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

Análise hiperespectral da degradação das folhas de lisianthus de corte

Thuane Katiúcia Moreira Barbosa

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Engenharia de Sistemas Agrícolas

Piracicaba 2019

Thuane Katiúcia Moreira Barbosa Engenheira Agrícola e Ambiental

Análise hiperespectral da degradação das folhas de lisianthus de corte

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

Prof. Dr. PETERSON RICARDO FIORIO

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Engenharia de Sistemas Agrícolas

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

Barbosa, Thuane Katiúcia Moreira

Análise hiperespectral da degradação das folhas de lisianthus de corte / Thuane Katiúcia Moreira Barbosa. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019.

57 p.

Dissertação (Mestrado) -- USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Curva espectral 2. Pós-colheita 3. Pigmentos 4. Senescência. . I. Título $\,$

DEDICATÓRIA

Ofereço:

Aos meus pais Aurora e Moreira

E aos meus irmãos Patrícia e Helder.

E dedico:

À minha avó Alzira (in memoriam), e à minha sobrinha Alice.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida e por todas essas pessoas importantes que me ajudaram a chegar até essa minha realização profissional.

Aos meus pais Aurora Maria Barbosa Moreira e Antônio Moreira Neto por acreditarem em mim e por me darem um amor incondicional.

Aos meus irmãos Patrícia e Helder, minha cunhada Lanna e minha sobrinha Alice, por torcerem por mim, entenderem minhas ausências e me ajudarem nos momentos difíceis.

À minha amiga Jéssica Garcia Nascimento, por ser minha irmã de Piracicaba, me ajudando em minha vida pessoal e profissional, sem medir esforços.

À Rebeca Nascimento, Joana Peloia, Thaís Tavares, Isabela Martinez, Alessandra Batista e Margarete Rolim pela amizade nesses anos de convivência com muitas alegrias compartilhadas.

Aos meus "irmãos de adoção" Adriano, Asdrubal, Hugo, Luiza, Rony e Thaís por me fazerem sentir em uma família Esalqueana.

Aos meus amigos da irrigação e demais amigos do programa de pós-graduação de Engenharia de Sistemas Agrícolas por todo o apoio, pausas do café e conhecimento compartilhado.

Aos amigos do grupo TopoGeo Ana Paula Barbosa, Hugo Seixas, Karina Grisólia, Mitsuhiko Hashioka, Miller Sanchéz, Pedro Barros e Roberto Carlos Filho por toda a ajuda nos projetos executados e pela amizade.

Ao meu orientador Peterson Ricardo Fiorio pela orientação, apoio e compreensão ao longo do curso de mestrado.

À doutoranda Cristiane Calaboni por ter sido um anjo no meu mestrado, com toda ajuda e amizade, além de ter sido a idealizadora do projeto.

Ao professor Ricardo Kluge pela parceria, e a todos pós-graduandos e estagiários do Laboratório de Fisiologia Pós-Colheita pela apoio na execução do projeto e amizade.

Ao professor José Alexandre Demattê pela parceria com disponibilidade dos equipamentos, e a todos do grupo GeoCis, principalmente Clécia e Ariane, pela prontidão e auxílio na análise dos dados.

Ao professor Tadeu Leite pela ajuda com as análises estatísticas.

À todos os professores e funcionários do programa de pós-graduação de Engenharia de Sistemas Agrícolas, principalmente Antônio Agostinho, Davilmar Collevatti, Gilmar Brigolon, Paula Bonassa, Ricardo Michelotto e professor Sérgio Duarte, por todo apoio desde meu ingresso no mestrado.

À todos os funcionários e prestadores de serviço da ESALQ/USP por seus amáveis sorrisos e 'bom dia', principalmente ao Ricardo, Elias, Carlos e Anderson.

À Carla Chiles, Camila Ferreira, Gabriela Barbosa, Larissa Campos e Natanny Santos pela amizade e ainda por toda ajuda na execução desse trabalho.

Aos meus amigos Ane Caroline, Ana Karolinny, Carla Carvalho, Camila Matos, Camila Ramos, Geovana Fleuri, Isley Bicalho, Ivy Bicalho, Lívia Cunha, Lucas Lommez, Lucas Allan, Mariana Fraga, Najara Glenda, Raianny Garcia, Ramon Garcia, Rayssa Balieiro, Sara Corrent que

entenderam as ausências até em dias importantes, por me ajudarem nos momentos difíceis e por ficarem felizes com minhas alegrias.

Aos meus tios, tias, avós, primos, primas e Sra. Fátima pelo carinho, principalmente à minha querida avó Alzira que era sinônimo de amor.

À CAPES, pela bolsa de estudo concedida.

À FAPESP, pelo financiamento do projeto de pesquisa nº 2013/22435-9.

À ESALQ/USP, pela oportunidade de cursar o mestrado em uma instituição de excelência.

À população brasileira, que mesmo diante de tanta dificuldade, financia os projetos de ciência e tecnologia do nosso país.

.

EPÍGRAFE

"Mude suas opiniões, mantenha seus princípios. Troque suas folhas, mantenha suas raízes." Victor Hugo

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LEITURA	13
2.1. PÓS-COLHEITA DE FLORES DE CORTE 2.1.1. A cultura do lisianthus e a conservação das hastes florais 2.1.2. Degradação foliar nas hastes florais 2.2. SENSORIAMENTO REMOTO DA VEGETAÇÃO 2.2.1. Propriedades ópticas da folha 2.2.2. Prodição de nigraparto foliano pola conseturação	
2.2.2. Predição de pigmentos foliares pela espectroscopia	
3.1. CARACTERIZAÇÃO EXPERIMENTAL 3.2. PREPARAÇÃO DAS HASTES FLORAIS E SOLUÇÕES PULSING 3.3. COLETA DE FOLHAS 3.4. OBTENÇÃO DE LEITURAS ESPECTRAIS 3.5. QUANTIFICAÇÃO DE PIGMENTOS. 3.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS 3.6.1. Predição de pigmentos.	
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. EFEITO DOS TRATAMENTOS NA CURVA ESPECTRAL 4.1.1. Análise descritiva 4.1.2. Análise discriminante. 4.2. EFEITO DO TEMPO NA CURVA ESPECTRAL 4.2.1. Análise descritiva 4.2.2. Análise discriminante. 4.3. PREDIÇÃO DE CLOROFILA E CAR/CLF 4.3.1. Clorofila. 4.3.2. Razão CAR/CLF.	29 34 38 38 43 47 47
5. CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	52

RESUMO

Análise hiperespectral da degradação das folhas de lisianthus de corte

Hastes florais de lisianthus foram submetidas a soluções conservantes de diferentes concentrações de sacarose, glicose, distintos fitormônios ou água destilada por 12 horas e posteriormente mantidas em água e germicidas por 12 dias em ambiente climatizado. Foram coletadas folhas dessas hastes a cada 4 dias para posterior análise hiperespectral (450 a 2450 nm) e quantificação de pigmentos. A fim de analisar o uso dos espectros para detectar o desempenho das soluções conservantes, foi utilizado o teste de Tukey em cada comprimento de onda entre essas soluções ou entre os dias de análise, os quais apresentaram diferenças nas regiões do espectro demonstrando a degradação ou manutenção das folhas de cada solução. Outro resultado encontrado foi a discriminação de diferentes períodos da pós-colheita a partir dos dados espectrais, o qual foi obtido por meio da análise multivariada; porém a mesma análise não foi bemsucedida na separação de soluções conservantes. Por fim, também foi avaliada a predição de pigmentos a partir das curvas espectrais por PLSR (Regressão de Mínimos Quadrados Parciais), sendo que não foi possível a determinação da clorofila, mas a razão CAR/CLF (razão entre carotenoides e clorofila) apresentou coeficientes de determinação razoáveis. Assim, as análises hiperespectrais apresentam potencial na avaliação da degradação foliar de hastes florais de lisianthus em diferentes soluções pulsing utilizadas na pós-colheita.

Palavras-chave: Curva espectral; Pigmentos; Pós-colheita; Senescência

ABSTRACT

Hyperspectral analysis of foliar degradation in lisianthus cut flowers

Floral stems of lisianthus were submitted to conservative solutions of different concentrations of sucrose, glucose, different phytohormones or distilled water for 12 hours and later maintained in water and germicides for 12 days in an acclimatized environment. Leaves of these stems were collected every 4 days for later hyperspectral analysis (450 to 2450 nm) and pigment quantification. In order to analyse the use of the spectra to detect the preservative solutions performance, the Tukey test was used at each wavelength between these solutions or between the analysis days, which showed differences in the regions of the spectrum demonstrating the leaves degradation or maintenance for each solution. Another achieved result was the discrimination of different post-harvest periods from the spectral data, which was obtained through multivariate analysis; but the same analysis was not successful in separating preservative solutions. Finally, the pigments prediction from spectral curves in PLSR (Partial Least Squares Regression) was evaluated, and the determination of chlorophyll was not possible, but the ratio CAR / CLF (ratio of carotenoids to chlorophyll) presented reasonable coefficients determination. Thus, the hyperspectral analyses have potential in the evaluation of foliar degradation of lisianthus floral stems in different pulsing solutions used in post-harvest.

Keywords: Spectral curve; Pigments;. Postharvest; Senescence

1. INTRODUÇÃO

A floricultura é uma atividade importante no cenário econômico mundial. A cadeia econômica de flores e plantas ornamentais corresponde a um valor econômico global de 300 bilhões de dólares (CHANDLER; SANCHEZ, 2012). No Brasil, apesar de ser considerada relativamente recente, em relação ao cultivo intensivo para a comercialização, a floricultura demonstrou um crescente e significativo faturamento nos últimos anos. Em 2016 o faturamento do setor foi de aproximadamente 6,7 bilhões de reais, 8,0 % maior do que o do ano anterior (IBRAFLOR, 2017).

Existem no Brasil cerca de oito mil produtores responsáveis pelo cultivo de mais de 350 espécies e três mil variedades de flores e plantas ornamentais. Adicionalmente, a floricultura emprega diretamente cerca de 199.100 pessoas, envolvidas principalmente nos processos de produção, distribuição e comercialização. Em relação aos números na produção, o país está entre os 15 maiores países produtores do setor (IBRAFLOR, 2017).

As flores e plantas ornamentais são comumente comercializadas em vasos ou como flores de corte. Dentre as flores de corte, se destacam os lisianthus (*Estoma gradiflorum*), que estão entre as nove mais vendidas no mundo (FLORAHOLLAND, 2015) e as cinco mais vendidas no Brasil (IBRAFLOR, 2017).

Nos últimos 50 anos o mercado de flores mudou drasticamente de uma comercialização local para um contexto global, fazendo com que esse produto seja produzido em várias partes do mundo para atender principalmente os grandes mercados consumidores da américa do norte, Japão e união europeia (REID; JIANG, 2012). Nesse contexto, técnicas de manutenção das flores, principalmente as de corte, surgiram ou foram melhoradas para que elas pudessem ser transportadas por longos trajetos, mantendo a qualidade e certa longevidade para a chegada ao consumidor final.

Dentre as técnicas utilizadas, há o uso de soluções conservantes que são a base de açúcares e/ou fitormônios, as quais minimizam fenômenos como senescência e desidratação. A fim de avaliar o efeito de tais soluções, técnicas dispendiosas e morosas de laboratório são aplicadas aos componentes da haste floral, como é o caso da quantificação de clorofila das folhas.

O uso de sensores hiperespectrais para medições de reflectância nas folhas pode ser uma alternativa na avaliação da manutenção das hastes florais em soluções conservantes. As folhas podem indicar essa manutenção por meio de sensoriamento remoto, já que apresentam propriedades espectrais capazes de indicar sua degradação em relação à concentração de pigmentos, desidratação e ainda mudanças em sua estrutura interna.

Assim, o objetivo do trabalho é analisar o comportamento espectral durante a degradação foliar de hastes florais de lisianthus na pós-colheita, em diferentes soluções conservantes, e estimar pigmentos foliares a partir dos dados espectrais.

2. REVISÃO DE LEITURA

2.1. Pós-colheita de flores de corte

2.1.1. A cultura do lisianthus e a conservação das hastes florais

Eustoma grandiflorum ou E. russelianum é uma planta ornamental da família Gentianaceae popularmente conhecida por lisianthus (LUGASSI-BEN-HAMO et al., 2010), nativa das zonas áridas do sul dos Estados Unidos e do norte do México (GOMEZ-PEREZ et al., 2014). Sua produção aumentou dramaticamente, estimulada pelo desenvolvimento, principalmente no Japão, de excelentes cultivares com uma ampla gama de cores e formas simples e duplas (USDA, 2016). Adicionalmente, devido às suas grandes flores e hastes longas o interesse está aumentando como uma flor de corte comercial (UDDIN et al., 2004).

A vida de vaso das flores de corte é determinada como o intervalo de tempo durante o qual seu valor ornamental é mantido (SHIMIZU-YUMOTO, 2018). Estudos de fisiologia e tecnologia póscolheita são importantes para auxiliar o fornecimento de flores ornamentais com longa vida de vaso para os consumidores (SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2010). O composto mais conhecido e mais importante na indução da senescência das hastes florais é o fitormônio etileno (SHIMIZU-YUMOTO, 2018).

Uma das técnicas de prolongamento da vida de vaso é o uso de soluções *pulsing*, as quais são soluções conservantes aplicadas por um período de 12 e 24 horas (HALEVY; MAYAK, 1981). Segundo os mesmos autores, esse procedimento é utilizado no pré-transporte ou armazenamento para pospor a senescência pós-colheita por meio da saturação dos tecidos com açúcares e outros compostos químicos. Segundo Asrar (2012) essas soluções conservantes também são geralmente compostas por germicidas, os quais protegem as hastes contra a obstrução dos tecidos condutores e bactérias nocivas (ICHIMURA; TAGUCHI; NORIKOSHI, 2006).

