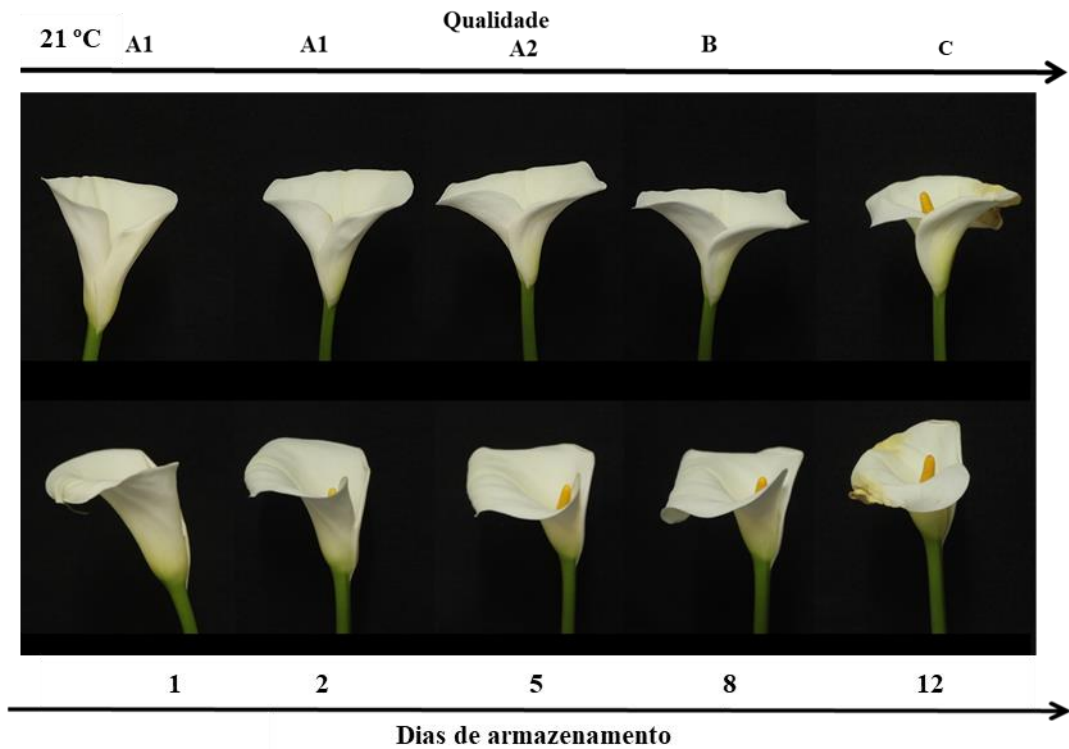


Fig. 5. Classificação da qualidade pós-colheita de inflorescências de copo-de-leite em função dos dias de armazenamento a 21 °C. Os dias de armazenamento selecionados são as médias obtidas para cada classe de qualidade conforme o teste de Scott-knott ao nível de 5% de probabilidade.

3.2 Avaliações bioquímicas

3.2.1 Peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

A quantificação do H_2O_2 e MDA nas espatas puderam ser relacionadas tanto com a temperatura de armazenamento como com o período em que as hastes florais de copo-de-leite permaneceram armazenadas (Fig. 6 A-B).

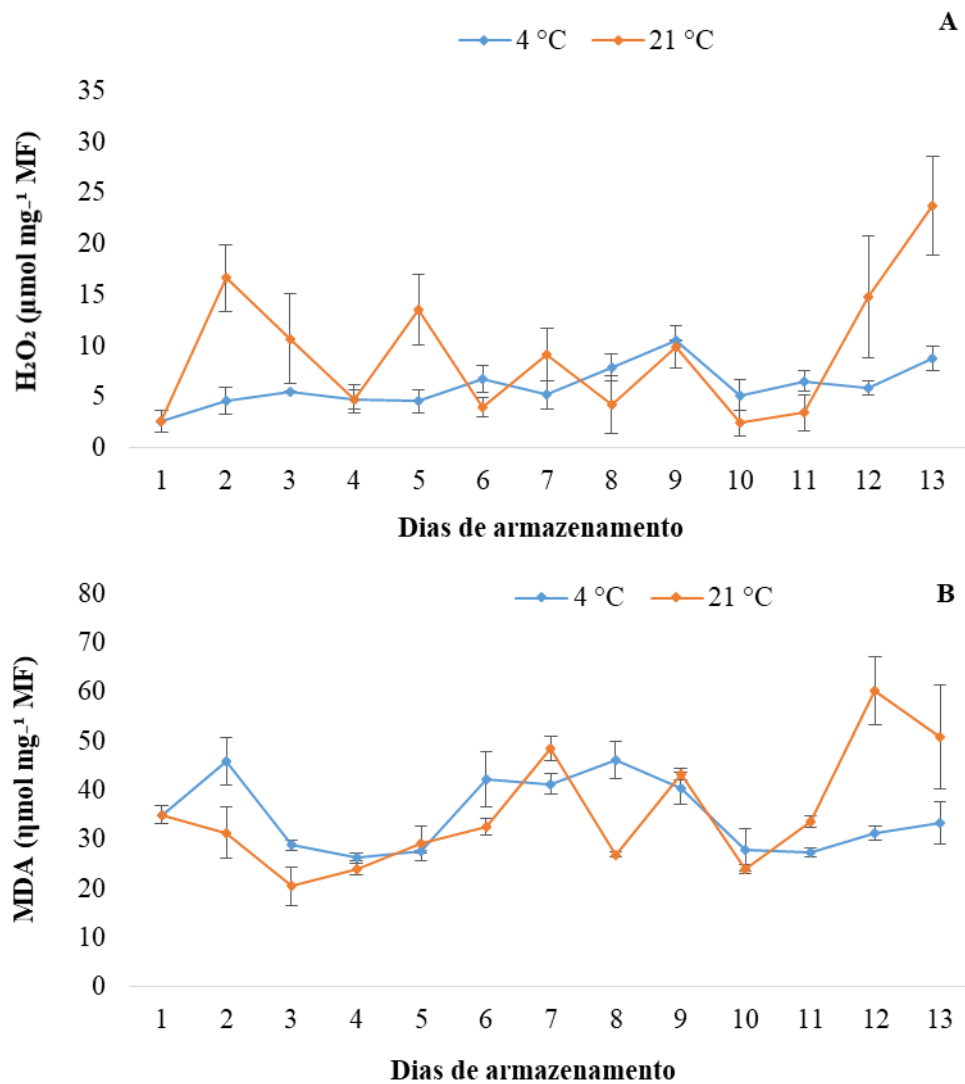


Fig. 6. Níveis de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e de peroxidação lipídica expresso pelo conteúdo de malondialdeído (MDA), em espigas de inflorescências de copo-de-leite, em função do período e temperatura de armazenamento (4 e 21 °C), representados pelas figuras A e B, respectivamente.

Em hastes florais armazenadas a 4 °C, durante os dias de avaliação, a concentração de H_2O_2 apresentou poucas alterações. Diferentemente, quando dispostas em 21° C, a concentração de H_2O_2 ao longo do período avaliado apresentou vários picos.

As concentrações de malondialdeído (MDA) apresentaram aumento durante o período de armazenamento para ambas as temperaturas, entretanto, esse crescimento se tornou maior ao final, para inflorescências armazenadas a 21 °C.

3.2.2 Enzimas antioxidantes

A atividade das enzimas CAT e SOD nas espadas, assim como a quantificação do H_2O_2 e MDA, também se relacionaram tanto com a temperatura de armazenamento como com o período em que as hastes florais de copo-de-leite permaneceram armazenadas (Fig. 7 A-B).

