

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

KETNEY TONETTO DOS SANTOS

Atividade fotoquímica em folhas do
mamoeiro *Carica papaya* L. durante o
período reprodutivo e caracterização da
ontogenia dos frutos

VITÓRIA
2007

KETNEY TONETTO DOS SANTOS

Atividade fotoquímica em folhas do
mamoeiro *Carica papaya* L. durante o
período reprodutivo e caracterização da
ontogenia dos frutos

Dissertação apresentada à Universidade
Federal do Espírito Santo como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Biologia Vegetal para
obtenção do título de Mestre em Biologia
Vegetal.

Orientador: Prof^a Dr^a Diolina Moura Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando
Ganassali de Oliveira Júnior

Vitória
2007

Ao meu filho Davi

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força para enfrentar todas as barreiras que me foram impostas durante este curso.

A Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal pela oportunidade de realização de mais este curso.

A CAPES pela bolsa de estudos.

A Fazenda Herzog pela doação dos frutos e disponibilidade da área para os experimentos de campo.

Aos meus pais, Ozires e Graça que em todos os momentos de desânimo e desespero estiveram tão presentes, me dando apoio e incentivo.

Ao meu esposo Leonardo por suportar todo meu estresse.

Ao meu filho Davi, que mesmo ainda no ventre já me transmite uma força inexplicável para que eu siga em frente.

À Viviane pela responsabilidade, dedicação, ajuda incansável e principalmente pela amizade sólida construída em meio de tantos estresses.

Ao Prof. Dr. Luiz Fernando que foi muito mais... um grande amigo.

À professora Diolina.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	7
ABSTRAT	8
INTRODUÇÃO GERAL	9
REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO 1	
ANÁLISES DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA a EM FOLHAS DO MAMOEIRO <i>Carica papaya</i> cv. Golden	
1. INTRODUÇÃO	14
2. MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1 Avaliação da Fluorescência da Clorofila a	19
2.2 Delineamento Experimental e Análise Estatística	20
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4. CONCLUSÕES	25
CAPÍTULO 2	
CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E ATIVIDADE DA ENZIMA PECTINAMETILESTERASE (PME) DURANTE A ONTOGENIA DOS FRUTOS DO MAMOEIRO (<i>Carica papaya</i> L.) cv. Golden	
1. INTRODUÇÃO	26
2. MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1 Material Vegetal e Condições de Cultivo	27
2.2 Análises Físicas e Químicas	28
2.3 Análise Bioquímica	28
2.4 Delineamento Experimental e Análise Estatística	29
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4. CONCLUSÕES	36
REFERÊNCIAS	37
CONSIDERAÇÕES FINAIS	44

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	
Figura 1. Modelo de fluxo de energia no aparelho fotossintético	16
Figura 2. Etapas subseqüentes à indução da fluorescência da clorofila <i>a</i> em folhas adaptadas ao escuro que compõem a curva OJIP	17
Figura 3. Temperatura média máxima (PMax), temperatura média mínima (PMin) e precipitação ocorrida (Po) no período de janeiro a junho de 2007 na região de Linhares – ES.....	19
Figura 4. Curso mensal da fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_M), eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_V/F_M) e da eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_V/F_0) em folhas do mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) durante o estágio reprodutivo	21
Figura 5. Fluxo específico de energia em nível de centro de reação do FSII obtidos em folhas de plantas do mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) cv. Golden durante o estágio reprodutivo.....	24
CAPÍTULO 2	
Figura 1. Frutos do mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) cv. Golden aos 15, 30, 90 e 105 dias pós-antese (DPA).....	30
Figura 2. Comprimento médio dos frutos (mm) do mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) cv. Golden.....	31
Figura 3. Frutos do mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) cv. Golden aos 105 e 120 dias pós-antese (DPA).....	31
Figura 4. Atividade da pectinametilesterase (PME) na polpa de frutos do mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) cv. Golden.....	32
Figura 5. Sólidos Solúveis (°Brix) da polpa de frutos do mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) cv. Golden.....	34
Figura 6. Média do pH na polpa dos frutos do mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) cv. Golden.....	35
Figura 7. Acidez Titulável (AT) correspondente à 1g de ácido cítrico por 100g de matéria fresca da polpa dos frutos do mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) cv. Golden.....	36

RESUMO

Neste trabalho a atividade fotoquímica em folhas de plantas do mamoeiro *Carica papaya* L. cv. Golden foi quinzenalmente avaliada em uma lavoura comercial. As medidas tiveram início na antese e finalizadas após a primeira colheita (janeiro a junho/2007). A cinética da emissão da fluorescência rápida da clorofila *a* foi obtida com auxílio de um fluorômetro portátil (Handy-PEA, Hansatech, UK) utilizando folhas previamente adaptadas ao escuro. Os resultados mostraram que as alterações ocorridas no aparelho fotossintético foram mais severas no mês onde houve uma queda brusca na precipitação. Baixos valores da fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_M) e do rendimento quântico potencial máximo do fotossistema II (F_v/F_M) indicaram a ocorrência de fotoinibição crônica neste período. Por serem ainda escassos os estudos sobre as mudanças químicas e bioquímicas que ocorrem a partir da ontogenia dos frutos do mamoeiro, neste trabalho também se avaliou algumas mudanças físicas, químicas e bioquímicas nos frutos deste a antese até o amadurecimento. A atividade da PME, enzima que prepara o substrato para que as demais enzimas pectinolíticas atuem no processo de amadurecimento destes frutos, aumentou a partir dos 120 DPA do mesmo modo que o índice de SS. Nesta mesma ocasião ocorreu uma diminuição do pH do suco celular e da acidez titulável (AT) contido na polpa dos frutos. Estes resultados confirmam a participação da PME, a presença dos ácidos orgânicos e o início da degradação da parede celular antes mesmo da colheita.

ABSTRAT

In this work the photochemistry activity in leaves of plants of the papaya tree *Carica papaya* L. cv. Golden was evaluated fortnightly in a commercial plantation. The measures had beginning in the anthesis and concluded after the first crop (January for junho/2007). The kinetics of the emission of the fast fluorescence of the chlorophyll was she obtained with aid of a portable fluorometer (Handy-PEA, Hansatech, UK) using leaves previously adapted to the darkness. The results showed that the alterations happened in the apparel photosynthetic were more severe in the month where there was an abrupt fall in the precipitation. Low values of the initial fluorescence (F_0), maximum fluorescence (F_M) and of the revenue quantum potential maximum of the PS II (F_V/F_M) they indicated the occurrence of chronic photoinhibition in this period. For they be still scarce the studies on the chemical and biochemical changes that happen starting from the ontogeny of the fruits of the papaya tree, in this work it was also evaluated some physical changes, chemistries and biochemistries in the fruits of this the anthesis to the matureness. The activity of pectinametylerase (PME), enzyme that prepares the substratum so that the other enzymes pectinolíticas acts in the process of matureness of these fruits, it increased starting from 120 DPA in the same way that the index of SS. On this same occasion it happened a decrease of the pH of the cellular juice and of the titratable acidity (ATTN) contained in the pulp of the fruits. These results confirm the participation of the PME, the presence of the acids organic and the beginning of the degradation of the it seems cellular before even of the crop.

INTRODUÇÃO GERAL

Dentre os frutos mais importantes em todo o mundo, no que se diz respeito à economia e qualidade nutricional, está o mamão (*Carica papaya* L.) que é consumido principalmente sob a forma *in natura*. Além da forma natural, o fruto do mamoeiro pode ser industrializado sob a forma de doces de compotas e geléias. O mamão é fonte de carboidratos, vitaminas (principalmente C e A), fibras, potássio e pequenas quantidades de proteínas, gorduras, cálcio e sódio (THOMAS, 1986).

A importância dos frutos tropicais, tais como o mamão, é cada vez maior na economia nacional e mundial. Este fato impulsiona as pesquisas na área da Fisiologia Vegetal existindo grande preocupação com o detalhamento dos processos bioquímicos que ocorrem antes e após a colheita. Em sua grande maioria, essas pesquisas estão voltadas para o prolongamento da vida útil destes frutos preservando ao máximo a qualidade até chegar ao consumidor final, tanto no mercado nacional quanto internacional.

O mamão é colhido ainda com a pigmentação verde, embora já esteja fisiologicamente desenvolvido. Isso porque, a colheita do mamão ainda verde facilita o manuseio, diminui o risco de perdas na produção e permite que este produto não chegue ao mercado além do ponto de amadurecimento desejado pelo consumidor.

A velocidade com que o fruto muda sua cor, do verde para o amarelo, indicando o estágio próprio para consumo depende do estágio de desenvolvimento fisiológico ao qual foi colhido e das condições de armazenamento. Essa mudança coincide com o aumento da atividade respiratória, mudanças na firmeza da polpa e aumento na concentração do etileno endógeno, características de um fruto climatérico. É nesse período que são desenvolvidas as substâncias que darão o sabor e o aroma característico do fruto.

Para que o mamoeiro apresente grande produtividade e frutos de qualidade com sabor e aroma desejáveis, é necessário, além da água e nutrientes minerais, energia solar. Quando a luz é absorvida pelas moléculas de clorofila

em uma folha, a energia luminosa pode ser utilizada no processo fotossintético, ser dissipada na forma de calor ou ainda ser re-emitida como fluorescência (MAXWELL e JOHNSON, 2000).

Os estudos da cinética de emissão da fluorescência da clorofila *a in vivo* têm sido muito utilizados para detectar estresses nas plantas, pois além de não ser um método destrutivo garante resultados bastante precisos (TÓTH, 2006).

No mamoeiro os estresses ambientais são reconhecidamente responsáveis pelo decréscimo na eficiência fotossintética e podem alterar a qualidade dos frutos. Em particular, danos por fotoinibição no mecanismo fotossintético, produzidos pela combinação de alta luminosidade e baixa temperatura, alternância de temperatura dia-noite ou estresse hídrico podem ser significativos tanto na quantidade quanto na qualidade dos frutos (GOMES et al., 2003; FONTES, 2005; GALON, 2006).

Considerando que a fisiologia do amadurecimento envolve desde a produção dos fotoassimilados para a formação e desenvolvimento dos frutos até as enzimas que degradarão a parede celular promovendo o amolecimento da polpa, torna-se interessante avaliar a atividade fotossintética no período reprodutivo. Além disso, o acompanhamento das transformações físicas, químicas e bioquímicas que ocorrem durante o desenvolvimento do fruto e o papel da pectinametilesterase (PME) durante este período podem contribuir para um melhor esclarecimento do que constitui o padrão de qualidade dos frutos do mamoeiro.

