

EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA EM *Carica papaya* L. SUBMETIDO A
TEMPERATURA SUPRA-ÓTIMA

GUILHERME AUGUSTO RODRIGUES DE SOUZA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2021

EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA EM *Carica papaya* L. SUBMETIDO A
TEMPERATURA SUPRA-ÓTIMA

GUILHERME AUGUSTO RODRIGUES DE SOUZA

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Eliemar Campostrini

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

S729

Souza, Guilherme Augusto Rodrigues de.

EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA EM *Carica papaya* L. SUBMETIDO A TEMPERATURA SUPRA-ÓTIMA / Guilherme Augusto Rodrigues de Souza. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2021.

89 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2021.

Orientador: Eliemar Campostrini.

1. Altas temperaturas. 2. Eficiência fotoquímica. 3. Estresse térmico. 4. Mamoeiro. 5. Rendimento quântico. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA EM *Carica papaya* L. SUBMETIDO A
TEMPERATURA SUPRA-ÓTIMA

GUILHERME AUGUSTO RODRIGUES DE SOUZA

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal

Aprovada em 25 de fevereiro de 2021

Comissão Examinadora:



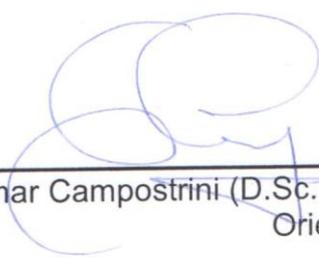
Prof. Eduardo Gusmão Pereira (D.Sc., Fisiologia Vegetal) - UFV



Ph.D. Miroslava Rakocevic (D.Sc., Ecofisiologia Vegetal) - UENF



Prof. Weverton Pereira Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) - UEMASUL



Prof. Eliemar Campostrini (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF
Orientador

A Deus; aos meus pais Orotides e Augusta; ao meu irmão José Geraldo; e aos meus amigos, dedico de todo coração uma das minhas maiores conquistas.

“Por mais que sejam cuidadosos, vocês poderão sofrer algumas derrotas, às vezes difíceis de suportar, mas lembrem-se desta frase: ninguém é digno do palco se não usar suas derrotas para conquistá-lo.”
(Augusto Cury)

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, por ser uma força constante e ativa na minha vida, plantando sonhos e projetos no meu coração, e dando-me condições de continuar a caminhada mesmo quando tudo parece difícil.

Aos meus pais e ao meu irmão, por torcerem e nutrirem meus sonhos, apesar de não os compreenderem muito bem e, principalmente, por serem os responsáveis por ser quem sou e por chegar aonde cheguei.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela realização do curso; à Capes pelo concedimento da bolsa de estudos; à FAPERJ e ao CNPq, pelo financiamento e recurso para condução da pesquisa.

Ao Setor de Fisiologia Vegetal do Laboratório de Melhoramento e Genética de Plantas, pela equipe maravilhosa e pela graça de poder aprender e crescer todos os dias ao lado de vocês.

Ao orientador Prof. Eliemar Campostrini, pela confiança, atenção, apoio, compreensão, paciência e pelos incentivos incansáveis aos seus alunos e amigos, obrigado por ser um educador e cientista invejável e inspirador.

Ao meu ex-orientador e amigo querido, José Altino, por me ensinar tanto e por me abrir portas que sequer imaginei cruzar.

Aos meus amigos pelo seu apoio, compreensão e torcida. Sem vocês, minhas conquistas não teriam o mesmo valor.

Aos familiares que sempre torceram e desejaram meu bem e que trilharam essa caminhada juntamente comigo.

À banca avaliadora por atenderem ao meu convite e pelas considerações que enriquecerão meu trabalho e futuro profissionais.

Aos demais colegas e amigos. Muito obrigado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

SUMÁRIO

SUMÁRIO	v
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS	xiii
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xviii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Importância socioeconômica de <i>Carica papaya</i> L.....	6
2.2 Aspectos botânicos de <i>C. papaya</i> L e caracterização varietal	7
2.3 Aquecimento global e o estresse térmico em plantas.....	9
2.4 Efeitos fisiológicos do estresse supra-ótimo em plantas.....	10
2.5 Uso da fluorescência da clorofila <i>a</i> para detecção do estresse em plantas	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Localização, condições e material do ensaio.....	17
3.2 Tratamento térmico.....	18
3.3 Emissão da fluorescência da clorofila <i>a</i>	19

3.3.1 Fluorescência não-modulada e análise do JIP _{Test}	19
3.3.2 Fluorescência modulada e fluorescência por imagem.....	23
3.4 Taxa de evolução de oxigênio (O ₂) fotossintético.....	27
3.5 Delineamento experimental e análise estatística.....	27
4. RESULTADOS.....	29
4.1 Fluorescência não-modulada e análise do JIP _{Test}	29
4.2 Fluorescência modulada e Fluorescência por imagem.....	41
4.3 Taxa de evolução de oxigênio (O ₂) fotossintético.....	48
5. DISCUSSÃO.....	50
6. RESUMO E CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Equações e definições das variáveis do JIP_{Test} obtidas de análises da emissão da fluorescência da clorofila *a* (O-J-I-P), de acordo com Strasser et al. (2004), Yusuf et al. (2010) e Redillas et al. (2011).21
- Tabela 2. Equações e definições das variáveis da fluorescência modulada obtidas por meio de curvas de indução e relaxamento, utilizando o fluorímetro FluorCam 800MF, e medidas pontuais utilizando o Multispeq V1, de acordo com Strasser et al. (2004), Yusuf et al. (2010), Redillas et al. (2011) e Lichtenthaler et al. (2005).26

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Análise de *quenching* a partir do uso da fluorescência modulada em amostras de discos foliares de *Carica papaya* L. (genótipo 'Candy') submetidos aos tratamentos térmicos de 25°C e 55°C durante 15 minutos. Uma amostra adaptada ao escuro é exposta a vários tratamentos de luz. As variáveis indicadas por '*Ln*' são referentes à análise da amostra exposta à luz actínica, e as variáveis indicadas por '*Dn*' são referentes à análise da amostra durante o período de relaxamento do *quenching* no escuro, sendo que, '*L*' está relacionado a *light*, '*D*' a *dark* e o '*n*' refere-se à sequência de pulsos de saturação aplicados no período. As variáveis não subscritas referem-se à amostra adaptada ao escuro. As setas pretas representam o momento de aplicação de um pulso de saturação capaz de oxidar transitoriamente todos os centros de reação do PSII abertos e saturar a cadeia transportadora de elétrons. As setas vermelho-escuras indicam o momento de aplicação do pulso de vermelho-distante (determinação de F_0'), responsável pela excitação do PSI e reoxidação do *pool* de plastoquinona, e Q_A associados ao PSII.24
- Figura 2. Variáveis técnicas da fluorescência obtidas por meio do fluorímetro não-modulado Pocket PEA, e emitidas por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. F_0 - Intensidade da fluorescência mínima. F_m - Intensidade da fluorescência

máxima. F_v/F_o - Razão entre as taxas constantes para uso fotoquímico e não-fotoquímico da energia de excitação pelos RCs. $\Delta V/\Delta t_o$ - Inclinação inicial média da fluorescência variável relativa. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=6). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.31

Figura 3. Rendimentos ou razões de fluxos de energia obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *BioLyzer*[®], a partir das variáveis técnicas da fluorescência emitida por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. ΦP_o - Rendimento quântico máximo para a fotoquímica primária do PSII. Ψ_o - Probabilidade de transporte de elétrons após redução de Q_A^- (em $t=0$). ΦE_o - Eficiência quântica para a transferência de elétrons de Q_A^- para cadeia transportadora de elétrons (em $t=0$). ΦD_o - Eficiência quântica para dissipação de energia (em $t=0$). As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=6). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.....33

Figura 4. Fluxos específicos de energia obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *BioLyzer*[®], a partir das variáveis técnicas da fluorescência emitidas por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. ABS/RC - Fluxo de energia absorvido por unidade de RC ativo. TR_o/RC - Fluxo de energia de excitação capturado por unidade de RC ativo no início da iluminação de uma amostra adaptada ao escuro (em $t=0$). ET_o/RC - Fluxo de elétrons transferidos por unidade de RC ativo (em $t=0$). DI_o/RC - Energia total dissipada como calor, fluorescência e transferência de energia para o PSI (em $t=0$), por unidade de RC ativo. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=6). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.....35

Figura 5. Fluxos fenomenológicos de energia obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *BioLyzer*[®], a partir das variáveis técnicas da

fluorescência emitida por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. ABS/CS_0 - Absorção de energia por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante no tempo zero ($t=0$). TR_0/CS_0 - Fluxo de energia capturado pelos RCs do PSII por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em $t=0$). ET_0/CS_0 - Fluxo de elétrons através do PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em $t=0$). DI_0/CS_0 - Dissipação térmica de energia no PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em $t=0$). As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P -valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=6$). $P<0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.....37

Figura 6. Densidade de centros de reação ativos capazes de reduzir Q_A (RC/CS_0) e Densidade de centros de reação ativos ($10RC/ABS$) obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *BioLyzer*[®], a partir das variáveis técnicas da fluorescência emitida por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P -valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=6$). $P<0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.....38

Figura 7. Índice de Desempenho (PI_{abs}) e Índice de estrutura e função (SFI_{abs}) obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *BioLyzer*[®], a partir das variáveis técnicas da fluorescência emitida por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P -valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=6$). $P<0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.....40

Figura 8. Variáveis obtidas por meio do fluorímetro modulado por imagem *FluorCam 800 MF* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. F_0 - Fluorescência mínima em estado adaptado ao escuro. F_m - Fluorescência máxima em estado adaptado ao

escuro. $QY_{Máx}$ - Rendimento quântico máximo do PSII em estado adaptado ao escuro. QY_{LSS} - Rendimento quântico efetivo no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P -valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=6$). $P<0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.....43

Figura 9. Imagens de fluorescência obtidas por meio do fluorímetro modulado *FluorCam 800 MF* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. F_o - Fluorescência mínima em estado adaptado ao escuro. F_m - Fluorescência máxima em estado adaptado ao escuro. $QY_{Máx}$ - Rendimento quântico máximo do PSII em estado adaptado ao escuro. QY_{LSS} - Rendimento quântico efetivo no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz. A escala de cores à direita de cada imagem representa a intensidade de emissão de cada variável ao longo do tecido foliar.44

Figura 10. Variáveis obtidas por meio do fluorímetro modulado por imagem *FluorCam 800 MF* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. NPQ_{LSS} - Quenching não-fotoquímico no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz. NPQ_D - Quenching não-fotoquímico instantâneo durante o período de relaxamento da fluorescência no escuro. R_{fdLSS} - Razão de decréscimo da fluorescência no estado estacionário da fotossíntese. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P -valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=6$). $P<0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.....46

Figura 11. Imagens de fluorescência obtidas por meio do fluorímetro modulado por *FluorCam 800 MF* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. NPQ_{LSS} - Quenching não-fotoquímico no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz. NPQ_D - Quenching não-fotoquímico instantâneo durante o período de relaxamento da fluorescência no escuro. R_{fdLSS} - Razão de decréscimo da fluorescência

no estado estacionário da fotossíntese. A escala de cores à direita de cada imagem representa a intensidade de emissão de cada variável ao longo do tecido foliar.47

Figura 12. Fluxo linear de elétrons (A) e Rendimento quântico para dissipação de energia por processos não-regulados (Φ_{NO}) obtidos por meio do fluorímetro modulado *Multispeq* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os *P*-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=6). *P*<0,05 foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.48

Figura 13. Taxa de evolução de oxigênio em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os *P*-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=4). *P*<0,05 foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.49

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS

ABS/CS ₀	Absorção de energia por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante no tempo zero (t=0)
ABS/RC	Fluxo de energia absorvido por unidade de RC ativo
ATP	Adenosina trifosfato
CEO	Complexo de evolução de oxigênio
CO ₂	Dióxido de carbono
Cyt b6/f	Complexo citocromo b6/f
DAE	Dias após emergência
DI ₀ /CS ₀	Dissipação térmica de energia no PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0)
DI ₀ /Rc	Energia total dissipada como calor, fluorescência e transferência de energia para o PSI (em t=0), por unidade de RC ativo
DPV _{ar}	Déficit de pressão de vapor do ar
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ET ₀ /CS ₀	Fluxo de elétrons através do PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0)
ET ₀ /RC	Fluxo de elétrons transferidos por unidade de RC ativo (em t=0)
FAO	Food and Agriculture Organization
F ₀	Fluorescência mínima adaptada ao escuro, no tempo 50 μs
F ₀ '	Fluorescência mínima adaptada à luz
F _J	Fluorescência na fase J, no tempo 2 ms

F_i	Fluorescência na fase I, no tempo 30 ms
F_m	Fluorescência máxima adaptada ao escuro, no tempo 300 ms
F_m'	Fluorescência máxima adaptada à luz
F_{300}	Fluorescência no tempo 300 μ s
F_v/F_o	Razão entre as taxas constantes para uso fotoquímico e não fotoquímico da energia de excitação pelos RCs
IBGE/PAM	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Produção Agrícola Municipal
IPCC	Intergovernmental Panel of Climate Change
LED	Light emitting diodes
LEF	Fluxo linear de elétrons
LHCII	Complexo coletor de luz do PSII
M_0	Inclinação inicial da curva relacionada com a cinética da fluorescência
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NPQ_{Lss}	Quenching não-fotoquímico no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz
NPQ_D	Quenching não-fotoquímico instantâneo durante o período de relaxamento da fluorescência no escuro
PAM	Pulso de amplitude modulada
PEAD	Polietileno de alta densidade
PI_{abs}	índice de desempenho. Um indicador da atividade funcional do PSII normalizada pela energia absorvida
PSI	Fotossistema I
PSII	Fotossistema II
Q_A	Quinona A
Q_A^-	Quinona A reduzida
$QY_{Máx}$	Rendimento quântico máximo do PSII em estado adaptado ao escuro.
QY_{Lss}	Rendimento quântico efetivo no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz.
RC	Centro de reação
RCA	RuBisCO Activase