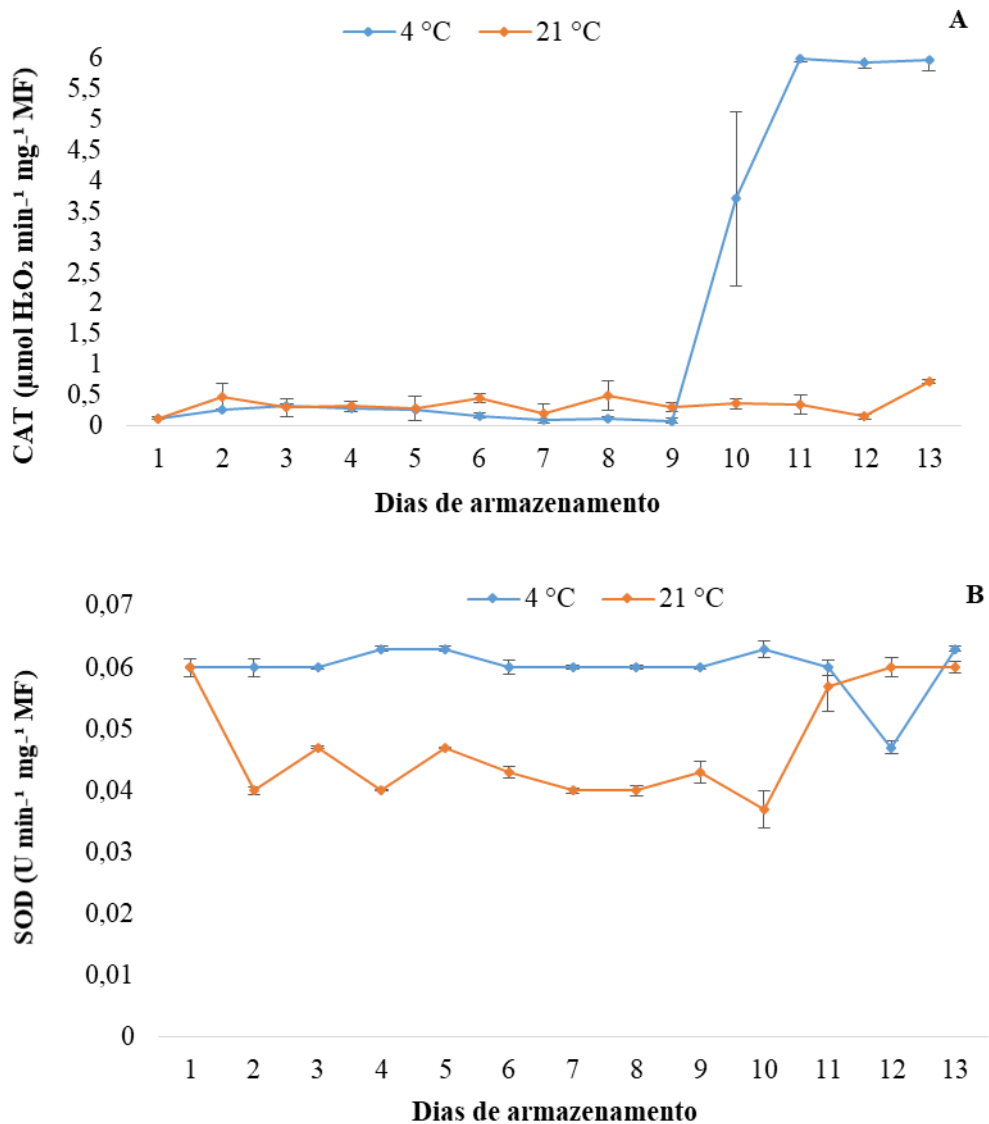


Fig. 7. Atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) em espadas de inflorescências de copo-de-leite, em função do período e temperatura de armazenamento (4 e 21 °C), representados pelas figuras A e B, respectivamente.

Em ambas as temperaturas de armazenamento, a atividade da CAT foi extremamente baixa até o 9º dia de armazenamento, quando ocorre um significativo aumento de sua atividade a 4 °C.

A atividade de SOD se manteve significativamente mais alta a 4 °C, e a 21 °C sua atividade apresenta significativo aumento após 10 dias de armazenamento.

4. Discussão

Os maiores níveis de H₂O₂ observados para a temperatura de armazenamento de 21 °C, se relacionam com elevações na atividade de SOD, demonstrando que o aumento no nível de H₂O₂ pode ter ocorrido devido à atividade de dismutação do radical superóxido ·O₂⁻ em H₂O₂ e oxigênio molecular (O₂) (Scandalios et al., 1993; Halliwell, 2006; Caverzan, et al., 2016).

Adicionalmente, a presença e níveis de H₂O₂, principalmente a 21 °C, em que se observa picos nos níveis de H₂O₂ sem, no entanto, haver aumento proporcional na atividade da SOD, exceto para o final do armazenamento, indicam que uma das principais fontes do H₂O₂ é O₂⁻. O H₂O₂ pode ser resultado de reação de dismutação do O₂⁻ catalisada pela SOD ou pode ser resultado de uma reação não enzimática em que o O₂⁻ aceita um elétron e dois prótons (Sharma et al., 2012).

Com relação a qualidade visual das inflorescências, nota-se que os maiores níveis de H₂O₂ ocorridos a 21 °C coincidem com a queda de qualidade comercial das inflorescências de copo-de-leite. Assim, os dias 2 e 5, nos quais ocorreu alta no nível de H₂O₂, correspondem com a queda na classe de qualidade A1 para A2 e de A2 para B, respectivamente. Enquanto nos dias 12 e 13, as inflorescências já se encontravam completamente senescentes, e, portanto, em processo de descarte (classe C).

As enzimas classificadas como superóxido dismutase (SODs) constituem-se no primeiro modo de ação de defesa contra as espécies reativas de O₂, que são produzidas mesmo as células não se encontrando em situação de estresse (Alscher et al., 2002). Dessa maneira, é justificável a presença de atividade da SOD ao longo de todo o período avaliado para ambas as temperaturas de armazenamento. Adicionalmente, com a colheita, o suprimento de água e substrato para respiração não ocorrem, acelerando então a senescência (Sonego e Brackmann, 1995), como também tem início processos bioquímicos que contribuem para a deterioração (Brosnan e Sun, 2001). Todo esse processo, portanto, contribui para a senescência, que é um fator desencadeante de resposta do sistema antioxidante da planta (Hodges et al., 2004).

Entretanto, a atividade da SOD se manteve em um nível significativamente mais alto a 4 °C, podendo indicar sua relação com a baixa temperatura. Temperaturas muito baixas podem alterar a relação de atividade dos componentes do sistema antioxidativo (Hodges et al., 2004). O aumento de atividade da SOD tem sido relacionado como resposta ao estresse por baixa

temperatura, assim como relação com tolerância a esse tipo de estresse (Kanojia e Dijkwel, 2018). Sala (1998) verificou em diferentes cultivares de frutos de mandarin (*Citrus spp.*) o aumento de atividade da SOD tanto em cultivares tolerantes ao frio como em cultivares sensíveis ao frio, armazenadas sob baixa temperatura. Em frutos de kiwi (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward) o condicionamento em baixa temperatura aumentou a resistência ao dano por frio no armazenamento refrigerado, aumentando a atividade do sistema antioxidante, sendo que a atividade da SOD teve um significativo aumento e retardo em seu declínio (Yang et al., 2013)

Diante do exposto, constata-se que a baixa temperatura de armazenamento (4 °C) propiciou tanto a maior atividade de SOD como também essa atividade foi de forma praticamente contínua, contribuindo para maior durabilidade da qualidade das inflorescências de copo-de-leite comparada às inflorescências sob a temperatura de armazenamento de 21 °C. Com relação a CAT, seu pico significativo de atividade ao 10º dia sob o armazenamento a 4 °C justifica o baixo nível de H₂O₂ mantido ao final do armazenamento, devido sua ação de eliminação do H₂O₂ por meio de sua redução a H₂O (Scandalios et al., 1993; Caverzan et al., 2016). Nesse período, a qualidade visual mudou de A2 para B, classe considerada como ainda própria para comercialização, e se manteve por mais dois dias nessa classe até as inflorescências serem classificadas como descartáveis.

Diferentemente, sob a temperatura de 21 °C, a atividade da CAT se manteve extremamente baixa até o final do período de armazenamento, enquanto houve significativo aumento tanto dos níveis de H₂O₂ como dos níveis de MDA, contribuindo, portanto, para a queda mais rápida da qualidade das inflorescências mantidas sob essa temperatura.

Para ambas as temperaturas de armazenamento houve incremento do nível de MDA, no entanto, para a temperatura de 21 °C houve um aumento significativo ao final do armazenamento. Esse comportamento evidencia a influência da temperatura de armazenamento na velocidade com que a senescência ocorre, pois se trata de um processo oxidativo, e com seu avanço, há um aumento da peroxidação lipídica, que é um indicativo da prevalência de radicais livres no tecido, e um dos produtos da peroxidação lipídica é o malondialdeído (MDA) (Jyothsna e Murthy, 2016).