Os açúcares têm a função de ser substrato para a respiração (SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2010), regular a pressão osmótica (SHIMIZU-YUMOTO, 2018), diminuir a sensibilidade ao etileno e retardar o aumento da biossíntese desse gás durante a senescência (PUN; ICHIMURA, 2003). Porém, a concentração ótima de açúcar é variável para diferentes flores, principalmente pela sensibilidade da folhagem (HALEVY; MAYAK, 1981), como é o caso de lisianthus, que pode apresentar danos nas folhas com a excessiva absorção de sacarose (SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2007).

Alguns fitormônios também são apontados como componentes úteis nas soluções *pulsing*, para extensão da vida de vaso de flores de corte, dentre eles tem-se o ácido abscísico (ABA), o qual afeta a supressão da transpiração (ICHIMURA; SHIMIZU-YUMOTO, 2007) por sua atuação no controle estomático, promovendo o fechamento dessas estruturas (KRIEDEMANN et al., 1972). Outro fitormônio utilizado é o ácido giberélico (GA₃), que além de ser um bom conservante, pospôs a degradação da clorofila das folhas em astromélia (*Alstroemeria pelegrina*) (JORDI et al., 1994); e manteve a turgescência das hastes e flores de gérberas, através da redução da transpiração

(EMONGOR, 2004). O 6-benzilaminopurina (BAP) é um fitormônio do tipo citocinina, que estendeu a vida de vaso da flor dália (*Dahlia pinnata*) (SHIMIZU-YUMOTO; ICHIMURA, 2013). Eisinger (1977) utilizou outra citocinina sintética (cinetina) e observou que essa tende a repor a forma natural desse hormônio e provavelmente atua reduzindo a resposta e produção do etileno.

2.1.2. Degradação foliar nas hastes florais

A degradação foliar é um componente importante na perda da qualidade das culturas florícolas (REID; JIANG, 2012); podendo até ser limitador, como nas hastes florais de crisântemos (Chrysanthemum Morifolium) que frequentemente apresentam amarelecimento das folhas antes mesmo da senescência da flor (AZADI et al., 2016). Tal amarelecimento também é estudado na cultura de lírios (*Lilium* spp.) (HAN, 2001, 2003; WOOLF et al., 2012), alstroemeria (*Alstroemeria* spp.)(VAN DOORN; HIBMA; WIT, 1992; MATAK; HASHEMABIDI; KAVIANI, 2017), tulipas (*Tulipa* spp.)(VAN DOORN et al., 2011) e narciso (*Narcissus tazetta*) (ICHIMURA; GOTO, 2000).

A degradação está ligada aos pigmentos foliares, os quais são representados principalmente pela clorofila e pelo carotenoide. A clorofila é um pigmento especializado na absorção de luz para a fotossíntese, que se encontra nos cloroplastos dos tecidos vegetais e são divididos em clorofila a e b nas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Depois da clorofila, o segundo maior grupo de pigmentos foliares é o carotenoide, o qual é subdividido em carotenos e xantofilas (BLACKBURN, 2007). Eles são chamados de pigmentos assessórios, os quais coletam quantum de luz e os transferem para centros de reação da fotossíntese (BISWAL, 1995). Os carotenoides também possuem a função de proteger o aparato fotossintético contra danos causados pelo excesso de energia por meio da dissipação dessa (YOUNG, 1991) e estão correlacionados com a síntese do ABA (MILBORROW, 2001).

A senescência das folhas é um processo natural do ciclo da planta, porém ela também pode ser desencadeada em condições de estresse como na retirada das raízes das flores de corte (TEIXEIRA DA SILVA, 2003). Esse processo metabólico é altamente organizado, o qual envolve mudanças estruturais, bioquímicas e moleculares, levando à degradação gradual da célula e à morte do órgão ou organismo (RABIZA-ŚWIDER; SKUTNIK, 2004).

O processo de degradação dos cloroplastos é caracterizado pela perda de pigmentos fotossintetizantes, lipídios e proteínas dos tilacoides e proteínas solúveis do estroma (BISWAL, 1995). Sendo que, segundo o mesmo autor, o processo de senescência apresenta uma maior perda de clorofilas quando comparado com os carotenoides, os quais apresentam uma relativa estabilidade. Nas plantas de corte, a degradação da clorofila também envolve a falta do fitormônio citocianina (DHIMAN et al., 2015), o qual é preferencialmente sintetizado nas raízes (STREET; ÖPIK, 1984), e a relativa perda de água pelos estômatos (REID; JIANG, 2012).

2.2. Sensoriamento remoto da vegetação

2.2.1. Propriedades ópticas da folha

O sensoriamento remoto refere-se a medições sem contato de radiação eletromagnética refletida ou emitida de alvos, como o solo ou material vegetal (MULLA, 2013). O alvo interage com a radiação de forma que essa possa ser parcialmente refletida, absorvida e transmitida (STEFFEN; MORAES; GAMA, 1996), porém a energia refletida é a mais comumente usada na detecção por sensores (MOREIRA, 2007).

Os elementos como solo e vegetação são amplamente estudados entre os comprimentos de onda de 350 a 2500 nm através de sensores hiperespectrais (SIMS; GAMON, 2003; ROSSEL; CHEN, 2011), os quais normalmente apresentam resolução espectral de 10 nm (ASD, 1999). A resolução espectral é a feição espectral mais fina que pode ser determinada por um espectrorradiômetro (JENSEN, 2009). Essa alta resolução espectral dos sensores hiperespectrais proporciona a identificação de feições específicas do alvo, compondo sua assinatura espectral. Desse modo, é gerado um gráfico do conjunto de bandas espectrais estreitas e adjacentes que demonstram a medida da reflectância espectral do alvo (STEFFEN; MORAES; GAMA, 1996), como a assinatura espectral foliar exemplificada na Figura 1.

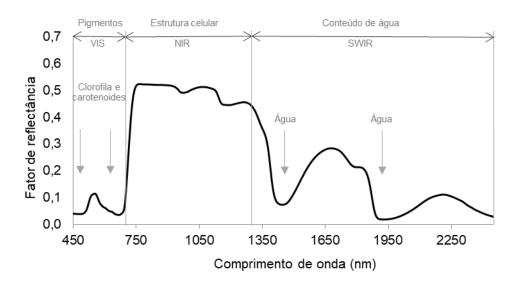


Figura 1. Curva característica de folha verde sadia, com a delimitação das regiões visível (VIS), infravermelho próximo (NIR) e infravermelho de ondas curtas (SWIR); e os respectivos componentes. As faixas de absorção de água, clorofila e carotenoides também estão demonstradas (adaptado de NOVO, 2010).

A região do visível (VIS) da curva espectral compreende os comprimentos de onda entre 350 e 700 nm, onde se encontram as faixas das cores primárias azul, vermelha e verde. Os comprimentos de onda dessa faixa espectral são intensamente absorvidos pelas plantas (Figura 1) principalmente pela grupo das clorofilas a e b, as quais apresentam absorção da energia eletromagnética no azul (próximo a 428 e 453 nm, respectivamente) e no vermelho (por volta de 661 e 642, respectivamente), como pode ser observado na Figura 2 (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001). Os carotenoides também promovem alta absorção na região do azul (entre 425 e 490 nm) e usualmente apresentam três picos entre 400 e 500 nm (NOBEL, 2009).

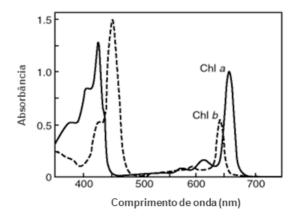


Figura 2. Feições de absorção da clorofila a (Chl a) e da clorofila b (Chl b). (Adaptado de Lichtenthaler; Buschmann, (2001)).

A faixa espectral entre 700 e 1300 nm é denominada infravermelho próximo (NIR), e é caracterizada por ser uma região na qual as folhas apresentam alta reflectância da radiação eletromagnética incidente. A interação das folhas com a radiação no infravermelho próximo acontece no mesófilo foliar, onde a radiação é espalhada, uma vez que sofre múltiplas reflexões e refrações por causa das diferenças de índice de refração entre o ar (1,0) e as paredes celulósicas hidratadas (1,4) (KNIPLING, 1970). Assim, variações da estrutura interna da folha causam alterações na reflectância na faixa de 750 a 1300 nm (GAUSMAN; ALLEN; CARDENAS, 1969)

Entre 680 e 750 nm, há uma região chamada de *red edge*, onde ocorre a maior inclinação no espectro da vegetação, a qual acontece pela transição da baixa reflectância na região vermelho e a alta reflectância no NIR (FILELLA; PENUELAS, 1994). Essa região apresenta correlações com a concentração de clorofila e carotenoides (GITELSON; KEYDAN; MERZLYAK, 2006; ASNER; MARTIN, 2008).

Entre os comprimentos de onda de 1300 a 2500 nm há a delimitação do infravermelho de ondas curtas (SWIR), onde a folha possui resposta espectral com reflectância bastante variável, o que está principalmente associado às características de absorção da água e outros componentes (PENUELAS; FILELLA, 1998). Esta região apresenta bandas de absorção de água bastante definidas com comprimentos de onda por volta de 1450, 1940 e 2500nm (CARTER, 1993).

A degradação foliar promove mudanças na assinatura espectral desse alvo em todas as regiões descritas anteriormente. A deterioração da clorofila, induzida pela senescência, promove um aumento de reflectância entre 550 e 740 nm, enquanto que na faixa de 400 a 500 nm ela pode permanecer baixa, devido à retenção de carotenoides, ou apresentar um aumento progressivo da refletância (MERZLYAK et al., 1999). A diminuição da concentração de clorofila também implica no deslocamento do *red edge* em direção aos menores comprimentos de onda (FILELLA; PENUELAS, 1994).

De acordo com Sinclair; Hoffer; Schreiber (1971), a reflectância no NIR aumenta ao longo da senescência foliar, por causa do aumento do espaço intercelular da folha. Já a desidratação foliar que ocorre na senescência promove aumento da reflectância no SWIR, pois a propriedade radiativa

da água promove a absorção de radiação, assim quando a água é perdida de uma folha, a absorção diminui e a refletância tende a aumentar nessa faixa espectral (CARTER, 1991).

O uso de sensores hiperespectrais foi realizado no monitoramento da degradação, ao longo dos dias de prateleira, de folhas de espinafre minimamente processadas (DIEZMA et al., 2013) e ao decorrer da maturação de morangos (ZHANG et al., 2016). Tais estudos também apresentaram a distinção de estágios de maturação/degradação pós-colheita desses alimentos, por análise multivariada aplicada às respostas espectrais.

2.2.2. Predição de pigmentos foliares pela espectroscopia

Normalmente a quantificação de pigmentos na pós-colheita de flores de corte é feita em laboratório com a extração química e uso de espectrofotômetro (VAN DOORN; HIBMA; WIT, 1992; EMONGOR; MUTUI; HUTCHINSON, 2000; MATAK; HASHEMABIDI; KAVIANI, 2017) ou por sensor SPAD (Konica Minolta) (KAZEMI; ARAN; ZAMANI, 2011; HATAMZADEH; REZVANYPOUR; HASSANPOUR ASIL, 2012) , o qual quantifica clorofila em unidades relativas que requerem calibração empírica (RAYMOND HUNT; DAUGHTRY, 2014). Em estudos pós-colheita de frutos, a predição de pigmentos sensores hiperespectrais também foram empregados na quantificação de pigmentos, como a antocianina do pericarpo de lichias durante 5 dias de armazenamento (YANG et al., 2015), e a clorofila do pêssego durante 4 dias pós-colheita (SUN et al., 2017).

Como as propriedades ópticas das folhas são diretamente impactadas pela composição dos pigmentos (FÉRET et al., 2017), a medição da reflectância foliar é uma solução não-destrutiva para quantificação e análise desses pigmentos (KIRA; LINKER; GITELSON, 2015). Essa alternativa tem importância para aplicações práticas de parâmetros biofísicos que possam ser aplicados com dinâmica temporal e variação espacial, já que as técnicas de laboratório apresentam restrição a tais aplicações por demandarem muito tempo e mão-de-obra, o que também as tornam dispendiosas (BLACKBURN, 2007).

Uma das abordagens utilizadas pelo sensoriamento remoto para a predição de concentrações dos pigmentos é o *data-driven*, o qual inclui modelos estatísticos univariados, derivados de índices espectrais, e modelos estatísticos multivariados (FÉRET et al., 2017). Dentre os modelos multivariados, há aqueles que utilizam uma abordagem de métodos de regressão não-paramétricos que utilizam uma fase de aprendizagem do modelo com os dados de treinamento e incluem coeficientes de ajuste para minimizar o erro da estimativa das variáveis extraídas, com a vantagem de poder usar todo o espectro de informação (VERRELST et al., 2015). Ainda segundo os mesmos autores, os modelos de regressão não-paramétricos do tipo linear apresentam alta performance e facilidade; e dentre eles se encontra a técnica de regressão de mínimos quadrados parciais (PLSR), a qual é amplamente empregada para determinação de parâmetros bioquímicos da vegetação, como na predição de clorofila (DARVISHZADEH et al., 2008; CARVALHO et al., 2013; FEILHAUER; ASNER; MARTIN, 2015).