RC/ABS	Densidade de centros de reação ativos, por unidade de energia absorvida
RC/CS ₀	Densidade de centros de reação capazes de reduzir QA
Rfd _{LSS}	Razão de decréscimo da fluorescência no estado estacionário da fotossíntese
RuBisCO	Ribulose 1,5 – Bifosfato Carboxilase/Oxigenase
SFI _{abs}	Índice estrutural e funcional sobre a força da influência de fatores internos promotores de reações no PSII
TR ₀ /CS ₀	Fluxo de energia capturado pelos RCs do PSII por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0)
TR ₀ /RC	Fluxo de energia de excitação capturado (reduziu QA) por unidade de RC ativo no início da iluminação de uma amostra adaptada ao escuro (em t=0)
$\Delta V/\Delta t_0$	Inclinação inicial média (em ms ⁻¹) da fluorescência relativa variável da clorofila a. Reflete a taxa de fechamento dos centros de reação PSII
ΦD_0	Eficiência quântica para dissipação de energia (em t=0)
ΦE_0	Eficiência quântica para a transferência de elétrons de QA- para cadeia transportadora de elétrons (em t=0)
ΦP_0	Rendimento quântico máximo para a fotoquímica primária do PSII
ΦNO	Rendimento quântico para dissipação de energia por processos não-regulados
Ψ_0	Probabilidade de transporte de elétrons após redução de QA- (em t=0)

RESUMO

SOUZA, Guilherme Augusto Rodrigues de; Bacharel em Agronomia, MSc., Universidade Estadual do Norte Fluminense; fevereiro de 2021; Eficiência fotoquímica em *Carica papaya* L. submetido à temperatura supra-ótima; Orientador: Prof. Eliemar Campostrini.

Carica papaya L. é caracterizada como uma frutífera tropical e subtropical, o que a torna mais exposta a uma série de condições climáticas desfavoráveis, principalmente temperaturas supra-ótimas, as quais podem induzir comprometimentos na maquinaria fotossintética. O cultivo desta espécie em sistemas protegidos, durante o verão, pode ser impactado pela ocorrência de temperaturas supra-ótimas, mesmo sob condições não limitantes de água no ar e no solo, que desencadeiam respostas não-estomáticas de estresse sobre a maquinaria fotoquímica do mamoeiro. Para estudar estes efeitos, em dois genótipos de mamoeiro ('Candy' e o 'Golden THB'), foram avaliadas as respostas fotoquímicas do estresse por temperaturas supra-ótimas. As sementes foram germinadas e as plantas cultivadas em casa de vegetação durante 100 dias em vasos de 40 litros preenchidos com subsolo, sob condições de temperatura média de $29^{\circ}\text{C} \pm 0,29$, umidade relativa média de $65\% \pm 0,74$ e radiação fotossinteticamente ativa média de $606 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \pm 24$. Após 100 dias de cultivo foram retirados discos de folhas completamente expandidas, e imersos em banho-maria, mantidos sob diferentes temperaturas (25, 35, 40, 45, 50, 55°C) durante

diferentes períodos (15, 30, 45 e 60 minutos). Os discos foliares removidos do banho-maria foram submetidos às avaliações de emissão de fluorescência da clorofila *a* e da taxa de evolução de O₂. Em ambos os genótipos, foi observado um aumento nos valores de F_o e a redução dos valores de F_m foi verificada em temperaturas superiores a 45°C, após 15 minutos de imersão, indicando a ocorrência de danos fotoquímicos. A partir de 40°C, foi observado aumento da constante de dissipação não-fotoquímica, em relação à dissipação fotoquímica (F_v/F_o), o que resultou no menor rendimento quântico máximo (ΦP_o e QY_{máx}) e efetivo (QY_{LSS}) do PSII. Observou-se a redução na probabilidade de o elétron ser transportado além de Q_A⁻ (Ψ_o) e na eficiência com que estes elétrons são transportados através da cadeia (ΦE_o), resultando no aumento significativo da eficiência quântica para dissipação de energia (ΦDo). A partir de 15 minutos e sob temperaturas superiores a 45°C, ocorreu alta taxa de inativação dos centros de reação, expressos pelo aumento significativo nos valores de 10RC/ABS e RC/CS_o, resultando na maior absorção (ABS/RC), captura (TR_o/RC), transporte (ET_o/RC) e dissipação (DI_o/RC) de energia por unidade de centro de reação ativo. A partir de 45°C, houve um aumento significativo na absorção de energia pelo complexo antena do PSII (ABS/CS_o), sem que esta energia fosse efetivamente capturada (TR_o/RC) e transportada (ET_o/CS_o), resultando em valores altos de dissipação do excesso de energia (DI_o/CS_o, NPQ_{LSS}, NPQ_D e ΦNO). Foi observada redução significativa na taxa de evolução de O₂ a partir de 35°C, refletida no aumento de ΔV/Δt_o. A redução dos índices PI_{abs}, SFI_{abs} e R_{fd}, a partir de 40°C, e em ambos os genótipos, reflete o nível de dano fotoquímico promovido pelas altas temperaturas. Temperaturas acima de 45°C, durante um período de 15 minutos, comprometem a maquinaria fotoquímica de mamoeiro, e o genótipo 'Candy' mostrou ter maior sensibilidade que o genótipo 'Golden THB' a este tipo de estresse.

Palavras chaves: altas temperaturas, eficiência fotoquímica, estresse térmico, mamoeiro, rendimento quântico, transporte de elétrons.

ABSTRACT

SOUZA, Guilherme Augusto Rodrigues de; Bacharel em Agronomia, MSc., Universidade Estadual do Norte Fluminense; February 2021; Photochemical efficiency in *Carica papaya* L. submitted to supra-optimum temperature; Advisor: Prof. Eliemar Campostrini.

Carica papaya L. is characterized as a tropical and subtropical fruit tree, which makes it more exposed to a series of unfavorable climatic conditions, mainly super-optimal temperatures, which can induce compromises in the photosynthetic machinery. The cultivation of this species in protected systems, during the summer, can be impacted by the occurrence of super-optimal temperatures, even under non-limiting conditions of water in the air and in the soil, which trigger non-stomatic stress responses on the papaya photochemical machinery. To study these effects, in two papaya genotypes ('Candy' and 'Golden THB') the photochemical responses to stress by super-optimal temperatures were evaluated. The seeds were germinated and the plants cultivated in a greenhouse for 100 days in 40 liter pots filled with subsoil, under conditions of mean temperature of $29^{\circ}\text{C} \pm 0.29$, mean relative humidity of $65\% \pm 0.74$ and radiation photosynthetically active average of $606 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \pm 24$. After 100 days of cultivation, discs of fully expanded leaves were removed and immersed in a water bath kept under different temperatures (25, 35, 40, 45, 50, 55°C) for different periods (15, 30, 45 and 60 minutes). Leaf discs removed from the bain-marie were subjected to chlorophyll a fluorescence emission

and O₂ evolution rate evaluations. In both genotypes, an increase in F_o values was observed and a reduction in F_m values was observed at temperatures above 45°C, after 15 minutes of immersion, indicating the occurrence of photochemical damage. The increase in the non-photochemical dissipation constant was observed, in relation to the photochemical dissipation (F_v/F_o), which resulted in the lowest maximum quantum yield (ΦP_o and QY_{max}) and effective (QY_{LSS}) of the PSII. It was observed a reduction in the probability of the electron being transported beyond QA- (Ψ_o) and in the efficiency with which these electrons are transported through the chain (ΦE_o), resulting in a significant increase in the quantum efficiency for energy dissipation (ΦD_o). After 15 minutes and at temperatures above 45°C, there was a high rate of inactivation of the reaction centers, expressed by the significant increase in the values of 10RC/ABS and RC/CS_o, resulting in greater absorption (ABS/RC), capture (TR_o/RC), transport (ET_o/RC) and dissipation (DI_o/RC) of energy per active reaction center unit. From 45°C onwards, there was a significant increase in energy absorption by the PSII antenna complex (ABS/CS_o), without this energy being effectively captured (TR_o/RC) and transported (ET_o/CS_o), resulting in high values excess energy dissipation (DI_o/CS_o, NPQ_{LSS}, NPQ_D and ΦNO). There was a significant reduction in the rate of evolution of O₂ from 35°C, reflected in the increase in ΔV/Δt_o. The reduction of PI_{abs}, SFI_{abs} and Rfd indexes, from 40°C, and in both genotypes, reflects the level of photochemical damage caused by high temperatures. Temperatures above 45°C, for a period of 15 minutes, compromise the papaya photochemical machinery, and the 'Candy' genotype was shown to have greater sensitivity than the 'Golden THB' genotype to this type of stress.

Key words: photochemical efficiency, papaya, thermal stress, high temperatures, electron transport, quantum yield.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, e ao redor do mundo, o aumento da temperatura do ar média global tem impacto direto nos ecossistemas naturais e na produtividade da maioria das espécies cultivadas (Dusenge et al., 2018). Esse impacto pode estar relacionado tanto com o efeito direto desta temperatura supra-ótima diretamente, ou por meio indireto das alterações climáticas sobre a distribuição de chuvas, o que pode resultar na maior frequência de eventos extremos de secas e/ou inundações em diferentes regiões (Myers et al., 2017). Quando as temperaturas supra-ótimas acontecem em períodos mais prolongados, esta ação pode resultar numa série de respostas de estresse nos organismos vegetais (Fahad et al., 2017; Allen et al., 2018; Raza et al., 2019).

De acordo com o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC), no decorrer do século XXI é previsto um aumento considerável na temperatura global do ar de 2 a 4°C (Field et al., 2012; IPCC, 2018). Isso significa dizer que as plantas, sejam elas de ecossistemas naturais ou agrícolas, estarão expostas com maior frequência a temperaturas supra-ótimas, o que pode drasticamente resultar em impactos diretos nos processos fisiológicos e, conseqüentemente, no rendimento das culturas de interesse agrônômico, o que pode comprometer ainda mais a segurança alimentar global (Hatfield et al., 2011; Garruña-Hernández et al., 2014).

Em agroecossistemas de regiões tropicais e subtropicais, a variabilidade térmica já é uma realidade que afeta diretamente a produtividade agrícola das

culturas distribuídas nessas regiões (Benkeblia et al., 2018; Nath et al., 2019). Entre as culturas de interesse agrônomo, as espécies frutíferas perenes se destacam com maior resiliência e estratégias de mitigação dos efeitos da variabilidade térmica. Apesar de possuírem estratégias e mecanismos de sobrevivência que possibilitam estas plantas lidar com estresses ambientais adversos, as frutíferas perenes tropicais, como o mamoeiro (*Carica papaya* L.), podem apresentar um custo considerável de energia para manutenção das atividades metabólicas de sobrevivência em condição supra e infra ótimas, o que pode resultar no comprometimento da produtividade (Sthapit et al., 2012; Benkeblia et al., 2018; Nath et al., 2019).

Os principais cultivos comerciais do mamoeiro estão distribuídos entre latitudes 23°N e 23°S. Contudo, sob condições especiais de cultivo protegido das temperaturas infra-ótimas, as plantas podem ser encontradas em áreas de latitudes de até 36°N e 36°S (Chan, 2009; Campostrini et al., 2018). As características de origem tropical e predominância de cultivo da espécie nestes locais permitem que o mamoeiro apresente mecanismos fisiológicos que sejam capazes de contornar determinados estresses ambientais leves, aos quais a planta é submetida como, por exemplo, o estresse por temperaturas supra-ótimas. Entretanto, a partir do momento em que estresse progride para condições moderadas e severas, o dano pode ser intenso e comprometer significativamente a produtividade desta importante espécie agrícola tropical.

O mamoeiro apresenta uma faixa de temperatura ótima de cultivo entre 21°C a 33°C (Lassoudiere, 1968). Entretanto, com o avanço dos cultivos para regiões como sul da Espanha, Japão, Israel, China, Turquia e Austrália, e em regiões semiáridas do Brasil, têm sido observados cultivos em regiões cujas temperaturas se deslocam da faixa considerada ótima para a cultura (Galán Saúco e Rodriguez Pastor, 2007; Campostrini et al., 2018).

