

## INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do mamoeiro adaptou-se muito bem às condições de clima e de solo do norte do Estado do Espírito Santo, que se tornou a principal região produtora de mamão do país. A área plantada já ocupa mais de 10 mil hectares para uma produção superior a 420 mil toneladas anuais, envolvendo mais de 200 agricultores. Nesse agronegócio a cadeia produtiva utiliza alta tecnologia principalmente na fase de cultivo. Atualmente as cultivares mais plantadas no Estado do Espírito Santo são as do grupo Solo, com 55% e, do grupo Formosa, com 45% da área plantada. O estado é hoje o segundo maior produtor e também o maior exportador do país, com mais de 80% do volume de mamão exportado (BRAPEX, 2004).

Os países que importam o mamão brasileiro são os Estados Unidos, o Canadá e países da União Européia. A União Européia é considerada o principal bloco importador de frutas frescas brasileiras. Mesmo sendo o maior produtor mundial de mamão, a participação brasileira no mercado externo não é muito expressiva necessitando ainda de um aprimoramento, principalmente, nas áreas de propaganda e logística (ANDRIGUETO e KOSOSKI, 2003). Além das distâncias existentes entre as regiões produtoras e os mercados consumidores, a falta de infra-estrutura, planejamento e disponibilidade de recursos para a exportação dificultam a expansão da comercialização do mamão (FOLEGATTI et al., 2002).

Para viabilizar a comercialização do mamão, deve-se considerar o aspecto do fruto, que é influenciado por condições edafoclimáticas, tratos culturais e manuseio na pré e pós-colheita. O padrão de qualidade do fruto pode também variar em função do destino e das exigências do mercado consumidor (FAGUNDES e YAMANISHI, 2001).

Alguns tipos de estresse nas plantas causam limitação na eficiência fotossintética, podendo alterar o padrão de qualidade do fruto do mamoeiro entre eles o estresse de temperatura (GOMES et al., 2004), de pluviosidade (FONTES et al., 2002) e de disponibilidade de nitrogênio no solo e na planta (GALON et al., 2003).

O mamão é um fruto climatérico que se caracteriza por uma vida pós-colheita curta, completando o seu amadurecimento em poucos dias sob condições naturais (JACOMINO et al., 2002). O amadurecimento dos frutos climatéricos se deve a elevação na taxa de liberação do hormônio etileno, envolvido na regulação da atividade de várias enzimas, dentre as quais, as pectinases, que degradam a parede celular do fruto, resultando no seu amolecimento (TRIVEDI e NATH, 2004).

A pectinametilesterase (EC 3.1.1.11) e a poligalacturonase (EC 3.2.1.15) são, provavelmente, as primeiras enzimas que participam do processo de amolecimento da polpa de frutos (CHUANYAO et al., 2002). O aumento da atividade da pectinametilesterase em frutos de mamão cv. Eksotika é seguido do incremento na atividade da poligalacturonase, acompanhando o início do amolecimento da polpa do fruto (LAZAN et al., 1995).

O presente trabalho teve como objetivos: a) detectar, por meio da eficiência fotoquímica, estresses nas plantas que alteram o padrão de qualidade do fruto; b) avaliar a atividade da enzima pectinametilesterase, durante o período de pós-colheita, associando as mudanças da atividade com a perda de firmeza da polpa de frutos das cultivares Tainung e Sunrise Solo do mamoeiro (*Carica papaya* L.).



## **CAPÍTULO 1**

### **FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA COMO INDICADORA DE ESTRESSES EM PLANTAS DE MAMOEIRO**

#### **RESUMO**

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de detectar, por meio da técnica de emissão da fluorescência da clorofila, estresses nas plantas de mamoeiro das cultivares Tainung e Sunrise Solo, visando melhorar o manejo pré-colheita da cultura. Os experimentos foram conduzidos no campo e, mensalmente, foram feitas medidas de emissão da fluorescência da clorofila *a*, da concentração de nitrogênio, fósforo e potássio no pecíolo foliar e da atividade da redutase do nitrato nas folhas. Os valores de amplitude de temperatura dia/noite, temperatura máxima e pluviosidade mensal da região foram obtidos de uma estação meteorológica do INMET no Incaper/Linhares-ES. Os resultados apresentados permitiram concluir que altos valores de amplitude de temperatura dia–noite causaram aumento da fluorescência inicial e redução da eficiência fotoquímica apenas nas plantas da cultivar Tainung, que também apresentaram sua eficiência fotoquímica mais sensível ao aumento de temperatura do que as plantas da cultivar Sunrise Solo, que apresentaram sua eficiência fotoquímica mais sensível às variações de pluviosidade. O teor de nitrogênio no pecíolo da folha apresentou-se elevado quanto maior era o teor de fósforo e potássio no pecíolo foliar das cultivares Tainung e Sunrise Solo. A atividade da enzima redutase do nitrato aumentou com a concentração de nitrogênio nas plantas das duas cultivares. Os valores de correlação, entre eficiência fotoquímica e atividade da redutase do nitrato, apresentados pelas cultivares, mostraram que a eficiência fotoquímica das plantas da cultivar Sunrise Solo é mais dependente da atividade da redutase do nitrato do que a eficiência fotoquímica das plantas da cultivar Tainung. Baseado nos

resultados, conclui-se que a eficiência fotoquímica do fotossistema II, obtida por meio da técnica de emissão da fluorescência da clorofila *a*, pode ser utilizada como ferramenta para indicar estresse em plantas de mamoeiro, visando melhorar o manejo na pré-colheita da cultura.

## **CHAPTER 1**

### **CHLOROPHYLL FLUORESCENCE AS THE INDICATING OF STRESS IN PAPAYA PLANTS**

#### **ABSTRACT**

This work was developed as objective to detect, by the technique of emission at the chlorophyll fluorescence, stress in mamoeiro plants of cultivates Tainung and Sunrise Solo, aiming at to improve the handling preharvest of the culture. The experiments had been lead in the field and, monthly, they had been made measured of emission at the chlorophyll fluorescence as well the text of nitrogen, match and potassium in petiole foliar and the activity of nitrate reductase in leaves. The values of amplitude of day/night temperature, maximum temperature and monthly rainfall of the region had been gotten of a metereological station at INMET in the Incaper/Linhares-ES. The presented results had allowed to conclude that high values of amplitude of day-night temperature had caused increase of the initial fluorescence and reduction of the efficiency photochemistry only in the plants of cultivate Tainung, that had also presented its photochemistry efficiency more sensible to the increase of temperature of that the plants of cultivate Sunrise Solo, that had presented its

photochemistry efficiency more sensible to the rainfall variations. The nitrogen text in petiole foliar was presented higher how much bigger it was the text of match and potassium in petiole foliar in both cultivates Tainung and Sunrise Solo. The activity of the enzyme nitrate reductase increased with the nitrogen text in plants of both cultivates. The values of correlation, between photochemistry efficiency and activity of nitrate reductase, presented for cultivates them, had shown that the photochemistry efficiency in the plants of cultivate Sunrise Solo is more dependent the activity of nitrate reductase that the photochemistry efficiency of the plants of cultivate Tainung. Based in the results, it is concluded that the photochemistry efficiency of fotossistema II, gotten by means of the technique of emission at the chlorophyll fluorescence, can be used as tool to indicate stress in mamoeiro plants, aiming at to improve the handling in the preharvest of the culture.

## CAPÍTULO 1

### FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA COMO INDICADORA DE ESTRESSES EM PLANTAS DE MAMOEIRO

#### 1- INTRODUÇÃO

A cultura do mamoeiro, esta bem adaptada às condições edafoclimáticas da região Norte do Estado do Espírito Santo, porém apresenta grande sensibilidade às variações de fatores abióticos como temperatura (GOMES et al., 2004), disponibilidade de água (FONTES et al., 2002) e disponibilidade de nutrientes (GALON et al., 2003). Segundo alguns produtores da região, variações na amplitude de temperatura dia/noite são prejudiciais à cultura do mamoeiro afetando o seu desenvolvimento (comunicação pessoal).

A técnica de medição da fluorescência da clorofila *a in vivo* tem sido utilizada frequentemente para detectar estresses nas plantas. Além de não destrutiva essa técnica é caracterizada pela relativa facilidade de medida e grande precisão nos resultados encontrados (KRAUSE e WEIS, 1991; SCHREIBER et al., 1994; GRAY et al., 1997; DEELL et al., 1999; MAXWELL e JONHSON, 2000; COSTA, et al., 2002).

Dentre os parâmetros obtidos na medição da fluorescência rápida da clorofila *a* destacam-se: Fluorescência inicial ( $F_0$ ) – que se refere à fluorescência emitida

quando o fotossistema II (FSII) é capaz de transferir, praticamente, todos os elétrons excitados pela luz para realização das reações fotoquímicas; Fluorescência máxima ( $F_m$ ) – que é a capacidade do FSII transferir apenas uma pequena fração dos elétrons excitados pela luz; Fluorescência variável ( $F_v$ ) – que expressa a diferença entre  $F_m$  e  $F_0$  ( $F_v = F_m - F_0$ ) e permiti calcular a eficiência fotoquímica do FSII dada pela razão  $F_v/F_m = \phi P_o$  que representa o quantum máximo para a produtividade primária fotoquímica (STRAUSS et al, 2005).

A eficiência fotoquímica do FSII é utilizada como avaliadora das reações primárias da fotossíntese (CASTRO et al., 2004) e como indicadora do desempenho fotossintético da planta (BRON et al, 2004). Valores considerados ótimos para a razão  $F_v/F_m$  são aqueles próximos a  $0,83 \pm 0,02$  para a maioria das espécies vegetais (JOHNSON, 1993; RIBEIRO et al., 2003). Decréscimos na eficiência fotoquímica do FSII ( $F_v/F_m$ ) das plantas indicam que a planta esta submetida a algum tipo de estresse. Gomes et al. (2004) observam que o aumento da temperatura produz uma redução na  $F_v/F_m$  de plantas de mamoeiro das cultivares Tainung e Sunrise Solo. Quando a disponibilidade de água diminui, plantas de mamoeiro das cultivares Sunrise Solo 72/12 e Golden apresentam um decréscimo na eficiência fotoquímica ( $F_v/F_m$ ) do FSII (FONTES et al, 2002; CASTRO et al, 2004; MACHADO FILHO et al, 2004).

Uma forma de avaliar a disponibilidade do nitrogênio para a planta é analisar a atividade da redutase do nitrato, enzima chave na absorção desse elemento (FONTES, 2003). Segundo Galon et al. (2003), o incremento na concentração de nitrogênio nas plantas de mamoeiro das cultivares Tainung e Sunrise Solo aumenta a atividade da redutase do nitrato. De acordo com Fontes (2003), o aumento da atividade da redutase do nitrato em mamoeiro da cultivar Sunrise Solo é acompanhado por uma elevação do valor da eficiência fotoquímica do fotossistema II dessas plantas.

Baseado nestas afirmativas, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de detectar, por meio da técnica de emissão da fluorescência da clorofila *a*, estresses nas plantas de mamoeiro das cultivares Tainung e Sunrise Solo, visando melhorar o manejo pré-colheita da cultura.

## 2 – MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Condições de amostragem

Plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) das cultivares Tainung (Grupo Formosa) e Sunrise Solo (Grupo Solo), com 18 meses de idade, foram analisadas mensalmente em uma lavoura comercial (Frutas Herzok) localizada no município de Aracruz – ES, Latitude 19°49'13 SUL, Longitude 40°16'24 OESTE e altitude de 60 metros (IBGE).

### 2.2. Temperatura e pluviosidade

Para avaliar a interferência da temperatura e da pluviosidade na eficiência fotoquímica das plantas, os valores médios mensais da temperatura e pluviosidade ocorrida na região de estudo foram obtidos da estação meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) situada no Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper) Latitude 19,41 SUL, Longitude 40,07 OESTE e altitude de 28 metros (IBGE). A amplitude dia/noite da temperatura foi obtida a partir da fórmula:  $\Delta_T = T_{Max} - T_{abs}$  onde  $\Delta_T$  corresponde à Amplitude da Temperatura Média Mensal,  $T_{Max}$  à

Temperatura média das máximas mensal ( $^{\circ}\text{C}$ ) e  $T_{\text{abs}}$  à Temperatura média das mínimas mensal ( $^{\circ}\text{C}$ )

### **2.3. Medição da fluorescência da clorofila *a***

A emissão da fluorescência da clorofila *a* foi medida, em folhas jovens cuja axila continha uma primeira flor aberta, utilizando-se um fluorômetro portátil (HandyPEA-Plant Efficiency Analyzer, Hanstech, King's Lynn, Norkfolk, UK). Antes de cada medição, a parte da folha a ser medida foi adaptada ao escuro com grampos de metal, por um período de 30 minutos, tempo suficiente para a oxidação completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons. Logo após foi submetida a um flash de fluxo de fótons de  $700\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , valor determinado após realização de uma curva de saturação de luz.