A estimativa do conteúdo de carotenoides foliares a partir da reflectância é muito mais difícil do que a estimativa da clorofila, devido à sobreposição entre os picos de absorção de clorofila e

carotenoides e à maior concentração de clorofila do que carotenoides na maioria das folhas (SIMS; GAMON, 2002). Assim, a estimativa da proporção de carotenoides em relação à clorofila (CAR/CLF) mostrou-se como uma alternativa bem-sucedida por meio dos índices PSRI (Plant Senescence Reflectance Index) (MERZLYAK et al., 1999) e PRI (Photochemical Reflectance Index) (GITELSON; GAMON; SOLOVCHENKO, 2017). O CAR/CLF é utilizado em estudos de degradação foliar, já que essa razão aumenta com a senescência e o estresse (SIMS; GAMON, 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

As análises do efeito dos tratamentos e do tempo na resposta espectral e da predição de pigmentos foram realizadas segundo as etapas descritas no fluxograma apresentado na Figura 3. Todo o delineamento experimental foi idealizado e faz parte do doutorado de Calaboni (2019).



Figura 3. Etapas das análises feitas no estudo, sendo que as duas primeiras etapas foram realizadas em parceria com o experimento de doutorado de Calaboni (2019).

3.1. Caracterização experimental

Foi utilizada a espécie Eustoma Grandiflorum var. Flare Deep Rose, a qual foi cultivada em ambiente protegido em área comercial no município de Holambra-SP. O clima da região é do tipo subtropical úmido (Cwa), segundo a classificação de Köppen-Geiger, com verão quente, úmido e inverno seco, com temperatura média inferior a 18°C no mês mais frio e superior a 22°C no mês mais quente (KOTTEK et al., 2006).

Foram desenvolvidos três experimentos entre os meses de julho de 2017 e setembro de 2017. Cada experimento foi realizado no decorrer de 12 dias, sendo que a cada quatro dias (4, 8 e 12 dias após o corte) foram coletadas folhas para as análises (Figura 4).

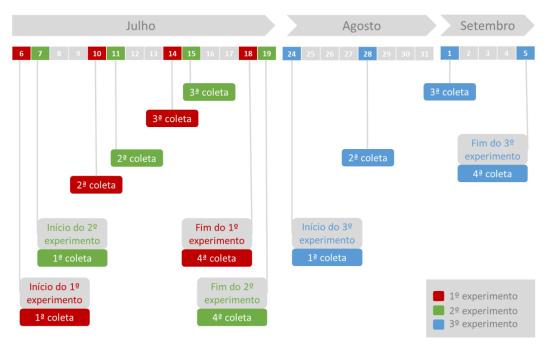


Figura 4. Cronograma das quatro coletas de folhas de cada um dos 3 experimentos.

3.2. Preparação das hastes florais e soluções pulsing

As hastes florais de lisianthus utilizadas foram selecionadas no momento em que apresentaram no mínimo duas flores abertas. No dia seguinte após a colheita, as hastes florais foram transportadas para o laboratório de fisiologia e bioquímica pós-colheita da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) em Piracicaba-SP. As plantas foram padronizadas com 50 cm de comprimento e tiveram suas folhas retiradas, quando estas se localizavam na faixa de 15 cm da extremidade inferior da haste. As hastes florais foram acondicionadas em câmaras de ambiente controlado com temperatura de 20 °C, umidade relativa de 90 % e com fotoperíodo de 12 horas.

O dia da chegada das hastes florais foi definido como o primeiro dia de coleta de dados de cada experimento, quando foram tomadas 12 hastes florais aleatoriamente, as quais caracterizaram o estado inicial das hastes florais antes da aplicação das soluções conservantes. Às demais hastes florais foram aplicadas, por 12 horas, soluções *pulsing* de acordo com os tratamentos apresentados na tabela 1, sendo elas: soluções de sacarose, glicose, ácido giberélico (GA3), ácido abiscísico (ABA), 6-benzilaminopurina (BAP), ou água destilada.

Tabela 1. Tratamentos aplicados em cada um dos experimentos, quais sejam: BAP (6-benzilaminopurina), GA₃ (ácido giberélico) e ABA (ácido abiscísico).

Tratamento	Experimento		
Tratamento -	1. Glicose	2. Sacarose	3. Hormônios
1	Controle (água destilada)	Controle (água destilada)	Controle (água destilada)

2	Solução 45 g/L de glicose	Solução 20 g/L de	Solução 70 µM de BAP
		sacarose	Solução 70 pivi de BAF
3	Solução 90 g/L de glicose	Solução 30 g/L de	Solução 5 μM de GA ₃
		sacarose	
4	Solução 180 g/L de	Solução 40 g/L de	Solução 15 μM de ABA
	glicose	sacarose	

Após a aplicação das soluções *pulsing*, as hastes florais permaneceram em recipientes contendo soluções de água destilada e germicida Startcolor® à base de dicloroisocianurato de sódio (0,2%), as quais foram substituídas a cada quatro dias. Em cada dia de coleta de folhas, utilizaram-se recipientes com três hastes florais únicas para compor cada parcela (Figura 5), totalizando 12 hastes florais em cada tratamento.



Figura 5. Recipientes separados em tratamentos e repetições em um dos dias de análise.

Os experimentos foram desenvolvidos no delineamento inteiramente casualizados, em esquema fatorial 4 x 3, sendo quatro diferentes soluções conservantes (Tabela 1) e três datas de avaliação (4, 8 e 12 dias após aplicação de solução). A coleta do primeiro dia foi feita de forma única somente para a caracterização do lote utilizado, e em cada um dos demais dias analisou-se 4 repetições, como apresentado na Figura 6.

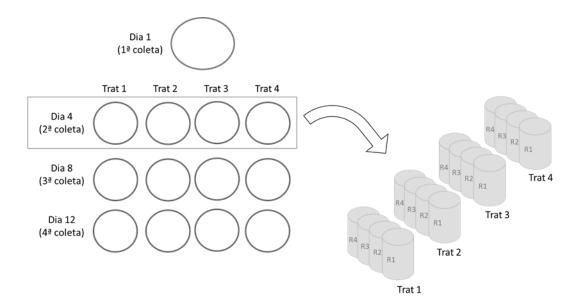


Figura 6. Ilustração de cada dia de coleta de dados únicos em cada tratamento com suas respectivas parcelas.

3.3. Coleta de folhas

Foram coletadas três folhas da região do terço médio de cada uma das hastes florais de cada parcela (Figura 7A), as quais foram acondicionadas em sacos plásticos identificados (Figura 7B) para que fossem transportadas ao laboratório de espectroscopia do departamento de solos (ESALQ/USP), em uma caixa térmica refrigerada (Figura 7C), a fim de manter a turgidez das folhas. As folhas coletadas em cada dia de análise apresentaram diferença visual em relação à umidade, como demonstrado na Figura 8 uma folha no primeiro dia de análise (Figura 8A) e no último dia (Figura 8B).

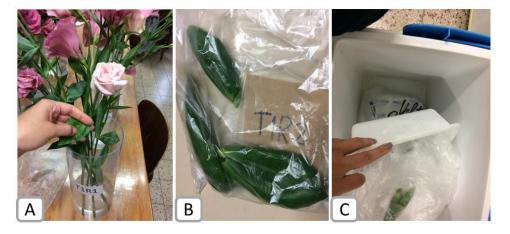


Figura 7. Coleta da folha nas hastes florais (A), acondicionamento das folhas em sacos plásticos identificados (B), e transporte dos sacos plásticos em caixa térmica com gelo (C).

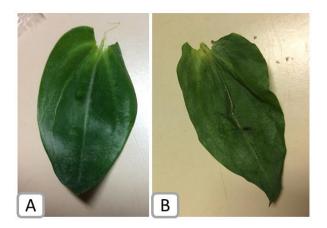


Figura 8. Exemplos de folhas coletadas no primeiro dia de análise (A) e no último dia de análise (B).

3.4. Obtenção de leituras espectrais

Para obtenção dos dados hiperespectrais foi utilizado o espectrorradiômetro FieldSpec3 (ASD – Analytical Spectral Devices Inc., Boulder, CO, USA) (Figura 9A), com o uso de um computador com o *software* RS³ da mesma empresa. O espectrorradiômetro coleta dados no espectro compreendido entre os comprimentos de onda de 350 a 2500 nm, abrangendo assim as regiões do visível, infravermelho próximo e faixa do infravermelho de ondas curtas, com resolução espectral de 3 nm na faixa de 350-1000 nm e de 10 nm entre 1000 e 2500 nm (ASD, 1999).



Figura 9. Aparelho *FieldSpec3* com o computador e o *leaf clip* (A); aquisição de dados da parte adaxial foliar por meio do *leaf clip*, em detalhe (B).

As leituras de cada lâmina foliar foram realizadas com auxílio do acessório *leaf clip* (ASD – Analytical Spectral Devices Inc., Boulder, CO, USA) à direita e à esquerda da nervura central da folha, obtendo-se sempre a leitura da parte adaxial foliar (em detalhe na Figura 9B). Esse acessório promove o isolamento da folha com fontes de energia externas para que o sensor faça leituras apenas com a luz de mesma intensidade promovida pelo *leaf clip*, e, adicionalmente, garante que a coleta de dados seja feita com um mesmo ângulo entre do sensor com o alvo, assegurando a qualidade e padronização dos dados. A cada 10 minutos de leituras de folhas foi feita uma otimização

e calibração do sensor a partir da placa *spectralon* (Labsphere Inc., North Sutton, NH, USA) já acoplada no *leaf clip*.

As curvas espectrais foram adquiridas em termos de reflectância utilizando o *software* ViewSpec Pro (ASD – Analytical Spectral Devices Inc., Boulder, CO, USA) e exportadas para o *software* Microsoft Excel. Foi realizado um pré-tratamento dos dados espectrais com a exclusão de respostas provocadas por ruídos nas extremidades das curvas espectrais, resultando assim em uma curva espectral de 450 a 2450 nm. Além disso, foi feita uma remoção de outliers por meio da análise de componentes principais (PCA) (MILLMIER et al., 2000) feita no software Unscrambler (versão 9.7).

3.5. Quantificação de pigmentos

Após a realização das leituras espectrais, as folhas coletadas de cada unidade experimental foram envolvidas por papel alumínio (Figura 10A) para posterior congelamento em nitrogênio líquido (Figura 10B) e manutenção em freezer a -20 °C. Em seguida, as amostras foram liofilizadas no liofilizador Liotop modelo L108 e maceradas em cadinho. Seguindo metodologia de Hiscox e Israelstam (1979) modificada, foram colocados em tubo de ensaio 3,0 mg de amostra foliar liofilizada juntamente com 5 mL do solvente dimetilsulfóxido (DMSO), e foram armazenados por 48 horas em ambiente sem luz, para a extração de clorofila. Após esses procedimentos, essa solução foi coletada (Figura 10C) e transferida para cubetas a fim de realizar as leituras no espectrofotômetro Biochron modelo libra S22 (Figura 10D). As clorofilas a e b foram analisadas a 665 nm e 649 nm, respectivamente, e os carotenoides em 433 nm. As quantificações dos pigmentos foram realizadas segundo Wellburn (1994), por meio das equações 1, 2, 3, 4 e 5, e a razão de carotenoides e clorofila total foi obtida por meio da equação 6.

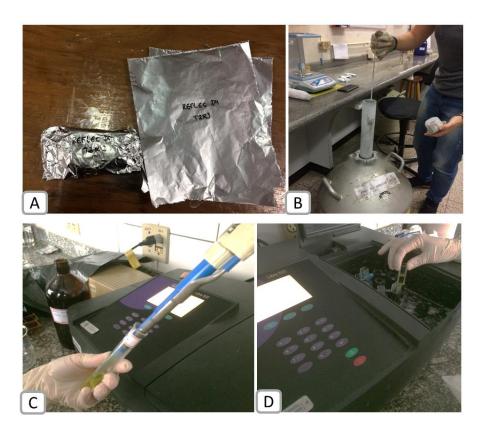


Figura 10. Folhas de cada unidade experimental envolvidas por papel alumínio devidamente identificado (A), folhas sendo congelado em nitrogênio líquido (B), extrato de clorofila das folhas sendo coletado depois de 48 horas em ambiente sem luz (C), extrato de clorofila em cubeta de vidro sendo colocado no espectrofotômetro.

$$C_a = 12,19 \times A_{665} - 3,45 \times A_{649}$$
 (Equação 1)

$$C_b = 21.99 \times A_{649} - 5.32 \times A_{665}$$
 (Equação 2)

$$CAR = \left\{ \frac{(1000 \times A_{433}) - (2,14 \times C_a) - (70,16 \times C_b)}{220} \right\}$$
 (Equação 3)

$$CLF = C_a + C_b$$
 (Equação 4)

$$F = \frac{(C_a \text{ ou } C_b \text{ ou CAR ou CLF}) \times {V_s/m}}{(1,1 \times 1000)}$$
 (Equação 5)

$$^{\text{CAR}}/_{\text{CLF}} = \frac{F_{\text{CAR}}}{F_{\text{CLF}}}$$
 (Equação 6)

Em que,

 C_a = clorofila a,

 C_b = clorofila b,

CAR = carotenoides,

A₆₆₅ = Absorbância aos 665 nm,

A₆₄₉ = Absorbância aos 649 nm,

 A_{433} = Absorbância aos 433 nm,

CLF = clorofila total,

F = valor final dos pigmentos em (mg/g),

 V_s = Volume do solvente DMSO (mL),

m = massa da amostra (g),

CAR/CLF = Razão de carotenoides por clorofila total.

3.6. Análises estatísticas

Os dados foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) para cada um dos comprimentos de onda do espectro estudado, como realizado por Carvalho et al. (2013), em função dos dias de análise e dos tratamentos em cada experimento. Quando significativos a 1% no teste de F, os dados espectrais foram analisados pelo teste de médias Tukey, a 1%.

