

Poliaminas exógenas como anti-senescentes durante a maturação de bananas (*Musa* AAA Cavendish cv Nanica)

Exogenous polyamines as anti-senescents during the ripening stage for bananas (*Musa* AAA Cavendish cv Nanica)

G. P. P. Lima¹, I. M. T. Piza¹, J. L. Mosca², S. A. Lacerda² e J. A. Giannoni²

Resumo

Este estudo empregou poliaminas exógenas como possível retardante de maturação de bananas (*Musa* AAA Cavendish cv Nanica). As frutas maduras fisiologicamente foram imersas em soluções de poliaminas (Putrescina + Espermidina) em duas concentrações 100 e 200 mM. Analisou-se teor de poliaminas endógenas e atividade da peroxidase (EC 1.11.1.7) da polpa das frutas durante 12 dias, com intervalo de 3 dias. Os resultados analisados por regressão, mostraram que a aplicação exógena do mix de poliaminas foi efetiva quanto ao retardo da maturação, principalmente na alteração de cor. A atividade da enzima peroxidase não foi alterada pela aplicação exógena de poliaminas.

Palavras chave: Poliaminas, peroxidase, pós-colheita, bananas

Summary

This study used exogenous polyamines as possible delayers of maturation in bananas (*Musa* AAA Cavendish cv Nanica). The ripe fruit were immersed in polyamine solutions (Putrescina + Espermidina) in two concentrations 100 and 200 mM. The duration of endogenous polyamines and peroxidase activity (EC 1.11.1.7) was analyzed in the pulp of the fruits over 12 days, at intervals of 3 days. The results analyzed by regression, showed that the exogenous application of the polyamine mix was effective in retarding maturation, mainly in color alteration. The activity of the peroxidase enzyme was not altered by the exogenous application of polyamines.

Key words: Polyamines, peroxidase, post-harvest, bananas

Recibido el 7-5-2001 • Aceptado el 1-7-2002

1 Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Química e Bioquímica, Caixa Postal: 545, CEP: 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: gplima@ibb.unesp.br

2 Universidade Estadual Paulista, FCA, Departamento de Horticultura, Caixa Postal: 545, CEP: 18618-000, Botucatu, SP, Brasil.

Introdução

As bananas constituem um sistema vantajoso para estudo básico das transformações que ocorrem durante a maturação e armazenamento, visto que apresentam padrão respiratório característico de frutos climatéricos. São consideradas frutas de grande valor nutritivo, sendo uma das mais consumidas por todas as classes da população.

Diversos métodos e substâncias têm sido utilizados para prolongar o período de armazenamento pós-colheita (vida verde) de espécies vegetais; em larga escala, comercialmente e normalmente, se usa o ambiente (concentração de O₂, CO₂, etileno e temperatura), ou pode-se acrescentar substâncias absorvedoras de etileno como permanganato de potássio (KMnO₄). Embalagens de plástico, papel ou a combinação delas, além de ceras e outros protetores, também são usadas na manutenção da vida pós-colheita de vegetais.

Atualmente, o uso de diversas substâncias como reguladores vegetais (giberelinas, auxinas, etc.) no armazenamento pós-colheita com o objetivo de prolongar a vida, tem se intensificado. As poliaminas, putrescina (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm), classificadas como reguladores

vegetais, estão relacionadas com diversas respostas fisiológicas, como a senescência e estresse. Nos vegetais, a diamina putrescina é sintetizada a partir de arginina e ornitina. A putrescina é convertida a espermidina e a espermina por sucessivas transferências de 1 ou 2 grupos aminopropil via SAM (S-adenosil metionina) (14).

O precursor da síntese de etileno - SAM, é o mesmo para poliaminas, apesar da função do metabolismo do etileno e de poliaminas serem diferentes. Geralmente, as poliaminas aparecem em baixas concentrações em tecidos maduros e altas em verdes, o contrário do que é geralmente observado para o etileno e peroxidases (15).