As inflorescências de copo-de-leite armazenadas sob 21 °C a partir do 9º dia foram classificadas como descartáveis para a comercialização, o que coincidiu com o aumento considerável tanto do nível de MDA (10º dia) como com o nível de H₂O₂ (9º dia). Assim, a eficiência da baixa temperatura de armazenamento para manutenção da qualidade de inflorescências de copo-de-leite do presente estudo, corrobora com os resultados de Almeida et

al. (2009) e Castro et al. (2014) que verificaram a eficiência da temperatura de 4 °C para manutenção da qualidade e longevidade do copo-de-leite.

5. Conclusões

A temperatura de armazenamento de 4 °C proporciona maiores níveis de atividade das enzimas CAT e SOD, e maior manutenção da qualidade das inflorescências de copo-de-leite. Enquanto o processo de senescência ocorre de forma mais rápida a 21 °C, constatado pelos maiores níveis de H₂O₂ e MDA, e perda de qualidade visual.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas pela realização das análises.

7. Fontes de financiamento

Este trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

8. Referências

- Aghdam, M. S.; Naderi, R.; Sarcheshmeh, M. A. A.; Babalar, M., 2015. Amelioration of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by γ -aminobutyric acid (GABA) treatments. *Postharvest Biol. Tec.* 110, 70-76.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.020>
- Almeida, F. A. E., Paiva, P. D. O., Lima, L. C. O., Resende, M. L., Fonseca, J., Tavares, T. S., 2008. Pós-colheita de copo-de-leite: efeito de diferentes conservantes comerciais e armazenamento a frio. *Ciênc. Agrotec.* 32(4), 1189-1194
<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000400023>
- Almeida, E. F. A.; Paiva, P. D. O., Lima, L. C. O.; Silva, F. C., Fonseca, J.; Nogueira, D. A., 2011. Calla lily inflorescences postharvest: pulsing with different sucrose

- concentrations and storage conditions. *Ciênc. Agrotec.* 35(4), 657-663.
<https://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000400003>
- Almeida, F. A. E., Paiva, P. D. O., Lima, L. C. O., Ribeiro, M. N. O., Moraes, D. N., Resende, M. L., Tavares, T. S., Paiva, R., 2009. Senescência de inflorescências de copo-de-leite: influência de diferentes armazenamentos e procedimentos pós-colheita. *Ornam. Hortic.* 15(1), 71-76
<https://doi.org/10.14295/rbho.v15i1.437>
- Alscher, R. G.; Ertuk, N; Heath, L. S., 2002. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* 53(372), 1331 – 1341.
- Azevedo, R. A., Alas, R. M., Smith, R. J., Lea, P. J., 1998. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wildtype and a catalasedeficient mutant of barley. *Physiol. Plant.* 104(2), 280-292.
<https://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x>
- Biemelt, S., Keetman, U., Albrecht, G., 1998. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. *Plant Physiology*, 116(2), 651-658
- Brosnan, T., Sun, D. W., 2001. Precooling techniques and applications for horticultural products - a review. *Int. J. Refrig.* 24, 154-170
[https://dx.doi.org/10.1016/S0140-7007\(00\)00017-7](https://dx.doi.org/10.1016/S0140-7007(00)00017-7)
- Buege, J. A.; Aust, S. D., 1978 Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzimol.* 52, 302-310.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)
- Castro, M. L. R.; Patrícia Duarte de Oliveira Paiva, P. D. O.; Landgraf, P. R. C.; Pereira, M. M. A.; Souza, R. R., 2014. Stages of floral opening and post-harvest quality in storage of calla lily. *Ornam. Hortic.* 20(2), 131-136
<https://doi.org/10.14295/rbho.v20i2.522>
- Cavaiuolo, M., Cocetta, G., Ferrante, A., 2013. The antioxidants changes in ornamental flowers during development and senescence. *Antioxidants.* 2(3), 132-155
<https://doi.org/10.3390/antiox2030132>
- Caverzan, A.; Casassola, A.; Brammer, S. P., 2016. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. *Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives.* 463-480
<https://dx.doi.org/10.5772/61368>

- Ferreira, D.F. Sisvar: 2011. A computer statistical analysis system. *Ciênc. Agrotec.* 35(6), 1039-1042
<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Giannopolitis, C. N., Ries, S. K., 1977. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59(2), 309-314
<https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Gill, S. S.; Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48(12), 909-930.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Halliwell, B., 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 141, 312–322.
<https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>
- Havir, E. A., MCHale, N. A., 1987. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiol.* 84(2), 450-455.
- Hodges, D. M.; Lester, G. E.; Munro, K. D.; Toivonen, P. M. A., 2004. Oxidative stress: importance for postharvest quality. *Hortscience*, 39(5), 924-929.
- Jyothsna,P.; Murthy, S.D.S., 2016. A review on effect of senescence in plants and role of phytohormones in delaying senescence. *Int. J. Plant Animal Environ. Sci.* 6(1), 152-161
- Kanojia, A., Dijkwel, P. P., 2018. Abiotic stress responses are governed by reactive oxygen species and age. *Annu. Plant Rev.* 1,1–32
<https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0611>
- Racchi, M. L., 2013. Antioxidant Defenses in Plants with Attention to Prunus and Citrus spp. *Antioxidants*, 2(4), 340-369.
<https://doi.org/10.3390/antiox2040340>
- Sala, J. M., 1998. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. *Postharvest Biol. Technol.* 13(3), 255–261.
[https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00011-8](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00011-8)
- Senapati, A. K, Raj, D., Jain, R., Patel, N. L., 2016. Advances in packaging and storage of flowers, in: Patel, N. L.; Chawla, S. L., Ahlawat, T. R. (Eds.), *Commercial Horticulture*, New India Publishing Agency, New Delhi, India, pp. 473-488
- Scandalios, J. G., 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 101(1), 7-12.
<https://doi.org/10.1104/pp.101.1.7>

- Sharma, P.; Jha, A. B.; Dubey, R. S.; Pessarakli, M.; Polle, A., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* 2012: 1-26.
doi: <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Shibuya, K., 2018. Molecular aspects of flower senescence and strategies to improve flower longevity. *Breed. Sci.* 68(1), 99–108.
<https://doi.org/10.1270/jsbbs.17081>
- Sonego, G.; Brackmann, A., 1995. Conservação pós-colheita de flores. *Ciênc. Rur.* 25(3), 473-479.
<https://doi.org/10.1590/S0103-84781995000300026>
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci.* 151(1), 59-66
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Yang, Q.; Zhang, Z.; Rao, Ji.; Wang, Y.; Sun, Z.; Ma, Q.; Dong, X., 2013. Low-temperature conditioning induces chilling tolerance in ‘Hayward’ kiwifruit by enhancing antioxidant enzyme activity and regulating en-dogenous hormones levels. *J. Sci. Food Agric.* 93(15), 3691-3699.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.6195>

ARTIGO 2

Pré-resfriamento e sistema antioxidante no armazenamento de copo-de-leite

**(Elaborados conforme as normas do periódico Postharvest Biology and
Technology)**

Resumo

O pré-resfriamento consiste na rápida redução da temperatura do produto recém-colhido reduzindo as reações de deterioração. Aplicável para a floricultura de corte, pode auxiliar na manutenção da qualidade e durabilidade. O copo-de-leite é uma flor de corte muito utilizada em arranjos florais, entretanto, sua baixa durabilidade pós-colheita exige o uso de técnicas que aumentem sua longevidade. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da técnica do pré-resfriamento na qualidade e durabilidade de flores de copo-de-leite, assim como o efeito sobre o sistema antioxidante e produção de ERO'S. Para isso, hastes florais de copo-de-leite [*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng] foram submetidas ao pré-resfriamento (câmara fria a 4 °C) por diferentes períodos (0; 2; 6; 12 e 24 horas), e após, armazenadas a 21 °C. As inflorescências de copo-de-leite foram avaliadas visualmente e as espadas foram utilizadas como material vegetal, retiradas em coletas, em nove intervalos de tempo ao longo do armazenamento, para análise da atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), e análise dos níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA). O pré-resfriamento não influenciou na qualidade visual e durabilidade do copo-de-leite. A atividade da SOD se relaciona com a baixa temperatura. Maiores períodos de exposição à baixa temperatura, com 12 e 24 horas de pré-resfriamento, e a diferença de temperatura em relação ao armazenamento a 21 °C provocaram um estresse comprovado pelos altos níveis de MDA e alta atividade da CAT. Menores períodos de exposição à baixa temperatura durante o pré-resfriamento, proporcionaram melhor atividade do sistema antioxidante e menores níveis de MDA.