Para o estudo da separação dos grupos em função das soluções conservantes ou dos dias de análise, foi realizada uma análise discriminante linear (LDA). Essa análise obtém combinações lineares das variáveis independentes dos grupos já definidos anteriormente, a fim de obter a maior discriminação, a qual é alcançada por meio da maximização da relação entre a distância entre os grupos e a distância dentro do grupo (GARRIDO-NOVELL et al., 2012). Para avaliar o potencial de separação dos grupos obtido pela LDA, os centroides dos grupos foram obtidos e uma ANOVA seguida do teste de Tukey a 5% foi aplicada a tais valores (BARROS, 2016), sendo que os centroides são valores médios dos *scores* discriminantes (DIAS et al., 2014). Tais análises estatísticas foram realizadas no ambiente R (versão 3.4.3).

3.6.1. Predição de pigmentos

Os dados espectrais e bioquímicos obtidos do experimento 1, 2 e 3, como demonstrados no item 4.1.4, foram utilizados na predição da clorofila e da razão CAR/CLF. Essa quantificação foi feita por meio do PLSR no software Unscrambler (versão 9.7), com validação cruzada *leave-one-out* (LOOCV). O método LOOCV é baseado no uso de uma única observação na validação do modelo, enquanto as demais são usadas como dados de treinamento, e esse processo se repete usando cada um das observações como conjunto de validação (NEVALAINEN et al., 2014).

O método PLSR é usado para encontrar os hiperplanos de variância máxima entre variáveis previsíveis e observáveis e desenvolve um modelo linear ($Y = X\beta + \epsilon$) projetando o vetor de variáveis previsíveis (Y, que nesse estudo é o CLF ou CAR/CLF) e matriz de variáveis observáveis (X, que nesse estudo é a reflectância espectral) para um novo espaço; obtendo assim a matriz de regressão

coeficientes (β) e a matriz de erro da relação entre X e Y (ε) (GELADI; KOWALSKI, 1986 apud ZHAI et al., 2013).

Para avaliar a precisão da regressão, utilizou-se o coeficiente de determinação (R²), o qual é frequentemente usado na literatura, e a raiz quadrada do erro médio relativo (RRMSE) (Equação 8), que não é influenciado pela dimensionalidade dos dados e é menos sensível aos *outliers* (RICHTER et al., 2012).

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \times \sum_{i=1}^{n} (Pi - Oi)^2}$$
 (Equação 7)

$$RRMSE = (RMSE/MO_i) \times 100$$
 (Equação 8)

Em que,

RMSE = raiz quadrada do erro médio

Pi = os valores estimados pelo modelo,

Oi = os teores de clorofila obtidos em laboratório,

n = número de observações utilizadas no modelo,

Moi = Média dos teores de clorofila obtidos em laboratório.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Efeito dos tratamentos na curva espectral

4.1.1. Análise descritiva

As respostas espectrais de cada tratamento nos três dias de análises estão apresentadas nas Figuras 11, 12 e 13, dos experimentos 1, 2 e 3, respectivamente. Além disso, também é demonstrado o teste estatístico de Tukey a 1% de probabilidade para cada comprimento de onda, sendo que cada ponto demonstra que os tratamentos em questão diferiram estatisticamente.

Como mencionado anteriormente, o aumento da reflectância na região visível sugere menor concentração de pigmentos (MERZLYAK et al., 1999), o deslocamento do *red edge* em direção aos menores comprimentos de onda expressa menor teor de clorofila (FILELLA; PENUELAS, 1994), no IVP o aumento da reflectância indica maior senescência da estrutura foliar (SINCLAIR; HOFFER; SCHREIBER, 1971) e no SWIR representa menor turgescência foliar (CARTER, 1991). Assim, espera-se analisar soluções conservantes que apresentaram maior ou menor conservação foliar a partir da reflectância.

No primeiro experimento (Figura 11), o quarto dia apresentou uma maior diferenciação ao longo da curva, a qual foi apresentada principalmente ao longo da região do IVP e parte do SWIR. No 8º dia os tratamentos foram similares, e já no 12º dia eles se diferenciaram principalmente nas regiões do azul, vermelho e IVP.

No 4º dia do primeiro experimento (Figura 11A), a solução de 90 g/L foi a que apresentou a maior reflectância em toda a curva espectral. Assim, pode-se inferir que a aplicação desta solução implicou em pior conservação foliar no dia analisado. No entanto, o tratamento que se mostrou com valores de reflectância significativamente menores, foi o tratamento de 180 g/L de glicose, seguido do tratamento controle, indicando portanto que elas foram as soluções que demonstraram folhas mais conservadas inicialmente.

Já no 8º dia, os tratamentos apresentaram reflectâncias estatisticamente iguais, porém houve uma diferenciação na região azul (450 a 500 nm) entre a solução *pulsing* de 180 g/L de glicose e a controle, como pode ser observado na Figura 11B. Tal diferença sugere que esse tratamento de glicose apresentou uma menor concentração de pigmentos com a sua alta reflectância, já que essa região é caracterizada pela absorção de clorofila b e carotenoides (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001; NOBEL, 2009), tal fato já pode evidenciar uma pequena degradação desses pigmentos no referido tratamento em comparação ao demais.

No último dia de análise do primeiro experimento, 12º dia (Figura 11C), o tratamento que apresentou a curva espectral com menor reflectância foi a solução de 45 g/L de glicose, sugerindo folhas mais conservadas, seguido da solução de 180 g/L. Na solução controle observou-se pior conservação foliar, uma vez que esse tratamento apresentou reflectância estatisticamente maior em toda a curva espectral.

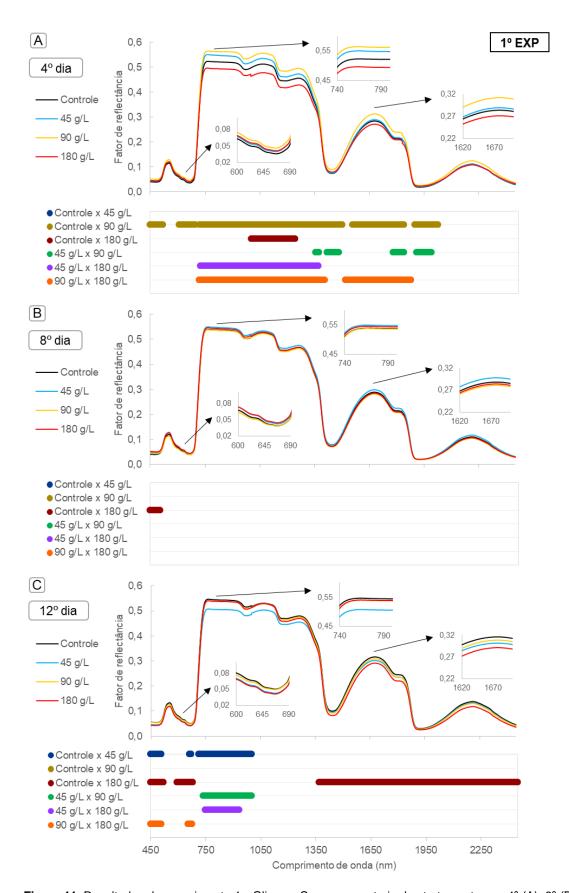


Figura 11. Resultados do experimento 1 - Glicose. Curvas espectrais dos tratamentos no 4º (A), 8º (B) e 12º (C) dia de análise. Tais curvas apresentam as regiões de 600 a 690 nm, 740 a 800 nm e 1620 a 1700 nm em detalhe. O gráfico abaixo das curvas espectrais representa o teste de Tukey a 1% de significância entre todos os tratamentos, analisada dois a dois, nos dias de análise, sendo que cada ponto representa que o par de tratamentos analisado se difere estatisticamente.

No segundo experimento (Figura 12), a solução controle e as diferentes concentrações de sacarose foram estatisticamente similares em quase todos os dias de análise, apresentando somente diferenciação em partes do VIS e SWIR no 12º dia.

No 4º de análise do segundo experimento (Figura 12A), foi observado que todos os tratamentos apresentaram conservação das folhas de forma semelhante, visto que não houve diferença estatística entre as reflectâncias de nenhuma das soluções aplicadas. No 8º dia (Figura 12B) só houve diferença significativa entre o tratamento de 30 g/L e o de 40 g/L na região do red edge, onde a curva espectral da solução de 40 g/L apresentou um maior deslocamento para os comprimentos de onda maiores, ou seja, mais inclinado para a direita, sugerindo assim que esse tratamento possa ter maior concentração de clorofila que a solução de 30 g/L de sacarose (FILELLA; PENUELAS, 1994).

No 12º dia do segundo experimento, as curvas espectrais mostraram (Figura 12C) que o controle promoveu a pior conservação em relação à manutenção de pigmentos e turgescência, uma vez que apresentou reflectância estatisticamente maior no SWIR que os tratamentos de 20 e 30 g/L (CARTER, 1991), e no VIS quando comparado com 30 e 40 g/L (MERZLYAK et al., 1999), isso é um indicativo de uma maior degradação da planta nessa solução. Já as soluções de sacarose proporcionaram conservação similar, posto que apresentaram de um modo geral reflectâncias significativamente iguais. Pode-se sugerir que as soluções de sacarose podem ser sim melhores para a conservação do que a solução controle, sendo que a sacarose pode promover balanço hídrico da haste floral, além de desacelerar a degradação de clorofila (ELHINDI, 2012), o que está de acordo com o que foi obtido nas curvas espectrais. A Figura 12C apresentou diferença entre os tratamentos de 20 e 40 g/L somente no *red edge*, visto que a solução de 40 g/L apresentou maior inclinação para direita que o tratamento de 20 g/L, indicando maior teor de clorofila (FILELLA; PENUELAS, 1994).

No terceiro experimento (Figura 13) foram utilizados os fitormônios e a solução controle. As respostas espectrais de cada um dos tratamentos, de forma geral, não diferiram estatisticamente em todos os dias de análise (Figura 13A e 13B). Porém, no 12º dia (Figura 13C) houve diferença da solução ABA com a BAP e a controle na região de 1950 nm, em que o ABA apresentou reflectância estatisticamente menor, sugerindo uma maior turgescência foliar (CARTER, 1991), o que pode ser explicado pela melhoria de funcionalidade dos estômatos promovida pelo ABA (WOLTERING; PAILLART, 2018).

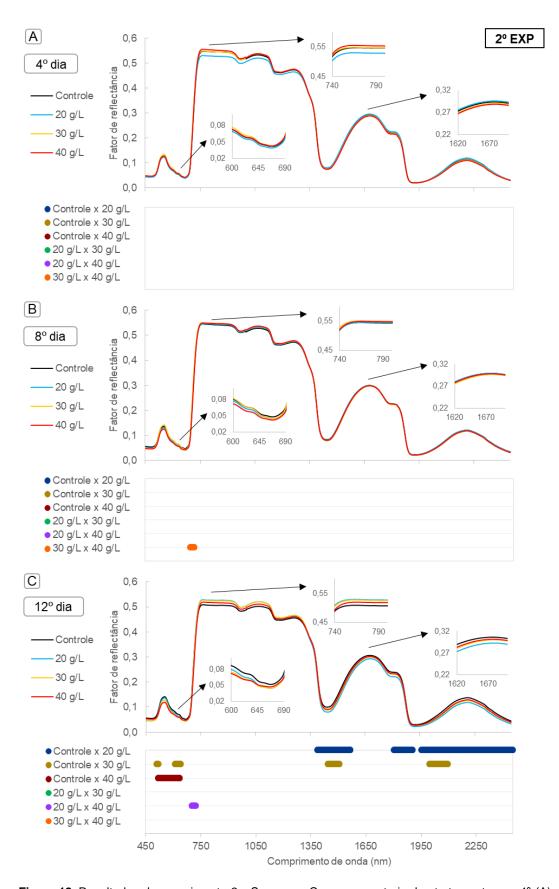


Figura 12. Resultados do experimento 2 - Sacarose. Curvas espectrais dos tratamentos no 4º (A), 8º (B) e 12º (C) dia de análise. Tais curvas apresentam as regiões de 600 a 690 nm, 740 a 800 nm e 1620 a 1700 nm em detalhe. O gráfico abaixo das curvas espectrais representa o teste de Tukey a 1% de significância entre todos os tratamentos, analisada dois a dois, nos dias de análise; sendo que cada ponto representa que o par de tratamentos analisado se difere estatisticamente.

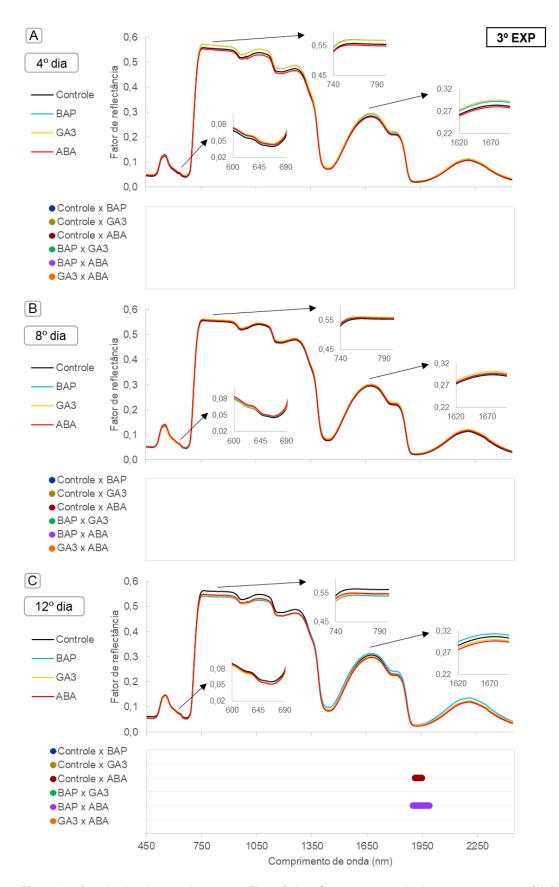


Figura 13. Resultados do experimento 3 - Fitormônios. Curvas espectrais dos tratamentos no 4º (A), 8º (B) e 12º (C) dia de análise. Tais curvas apresentam as regiões de 600 a 690 nm, 740 a 800 nm e 1620 a 1700 nm em detalhe. O gráfico abaixo das curvas espectrais representa o teste de Tukey a 1% de significância entre todos os tratamentos, analisados dois a dois; sendo que cada ponto representa que o par de tratamentos analisado se difere estatisticamente.