### **2.4. Determinação da atividade da redutase do nitrato (EC 1.6.6.1)**

A determinação da atividade da redutase do nitrato (RN) foi feita seguindo metodologia de JAWORSKI (1971), em 30 discos foliares com diâmetro de 50 mm. Determinou-se a massa fresca do lote de discos e, estes foram suspensos em 10 mL do meio de incubação contendo 5 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,5), 1 mL de  $\text{KNO}_3$  (0,05 M), 4 mL de propanol a 2% e 4 gotas de triton x100 a 5%. O conjunto foi transferido para um dessecador, onde foi mantido sob vácuo por um minuto. A operação foi repetida por mais duas vezes. Em seguida, o frasco de incubação foi levado para banho-maria com agitação constante a  $30^{\circ}\text{C}$ , no escuro. Amostras de 4,4 mL foram retiradas do banho-maria após 40 minutos de incubação. Misturou-se a estas amostras 0,3 mL de sulfanilamida a 1% e 0,3 mL de N-(1-Naphthyl) ethylenediamine hydrochlorine a 0,02% completando o volume para 5 mL. Após 1 hora de reação foi feita a leitura das amostras em um espectrofotômetro a 540 nm. Para o cálculo da atividade da RN uma curva de calibração foi preparada com nitrito de sódio. A atividade da

enzima foi estimada e expressa em  $\mu\text{moles}$  de  $\text{NO}_2^-$  liberados pelo tecido vegetal, na solução de incubação por hora, por grama de matéria fresca.

## **2.5. Teores de nitrogênio, fósforo e potássio no pecíolo foliar**

Considerando que a atividade da redutase do nitrato pode sofrer variações devido à concentração dos macronutrientes (Nitrogênio, Fósforo e Potássio) na planta, foi determinado, em laboratório especializado, os teores destes elementos em amostras de matéria seca de pecíolo foliar. O material vegetal foi seco em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 70 °C, por 48 horas. Os teores de N foram determinados pelo método de digestão ácida a quente e os teores de P e K na matéria seca foi determinado pelo método de digestão nitro-perclórica.

## **2.6. Análise estatística**

Os ensaios foram avaliados de acordo com um delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições. Os dados foram submetidos a uma análise de variância e, quando os valores de F foram significativos, comparações de médias foram realizadas, usando-se o teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990). Para determinar as relações e comparações entre os dados foram realizadas análises de correlação e regressão (LAPPONI, 2000).

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

A emissão da fluorescência da clorofila *a* nas plantas das cultivares Tainung e Sunrise Solo são apresentadas nas Figuras 1 e 2, respectivamente, bem como a amplitude de temperatura dia/noite apresentada nos meses de agosto a novembro. Na cultivar Tainung (Figura 1) observa-se um aumento na fluorescência inicial ( $F_o$ ) com o aumento da amplitude de temperatura dia/noite nos meses de setembro e outubro. O aumento da  $F_o$ , nesses meses, resultou em uma queda na eficiência fotoquímica do FS II ( $F_v/F_m$ ) das plantas. Em Sunrise Solo (Figura 2) apenas no mês de agosto houve uma elevação do valor de  $F_o$  e, conseqüentemente, uma redução na eficiência fotoquímica do FS II ( $F_v/F_m$ ) das plantas. Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Gomes et al. (2004) que observaram que um aumento em  $F_o$  acarretava redução na  $F_v/F_m$  em plantas de mamoeiro cultivar Tainung e Sunrise Solo. De acordo com Ribeiro et al. (2003) valores de  $0,83 \pm 0,02$  são considerados ótimos para  $F_v/F_m$  na maioria das espécies vegetais. Entretanto, em plantas do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e Sunrise Solo, cultivadas no Estado do Espírito Santo, com alta produtividade, os valores máximos de  $F_v/F_m$  obtidos não ultrapassam 0,75 (CAMPOSTRINI et al, 2003; GOMES et al, 2003).

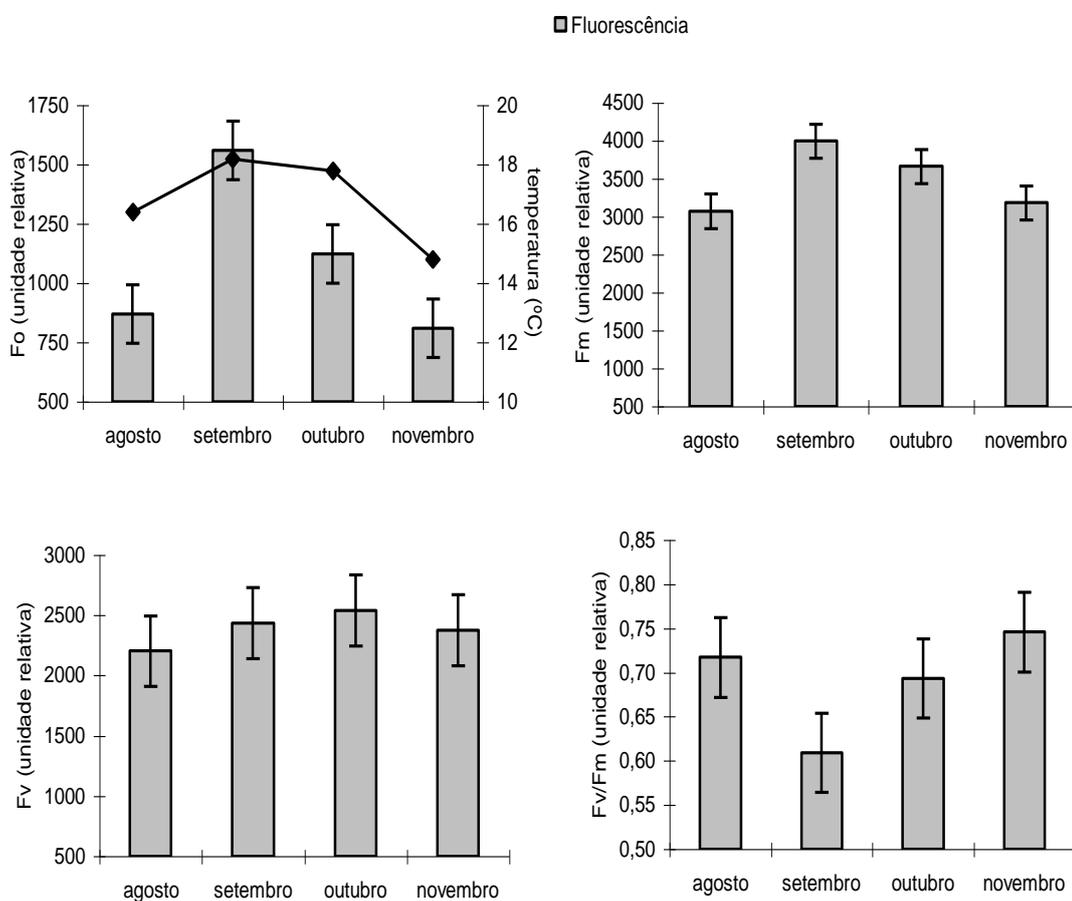


Figura 1 – As colunas representam os valores dos parâmetros: Fluorescência inicial ( $F_o$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), fluorescência variável ( $F_v$ ) e eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e amplitude de temperatura mensal dos meses de agosto a novembro de 2004. Barras acima das colunas representam o desvio padrão das médias. (n=10).

Em plantas cultivadas, tais como no feijoeiro e laranjeira variações na temperatura também aumentam os valores de  $F_o$  e, conseqüentemente, ocasionam redução na  $F_v/F_m$  das plantas (COSTA et al, 2002; PASTENES e HORTON, 1999; RIBEIRO et al., 2003).

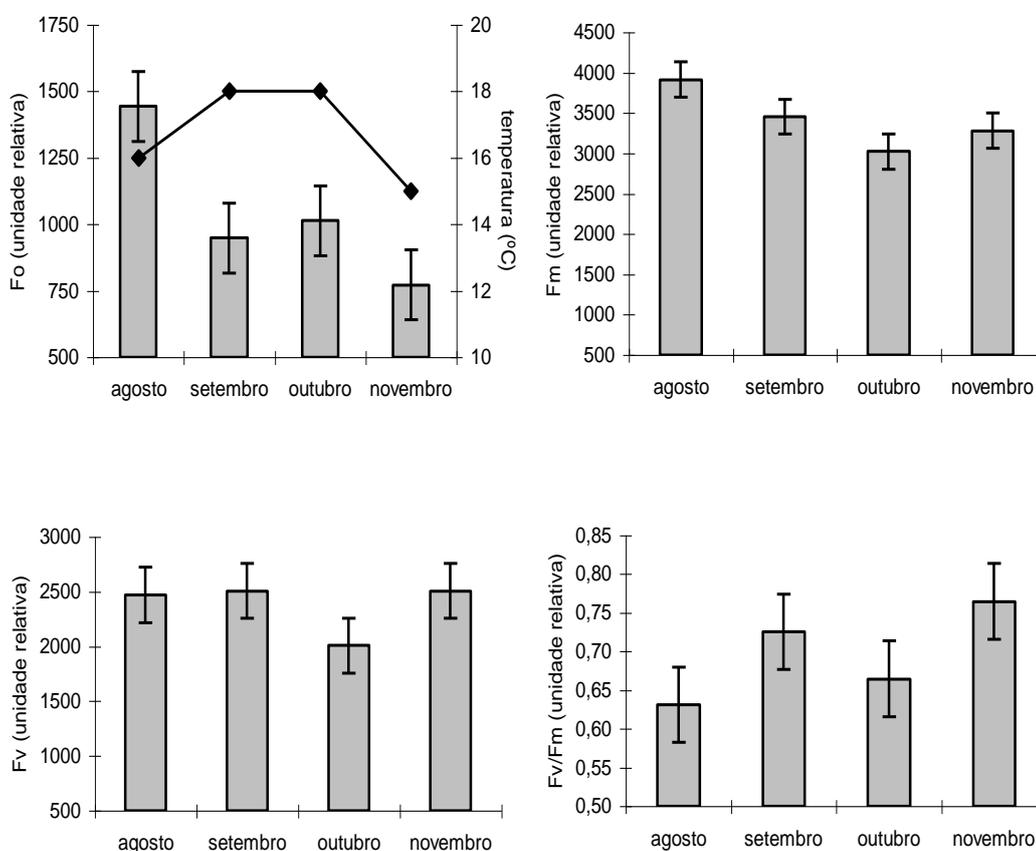


Figura 2 – As colunas representam os valores dos parâmetros: Fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), fluorescência variável ( $F_v$ ) e eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Sunrise Solo e amplitude de temperatura mensal dos meses de agosto a novembro de 2004. Barras acima das colunas representam o desvio padrão das médias. (n=10).

A relação entre eficiência fotoquímica e temperatura nas plantas das cultivares Tainung e Sunrise Solo estão apresentadas nas Figuras 3 e 4, respectivamente. A razão  $F_v/F_m$  diminuiu com o aumento de temperatura nas duas cultivares, entretanto, os valores de correlação de 82% e 64%, respectivamente, permitem sugerir que a cultivar Tainung apresenta a eficiência fotoquímica do fotossistema II mais sensível ao aumento de temperatura do que a cultivar Sunrise Solo.