Palavras-chave: *Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng; planta ornamental; durabilidade; refrigeração; catalase.

Abstract

Precooling consists in the rapid reduction of the temperature of the product recently harvested reducing the deterioration reactions. Applicable for cut flowers, it can aid in maintaining quality and durability. Calla lily is a cut flower widely used in floral arrangements, but its low post-harvest durability requires the use of techniques that increase its longevity. The objective of this study was to evaluate the effects of the precooling technique on the quality and durability of calla lily flowers, as well as the effect on the antioxidant system and ROS production. For this purpose, calla Lily stems (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) were precooled (cold room at 4 °C) at different times (0, 2, 6, 12 and 24 hours) and stored at 21 °C. Calla lily inflorescences were visually evaluated and the spaths were used as plant material, collected in nine time intervals during the storage, to analyze the activity of the catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzymes and to analyze of the levels of peroxide of hydrogen (H₂O₂) and malonyldialdehyde (MDA). Precooling has not influenced the visual quality and durability of the calla lily. SOD activity was related to the low temperature. Higher periods of exposure to low temperature, with 12 and 24 hours of precooling, and the temperature difference in relation to the storage at 21 °C caused a stress, evidenced by the high levels of MDA and high CAT activity. Shorter periods of exposure to low temperatures during precooling provided better antioxidant system activity and lower levels of MDA.

Keywords: *Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng; ornamental plant; durability; cooling; catalase.

1. Introdução

A senescência é processo oxidativo e envolve uma série de espécies reativas de oxigênio (ERO'S), como oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), radical superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que são capazes de oxidar moléculas biológicas e levar à degradação celular. Enquanto que também durante o processo da senescência, ocorre ação do sistema antioxidante, com componentes não-enzimáticos e enzimáticos, como as enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), em uma tentativa de eliminar/neutralizar as ERO's (Jyothsna e Murthy, 2016). Assim, no início da senescência ocorre aumento da atividade do sistema antioxidante, a fim de evitar o dano celular, e com o avanço da senescência ocorre uma queda na atividade dos componentes antioxidantes (Cavaiulo, et al., 2013).

Retardar o processo de senescência garantindo uma maior longevidade pós-colheita e melhor aspecto visual, são essenciais no mercado floricultor (Gupta e Dubey, 2018). A longevidade é uma característica inerente à qualidade da flor, uma vez que os consumidores desejam um produto com boa durabilidade e a manutenção da qualidade com redução da deterioração é um aspecto importante ao longo da cadeia de distribuidores (Shibuya, 2018).

A velocidade do processo da senescência se relaciona com a temperatura, assim quanto maior for a temperatura mais rápido esse processo ocorrerá (Gupta e Dubey, 2018). Assim, a possibilidade de controle da temperatura é uma das mais importantes tecnologias de armazenamento utilizadas durante a etapa pós-colheita de produtos hortícolas (Watkins, 2018). A aplicação da baixa temperatura no armazenamento pós-colheita é uma tecnologia que desacelera a senescência e reduz a perda de qualidade, possibilitando o aumento da vida de vaso, uma vez que a redução da perda de água pela transpiração, crescimento reduzido de microrganismos, redução da produção de etileno e redução da respiração, são efeitos da temperatura reduzida (Fernandes et al., 2019).

As reações de deterioração são grandemente influenciadas pela temperatura do produto no momento da colheita, e, dessa forma, a gestão da temperatura se inicia com o produto recém-colhido (Brosnan e Sun, 2001a). O resfriamento do produto imediatamente após a colheita é uma técnica denominada de pré-resfriamento, que proporciona uma rápida redução da temperatura do produto no momento de sua colheita até sua temperatura de armazenamento, e assim, ocorre uma garantia da qualidade e longevidade, podendo o produto ser armazenado a frio posteriormente ou comercializado diretamente sem armazenamento (Alibas e Koksai, 2018).

Na floricultura de corte, o pré-resfriamento pode ser aplicável por meio de água com baixa temperatura, ventilação forçada de ar frio (Sindhuja e Jena, 2017), sala refrigerada ou câmara fria, e resfriamento a vácuo (Brosnan e Sun, 2001b; Alibaş e Köksal, 2018). A técnica foi capaz de aumentar a longevidade pós-colheita de hastes recém-colhidas de *Polianthes tuberosa* L. (Chalumuru et al., 2015) e de hastes florais de *Anthurium andreanum* 'White King' (Simi et al., 2017).

O copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng), uma planta ornamental de corte muito utilizada em arranjos decorativos, exige a utilização de técnicas adequadas de conservação pós-colheita, uma vez que apresenta baixa durabilidade, o que dificulta sua comercialização (Castro et al., 2014). Deste modo, objetivou-se avaliar os efeitos da técnica do pré-resfriamento na qualidade e durabilidade de flores de copo-de-leite, assim como o efeito sobre o sistema antioxidante e produção de ERO'S.

2. Material e Métodos

As hastes florais de copo-de-leite [*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng] utilizadas no experimento foram obtidas em cultivo comercial, e transportadas a seco para o laboratório de pós-colheita. Foi realizado um corte nas bases das hastes florais, e, em seguida, dispostas com a base imersa em água destilada.

As hastes florais foram selecionadas conforme o padrão de comercialização da inflorescência (formada por espata e espádice) estabelecido por Almeida et al. (2008): classe de qualidade A1 + A2 (A1 - inflorescências túrgidas, com a ponta da espata inclinada e ausência de rugas ou necroses e A2 - inflorescências túrgidas, com a ponta da espata levemente enrolada para baixo e ausência de rugas ou necroses). Todas as hastes florais foram padronizadas em 50 cm, e foram inseridas individualmente, em recipiente plástico contendo 600 mL de água destilada.

Para avaliar os efeitos do pré-resfriamento no metabolismo e qualidade visual das plantas de copo-de-leite, as hastes florais foram submetidas à câmara fria a 4 °C e umidade relativa de 85 ± 5%, por diferentes períodos (controle – sem pré-resfriamento, 2, 6, 12 e 24 horas). Após os períodos de pré-resfriamento, as hastes florais foram retiradas da câmara de pré-resfriamento e armazenadas em local com temperatura de 21 °C e umidade relativa de 85 ± 5%.

Imediatamente após cada período de pré-resfriamento e durante o armazenamento a 21 °C, foram realizadas coletas de material vegetal (espata) para a realização de análises bioquímicas com o objetivo de verificar o efeito do pré-resfriamento. A primeira coleta para análise, portanto, ocorreu após 0, 2, 6, 12 e 24 horas após o final do período de pré-resfriamento, sendo após, retiradas do pré-resfriamento a 4 °C e dispostas no armazenamento a 21 °C, no qual novas coletas foram realizadas para análise bioquímica, nos intervalos de 6, 12, 24, 48, 96, 144, 192 e 240 horas. Dessa forma, para cada tratamento de pré-resfriamento, ao total, foram realizadas nove coletas, sendo uma após o período de pré-resfriamento e oito após a transferência para a condição de 21 °C. Assim, considerando os intervalos de coletas, as hastes florais de cada tratamento, incluindo o controle, foram avaliadas ao longo de dez dias.

2.1 Delineamento experimental

Para cada tratamento de pré-resfriamento, incluindo o controle, foram utilizadas 45 hastes florais de copo-de-leite, e tanto no pré-resfriamento como no armazenamento a 21 °C, as hastes florais foram dispostas de forma inteiramente casualizadas. A cada uma das nove coletas, três plantas de cada tratamento foram retiradas para a coleta de amostra de material vegetal (espata).

Para a avaliação visual, foi separado um grupo de hastes florais de copo-de-leite, contendo oito plantas de cada tratamento de pré-resfriamento e controle.