4.1.2. Análise discriminante

Os gráficos da análise discriminante de cada dia de análise dos três experimentos estão apresentados nas Figura 14, 15 e 16; onde cada ponto deste gráfico corresponde à projeção de cada curva espectral no espaço discriminativo bidimensional abrangido pelos vetores discriminantes (DIEZMA et al., 2013). Nestas figuras também estão apresentadas o teste de tukey dos centroides da primeira e segunda função discriminante (LD1 e LD2, nessa ordem), com seus respectivos loadings. A variação dos dados foi explicada pelo LD1 juntamente com LD2 nos dias 4, 8 e 12, em 93,94%, 89,27% e 84,71% no primeiro experimento; 82,91%, 76,14% e 79,07% no segundo experimento; e 74,11%, 83,46% e 82,55% no terceiro experimento.

No experimento 1 (Figura 14), a solução de 90 g/L de glicose somente apresentou resposta espectral significamente diferente no 12º dia de análise, nas duas equações discriminantes. Já o tratamento controle foi diferenciado das soluções de glicose em quase todas as equações discriminantes dos três dias de análise, exceto no LD2 do 8º dia, demonstrando assim que a resposta espectral do tratamento controle foi característica. Os tratamentos de 45 e 180 g/L apresentaram aglomeração no último dia de análise, já que os centroides desses tratamentos foram significamente iguais nas duas equações discriminantes.

No experimento 2 (Figura 15), os tratamentos controle e 40 g/L de sacarose foram discriminados pelo LD1 e LD2 do 8º e 12º dias de análise, sendo que só foram significamente iguais no 4º dia. Já as soluções de 20 e 30 g/L apresentaram comportamento oposto, sendo estatiscamente iguais em quase todas as equações discriminantes do 8º e 12º dias, diferenciando totalmente somente no 4º dia.

No experimento 3 (Figura 16), o tratamento controle foi estatisticamente diferente de todos os tratamentos em todo o experimento. Os centroides do BAP e do GA₃ foram significamente iguais no LD2 de todos os dias de análise. No LD1 do 4º e 8º dias, os centroides de todos os tratamentos foram estatisticamente diferentes; e já no 12º dia, o BAP apresentou similaridade no LD1 e no LD2 com as soluções ABA e GA₃, respectivamente.

Os *loadings* de todos os experimentos apresentaram maiores valores nas regiões do VIS, principalmente no azul e vermelho, e na SWIR, principalmente por volta dos comprimentos de onda 1950 e 2450 nm. Este resultado sugere que a diferenciação dos dias de análise foi influenciada principalmente pela concentração de pigmentos, já que as regiões características de absorção de clorofila e carotenoides são no vermelho e azul (GITELSON; MERZLYAK, 1994), e pela turgescência foliar, sendo as regiões mais sensíveis à variação de umidade são as bandas de absorção de água que incluem 1940 e 2500 nm (CARTER, 1991).

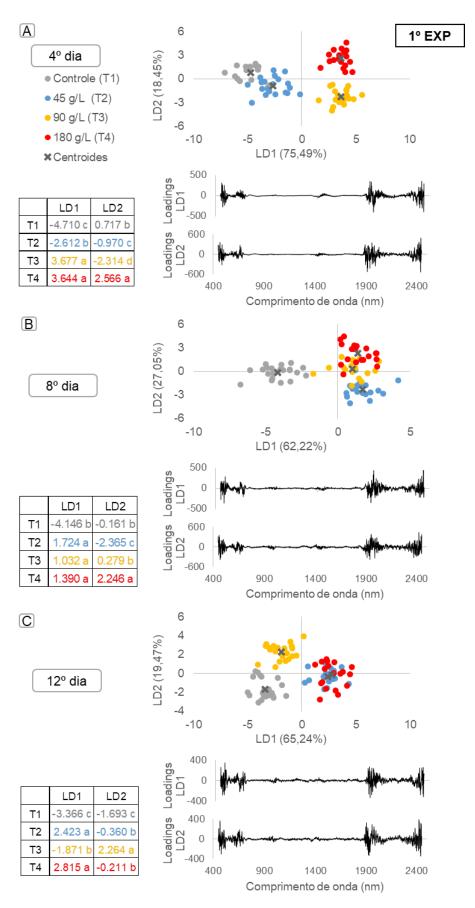


Figura 14. Análise discriminante do primeiro experimento – Glicose. Os gráficos da primeira e segunda equação discriminante (LD1 e LD2, respectivamente) com seus *loadings* e os centroides de cada tratamento para o 4º(A), 8º(B) e 12º (C) dia de análise.

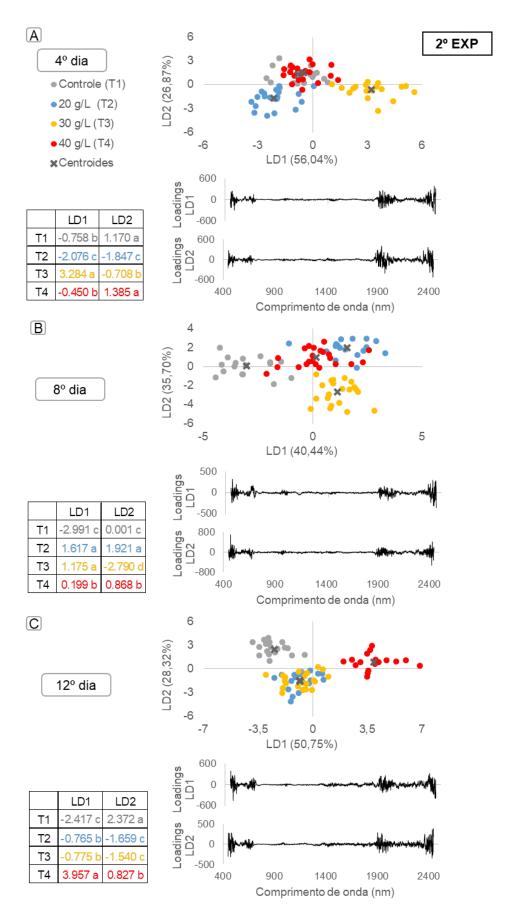


Figura 15. Análise discriminante do segundo experimento – Sacarose. Os gráficos da primeira e segunda equação discriminante (LD1 e LD2, respectivamente) com seus *loadings* e os centroides de cada tratamento para o 4°(A), 8°(B) e 12° (C) dia de análise.

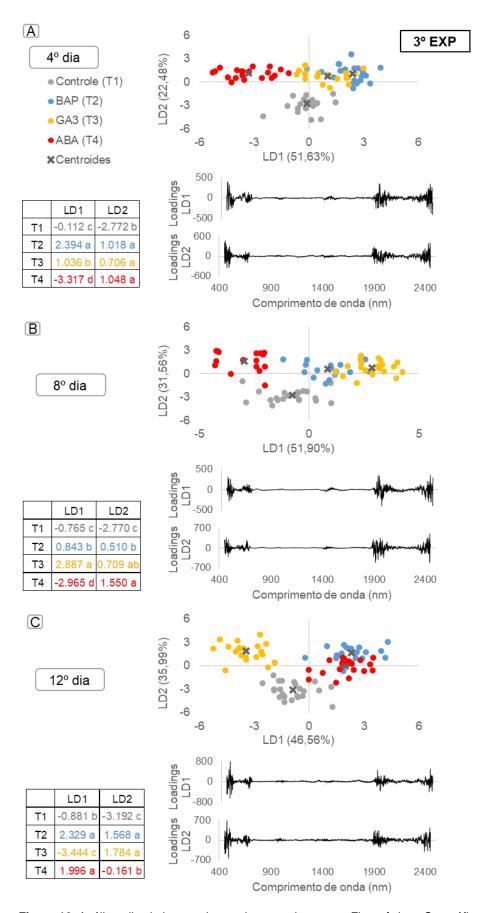


Figura 16. Análise discriminante do teceiro experimento – Fitormônios. Os gráficos da primeira e segunda equação discriminante (LD1 e LD2, respectivamente) com seus *loadings* e os centroides de cada tratamento para o 4°(A), 8°(B) e 12° (C) dia de análise.

4.2. Efeito do tempo na curva espectral

4.2.1. Análise descritiva

Na Figura 17 é apresentada a análise de cada tratamento ao longo dos dias após a aplicação da solução, para o primeiro experimento. Foi observado que a solução controle apresentou diminuição de pigmentos e de turgescência no 12º dia, a partir da maior reflectância significativa na região VIS e SWIR (CARTER, 1991; MERZLYAK et al., 1999) (Figura 17A). A solução de 45 g/L de glicose apresentou uma maior senescência da estrutura foliar e menor turgescência no 12º dia, indicado pela reflectância estatisticamente menor desse dia na região NIR e maior na SWIR (Figura 17B) (CARTER, 1991; SINCLAIR; HOFFER; SCHREIBER, 1971).

A solução de 90 g/L, do primeiro experimento, apresentou aumento da turgescência e menor senescência da estrutura foliar no oitavo dia, visto que a reflectância diminuiu no NIR e SWIR do quarto para o oitavo dia (CARTER, 1991; SINCLAIR; HOFFER; SCHREIBER, 1971); porém sugere-se que essa umidade decresceu, juntamente com a concentração de pigmentos, no último dia de análise, já que a reflectância aumentou no VIS e SWIR em relação ao oitavo dia (Figura 17C) (CARTER, 1991; MERZLYAK et al., 1999). No tratamento de 180 g/L houve a manutenção das concentrações de pigmentos e turgescência, porém a senescência da estrutura foliar foi apresentada a partir do 8º dia, a partir do aumento da reflectância em relação ao quarto dia (Figura 17D)(SINCLAIR; HOFFER; SCHREIBER, 1971). Assim, pode-se inferir que a solução de 180 g/L apresentou melhor manutenção foliar nesse experimento, sendo que isso pode ter ocorrido pois os açúcares fornecem substratos para a respiração e promovem a manutenção de um balanço hídrico adequado (PUN; ICHIMURA, 2003).

No segundo experimento (Figura 18), a solução controle proporcionou a diminuição dos pigmentos do 4º para o 12º dia de análise, uma vez que a reflectância aumentou significativamente no VIS (MERZLYAK et al., 1999), além da diminuição da turgescência no último dia de análise, posto que a houve o aumento significativo da reflectância nesse dia (Figura 18A) (CARTER, 1991). Os tratamentos 20 e 30 g/L de sacarose promoveram conservação das folhas, já que as respostas espectrais dos três dias de análise foram estatisticamente iguais em cada um dos tratamentos (Figuras 18B e 18C), porém a solução de 30 g/L mostrou alguns indícios de diminuição da turgescência do 4º para o 12º dia de análise, visto que a reflectância aumentou nas regiões de 1950 e 2450 nm do SWIR (CARTER, 1991).

Já o tratamento de 40 g/L, do segundo experimento, manteve as concentrações dos pigmentos e a senescência estrutural da folha, porém a reflectância apresentou valores estatisticamente menores no SWIR do 12º em relação ao 4º dia (Figura 18D), sugerindo diminuição de água na folha (CARTER, 1991). Assim, a sacarose promoveu turgescência e manutenção de pigmentos foliares, sendo a solução de 20 o melhor tratamento, uma vez que implicou em maior conservação foliar, verificado espectralmente. Esse resultado corrobora os demais encontrados na literatura, nos quais foi constatado que o uso soluções de sacarose promoveram aumento do tempo pós-colheita nas hastes florais de lisianthus (CHUANG; CHANG, 2013; HUANG; CHEN, 2002).

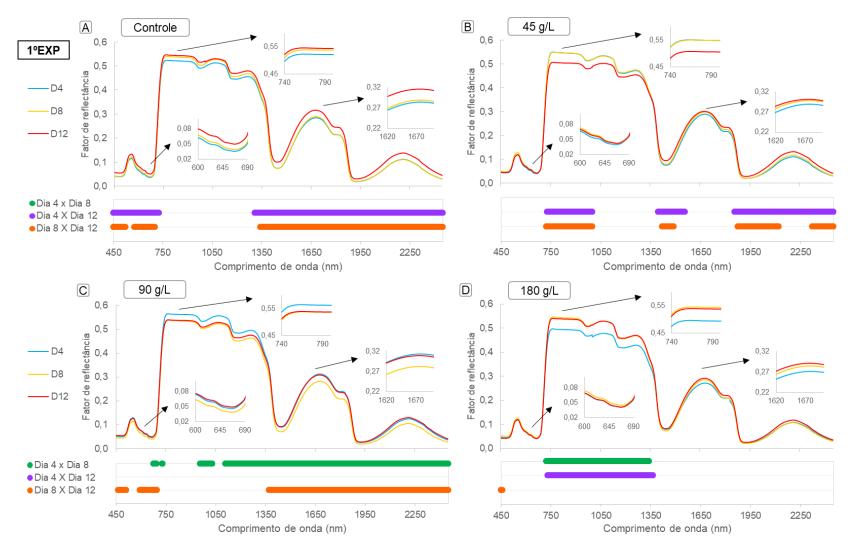


Figura 17. Curvas espectrais, ao longo dos dias de análise, dos tratamentos controle (A), 45 g/L de glicose (B), 90 g/L de glicose (C) e 180 g/L de glicose (D). Tais curvas apresentam as regiões de 600 a 690 nm, 740 a 800 nm e 1620 a 1700 nm em detalhe. O gráfico abaixo das curvas espectrais representa o teste de Tukey a 1% de significância entre o 4º, 8º e 12º dia de análise, testados dois a dois, dos tratamentos; sendo que cada ponto representa que o par de dias de análise se difere estatisticamente.