A permanência das plantas de mamoeiro em temperaturas supra-ótimas pode desencadear respostas fisiológicas de estresse que culminam na redução da taxa de assimilação líquida de CO₂, e pode resultar no menor acúmulo de biomassa e menor produtividade da espécie (Fahad et al., 2017). Nesta condição, tanto os fatores estomáticos quanto os não-estomáticos relacionados à fotossíntese podem ser afetados negativamente. Campostrini et al. (2010) observaram que, quando cultivado em condição de campo, o mamoeiro pode ter redução significativa de 20

para $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na assimilação de CO_2 , quando a temperatura se eleva de 20°C para 40°C . De acordo com os autores, essa limitação se dá, principalmente, por fatores estomáticos, em decorrência do aumento significativo do déficit de pressão de vapor do ar (DPV_{ar}), o qual promove o fechamento estomático e limita a entrada de CO_2 até os sítios de carboxilação da ribulose – 1,5 – bisfosfato carboxilase oxigenase (RuBisCO). Além disso, o fechamento estomático promove redução significativa na taxa de transpiração em plantas de mamoeiro, portanto, pode contribuir para aumentar a temperatura foliar, a qual pode alcançar 42°C no verão sob condições de campo (Ferraz et al., 2015). Além dos efeitos iniciais diretos ocasionados pelo fechamento estomático, os efeitos indiretos ocasionados pela inativação de processos fotoquímicos e bioquímicos podem substancialmente reduzir a fotossíntese pela fotoinibição (Rodrigues et al., 2018).

Além da limitação por fatores estomáticos, a redução na taxa de assimilação fotossintética nas plantas de mamoeiro sob condições de estresse térmico pode ser decorrente de limitações não-estomáticas, principalmente, pelos efeitos que o estresse ocasiona na via fotoquímica (Weng e Lai, 2005). Esta limitação na fotossíntese se dá, principalmente, porque as elevadas temperaturas promovem a desestruturação das membranas dos tilacoides, onde as reações fotoquímicas acontecem, comprometendo a formação de ATP e NADPH, uma vez que estas moléculas são utilizadas na etapa bioquímica da fotossíntese (Mathur et al., 2014; Wang et al., 2018).

Atualmente, em algumas regiões, e no verão, como é o caso dos cultivos protegidos no sul da Espanha, são observadas temperaturas muito altas em determinados horários no decorrer do dia, o que promove o aumento severo do DPV_{ar} e aquecimento intenso do dossel das plantas de mamoeiro (Galán Saúco, 2002; Saúco e Rodriguez Pastor, 2007; Gunes e Gübbük, 2011; Campostrini et al., 2018; Cabrera et al., 2019). Na tentativa de amenizar a perda de produtividade dos cultivos pelo aumento drástico de temperatura dentro das casas de vegetação (podendo chegar a 45°C) (Prof. Julian Cuevas Gonzalez, comunicação pessoal), muitos produtores têm utilizado de sistemas de ventilação no teto, e da técnica de microaspersão de água sobre a copa das plantas (*Micro-Fog*). Esta técnica consiste em um sistema automatizado que aciona a microaspersão de água sobre o dossel nos horários mais quentes do dia, com a finalidade de reduzir a temperatura foliar e aumentar a umidade dentro da casa de vegetação, contribuindo para a redução

do DPV_{ar} e manutenção da fotossíntese (Fukamachi et al., 2002; Zhang et al., 2015).

Nos sistemas protegidos, a aplicação das técnicas citadas, apesar de onerosas, tornam-se viáveis para a redução dos danos decorrentes do estresse térmico, e vários estudos têm demonstrado a eficácia na manutenção das trocas gasosas das plantas. Entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos diretos do estresse térmico sobre a maquinaria fotossintética do Fotossistema II (PSII) nos cultivos de mamoeiro em que se utiliza este sistema de microaspersão de água sobre a copa [condição não limitante de água no ar (reduzidos valores de DPV_{ar}) e no solo (sistema irrigado)]. No verão europeu, e nesta condição do mamoeiro irrigado e submetido à redução do DPV_{ar} sob *Micro-Fog*, o estresse supra-ótimo é desvinculado do estresse hídrico. Desta maneira, o conhecimento associado à eficiência fotoquímica (efeitos não-estomáticos) da ação do estresse supra-ótimo nesta condição não limitante de água no ar e no solo no cultivo desta espécie, torna-se de fundamental importância. Ainda, este tipo de estudo (um dos objetivos do presente trabalho) permite a definição das temperaturas críticas, a partir das quais, o estresse não associado aos estômatos começa a se manifestar nas plantas. Outros estudos futuros, podem ser feitos com o objetivo de determinar o tempo máximo que estas plantas podem permanecer em temperaturas supra-ótimas sem que elas ocasionem danos críticos ao aparato fotossintético foliar, quando este for retornado à temperatura considerada ótima para cultura.

O uso de diferentes técnicas de medição da emissão de fluorescência da clorofila *a* permite, de maneira rápida e não invasiva, a detecção do nível de danos na maquinaria fotoquímica promovidos por estresse abióticos, como exemplo, o estresse por temperaturas supra-ótimas (Guidi et al., 2007; Ehlert e Hinch, 2008; Kalaji et al., 2017). No entanto, para que o emprego da técnica seja potencializado, é necessário o estudo aprofundado de diferentes métodos de avaliação da emissão de fluorescência para que as variáveis mais sensíveis e apropriadas para a detecção do estresse sejam selecionadas, e possibilitem a compreensão geral da severidade do estresse (como exemplo, temperatura supra-ótima) no tecido foliar.

Com base na hipótese de que temperaturas superiores a 40°C desencadeiam respostas de estresse fotoquímico em cultivos protegidos de *C. papaya* L. sob condições hídricas não-limitantes, este trabalho tem por objetivo avaliar, por meio de diferentes metodologias associadas à emissão da

fluorescência da clorofila, a eficiência fotoquímica em dois genótipos de mamoeiro de importância comercial submetidos ao estresse por temperaturas supra-ótimas, sob condições hídricas não-limitantes, a partir da exposição de discos foliares a diferentes temperaturas, em diferentes períodos de exposição.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância socioeconômica de *Carica papaya* L.

O mamoeiro é uma das frutíferas tropicais e subtropicais de maior importância socioeconômica, devido ao elevado valor nutricional. O fruto desta espécie pode ser consumido in natura ou industrializado (Dantas e Junghans, 2013). A distribuição de cultivo se concentra entre as latitudes 23° Norte e 23° Sul, em temperaturas que variam entre 22°C e 26°C (Marin et al., 1995; Alves, 2003).

Os principais países produtores de mamão são a Índia, a República Dominicana e o Brasil, com aproximadamente 6,05, 1,17 e 1,16 milhões de toneladas produzidas no ano de 2019, respectivamente. O Brasil é ranqueado como terceiro maior produtor mundial do mamoeiro, com cerca de 9%, e considerado como segundo maior exportador, entretanto, a maior parte da produção brasileira é destinada ao consumo interno (FAO, 2020; TRIDGE, 2021). Dentre os estados mais representativos nas exportações, estão os estados do Nordeste como o Rio Grande do Norte, Bahia e Ceará, seguidos pelo Espírito Santo e São Paulo, na região Sudeste (IBGE/PAM, 2017).

O consumo de mamão pode ocorrer de diferentes formas: *in natura* (consumido maduro), sendo este uso mais frequente, ou verde, em forma de saladas. Quando não consumido *in natura*, o fruto pode ser utilizado na indústria alimentícia e na indústria farmacêutica. Em alguns países, as folhas, os caules e,

até mesmo as flores, podem ser processados e inseridos na culinária local (Saran et al., 2016); ou usados para extração da carpaína, que é um alcaloide empregado como ativador cardíaco. Além do uso na culinária, o mamão verde pode ser usado para extração de uma enzima proteolítica do látex denominada papaína, a qual pode ser usada na indústria para amaciamento de carne e lã, na indústria de cosméticos, produtos farmacêuticos e na produção de cervejas (El Moussaoui et al., 2001; Konno et al., 2004; Evans e Ballen, 2012).

A produção de mamão em todo o mundo, além da importância comercial e econômica, possui grande importância social, principalmente pela geração de empregos (diretos e indiretos) e renda, devido à demanda da mão de obra ao longo do ciclo de cultivo para realização de tratamentos culturais, colheita e comercialização da produção (Dantas e Junghans, 2013).

2.2 Aspectos botânicos de *C. papaya* L e caracterização varietal

A espécie *Carica papaya* L., chamada comumente de mamoeiro, descrita por Linnaeus (1753), foi incluída à família Caricaceae, sendo esta constituída por 6 gêneros e 35 espécies. Devido à sensibilidade ao frio (Dhekney et al., 2004), esta espécie encontra-se distribuída em várias regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo, o que dificulta a determinação precisa do centro de origem (Harlan, 1971; Vavilov, 1987). Entretanto, muitos autores consideram que, devido à presença de outros gêneros da família Caricaceae endêmicos no México, este seja o local de origem mais provável, estendendo-se do sul do país por toda a América Central (Badillo, 1971).

O mamoeiro tem sido descrito como uma herbácea perene gigante e/ou como uma planta semi-lenhosa. Seu genoma relativamente pequeno, cujas características de tamanho e lignificação celular, consumo de carboidratos, respostas no fotoperíodo e produção de metabólitos secundários lhe conferem a posição intermediária entre uma planta herbácea e uma árvore (Ming et al., 2008).

A planta de mamoeiro é formada por uma haste simples, na qual podem surgir brotações laterais, caso ocorra supressão da dominância apical. A altura pode atingir até 10 m, com diâmetro de caule que varia de 10 a 40 cm. Entretanto,

em cultivos comerciais, esta altura raramente supera 5 a 6 m (Morton, 1987). A parte aérea apresenta filotaxia espiralada com configuração 3:8, sendo necessárias três folhas para completar um giro de 360° em torno do caule e oito folhas para que uma folha localizada na parte inferior esteja perfeitamente alinhada com uma folha localizada na parte superior (Fisher, 1980; Ming et al. 2008, Campostrini et al., 2018). Uma folha completamente expandida pode atingir uma área aproximada de 0,6 m², com densidade estomática de aproximadamente 400 mm⁻² e um pecíolo variando entre 0,3 e 1,05 m de comprimento (Bucci et al., 2003; Carneiro e Cruz, 2009; Posse et al., 2009; Leal-Costa et al., 2010; Ming e Moore, 2014).

Durante a fase reprodutiva, o mamoeiro pode apresentar flores masculinas, femininas e hermafroditas (Ming et al., 2008). Entretanto, os frutos originados de flores hermafroditas são os mais desejáveis comercialmente por terem formato mais alongado, menor cavidade interna e, portanto, maior relação polpa/volume (Storey, 1941).

Quanto ao tamanho e à origem do fruto, o cultivo comercial do mamoeiro é reduzido a dois grupos característicos. O grupo Formosa, que é caracterizado pela produção obtida a partir de materiais híbridos, cujos frutos são de tamanho médio (1 kg), com polpa avermelhada e destinados, principalmente, ao mercado interno. Já o grupo Solo apresenta cultivares, como a Sunrise Solo e a Golden, com uniformidade genética e oriundas de linhagens puras, responsáveis pela produção de frutos de polpa avermelhada e de tamanho menor (400 a 500 g), os quais são consumidos pelo mercado interno e são, preferencialmente, destinados à exportação (Faria et al., 2009).

As variedades do grupo, Solo de maior interesse comercial, são a Sunrise Solo, o 'Golden' e o 'Golden THB' (Faria et al., 2009; Serrano e Cataneo, 2010). Dentre estes, o Golden é caracterizado como uma cultivar oriunda de seleção massal em pomares de Sunrise Solo, desenvolvida pela empresa Caliman Agrícola S.A no estado do Espírito Santo (Costa e Pacova, 2003). Segundo Martins e Costa (2003), os frutos hermafroditas possuem formato piriforme, de coloração rosa-salmão, cavidade interna estrelada, com casca lisa, tamanho uniforme e peso médio de 450g. Apesar de apresentar grande variabilidade genética, com produção e teor de sólidos solúveis reduzidos em comparação à variedade Sunrise Solo, o fruto do mamoeiro 'Golden', bem como o 'Golden THB', tem demonstrado boa aceitação no mercado internacional (Martins e Costa, 2003; Almeida, 2005).

As variedades do Grupo ‘Formosa’ são originárias, principalmente da China e do Brasil, e compreendem a híbridos F1. As variedades mais usuais são ‘Tainung n°1’, ‘Tainung n°2’ e o híbrido nacional ‘UENF/Caliman 01”, conhecido também como ‘Candy’ (Martins e Costa, 2003). De acordo com Martins e Costa (2003), os frutos do híbrido ‘Candy’ possuem casca de cor verde, com peso médio variando entre 1,4 kg e 1,6 kg, possui polpa alaranjada, com 3,54 pontos na escala de apreciabilidade. Além disso, apresentam casca fina, com polpa de aroma intermediário, pouco tecido placentário e ótima qualidade de mesa. Destinam-se principalmente ao mercado nacional.

2.3 Aquecimento global e o estresse térmico em plantas

As mudanças climáticas globais têm acarretado uma série de consequências severas ao crescimento e desenvolvimento de culturas ao redor do mundo. A má distribuição pluviométrica e o aumento considerável das temperaturas médias anuais do ar caracterizam-se como os fatores que mais impactam o crescimento e o desenvolvimento de plantas, devido aos inúmeros comprometimentos morfofisiológicos acarretados por estes dois fatores ambientais, aos quais as plantas são submetidas (Kadam et al., 2014; Fahad et al., 2017; Raza et al., 2019).

De acordo com dados do IPCC (2018), a partir de meados do século XX, a temperatura média global do ar apresentou um aumento significativo de 0,85°C até 2012. Contudo, muitas regiões onde os efeitos do aquecimento global têm sido mais intensos podem ser observados aumentos próximos a 1,5°C, com probabilidade de aumento de até 0,2°C a cada década. Apesar de parecer um aumento insignificativo, podem ser observadas grandes alterações, tanto em sistemas antrópicos quanto em sistemas naturais, associados ao aumento dos eventos de secas, inundações, elevação do nível do mar e perda de biodiversidade, o que contribui direta ou indiretamente com o desenvolvimento social de determinadas regiões (IPCC, 2018).