A PME é uma enzima do grupo das hidrolases, sendo encontrada em plantas, fungos fitopatogênicos e bactérias. Durante o crescimento das células vegetais esta enzima está envolvida no processo de alongamento da parede celular primária, no controle do pH entre a matriz da parede celular e os espaços intercelulares e no processo de expansão celular (GUIMARÃES, 2006). No processo de amadurecimento de frutos, a PME age removendo os grupos metila dos constituintes pécticos da parede celular, diminuindo a adesão entre os tecidos (ASSIS et al., 2000). Segundo Castaldo et al. (1989) a atividade da

PME em frutos é detectada principalmente nos primeiros estágios do amadurecimento.

Este trabalho objetivou avaliar a cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* em folhas do mamoeiro (*Carica papaya* L.) durante o período reprodutivo e caracterizar a ontogenia dos frutos com avaliações físicas, químicas e atividade da PME.

REFERÊNCIAS

ASSIS, S.A.; LIMA, D.C.; OLIVEIRA, O.M.M.F. Acerola's pectin methyl esterase: studies of heat inactivation, **Food Chemistry**, v.71, p.465-467, 2000.

CASTALDO, F.; QUAGLIUOLO I.; SERVILLO, C.; BALESTRIERI, C.; GIOVANE, A. Isolation and characterization of pectin methyl esterase from apple fruit, **Journal of Food Science**, v.54, n.3, p.653-673, 1989.

FONTES, R. V. **Eficiência fotoquímica das plantas e atividade da enzima pectinametilesterase na polpa de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Vitória:Universidade Federal do Espírito Santo, 63p. 2005.

GALON, C. Z. **Estudo do metabolismo fotoquímico nas folhas e perfil da atividade da celulase e β -galactosidase nos frutos de *Carica papaya* L., cultivares Golden e Gran Golden**. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Vitória:Universidade Federal do Espírito Santo, 102p. 2006.

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.

GUIMARÃES, D. P. **Estudo bioquímico de algumas características da peroxidase, Polifenoloxidase e pectinametilesterase de amora preta (*Rubus spp*)**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Campinas:Universidade Estadual de Campinas, 99p. 2006.

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

THOMAS, P., Radiation preservation of foods of plant origin. III-Tropical fruits: bananas, mangoes and papayas. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. **West Palm Beach**, v.23, n.2, p.147-205, 1986.

TÓTH, S. Z. **Analysis and application of the fast chl-a fluorescence (OJIP) transient complemented with simultaneous 820 nm transmission measurements.** Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Switzerland: University of Geneva, 170p. 2006.

CAPÍTULO 1

ANÁLISES DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* EM FOLHAS DO MAMOEIRO CV. GOLDEN

1 INTRODUÇÃO

A fotossíntese está entre os processos metabólicos mais importantes dos vegetais. As medidas da atividade fotossintética podem transmitir informações essenciais sobre a vitalidade das plantas. Para tanto, a análise da fluorescência da clorofila *a* tem sido amplamente estudada, por ser um método muito sensível, que permite medir *in vivo* essa atividade (TÓTH, 2006).

Os produtos da fotossíntese serão usados nas reações celulares das plantas e servirão também como fonte de energia para as demais formas de vida (KERBAUY, 2004).

É no estroma dos cloroplastos que enzimas convertem o CO₂ em carboidratos, enquanto que, nos tilacóides, estão os pigmentos cloroplastídicos, que irão utilizar a energia solar para oxidar a molécula de água e formar trifosfato de adenosina (ATP) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH). Estes compostos, ricos em energia, serão necessários no estroma para converter o CO₂ em carboidratos (BOLHÀR-NORDENKAMPF e ÖQUIST, 1993).

Quando a luz é absorvida por moléculas de clorofila numa folha, em geral inicia-se o processo fotossintético, então, a energia luminosa pode ser utilizada no processo fotoquímico da fotossíntese, ser dissipada sob forma de calor ou ser re-emitada como fluorescência (MAXWELL e JOHNSON, 2000). A fluorescência, portanto, corresponde a uma fração da energia dissipada do aparelho fotossintético. É uma porção da energia absorvida e não utilizada nas reações fotoquímicas da fotossíntese e funciona como um mecanismo protetor contra o estresse luminoso (GILMORE e BJORKMAN, 1994).

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 (CHRISTEN, 2007).

Mudanças na emissão de fluorescência foram inicialmente observadas por Kautsky et al (1960) que, após submeterem a um flash de luz saturante, um material vegetal fotossintetizante previamente adaptado ao escuro, observaram um aumento na emissão de fluorescência durante aproximadamente 1 segundo.

Estudos mais detalhados deste fato indicaram que a cinética de emissão de fluorescência de clorofila *a* é caracterizada pelo rápido aumento da fluorescência a partir no nível inicial F_0 (fluorescência inicial ou fluorescência basal) até o nível máximo F_M (fluorescência máxima) e subsequente gradual declínio dentro de 3 a 5 minutos, atingindo um estado estável (F_S) (LICHTENTHALER et al., 2005). Estas etapas são denominadas, respectivamente emissão de fluorescência rápida (de F_0 até F_M) e fluorescência lenta (de F_M até F_S) (STRASSER et al., 2000).

Fisiologicamente a emissão de fluorescência rápida é explicada como consequência da redução dos aceptores de elétrons na via fotossintética, notavelmente a plastoquinona A (Q_A). Uma vez que o fotossistema II (FSII) absorve luz e Q_A recebe um elétron, esteceptor não está mais apto para receber outro elétron até que passe para o subsequente carreador de elétrons (Q_B). Durante esse período, diz-se que o centro de reação está “fechado”. Em algum momento, a proporção de centros de reação fechados causa uma redução geral da eficiência fotoquímica, o que corresponde ao aumento da emissão de fluorescência. (MAXWELL e JOHNSON, 2000).

Durante o processo da emissão da fluorescência rápida (F_0 a F_M) há apenas o envolvimento do FSII. Entretanto, o fotossistema I (FSI) inicia sua atuação e “drena” elétrons do FSII. Assim, o transporte de elétrons passa a funcionar por completo e inicia-se a assimilação de CO_2 e a evolução de O_2 . Desse modo ocorre a redução da emissão de fluorescência, causada pelo processo de

conversão quântica da fotossíntese, no qual também são incluídos alguns processos não fotoquímicos (LICHTENTHALER et al., 2005).

A eficiência fotoquímica máxima do FSII, representada pela razão $F_V/F_M = (\phi_{P0})$ (STRAUSS et al., 2006), 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). Para a maioria das espécies vegetais, valores considerados ótimos para a eficiência fotoquímica máxima do FSII são aqueles próximos a $0,83 \pm 0,02$ (JOHNSON, 1993; RIBEIRO et al., 2003). Decréscimos na eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_V/F_M) das plantas indicam que a planta está submetida a algum tipo de estresse. Gomes et al. (2004) observaram que o aumento da temperatura produz uma redução na razão F_V/F_M de plantas de mamoeiro das cultivares Tainung e Sunrise Solo.

Estudos com a fluorescência da clorofila *a* indicam que um alvo primário para o estresse de temperatura está localizado no centro de reação do FSII. As variações polifásicas da curva de fluorescência rápida obtida em folhas adaptadas ao escuro e conhecida como Efeito Kaustsky pode ser interpretada como etapas transientes das reações primárias da fotossíntese (STRAUSS et al., 2006) (Figura 1).

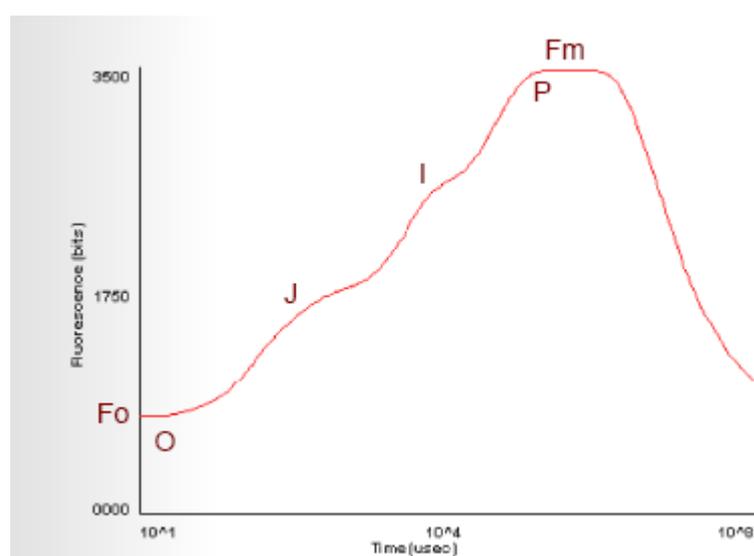


Figura 1 – Curva típica da fluorescência transiente (OJIP) obtida após iluminação com luz saturante, de uma folha adaptada ao escuro (Strasser et al., 2000).

Strasser e Strasser (1995) desenvolveram um teste que traduz as mudanças observadas na fluorescência rápida também conhecida como fluorescência transiente. Este teste transforma as curvas obtidas em mudanças quantitativas e parâmetros derivados da Teoria de Fluxo de Energia. A análise quantitativa da fluorescência transiente, que eles chamaram de JIP-teste, pode ser usada para explicar o passo a passo do fluxo de energia através do FS II em nível de centro de reação (RC) (ABS/RC , TR_0/RC , ET_0/RC e DI_0/RC) e também em nível de uma seção transversal do FSII (CS) (ABS/CS_0 , TR_0/CS_0 , ET_0/CS_0 e DI_0/CS_0). No JIP-teste os parâmetros são inter-relacionados por probabilidades que definem o exciton, isto é, o elétron excitado capturado (TR_0/ABS) e o transporte deste elétron excitado (ET_0/TR_0). Strasser e Strasser (1995) justificam que embora o JIP-teste seja uma super simplificação da Teoria de Fluxo de Energia, ele incorpora a complexidades *in situ* da estrutura de antena (Figura 2).