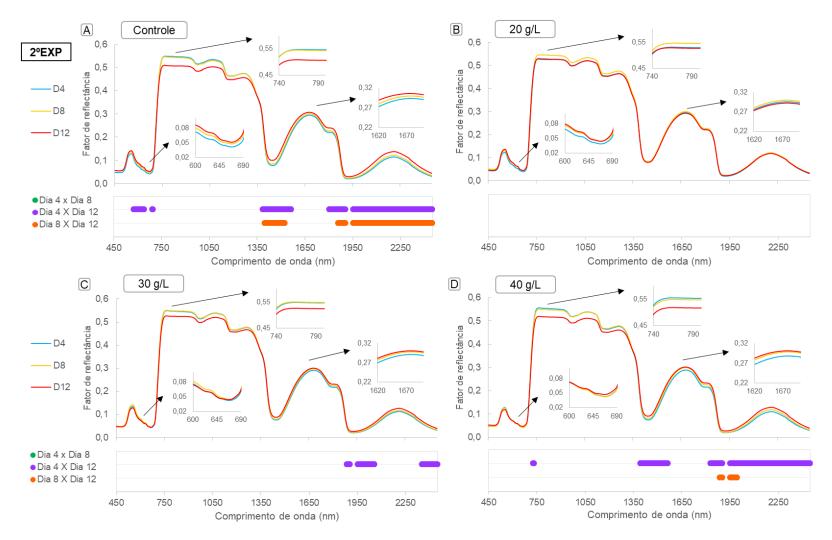


Figura 18. Curvas espectrais, ao longo dos dias de análise, dos tratamentos controle (A), 45 g/L de glicose (B), 90 g/L de glicose (C) e 180 g/L de glicose (D). Tais curvas apresentam as regiões de 600 a 690 nm, 740 a 800 nm e 1620 a 1700 nm em detalhe. O gráfico abaixo das curvas espectrais representa o teste de Tukey a 1% de significância entre o 4º, 8º e 12º dia de análise, testados dois a dois, para cada tratamento; sendo que cada ponto representa que o par de dias de análise se difere estatisticamente.

No terceiro experimento (Figura 19), foi observado que a solução controle apresentou diminuição de pigmentos e indícios de diminuição da umidade foliar no 12º dia de análise, já que nesse dia a curva espectral foi significativamente maior nas regiões azul e vermelho do VIS e na região de 1940 nm do SWIR (Figura 19A) (CARTER, 1991; MERZLYAK et al., 1999). O BAP também apresentou indícios de diminuição de umidade foliar no 12º dia, com aumento significativo da reflectância em 1940 nm (CARTER, 1991); apesar disso, esse fitormônio apresentou valores de reflectância estatisticamente menores do 4º para o último dia de análise, sugerindo menor senescência da estrutura foliar (Figura 19B) (SINCLAIR; HOFFER; SCHREIBER, 1971).

O ABA, no terceiro experimento, proporcionou conservação das folhas, apresentando apenas indícios de menor concentração de pigmentos, com uma reflectância significativamente maior na região vermelho (MERZLYAK et al., 1999), do 12º dia quando comparado ao do 4º dia (Figura 19C). Pode-se inferir que o tratamento GA₃ foi o melhor tratamento desse experimento, já que ele apresentou a maior manutenção foliar, pois não mostrou diferenças significativas entre os dias de análise para toda a curva espectral (Figura 19D). O GA₃ também apresentou manutenção de clorofila nas folhas de *Alstroemeria pelegrina L.* (VAN DOORN; HIBMA; WIT, 1992) e de *Narcissus tazetta var. chinensis* (ICHIMURA; GOTO, 2000), e aumentou o tempo pós-colheita das folhas de corte *Zantedeschia aethiopica* (SKUTNIK et al., 2001).

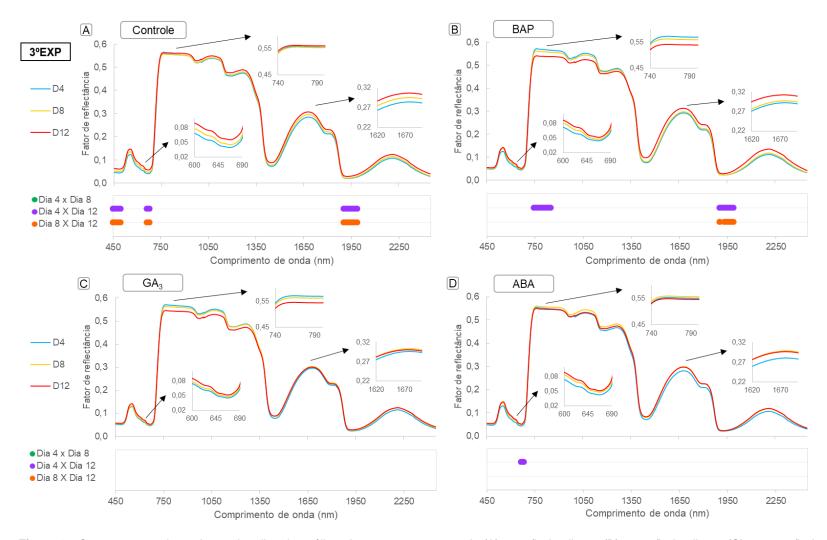


Figura 19. Curvas espectrais, ao longo dos dias de análise, dos tratamentos controle (A), 45 g/L de glicose (B), 90 g/L de glicose (C) e 180 g/L de glicose (D). Tais curvas apresentam as regiões de 600 a 690 nm, 740 a 800 nm e 1620 a 1700 nm em detalhe. O gráfico abaixo das curvas espectrais representa o teste de Tukey a 1% de significância entre o 4º, 8º e 12º dia de análise, testados dois a dois, para cada tratamento; sendo que cada ponto representa que o par de dias de análise se difere estatisticamente.

4.2.2. Análise discriminante

Na análise discriminante do experimento 1 (Figura 20), foi observado que os três dias de análise foram separados nos tratamentos controle, 45 e 90 g/L; uma vez que os centroides desses dias foram estatisticamente diferentes. Já a solução de 180 g/L de glicose não diferenciou os dias 8 e 12 no LD1.

No segundo experimento (Figura 21), foi demonstrado na análise discriminante que o tratamento controle foi tão eficaz quanto o tratamento de 40 g/L de sacarose na diferenciação dos dias de análise, já que as duas soluções promoveram somente a aglomeração do 4º e 12º dia no LD2, e a diferenciação dos dias no LD1. No tratamento de 20 g/L de sacarose os dias 4 e 8 foram significativamente iguais no LD1, mas os três dias foram separados no LD2. Já a solução de 30 g/L de sacarose promoveu a diferenciação total dos dias de análise nas duas funções discriminantes.

As análises discriminantes dos dias de análise do experimento 3 apresentaram semelhança entre as soluções controle, GA₃ e ABA; as quais aglomeraram os dias 4 e 12 no LD2, e diferiram os dias no LD1 (Figura 22). Já o tratamento BAP apresentou a discriminação dos três dias de análise, visto que seus centroides foram estatisticamente diferentes tanto no LD1 quanto no LD2.

Os loadings de todos os experimentos apresentaram maiores valores nas regiões azul e vermelho do VIS, e por volta de 1950 e 2450 nm no SWIR. Esse mesmo comportamento também foi encontrado nos loadings da análise discriminante dos tratamentos em cada dia de análise, reforçando, assim, que essa análise promoveu a separação dos tratamentos ou dos dias em função dos pigmentos e umidade foliar (CARTER, 1991; MERZLYAK et al., 1999).

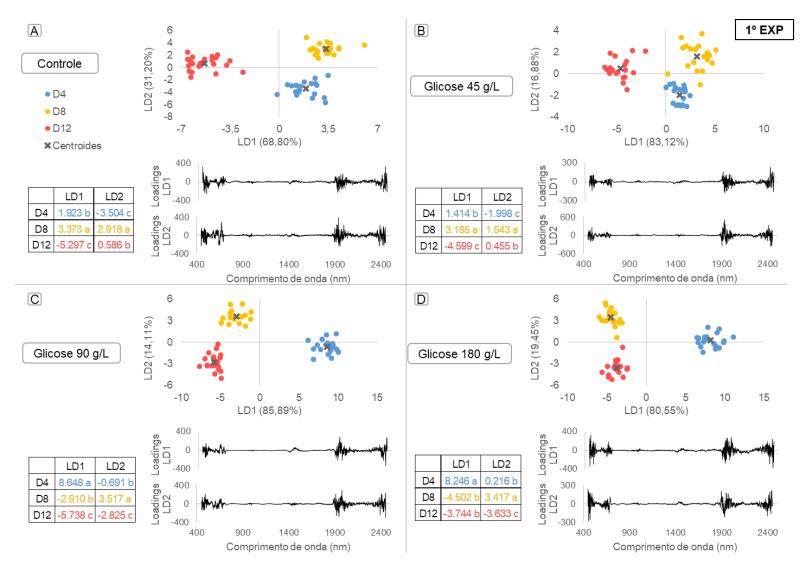


Figura 20. Análise discriminante do primeiro experimento – Glicose. Os gráficos da primeira e segunda equação discriminante (LD1 e LD2, respectivamente) com seus *loadings* para os tratamentos controle (A), 45 g/L (B), 90 g/L (C) e 180 g/L (D) de glicose. No quadro mostra o teste de Tukey a 5% de probabilidade dos valores de LD1 e LD2 dos centroides de cada dia de análise, onde as médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si.

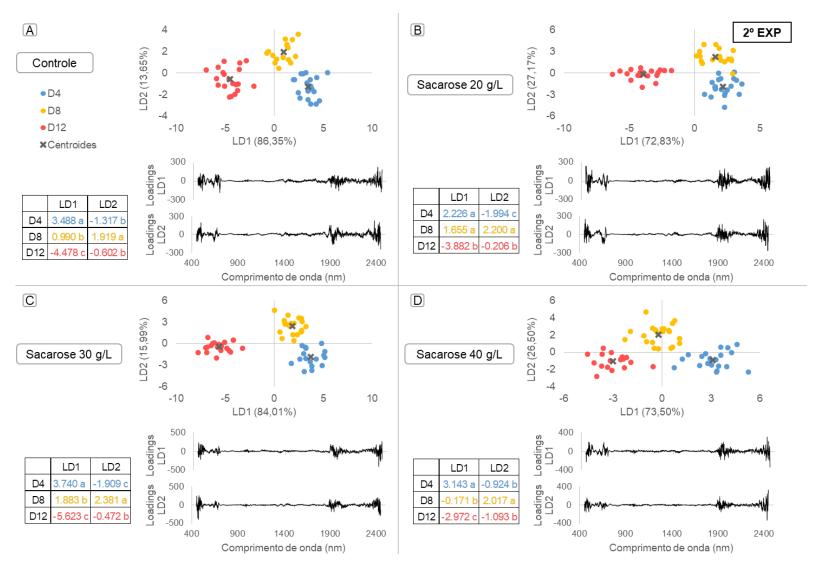


Figura 21. Análise discriminante do segundo experimento – Sacarose. Os gráficos da primeira e segunda equação discriminante (LD1 e LD2, respectivamente) com seus *loadings* para os tratamentos controle (A), 20 g/L (B), 30 g/L (C) e 40 g/L (D) de sacarose. No quadro mostra o teste de Tukey a 5% de probabilidade dos valores de LD1 e LD2 dos centroides de cada dia de análise, onde as médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si.

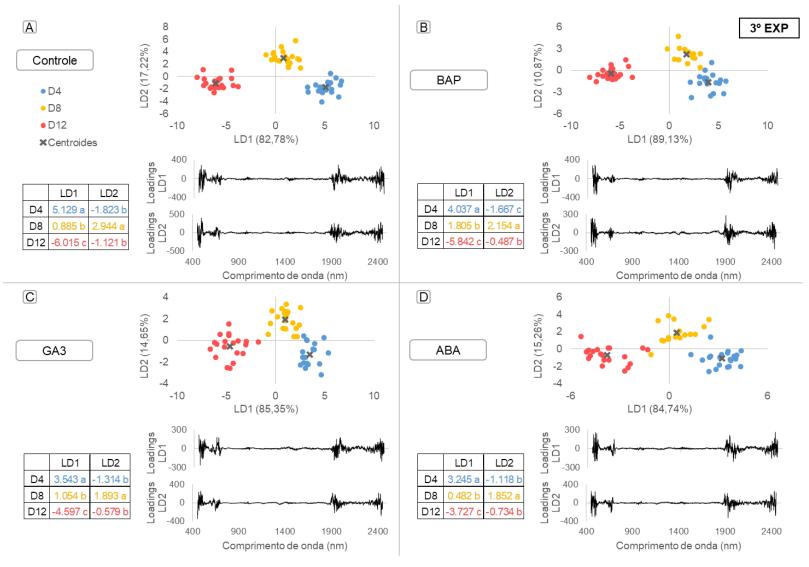


Figura 22. Análise discriminante do terceiro experimento - Fitormônios. Gráficos da primeira e segunda equação discriminante (LD1 e LD2, respectivamente) com seus loadings para os tratamentos controle (A), BAP (B), GA3 (C) e ABA (D). No quadro mostra o teste de Tukey a 5% de probabilidade dos valores de LD1 e LD2 dos centroides médias letras de cada dia de análise, onde seguidas de diferentes colunas diferem entre as nas si.