A atividade da peroxidase tem sido correlacionada com diversos processos metabólicos como a iniciação da atividade meristemática, a supressão do crescimento, lignificação e diferenciação, maturação (6) e estresse (14).

Este trabalho teve por objetivo verificar a influência da aplicação de poliaminas (putrescina, espermidina) no prolongamento do período de conservabilidade de bananas através da análise da peroxidase e do teor de poliaminas.

Material e métodos

Utilizaram-se bananas (*Musa acuminata* AAA Cavendish Simm, & Shep. cv nanica) oriundas do pomar da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Campus de

Botucatu, SP, Brasil, as quais estavam $\frac{3}{4}$ gordas, isto é, maduras fisiologicamente e imaturas para consumo. Após a seleção para eliminar as frutas danificadas e uniformizá-las

quanto ao tamanho e estágio de maturação, as pencas foram divididas em buquês. Todos os buquês foram lavados com água à temperatura ambiente, para retirada do látex e eliminação dos restos florais e em seguida, imersos em solução 20% de hipoclorito de sódio (comercial - Qboa, contendo 2% de cloro ativo) por 10 minutos e deixados secar a temperatura ambiente. As frutas foram imersas em solução de putrescina e espermidina, constituindo-se os seguintes tratamentos: T₀ - Testemunha (imersa em água); T₁ - (100 mM putrescina + espermidina) e T₂ - (200 mM putrescina + espermidina), por 40 minutos e mantidas em sala com temperatura (20 ± 2 °C) e umidade relativa (80%), controladas. O ensaio foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado,

compreendido de três tratamentos, quatro repetições e cinco coletas, que foram realizadas aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias, e os resultados foram submetidos a análise de regressão.

Amostras de polpa de banana, obtidas com um furador de rolha (Ø 1cm) foram pesadas, processadas e analisadas individualmente, as quais foram denominadas de repetições, quanto ao teor de poliaminas e atividade de peroxidases (EC 1.11.1.7). A polpa foi homogeneizada em 5 ml de tampão fosfato 0,2M pH 6,7 e centrifugada a 12100 x g, por 10 minutos a 4 °C, obtendo-se dessa maneira o extrato bruto, no qual foi determinada a atividade da peroxidase (13). As poliaminas foram determinadas por TLC (cromatografia de camada delgada) seguindo a técnica descrita por Flores e Galston (8), modificada por Lima (14).

Resultados e discussão

Poliaminas

O teor de putrescina durante o experimento, em todos os tratamentos, foi maior quando comparado com as demais poliaminas (figuras 1, 2, 3 e 4). Putrescina é menos efetiva em relação a espermidina e espermina em prevenir aumentos na atividade de RNAase, degradação de clorofila e outras propriedades que culminam com a senescência. A diamina também é menos efetiva em estabilizar as membranas contra mudanças induzidas por estresse, como fluidez e ligações de soluto (15,16).

A aplicação exógena do mix de poliaminas nas duas concentrações

utilizadas, mostrou-se efetiva quanto ao retardo na degradação de clorofila, isto é, ocorreu retenção da cor verde nas frutas, quando comparadas com o controle. Durante o amadurecimento de frutos, cloroplastos e as membranas tilacóides se desorganizam e ocorre degradação de clorofilas, causando a perda da coloração verde (6).