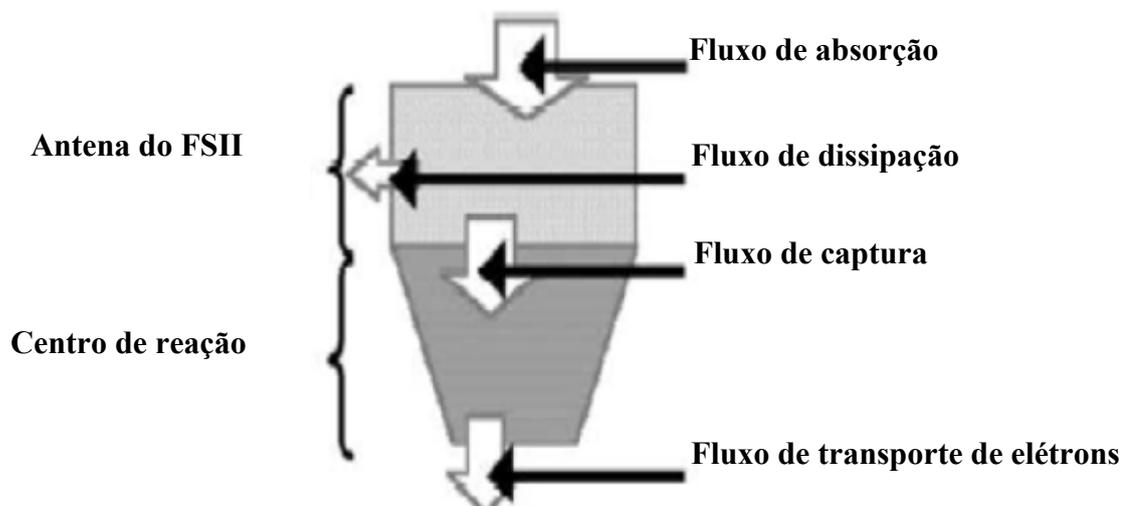


Figura 2 – Adaptação do Modelo do Fluxo de Energia no aparelho fotossintético proposto por Strasser (1978, 1981).

O JIP-Teste pode ser usado para analisar: 1) o fluxo específico de absorção de energia luminosa (ABS/RC) que é calculado a partir do número total de fótons absorvidos pelas moléculas de todos os RCs dividido pelo número total de RC ativos; 2) o fluxo específico de captura de energia de excitação (TR_0/RC) ou

taxa de captura máxima do FSII que trata da taxa máxima com que a energia de excitação é capturada pelo RC resultando na redução de Q_A ; 3) o fluxo específico de dissipação da energia ao nível das clorofilas da antena (DI_0/RC) que representa a razão da dissipação total de energia de excitação não capturada nos RCs pelo número de RCs ativos; 4) o fluxo de transporte de elétrons excitados por centro de reação ativos e inativos (ET_0/RC).

Além de permitir uma estimativa detalhada do rendimento quântico máximo da fotoquímica primária ($\phi_{P0} = TR_0/ABS = F_V/F_M$), o JIP-Teste permite também avaliar a probabilidade (em um tempo 0) em que um exciton capturado passa um elétron à cadeia de transporte de elétron além de Q_A^- (ψ_0 definido como a relação de fluxo de ET_0/TR_0).

Os estresses ambientais são reconhecidamente responsáveis pelo decréscimo na eficiência fotossintética no mamoeiro. Gomes (2005) trabalhando com as cultivares Sunrise Solo e Tainung observou que altos valores de amplitude de temperatura dia-noite causaram expressiva redução da eficiência fotoquímica nas plantas da cultivar Tainung enquanto que na cultivar Sunrise Solo houve queda na eficiência fotoquímica quando ocorreram grandes variações na pluviosidade. Em particular, danos por fotoinibição no mecanismo fotossintético, produzidos pela combinação de alta luminosidade e baixa temperatura ou estresse hídrico podem ser significativos tanto na quantidade quanto na qualidade dos frutos (GALON, 2006).

No mamoeiro a frutificação tem início entre o oitavo e o nono mês a partir da semeadura e tem um ciclo de produção com aproveitamento comercial também relativamente curto, de aproximadamente 16 meses. Por essa razão é necessário considerar que durante o período reprodutivo ocorre um maior requerimento de fotoassimilados sendo evidente que a atividade fotossintética influencia significativamente o comportamento e a qualidade pós-colheita da fruta.

Neste trabalho a atividade fotoquímica em folhas de plantas do mamoeiro (*Carica papaya* L. cv. Golden) foi quinzenalmente avaliada, desde a antese até a primeira colheita, em uma lavoura comercial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Avaliação da Fluorescência da Clorofila *a*

A cinética de emissão da fluorescência da clorofila *a* em folhas do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden foi acompanhado em uma lavoura comercial (Fazenda Herzog) localizada no município de Aracruz, Latitude 19° 24"(S), Longitude 40° 04" (W), tendo início no mês de janeiro e término no mês de junho de 2007. Nessa região a temperatura média máxima é de $30\pm 2^{\circ}\text{C}$, a temperatura média mínima é de $15\pm 2^{\circ}\text{C}$ (FEITOSA, 1986) e a precipitação média é de 1.183 mm ano^{-1} (CASTRO e SCARDUA, 1985). As temperaturas médias máxima, mínima e a pluviosidade do período de avaliação são apresentadas na figura 3.

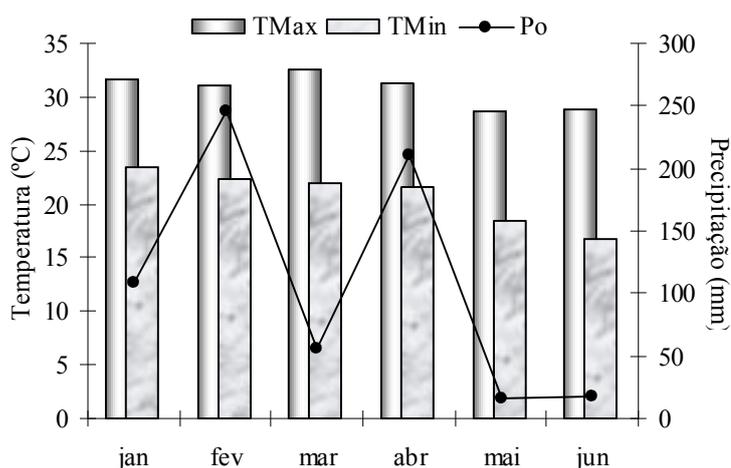


Figura 3 – Temperatura média máxima (TMax), temperatura média mínima (TMin) e precipitação ocorrida (Po) no período de janeiro a junho de 2007 na região de Linhares – ES (INCAPER, 2007).

Foram marcadas 80 plantas no início do período reprodutivo, com aproximadamente quatro meses de idade. Estas plantas foram usadas, quinzenalmente, para as medidas da fluorescência até a primeira colheita.

Os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* foram medidos em folhas jovens completamente expandidas utilizando-se um fluorômetro portátil HandyPEA (Plant Efficiency Analyzer, Hanstech, King's Lynn, Norfolk, UK). Para a estimativa dos parâmetros cada repetição foi constituída de duas folhas por planta. As folhas foram inicialmente adaptadas ao escuro por 40 min, tempo

suficiente para a oxidação completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons, em seguida submetidas a um pulso de luz saturante com duração de 5 segundos.

Foram avaliados os parâmetros básicos de fluorescência da clorofila *a*: fluorescência inicial - a intensidade de fluorescência aos 50 μ s foi considerada como F_0 (STRASSER e STRASSER, 1995), a fluorescência máxima (F_M), a fluorescência variável (F_V) e a eficiência fotoquímica máxima do FSII ($F_V/F_M = \phi_{P0}$).

Este teste transforma as curvas obtidas em mudanças quantitativas e parâmetros derivados da Teoria de Fluxo de Energia. A análise quantitativa da fluorescência transiente, que eles chamaram de JIP-teste,

Aos dados originais da fluorescência rápida foram aplicados o JIP-Teste o que permitiu transformar as curvas obtidas em parâmetros biofísicos. Estes parâmetros permitiram explicar com maior precisão o fluxo de energia através do PS II em nível de centro de reação. Foram usados: ABS/RC = índice de absorção de fótons, TR_0/RC = índice de captura de elétrons excitados, ET_0/RC = índice de transporte de elétrons através do FSI, DI_0/RC = índice de dissipação da energia de excitação e RC/CS = razão que indica a quantidade de centros de reação ativos do FSII (STRASSER e STRASSER, 1995).

2.2 Delineamento Experimental e Análise Estatística

As análises foram realizadas em uma área de cultivo comercial, no delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições. Cada unidade experimental foi composta por uma planta. As médias obtidas foram comparadas entre si pelo Teste de Duncan, em nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software Assistat 7.4 beta (2007), UAEG-CTRN-UFCG, Campina Grande – PB.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da cinética de emissão da fluorescência da clorofila *a* obtidos de folhas das plantas do mamoeiro durante o estágio reprodutivo estão apresentados na figura 4.

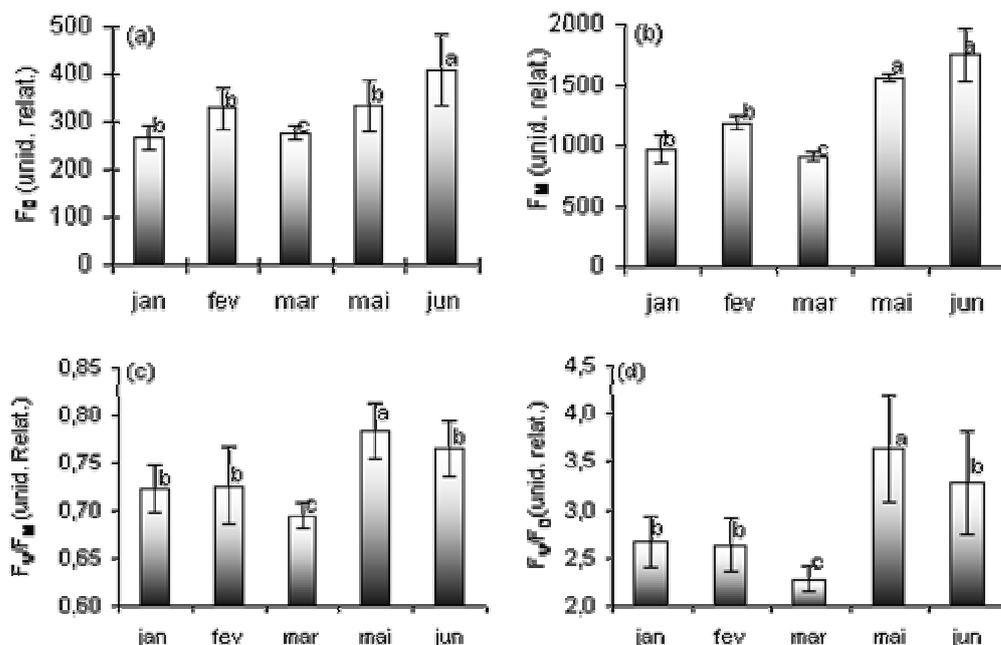


Figura 4 – Curso mensal da fluorescência inicial (F_0) (a), fluorescência máxima (F_M) (b), eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_v/F_M) (c) (F_v/F_0) (d) em folhas do mamoeiro (*Carica papaya* L.) durante o estágio reprodutivo. Colunas seguidas por letras diferentes são estatisticamente diferentes entre si ($P \leq 0,05$; Teste de Duncan). As barras indicam erro-padrão da média. (n=10)

Observa-se que houve maior emissão de fluorescência inicial (F_0) nos meses de janeiro e fevereiro, época em que estava ocorrendo polinização e fertilização pela primeira vez, e no mês de maio, período de amadurecimento dos primeiros frutos. Nestes meses, as condições climáticas foram contrastantes, em fevereiro houve um alto índice de chuvas e temperaturas muito elevadas enquanto que no mês de junho houve grande alternância de temperatura, isto é, altas temperaturas diurnas e temperaturas muito baixas à noite e um índice de pluviosidade muito baixo.