4.3. Predição de clorofila e CAR/CLF

4.3.1. Clorofila

Dentre os três experimentos, o maior coeficiente de correlação (R²) foi obtido no segundo experimento com o valor de 0,0518 (Figura 23). O R² pode ser considerado razoável quando seu valor é acima de 0,6 (KALACSKA; LALONDE; MOORE, 2015); e, deste modo, os tratamentos apresentaram baixa correlação. Outros autores utilizaram PLSR com validação cruzada e conseguiram valores maiores como 0,38 (DARVISHZADEH et al., 2008) e 0,62 (CARVALHO et al., 2013). A regressão geral dos três experimentos juntos fez com que o R² diminuísse ainda mais, chegando ao valor de 0,0082. O RRMSE, dos experimentos 1, 2 e Geral, foi superior a 20%, o que significa que os erros foram maiores que 20% dos valores das concentrações de clorofila obtidas em laboratório. Porém, o experimento 3 obteve um bom RRMSE, já que se enquadra entre 10 a 20% (RICHTER et al., 2012).

No experimento 1, a região SWIR contribuiu com maiores valores absolutos de coeficientes para a predição de clorofila, principalmente por volta dos comprimentos de onda 1530, 1860 e 2130 nm (Figura 23A). No experimento 2 os maiores valores de coeficientes foram apresentados nas regiões NIR e SWIR, mais especificamente próximo de 780 a 940 nm, e 1530 nm (Figura 23B). No experimento 3, os coeficientes de regressão foram todos negativos e acompanharam a magnitude do fator de reflectância, apresentando assim os maiores valores na região NIR (Figura 23C). A regressão de todos os experimentos foi influenciada principalmente pela região SWIR, mais especificamente por volta de 1540 a 1600nm e 2100 a 2200nm (Figura 23D).

Com base nos resultados obtidos, a predição do teor de clorofila não foi satisfatória nos experimentos, já que as regressões apresentaram coeficientes de determinação irrisórios. Tal fato pode ter ocorrido, pelo fato dos coeficientes utilizados nas regressões terem maiores valores nos comprimentos de onda das regiões NIR e SWIR, as quais são comumente correlacionadas pela estrutura interna da folha (SINCLAIR; HOFFER; SCHREIBER, 1971) e teor de água (CARTER, 1991). Ao contrário do observado no presente trabalho, outros autores encontraram maiores coeficientes nas regiões do verde e *red edge* na predição de clorofila (FEILHAUER; ASNER; MARTIN, 2015; GITELSON; GRITZ; MERZLYAK, 2003).

Provavelmente, a dificuldade na predição de clorofila pode ter como uma das explicações as diferentes condições de umidade das folhas de cada dia de análise, que foram agrupadas para a predição de cada experimento. Tal consideração deve ser pontuada uma vez que a desidratação foliar pode influenciar no aumento da reflectância de toda a curva espectral de 400 a 2500 nm (CARTER, 1991).

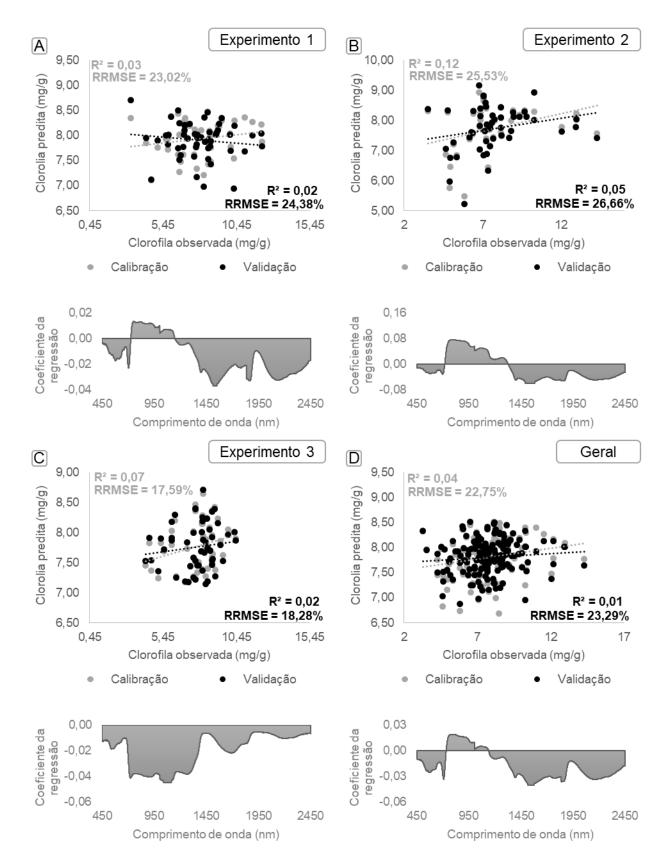


Figura 23. Resultados da predição de clorofila por PLSR (regressão de mínimos quadrados parciais) dos experimentos 1, 2 e 3 (A, B e C, respectivamente), e em todos os experimentos juntos (D), com os devidos coeficientes de regressão. R²: coeficiente de determinação, RRMSE: raiz quadrada do erro médio relativo.

4.3.2. Razão CAR/CLF

Na predição de CAR/CLF os valores de R² foram superiores (Figura 24), quando comparados à predição de clorofila (Figura 23). Os valores de R² foram razoáveis (KALACSKA; LALONDE; MOORE, 2015), superiores a 0,6, no 3º experimento e no geral. Já no 1º e 2º experimento, foram obtidos R² de 0,54 e 0,3, respectivamente, o que demonstra que nesses experimentos, 30 ou 54% da variação dos dados pode ser explicada pela equação. Gitelson; Gamon; Solovchenko (2017) obtiveram coeficiente de determinação de 0,73 para folhas de espécies arbóreas e 0,5 para culturas agrícolas, a partir do índice PRI. Já Merzlyak et al. (1999), conseguiram valores de R² de 0,92 e 0,90, para folhas de duas espécies arbóreas por meio do índice PSRI. Tais índices podem ter apresentado maiores valores que os encontrados no presente trabalho, pois essas análises foram realizadas logo após a coletada das folhas em campo, e não nas condições póscolheita. Em relação aos valores de RRMSE, eles podem ser classificados como excelentes para todas as regressões propostas, já que foram menores que 10% (RICHTER et al., 2012).

Os experimentos 1, 3 e o Geral (Figuras 24A, 24C e 24D) apresentaram altos valores de coeficientes na região do verde (por volta de 530, 522 e 524 nm, respectivamente). No experimento 2, a contribuição da região visível na equação da regressão múltipla foi na região do amarelo (entre 560 e 580 nm) (Figura 24B). As regiões verde e amarela também são utilizadas no índice PRI, o qual possui em sua equação os comprimentos de onda 531 e 570 nm (GAMON; PENUELAS, 1992). A região do *red edge* apresentou influência em todas as regressões múltiplas propostas, sendo que os experimentos 1, 2, 3 e geral apresentaram valores altos de coeficientes em torno dos comprimentos de onda 707, 708, 685 e 690 nm, respectivamente. Gitelson; Keydan; Merzlyak (2006) e Asner; Martin (2008) também observaram que as regiões do verde e do *red edge* podem ser utilizadas na predição de clorofila e carotenoides.

A região NIR também influenciou nas regressões dos experimentos 2 e 3, visto que o experimento 2 apresentou coeficientes altos de 770 a 900 nm e no experimento 3 a contribuição foi nas regiões de 763 a 780 nm e 980 a 1000 nm. A região NIR normalmente é influenciada pela estrutura interna foliar (SINCLAIR; HOFFER; SCHREIBER, 1971), sendo assim, inesperada a influência dessa região para a predição da razão de pigmentos. Deste modo, a influência de uma grande faixa de coeficientes no NIR pode ter proporcionado menor valor de coeficiente de determinação e o maior RRMSE no 2º experimento.

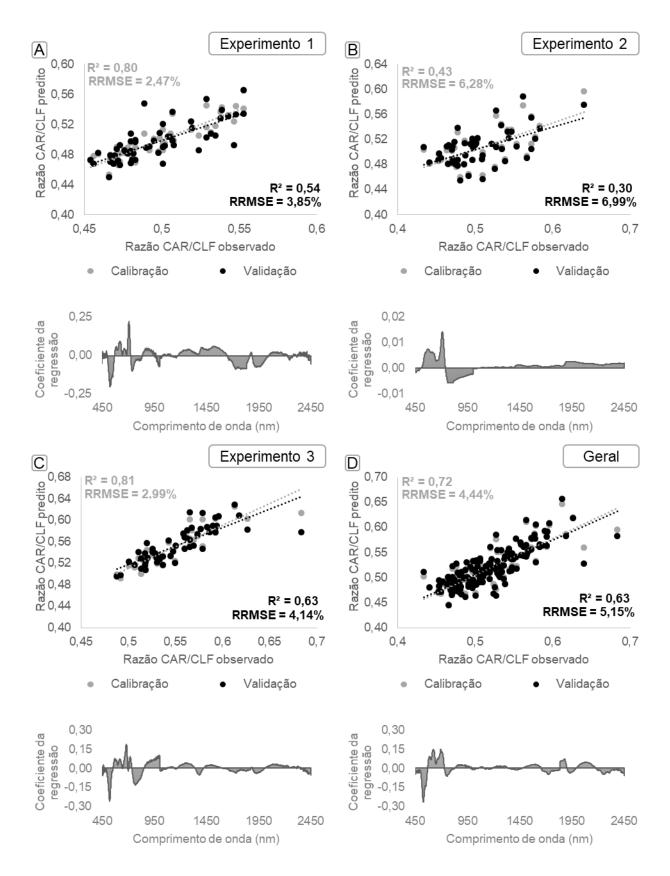


Figura 24. Resultados da predição da razão CAR/CLF (carotenoides/clorofila) por PLSR (regressão de mínimos quadrados parciais) dos experimentos 1, 2 e 3 (A, B e C, respectivamente), e em todos os experimentos juntos (D), com os devidos coeficientes de regressão. R²: coeficiente de determinação, RRMSE: raiz quadrada do erro médio relativo.

5. CONCLUSÕES

A partir do presente trabalho, pode-se concluir que:

- os espectros de reflectância mostraram potencial para detectar o desempenho das soluções conservantes na degradação foliar durante a pós-colheita;
- a análise discriminante não definiu bem as diferentes soluções conservantes em cada experimento;
- foi possível discriminar os três períodos da pós-colheita (4, 8 e 12 dias) por meio da análise multivariada dos dados espectrais;
- a concentração de clorofila não pode ser estimada por PLSR, em nenhum dos experimentos realizados;
- a predição da razão CAR/CLF obteve coeficientes de determinação razoáveis, maiores que 0,6, e RRMSE excelentes; no experimento com os tratamentos de fitormônios e no geral, o qual foi a junção dos dados dos três experimentos realizados;
- no experimento com diferentes concentrações de glicose e o de sacarose, a predição de CAR/CLF por PLSR apresentou R² de 0,54 e 0,3, respectivamente; com RRMSE excelente para ambos.

REFERÊNCIAS

ASD. **Analytical Spectral Devices**, **Inc. (ASD) Technical Guide**BoulderAnalytical Spectral Devces Inc., , 1999. Disponível em: <a href="mailto: <a href=

campo/TechGuide.pdf>

ASNER, G. P.; MARTIN, R. E. Spectral and chemical analysis of tropical forests: Scaling from leaf to canopy levels. **Remote Sensing of Environment**, v. 112, n. 10, p. 3958–3970, 2008.

ASRAR, A. W. A. Effects of some preservative solutions on vase life and keeping quality of snapdragon (Antirrhinum majus L.) cut flowers. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 11, n. 1, p. 29–35, 2012.

AZADI, P. et al. Current status and biotechnological advances in genetic engineering of ornamental plants. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 6, p. 1073–1090, 2016.

BARROS, P. P. DA S. Dados hiperespectrais de dossel e sua correlação com nitrogênio aplicado a cultura da cana-de-açúcar. [s.l.] Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2016.

BISWAL, B. Carotenoid catabolism during leaf senescence and its control by light. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, v. 30, n. 1, p. 3–13, 1995.

BLACKBURN, G. A. Hyperspectral remote sensing of plant pigments. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 4, p. 855–867, 2007.

CALABONI, C. Conservação pós-colheita de inflorescências de lisianthus(Eustoma grandiflorum) cv. Flare Deep Rose. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2019.

CARTER, G. A. PRIMARY AND SECONDARY EFFECTS OF WATER CONTENT ON THE SPECTRAL REFLECTANCE OF LEAVES. **American Journal of Botany**, v. 78, n. 7, p. 916–924, 1991.

CARTER, G. A. RESPONSES OF LEAF SPECTRAL REFLECTANCE TO PLANT STRESS. **American Journal of Botany**, v. 80, n. 3, p. 239–243, 1993.

CARVALHO, S. et al. Hyperspectral reflectance of leaves and flowers of an outbreak species discriminates season and successional stage of vegetation. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 24, p. 32–41, 2013.

CHANDLER, S. F.; SANCHEZ, C. Genetic modification; the development of transgenic ornamental plant varieties. **Plant Biotechnology Journal**, v. 10, n. 8, p. 891–903, 2012.

CHUANG, Y.; CHANG, Y. A. The Role of Soluble Sugars in Vase Solutions during the Vase Life of Eustoma grandiflorum. **HortScience**, v. 48, n. 2, p. 222–226, 2013.

DARVISHZADEH, R. et al. LAI and chlorophyll estimation for a heterogeneous grassland using hyperspectral measurements. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 63, n. 4, p. 409–426, 2008.

DIAS, L. G. et al. Single-cultivar extra virgin olive oil classification using a potentiometric electronic tongue. **Food Chemistry**, v. 160, p. 321–329, 2014.