Os níveis das poliaminas endógenas observados no primeiro dia de coleta, se devem possivelmente, ao estágio fisiológico das frutas, isto é, verdes para o consumo, porém fisiologicamente maduras. De acordo com Kaur-Sawhney (12) e Lima (15), as poliaminas aparecem em baixas

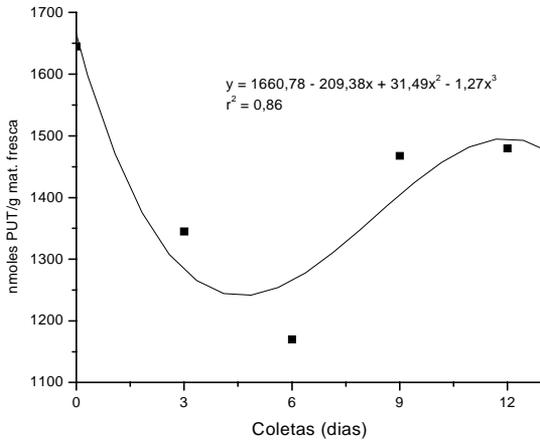


Figura 1. Putrescina endógena em bananas (testemunha)

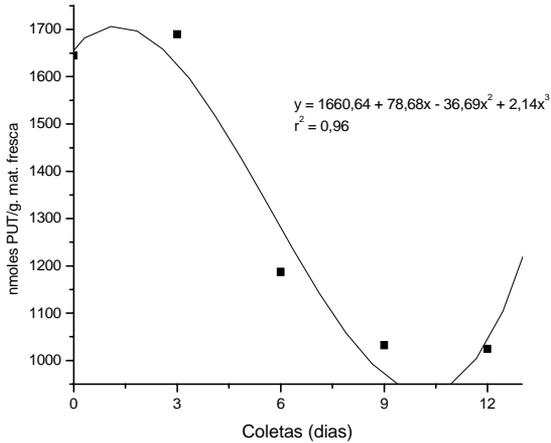


Figura 2. Putrescina endógena em bananas tratadas com 100 mM do mix de poliaminas.

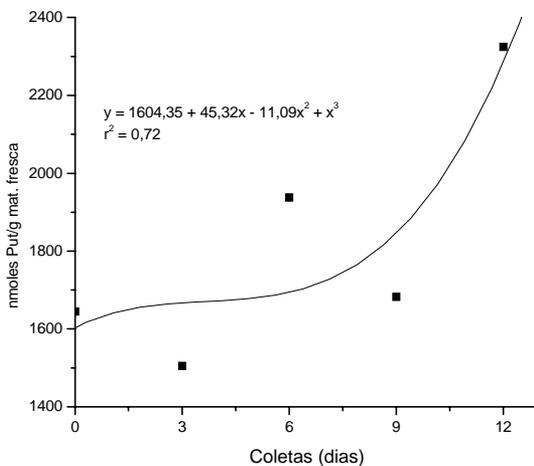


Figura 3. Putrescina endógena em bananas tratadas com 200 mM do mix de poliaminas.

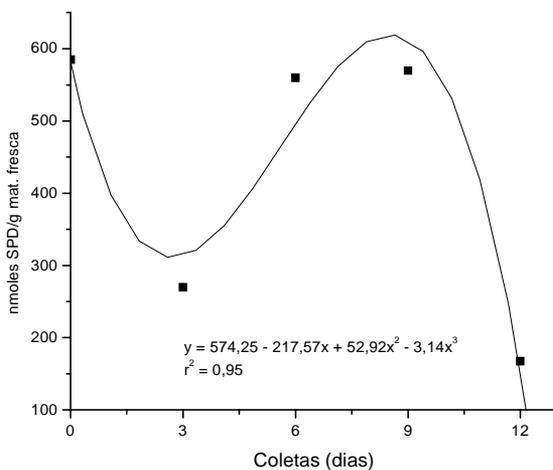


Figura 4. Espermidina endógena em bananas (testemunha).

concentrações em tecidos maduros e altas, em verdes, ao contrário do que é geralmente observado para o etileno e peroxidases. Porém, durante o amadurecimento, há uma tendência de diminuição nos níveis de poliaminas.