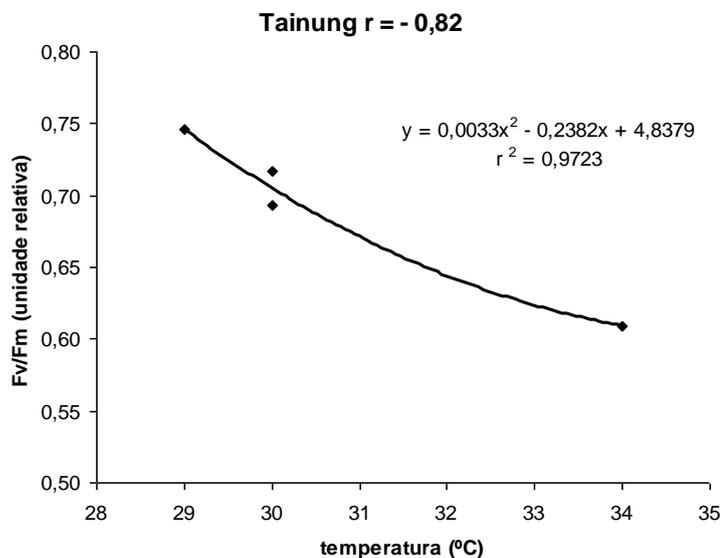


Figura 3 – Eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e temperatura média mensal dos meses de agosto a novembro de 2004. (n=10).  $r$  = coeficiente de correlação linear;  $r^2$  = coeficiente de determinação da análise de regressão.

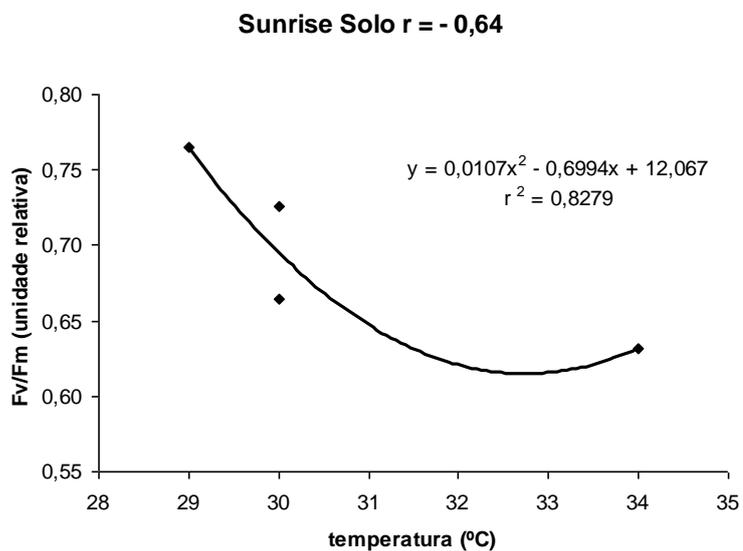


Figura 4 – Eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Sunrise Solo e temperatura média mensal dos meses de agosto a novembro de 2004. (n=10).  $r$  = coeficiente de correlação linear;  $r^2$  = coeficiente de determinação da análise de regressão.

As Figuras 5 e 6 mostram os resultados obtidos da emissão da fluorescência da clorofila *a* de plantas das cultivares Tainung e Sunrise Solo, respectivamente, bem como a pluviosidade mensal no período analisado. Na região norte do Estado do Espírito Santo o período compreendido entre maio e setembro apresenta pluviosidade muito baixa e, observa-se que houve aumento de  $F_o$  na cultivar Tainung, no mês de setembro (Figura 5), enquanto que nas plantas da cultivar Sunrise Solo (Figura 6) este aumento ocorreu no mês de agosto.

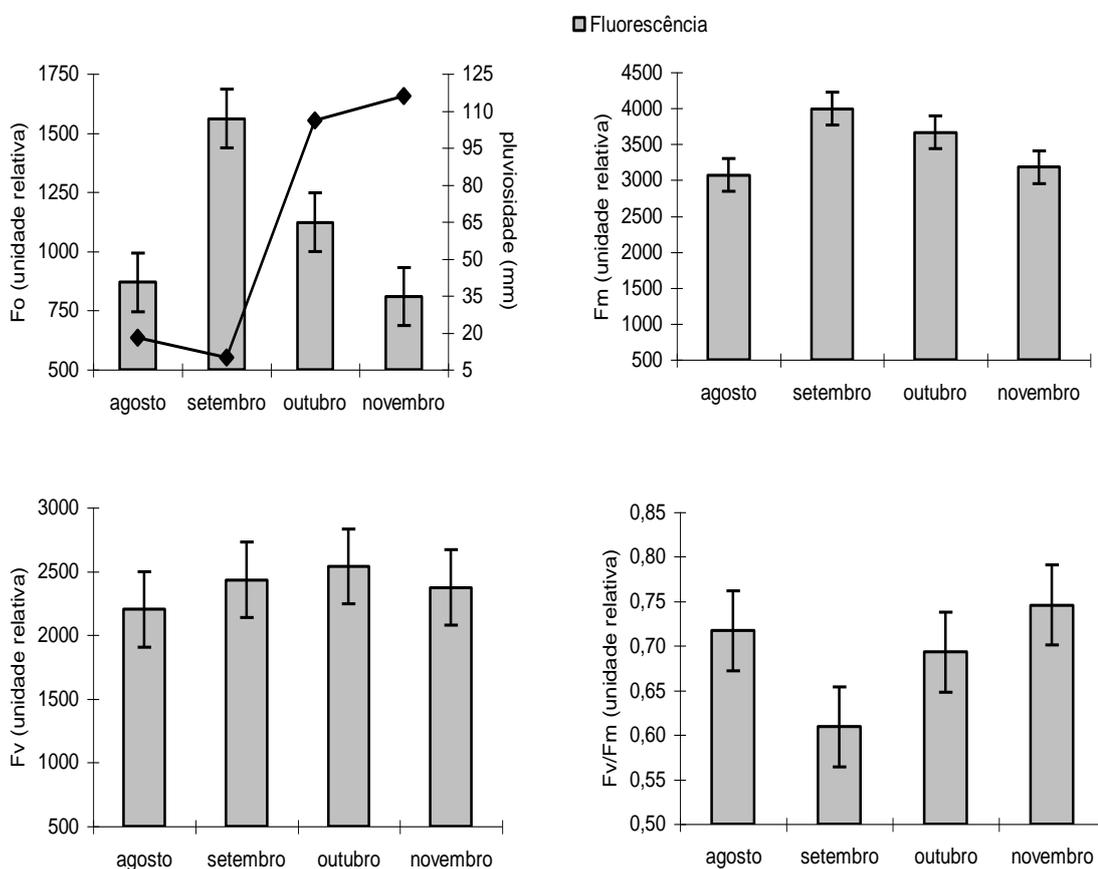


Figura 5 – Fluorescência inicial ( $F_o$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), fluorescência variável ( $F_v$ ) e eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e pluviosidade mensal ocorrida dos meses de agosto a novembro de 2004. Barras acima das colunas representam o desvio padrão das médias. (n= 10).

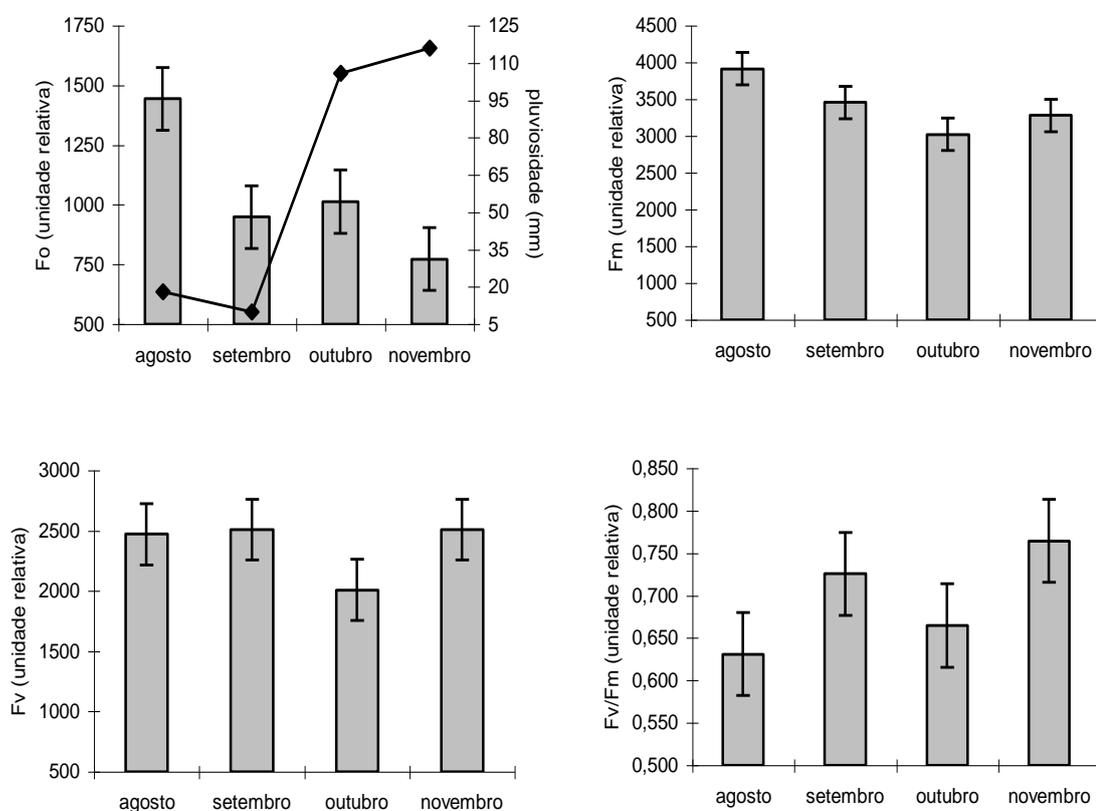


Figura 6 – Fluorescência inicial ( $F_o$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), fluorescência variável ( $F_v$ ) e eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Sunrise Solo e pluviosidade média mensal ocorrida dos meses de agosto a novembro de 2004. Barras acima das colunas representam o desvio padrão das médias. (n= 10).

Como consequência do aumento da  $F_o$ , houve uma queda da eficiência fotoquímica do fotossistema II, chegando a valores próximos de 0,60, em ambas cultivares, valor muito abaixo do considerado normal para as plantas de mamoeiro (GOMES et al, 2003; CAMPOSTRINI et al, 2003).

Resultados semelhantes já haviam sido obtidos por Fontes et al. (2002) em Sunrise Solo submetidas à baixa quantidade de água de irrigação e por Castro et al. (2004) na cultivar Golden. MACHADO FILHO et al. (2004) sugerem que a queda da eficiência fotoquímica do fotossistema II em plantas sob estresse hídrico pode ser causada por danos no sistema fotoquímico.

Além do mamoeiro, outras espécies frutíferas também apresentam declínios na eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) quando submetidas a uma menor quantidade de água de irrigação. Thomas e Turner (2001) observaram que plantas de bananeira submetidas a estresse hídrico apresentam decréscimos nos valores de  $F_v/F_m$ . A baixa disponibilidade de água também induz a queda acentuada na razão  $F_v/F_m$  em laranjeira (MEDINA et al., 1999) e abacateiro (CHARTZOULAKIS et al., 2002).

Nas plantas de mamoeiro, das cultivares Tainung e Sunrise Solo, observou-se uma maior eficiência fotoquímica do FSII com a maior disponibilidade de água, porém, houve a correlação obtida foi diferente nas duas cultivares. Na cultivar Tainung a correlação foi de 75% (Figura 7), enquanto que na cultivar Sunrise Solo foi de 99% (Figura 8). Por meio dos valores de correlação entre eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) e disponibilidade de água apresentados pelas cultivares pode-se sugerir que as plantas da cultivar Sunrise Solo possuem sua eficiência fotoquímica fortemente influenciada pela disponibilidade de água no solo.

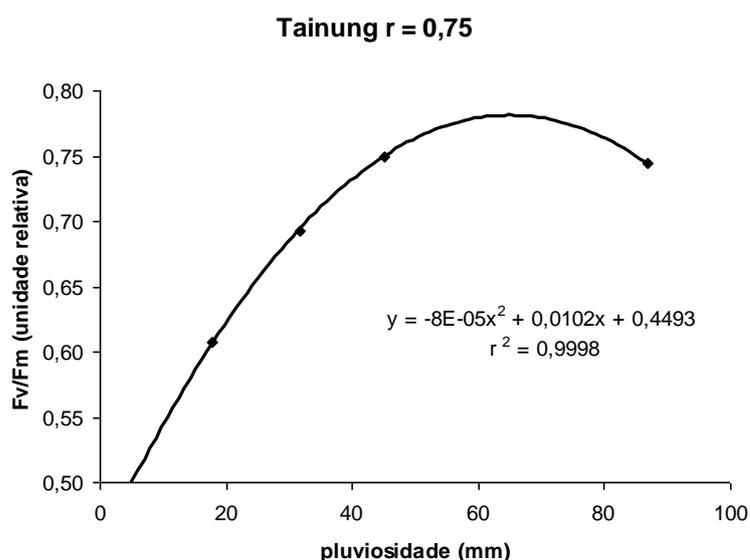


Figura 7 – Eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e pluviosidade mensal dos meses de agosto a novembro de 2004. (n=10).  $r$ = coeficiente de correlação linear;  $r^2$ = coeficiente de determinação da análise de regressão.