Considerando que a fluorescência inicial (F_0) expressa inversamente o potencial máximo do uso da energia de excitação no processo fotoquímico

(BOLHÀR-NORDENKAMPF e ÖQUIST, 1993) os valores elevados de F_0 nos meses de janeiro, fevereiro, maio e principalmente junho (Figura 4a) indicam um baixo potencial do aproveitamento da energia de excitação. Este fato reforça a constatação de que mesmo sendo considerada como bem adaptada às condições edafoclimáticas da região Norte do Estado do Espírito Santo, a cultura do mamoeiro apresenta grande sensibilidade às variações da temperatura (GOMES et al., 2004) e à disponibilidade de água (FONTES et al., 2002).

Houve uma diferença significativa em F_M nos meses analisados (Figura 4b). Porém, as diferenças encontradas podem ser mais bem analisadas quando se observa o rendimento quântico máximo do FSII, obtidos pelas razões F_V/F_M e F_V/F_0 (Figura 4c e Figura 4d) que foram semelhantes nos meses de janeiro, fevereiro e junho. Christen et al. (2007) sugerem que F_V/F_M pode, em alguns casos de estresse, ser uma expressão não muito sensível e não muito satisfatória para a detecção inicial das alterações no aparato fotossintético. Segundo esses autores, a expressão F_V/F_M foi demonstrada por Butler e Kitajima (1975) para expressar o rendimento quântico máximo das reações fotoquímicas iniciais (ϕ_{P_0}) e, portanto, só fornece informações dos eventos primários da fase fotoquímica. Entretanto, nos resultados obtidos neste trabalho, pôde-se observar que as plantas da cultivar Golden apresentaram a eficiência fotoquímica máxima (obtidos pelas razões F_V/F_M e F_V/F_0) fortemente influenciada pela pluviosidade e variações de temperatura (Figura 4 c e d). Resultados encontrados por Fontes et al. (2007a) com a cv. Sunrise Solo cultivada na mesma região do presente estudo confirmam este fato.

A variação da temperatura também influenciou outras espécies, tais como o feijoeiro e laranjeira, que apresentaram aumento nos valores de F_0 e uma conseqüente redução na F_V/F_M (COSTA et al., 2002; PASTENES e HORTON, 1999; RIBEIRO et al., 2003).

No mês de março houve uma queda na F_0 , na F_M e na eficiência fotoquímica do FS II (F_V/F_M e F_V/F_0) (Figura 4). Neste mês a precipitação média foi de apenas 56,6 mm e a temperatura manteve-se muito alta (média de 35,6°C). Quando os valores de F_V/F_M obtidos (0,695) são comparados com aqueles

sugeridos por Bølhar-Nordenkamp et al. (1993) entre 0,75 e 0,85 para demonstrar uma eficiente conversão da energia luminosa no FSII, observa-se que os resultados encontrados estão abaixo do esperado. Fontes (2005) também obteve, nas cv. Tainung 01 e Sunrise Solo, baixos valores de F_V/F_M (aproximadamente 0,60) no período de inverno (período muito seco na região). Esse autor constatou alta correlação entre a baixa disponibilidade hídrica e o rendimento quântico máximo do FSII.

Mesmo sendo a cultura irrigada, a diminuição dos valores de F_V/F_M em plantas do mamoeiro sob estresse hídrico, já foi relatada por vários autores (FONTES et al., 2002; CASTRO, 2004; MACHADO FILHO et al., 2004). Também em outras frutíferas, tais como bananeira (THOMAS e TURNER, 2001), laranjeira (MEDINA et al., 1999) e abacateiro (CHARTZOULAKIS et al., 2002) já foram registrados declínio na eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_V/F_M) quando submetidas a uma menor disponibilidade de água. Fontes et al. (2007a) compararam as cultivares Sunrise (Solo) e Tainung nº1 (Formosa) cultivadas no norte do Estado do Espírito Santo e observaram que nas plantas da cv. Tainung nº1 a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_V/F_M) aumentou com o aumento da pluviosidade, enquanto que nas plantas da cv. Sunrise Solo F_V/F_M apresentou redução com o aumento da pluviosidade. Também foi constatado por Fontes et al. (2007b) em plantas do mamoeiro cultivadas em vasos que o déficit hídrico provoca a queda de F_V/F_M . Segundo os autores a eficiência quântica máxima do FSII foi comprometida nos tratamentos com 25% e 50% da capacidade de campo (cc), evidenciada pelo decréscimo no valor de F_V/F_M quando comparadas ao regime de 75% da capacidade de campo.

A figura 5 apresenta o fluxo de energia através do FS II em nível de centro de reação representado por parâmetros biofísicos. Observa-se que não houve diferença significativa nos três primeiros meses analisados quanto a absorção de energia luminosa, a dissipação da energia ao nível das clorofilas da antena e a concentração de centros de reação ativos no FSII. Estatisticamente foram também semelhantes os índices de captura da energia radiante e o transporte dos excitons ao longo da cadeia de transporte de elétrons.

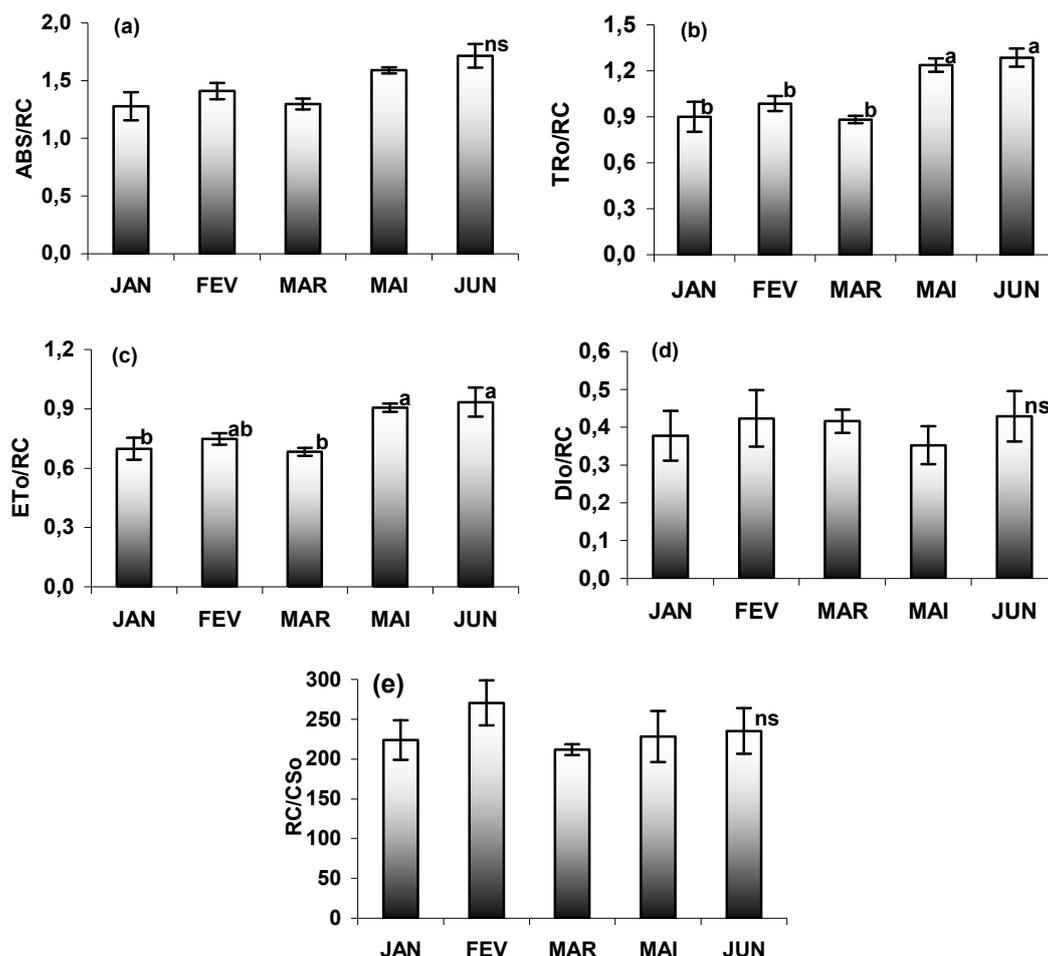


Figura 5 – Fluxo específico de energia em nível de centro de reação do FSII obtidos em folhas de plantas do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden durante o estágio reprodutivo. ABS/RC=índice de absorção de energia luminosa(a); TR₀/RC=taxa de captura máxima de energia de excitação (b); ET₀/RC= fluxo de transporte de elétrons excitados (c); DI₀/RC= dissipação da energia ao nível das clorofilas da antena (d) e RC/CS₀=concentração de centros de reação ativos no FSII (e). Colunas seguidas por letras diferentes são estatisticamente diferentes entre si (P≤0,05; Teste de Duncan). As barras indicam erro-padrão da média. (n=10)

O fato que chama a atenção neste mês de março é que a redução da fluorescência inicial (F₀) foi acompanhada por valores de fluorescência máxima (F_M) também muito baixo. Bertamini et al. (2004) descrevem um declínio dos valores de F₀ em virtude de condições de estresse o que parece estar relacionado a danos nas subunidades do complexo de evolução de O₂, geralmente, menos suscetível a fotoinibição. Segundo Dias e Marengo (2006) a queda dos valores de F₀ e F_M pode indicar a ocorrência de um processo de fotoinibição crônica, significando a ativação de componentes fotoinibitórios do quenching não fotoquímico.