2.2 Análise da qualidade visual

Para avaliação da qualidade visual do copo-de-leite, realizada anteriormente à coleta das espatas, três avaliadores fixos atribuíram notas com relação a qualidade visual apenas das inflorescências de copo-de-leite, diariamente, por dez dias, seguindo o critério de classificação de Almeida et al. (2008): A1- Inflorescências túrgidas, ponta da espata inclinada, ausência de rugas ou necroses; A2- Inflorescências túrgidas, base da espata levemente enrolada para baixo, ausência de rugas ou necroses; B- Inflorescências túrgidas, ponta da espata levemente enrolada para baixo, presença de rugas, ausência de necroses; C- Inflorescências murchas, ponta da espata enrolada para baixo, presença de necrose.

Para a avaliação do experimento, foi considerado o número de dias em que as inflorescências de copo-de-leite permaneceram em cada classificação.

2.3 Avaliações bioquímicas

A cada coleta, as espatas foram excisadas por completo das inflorescências (Fig. 1), dispostas em nitrogênio líquido (NL) (-196 °C) e em ultrafreezer (-80 °C). Procedeu-se então as análises bioquímicas para determinação da atividade das enzimas do sistema antioxidante, catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), e quantificação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e de peroxidação lipídica (MDA).



Fig. 1. Hastes florais de copo-de-leite após a excisão da espata

2.3.1 Peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

Para a quantificação do peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, foram macerados 200 mg de espata de copo-de-leite em NL acrescido de PVPP (Polivinilpolipirrolidona). Em seguida o macerado foi homogeneizado em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% e centrifugado a 12.0000 G por 15 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e armazenado em ultrafreezer (-80 °C).

A quantificação do peróxido de hidrogênio foi realizada conforme Velikova et al., (2000) por meio da adição de uma alíquota da amostra ao meio de reação, contendo tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e iodeto de potássio 1 M. A quantificação foi obtida medindo-se a absorbância a 390 nm e com base em uma curva padrão com concentrações conhecidas de H₂O₂.

A quantificação da peroxidação lipídica foi realizada conforme Buege e Aust (1978) por meio da adição de alíquotas da amostra ao meio de reação contendo 0,5% de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% de ácido tricloroacético (TCA), seguido de incubação a 90 °C por

30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras foram realizadas por meio de espectrofotômetro, a 535 nm e 600 nm. O TBA forma complexos de cor avermelhada com aldeídos de baixa massa molecular, como o malondialdeído (MDA), produto secundário do processo de peroxidação. A peroxidação lipídica foi expressa em mmol de MDA g⁻¹ de matéria fresca.

2.3.2 Enzimas antioxidantes

Para a avaliação da atividade das enzimas CAT e SOD, após a coleta e armazenamento, prosseguiu-se com a obtenção dos extratos enzimáticos por meio da maceração a frio de 200 mg de espata de copo-de-leite em nitrogênio líquido (NL) acrescido de PVPP (Polivinilpolipirrolidona). O macerado foi homogeneizado em 1,5 mL da solução tampão de extração (Fosfato de potássio 400 mM – pH 7,8; EDTA 10 mM, ácido ascórbico 200 mM e água) (Biemelt et al., 1998) e, em seguida, centrifugado a 13.000 G por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e armazenado em ultrafreezer (-80 °C).

A atividade da CAT foi determinada conforme Havir e McHale (1987). Alíquotas do extrato enzimático foram adicionadas ao meio de incubação contendo fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), água e peróxido de hidrogênio 250 mM. A atividade da enzima foi determinada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm, a cada 15 segundos durante 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de extinção molar utilizado foi de 36 mM⁻¹ cm⁻¹ (Azevedo et al., 1998). Os resultados foram expressos em μM H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ MF (massa fresca).

A atividade da SOD foi determinada pela capacidade da enzima em inibir a fotoredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (Giannopolitis e Ries, 1977). As leituras para a determinação da atividade da enzima foram realizadas a 560 nm. Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotoredução do NBT nas condições de ensaio.

2.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância por meio do software estatístico SISVAR 5.6 (Ferreira, 2011), e a comparação das médias feita pelo teste de Scott-knott ($p < 0,05$). Os dados da análise de malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) sofreram transformação do tipo raiz quadrada de ($x^{0,5}$).

3. Resultados

3.1 Avaliação da qualidade visual

Os tratamentos utilizando-se diferentes períodos de pré-resfriamento não exerceram influência significativa sobre a qualidade visual das inflorescências de copo-de-leite. Desse modo, as inflorescências permaneceram em média, na mesma quantidade de dias em cada classe de qualidade visual (A1, A2, B e C), independentemente da utilização ou não de pré-resfriamento.

Considerando-se que o descarte comercial ocorre quando se atinge a classe C, as inflorescências de copo-de-leite levaram em média 7 dias (A1 + A2 + B) após armazenadas a 21 °C até o seu descarte. Inflorescências classificadas dentro do melhor padrão de qualidade para comercialização (A1+A2) apresentaram durabilidade média de 4 dias após armazenamento a 21 °C.

3.2 Avaliações bioquímicas

3.2.1 Peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

Para o teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) avaliado nas espatas coletadas das inflorescências de copo-de-leite, foi verificado efeito significativo apenas do período decorrido após o armazenamento a 21 °C, independente da utilização ou não do pré-resfriamento, representado pelos intervalos de horas para as coletas de material vegetal (espata) (Fig. 2A). Enquanto que, a utilização de pré-resfriamento resultou em efeito significativo nos níveis de malondialdeído (MDA), ocorrendo tanto a influência do período de pré-resfriamento utilizado, como também efeito do período de pré-resfriamento ao longo do armazenamento à temperatura de 21 °C (Fig. 2B).