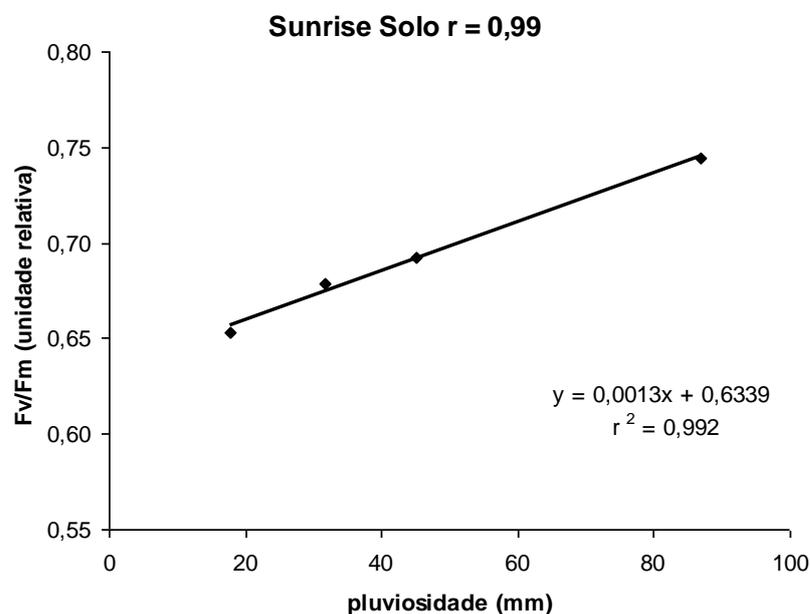


Figura 8 – Eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Sunrise Solo e pluviosidade mensal dos meses de agosto a novembro de 2004. (n=10). r= coeficiente de correlação linear;  $r^2$ = coeficiente de determinação da análise de regressão.

Além dos efeitos da temperatura e da pluviosidade na eficiência fotoquímica do FSII das plantas, o teor de alguns nutrientes também influenciam no processo de captura de energia luminosa, uma vez que esses elementos estão envolvidos em processos bioquímicos relacionados com a fotossíntese.

O Nitrogênio (N) faz parte de proteínas e de enzimas da maquinaria fotossintética, o Fósforo (P) ativa enzimas da fotossíntese e o Potássio (K) participa do processo fotossintético como cofator enzimático. As figuras 9, 10 e 11, mostram o teor de N, P, e K determinado do pecíolo foliar das cultivares Tainung e Sunrise Solo, respectivamente.

Observa-se no mês de agosto que os teores de N, para as duas cultivares, estão abaixo do considerado adequado para mamoeiro (Figura 9), que é de 13 a 25 g Kg<sup>-1</sup>, na matéria seca do pecíolo (AWADA e LONG, 1971; AWADA,

1977; AWADA e LONG, 1978 e 1980; PEREZ e CHILDERS, 1982; PEREZ-LOPEZ e REYES, 1984).

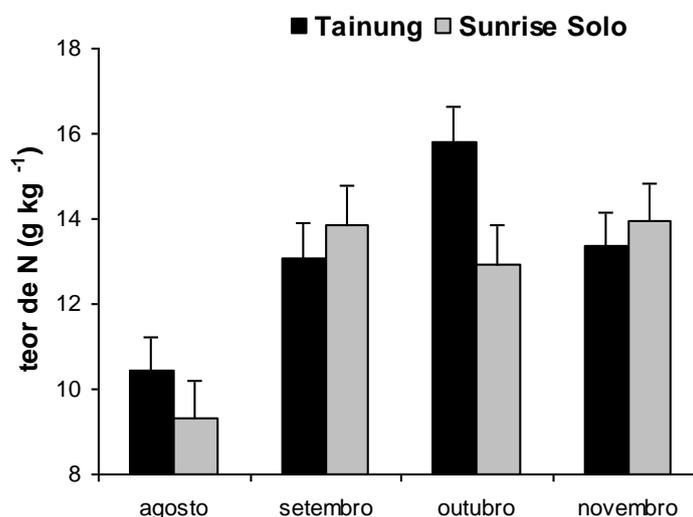


Figura 9 – Teor de nitrogênio na matéria seca de pecíolo foliar do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e Sunrise Solo nos meses de agosto a novembro de 2004 (n=10).

Os teores de P no pecíolo (Figura 10), das duas cultivares, também se encontraram abaixo da faixa adequada de 2 a 4 g kg<sup>-1</sup> para mamoeiro em todos os meses analisados (AWADA, 1977; AWADA E LONG, 1978). Entretanto, observou-se que aumentos nos teores de P, no pecíolo, foram acompanhados por elevações nos teores de N.

Considerando que a faixa adequada para o K, no pecíolo da folha de mamoeiro, situa-se entre 30 a 60 g kg<sup>-1</sup> (REUTHER e ROBINSON, 1986), foi observada também uma deficiência de K pela análise do pecíolo em todos os meses analisados (Figura 11).

No mês de agosto, a baixa precipitação de apenas 18 mm, pode ter causado uma menor absorção do N, P e K na planta. O aumento do teor desses macronutrientes na planta nos meses de outubro e novembro, pode ser devido à elevação dos valores de pluviosidade, que acarretou maior disponibilidade de água no solo e, assim, facilitou a absorção pela planta.

Em todos os meses analisados, nas duas cultivares, o teor de N apresentou-se mais elevado quanto maior era o teor de P e K no pecíolo foliar. Essas observações confirmam os resultados obtidos por Oliveira e Caldas (2004) para plantas de mamoeiro da cultivar Sunrise Solo, que apresentam maior teor de N quando os teores de P e K se elevam.

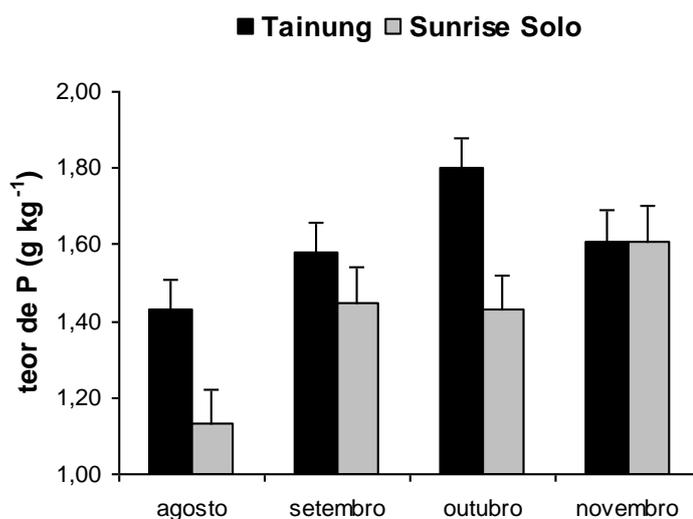


Figura 10 – Teor de fósforo na matéria seca de pecíolo foliar do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e Sunrise Solo dos meses de agosto a novembro de 2004 (n=10).

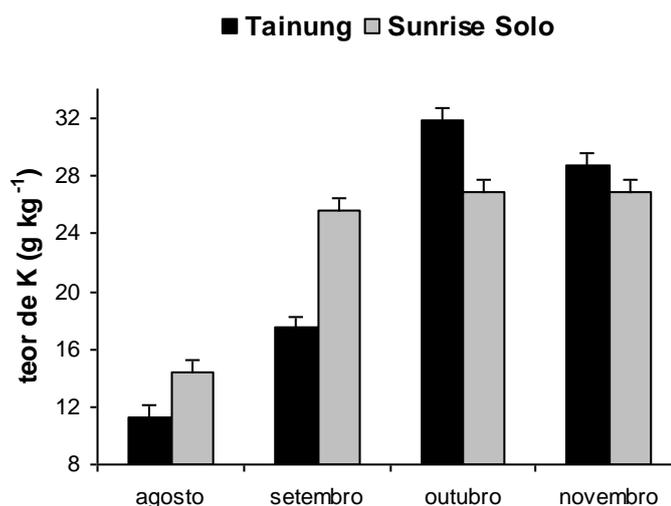


Figura 11 – Teor de potássio na matéria seca de pecíolo foliar do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e Sunrise Solo dos meses de agosto a novembro de 2004 (n=10).

A relação entre N e P pode ser atribuída à importância do P no metabolismo do N, uma vez que a enzima chave na assimilação do nitrogênio - a Redutase do Nitrato (RN) é ativada por fosforilação. Essa enzima catalisa a transformação do nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) absorvido do solo em nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) dentro do cloroplasto, sendo este, o primeiro passo para a incorporação do nitrogênio em esqueletos carbônicos, formando proteínas e enzimas (McMICHAEL et al., 1995).

Quando se relacionou a atividade da redutase do nitrato nas folhas com a concentração de nitrogênio na planta obteve-se uma correlação de 91% para as plantas da cultivar Tainung (Figura 12). Nessa cultivar observou-se que a atividade da RN aumentou com a elevação da concentração de nitrogênio na planta e, a máxima atividade ocorreu quando a concentração de nitrogênio foi maior. Estes resultados concordam com aqueles encontrados por Galon et al. (2003) em mamoeiro da cultivar Golden, bem como com Machado et al (2001), em folhas de plantas de milho, Nievola e Mercier (2001) em abacaxizeiro e Rapassi et al. (2003) em feijoeiro.

A atividade da NR acompanhou o aumento da concentração de nitrogênio nas plantas da cultivar Tainung (Figura 12) e, a máxima atividade ocorreu quando a concentração de nitrogênio na planta foi a maior. Estes resultados concordam com aqueles encontrados por Machado et al (2001), em folhas de plantas de milho, Galon et al. (2003), em mamoeiro da cultivar Golden, Rapassi et al. (2003) em feijoeiro e Nievola e Mercier (2001) em abacaxizeiro. A correlação obtida para as plantas da cultivar Sunrise Solo foi de apenas 33% (Figura 13) fato que sugere outros fatores, além da concentração de nitrogênio, exercendo influência na atividade desta enzima. A atividade da NR nas folhas é influenciada pelo ATP (inativada pela fosforilação - KAISER e SPILL, 1991; HUBER *et al.*, 1992), NADPH (aceptor de elétrons e cofator da reação de oxiredução) e carboidratos (fornecendo energia para reações endorgônicas – entrada do nitrato nas células), ambos produtos da fotossíntese (GALON e SILVA, 2001), e também pelo nitrogênio, sob a forma de  $\text{NO}_3^-$ , que é substrato para a enzima (CARELLI *et al.*, 1996; CAMPBELL, 1999).

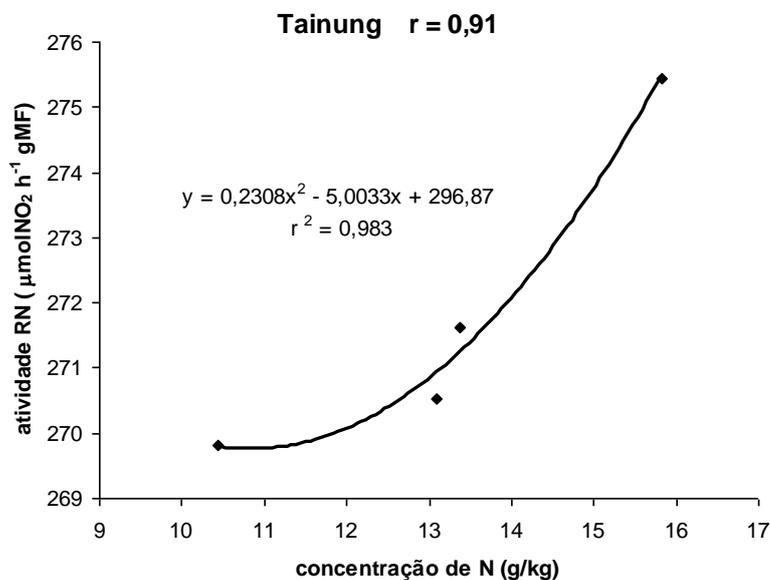


Figura 12 – Correlação entre a concentração de nitrogênio na planta e atividade da Redutase do Nitrato (RN) na folha de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv Tainung dos meses de agosto a novembro de 2004.  $r$  = coeficiente de correlação linear;  $r^2$  = coeficiente de determinação da análise de regressão.