Nas bananas que receberam aplicação de putrescina e espermidina, provavelmente, o nível de etileno foi alterado devido à ação das poliaminas aplicadas, principalmente na concentração de 200 mM, resultado que não foi observado nos demais tratamentos (figuras 5, 6, 7, 8 e 9). Espermidina e espermina, poliaminas que agem certamente na prevenção da degradação de clorofila, não mostraram diminuição a partir dos 6 dias; fato este, que poderia ter contribuído para o balanço etileno/poliaminas. Essa observação, pode ser resultado da estabilização das membranas que estariam ocorrendo, principalmente nos

cloroplastos (retenção de clorofila), contra o processo de maturação. A efetividade das poliaminas em proteger as membranas corresponde ao número de cargas por molécula, da concentração e do tipo de poliamina exógena utilizada no tratamento (9, 1).

Atividade da peroxidase

A aplicação de poliaminas exógenas não induziu alterações na atividade da peroxidase até o nono dia, quando comparadas com o controle. Porém, na última coleta, a atividade no controle foi maior (aproximadamente 75%) em relação às frutas tratadas com putrescina + espermidina (figura 10).

De acordo com Brasil e Rossi (3), ocorre aumento gradativo da respiração com o decorrer da maturação de bananas nanica até o nono dia, sendo que o pico máximo ocorre em torno do décimo segundo dia.

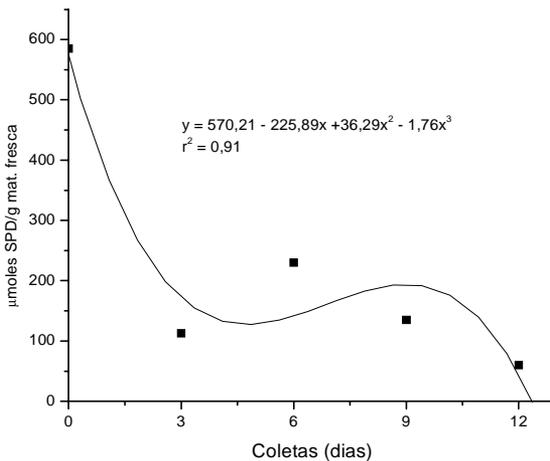


Figura 5. Espermidina endógena em bananas tratadas com 100 mM do mix de poliaminas.

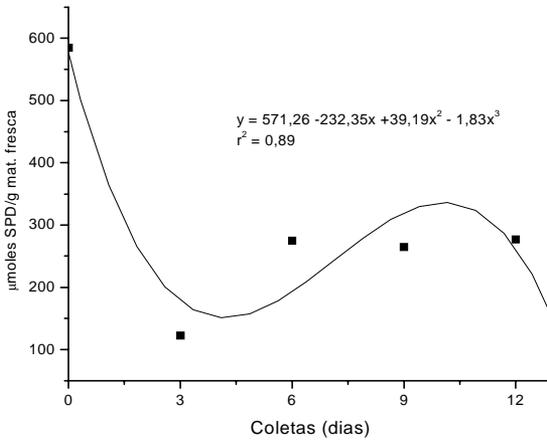


Figura 6. Espermidina endógena em bananas tratadas com 200 mM do mix de poliaminas.

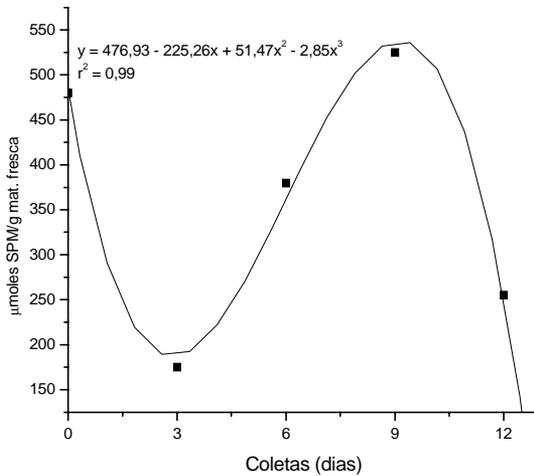


Figura 7. Espermina endógena em bananas (testemunha).