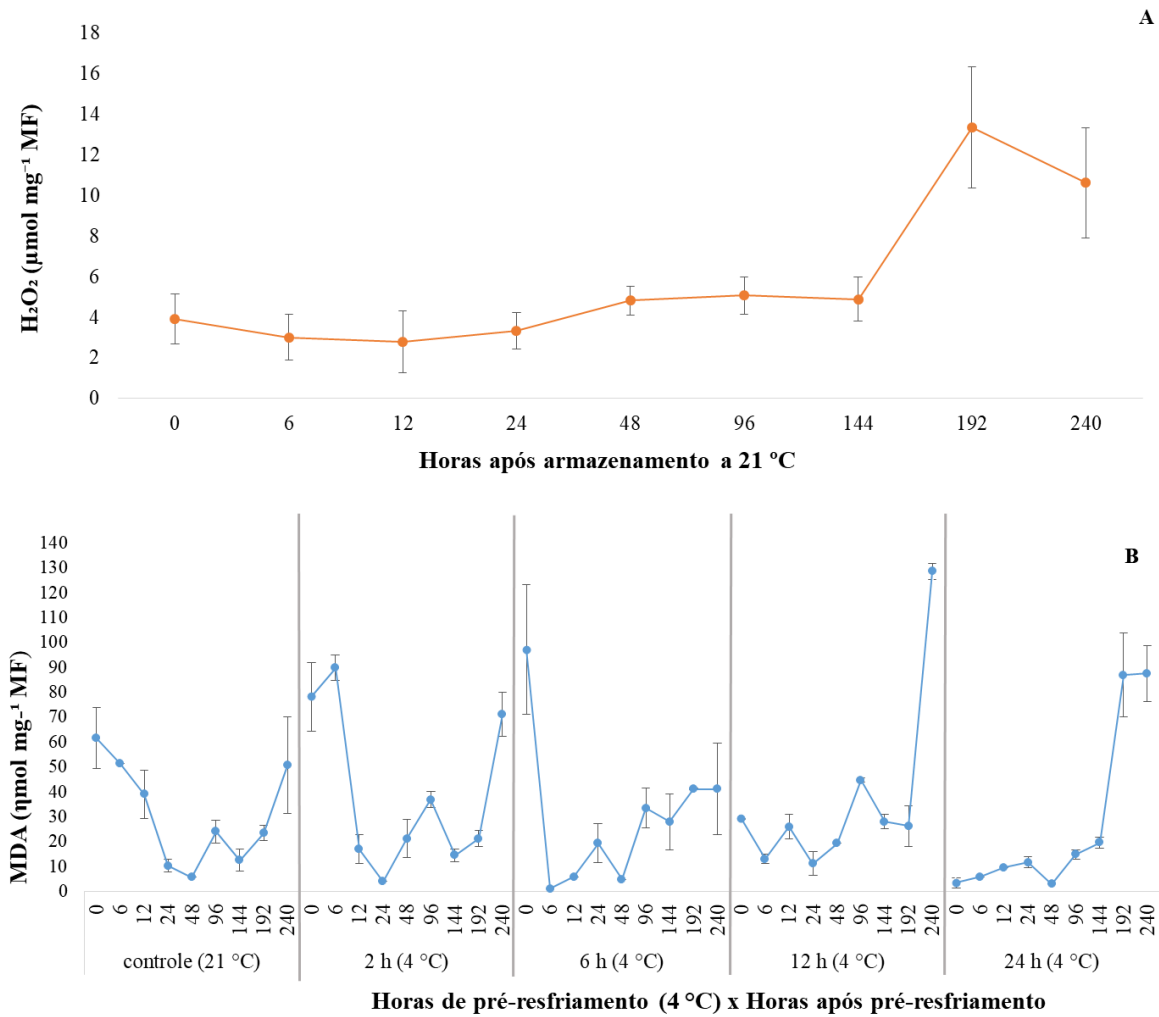


Fig. 2. Níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em espigas de inflorescências de copo-de-leite, em função dos intervalos de horas (0, 6, 12, 24, 48, 96, 144, 192 e 240 horas) após o pré-resfriamento - A. Níveis de malondialdeído (MDA) em espigas coletadas de inflorescências de copo-de-leite, em função do controle (sem pré-resfriamento com armazenamento direto a 21 °C) e períodos de pré-resfriamento (2; 6; 12 e 24 horas a 4 °C), e conforme os intervalos de horas para coleta de material vegetal (6, 12, 24, 48, 96, 144, 192 e 240 horas) após o pré-resfriamento - B.

Os níveis de MDA foram significativamente maiores nas 12 primeiras horas para o controle, como também imediatamente após os tratamentos com 2 e 6 horas de pré-resfriamento, sendo que com 2 horas de pré-resfriamento, o nível de MDA se manteve até as 6 horas seguintes à aplicação desse período de pré-resfriamento. Imediatamente após os tratamentos com 12 e 24 horas de pré-resfriamento, o nível de MDA já se apresentou mais baixo em relação aos demais tratamentos, sendo o tratamento com 24 de pré-resfriamento o de menor nível inicial de MDA. Entretanto, notou-se também, que para os tratamentos com 12 e 24 horas

de pré-resfriamento, uma elevação significativamente maior dos níveis de MDA, comparado aos tratamentos controle, e com 2 e 6 horas de pré-resfriamento, após 192 horas, para o tratamento com 12 horas de pré-resfriamento e, 192 e 240 horas após para o tratamento com 24 horas de pré-resfriamento. Ou seja, nos tratamentos com maiores períodos de exposição ao pré-resfriamento a 4 °C, inicialmente os níveis de MDA foram menores, porém, maiores, ao final do período de armazenamento.

3.2.2 Enzimas antioxidantes

Com relação a atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) a utilização do pré-resfriamento resultou em efeito significativo sobre a atividade enzimática, ocorrendo influência do período utilizado de pré-resfriamento como também efeito do pré-resfriamento ao longo do armazenamento à temperatura de 21 °C (Fig. 3 A-B).

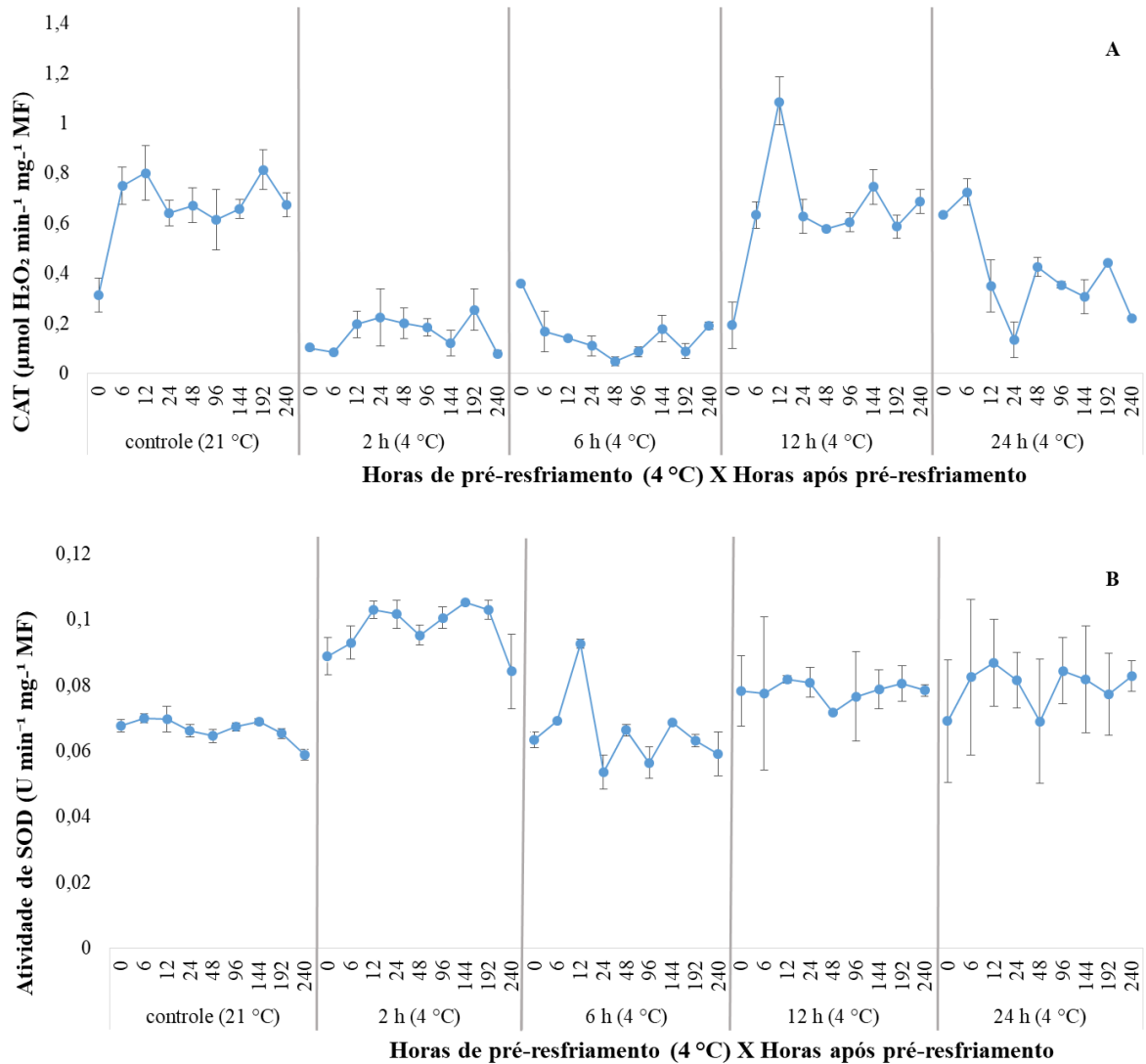


Fig. 3. Atividade das enzimas em espadas coletadas de inflorescências de copo-de-leite, em função do controle (sem pré-resfriamento com armazenamento direto a 21 °C) e diferentes períodos de pré-resfriamento (2; 6; 12 e 24 horas a 4 °C), conforme os intervalos de horas (6, 12, 24, 48, 96, 144, 192 e 240 horas após a primeira coleta de material vegetal de cada tratamento) após o pré-resfriamento. CAT – A; SOD – B.

A atividade da CAT determinada após submeter as hastes florais pelos períodos de 2 e 6 horas de pré-resfriamento foi menor, comparada a atividade quando submetidas aos maiores períodos de pré-resfriamento (12 e 24 horas), e quando não foram submetidas ao pré-resfriamento, sendo armazenadas diretamente a 21 °C.

A partir de 6 horas após o armazenamento à temperatura de 21 °C, verificou-se um aumento na atividade da CAT, quando utilizado anteriormente o tratamento de pré-resfriamento por um período de 12 horas. Enquanto que a atividade da enzima já se iniciou significativamente

mais alta, imediatamente após o tratamento com pré-resfriamento por 24 horas, ocorrendo diminuição dessa atividade após 6 horas já no armazenamento a 21 °C.