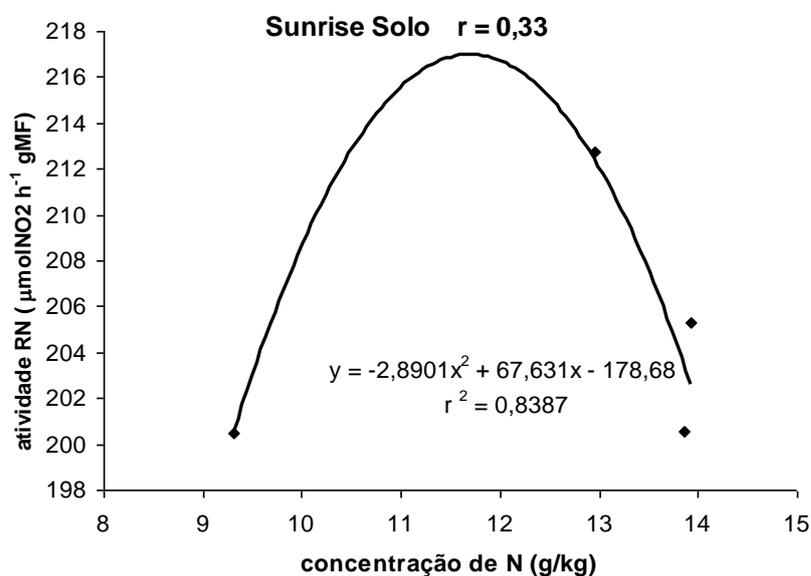


Figura 13 – Correlação entre a concentração de nitrogênio na planta e atividade da Redutase do Nitrato (RN) na folha de plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv Sunrise Solo dos meses de agosto a novembro de 2004.  $r$  = coeficiente de correlação linear;  $r^2$  = coeficiente de determinação da análise de regressão.

Como a eficiência fotoquímica do FS II ( $F_v/F_m$ ) está diretamente relacionada com a atividade da RN nas folhas, houve uma relação de 74% e 96%, entre essas duas características nas plantas de mamoeiro das cultivares Tainung e Sunrise Solo, respectivamente (Figuras 14A e 14B).

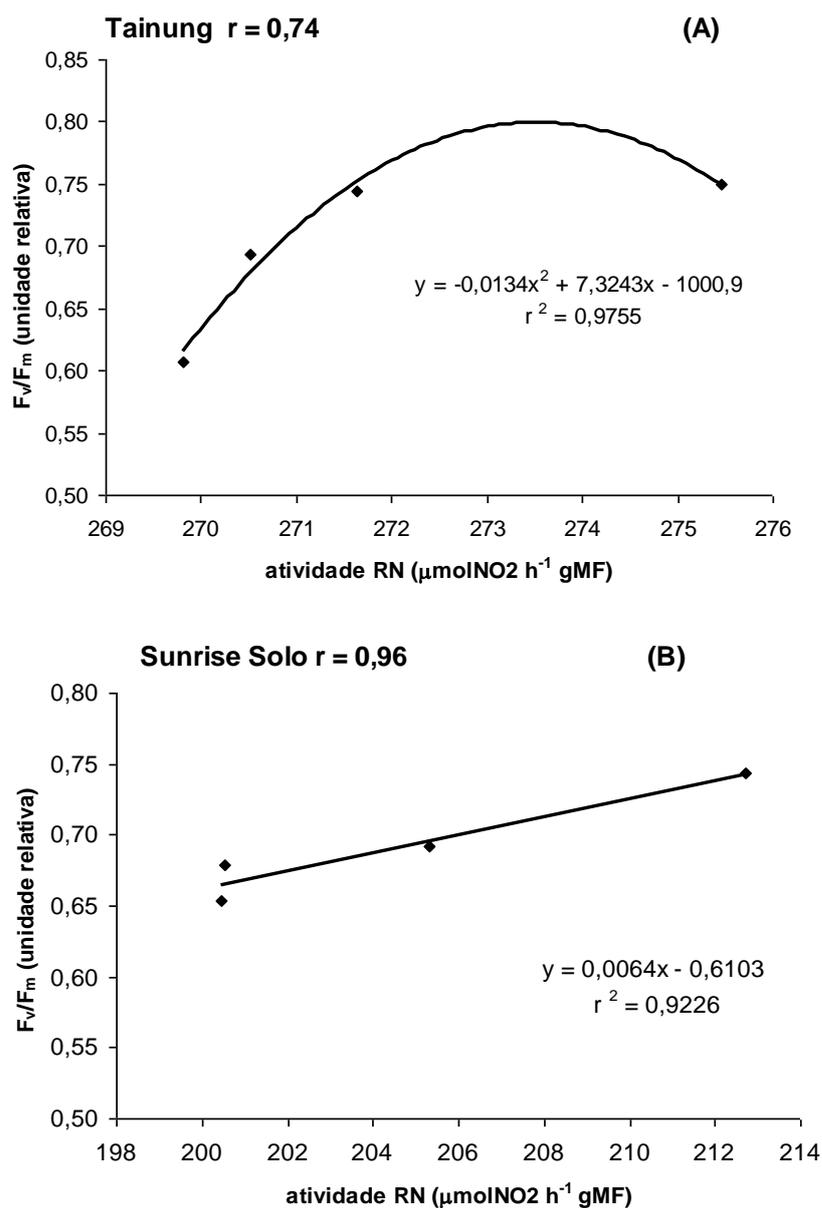


Figura 14 – Eficiência fotoquímica ( $F_v/F_m$ ) e atividade da Redutase do Nitrato (RN) na folha de plantas de mamoeiro cultivar Tainung (A) e Sunrise Solo (B) dos meses de agosto a novembro de 2004.  $r$  = coeficiente de correlação linear;  $r^2$  = coeficiente de determinação da análise de regressão.

Observa-se que a razão  $F_v/F_m$  das plantas das duas cultivares aumentou com o incremento da atividade da Redutase do Nitrato. Resultado semelhante já havia sido obtido por Fontes (2003) em plantas de mamoeiro da cultivar Sunrise Solo 72/12. Porém, o autor registra uma correlação linear positiva de apenas 42%, entre  $F_v/F_m$  e atividade da RN.

De acordo com os valores de correlação encontrados para as cultivares Tainung e Sunrise Solo (Figura 14), verifica-se que a  $F_v/F_m$  das plantas da cultivar Sunrise Solo estão melhor relacionadas com a atividade da Redutase do Nitrato o que significa dizer maior dependência da disponibilidade de nitrogênio na planta.

Baseado nos resultados, conclui-se que a eficiência fotoquímica do fotossistema II, obtida por meio da técnica de emissão da fluorescência da clorofila a, pode ser utilizada como ferramenta para indicar estresse em plantas de mamoeiro, visando melhorar o manejo na pré-colheita da cultura.

## **CAPÍTULO 2**

### **ATIVIDADE DA ENZIMA PECTINAMETILESTERASE DURANTE O AMADURECIMENTO DE MAMÃO**

#### **RESUMO**

Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade da enzima pectinametilesterase, durante o período de pós-colheita, e associar as mudanças da atividade dessa enzima com a perda de firmeza da polpa de frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e Sunrise Solo. Os frutos foram coletados mensalmente de uma lavoura comercial e diariamente, durante oito dias após a colheita, foram feitas medições de firmeza da polpa e da atividade da enzima pectinametilesterase. Ao analisar diariamente o amadurecimento dos frutos observou-se um padrão de perda de firmeza da polpa para cada cultivar de mamoeiro. A perda da firmeza da polpa dos frutos da cultivar Tainung iniciou-se no 4º dia após a colheita, sendo que no 8º dia os frutos apresentavam-se maduros. Na cultivar Sunrise Solo o início do amolecimento dos frutos ocorreu também no 4º dia, mas no 7º dia os frutos já

se encontravam maduros. Observa-se que a atividade da pectinametilesterase (PME) apresentou o mesmo perfil durante os meses analisados para cada cultivar variando, entretanto de uma cultivar para outra. Em ambas cultivares, o aumento da atividade da pectinametilesterase precedeu o início da perda da firmeza da polpa dos frutos. Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que a PME participa do processo de amadurecimento dos frutos de mamoeiro das cultivares Tainung e Sunrise Solo, disponibilizando o substrato, o ácido poligalacturônico desmetilado, para a PG.

**CHAPTER 2**  
**ACTIVITY OF THE ENZYME PECTINESTERASE DURING THE RIPENING**  
**OF PAPAYA**

**ABSTRACT**

This work had as objective to evaluate the activity of the enzyme pectinesterase, during the period of postharvest, and to associate the changes of the enzyme activity with the loss of firmness of the pulp of fruits of the papaya (*Carica papaya L.*) cv. Tainung and Sunrise Solo. The fruits had been collected monthly from a commercial farming and daily, during eight days after the harvest, had been made measurements of firmness of pulp and the activity of

the enzyme pectinesterase. When analyzing daily the ripening of the fruits was observed a standard of loss of firmness of the pulp for each cultivate of papaya. The loss of the firmness of the pulp of the fruits of cultivate Tainung was initiated in 4<sup>o</sup> day after the harvest, being that in 8<sup>o</sup> day the fruits presented themselves mature. In cultivate Sunrise Solo the softening begins also occurred in 4<sup>o</sup> day, but in 7<sup>o</sup> day the fruits already met mature. It was observed that the pectinesterase activity the same presented profile during the analyzed months each to cultivate varying, however of one to cultivate for another one.

In both cultivates, the increase of the enzyme activity preceded the beginning of the loss of the firmness of the pulp of the fruits. Based in the results, we can conclude that the PME participates of the ripening process from fruits of papaya of cultivates Tainung and Sunrise Solo, releasing substratum for the poligalacturonase enzyme.

## **CAPÍTULO 2**

### **ATIVIDADE DA ENZIMA PECTINAMETILESTERASE DURANTE O AMADURECIMENTO DE MAMÃO**

#### **1 – INTRODUÇÃO**

O processo de amolecimento da polpa é parte integrante do amadurecimento de quase todos os frutos, sendo ocasionado, provavelmente, por mudanças na atividade de enzimas presentes nas células, que, juntamente com a perda de água, contribuem para as mudanças na firmeza da polpa (ABU-GOUKH e BASHIR, 2003). A degradação de protopectina da lamela média, da parede celular primária e o aumento da pectina solúvel, durante o amadurecimento dos

frutos são sugeridos como causas principais da perda da firmeza (OWINO et al, 2004).

O'donoghue et al. (1997) relataram que o efeito das modificações da parede celular durante o amadurecimento do fruto se deve a dissolução da região da lamela média e a desordem geral do material remanescente da parede celular, observados por microscopia eletrônica. Ketsa e Daengkanit (1999) sugerem que as mudanças na firmeza da polpa dos frutos, em grande parte, são resultados da hidrólise mediada por mecanismos enzimáticos que, de certo modo, influenciam a arquitetura da parede celular.

Em mamões, várias pesquisas foram conduzidas a respeito da degradação enzimática da parede celular durante o amadurecimento, resultando na perda de firmeza da polpa. Segundo Camargo et al. (2000), a perda da firmeza da polpa do mamão, durante o amadurecimento, é atribuída à ação de pectinases presentes na parede celular. A pectinametilesterase (PME) e a poligalacturonase (PG) são algumas das enzimas que participam do processo de amadurecimento de frutos (CHUANYAO et al., 2002).

De acordo com Bicalho et al. (2000), a atividade da PME deve preceder a atividade da PG, no sentido de facilitar a atividade desta última, pela desmetilação do poliuronídeo. Assim, a poligalacturonase teria maior afinidade pelo substrato linear, desmetilado, após a atuação da pectinametilesterase. Entretanto, Manrique e Lajolo (2004) sugerem que a PME participa diretamente dos primeiros passos do processo de amolecimento dos frutos, desesterificando o polímero de ácido galacturônico (pectina) enquanto que a PG catalisa a hidrólise das ligações  $\alpha$ -1,4 entre os resíduos de ácido galacturônico no interior da cadeia de pectina.