DIEZMA, B. et al. Examination of quality of spinach leaves using hyperspectral imaging. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, p. 8–17, 2013.

EISINGER, W. Role of cytokinins in carnation flower senescence. **Plant physiology**, v. 59, n. 4, p. 707–9, 1977.

ELHINDI, K. M. Evaluation of several holding solutions for prolonging vase-life and keeping quality of cut sweet pea flowers (Lathyrus odoratus L.). **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 2, p. 195–202, 2012.

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

EMONGOR, V. E.; MUTUI, T. M.; HUTCHINSON, M. J. Effects of Plant Growth Regulators on Postharvest Quality and Vase Life of Alstereomeria. **Tanzania J. Agric. Sc.**, v. 3, n. 1, p. 21–30, 2000.

FEILHAUER, H.; ASNER, G. P.; MARTIN, R. E. Multi-method ensemble selection of spectral bands related to leaf biochemistry. **Remote Sensing of Environment**, v. 164, p. 57–65, 2015.

FÉRET, J. B. et al. PROSPECT-D: Towards modeling leaf optical properties through a complete lifecycle. **Remote Sensing of Environment**, v. 193, p. 204–215, 2017.

FILELLA, I.; PENUELAS, J. The red edge position and shape as indicator of plant chlorophyll content, biomass and hydric status. **Int. J. Remote Sensing**, v. 15, n. 7, p. 1459–1470, 1994.

FLORAHOLLAND. Annual Report: Flowering the world. Aalsmeer: [s.n.].

GAMON, J. A.; PENUELAS, J. A narrow-waveband spectral index that tracks diurnal changes in photosynthetic efficienc. **Remote Sensing of Environment**, v. 41, p. 35–44, 1992.

GARRIDO-NOVELL, C. et al. Grading and color evolution of apples using RGB and hyperspectral imaging vision cameras. **Journal of Food Engineering**, v. 113, n. 2, p. 281–288, 2012.

GAUSMAN, H. W.; ALLEN, W. A.; CARDENAS, R. Reflectance of cotton leaves and their structure. **Remote Sensing of Environment**, v. 1, p. 19–22, 1969.

GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial least-squares regression: a tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 185, p. 1–17, 1986.

GITELSON, A. A.; GAMON, J. A.; SOLOVCHENKO, A. Multiple drivers of seasonal change in PRI: Implications for photosynthesis 1. Leaf level. **Remote Sensing of Environment**, v. 191, p. 110–116, 2017.

GITELSON, A. A.; KEYDAN, G. P.; MERZLYAK, M. N. Three-band model for noninvasive estimation of chlorophyll, carotenoids, and anthocyanin contents in higher plant leaves. **Geophysical Research Letters**, v. 33, n. 11, p. L11402, 2006.

GITELSON, A. A; GRITZ, Y.; MERZLYAK, M. N. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. **Journal of plant physiology**, v. 160, n. 3, p. 271–82, 2003.

GITELSON, A.; MERZLYAK, M. N. Spectral Reflectance Changes Associated with Autumn Senescence of Aesculus hippocastanum L. and Acer platanoides L. Leaves. Spectral Features and Relation to Chlorophyll Estimation. **Journal of Plant Physiology**, v. 143, n. 3, p. 286–292, 1994.

GOMEZ-PEREZ, L. et al. Calcium Ameliorates the Tolerance of Lisianthus [Eustoma grandiflorum (Raf .) Shinn .] to Alkalinity in Irrigation Water. **HortScience**, v. 49, n. 6, p. 807–811, 2014.

HALEVY, A. H.; MAYAK, S. Senescence and Postharvest Physiology of Cut Flowers—Part 2. In: **Horticultural Reviews**. 1^a ed. Rehovot - Israel: John Wiley & Sons, Inc., 1981. v. 3p. 59–143.

HAN, S. S. Benzyladenine and gibberellins improve postharvest quality of cut Asiatic and Oriental lilies. **HortScience**, v. 36, n. 4, p. 741–745, 2001.

HAN, S. S. Role of sugar in the vase solution on postharvest flower and leaf quality of Oriental lily "Stargazer". **HortScience**, v. 38, n. 3, p. 412–416, 2003.

HATAMZADEH, A.; REZVANYPOUR, S.; HASSANPOUR ASIL, M. Postharvest life of alstroemeria cut flowers is extended by thidiazuron and benzyladenine. **South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment**, v. 3, n. 1, p. 41–53, 2012.

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, p. 1132–1334, 1979.

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

IBRAFLOR. **Release de imprensa: Mercado de flores no Brasil**. Holambra-SP: [s.n.]. Disponível em: http://www.ibraflor.com/site/wp-content/uploads/2017/11/release-imprensa-ibraflor-10-2017.pdf>.

ICHIMURA, K.; GOTO, R. Effect of gibberellin A3 on leaf yellowing and vase life of cut Narcissus tazetta var. chinensis flowers. **Japan. Soc. Hort. Sci.**, v. 69, n. 4, p. 423–427, 2000.

ICHIMURA, K.; SHIMIZU-YUMOTO, H. Extension of the vase life of cut roses by treatment with sucrose before and during simulated transport. **National Institute of Floricultural Science**, v. 7, p. 17–27, 2007.

ICHIMURA, K.; TAGUCHI, M.; NORIKOSHI, R. Extension of the vase life in cut roses by treatment with glucose, isothiazolinonic germicide, citric acid and aluminum sulphate solution. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 40, n. 3, p. 263–269, 2006.

JENSEN, R. J. **Sensoriamento remoto do ambiente**. 2ª ed. São José dos Campos: Parêntese, 2009.

JORDI, W. et al. Effect of light and gibberellic acid on photosynthesis during leaf senescence of alstroemeira cut flowers. **Physiologia Plantarum**, v. 90, p. 293–298, 1994.

KALACSKA, M.; LALONDE, M.; MOORE, T. R. Estimation of foliar chlorophyll and nitrogen content in an ombrotrophic bog from hyperspectral data: Scaling from leaf to image. **Remote Sensing of Environment**, v. 169, p. 270–279, 2015.

KAZEMI, M.; ARAN, M.; ZAMANI, S. Extending the vase life of lisianthus (Eustoma grandiflorum mariachii. cv. blue) with different preservatives. **American Journal of Plant Physiology**, v. 6, n. 3, p. 167–175, 2011.

KIRA, O.; LINKER, R.; GITELSON, A. Non-destructive estimation of foliar chlorophyll and carotenoid contents: Focus on informative spectral bands. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 38, p. 251–260, 2015.

KNIPLING, E. B. Physical and Physiological Basis for the Reflectance of Visible and Near Infrared Radiation from Vegetation. **Remote Sensing of Environment**, v. 1, p. 155–159, 1970.

KRIEDEMANN, P. E. et al. Abscisic Acid and stomatal regulation. **Plant physiology**, v. 49, n. 5, p. 842–847, 1972.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc., 2001.

LUGASSI-BEN-HAMO, M. et al. Effect of shade regime on flower development, yield and quality in lisianthus. **Scientia Horticulturae**, v. 124, n. 2, p. 248–253, 2010.

MATAK, S. A.; HASHEMABIDI, D.; KAVIANI, B. CHANGES IN POSTHARVEST PHYSIO-BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS AND ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY OF CUT Alsteroemeria aurantiaca FLOWER AS AFFECTED BY CYCLOHEXIMIDE, COCONUT WATER AND 6-BENZYLADENINE. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 2, p. 321–332, 2017.

MERZLYAK, M. N. et al. Non-destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, v. 106, p. 135–141, 1999.

MILBORROW, B. V. The pathway of biosynthesis of abscisic acid in vascular plants: a review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 359, p. 1145–1164, 2001.

MILLMIER, A. et al. Near-infrared Sensing of Manure Ingredients. **Transactions of the ASAE**, v. 43, n. 4, p. 903–908, 2000.

MOREIRA, M. A. Fundamentos do sensoriamento remoto e metodologias de aplicação. 3ª ed. Viçosa: UFV, 2007.

MULLA, D. J. Twenty five years of remote sensing in precision agriculture: Key advances and remaining knowledge gaps. **Biosystems Engineering**, v. 114, n. 4, p. 358–371, 2013.

NEVALAINEN, O. et al. Fast and nondestructive method for leaf level chlorophyll estimation using hyperspectral LiDAR. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 198, p. 250–258, 2014.

NOBEL, P. S. **Physicochemical and Environmental Plant Physiology**. 4^a ed. Oxford: Academic Press, 2009.

NOVO, E. M. L. M. Sensoriamento remoto: princípios e aplicações. 4. ed. São Paulo: [s.n.].

PENUELAS, J.; FILELLA, I. Visible and near- infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status. **Trends in plant science**, v. 3, n. 4, p. 151–156, 1998.

PUN, U. K.; ICHIMURA, K. Role of Sugars in Senescence and Biosynthesis of Ethylene in Cut Flowers. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 37, n. 4, p. 219–224, 2003.

RAYMOND HUNT, E.; DAUGHTRY, C. S. T. Chlorophyll meter calibrations for chlorophyll content using measured and simulated leaf transmittances. **Agronomy Journal**, v. 106, n. 3, p. 931–939, 2014.

REID, M. S.; JIANG, C. Z. Postharvest biology and technology of cut flowers and potted plants. **Horticultural Reviews**, v. 40, n. 1, p. 1–54, 2012.

RICHTER, K. et al. Derivation of biophysical variables from Earth observation data: validation and statistical measures observation data: validation and statistical measures. **Journal of Applied Remote Sensing**, v. 6, p. 063557, 2012.

ROSSEL, R. A. V.; CHEN, C. Digitally mapping the information content of visible-near infrared spectra of surficial Australian soils. **Remote Sensing of Environment**, v. 115, n. 6, p. 1443–1455, 2011.

SHIMIZU-YUMOTO, H. Postharvest Characteristics of Cut Flowers and Techniques for Extending Vase Life, with a Focus on Eustoma, Gentiana and Dahlia. **Agri-Bioscience monographs**, v. 8, n. 1, p. 1–22, 2018.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; ICHIMURA, K. Effect of Relative Humidity and Sucrose Concentration on Leaf Injury and Vase Life during Sucrose Pulse Treatment in Cut Eustoma Flowers. **Hort. Res.** (Japan), v. 6, n. 2, p. 301–305, 2007.

SHIMIZU-YUMOTO, H.; ICHIMURA, K. Postharvest Physiology and Technology of Cut Eustoma Flowers. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 79, n. 3, p. 227–238, 2010.

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

SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote Sensing of Environment**, v. 81, p. 337–354, 2002.

SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Estimation of vegetation water content and photosynthetic tissue area from spectral reflectance: A comparison of indices based on liquid water and chlorophyll absorption features. **Remote Sensing of Environment**, v. 84, n. 4, p. 526–537, 2003.

SINCLAIR, T. R.; HOFFER, R. M.; SCHREIBER, M. M. Reflectance and Internal Structure of Leaves from Several Crops During a Growing Season. **Agronomy Journal**, v. 63, p. 864–868, 1971.

SKUTNIK, E. et al. Effect of growth regulators on postharvest characteristics of Zantedeschia aethiopica. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, n. 2, p. 241–246, 2001.

STEFFEN, C. A.; MORAES, E. C.; GAMA, F. F. **Radiometria óptica espectral**. Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. **Anais...**São José dos Campos: INPE, 1996

SUN, Y. et al. Hyperspectral imaging detection of decayed honey peaches based on their chlorophyll content. **Food Chemistry**, v. 235, p. 194–202, 2017.

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

UDDIN, A. F. M. J. et al. Seasonal variation in pigmentation and anthocyanidin phenetics in commercial Eustoma flowers. **Scientia Horticulturae**, v. 100, n. 1–4, p. 103–115, 2004.

USDA. Agricultural HandbookThe Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. Washington: [s.n.].

VAN DOORN, W. G. et al. A treatment to improve the vase life of cut tulips: Effects on tepal senescence, tepal abscission, leaf yellowing and stem elongation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 61, p. 56–63, 2011.

VAN DOORN, W. G.; HIBMA, J.; WIT, J. DE. Effect of exogenous hormones on leaf yellowing in cut flowering branches of Alstroemeria pelegrina L. **Plant Growth Regulation**, v. 11, p. 59–62, 1992.

VERRELST, J. et al. Optical remote sensing and the retrieval of terrestrial vegetation bio-geophysical properties - A review. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 108, p. 273–290, 2015.

WELLBURN, A. R. The espectral determination of chlorophhyll-b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, n. 3, p. 307–313, 1994.

WOLTERING, E. J.; PAILLART, M. J. M. Postharvest Biology and Technology E ff ect of cold storage on stomatal functionality, water relations and fl ower performance in cut roses. **Postharvest Biology and Technology**, v. 136, n. August 2017, p. 66–73, 2018.

WOOLF, A. B. et al. Hot water treatments reduce leaf yellowing and extend vase life of Asiatic hybrid lilies. **Postharvest Biology and Technology**, v. 64, n. 1, p. 9–18, 2012.

YANG, Y. C. et al. Rapid detection of anthocyanin content in lychee pericarp during storage using hyperspectral imaging coupled with model fusion. **Postharvest Biology and Technology**, v. 103, p. 55–65, 2015.

YOUNG, A. J. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 83, n. 4, p. 702–708, 1991.

ZHAI, Y. et al. Estimation of nitrogen, phosphorus, and potassium contents in the leaves of different plants using laboratory-based visible and near-infrared reflectance spectroscopy: comparison of partial least-square regression and support vector machine regression met. **International Journal of Remote Sensing**, v. 34, n. 7, p. 2502–2518, 2013.

ZHANG, C. et al. Hyperspectral imaging analysis for ripeness evaluation of strawberry with support vector machine. **Journal of Food Engineering**, v. 179, p. 11–18, 2016.