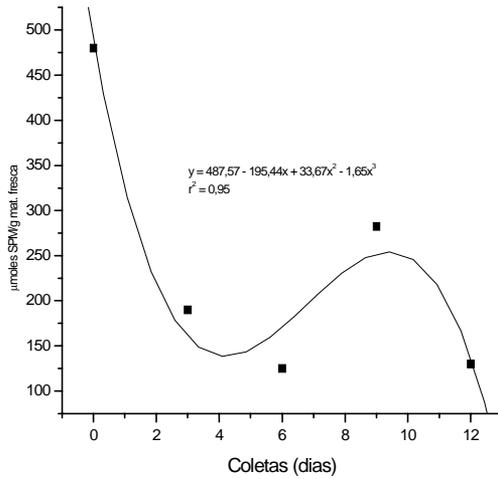


Figura 8. Espermina endógena em bananas tratadas com 100 mM do mix de poliaminas.

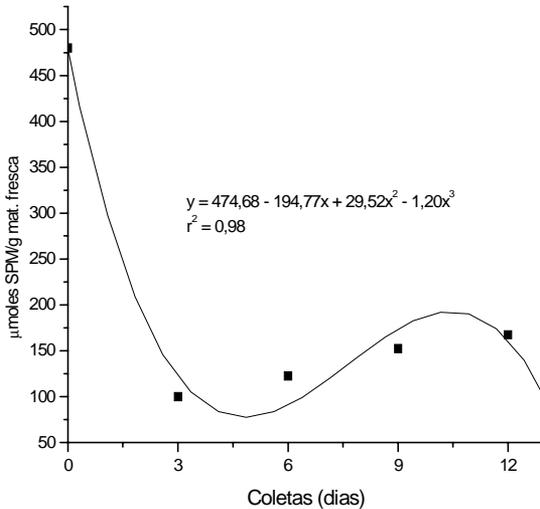


Figura 9. Espermina endógena em bananas tratadas com 200 mM do mix de poliaminas.

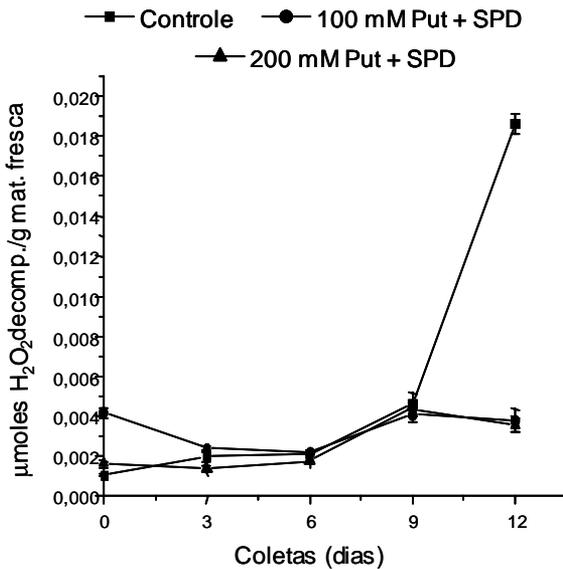


Figura 10. Atividade de peroxidases em bananas tratadas com mix de poliaminas exógenas.

Como a peroxidase pode aumentar no início da respiração climatérica, a aplicação exógena de poliaminas pode ter promovido atraso na maturação, alterando dessa forma a atividade da enzima.

Durante a senescência há a formação de peróxidos e aumento de radicais livres, causando alteração na atividade da peroxidase (4, 2). A relação do aumento da atividade da peroxidase e senescência pode ser devido à eliminação de peróxidos, que aumenta neste estágio fisiológico. Aumento na atividade da enzima poderia representar dessa forma, uma ação protetora, alterando o processo da senescência (10).