Apesar dos impactos diretos em ecossistemas naturais, o aumento das temperaturas médias globais tem sido muito relacionado à redução da segurança

alimentar global (Lesk et al., 2016). Isso porque esta elevação na temperatura gera condições estressantes, que resultam no comprometimento da produção agrícola, seja pelo efeito direto das ondas de calor em áreas de cultivo, ou como resultado da frequência com que eventos extremos de secas e/ou inundações têm ocorrido nestas áreas (Lobell et al., 2011).

O nível de estresse ou dano decorrente do estresse está diretamente relacionado com as características intrínsecas da espécie vegetal e com o local em que esta espécie cresce e se desenvolve, além do tempo em que a planta permanece sob uma dada condição estressante (Żróbek-Sokolnik, 2012; Cavatte et al., 2012). Desta forma, o estresse por temperaturas supra-ótimas pode ser definido como o aumento da temperatura além do limite tolerado pelas plantas por um período capaz de causar danos irreversíveis ao crescimento e ao desenvolvimento da planta (Wahid et al., 2007).

2.4 Efeitos fisiológicos do estresse supra-ótimo em plantas

O estresse térmico, infra ou supra-ótimo pode acarretar uma série de distúrbios funcionais nos tecidos vegetais, levando em consideração a intensidade da temperatura e o tempo de exposição das plantas a essa temperatura. As temperaturas moderadamente altas ou muito altas (supra-ótimas) podem desencadear a desnaturação ou agregação de proteínas, aumento da fluidez de membranas lipídicas, inativação de enzimas cloroplastídicas e mitocondriais, inibição da síntese de proteínas e perda da integridade de membranas, comprometimento do processo de divisão celular, inibição do crescimento, fluxo de íons e produção de compostos tóxicos às células, ocasionando lesões celulares graves, podendo resultar na morte celular (Wahid et al., 2007; Hasanuzzaman et al., 2013).

A fotossíntese é o principal processo fisiológico afetado pelo estresse térmico (Yang et al., 2006). Tanto as reações fotoquímicas, que ocorrem nos tilacoides dos cloroplastos, quanto as reações bioquímicas, responsáveis pelo metabolismo do carbono no estroma, são extremamente sensíveis às temperaturas

supra-ótimas (Berry e Björkman, 1980; Wise et al., 2004; Mathur et al., 2014; Wang et al., 2018).

A redução da taxa fotossintética em plantas sob condições estressantes de calor é caracterizada pela redução da fixação de CO₂ e a conversão em carboidratos, devido, principalmente, à redução na atividade da RuBisCO (Crafts-Brandner e Salvucci, 2004). Em condições de temperaturas moderadamente altas, ocorre a inativação térmica da RuBisCO, em decorrência da inibição da RuBisCO ativase (RCA), o que resulta na inibição da assimilação do CO₂. Com a redução da taxa de carboxilação da RuBisCO ocorre aumento na taxa de oxigenação desta enzima, o que contribui para a ocorrência da fotorrespiração, uma vez que este processo metabólico é uma importante estratégia fisiológica para que a planta “escape” de estresses ambientais (Portis, 2003; Perdomo et al., 2017).

A inibição da fotossíntese por elevadas temperaturas pode estar relacionada aos efeitos estomáticos. Sob condições de elevadas temperaturas, os estômatos tendem a se fechar, o que reduz a condutância estomática ao CO₂ e, portanto, a entrada deste gás fica limitada no mesófilo (Salvucci e Crafts-Brandner, 2002; Morales et al., 2003). O fechamento dos estômatos reduz a perda de água, conseqüentemente, diminuindo a perda de calor por meio da transpiração, o que contribui para o aumento da fotorrespiração da RuBisCO (Salvucci e Crafts-Brandner, 2004; Lociale et al., 2014). Além disso, a afinidade da RuBisCO com o CO₂ é extremamente reduzida com aumento da temperatura, favorecendo a catálise da oxigenação em detrimento à carboxilação (Hermida-Carrera et al., 2016).

Apesar dos fatores estomáticos e bioquímicos associados à inibição da fotossíntese de plantas submetidas a condições de estresse supra-ótimo, os danos gerais às reações fotossintéticas se devem, principalmente, ao comprometimento da etapa fotoquímica para produção de Adenosina Trifosfato (ATP) e Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NADPH), os quais serão consumidos na etapa bioquímica (Wise et al., 2004; Mathur et al., 2014; Wang et al., 2018). Isso porque, os complexos proteicos, como o PSII, PSI, complexo de evolução de oxigênio e o complexo Citocromo b6/f (Cyt b6/f), distribuídos pela membrana tilacoide são altamente termolábeis (Harvaux e Tardy, 1996; Bukhov et al., 1999; Morales et al., 2003; De Ronde et al., 2004; Camejo et al., 2005; Sharkey, 2005).

Quando expostas a condições de temperaturas superiores àquelas consideradas ótimas para o crescimento e desenvolvimento, as plantas começam a apresentar alterações consideráveis na estrutura de membranas do cloroplasto, principalmente, pelo aumento da fluidez de lipídios e desempilhamento de tilacoides granais (Vani et al., 2001; Ashraf e Hafeez, 2004; Rodriguez et al., 2005; Millineaux e Kirchhoff, 2009; Petrova et al., 2018). Com o aumento da fluidez ocorre a redução de pigmentos fotossintéticos e os complexos coletores de luz do PSII (LHCII) se dissociam dos centros de reação, comprometendo a transferência de energia de excitação para manutenção do fluxo de elétrons através do PSII (Harvaux, 1993; Srivastava et al., 1997; Mathur et al., 2014; Madireddi et al., 2019)

Além da desestruturação de membranas, é observada a inativação do complexo de evolução de oxigênio (CEO), que é formado por um conglomerado de manganês que atua como um cofator responsável pela quebra das moléculas de H₂O para o fornecimento de elétrons para a etapa fotoquímica e liberação de O₂ (De Ronde et al., 2004; Strasser, 2004; Barra et al., 2005; Oukarroum et al., 2013). Esta inativação resulta no desequilíbrio no fluxo de elétrons do CEO em direção ao lado aceptor do PSII (De Ronde et al., 2004). Além disso, as elevadas temperaturas podem promover a dissociação da proteína de 33 kDa, responsável pela estabilização dos complexos de manganês, e promover danos diretos às proteínas D1 e/ou D2 do PSII (Rivas e Barber, 1997; Yamane et al., 1998).

Apesar dos danos observados em torno PSII pelas elevadas temperaturas, Pastenes e Horton (1996) e Bukhov et al. (1999) propuseram que o estresse térmico moderado pode promover uma maior condutância de prótons do tilacoide e, conseqüentemente, o aumento do fluxo cíclico de elétrons em torno do PSI. De fato, foi observado que as enzimas do estroma, ao lado do PSI, e os envelopes do cloroplasto próximo a este fotossistema, são mais termoestáveis do que as do PSII, promovendo, assim, o maior fluxo cíclico de elétrons em torno do PSI, e contribuindo para formação do gradiente de prótons do tilacoide (Bukhov, 1999; Joët et al., 2002; Schrader et al., 2004; Sharkey, 2005).

Geralmente, o estresse térmico em plantas é acompanhado pelo estresse oxidativo, pela formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Reddy et al., 2004; Asada, 2006; Dogra e Kim, 2019). Isso ocorre porque as altas temperaturas podem promover o desacoplamento de enzimas e vias metabólicas que resultam no acúmulo de EROs, os quais são prejudiciais e causam danos às

proteínas do centro de reação do PSII. As principais EROs formadas nesse processo são o oxigênio singlete reativo (1O_2), radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^{\cdot}) (Apel e Hirt, 2004). Sob condições de estresse moderado, estas EROs podem atuar como sinalizadores para ativação do ciclo de reparo do PSII danificado. Entretanto, com a progressão do estresse, tanto pelo aumento das temperaturas quanto pelo aumento do tempo de permanência sob a condição estressante, estas ERO's tornam-se extremamente tóxicas e destrutivas às células vegetais (Fahad et al., 2017; Nievola et al., 2017; Dogra e Kim, 2019; Hu et al., 2020).

2.5 Uso da fluorescência da clorofila *a* para detecção do estresse em plantas

A técnica de medição da emissão de fluorescência da clorofila *a* (FC) tem sido amplamente utilizada para detecção de estresses em plantas. Isso porque a FC se caracteriza como uma técnica precisa e rápida para quantificar o nível de danos ocasionados ao aparato fotoquímico, tanto por estresses abióticos quanto para os bióticos, além de ser uma metodologia não invasiva (Baker, 2008; Woo et al., 2008). Em termos gerais, a análise de FC da clorofila *a* destina-se a estimar e avaliar a atividade geral do PSII (Guidi et al., 2007; Ehlert e Hinch, 2008; Kalaji et al., 2017).

A emissão da fluorescência da clorofila é, basicamente, uma das três principais vias de dissipação de energia luminosa, a qual foi absorvida pelas plantas. A energia absorvida pelos complexos coletores de luz, tanto do PSII quanto do PSI, pode ser utilizada pela etapa fotoquímica, e pode ser reemitida na forma de calor e/ou na forma de luz, que é a fluorescência. Como as três vias de dissipação são competitivas entre si, todas estas vias podem contribuir para o decaimento do estado de excitação da molécula de clorofila, e o aumento da participação de qualquer um destes processos (fotoquímica e calor) resultando na redução do rendimento de fluorescência (Baker, 2008; Guidi e Degl'Innocenti, 2011; Murchie e Lawson, 2013). Sendo assim, a intensidade de fluorescência emitida é inversamente proporcional à energia destinada à etapa fotoquímica e à dissipação na forma de calor, o que permite que FC seja usada como uma técnica para avaliar

a atividade fotossintética de plantas. Assim, as técnicas de medição da emissão de fluorescência não-modulada e de fluorescência modulada em tecidos fotossintetizantes são usadas para avaliação da atividade da maquinaria fotossintética.

A fluorescência não-modulada ou de excitação contínua baseia-se na excitação das moléculas de clorofila por um pulso de saturação e detecção da fluorescência, após um prévio período de adaptação ao escuro. Após a adaptação ao escuro, por um período mínimo de 20 – 30 minutos, a amostra é iluminada continuamente por um pulso de saturação de cerca de $3500 \mu\text{mols m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (a depender do fluorímetro) com comprimento de onda próximo a 625 nm. Após a iluminação, a fluorescência é detectada em comprimentos de onda superiores a 700 nm, cujo sinal é amplificado e digitalizado, permitindo, assim, o cálculo das variáveis básicas da fluorescência (Stirbet e Govindjee, 2011; Kalaji et al., 2014; Goltsev et al., 2016). Comumente, as análises baseadas nesta técnica de medição têm sido feitas por meio de interpretações da cinética de emissão da fluorescência normalizadas pelo tempo (em escala logarítmica), e com base na curva de indução do transiente OJIP, várias variáveis podem ser obtidas por meio da análise do JIP_{Test} (Strasser et al., 2000; Strasser et al., 2004).

O JIP_{Test} é baseado na cinética rápida de indução da fluorescência da clorofila, que reflete a atividade da maquinaria fotossintética. Este teste foi desenvolvido com base na teoria do fluxo de energia em membranas fotossintéticas, e é capaz de correlacionar diferentes etapas da curva de indução com os estados de oxirredução do PSII, e com a eficiência do transporte de elétrons através da cadeia intersistema para os aceptores finais do PSI (Strasser et al., 2005; Tsimilli-Michael e Strasser, 2008). O uso do JIP_{Test} tem sido amplamente aplicado para detecção de estresses abióticos, incluindo aqueles promovidos por temperaturas supra-ótimas (Chen e Cheng, 2009; Stefanov et al., 2011; Zuchi et al., 2012; Chen et al., 2016).

A fluorescência modulada, por sua vez, é medida com base no sistema de modulação de amplitude de pulso (PAM) (Schreiber, 1986). Nesta técnica, a fluorescência da clorofila é excitada por uma fonte luminosa que é ligada e desligada continuamente, em intervalos regulares e, diferentemente do sistema não-modulado, somente a fluorescência variável induzida na amostra é monitorada pelo detector. Esta modulação da fluorescência permite com que as medições

sejam realizadas em amostras que estejam sob exposição de luz actínica (capaz de induzir a fotossíntese) contínua, seja artificial ou mesmo a luz solar. Por isso, o detector de fluorescência deste sistema de medição deve ser sensibilizado por três sinais de luz: o sinal de luz actínica, o sinal de fluorescência contínuo induzido pela luz actínica e o sinal de fluorescência induzido por um pulso modulado de saturação (Baker, 2008; Murchie e Lawson, 2013; Goltsev et al., 2016.)