Analisando a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), verificou-se que ela foi significativamente maior para todos os tratamentos com utilização do pré-resfriamento comparada à atividade do controle. Entre os períodos utilizados de pré-resfriamento, o tratamento com um período de 2 horas foi o que resultou em maior atividade da enzima ao longo de toda avaliação.

4. Discussão

Durante o início da senescência ocorre aumento dos componentes antioxidantes como uma primeira reação as ERO'S, e na senescência avançada ocorre um declínio desses componentes (Cavaiuolo et al., 2003). Assim, ocorre um aumento dos níveis de H₂O₂ que é característico, portanto, do avanço do processo de senescência (Hodges et al., 2004). Dessa forma, justifica-se o aumento dos níveis de H₂O₂ nos últimos intervalos de horas (192 e 240 h) em que foram realizadas coletas do material vegetal, que representam os últimos dias de armazenamento do copo-de-leite, e com a senescência avançada comprovada pela queda de qualidade visual das inflorescências ocorrendo após 7 dias (após 144 horas), com a entrada na classificação C (descarte).

Níveis elevados de H₂O₂ estão relacionados com peroxidação lipídica (Masia, 2003) que é um processo detectável pelos níveis de malondialdeído (MDA) (Aghdama e Bodbodak, 2013). Dessa forma, fatores que levam ao estresse oxidativo e produção de altos níveis de H₂O₂, também se relacionam com altos níveis de MDA. Os níveis mais elevados de MDA verificados inicialmente após 2 e 6 horas de pré-resfriamento, como também para o controle, podem ser atribuídos ao estresse da colheita, especificamente a temperatura com que as hastes florais chegaram do campo de colheita. A temperatura com que produto hortícola chega do campo, denominado de 'calor do campo' (Sindhuja e Jena, 2017), pode ser um fator de estresse na pós-colheita decorrente de temperatura elevada, desencadeando reações que resultam em deterioração. Entretanto, com a aplicação do pré-resfriamento, há uma desaceleração dessas reações e maior manutenção da qualidade e longevidade do produto (Brosnan e Sun, 2001a; Ravindra e Goswami, 2007; Sindhuja e Jena, 2017). Dessa forma, pode-se verificar no presente estudo, a diminuição dos níveis iniciais de MDA conforme o aumento do período de exposição ao pré-resfriamento.

Após 12 e 24 horas de pré-resfriamento, o nível inicial de MDA é baixo, comparado aos níveis após 2 e 6 de pré-resfriamento, como também comparado ao controle. Entretanto, os níveis de MDA ao final do armazenamento, especificamente nos intervalos de 192 horas (8 dias de armazenamento) após 12 horas de pré-resfriamento, e 192 e 240 horas (8 e 10 dias) após 24 horas de pré-resfriamento, são significativamente mais altos comparados aos demais períodos de pré-resfriamento e controle. Assim, apesar do tempo de exposição à baixa temperatura durante o pré-resfriamento, ter diminuído inicialmente o metabolismo, diminuindo a peroxidação lipídica, e sendo a princípio vantajoso, quando as hastes florais foram para o armazenamento com maior temperatura, a peroxidação lipídica ao final foi significativamente maior.

O tratamento com frio previamente ao armazenamento para pepinos, *Cucumis sativus* L. cv. 'Fire Phoenix', foi efetivo para aumentar a atividade de enzimas antioxidantes quando tratados com água a temperatura de 0, 3 e 6 °C, entretanto, foi verificado um alto conteúdo de MDA com a utilização de frio com água a 6 °C, sendo que o aumento para esse tratamento das enzimas antioxidantes, é um sinal de dano celular ou senescência (Chen et al., 2015). A senescência provoca um aumento na peroxidação lipídica que é indicativo da prevalência de ERO's nos tecidos, e também provoca a produção de produtos tóxicos à célula como o malondialdeído (Jyothisna e Murthy, 2016).

Dessa forma, mesmo que para o pré-resfriamento por um período de 2 e 6 horas, ainda tenha ocorrido um alto conteúdo de MDA inicialmente, ao longo do armazenamento a 21 °C houve uma diminuição desse conteúdo, ou seja, uma maior estabilização do processo oxidativo comparado aos períodos de 12 e 24 horas de pré-resfriamento. O maior período de exposição à baixa temperatura realizado com o pré-resfriamento por 12 e 24 horas, pode ter resultado em um tipo de choque térmico ao submeter as hastes florais a 21 °C, uma temperatura de armazenamento maior, havendo efeito negativo por meio da aceleração da senescência, comprovada pelo aumento no conteúdo de MDA.

Assim, mesmo que a qualidade visual não tenha sofrido efeito, independente da utilização ou não do pré-resfriamento, a exposição à baixa temperatura por menores períodos como 2 e 6 horas, é mais indicada para a posterior preservação das hastes florais de copo-de-leite, quando estas forem transferidas para uma temperatura maior.

Analisando-se a atividade das enzimas do sistema antioxidante, CAT e SOD, nota-se comportamentos distintos, que variam conforme o período de exposição ao tratamento de pré-resfriamento e as horas seguintes, imediatamente após o pré-resfriamento e durante o

armazenamento a temperatura de 21 °C. Também, conforme o tipo de ação de cada enzima, pode-se verificar os efeitos resultantes do balanço entre a atividade de CAT e SOD.

A CAT é uma enzima do sistema antioxidante muito eficiente em eliminar o H₂O₂, convertendo-o em H₂O e O₂ (Yan et al., 2018). O H₂O₂, assim como outras espécies reativas de oxigênio (ERO'S), é produzido em altos níveis em situações de estresse oxidativo, e entre os fatores que desencadeiam esse estresse estão a temperatura de armazenamento e a senescência (Hodges et al., 2004). Além desses fatores, a temperatura no momento da colheita e a ação de colheita, também ocasionam reações fisiológicas e bioquímicas que podem levar a uma situação de estresse (Brosnan e Sun, 2001a). Assim, a atividade mais alta da CAT observada no presente estudo, para o controle, pode ser justificada pelo estresse da colheita, considerando também a temperatura na hora de sua realização e a não utilização da técnica do pré-resfriamento que poderia diminuir esse estresse, e por isso, a CAT manteve sua atividade alta nas horas seguintes ao armazenamento a 21 °C. Já o pré-resfriamento por períodos de 2 e 6 horas, manteve a atividade da enzima baixa, inclusive após a transferência para a temperatura de 21 °C. Ou seja, a baixa atividade da CAT reflete a eficácia desses períodos de pré-resfriamento quando comparados ao controle.

Entretanto, há uma alta na atividade da CAT nos intervalos de 6 e 12 horas no armazenamento a 21 °C após o período de 12 horas de pré-resfriamento, e imediatamente após, e nas 6 horas seguintes ao pré-resfriamento por 24 horas. Esse comportamento sugere, à semelhança do que ocorreu com o teor de MDA para esses mesmos tratamentos, que o maior período de exposição ao pré-resfriamento ocasionou um tipo de estresse ao transferir as hastes florais para a temperatura de armazenamento maior. Assim, à semelhança do controle em que a atividade da CAT se apresenta alta devido ao estresse de colheita, seguido da não aplicação do pré-resfriamento, as hastes florais submetidas aos maiores períodos de pré-resfriamento passam por um estresse ao serem transferidas para 21 °C, devido ao tempo de exposição à baixa temperatura e a diferença desta para a outra temperatura de armazenamento.

Em relação a atividade da SOD, esta apresenta uma atividade maior nos tratamentos com exposição ao pré-resfriamento comparada à atividade da enzima no controle, sugerindo uma relação da baixa temperatura e atividade da SOD. O crescimento da atividade da enzima também foi constatado durante o armazenamento de pepinos 'Fire Phoenix', após a utilização de tratamento com outra técnica que utiliza a baixa temperatura antes do armazenamento, o choque frio por meio de imersão em água à baixa temperatura (Chen et al., 2015). A atividade da SOD também tem sido vinculada como resposta a situações de baixa temperatura (Kanojia e Dijkwel, 2018).