Os resultados obtidos mostram que as alterações ocorridas no aparelho fotossintético podem ter sido provocadas pela queda brusca na precipitação no mês de março ocorrendo, portanto, um processo fotoinibitório crônico. Este fato pode ser claramente observado pelos baixos valores de F_0 , F_M , (Figura 4a e 4b) e das razões de rendimento quântico máximo do FSII ($F_V/F_M = \phi_{P0}$) e rendimento quântico efetivo de conversão da energia fotoquímica (F_V/F_0) (Figura 4c e 4d). Nos resultados apresentados o processo fotoinibitório foi bem caracterizado na razão F_V/F_0 (Figura 4d) mostrando ser esta razão é um indicador do estado da cadeia de transporte de elétrons e sua efetividade.

4 CONCLUSÕES

As determinações feitas neste trabalho mostraram que durante o período reprodutivo das plantas do mamoeiro Golden não ocorreram diferenças significativas na transferência de energia radiante pela cadeia transportadora de elétrons. Porém, houve uma fotoinibição crônica no mês de março provocada pelas altas temperaturas e baixa pluviosidade em relação aos outros meses analisados. O dano causado na fotoquímica da fotossíntese pode ter ocorrido nas subunidades do complexo de evolução de O_2 . Nos resultados apresentados o processo fotoinibitório foi bem caracterizado pela razão F_V/F_0 , confirmando ser esta razão um bom indicador da efetividade da cadeia de transporte de elétrons.

CAPÍTULO 2

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E ATIVIDADE DA ENZIMA PECTINAMETILESTERASE (PME) DURANTE A ONTOGENIA DOS FRUTOS DO MAMOEIRO (*CARICA PAPAYA L.*) CV. GOLDEN

1 INTRODUÇÃO

O mamão é um fruto climatérico e possui uma vida pós-colheita relativamente curta, o que o caracteriza como um fruto de alta perecibilidade (PAULL, 1995).

Como todo fruto climatérico, sua taxa respiratória decresce ao longo do período de crescimento e desenvolvimento, para, em seguida subir e apresentar um máximo, o pico climatérico, na fase da maturação a que se segue uma descida acentuada e o fruto entra em senescência.

Por exibir uma série de mudanças físicas facilmente detectadas durante o amadurecimento, o fruto do mamoeiro, atualmente, é reconhecido como um modelo para o estudo da perda de firmeza (MANRIQUE e LAJOLO, 2004).

Sob o ponto de vista do consumidor, o aroma, a cor e o sabor do fruto são as características sensoriais determinantes do padrão de qualidade do fruto (LOISELLE et al., 1990).

Para a maioria dos frutos, o processo de maturação corresponde a vários processos bioquímicos e fisiológicos cuja evolução, durante o amadurecimento dos frutos, têm sido bastante estudados. Os açúcares solúveis, componente que interfere no sabor e conseqüentemente na aceitação do fruto de mamão, são acumulados, em sua maior parte, quando o fruto ainda está ligado à planta (CHAN et al., 1979). Nos primeiros dias após a colheita a glicose é o açúcar predominante na polpa enquanto que no fruto maduro a sacarose torna-se o açúcar encontrado em maior concentração, atingindo níveis mais elevados que a frutose e a glicose (BROETTO et al., 2007). Arriola et al. (1980) registraram uma maior acidez titulável em frutos até o estágio 1 (frutos com até 15% da casca amarela) e uma tendência de queda para frutos bastante maduros. Os

autores afirmam que a liberação dos ácidos galacturônicos durante o amadurecimento do fruto e a ação das enzimas pectinametilesterase (PME - EC 3.1.1.11) e poligalacturonase (PG - EC 3.2.1.15) são responsáveis por esse aumento na acidez.

Numerosas mudanças físicas, químicas e bioquímicas acontecem durante o desenvolvimento dos frutos do mamoeiro. Diversos autores têm sugerido que estresses bióticos e abióticos interferem na velocidade do amadurecimento dos frutos do mamoeiro. Frutos desenvolvidos durante o período seco tendem a possuir polpa mais fina, porém mais doces enquanto que frutos desenvolvidos no período chuvoso possuem polpa espessa e de sabor menos acentuado (FONTES et al., 2007; BROETTO et al., 2007).

São ainda escassos os estudos sobre as mudanças químicas e bioquímicas que ocorrem a partir da ontogenia dos frutos do mamoeiro. Este trabalho se propôs a avaliar e quantificar algumas mudanças físicas e químicas nos frutos deste a antese até o amadurecimento, acompanhando também a atividade da PME, enzima que prepara o substrato para que as demais enzimas pectinolíticas atuem no processo de amadurecimento destes frutos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal e Condições de Cultivo

Os frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden analisados foram provenientes de uma lavoura comercial (Fazenda Herzog) localizada no município de Aracruz, Latitude 19° 24"(S), Longitude 40° 04" (W). Oclima característico da região tem temperatura média máxima de 30±2°C, temperatura média mínima de 15±2°C (FEITOSA, 1986) e a precipitação média anual é de 1.183 mm (CASTRO e SCARDUA, 1985).

Inicialmente 80 plantas com quatro meses de idade, foram escolhidas aleatoriamente. Em cada planta, duas flores ainda fechadas foram marcadas, perfazendo um total de 160 flores e acompanhadas desde a antese até os

frutos atingirem o estágio 2 de maturação, o que ocorreu em 135 dias pós-antese (DPA). As análises tiveram início no mês de janeiro e término no mês de agosto de 2007.

A cada 15 dias, dez (10) frutos foram colhidos, acondicionados em caixas de isopor contendo gelo e transportados para o laboratório de Ecofisiologia Vegetal, da UFES, em Vitória, ES. Em seguida foram lavados, semi-esterilizados em solução 5% de hipoclorito de sódio (v/v) e mantidos à temperatura ambiente de 25°C até o momento em que foram feitas as análises.

2.2 Análise Física e Químicas

Comprimento - medido com um paquímetro digital 150 mm marca Digimess, desde a região de inserção do pedúnculo até o ápice.

pH - Para a determinação do pH da polpa dos frutos foi realizada foram retirados 2 g de polpa de cada fruto, triturados em almofariz, em seguida transferidos para um becker e o volume completado para 100 mL com água destilada. O pH foi aferido em um potenciômetro marca TECNAL, mod. TEC-2.

Teor de Sólidos Solúveis (SS) - Uma amostra de 2 g da polpa dos frutos foi triturada e duas gotas do suco, resultante da trituração, foram colocadas no prisma do refratômetro digital de bancada marca Instrutherm mod. RTD-45. Foi efetuada a leitura dos graus Brix a 20°C.

Acidez Titulável (AT) - A acidez titulável foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Carvalho et al. (1990), na qual 2 g de polpa foram homogeneizadas em 100 mL de água destilada. A solução foi titulada com NaOH 0,03 N até pH 8,10, utilizando um potenciômetro marca TECNAL, mod. TEC-2. Os resultados foram expressos em % de ácido cítrico.

2.3 Análise Bioquímica

Atividade da Pectinametilsterase (PME - EC 3.1.1.11) - A atividade da PME foi avaliada segundo metodologia descrita por Ratner et al. (1969), com modificações. Uma amostra de 10 g do mesocarpo de cada fruto foi

imediatamente congelada em nitrogênio líquido e mantida a -22°C até o momento da análise. A atividade da PME foi avaliada por titulometria de acordo com sua atividade catalítica a partir da hidrólise das ligações ésteres da pectina. No momento da análise cada porção previamente congelada, foi homogeneizada com auxílio de um mixer marca Black & Decker modelo SB 40, em 20 mL de uma solução de NaCl 0,2 N a 10°C durante 1 minuto. Em seguida, foram retirados 4 mL deste extrato e adicionados a 30 mL de pectina cítrica 1%, pH 7,0, diluída em NaCl 0,2 N, e o pH da mistura corrigido para 7,0. A titulação do substrato foi realizada com NaOH 0,03 N, de modo que o pH fosse mantido em 7,0 por 10 min, visando neutralizar o meio acidificado pela atividade enzimática. Os resultados obtidos foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$, isto é a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação da pectina, correspondente a um μmol de grupos carboxílicos por minuto, aos quais serão neutralizados por quantidades conhecidas de NaOH por minuto.

2.4 Delineamento Experimental e Análise Estatística

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Duncan, em nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software Assistat 7.4.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento dos frutos do mamoeiro da cultivar Golden foi acompanhado quinzenalmente, desde a antese até o ponto de colheita (Figura 1).

A figura 2 mostra o crescimento médio dos frutos ao longo do período analisado. Observa-se que os frutos atingiram o comprimento máximo aos 105 dias pós-antese (DPA) não estando ainda fisiologicamente maduros. Aos 135 DPA os frutos alcançaram o estágio 2 de maturação, ou seja, continham a casca verde claro e duas estrias longitudinais a partir da base do fruto, estágio normalmente utilizado como o de colheita comercial (SOUZA, 1998),

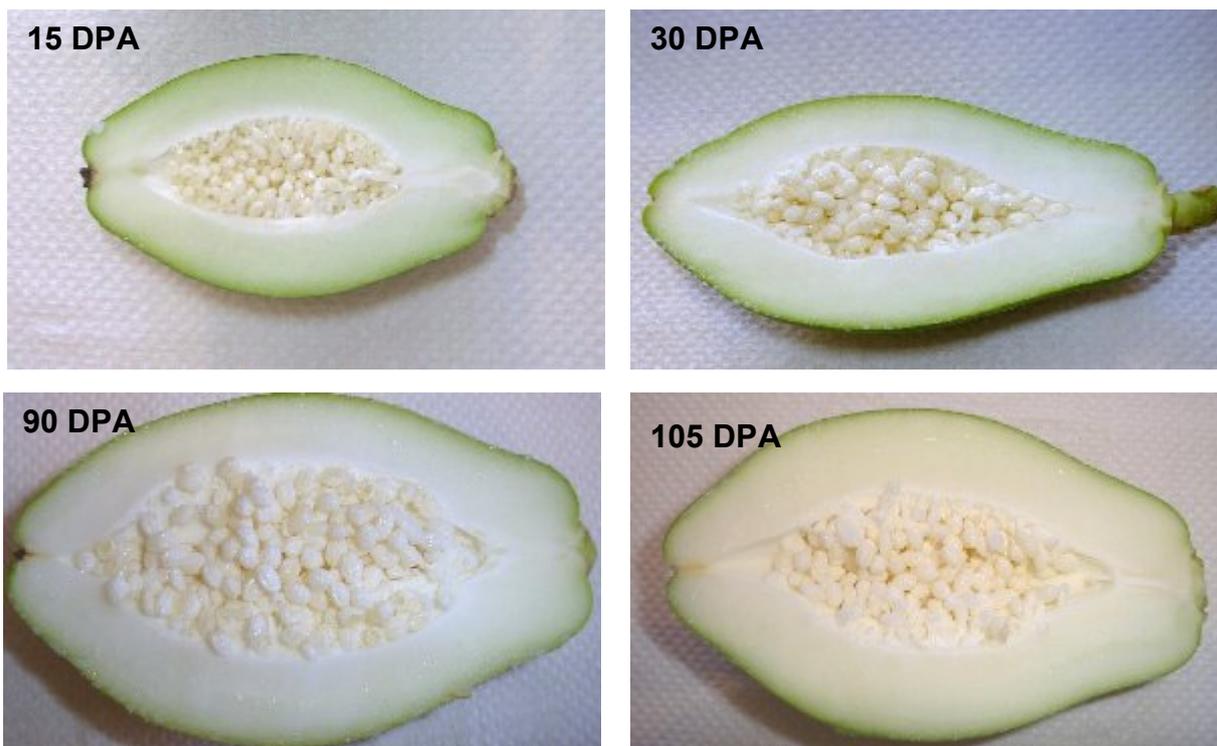


Figura 1 – Frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden aos 15, 30, 90 e 105 dias pós-antese (DPA), cultivados em uma lavoura comercial em Jacupemba, Aracruz, ES.