Com o uso de um sistema PAM, a medição da FC no tempo tem início quando uma luz de medição modulada muito fraca é ligada para induzir a fluorescência da clorofila inicial. Esta luz de medição é proporcionada por LEDs que emitem radiação na região espectral do vermelho, próximo a 650 nm, e por ser muito fraca não é capaz de desencadear respostas fotoquímicas na amostra. Toda a fluorescência emitida até esse momento é proveniente da excitação do complexo antena e, por isso, é denominada como fluorescência mínima ou inicial (F_0). Posteriormente, um pulso de saturação é ativado, com duração de cerca de 0,8 s e intensidade de até $20000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (a depender do fluorímetro) que promove a completa redução dos aceptores de elétrons do PSII e bloqueia temporariamente as reações fotoquímicas. Este pulso permite o aumento acentuado da emissão da fluorescência [fluorescência máxima (F_m)] em amostras adaptadas ao escuro. Após a intensidade de fluorescência retornar a intensidades basais, a luz actínica é ligada, com intensidade variável entre $200 - 3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para determinação do nível FP (fluorescência máxima após iluminação actínica). Após alguns minutos de exposição à luz actínica, a intensidade de fluorescência é reduzida, atingindo o estado estacionário denominado de fluorescência terminal (FT), o que indica o equilíbrio entre as reações fotoquímicas e bioquímicas. Neste momento, um novo pulso de saturação pode ser ativado para determinação de F_m' e, em seguida, um pulso de luz vermelho-distante é utilizado para a determinação de F_0' . Com base nestas variáveis básicas, é possível estimar outras variáveis da fluorescência modulada como os *quenchings* (extinções) fotoquímico e não fotoquímico (Baker, 2008; Porcar-Castell et al., 2014; Goltsev et al., 2016; Kalaji et al., 2017).

Além dos métodos de avaliação da fluorescência modulada e não-modulada, pode-se ressaltar o aperfeiçoamento de medição em ambas as técnicas, por meio do uso da fluorescência por imagem, com aplicações tanto para os estudos da heterogeneidade na lâmina foliar quanto para avaliação de alterações simultâneas de grande número de amostras, com grande aplicabilidade para a

fenotipagem e plantas (Barbagallo et al., 2003; Baker, 2008; Rühle et al., 2018; Pérez-Bueno et al., 2019). Entretanto, a detecção de heterogeneidades laterais de variáveis da fluorescência tem sido de maior interesse, pois refletem heterogeneidades na maquinaria fotoquímica ao longo do tecido foliar. Isso porque mesmo as folhas completamente saudáveis apresentam irregularidades (heterogeneidades) fisiológicas como, por exemplo, a abertura estomática diferencial. Os estresses em plantas também podem causar danos à maquinaria fotossintética, e que não se distribuem uniformemente ao longo do tecido foliar. Por isso, o uso de imagens de fluorescência pode contribuir para a detecção do estresse de maneira mais precoce, além de permitir a avaliação de várias amostras em condições semelhantes (Oxborough, 2004; Guidi e Degl'Innocenti, 2011; Gorbe e Catalayud, 2012; Sanchez-Moreiras et al., 2020).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização, condições e material do ensaio

O experimento foi realizado no laboratório de Ecofisiologia de Plantas Tropicais e Subtropicais do setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), situada no município de Campos dos Goytacazes – RJ (21°44'47" S e 41°18'24" O e 10 m de altitude). De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima da região é caracterizado como tropical úmido (Aw), com verão chuvoso e inverno seco, e temperatura média anual de 24°C. Para realização do experimento, foram utilizados dois genótipos de *Cariaca papaya* L., o “Golden THB” (grupo ‘Solo’) e o UENF/Caliman 01 (aqui chamado de ‘Candy’; grupo ‘Formosa’). As sementes foram provenientes da empresa Caliman Agrícola S.A., localizada no município de Linhares – ES (19°23'27" S, 40°4'17" O).

As sementes foram germinadas na UENF, em tubetes de 280 cm³ preenchidos com substrato comercial Basaplant®. Aos 30 dias após a emergência (DAE), as mudas foram transplantadas para vasos de polietileno de alta densidade (PEAD) com capacidade aproximada de 40 litros, revestidos com papel alumínio (para reduzir o aquecimento do substrato) e preenchidos com substrato composto à base de latossolo vermelho-amarelo enriquecido com matéria orgânica e Osmocote® (4 – 5 meses). Doze plantas foram cultivadas nos vasos, sendo seis plantas de cada genótipo em delineamento inteiramente casualizado.

A irrigação foi feita diariamente de acordo com a demanda evapotranspiratória das plantas, objetivando a manutenção aproximada da capacidade de campo. O cultivo foi realizado em casa de vegetação coberta com plástico transparente com 30% de interceptação luminosa, na Unidade de Apoio à Pesquisa do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da UENF. Durante o cultivo das plantas na casa de vegetação, as temperaturas máxima, média e mínima mantiveram-se respectivamente, em torno de $39^{\circ}\text{C} \pm 0,53$, $29^{\circ}\text{C} \pm 0,29$, $23^{\circ}\text{C} \pm 0,22$; a umidade relativa máxima, média e mínima manteve-se em torno de $91\% \pm 1,69$, $65\% \pm 0,74$, $33\% \pm 0,97$, respectivamente; e a radiação fotossinteticamente ativa máxima e média manteve-se, respectivamente, em torno de $1425 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \pm 47$ e $606 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \pm 24$. Todas as variáveis climáticas foram monitoradas ao longo de 24 h por dia ao longo do período de cultivo.

Decorridos 100 dias de cultivo após o transplante, foram selecionadas folhas completamente expandidas com valores de índice SPAD ≥ 45 , preferencialmente a 6ª ou 7ª folha contada a partir do ápice, sendo uma folha por planta. As folhas foram removidas com pecíolo e colocadas dentro de sacos plásticos escuros com toalhas de papel úmidas, a fim de aumentar a umidade relativa do ar dentro do saco plástico e de diminuir os efeitos estomáticos para perda de água e desidratação do tecido foliar. Em seguida, foram levadas ao laboratório, onde foram realizados os ensaios e avaliações.

3.2 Tratamento térmico

As folhas removidas foram levadas ao laboratório, onde foram retiradas do saco plástico e tiveram os pecíolos imersos em água para evitar o murchamento e desidratação da folha. Posteriormente, foram retirados discos aleatórios ao longo do limbo foliar, considerando todos os lóbulos da folha, com área dos discos aproximada de 2 cm^2 . Durante a retirada dos discos, evitou-se retirar os discos com a presença de nervuras de maior espessura. Logo em seguida, os discos foliares foram então dispostos em recipientes plásticos previamente preparados para permitir o máximo contato entre os discos foliares e o banho com água, onde estes

foram inseridos. A temperatura ambiente do laboratório no decorrer do experimento manteve-se em $29^{\circ}\text{C} \pm 0,15^{\circ}\text{C}$ (média \pm EP).

Para a aplicação dos tratamentos térmicos, foram utilizados diferentes banhos-maria para obtenção e controle das temperaturas desejadas para este experimento, as quais foram monitoradas constantemente com o auxílio de um termômetro multiparamétrico modelo *VelociCalc* (TSI Incorporated – Minnesota – EUA). Após a retirada dos discos foliares, os recipientes plásticos (previamente perfurados), nos quais os discos foliares foram colocados, foram imersos no banho-maria previamente ajustado para a temperatura desejada. Para este experimento, foram utilizadas temperaturas de 25°C , 35°C , 40°C , 45°C , 50°C e 55°C , e foram considerados diferentes tempos de imersão (15, 30, 45 e 60 minutos) dos discos dentro de cada temperatura, a fim de observar o tempo mínimo em que os danos ao aparato fotossintético se tornam evidentes para as temperaturas avaliadas.

Para garantir a adaptação ao escuro das folhas, todas as coletas e avaliações foram realizadas à noite, objetivando a completa oxidação dos centros de reação do Fotossistema II (PSII). Além disso, o uso dessa metodologia de imersão dos discos em banho-maria destina-se à avaliação do estresse térmico (supra-ótimo) por meio das respostas fotoquímicas do aparato fotossintético, desconsiderando, assim, os efeitos estomáticos da temperatura, bem como os efeitos do estresse hídrico sobre as respostas fotossintéticas associadas à maquinaria fotoquímica.

3.3 Emissão da fluorescência da clorofila *a*

3.3.1 Fluorescência não-modulada e análise do JIP_{Test}

Após decorridos os tempos de imersão em cada temperatura, seis discos de cada genótipo e diferentes plantas foram retirados do tratamento térmico e submetidos à secagem superficial do tecido foliar por meio de um papel toalha fino. Os discos retirados do banho e posteriormente secos foram posicionados em pinças especiais (*leaf-clips*), possibilitando o acoplamento do fluorímetro portátil não-modulado modelo *Pocket PEA* (*Plant Efficiency Analyser*, Hansatech,

Inglaterra), e assim permitir as avaliações das variáveis básicas de emissão da fluorescência da clorofila *a* nos discos das folhas. O protocolo básico para realização das medidas prevê a adaptação das amostras ao escuro com o auxílio dos *leaf-clips* por um período mínimo de 20 – 30 minutos, a fim de garantir a completa oxidação da cadeia transportadora de elétrons e dos centros de reação do PSII, fazendo com que adquiram a condição denominada de “abertos”, ou seja, prontos para receber elétrons e transferi-los a partir da cadeia de transporte na maquinaria fotoquímica (Strasser et al., 2000). Entretanto, como todo o processo, desde a coleta das folhas até a manutenção dos discos no banho-maria, foi realizado no escuro, não houve necessidade de adaptação prévia às medições.

Com base nas variáveis básicas da fluorescência emitida e registrada pelo fluorímetro, no tempo de 50 μ s (F_0 – fluorescência inicial), em 300 μ s [F_{300} - requerida para cálculo da inclinação inicial da fluorescência variável relativa (V), cinética M_0 (observada a taxa de redução da quinona a (Q_A) ($M_0=(F_{300}-F_0)/(F_m-F_0)/0.25$ ms)], em 2 ms (F_J – fase J), em 30 ms (F_I – fase I) e em 300 ms ($F_P \approx F_m$: sendo F_m a fluorescência máxima, após pulso de saturação luminosa), foi possível estimar as variáveis do JIP_{Test} (Tabela 1) (Strasser e Tsimilli-Michael, 2001; Strasser et al., 1995, 2004; Force et al., 2003; Dames et al., 2004; Strauss et al., 2006; Bussotti et al., 2010; Stirbet e Govindjee, 2011; Silvestre et al., 2014). Para a obtenção das variáveis da Tabela 1, foi utilizado o *software BioLyser*[®] (Fluoromatics Lab, Media Soft, www.fluoromatics.com, Switzerland).

Tabela 1. Equações e definições das variáveis do JIP_{Test} obtidas de análises da emissão da fluorescência da clorofila a (O-J-I-P) de acordo com Strasser et al. (2004), Yusuf et al. (2010) e Redillas et al. (2011).

Variáveis	Nome e Descrição
Variáveis técnicas da fluorescência	Derivados do transiente OJIP
F_o	Fluorescência mínima registrada quando todos os centros de reação ativos (RCs) do PSII estão abertos
F_m	Fluorescência máxima emitida quando todos os RCs do PSII estão fechados
F_v/F_o	Razão entre as taxas constantes para uso fotoquímico e não fotoquímico da energia de excitação pelos RCs
$\Delta V/\Delta t_o = M_o = 4(F_{300\mu s} - F_{50\mu s}) / (F_m - F_o) = TR_o/RC - ET_o/RC$	Inclinação inicial média (em ms^{-1}) da fluorescência relativa variável da clorofila a. Reflete a taxa de fechamento dos centros de reação PSII.
Rendimentos ou razões de fluxo de energia	Derivados da cinética rápida da fluorescência
$\Phi P_o = TR_o/ABS = [1 - (F_o/F_m)] = F_v/F_m$	Rendimento quântico máximo para a fotoquímica primária do PSII
$\Psi_o = ET_o/TR_o = (1 - V_J)$	Probabilidade de transporte de elétrons após redução de Q_A^- (em $t=0$)
$\Phi E_o = ET_o/ABS = [1 - (F_o/F_m)] * \psi_o = \Phi P_o * \Psi_o$	Eficiência quântica para a transferência de elétrons de Q_A^- para cadeia transportadora de elétrons (em $t=0$)
$\Phi D_o = 1 - \Phi P_o = (F_o/F_m)$	Eficiência quântica para dissipação de energia (em $t=0$)
Fluxos específicos de energia	Por centros de reação (RCs) ativos do PSII
ABS/RC	Fluxo de energia absorvido por unidade de RC ativo
TR_o/RC	Fluxo de energia de excitação capturado (reduziu Q_A) por unidade de RC ativo no início da iluminação de uma amostra adaptada ao escuro (em $t=0$)
ET_o/RC	Fluxo de elétrons transferidos por unidade de RC ativo (em $t=0$)
DI_o/Rc	Energia total dissipada como calor, fluorescência e transferência de energia para o PSI (em $t=0$), por unidade de RC ativo

Continuação Tabela 1.

Fluxos fenomenológicos de energia	Por seção transversal (CS) excitada
RC/CS ₀	Densidade de centros de reação capazes de reduzir Q _A
ABS/CS ₀	Absorção de energia por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante no tempo zero (t=0)
TR ₀ /CS ₀	Fluxo de energia capturado pelos RCs do PSII por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0)
ET ₀ /CS ₀	Fluxo de elétrons através do PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0)
Di ₀ /CS ₀	Dissipação térmica de energia no PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0)
RC/ABS	Densidade de centros de reação ativos, por unidade de energia absorvida
Índice de Desempenho (performance fotossintética)	Combinação de variáveis
PI (abs) = (RC/ABS) * [ΦP ₀ /(1-ΦP ₀)] * [Ψ ₀ /(1-Ψ ₀)]	Índice de desempenho. Um indicador da atividade funcional do PSII normalizada pela energia absorvida
Índice de estrutura-função	
SFI (abs) = (Chl _{RC} /Chl _{tot}) * ΦP ₀ * Ψ ₀ .	Fornecer informações estruturais e funcionais sobre a força da influência de fatores internos promotores de reações no PSII.