Baseado nessas informações, este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade da enzima pectinametilesterase, durante o período de pós-colheita, e associar as mudanças da atividade dessa enzima com a perda de firmeza da polpa de frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung e Sunrise Solo.

## 2 – MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Amostragem

Mensalmente, foram coletados frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) da cultivar Tainung (grupo Formosa) e da cultivar Sunrise Solo (grupo Solo), de uma lavoura comercial, fornecedora da Agra Pex Brazilian Papaya, localizada no município de Aracruz – ES, Latitude 19°49'13 SUL, Longitude 40°16'24 OESTE e altitude de 60 metros (IBGE).

Os frutos foram coletados quando apresentavam casca verde claro e com duas estrias longitudinais, partindo da base do fruto até o pedúnculo. Esse ponto de colheita, denominado estágio 2 (SOUZA, 1998), é o mais utilizado para o mercado externo. Após a colheita, os frutos foram acondicionados em caixas plásticas e transportados para o laboratório, onde foram semi – esterilizados com solução 5% de hipoclorito (v/v). Os frutos permaneceram em local protegido da incidência direta da luz solar e sob temperatura ambiente até serem analisados.

## **2.2. Quantificação da firmeza**

A amostragem foi realizada nos oito primeiros dias após colheita (DAC). Diariamente, quatro frutos tiveram a casca removida e na região equatorial da polpa, foram feitas medidas em quatro pontos eqüidistantes, utilizando-se um penetrômetro marca EFFEGI. Os resultados, correspondentes à média das quatro medições, foram expressos em  $\text{Kgf cm}^2$ .

O alto valor de firmeza da polpa dos frutos, nos três primeiros dias após a colheita, impossibilitou a determinação da firmeza, uma vez que a capacidade máxima do aparelho é de  $8,27 \text{ Kgf cm}^2$ .

## **2.3. Atividade da pectinametilesterase (EC 3.2.2.22)**

Para a análise da atividade da enzima pectinametilesterase (PME – EC 3.2.2.22) quatro frutos foram utilizados por dia, do total de amostras coletadas. A seleção das amostras foi feita por avaliação subjetiva, forma visual, de acordo com o tamanho do fruto e a coloração apresentada pela casca. Amostras de polpa de cada um dos mamões selecionados foram retiradas em cada data de análise, congeladas em nitrogênio líquido, e mantidas em freezer ( $-20^\circ\text{C}$ ) até o instante da determinação da atividade enzimática.

### **2.3.1. Preparação do extrato da PME**

O extrato para a atividade da PME foi preparado de acordo com Hagerman e Austin (1986). Amostras de 5 g de polpa de mamão foram homogeneizadas em 40 mL de uma solução de NaCl 1,0 M ajustada a pH 7,5 e na presença de 1,0 % (p/v) de polivinilpolipirrolidona (PVPP) insolúvel. O extrato foi centrifugado a 15.000 g durante 30 minutos em centrífuga refrigerada a -4°C e do sobrenadante obtido quantificou-se a atividade da PME logo após ajustar o pH para 7,5.

### **2.3.2. Ensaio da atividade da PME**

A determinação da atividade da PME foi realizada mediante o método espectrofotométrico descrito por Hagerman e Austin (1986). Esse método se baseia na troca de cor do indicador de pH durante a realização de catálise da PME. À medida que as ligações ésteres da pectina são hidrolisadas, grupos ácidos são produzidos provocando uma redução no pH e, como consequência ocorre uma alteração na cor do indicador. Esta mudança de cor é monitorada de forma contínua no espectrofotômetro. A atividade da PME corresponde à velocidade inicial da reação.

Como substrato utilizou-se uma mistura de pectina de cítricos no qual se adicionou azul de bromotimol (3,3 – dibromotimosulfenolftaleína), pKa = 6. Uma quantidade de 0,5 % (p/v) de pectina de citrus foi solubilizada em água destilada aquecida a 80 °C sob agitação constante. Após a solubilização a pectina foi mantida em repouso até alcançar a temperatura ambiente, sendo então ajustado o pH para 7,5. A solução de azul de bromotimol 0,01 % (p/v), foi preparada diluindo-se essa substância em 3 mM de tampão fosfato de potássio, sendo ajustado o pH para 7,5. O substrato foi preparado misturando 75 µL de azul de bromotimol para cada 1,0 mL de pectina de citrus.

Para a análise, foram misturados 0,4 mL do extrato enzimático a 1,0 mL da pectina e azul de bromotimol e a variação de absorbância a 620 nm foi

monitorada por um período de 2 minutos com leituras a intervalos de 5 segundos em espectrofotômetro. A reação ocorreu em temperatura aproximada de 25°C. A diferença entre a absorbância inicial e final foi utilizada para calcular a atividade da PME.

Para o cálculo da atividade da PME uma curva de calibração foi preparada com ácido galacturônico. Uma unidade da atividade da PME foi definida como a quantidade de enzima que libera 1  $\mu\text{mol}$  de ácido galacturônico por minuto por miligrama de proteína.

#### **2.4. Determinação do conteúdo de proteína**

Para se obter a atividade específica da enzima PME, o conteúdo protéico do extrato foi determinado por método fotolorimétrico de acordo com Lowry et al. (1951), utilizando soro albumina bovina como padrão.

#### **2.5. Análise estatística**

Os ensaios foram avaliados de acordo com um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições diárias de medidas de firmeza e de atividade da PME. Os dados foram submetidos a uma análise de variância e, quando os valores de F foram significativos, comparações de médias foram realizadas, usando-se o teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990). Para determinar as relações e comparações entre os dados foram realizadas análises de correlação e regressão (LAPPONI, 2000).

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar diariamente o amadurecimento dos frutos de cada cultivar de mamoeiro, observa-se que houve um padrão de perda de firmeza da polpa (Figuras 1 e 2). Na cultivar Tainung (Figura 1) a firmeza da polpa dos frutos permaneceu inalterada nos 3 primeiros dias após a colheita (DAC). Somente a partir do 4º dia, iniciou-se a perda da firmeza e, apenas no 8º DAC é que os frutos encontraram-se totalmente maduros. Na cultivar Sunrise Solo (Figura 2), o início da perda de firmeza da polpa ocorreu no 4º dia, e no 7º DAC os frutos estavam completamente maduros. Lazan et al. (1995) observaram que o início da perda de firmeza da polpa dos frutos de mamoeiro da cultivar Eksotika também ocorreu no 4º DAC, entretanto, o amadurecimento completo somente ocorreu no 10º DAC.

Ao se comparar a perda de firmeza dos frutos de mamão, das cultivares Tainung e Sunrise Solo do presente trabalho, com a perda de firmeza de outros frutos climatéricos, observa-se que o padrão apresentado durante o amadurecimento pode ser bem diferente. Frutos de durião (*Durio zibethinus* Murray), um fruto muito consumido na Tailândia, amolecem totalmente aos

4ºDAC (IMSABAI et al., 2002). Já frutos de goiaba (*Psidium guajava* L.) começam a amolecer no 10º DAC (CARVALHO et al., 2001), enquanto que frutos de carambola (*Averrhoa carambola* L.) apresentam o início do amolecimento da polpa somente após 25 dias da colheita (ALI et al., 2004a).

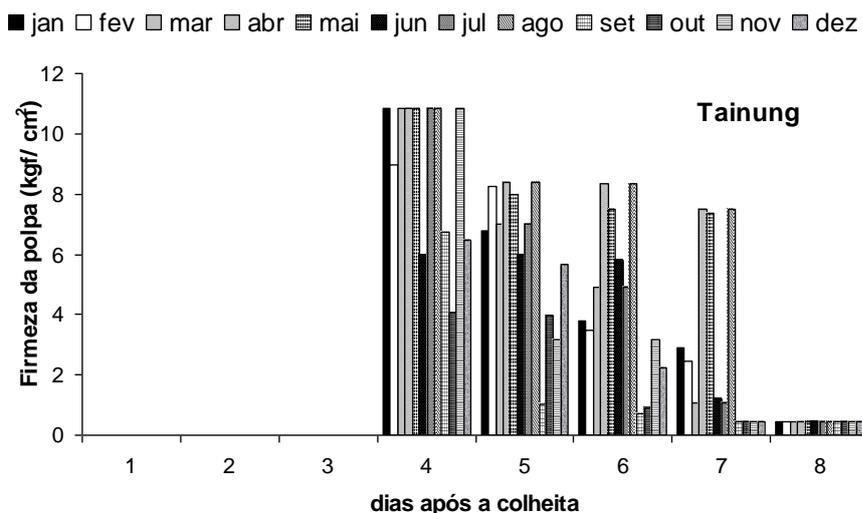


Figura 1 - Evolução na perda de firmeza de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv Tainung. As colunas mostram a média da firmeza dos frutos analisados diariamente (n=4).

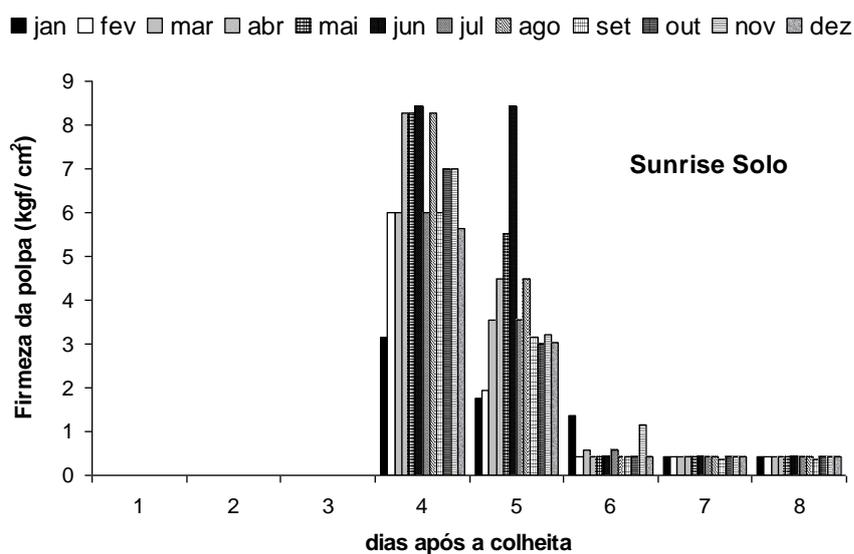


Figura 2 - Evolução na perda de firmeza de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Sunrise Solo. As colunas mostram a média da firmeza dos frutos analisados diariamente (n=4).

A Figura 3 mostra a atividade mensal da pectinametilesterase (PME), enzima envolvida na degradação da parede celular da polpa de frutos durante o amadurecimento.