Estes resultados divergem daqueles observados por Calegario (1999), que relata o tempo de formação do fruto do mamoeiro como sendo de aproximadamente 145 dias. Porém, Berilli et al. (2007) observaram uma redução na fase de maturação dos frutos do mamoeiro. Os autores concluíram ser o efeito das temperaturas mensais mais elevadas, a principal característica responsável por acelerar o desenvolvimento dos frutos.

Durante o período analisado não foram observadas temperaturas mais elevadas, entretanto, sendo este o período seco da região (abril a agosto), durante o mês de julho a pluviosidade foi de apenas 5,7 mm com temperaturas médias máximas de 28,1 °C e temperaturas médias mínimas de 17,4 °C.

A figura 3 mostra a evolução da cor da polpa e sementes aos 105 e 120 DPA, fato indicativo de que os frutos ainda não se encontravam no ponto de colheita.

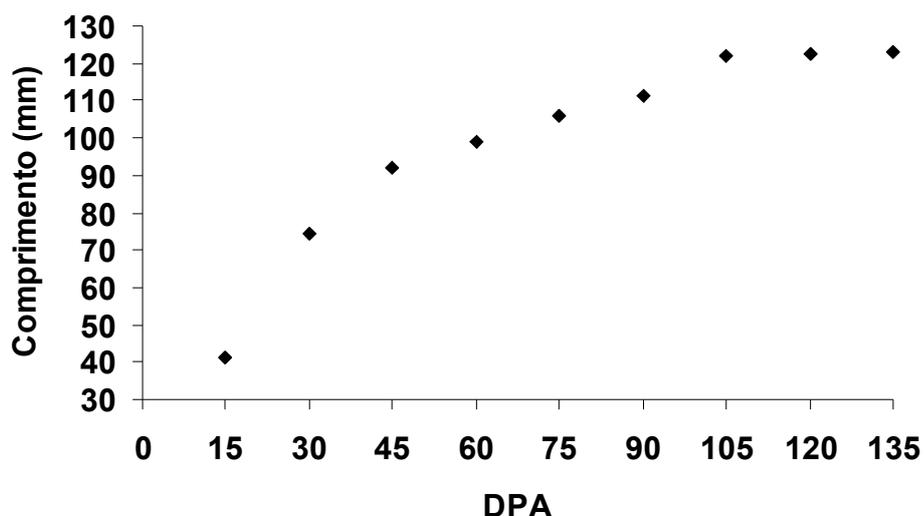


Figura 2 – Comprimento médio dos frutos (mm) do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden, de uma lavoura comercial em Jacupemba, Aracruz, ES. DPA=Dias pós antese. (n=10)

Observa-se que a partir dos 105 DPA ocorre uma faixa crítica do desenvolvimento do mamão. Nesse período, têm início acentuadas mudanças visuais na coloração da casca e alterações na coloração e constituição da polpa. Este fato foi comprovado ao se medir quinzenalmente a atividade da enzima pectinametilesterase (PME) e alguns parâmetros a ela relacionados.

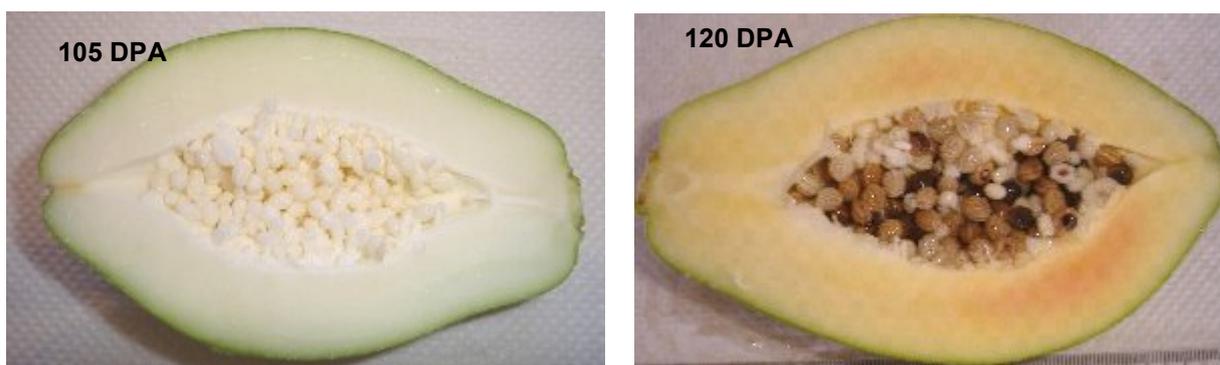


Figura 3 – Frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden aos 105 e 120 dias pós-antese (DPA), de uma lavoura comercial em Jacupemba, Aracruz, ES.

A PME é uma enzima que está envolvida na degradação da parede celular da polpa de frutos durante o amadurecimento. São poucos ainda, os conhecimentos de sua atividade durante o desenvolvimento dos frutos.

Observa-se que não houve diferença significativa na atividade da PME até os 105 DPA. (Figura 4).

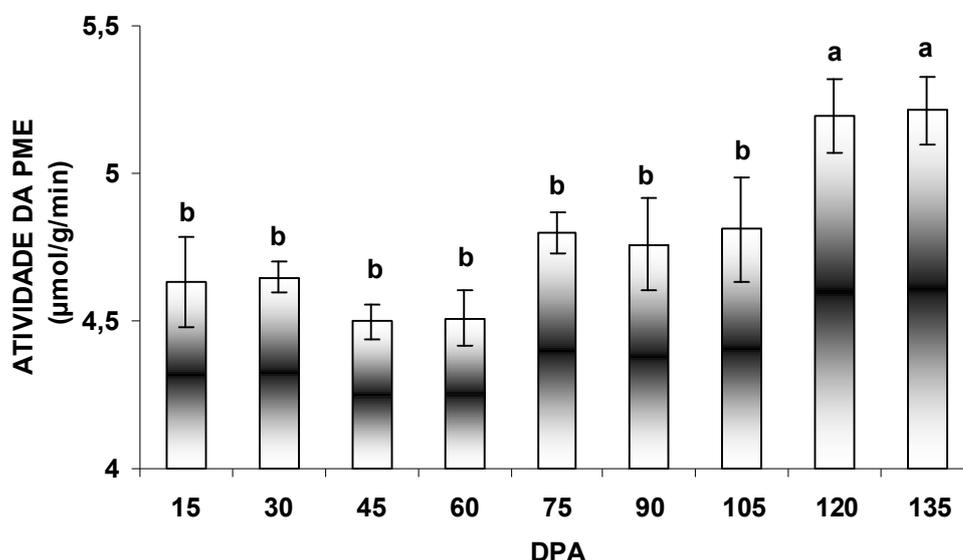


Figura 4 – Atividade da pectinametilesterase (PME) na polpa de frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden. A atividade foi expressa $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ (correspondente à quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação da pectina correspondente a um μmol de grupos carboxílicos por minuto). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os DPA determinada pelo teste de Duncan em 5% de probabilidade. Barras verticais indicam erro padrão. (n=20)

A estabilidade da PME durante todo o período de crescimento do fruto corrobora com outros autores que já haviam detectado a atividade da PME em todos os estádios de desenvolvimento (Pressey e Avants, 1982; Lourenço e Catutani, 1984). Durante este período a enzima está envolvida no processo de expansão celular, no controle do pH na matriz da parede celular e no apoplasto e na diferenciação celular (GUIMARÃES, 2006).

O aumento da atividade da PME ocorrerá somente ao final do desenvolvimento do fruto e principalmente durante o amadurecimento. Esta enzima atua disponibilizando o substrato, o ácido poligalacturônico desmetilado, para a poligalacturonase (PG), outra enzima envolvida no amaciamento de polpa. A PME tem ampla importância no amaciamento dos frutos, ao criar um ambiente iônico adequado, ou ainda ao modificar a porosidade da parede celular, e

dessa forma, favorecendo o acesso de outras enzimas aos seus substratos potenciais (ALI et al. 2004; CHUANYAO et al., 2002).

Castaldo et al. (1989) e Lazan et al. (1995) em seus estudos com maçã e a cultivar Eksotika do mamoeiro, respectivamente, também concluíram que a atividade da PME é significativa somente no período pós-colheita, por estar envolvida principalmente na degradação de parede do fruto. Resultados semelhantes foram encontrados por Lima et al. (2006) em graviola que apresentou incremento da atividade da PME bastante expressivos durante o amadurecimento.

Fontes (2005) avaliou frutos do mamoeiro das cultivares Sunrise Solo e Tainung e obteve uma alta correlação negativa entre firmeza da polpa e atividade da PME durante os oito dias após a colheita. O autor constatou que a firmeza da polpa decresce à medida que a atividade da PME aumenta. GALON (2006) após avaliar os frutos do mamoeiro das cv. Golden e Gran Golden confirmou que a perda de firmeza da polpa dos frutos durante o amadurecimento é devido, principalmente, à atividade de enzimas pectinases e celulasas que degradam os polissacarídeos da parede celular.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram claramente que o incremento da atividade da PME tem início antes da colheita. Observa-se que aos 120 DPA a atividade começou a aumentar (Figura 4), porém esse aumento da atividade ainda não provoca uma perda de firmeza dos frutos.