3.3.2 Fluorescência modulada e fluorescência por imagem.

Para os tratamentos aplicados [obedecendo o tempo de imersão (15, 30, 45 e 60 minutos) em cada temperatura aplicada: 25°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C e 55°C], e no mesmo momento em que foram retirados os discos do banho-maria para avaliação da fluorescência não-modulada, foram retirados seis discos de cada genótipo, os quais foram devidamente secos em papel toalha e distribuídos sobre uma placa de Petri. Estes discos foram colocados em placa de Petri, a qual foi posicionada dentro de um fluorímetro por imagem modulado modelo *FluorCam 800 MF* (*Photon System Instruments*, República Tcheca). O fluorímetro por imagem foi previamente configurado e calibrado para o protocolo “*Quenching*” predefinido no equipamento.

O protocolo “*Quenching*” tem por objetivo mensurar o efeito *Kautsky* a partir de um sistema de Pulso de Amplitude Modulada (PAM), por meio de uma curva de indução da fluorescência no estado adaptado à luz e à dinâmica de relaxamento, após a adaptação ao escuro da amostra previamente iluminada (Baker, 2008). Para o adequado procedimento de medição da emissão da fluorescência, foi necessário o ajuste do protocolo, por meio da definição do *flash* de medida. Esse *flash* é usado para determinar a fluorescência mínima (F_0) de uma amostra adaptada ao escuro, sem que ele induza a reação fotoquímica, uma vez que a luz actínica pode ser definida como a luz capaz de induzir a reação fotoquímica e assim se ter o transporte de elétrons entre os dois fotossistemas, PSI e PSII. A intensidade do pulso de saturação está relacionada à capacidade de oxidar ou “fechar” completamente todos os centros de reação do PSII abertos o que, nesta condição, permite a determinação da fluorescência máxima (F_m) de amostras adaptadas ao escuro e de amostras adaptadas à luz (F_m') (Figura 1).

Após a predefinição destes critérios, as amostras adaptadas ao escuro foram introduzidas na câmara do fluorímetro por imagem e o protocolo foi iniciado por meio da medição de F_0 , seguido por um pulso de saturação para determinação de F_m (Figura 1). Posteriormente, a luz actínica foi ligada para induzir a fase fotoquímica da fotossíntese, e durante o período de iluminação com esta luz actínica, sucessivos pulsos de saturação foram aplicados para determinação de F_m' , até atingir o estado estacionário da fotossíntese. Esta condição estacionária

revela a dinâmica da extinção não-fotoquímica durante a adaptação à luz. Em seguida, a luz actínica foi desligada e um pulso de luz vermelho-distante foi aplicado para determinação de F_o' . Na fase escura, a luz actínica permaneceu desligada e sucessivos pulsos de saturação e pulsos de luz vermelho-distante foram aplicados para determinação do relaxamento da extinção não-fotoquímica, reabertura dos RCs do PSII e o relaxamento do rendimento quântico do PSII. Na figura 1, é possível observar a cinética de emissão de fluorescência capturada por meio da aplicação do protocolo.

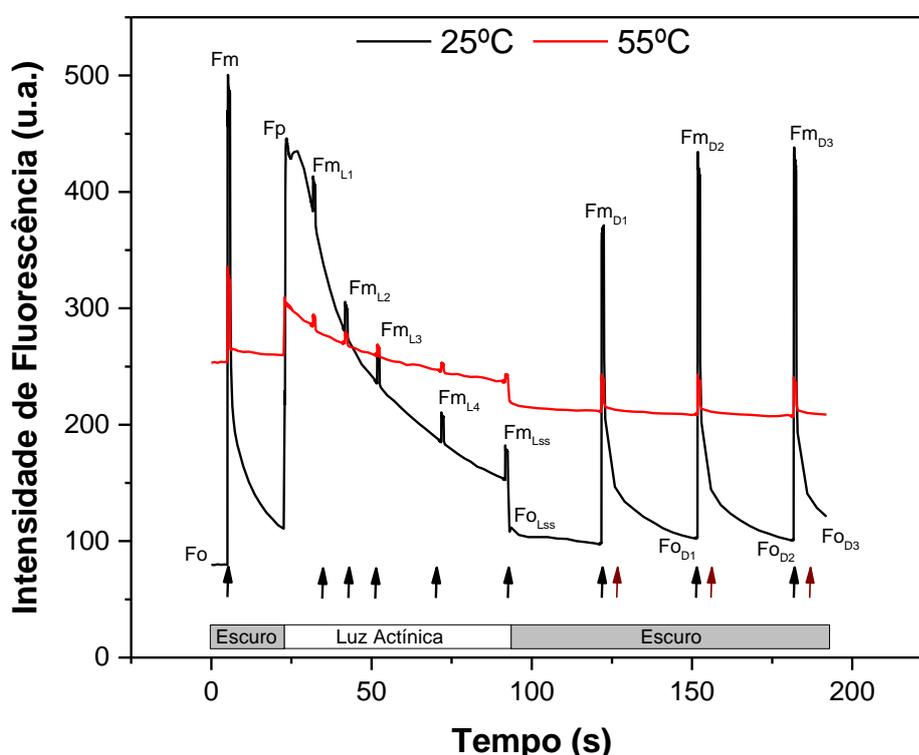


Figura 1. Análise de *quenching* a partir do uso da fluorescência modulada em amostras de discos foliares de *Carica papaya* L. (genótipo 'Candy') submetidos aos tratamentos térmicos de 25°C e 55°C durante 15 minutos. Uma amostra adaptada ao escuro é exposta a vários tratamentos de luz. As variáveis indicadas por 'Ln' são referentes à análise da amostra exposta à luz actínica, e as variáveis indicadas por 'Dn' são referentes à análise da amostra durante o período de relaxamento do *quenching* no escuro, sendo que, 'L' está relacionado a *light*, 'D' a *dark* e o 'n' refere-se à sequência de pulsos de saturação aplicados no período. As variáveis não subscritas referem-se à amostra adaptada ao escuro. As setas pretas representam o momento de aplicação de um pulso de saturação capaz de oxidar transitoriamente todos os centros de reação do PSII abertos e saturar a cadeia transportadora de elétrons. As setas vermelho-escurecidas indicam o momento de aplicação do pulso de vermelho-distante (determinação de F_o'), responsável pela excitação do PSI e reoxidação do *pool* de plastoquinona, e Q_A associados ao PSII.

A partir da determinação das variáveis básicas da fluorescência modulada, por meio da curva de indução e relaxamento, e utilizando o *software FluorCam 7*, as demais variáveis foram calculadas e associadas a uma imagem nas respectivas amostras colocadas no fluorímetro. As imagens geradas no fluorímetro tiveram as escalas padronizadas e posteriormente foram exportadas por meio do *software*, o que possibilitou a montagem de painéis comparativos. Estes painéis permitiram a visualização, ao longo do tecido foliar, do nível de dano causado no aparato fotoquímico pelas elevadas temperaturas utilizadas nos tratamentos.

Após a análise prévia dos dados obtidos pela mensuração da emissão de fluorescência modulada (*FluorCam 800MF*) e não-modulada (*Pocket PEA*), foi observado que, aos 15 minutos de imersão em banho-maria, os efeitos dos danos fotoquímicos já podiam ser distinguidos a partir de 35°C. Com base nessa avaliação, em um segundo momento, novos discos de ambos os genótipos foram retirados, seguindo a metodologia anterior e foram mantidos durante 15 minutos em temperaturas de 35°C, 40°C, 45°C, 50°C e 55°C. Após decorrido o período de imersão dos discos nas temperaturas indicadas, novas variáveis da fluorescência modulada foram obtidas com o auxílio de um fluorímetro modelo *Multispeq V1* (Photosynq Inc., USA). Na Tabela 2, são listadas as variáveis da fluorescência modulada por imagem (Seção 1), bem como as variáveis associadas ao fluorímetro *Multispeq V1* (Seção 2).

Tabela 2. Equações e definições das variáveis da fluorescência modulada obtidas por meio de curvas de indução e relaxamento, utilizando o fluorímetro FluorCam 800MF, e medidas pontuais utilizando o Multispeq V1, de acordo com Strasser et al. (2004), Yusuf et al. (2010), Redillas et al. (2011) e Lichtenthaler et al, (2005).

Seção 1 - Variáveis obtidas por meio do Fluorímetro por imagem <i>FluorCam 800MF</i>	
Parâmetros	Nome e descrição
F_o	Fluorescência mínima em estado adaptado ao escuro. Q_A oxidada e quenching não-fotoquímico relaxado (NPQ = 0)
F_m	Fluorescência máxima em estado adaptado ao escuro. Q_A reduzida e quenching não fotoquímico relaxado (NPQ = 0)
$QY_{Máx} = F_v/F_m$	Rendimento quântico máximo do PSII em estado adaptado ao escuro
$QY_{Lss} = (F_{mLss} - F_{oLss}) / F_{mLss}$	Rendimento quântico efetivo no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz
$NPQ_{Lss} = (F_m - F_{mLss}) / F_{mLss}$	Quenching não-fotoquímico no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz
$NPQ_D = (F_m - F_{mD}) / F_{mD}$	Quenching não-fotoquímico instantâneo durante o período de relaxamento da fluorescência no escuro
$R_{fdLss} = (F_P - F_{tLss}) / F_{tLss}$	Razão de decréscimo da fluorescência no estado estacionário da fotossíntese. Esta variável é usada para avaliar a vitalidade de plantas (está relacionado com a atividade do ciclo de Calvin-Benson) (Lichtenthaler et al., 2005).
Seção 2 - Variáveis obtidas por meio do Fluorímetro modulado <i>Multispeq V1</i>	
LEF	Fluxo linear de elétrons
Φ_{NO}	Rendimento quântico para dissipação de energia por processos não-regulados

3.4 Taxa de evolução de oxigênio (O₂) fotossintético

Para determinação da taxa de evolução de oxigênio, foram utilizados quatro discos de $\approx 10 \text{ cm}^2$ para cada genótipo, seguindo a metodologia utilizada para o *Multispeq V1*, ou seja, os discos foram mantidos durante 15 minutos imersos nas temperaturas de 35°C a 55°C (A temperatura de 25°C foi desconsiderada por não induzir respostas diferenciais em análises prévias). Após a retirada dos discos do banho-maria, eles foram secos em papel toalha e tiveram a área reduzida para $\approx 5 \text{ cm}^2$, eliminando as bordas dos discos, a fim de amenizar o efeito do extravasamento de látex foliar sobre as leituras.

A taxa de evolução de oxigênio fotossintético, também chamada de fotossíntese potencial (A_{pot} , $\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), foi determinada sob condições saturantes de radiação fotossinteticamente ativa a $1720 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa e CO₂ (1%) em temperatura constante de 35°C. Foi utilizado o eletrodo de oxigênio do tipo *Clark* (LD2/2; Hansatech, Pentney, Reino Unido), seguindo a metodologia proposta por Delieu e Walker (1983). Os discos foram mantidos sob saturação de CO₂, utilizando 500 mL 1M NaHCO₃.

3.5 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial triplo 2x4x6 para as avaliações realizadas com os fluorímetros *Pocket* e a *FluorCam*, sendo dois genótipos, quatro tempos de imersão (15, 30, 45 e 60 minutos) e seis temperaturas (25, 35, 40, 45, 50 e 55°C). Em cada tratamento, foram consideradas seis repetições, sendo cada repetição representada por um disco foliar de cada planta (seis plantas). Para as avaliações realizadas com o fluorímetro *Multispeq* e com o eletrodo de oxigênio do tipo *Clark*, foi considerado um fatorial simples 2x5, sendo dois genótipos ('Candy' e 'Golden THB') e cinco temperaturas (35, 40, 45, 50 e 55°C). Para as análises relacionadas ao fluorímetro *Multispeq*, foram consideradas seis repetições e para as análises do eletrodo do tipo *Clark* foram consideradas quatro repetições. Os dados obtidos em cada avaliação foram submetidos à análise de variância e em caso de significância estatística, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de

probabilidade ou análise de regressão, caso necessário. A análise estatística foi realizada utilizando os *softwares* R versão 4.0.3 e SISVAR versão 5.6. Os gráficos foram gerados utilizando o *software* OriginPro 2016.

4. RESULTADOS

4.1 Fluorescência não-modulada e análise do JIP_{Test}

Para a variável F_o , foram observadas diferenças significativas nas interações genótipos x temperatura e tempo x temperatura (Figura 2). Após 15 minutos de imersão em temperaturas superiores a 45°C ocorrem incrementos superiores a 28% para o genótipo 'Candy' (Figura 2A) e 22% para 'Golden THB' (Figura 2B) em relação ao controle (25°C). Este incremento mostra-se ainda mais significativo para o genótipo 'Candy' aos 50°C, a partir de 30 minutos de imersão (aumento de 3x). Entretanto, a partir desse período de 30 min e em temperatura de 55°C, são observadas reduções consideráveis nesta variável para ambos os genótipos.