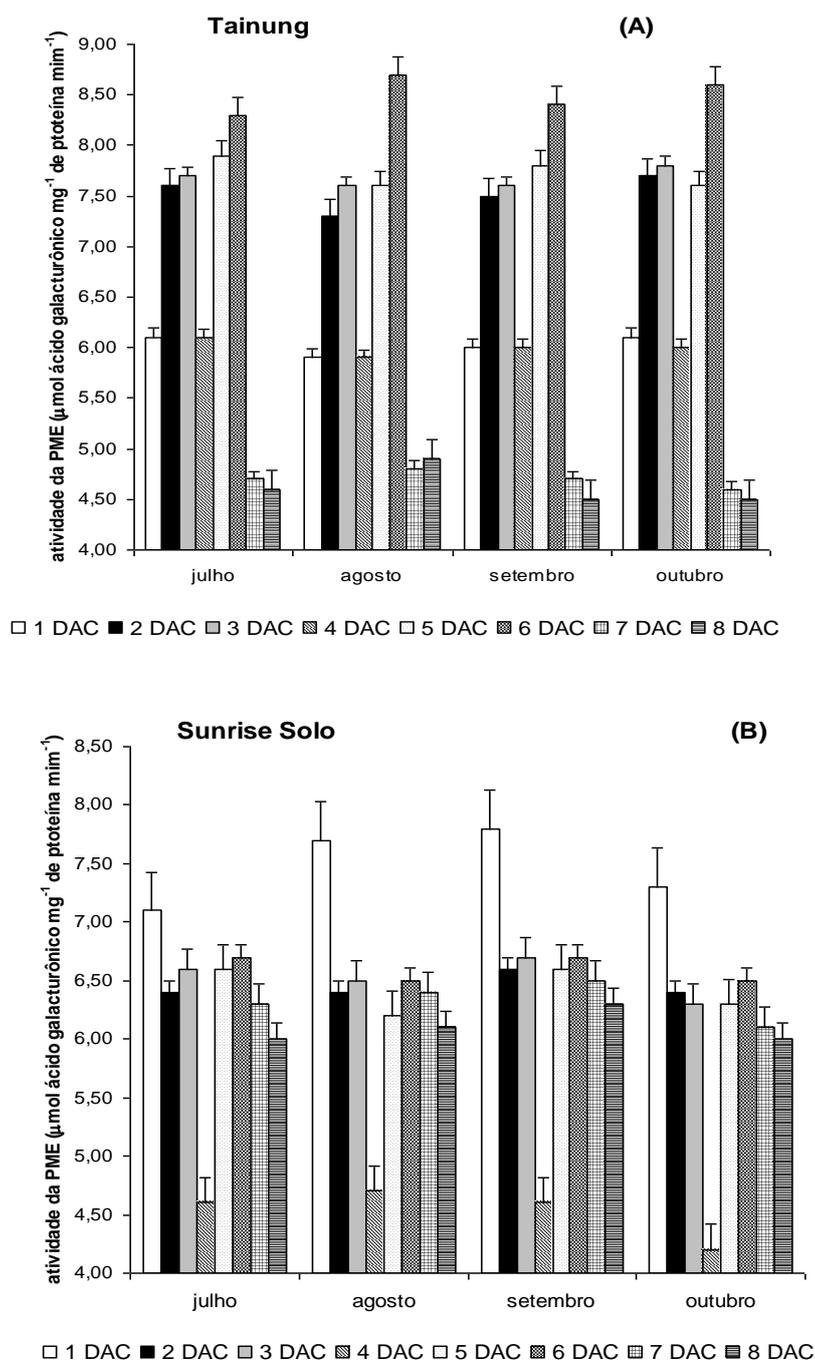


Figura 3 – Atividade da pectinametilesterase na polpa de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv Tainung (A) e Sunrise Solo (B), nos meses de julho a outubro (n= 4).

Na cultivar Tainung (Figura 3A), a atividade da PME aumentou do 1º até o 3º DAC, sendo que no 4º dia a atividade da enzima sofreu um decréscimo acentuado, seguido por um novo aumento de atividade. No 7º e 8º DAC a atividade da PME apresentou seus menores valores. Na cultivar Sunrise Solo (Figura 3B), no 1º dia após a colheita a atividade da PME já se apresentava alta, sofrendo um decréscimo posterior, até atingir, no 4º DAC, o seu menor valor. A atividade da enzima aumentou no 5º DAC e estabilizou aparentemente a partir de então, a sua atividade. Estes resultados são antagônicos àqueles encontrados por Lazan et al. (1995), trabalhando com frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Eksotika. Os autores observaram que a atividade da PME apresentava um aumento gradativo durante o amadurecimento do fruto. Observa-se ainda na Figura 3 que a atividade da pectinametilesterase (PME) apresentou o mesmo perfil durante os meses analisados para cada cultivar variando, entretanto de uma cultivar para outra. A Figura 4 mostra a correlação (de - 60%) entre firmeza da polpa e atividade da PME para os frutos da cultivar Tainung a partir do 4º DAC, dia em que se iniciou a perda da firmeza da polpa desses frutos. Essa correlação negativa demonstra que a firmeza da polpa decresceu à medida que a atividade da PME aumentou.

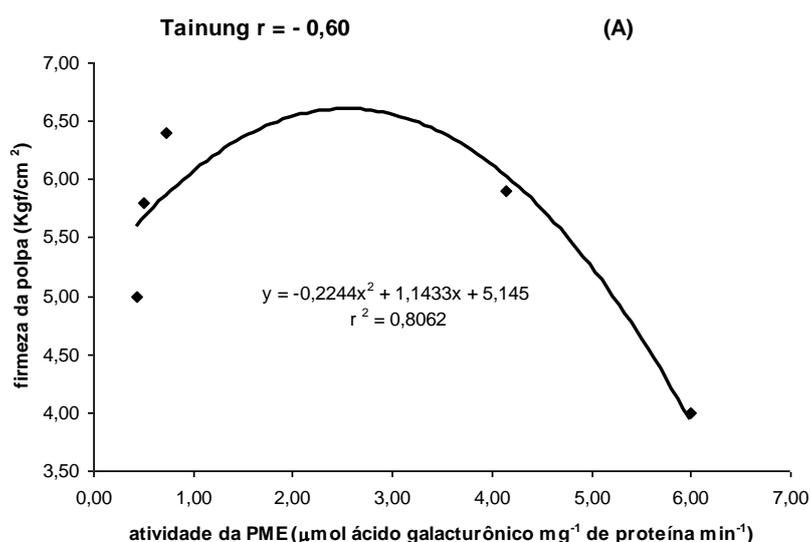


Figura 4 – Relação entre atividade da pectinametilesterase (PME) e a perda da firmeza da polpa de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Tainung a partir do 4º DAC (n=4).  $r^2$  = coeficiente de determinação da análise de regressão.

Na cultivar Sunrise Solo (Figura 5) observou-se também uma correlação negativa, de 93% entre firmeza da polpa e atividade da PME. A firmeza dos frutos, como em Tainung, diminuiu com o aumento da atividade da PME a partir do 4<sup>o</sup> DAC. Estes resultados sugerem que a atividade dessa enzima está diretamente relacionada com o processo de amolecimento dos frutos dessas cultivares.

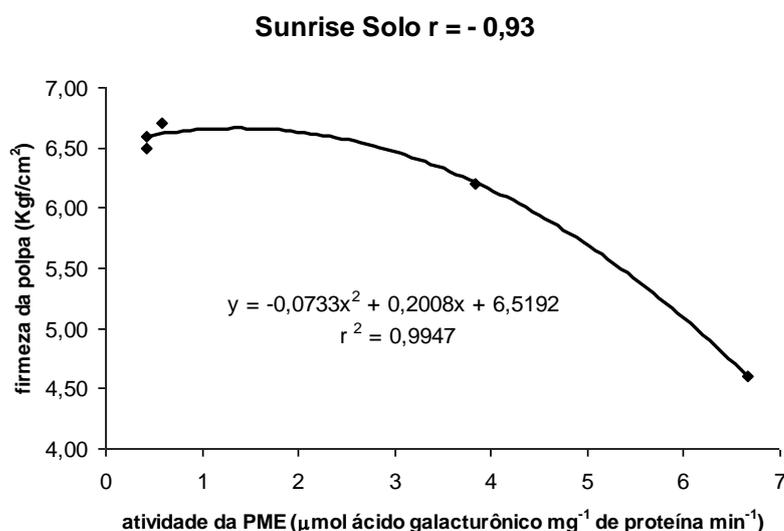


Figura 5 – Relação entre atividade da pectinametilesterase (PME) e a perda da firmeza da polpa de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Sunrise Solo a partir do 4<sup>o</sup> DAC. (n=4).  $r^2$  = coeficiente de determinação da análise de regressão.

Bicalho et al. (2000) sugerem que a PME não está diretamente envolvida no processo de amolecimento dos frutos de mamão. Sua atividade facilitaria a atuação da enzima poligalacturonase (PG), que participa diretamente do processo de amadurecimento dos frutos. Os resultados neste trabalho estão de acordo com Manrique e Lajolo (2004) que propõem a participação efetiva da PME na etapa inicial do processo de amolecimento dos frutos de mamão.

Segundo ALI et al (2004a) o início da perda da firmeza dos frutos de carambola (*Averrhoa carambola* L.) ocorre com o aumento da atividade da PME. ALI et al. (2004b) observaram que o aumento da atividade da PME também acompanha

a perda na firmeza da polpa durante o amadurecimento de frutos de goiaba (*Psidium guajava* L.), banana (*Musa acuminata*, grupo AA, família Musaceae), carambola (*Averrhoa carambola* L.) e mamão.

Baseado nas discussões apresentadas e nos resultados obtidos pode-se concluir que a PME participa do processo de amadurecimento dos frutos de mamoeiro das cultivares Tainung e Sunrise Solo, disponibilizando o substrato, o ácido poligalacturônico desmetilado, para a PG.

## REFERÊNCIAS

ABU-GOUKH, A. e BASHIR, H. A. A Changes in pectic enzymes and cellulase activity during guava fruit ripening. **Food Chemistry**, London, v. 83, p. 213-218, 2003.

ALI, Z.M.; CHIN, L.; MARIMUTHU, M. e LAZAN, H. Low temperature storage and modified atmosphere packaging of carambola fruit and their effects on ripening related texture changes, wall modification and chilling injury symptoms. **Postharvest Biology and Technology**. v. 33, p. 181-192, 2004 a.

ALI, Z. M.; CHIN, L. e LAZAN, H. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. **Plant Science**. v. 167,n.2, p. 317-327, 2004 b.

ANDRIGUETO, J. R. e KOSOSKI, A. R. Desenvolvimento e conquistas da produção integrada de frutas no Brasil. **Papaya Brasil - Qualidade do mamão para o mercado interno**, p.87-94, 2003.

AWADA, M.; LONG, C.R. Relation of petiole nitrogen levels to nitrogen fertilization and yield of papaya. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, VA, v.96, p.745-749, 1971.

AWADA, M. Relation of nitrogen and phosphorus, and potassium fertilization to nutrient composition of the petiole and growth of papaya. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, VA, v.102, p. 413-418, 1977.

AWADA, M.; LONG, C.R. Relation of nitrogen and phosphorus fertilization to fruiting and petiole composition of 'Solo' papaya. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, VA, v.103, p. 217-219, 1978.

AWADA, M.; LONG, C.R. Nitrogen and potassium fertilization effects on fruiting and petiole composition of 24 to 48 month old papaya plants. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, VA, v.105, p. 505-507, 1980.

BICALHO, U. O.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F.; COELHO, A. H. R. Modificações texturais em mamões submetidos à aplicação pós-colheita de cálcio e embalagem de PVC. **Ciência Agrotécnica**, Lavras - MG, v.24, n.1, p.136 -146, 2000.

BRAPEX - Associação Brasileira de Exportadores de Papaya. Produção de mamão. Disponível em: [http:// www.brापex.net](http://www.brापex.net). Acesso em fevereiro de 2005.

BRON, I.U.; RIBEIRO, R. V. AZZOLINI, M. ; JACOMINO, A. P.; MACHADO, E. C. Chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the ripening of 'Golden' papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v. 33, p. 163 –173, 2004.

CAMARGO, Y. R.; LIMA, L. C de O.; SCALON, S. de P. Q.; SIQUEIRA, A. C. Efeito do cálcio sobre o amadurecimento de morangos (*fragaria ananassa* duch.) cv. campineiro. **Ciência Agrotécnica**, Lavras - MG, v. 24, n.4, p. 968-972, 2000.

CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, p.277-303, 1999.

CAMPOSTRINI, E.; POSSE, S.C.P.; SILVA, R. F. da; NETTO, A. T. Eficiência fotoquímica, medidas biométricas e leituras do medidor portátil de clorofilas (SPAD -502) em mudas de mamoeiro "Formosa" cultivadas em dois volumes de recipientes de cultivo. **Papaya Brasil - Qualidade do mamão para o mercado interno**, p. 413-416, 2003.

CARELLI, M.L.C.; UNGARO, M.R.G. ; FAHL, J.I. e NOVO, M.do C.S.S. Níveis de nitrogênio, metabolismo, crescimento e produção de girassol. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 8(2): 123-130, 1996.

CARVALHO, H. A. de; CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B.; CARVALHO, H. S de. Efeito da atmosfera modificada sobre componentes da parede celular da goiaba. **Ciência Agrotécnica**, Lavras - MG, v. 25, n.3, p. 605 -615, 2001.

CASTRO F. A.; CAMPOSTRINI, E.; CHIQUIERI, T. B. REIS, F. O.; NETO, A. T.; GOMES, M. M. A.; SANTOS, A. M. AZEVEDO, L. C. E SOUZA, M. A. In: XVIII Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2004, Florianópolis, SC. Estresse hídrico em mudas de mamoeiro "golden": efeitos sobre a fotoquímica da

fotosíntese. **Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Florianópolis, SC, 2004.