Rose e Bennett (1999) afirmaram que a perda de turgor contribui para o amadurecimento de frutos e que modificações catalisadas por enzimas sobre a estrutura e composição da parede celular são consideradas o maior fator do amolecimento de frutos. Lajolo e Cordenunsi (2002) sugerem que durante o amadurecimento do mamão os carboidratos resultantes da degradação da parede celular alteram o potencial hídrico do suco celular causando a perda de firmeza. A análise dos sólidos solúveis (SS) na polpa dos frutos confirmam estas sugestões. Os resultados obtidos evidenciam o aumento de SS a partir dos 120 DPA e por ocasião da colheita os teores de SS já atingiram aproximadamente mais 50% do teor inicial (Figura 5).

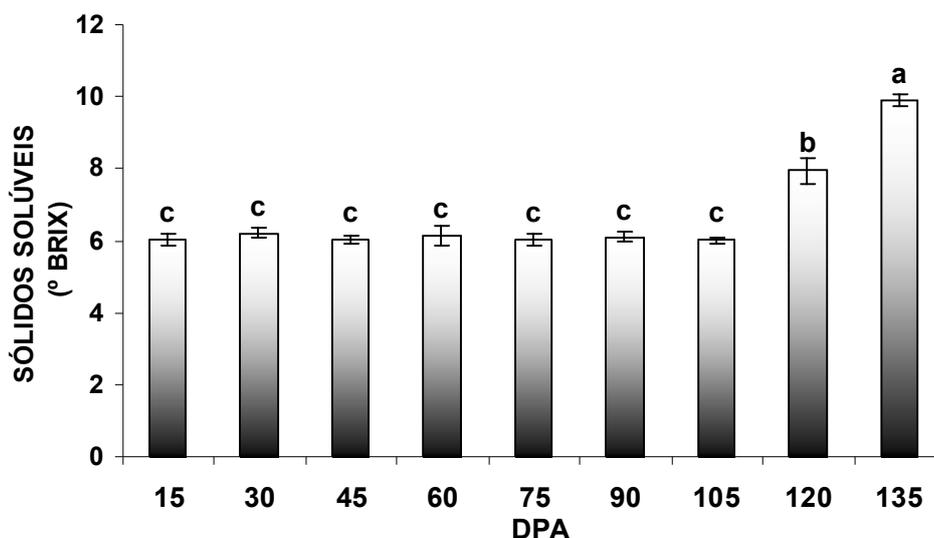


Figura 5 – Sólidos Solúveis (°Brix) da polpa de frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os DPA determinada pelo teste de Duncan em 5% de probabilidade. Barras verticais indicam erro padrão. (n=20)

Durante todo o período de crescimento dos frutos os valores obtidos dos SS foram inferiores ao considerado ideal para frutos maduros, que é em torno de 10,72 °Brix. Somente a partir de 105 DPA os frutos começaram a aumentar os teores de SS. Estes resultados concordam com as sugestões de Kluge (1997) que em estudos com tomates afirma que frutos maduros apresentam maiores teores de SS. De acordo com Chan et al. (1979), os açúcares solúveis são acumulados, em sua maior parte, quando o fruto ainda está ligado à planta. Nos primeiros dias após a colheita dos frutos de mamoeiro, a glicose é o açúcar predominante. À medida que o fruto vai amadurecendo, ocorre hidrólise de carboidratos de cadeia longa e conseqüente aumento nos teores de açúcares simples (BROETTO, 2007).

Neste trabalho observa-se que durante o desenvolvimento dos frutos enquanto o índice de SS aumentou (Figura 5), ocorreu uma diminuição do pH do suco celular (Figura 6) e da acidez titulável (AT) contido na polpa dos frutos (Figura 7).

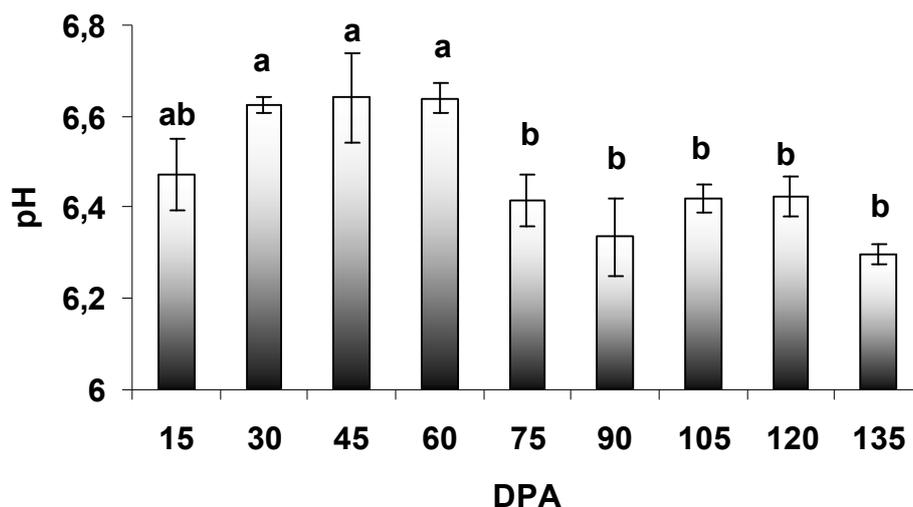


Figura 6 – Média do pH da polpa dos frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os DPA determinada pelo teste de Duncan em 5% de probabilidade. Barras verticais indicam erro padrão. (n=20)

Observa-se que até aos 60 DPA, os frutos não apresentaram diferenças significativas de pH, porém houve uma queda a partir daí. A AT manteve-se estável até 90 DPA acompanhada de uma queda a partir dos 105 DPA.

Resultados semelhantes foram encontrados por Arriola et al. (1980) e Bleinroth et al. (1989). Ambos os grupos de pesquisadores afirmam que há uma maior concentração de AT em frutos até o estágio 1 com tendência à queda em frutos bastante maduros. Os autores afirmam que esse fato deve-se a liberação dos ácidos galacturônicos que aumentam com o amadurecimento do fruto.

Segundo Balbino (1997) e Silva et al., (2003) a diminuição do pH e AT da polpa dos frutos ao final do desenvolvimento devem-se à produção de ácidos orgânicos (galacturônico e poligalacturônico) a partir das reações de degradação da parede celular.

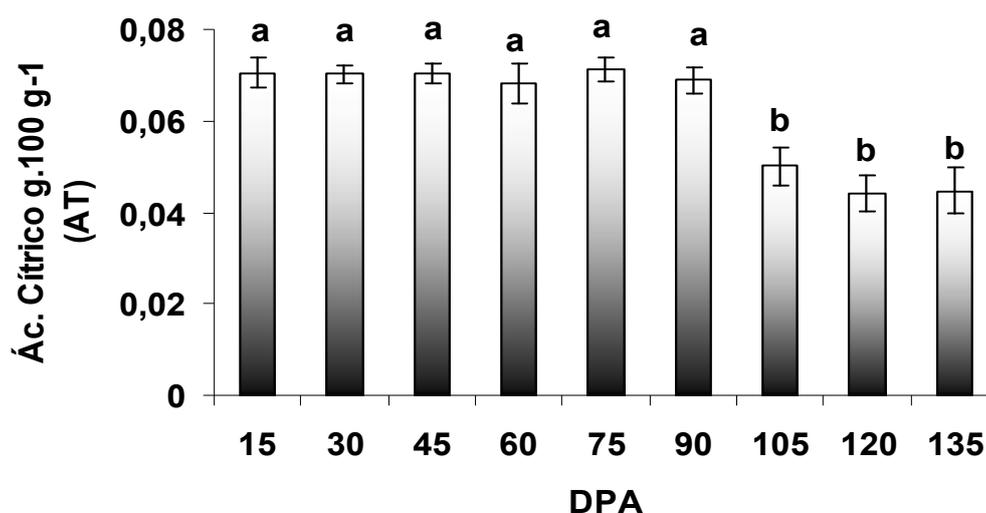


Figura 7 – Acidez Titulável (AT) correspondente à 1g de ácido cítrico por 100g de matéria fresca da polpa dos frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os DPA determinada pelo teste de Duncan em 5% de probabilidade. Barras verticais indicam erro padrão. (n=20)

Os resultados observados na atividade da PME parecem confirmar a presença dos ácidos orgânicos desmetilados e o início da degradação dos polissacarídeos da parece celular antes mesmo da colheita.

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que os fatores climáticos influenciaram diretamente o desenvolvimento dos frutos. No período em estudo houve uma redução do tempo total necessário para o fruto atingir o estágio utilizado na colheita comercial (estádio 2). A atividade da PME ao longo do crescimento e desenvolvimento dos frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) aumentou a partir dos 120 DPA. Durante o desenvolvimento dos frutos enquanto o índice de SS aumentou, ocorreu uma diminuição do pH do suco celular e da acidez titulável (AT) contido na polpa dos frutos. Estes resultados confirmam a participação da PME disponibilizado a presença dos ácidos orgânicos desmetilados e o início da degradação dos polissacarídeos da parece celular antes mesmo da colheita.

5 REFERÊNCIAS

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

ARRIOLA, M. D.; CALZADA, J.; MENCHU, J.; Rolz, C.; GARCIA, R.; CABRERA, S. D. **Papaya**. In: Nagy, S.; Shaw, P., (ed.) **Tropical and subtropical fruits**. Westport: AVI; p.316–340, 1980.

BALBINO, J. M. S. **Efeitos de hidrotermia, refrigeração e ethefon na qualidade pós-colheita de mamão (*Carica papaya* L.)**. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 104p, 1997.

BERILLI, S. S.; OLIVEIRA, J. G.; MARINHO, A. B.; LYRA, G. B.; SOUSA, E. F.; VIANA, A. P.; BERNARDO, S.; PEREIRA, M. G. Avaliação da taxa de crescimento de frutos de mamão (*Carica papaya* L.) em função das épocas do ano e graus-dias acumulados. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, n.1, p. 11-14, 2007.

BERTAMINI, M.; MUTHUCHELIAN, K.; NEDUNCHEZHIAN, N. Photoinhibition of photosynthesis in sun and shade grown leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Photosynthetica**, n. 42, p. 7-14, 2004.

BLEINROTH, E. W.; SIGRIST, J.M.M.; Matéria-prima. In: MEDINA, J.C.; BLEINROTH, E.W.; SIGRIST, J.M.M.; DE MARTIN, Z.J.; NISIDA, A.L.A.C.; BALDINI, V.L.S.; LEITE, R.S.S.F.; GARCIA, A.E.B. **Mamão: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. Campinas: ITAL, cap.2, p.179-254, 1989.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; OQUIST, G. **Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research**. In: HALL, D.O. et al. **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall. Cap.12, p. 193-206, 1993.