Em relação à variável F_m , todas as interações simples entre genótipos, tempo e temperatura mostraram-se significativas (Figura 2). O genótipo 'Golden THB', mesmo exposto às menores temperaturas, teve valores de F_m inferiores ao 'Candy' sob as mesmas temperaturas. Entretanto, o genótipo 'Candy' (Figura 2C) teve maior amplitude de queda (67%) para esta variável F_m aos 55°C, quando comparado ao genótipo 'Golden THB' (52%) (Figura 2D). As reduções significativas em F_m puderam ser observadas a partir de 15 minutos de imersão na temperatura de 40°C em 'Candy', e de 45°C em 'Golden THB'.

As interações genótipo x temperatura e tempo x temperatura foram significativas para a variável F_v/F_o (Figura 2). No genótipo 'Candy' em 40°C e durante 15 minutos, os valores de F_v/F_o indicaram redução de 20% em relação ao controle (Figura 2E). Neste mesmo genótipo, após 30 minutos na temperatura de 50°C, essa variável teve uma queda de 96% em relação ao controle (25°C) (Figura 2E). Quando comparado ao genótipo 'Candy' e sob mesma temperatura, o 'Golden THB' (Figura 2F) teve valores reduzidos de F_v/F_o a 25°C. Diferenças significativas para este genótipo puderam ser observadas a partir de 45 minutos de imersão a 40°C. Porém, em relação ao controle, somente a 50°C e em 45 minutos, foi possível observar redução de 96% desta variável F_v/F_o .

Com relação à variável $\Delta V/\Delta t_o$, observam-se diferenças significativas somente em temperaturas superiores a 50°C em ambos os genótipos (Figura 2). São observados aumentos significativos variando entre 2 e 11x para 'Candy' (Figura 2G) e 2 a 15x para 'Golden THB' (Figura 2H).

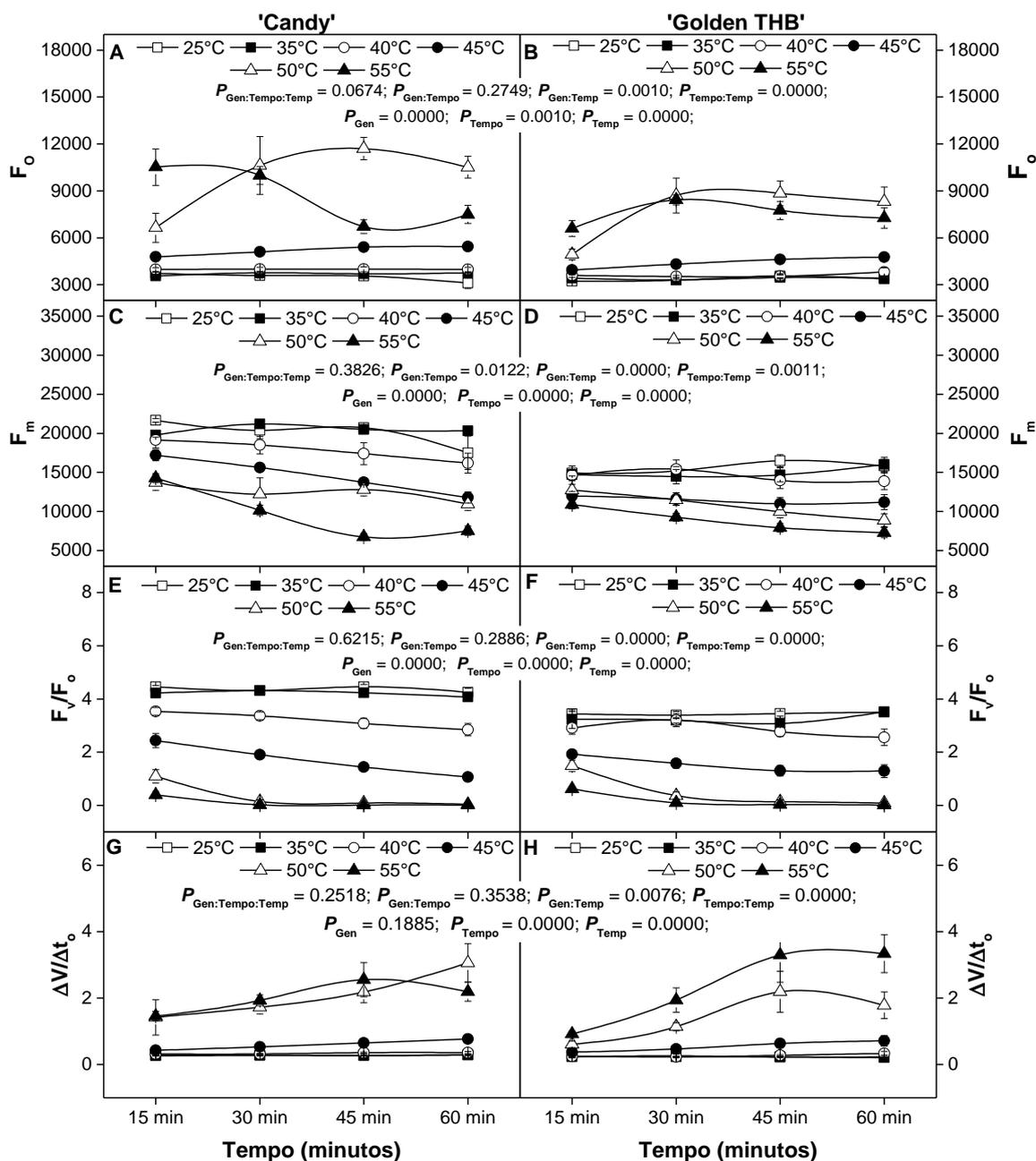


Figura 2. Variáveis técnicas da fluorescência obtidas por meio do fluorímetro não-modulado Pocket PEA, e emitidas por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. F_o - Intensidade da fluorescência mínima. F_m - Intensidade da fluorescência máxima. F_v/F_o - Razão entre as taxas constantes para uso fotoquímico e não-fotoquímico da energia de excitação pelos RCs. $\Delta V/\Delta t_o$ - Inclinação inicial média da fluorescência variável relativa. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=6$). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Houve interação significativa entre os fatores genótipos e temperatura, e entre o fator tempo e temperaturas para as variáveis ΦP_o e ΦD_o (Figura 3). A partir de 45 minutos e em temperaturas superiores a 40°C, foi observada redução nos valores da variável ΦP_o (Figuras 3A e 3B) e, portanto, aumento proporcional de ΦD_o (Figuras 3G e 3H). Para ambos os genótipos, e após 15 minutos de exposição a 45°C, já ocorreu redução em cerca de 14% a 15% nos valores de ΦP_o , em 'Candy' e 'Golden THB', respectivamente. Após 45 minutos e a 50°C, a redução em ΦP_o foi superior a 85% para ambos os genótipos. Após 15 minutos a 45°C, ΦD_o já apresentou aumento de 63% e 53%, para 'Candy' e 'Golden THB', respectivamente. Em ambos os genótipos, todos os tratamentos a 50°C e 55°C superaram em mais de 100% os valores de ΦD_o .

Com relação a Ψ_o , foi observada interação significativa entre os três fatores em estudo (Figura 3). Em ambos os genótipos, as temperaturas entre 25°C e 40°C não diferiram estatisticamente, entretanto, aos 45°C, foi observado um aumento significativo entre 17% e 22% nesta variável, exceto para o genótipo 'Candy' e após 45 minutos de exposição. Para o genótipo 'Candy', aos 50°C, foi observada uma redução gradual de Ψ_o até atingir 88% de redução em relação ao controle. Já para o 'Golden THB', essa redução foi de 60%. Para 'Candy', aos 60 minutos de exposição a 55°C foi observado um leve incremento desta variável. Contudo, no 'Golden THB', e em relação ao controle, esta variável teve 50% de redução aos 15 minutos, e, após 60 minutos, houve redução de 117%.

Ao observar a resposta da variável ΦE_o (Figura 3) verifica-se que, a partir de 45 minutos e em temperaturas de 40 e 45°C, o genótipo 'Candy' apresentou um decréscimo de 11% e 24%, respectivamente, enquanto o 'Golden THB' somente mostrou redução de 15%, após 45 minutos e na temperatura de 45°C. Para os genótipos 'Candy' e 'Golden THB', após 30 minutos de exposição a 50°C, foram observados valores 95% e 84% menores, respectivamente.

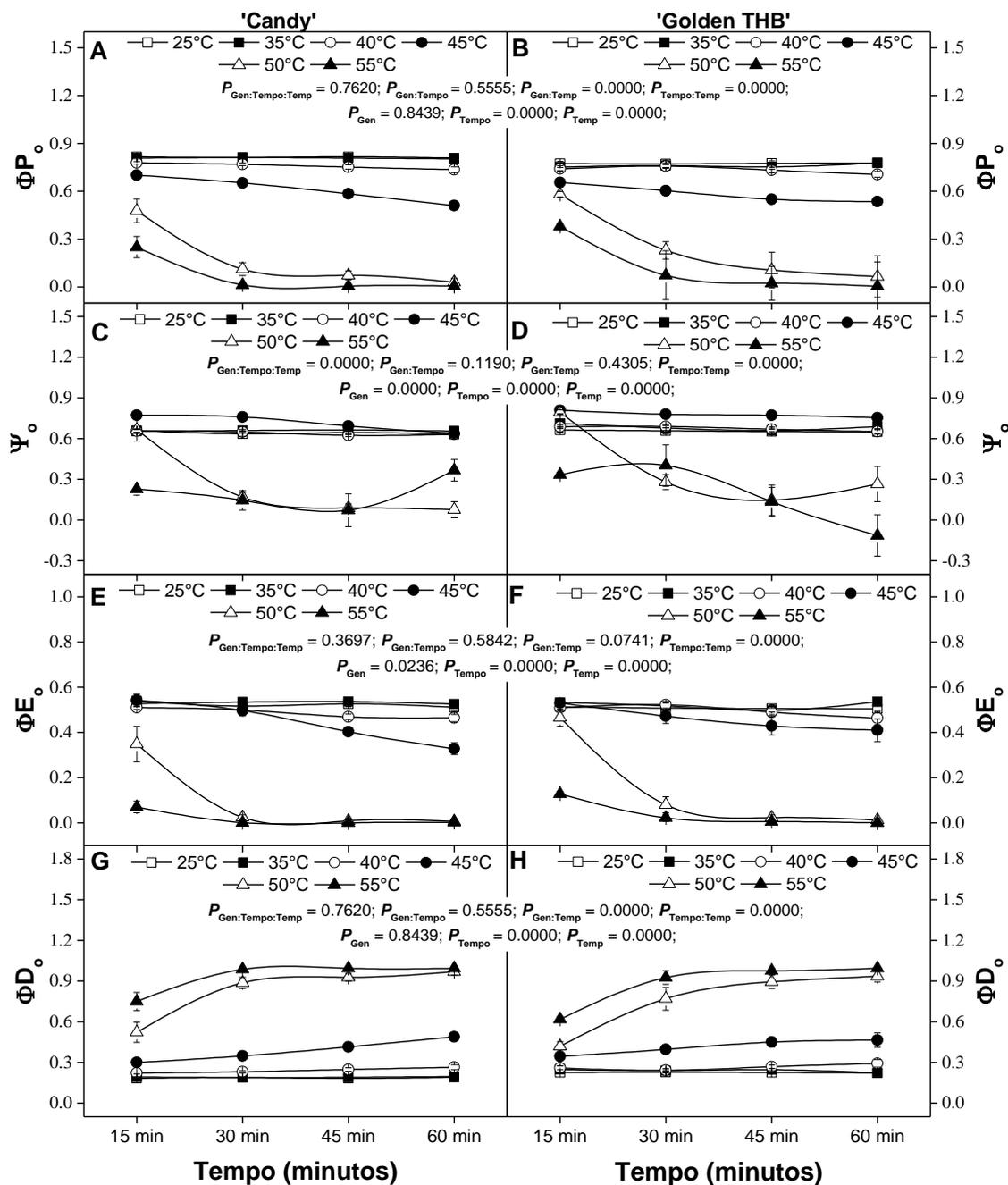


Figura 3. Rendimentos ou razões de fluxos de energia obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *BioLyzer*[®], a partir das variáveis técnicas da fluorescência emitida por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. ΦP_0 - Rendimento quântico máximo para a fotoquímica primária do PSII. Ψ_0 - Probabilidade de transporte de elétrons após redução de Q_A^- (em $t=0$). ΦE_0 - Eficiência quântica para a transferência de elétrons de Q_A^- para cadeia transportadora de elétrons (em $t=0$). ΦD_0 - Eficiência quântica para dissipação de energia (em $t=0$). As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P -valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=6$). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

A variável ABS/RC mostrou-se significativa somente para a interação entre tempo e temperatura. Entretanto, nas temperaturas de 50°C e 55°C, foram observados valores centenas de vezes superiores do que aqueles observados em temperaturas inferiores a 45°C (Figuras 4A e 4B). Não houve diferença significativa em temperaturas inferiores a 45°C.

Com relação à variável TR_o/RC (Figuras 4A e 4B), foi observada uma diferença significativa na interação tempo x temperatura. Em relação ao controle (25°C), pode ser verificado incremento de 2,5x ('Candy') e 3x ('Golden THB') no valor desta variável em temperaturas superiores a 45°C. Após 15 minutos de exposição a 50°C, é observado um incremento de TR_o/RC em 'Candy' (5x). Para o 'Golden THB', esse incremento foi muito acentuado (10x), e foi observado após 30 minutos de exposição a 55°C.