De maneira geral, o comportamento da atividade da SOD, em todos os intervalos de coleta de material vegetal, para os tratamentos com pré-resfriamento, como também o controle, se apresenta com níveis elevados e pouco variáveis entre esses intervalos, corroborando com a afirmativa de que a superóxido dismutase constitui a primeira frente de defesa do sistema antioxidativo, apresentando atividade mesmo não havendo situação de estresse, uma vez que as células estão continuamente respirando e podendo produzir espécies reativas de oxigênio (ERO's) (Alscher et al., 2002).

A ocorrência de atividade da SOD até os últimos intervalos de horas no armazenamento a 21 °C, ou seja, intervalos que representam os últimos dias de armazenamento do período avaliado, permite também verificar a ação da enzima durante o processo de senescência. Em brotos de brócolis (*Brassica oleracea* var. *Italica*), a atividade da SOD também foi verificada durante a senescência no armazenamento, como também foi verificado um aumento maior para atividade dessa enzima em relação a atividade da CAT, refletindo um desequilíbrio no sistema antioxidante e, como consequência, a incapacidade de desacelerar, ou até mesmo a capacidade de estimular a senescência (Starzyńska, et al., 2003). Resultado semelhante também foi verificado para plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L. cv. *Aonagajibai*), com aumento da razão SOD/CAT, nos últimos estágios de senescência natural (Kanazawa et al., 2000).

5. Conclusões

O pré-resfriamento não influenciou na qualidade visual e durabilidade das hastes florais de copo-de-leite. Entretanto, alguns aspectos relativos ao sistema antioxidante devem ser considerados. A atividade da SOD se relaciona com a baixa temperatura. Os maiores períodos de exposição a baixa temperatura, com 12 e 24 horas de pré-resfriamento, e a diferença de temperatura em relação ao armazenamento a 21 °C, contribuíram para que houvesse um estresse, comprovado pelos altos níveis de MDA e alta atividade da CAT, ao transferir as hastes florais do pré-resfriamento para o armazenamento a 21 °C. Assim, menores períodos de exposição à baixa temperatura, durante o pré-resfriamento, proporcionam melhor atividade do sistema antioxidante e menores níveis de MDA.

6. Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer aos coordenadores do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas da UFLA.

7. Fontes de financiamento

Este trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

8. Referências

- Aghdama, M. S.; Bodbodak, S., 2013. Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. *Scient. Hort.*, 156, 73-85.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.03.028>
- Alibaş, I., Köksal, N., 2018. The Importance of Pre-cooling Methods and Usage Possibilities in Ornamental Plants. *Turkish J. Agric. - Food Sci. Tec.* 6(5), 586-595.
<https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i5.586-595.1822>
- Almeida, F. A. E., Paiva, P. D. O., Lima, L. C. O., Resende, M. L., Fonseca, J., Tavares, T. S., 2008. Pós-colheita de copo-de-leite: efeito de diferentes conservantes comerciais e armazenamento a frio. *Ciênc. Agrotec.* 32(4), 1189-1194.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600007>
- Alscher, R. G.; Ertuk, N; Heath, L. S., 2002. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* 53(372), 1331- 1341.
- Azevedo, R. A., Alas, R. M., Smith, R. J., Lea, P. J., 1998. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wildtype and a catalasedeficient mutant of barley. *Physiol. Plant.* 104(2), 280-292.
<https://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x>
- Biemelt, S., Keetman, U., Albrecht, G., 1998. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. *Plant Physiology*, 116(2), 651-658
- Brosnan, T., Sun, D. W., 2001a. Precooling techniques and applications for horticultural products - a review. *Int. J. Refrig.* 24, 154-170
[https://dx.doi.org/10.1016/S0140-7007\(00\)00017-7](https://dx.doi.org/10.1016/S0140-7007(00)00017-7)

- Brosnan, T., Sun, D. W., 2001b Compensation for Water Loss in Vacuum-Precooled Cut Lily Flowers. *J. agric. Eng. Res.* 79(3), 299-305.
<https://doi.org/10.1006/jaer.2001.0704>
- Buege, J. A.; Aust, S. D., 1978 Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzimol.* 52, 302-310.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)
- Castro, M. L. R., Paiva, P. D. O., Landgraf, P. R. C., Pereira, M. M. A., Souza, R. R., 2014. Estádio de abertura floral e qualidade pós-colheita em armazenamento de copo-de-leite. *Ornam. Hortic.* 20(2), 131-136.
<https://doi.org/10.14295/rbho.v20i2.522>
- Cavaiuolo, M., Cocetta, G., Ferrante, A., 2003. The antioxidants changes in ornamental flowers during development and senescence. *Antioxidants.* 2(3), 132-155.
<https://doi.org/10.3390/antiox2030132>
- Chen, A., Yang, Z., Zhang, N., Zhao, S., Chen, M. 2015. Effects of cold shock intensity on physiological activity of harvested cucumbers during storage. *Sci. Hortic.* 197, 420-427.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.056>
- Fernandes, L.; Saraiva, J. A.; Pereira, J. A.; Casal, S.; Ramalhosa, E., 2019. Post-harvest technologies applied to edible flowers: A review: Edible flowers preservation. *Food Rev. Int.* 35(2), 132-154.
<https://doi.org/10.1080/87559129.2018.1473422>
- Ferreira, D.F. Sisvar: 2011. A computer statistical analysis system. *Ciênc. Agrotec.* 35(6), 1039-1042
<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Giannopolitis, C. N., Ries, S. K., 1977. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59(2), 309-314
<https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Gupta, J.; Dubey, R. K., 2018. Factors affecting post-harvest life of flower crops. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7(1): 548-557
<https://doi.org/10.20546/ijemas.2018.701.065>
- Havir, E. A., MCHale, N. A., 1987. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiol.* 84(2), 450-455.
- Hodges, D. M.; Lester, G. E.; Munro, K. D.; Toivonen, P. M. A., 2004. Oxidative stress: importance for postharvest quality. *Hortscience*, 39(5), 924-929.
- Jyothsna,P.; Murthy, S.D.S., 2016. A review on effect of senescence in plants and role of phytohormones in delaying senescence. *Int. J. Plant Animal Environ. Sci.* 6(1), 152-161

- Kanazawaa, S.; Sano, S.; Koshiha, T.; Ushimaru, T. 2000. Changes in antioxidative enzymes in cucumber cotyledons during natural senescence: comparison with those during dark-induced senescence. *Physiol. Plant.* 109(2), 211–216.
<https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.100214.x>
- Kanojia, A., Dijkwel, P. P., 2018. Abiotic stress responses are governed by reactive oxygen species and age. *Annu. Plant Rev.* 1,1–32
<https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0611>
- Masia, A. 2003. Physiological effects of oxidative stress in relation to ethylene in postharvest produce, p. 165-197. In: Hodges, D. M (ed.). *Postharvest oxidative stress in horticultural crops*. Food Products Press, New York.
- Ravindra, M. R., T.K. Goswami, T. K., 2008. Comparative performance of precooling methods for the storage of mangoes (*Mangifera indica* L. cv. Amrapali). *Journal of Food Process Engineering.* 31, 354–371.
doi: 10.1111/j.1745-4530.2007.00171.x
- Shibuya, K., 2018. Molecular aspects of flower senescence and strategies to improve flower longevity. *Breed. Sci.* 68(1), 99–108.
<https://doi.org/10.1270/jsbbs.17081>
- Simi, S., Sarada, S., Sudhadevi, P. K., 2017. Effect of pre-cooling and holding solutions on the keeping quality of cut flower *Anthurium andrianum* White King'. *Acta Hort.* 1165, 97-100.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1165.15>
- Sindhuja, M., Jena, S., 2017. Postharvest management of flower crops. *Indian J. Agric. Allied Sci.* 3(4), 90-92.
- Starzyńska, A.; Leja, M.; Mareczek, A., 2003. Physiological changes in the antioxidant system of broccoli flower buds senescing during short-term storage, related to temperature and packaging. *Plant Sci.* 165, 1387-1395.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.07.004>
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci.* 151(1), 59-66
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Watkins, C. B. 2018. New technologies for storage of horticultural products - there is more to adoption than availability! *Acta Hort.* 1194, 1233-1244.

<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1194.175>

Yan, J., Song, Y., Li, J., Jiang, W., 2018. Forced-air precooling treatment enhanced antioxidant capacities of apricots *J Food Process Preserv.* 42(1), 1-7.

<https://doi.org/10.1111/jfpp.13320>