BROETTO, S. G.; SILVA, M. M.; VALBÃO, S. C.; ZAMPERLINI, G. P.; FONTES, R. V.; SILVA, D. M. **Mudanças no Grau de adoçamento dos frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.) ‘Golden’ durante o amadurecimento**. Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado do mamão, p. 599-601, 2007.

- 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.
- BUTLER, W.L., KITAJIMA, M. Fluorescence quenching in photosystem II of chloroplasts. *Biochim. Biophysical Acta*, v.376, p.116–125, 1975.
- CALEGARIO, F.F. **Características físicas e químicas do fruto do mamão (*Carica papaya* L.) em desenvolvimento**. In: SILVA, J.G.F. **Efeitos de diferentes lâminas e freqüências de irrigação sobre o desenvolvimento e produtividade do mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- CARVALHO, C.R.L.; MONTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M.M.. **Análises químicas de alimentos**. Instituto de Tecnologia de Alimentos. CAMPINAS, 121 p. (Manual Técnico), 1990.
- CASTALDO, F.; QUAGLIUOLO I.; SERVILLO, C.; BALESTRIERI, C.; GIOVANE, A. Isolation and characterization of pectin methyl esterase from apple fruit, **Journal of Food Science**, v. 54, nº 3, p. 653-673, 1989.
- CASTRO, L.L.F. de; SCARDUA, J. A.. **Estimativa da necessidade potencial de irrigação para o Estado do Espírito Santo**. Cariacica: EMCAPA, p.87 (EMCAPA-Documentos. 22).1985.
- 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. **Estresse hídrico em mudas de mamoeiro "golden": efeitos sobre a fotoquímica da fotossíntese**. Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Fruticultura, Florianópolis, SC, 2004.
- 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**, v.14, n.2, p. 105-110, 2002.
- CHAN JR, H. T.; HIBBARD, K. L.; GOO, T. Sugar composition of papayas during fruit development. **HortScience**, v. 14, n. 3, p. 140-141, 1979.

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**, v. 95, p. 39–50, 2002.

CHRISTEN, D.; SCHÖNEMANN, S.; JERMINI, M.; STRASSER, R. J.; D'EFAGO, G. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v.60, p.504–514, 2007.

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.

DIAS, D.P.; MARENCO, R.A. Photoinhibition of photosynthesis in *Mimosa guianensis* and *Swietenia macrophylla* inferred by monitoring the initial fluorescence. **Photosynthetica**, v.44, n. 2, p. 235-240, 2006.

FEITOSA, L.R. **Carta agroclimática do Espírito Santo**. Vitória, ES: Governo do Estado, SEAG, EMCAPA, (Mapa colorido, Escala: 1:400.000),1986.

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

FONTES, R. V. **Eficiência fotoquímica das plantas e atividade da enzima pectinametilesterase na polpa de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, 63p, 2005.

FONTES, R. V.; PINHEIRO, E. B., GALON, C. Z., SILVA, M. M., BROETTO, S. G., SILVA, D. M. Avaliação de estresse em plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.1, p.xxx, 2007a.

FONTES, R. V.; SANTOS, M. P.; FALQUETO, A. R.; BACARIN, M. A.; SILVA, D. M. Alterações fotossintéticas e de crescimento em plântulas de mamoeiro

em resposta a diferentes regimes hídricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.1, p.xxx, 2007b.

GALON, C. Z. **Estudo do metabolismo fotoquímico nas folhas e perfil da atividade da celulase e β -galactosidase nos frutos de *Carica papaya* L., cultivares Golden e Gran Golden.** Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, 102p., 2006

GILMORE, M. A.; BJORKMAN, O. Adenine nucleotides and the xanthophylls cycle in leaves. II. Comparison of the effects of CO₂ and temperature limited photosynthesis on photosystem II fluorescence quenching, the adenylate energy charge and violaxanthin de-epoxidation in cotton. **Planta**, v. 192, p. 537-544, 1994.

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.** In: Martins, D. S. (Ed.). 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. **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.

GUIMARÃES, D. P. **Estudo bioquímico de algumas Características da peroxidase, Polifenoloxidase e pectinametilesterase de amora preta (*rubus spp*).** Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Campinas: UNICAMP, 99p, 2006.

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

KAUTSKY, H.; HIRSCH, A. Neue versuche zur kohlenensäure assimilation. **Naturwissenschaften**, v. 19, n. 964, 1960.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 452p.,2004.

KLUGE, R. A. ; MINAMI, K. Efeito de ésteres de sacarose no armazenamento de tomates Santa Clara. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 54. n. 1-2, p. 39-44, 1997.

LAJOLO, M. G.; CORDENUNSI, B. Evolution of soluble sugars during ripening of papaya fruit and its relation to sweet taste. **Journal of Food Science**, v.67, n.1, p.442-447, 2002.

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

LICHTENTHALER, H. K. **Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants**. 1996. *Apud*: NEVES, A. D. Estimativa do nível de dano *Orthezia praelonga* Douglas, 1891 e de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville,1842) por variáveis fisiológicas vegetais. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2004.

LIMA, M. A. C.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C. Mudanças Relacionadas ao amaciamento da graviola durante a maturação pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.12, p.1707-1713, 2006.

LOISELLE, F.; TAI, G. C. C.; CHRISTIE, B. R. Genetic components of chip color evaluated after harvest, cold storage and reconditioning. **American Potato Journal**, v.67, n.9, p.633-646, 1990.

LOURENÇO, E. J.; CATUTANI, A.T. Purification and properties of pectinesterase from papaya. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.35, p.1120-1127, 1984.

MACHADO FILHO, J. A.; CAMPOSTRINI, E.; FAGUNDES, G. R. e YAMANISHI, O. K. **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., LAJOLO, F. M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). **Postharvest Biology and Tecnology**, v.33, p.11-26, 2004.

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

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

PAULL, R. E., Ripening behavior of papaya (*Carica papaya* L.) exposed to gamma irradiation. **Postharvest Biology and Tecnology**, v.7, p.359-370, 1995.

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.

PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases: effects of pectinesterases. **Journal of Food Biochemistry**, v.1, n.6, p.57-74, 1982.

RATNER, A.; GOREN, R.; MONSELISE, S. P. Activity of Pectin Esterase and Cellulase in the Abscission Zone of Citrus Leaf Explants. **Plant Physiology**, v.44, p.1717-1723, 1969.

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**, v.15, n. 2, p. 89-97, 2003.

ROSE, J. K. C; BENNETT, A. B. Cooperative disassembly of the cellulosexyloglucan network of plant cell walls: parallels between cell expansion and fruit ripening. **Trends in Plant Science**, v.4, p.176-183, 1999.

SILVA, G. C.; MAIA, G. A.; SOUZA FILHO, M. S, M.; FIGUEIREDO, R. W.; FILGUEIRAS, SOUZA, H. A. C.; A. C. R. Efeito de diferentes concentrações de cloreto de cálcio na qualidade do abacaxi “pérola” minimamente processado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 216-219, 2003.

SOUZA, G. **Características físicas, químicas e sensoriais do fruto de cinco cultivares de mamoeiro (*Carica papaya* L.) produzidas em Macaé, RJ.** Dissertação (Mestrado). Rio de Janeiro: Universidade Federal Norte Fluminense, 1998. 87p.

SOUZA, B, S DE; DURIGAN, J, F; DONADON, J, R; TEIXEIRA, G, H, A. Conservação de Mamão 'FORMOSA' minimamente processado armazenado sob refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 2, p. 273-276, 2005.

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**, v.56, p.147-157, 2006.

STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. **Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test.** IN: MATHIS, P (Ed.), **Photosynthesis: from light to biosphere**, V. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, p.977-980, 1995.

STRASSER, R.J, SRIVASTAVA, A., TSIMILLI-MICHAEL, M. **The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples.** In: YUNUS. M., PATHRE, U., MOHANTY, P. (eds). **Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation**, Taylor and Francis: London, pp.445–483, 2000.

THOMAS, P., Radiation preservation of foods of plant origin. III-Tropical fruits: bananas, mangoes and papayas. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. V.23, n.2, p.147-205, 1986.

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.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo deste trabalho foi avaliar a cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* em folhas do mamoeiro (*Carica papaya* L.) durante o período reprodutivo e caracterizar a ontogenia dos frutos analisando física e quimicamente a polpa e a atividade da PME.

As determinações realizadas mostraram que houve maior emissão de fluorescência inicial (F_0) nos meses de janeiro e fevereiro, época em que estava ocorrendo a polinização e a fertilização pela primeira vez, e no mês de maio, período de amadurecimento dos primeiros frutos. A eficiência fotoquímica máxima (obtidos pelas razões F_V/F_M e F_V/F_0) foi fortemente influenciada pela pluviosidade e variações de temperatura.

A queda brusca na precipitação provocou alterações no aparelho fotossintético ocorrendo, um processo fotoinibitório crônico, evidenciado claramente pelos baixos valores de F_0 e F_M e das razões de rendimento quântico máximo do FSII (F_V/F_M) e rendimento quântico efetivo de conversão da energia fotoquímica (F_V/F_0). Nos resultados apresentados o processo fotoinibitório foi bem caracterizado na razão F_V/F_0 mostrando ser esta razão um indicador do estado da cadeia de transporte de elétrons e sua efetividade. Este fato reforça a constatação de que mesmo sendo considerada como bem adaptada às condições edafoclimáticas da região Norte do Estado do Espírito Santo, a cultura do mamoeiro apresenta grande sensibilidade às variações da temperatura e à disponibilidade de água.

Os frutos atingiram o comprimento máximo aos 105 dias pós-antese (DPA) não estando ainda fisiologicamente maduros. Aos 135 DPA os frutos alcançaram o estágio 2 de maturação, ou seja, continham a casca verde claro e duas estrias longitudinais a partir da base do fruto. A antecipação do estágio 2 de maturação pode ter sido provocada pela baixa pluviosidade no período acompanhada por maior alternância de temperaturas.

A partir dos 105 DPA ocorreu uma faixa crítica do desenvolvimento do fruto, tendo início acentuadas mudanças visuais na coloração da casca e alterações

na coloração e constituição da polpa. Não houve diferença significativa na atividade da PME até os 105 DPA. Aos 120 DPA a atividade começou a aumentar, porém esse aumento da atividade ainda não provocou perda de firmeza dos frutos. Estes resultados mostram que o incremento da atividade da PME tem início antes da colheita. Houve um aumento de SS a partir dos 120 DPA acompanhada da diminuição do pH e AT.

Estes resultados confirmam a participação da PME, como enzima que prepara o substrato para que as demais enzimas pectinolíticas atuem, disponibilizando os ácidos orgânicos desmetilados e o início da degradação dos polissacarídeos da parede celular antes mesmo da colheita.