CHARTZOULAKIS, K.; PATAKAS, A.; KOFIDIS, G.; BOSABALIDIS, A. E NASTOU, A. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 95, p. 39–50, 2002.

CHUANYAO, W.; MENGYUE, J.; MEIXU, G.; MA XIUYE.; SHUFEN, Z.; SHUCHENG, L. A study of the physiological changes and the nutritional qualities of irradiated apples and the effect of irradiation on apples stored at room temperature. **Chinese Academy of Agricultural Sciences**. 2002.

CLEMENTE, H.S. e MARLER, T.E. Drought stress influences gas-exchange responses of papaya leaves to rapid changes in irradiance. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, VA, v. 121, p. 292-295, 1996.

COSTA, E. S.; BRESSAN-SMITH, R.; OLIVEIRA, J. G.; CAMPOSTRINI, E.; PIMENTEL, C. Photochemical efficiency in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. Walp) during recovery from high temperature stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas – SP, v.14, n.2, p. 105-110, 2002.

DEELL, J.R., VAN KOOTEN, O., PRANGE, R.K., MURR, D.P. Applications of chlorophyll fluorescence techniques in postharvest physiology. **Horticultural Reviews**. v. 23, p. 69–107, 1999.

FAGUNDES, G. R. e YAMANISHI, O. K. Características físicas e químicas de frutos do mamoeiro do grupo "Solo" comercializados em quatro estabelecimentos de Brasília-DF. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v.23, n.3, p. 541-545, 2001.

FOLEGATTI, M. I. da S.; MATSUURA, F.C.A.U. **Mamão pós-colheita**. Embrapa Mandioca Fruticultura (Cruz das Almas, BA). – Brasília Embrapa Informação Tecnológica, 59p. ; il.; (Frutas do Brasil; 21), 2002.

FONTES, R.V., GALON, C.Z., FALQUETO, A. R, COSTA, A.F.S., LEITE, I.T.A., SILVA, D. M. S. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2002, Belém, Pará. Ecofisiologia do Mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Sunrise durante o Estresse Hídrico. In: **Anais do XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Belém, PA, Brasil, 2002.

FONTES, R. V. **Eficiência Fotossintética e sua correlação com a variação diurna da atividade da redutase do nitrato em plantas de mamão (*Carica papaya* L. cv. Sunrise Solo)**. (Monografia - Ciências Biológicas). UFES, 26p. 2003.

GALON, C. & SILVA, D. M. Crescimento inicial e atividade da redutase do nitrato em plantas de mamão(*Carica papaya* L.) cv. Golden e Sunrise Solo. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal (Supl.)**, v.13, p. 01-04, 2001.

GALON, C.; GOMES, F.B.; FONTES, R.V.; SILVA, D.M. Eficiência fotossintética em mamoeiro Golden e Sunrise Solo. In: IX Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, 2003, Atibaia - SP. **Brazilian Journal of Plant Physiology** (Suplemento), Campinas - SP, v.15, p.69, 2003.

GOMES, F. B. GALON, C. Z. LOPES, F. P. FONTES, R. V. SILVA, D. M. Variações diurnas da fotossíntese em mudas de *Carica papaya* L. **Papaya Brasil - Qualidade do mamão para o mercado interno**, p. 430-433, 2003.

GOMES, F. B. GALON, C. Z. FONTES, R. V. SILVA, D. M. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2004, Florianópolis, SC. Eficiência fotossintética e suas correlações com a qualidade do fruto do mamoeiro. In: **Anais do XVIII**

**Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Centrosul, Florianópolis, SC, Brasil, 2004.

GRAY, G.R.; CHAUVIN, F.S.; HUNER, N.P.A. Cold acclimation and freezing tolerance: A complex interaction of light and temperature. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 114, n.2, p. 467– 474, 1997.

HAGERMAN, A. E. e AUSTIN, P. J. Continuous Spectrophotometric Assay for Plant Pectin Methyl Esterase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, n.3, p. 440-444, 1986.

HUBER, J. L e HUBER, S.C. Site specific seryl phosphorylation of spinach leaf sucrose-phosphate syntase. **Biochemical Journal**, v.283, p 877-882, 1992.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em fevereiro de 2005.

IMSABAI, W.; KETSA, S.; VAN DOORN, W. G. Effect of temperature on softening and the activities of polygalacturonase and pectinesterase in durian fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v. 26, p. 347–351, 2002.

JACOMINO, A. P.; KLUGE, R. A.; BRACKMANN, A. e CASTRO, P. R. C. Amadurecimento e senescência de mamão com 1-metilciclopropeno. **Scientia Agricola**, v.59, n.2, p.303-308, 2002.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications** v. 43, n.6, p.1274-1279, 1971.

JOHNSON, G. N., YOUNG, A. J., SCHOLE, J. D., HORTON, P. The dissipation of excess excitation energy in British plant species. **Plant, Cell and Environment**, v.16, p. 673-679, 1993.

KAISER, W.M e SPILL, D. Rapid modulation of spinach leaf nitrate reductase activity by photosynthesis. Activity *in vitro* modulation by ATP and AMP. **Plant Physiology** , v.96, p.368-375, 1991.

KARAKURT, Y e HUBER, D. J. Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p. 219 - 229, 2003.

KETSA, S. e DAENGGANIT, T. Firmness and activities of polygalacturonase, pectinesterase,  $\beta$ -galactosidase and cellulase in ripening durian harvested at different stages of maturity. **Scientia Horticulturae**, v. 80, p. 181 -188, 1999.

KRAUSE, G.H., WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p. 313–349, 1991.

LAPPONI, J.C. **Estatística usando excel**. São Paulo: Lapponi Treinamento e Editora Ltda., 2000.

LAZAN, H.; SELAMAT, M. K. e ALI, Z. M.  $\beta$ - galactosidae, polygalacturonase and pectinesterase in differential softening and cell wall modification during papaya fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 95, n.1, p. 106-112, 1995.

LOWRY, O.H., ROSENBROUGH, N. I., FAAR, A.L., RANDALL R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**. v. 193, p. 265-275, 1951.

MACHADO, A. T.; SODEK, L.; FERNANDES, M. S. N-partitioning, nitrate reductase and glutamine synthetase activities in two contrasting varieties of

maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 249-256, 2001.

MACHADO FILHO, J. A.; CAMPOSTRINI, E.; FAGUNDES, G. R. e YAMANISHI, O. K. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2004, Florianópolis, SC. Estudos Ecofisiológicos de Dois Genótipos de Mamoeiro (*Carica papaya* L.) Cultivados sob Condições de Campo no Cerrado Baiano. In: **Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Centrosul, Florianópolis, SC, Brasil, 2004.

MANRIQUE, G. D. E LAJOLO, F. M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, p. 11–26, 2004.

MARLER, T.E. e MICKELBART, M.V. Drought, leaf gas exchange, and chlorophyll fluorescence of field-grown papaya. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, VA, v. 123, p. 714-718, 1998.

MAXWELL, K. e JOHNSON, G. N. Chlorophyll Fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

McMICHAEL, R. W. Jr.; BACHANN, M.; HUBER, S. C. Spinach leaf sucrose – phosphat synthase and nitrate reductase are phosphorylated / inactivated by multiple protein kinases *in vitro*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 108, p. 1077-1082, 1995.

MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. M. A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranja 'valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas - SP, v. 11, n. 1, p. 29-34, 1999.

NIEVOLA, C. C. & MERCIER, H. Variações diurnas da atividade *in vivo* da redutase do nitrato em abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr. – Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo - SP, v. 24, n.3, p. 295-301, 2001.

O'DONOGHUE, E.M.; SOMERFIELD, S.D.; VRÉ, L.A.; HEYES, J.A. Developmental and ripening related effects on the cell wall of pepino (*Solanum muricatum*) fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.73, p. 455-463, 1997.

OLIVEIRA, A. M. G e CALDAS, R. C. Produção do mamoeiro em função de adubação com nitrogênio, fósforo e potássio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 160-163, 2004.

OWINO, W. O.; NAKANO, R.; KUBO, Y.; INABA, A. Alterations in cell wall polysaccharides during ripening in distinct anatomical tissue regions of the fig (*Ficus carica* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, p. 67–77, 2004.

PASTENES C. e HORTON P. Resistance of photosynthesis to high temperature in two bean varieties ( *Phaseolus vulgaris* L.) **Photosynthesis Research**, v. 62, n.2, p. 197-203, 1999.

PEREZ, A. e CHILDERS, N.F. Growth, yield, nutrient content and fruit quality of *Carica papaya* L. under controlled conditions. Nitrogen effects. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 66, p. 71-79, 1982.

PEREZ-LOPEZ, A.; REYS-R. D. Effect of nitrogen and boron application on *Carica papaya* L: II. Petiole and fruit nutrient content and N and B index for leaf tissue analysis. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 68, p. 5-17, 1984.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, p. 467,1990.

RAPASSI, R.M.A.; BIANCHINI SOBRINHO, E.; SÁ, M. E.; HAGA, K. I. Adubação nitrogenada e ou molíbdica, atividade da redutase do nitrato e produção de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) em dois sistemas de cultivo. In: IX Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, Atibaia – SP, 2003. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas – SP, v.15, p.125, 2003.

REUTHER, D.J.; ROBINSON, J.B. **Plant analysis: An interpretation manual**. Melbourne: Inkatan Press, 218p., 1986.

RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; OLIVEIRA, R. F. de; PIMENTEL, C. High temperature effects on the response of photosynthesis to light in sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas - SP, v.15, n. 2, p. 89-97, 2003.

SCHREIBER, U., BILGER, W., NEUBAUER, C. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: Schulze, E.D., Caldwell, M.M. (Eds.), **Ecophysiology of Photosynthesis**, Springer-Verlag, Berlin, p. 49–70, 1994.

SOUZA, G. **Características físicas, químicas e sensoriais do fruto de cinco cultivares de mamoeiro (Carica papaya L.) produzidas em Macaé, RJ**. (Tese de Mestrado em Produção Vegetal). UENF, 87p. 1998.

STRAUSS, A.J. ; KRÜGER, G.H.J.; STRASSER, R.J.; VAN HEERDEN, P.D.R. Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. **Environmental and Experimental Botany**, janeiro de 2005.

THOMAS, D. S. e TURNER, D. W. Banana (*Musa sp.*) leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence in response to soil drought, shading and lamina folding. **Scientia Horticulturae**, v. 90, p. 93-108, 2001.

TRIVEDI, P. K. e NATH, P. *MaExp1*, an ethylene-induced expansin from ripening banana fruit. **Plant Science**, v. 167, n. 6, p.1351-1358, 2004.

## RESUMO E CONCLUSÕES

Altos valores de amplitude de temperatura dia/noite foram prejudiciais apenas para as plantas da cultivar Tainung, que apresentaram aumento da fluorescência inicial e redução da eficiência fotoquímica.

Nas duas cultivares, foi observado aumento da fluorescência inicial e redução da  $F_v/F_m$  das plantas durante os períodos de baixa pluviosidade e de aumento de temperatura. Entretanto, Tainung pareceu ser mais sensível ao estresse de temperatura e Sunrise Solo às variações de pluviosidade.

O teor de nitrogênio no pecíolo da folha apresentou-se elevado quanto maior era o teor de fósforo e potássio no pecíolo foliar das cultivares Tainung e Sunrise Solo.

A atividade da enzima redutase do nitrato aumentou com a concentração de nitrogênio nas duas cultivares, mostrando a importância desse elemento na regulação dessa enzima.

A correlação entre eficiência fotoquímica e atividade da redutase do nitrato foi de 74% para a cultivar Tainung e de 96% para a cultivar Sunrise Solo, permitindo inferir que a  $F_v/F_m$  das plantas dessa cultivar são as mais influenciadas pela atividade da redutase do nitrato.

Ao analisar diariamente o amadurecimento dos frutos, observou-se que, para cada cultivar, havia um padrão de perda de firmeza da polpa.

A atividade da enzima redutase do nitrato aumentou com a concentração de nitrogênio nas plantas das duas cultivares. Por meio dos valores de correlação, entre eficiência fotoquímica e atividade da redutase do nitrato, apresentados pelas cultivares, foi possível inferir que a eficiência fotoquímica das plantas da cultivar Sunrise Solo é mais dependente da atividade da redutase do nitrato do que a eficiência fotoquímica das plantas da cultivar Tainung.