Peróxido de hidrogênio é um constituinte do metabolismo oxidativo. Pode reagir com radicais superóxidos e formar radical oxigênio-livre e

radicais hidroxilas, na presença de traços de Fe ou Cu (2). Os radicais hidroxilas produzidos iniciam reações próprias de propagação conduzindo a peroxidação dos lipídeos das membranas e destruição de proteínas (2, 11). Radicais livres e peroxidação de lipídeos são considerados como os maiores contribuintes da senescência (7). Danos celulares causados por radicais livres e pela peroxidação dos lipídeos, podem ser reduzidos ou prevenidos pelo metabolismo oxidativo envolvendo enzimas antioxidantes como a peroxidase (5).

O aumento de radicais livres e peróxidos pode ainda estar relacionado com a oxidação de poliaminas (16), que aparecem em altos teores em tecidos jovens e em baixos, em tecidos senescentes.

Assim, a baixa atividade da per-

oxidase obtida em todos tratamentos utilizando poliaminas exógenas, evidencia que essas substâncias podem

ser efetivas no prolongamento da vida pós-colheita de bananas cv nanica.

Literatura citada

1. Bouchereau, A.; A. Aziz, F. Larher e J. Martin-Tanguy. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Pl. Physiol.* 140:103-125.
2. Bowler, C., M. Van Montague e D. Inze. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 83-116.
3. Brasil, O.G. e C. Rossi. 1980 Variações da atividade de algumas enzimas envolvidas no processo de amadurecimento de bananas. *Phyton.* 39: 99-105,
4. Brennan, T. e C. Frenkel. 1977. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear. *Pl. Physiol.* 59: 411-416.
5. Chang, C.J. e C. H., Kao. 1998. H₂O₂ metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activities in light and darkness. *Pl. Growth Reg.* 25: 11-15.
6. Clemente, E. e G.M. Pastore. 1998. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. *Bol. SBCTA*, 32: 167-171.
7. Dhindsa, R. S. e W. Matawe. 1981. Drought tolerance in two mosses correlated with difference against lipid peroxidation. *J. Experimental Bot.* 32: 19-21.
8. Flores, H. e A. W. Galston. 1982. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. *Plant Physiology* 69:701-706.
9. Galston, A.W. e R. Kaur-Sawhney. 1987. Polyamines and senescence in plants. p.176-81. In: Thompson, W., E. Nothangel and R. Huffaker (Eds.). *Plant senescence: Its biochemistry and physiology*. Rockville:Amer. Soc. Plant Physiol.
10. Gaspar, T., C. Penel, F. J. Castillo e H. A. Greppin. 1985. A two step control of basic and acid peroxidase and its significance for growth and development. *Physiologia Plantarum* 64: 418-423.
11. Halliwell, B. 1987. Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts. *Chem. Phys. Lipids.* 44: 327-340.
12. Kaur-Sawhney, R., H. E. Flores e A. W. Galston. 1980. Polyamine-induced DNA synthesis and mitosis in oat leaf protoplast. *Pl. Physiol.* 65: 368-371.
13. Lima, G.P.P., F. Broetto e O. G. Brasil. 1998. Efeito da salinidade sobre o teor de proteínas e atividades da peroxidase e redutase de nitrato em calos de arroz. *Acta Biologica Leopoldensia.* 20(2): 357-63.
14. Lima, G.P.P., O. G. Brasil e A. M. Oliveira. 1999. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. *Scientia Agrícola.* 56: 21-25.
15. Lima, G. P. P. 2000. Marcadores bioquímicos de injúrias pelo frio e de maturação em bananas (*Musa acuminata* AAA Simm. & Shep. cv nanica). Tese. Livre Docência. Instituto de Biociências. UNESP. Campus de Botucatu. 103p.
16. Slocum, R. D., R. Kaur-Sawhney e A. W. Galston. 1984. The physiology and biochemistry of polyamines in plants. *Arch. Biochem. Biophys.* 235: 283-303.