De acordo com as Figuras 4C e 4D, a variável ET_o/RC teve uma interação tempo x temperatura significativa. Observou-se incremento significativo desta variável aos 45°C, independente do tempo de imersão. No entanto, após 15 minutos de imersão a 50°C, foi observado o maior incremento (4,5x) desta variável para o genótipo 'Candy', seguido de uma redução considerável, a partir deste tempo de 15 minutos (Figura 4C). O genótipo 'Golden THB' teve a mesma resposta na temperatura de 50°C. Contudo, aos 30 minutos de imersão na temperatura de 55°C, foi observado um valor médio relativamente alto, seguido de queda significativa após 45 e 60 minutos.

Em relação à variável DI_o/RC (Figura 4), observou-se resposta semelhante à variável ABS/RC, ou seja, sob as temperaturas de 50°C e 55°C (Figuras 4G e 4H), ocorreu o aumento considerável dos valores para ambos os genótipos, enquanto sob a temperatura de 45°C, ocorreu um incremento gradual de acordo com o tempo de permanência das amostras nesse tratamento, porém sem efeito significativo.

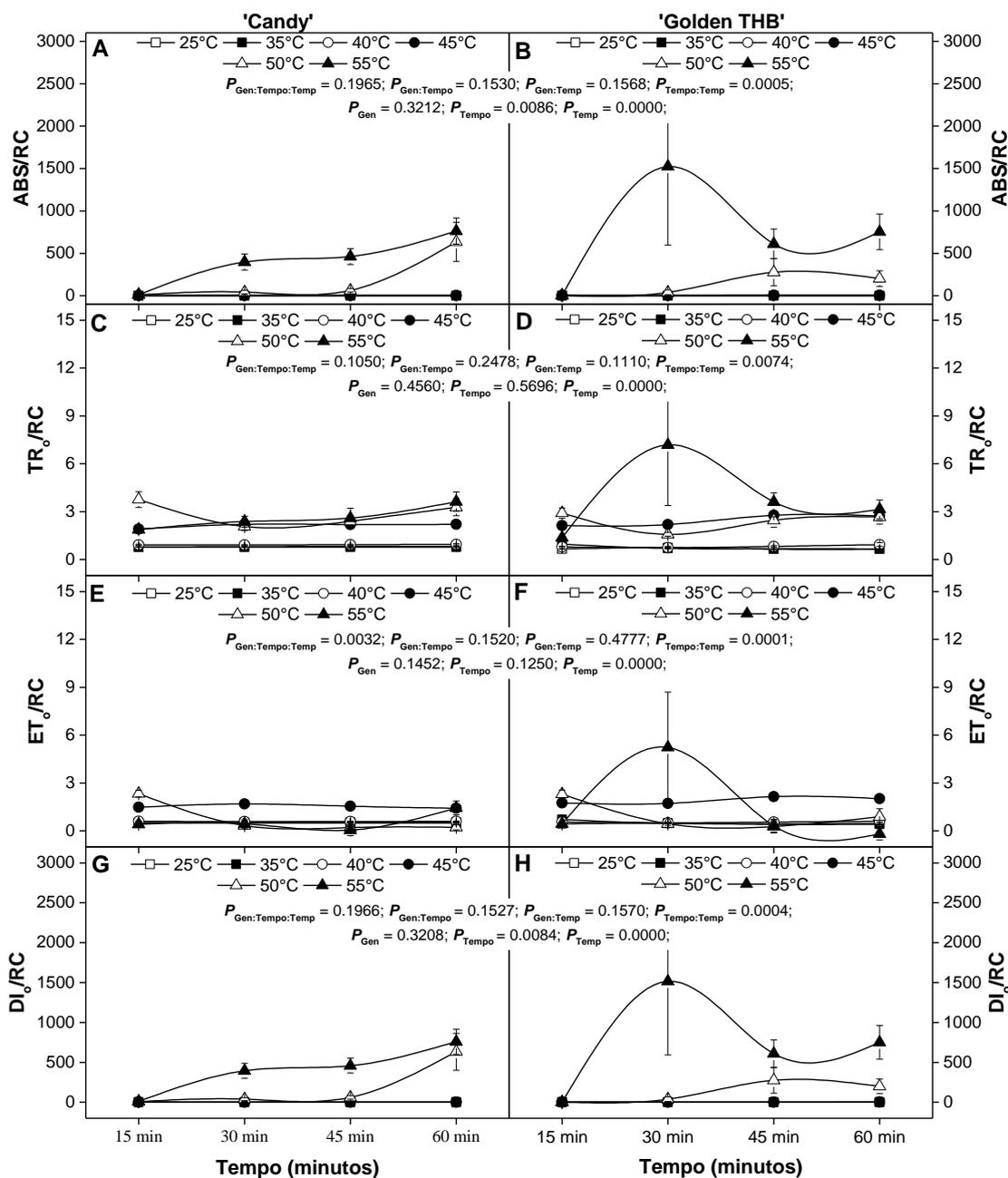


Figura 4. Fluxos específicos de energia obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *Biolzyer*[®], a partir das variáveis técnicas da fluorescência emitidas por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. ABS/RC - Fluxo de energia absorvido por unidade de RC ativo. TR₀/RC - Fluxo de energia de excitação capturado por unidade de RC ativo no início da iluminação de uma amostra adaptada ao escuro (em t=0). ET₀/RC - Fluxo de elétrons transferidos por unidade de RC ativo (em t=0). DI₀/RC - Energia total dissipada como calor, fluorescência e transferência de energia para o PSI (em t=0), por unidade de RC ativo. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) ± EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=6). P<0,05 foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação à variável ABS/CS_o , (Figura 5) observou-se resposta semelhante à variável F_o , com efeito significativo das interações genótipo x temperatura e tempo x temperatura. Para o genótipo 'Candy', sob exposição a 45°C, resultou em incremento de 27%, e de 72% aos 15 e 60 minutos, respectivamente (Figura 5A). Contudo, o 'Golden THB' somente começa a ser afetado negativamente em temperaturas superiores a 50°C, com aumento, em relação ao controle, superior a 54% a partir de 15 minutos de imersão (Figura 5B). A 55°C, em 15 minutos ('Candy') e 30 minutos ('Golden THB'), observou-se um pico (2,7x e 2,5x, respectivamente maior) no valor desta variável, seguindo com uma tendência de redução.

Em ambos os genótipos estudados, verificou-se que as temperaturas de 50°C e 55°C demonstraram efeito significativo sobre a variável TR_o/CS_o (Figuras 5C e 5D). No entanto, somente a partir de 30 minutos de exposição a essas temperaturas, é que a variável teve reduções de 63% e de 35% para 'Candy' (Figura 5C) e 'Golden THB' (Figura 5D), respectivamente, atingindo 99% de redução em ambos os casos após 60 minutos de exposição a 55°C.

A variável ET_o/CS_o (Figuras 5E e 5F) teve efeitos significativos para as interações genótipo x temperatura e tempo x temperatura. Houve incremento de ET_o/CS_o promovido pela temperatura de 45°C. Após 15 e 30 minutos de exposição, no genótipo 'Candy' esta variável teve, respectivamente, aumento de 27% e 35%. Porém, os valores médios foram mantidos iguais ao controle após 45 minutos (Figura 15A). Para o 'Golden THB', o valor desta variável teve um leve incremento de 26% e 38%, para as temperaturas de 45°C e 50°C, respectivamente, após 30 minutos de exposição (Figura 15B). No entanto, após 30 minutos de imersão em temperaturas superiores a 50°C, foram observadas reduções significativas superiores a 63% e 68% para o 'Candy' e o 'Golden THB', respectivamente.

Em relação à variável DI_o/CS_o , observou-se diferença significativa para as interações genótipo x temperatura e tempo x temperatura. Até 45°C, não foram observadas diferenças significativas entre as temperaturas. Entretanto, o genótipo 'Candy', após 45 minutos de exposição a 50°C (Figura 5G), mostrou ter um pico de dissipação de energia cerca de 28% maior do que o pico de dissipação ocorrido no 'Golden THB', o qual foi observado após 30 minutos de exposição a 55°C (Figura 5H).

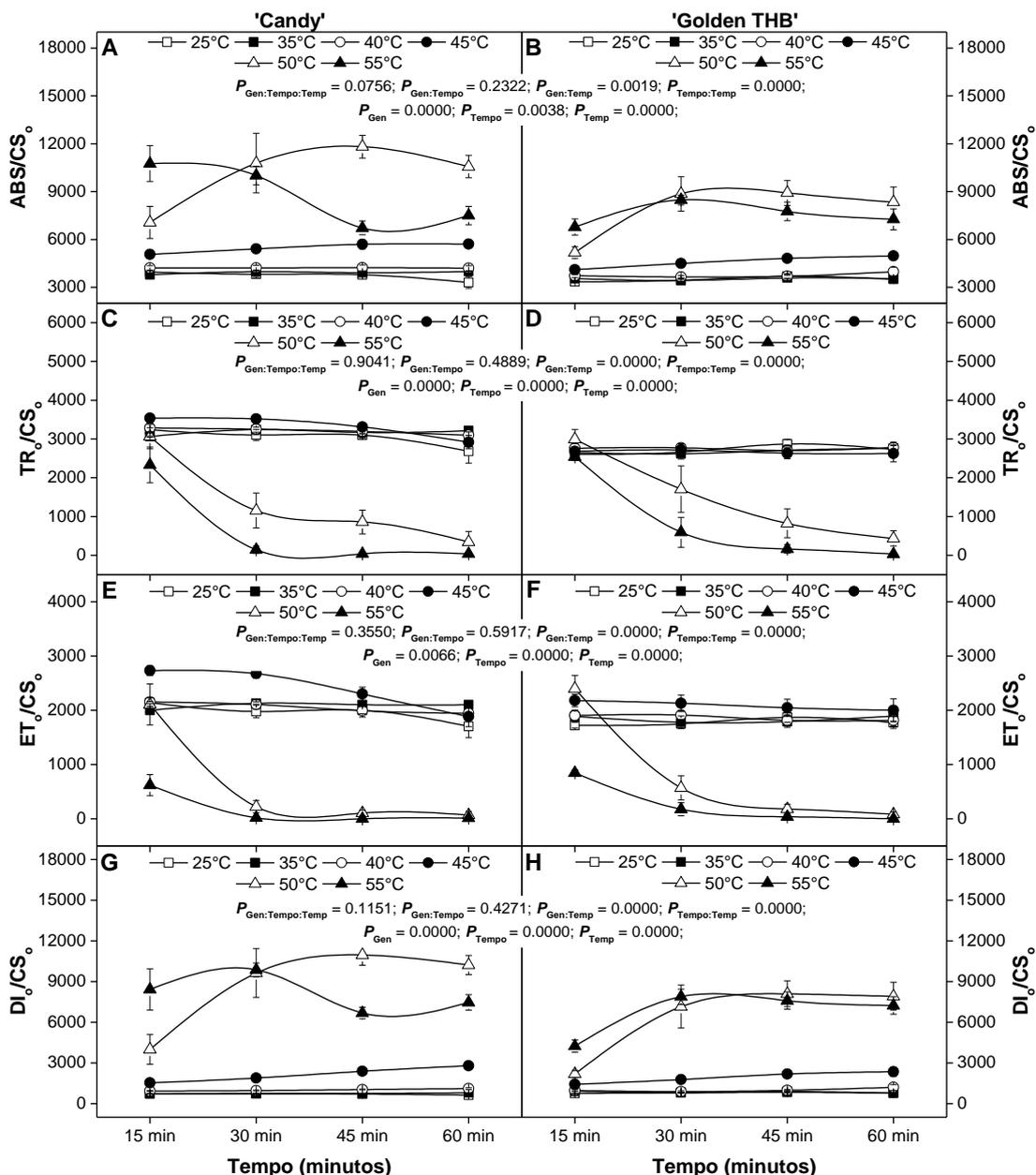


Figura 5. Fluxos fenomenológicos de energia obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *BioLyzer*[®], a partir das variáveis técnicas da fluorescência emitida por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. ABS/CS₀ - Absorção de energia por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante no tempo zero (t=0). TR₀/CS₀ - Fluxo de energia capturado pelos RCs do PSII por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0). ET₀/CS₀ - Fluxo de elétrons através do PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0). DI₀/CS₀ - Dissipação térmica de energia no PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0). As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) ± EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=6). P<0,05 foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

A variável RC/CS_0 apresentou interações significativas de genótipo x temperatura e tempo x temperatura (Figuras 6A e 6B). Para o genótipo 'Candy', foi observada diferença significativa a partir da 15 minutos de exposição sob temperaturas superiores a $45^{\circ}C$, com redução de 54% em relação ao controle, e, após 45 minutos sob temperaturas superiores a $55^{\circ}C$, teve redução de 99%. No entanto, o genótipo 'Golden THB' mostrou sensibilidade a partir $40^{\circ}C$ durante 45 minutos, com redução 26% desta variável em relação ao controle. Acima de $45^{\circ}C$, as reduções foram superiores a 60%.

Para a variável $10RC/ABS$ (Figuras 6C e 6D), observou-se a exposição a $40^{\circ}C$ a partir de 15 minutos já foi suficiente para promover redução, em relação ao controle ($25^{\circ}C$), de 18% em 'Candy' e 20% em 'Golden THB'. Essa redução progrediu para valores superiores a 60% e 70% aos $45^{\circ}C$ para 'Candy' e 'Golden

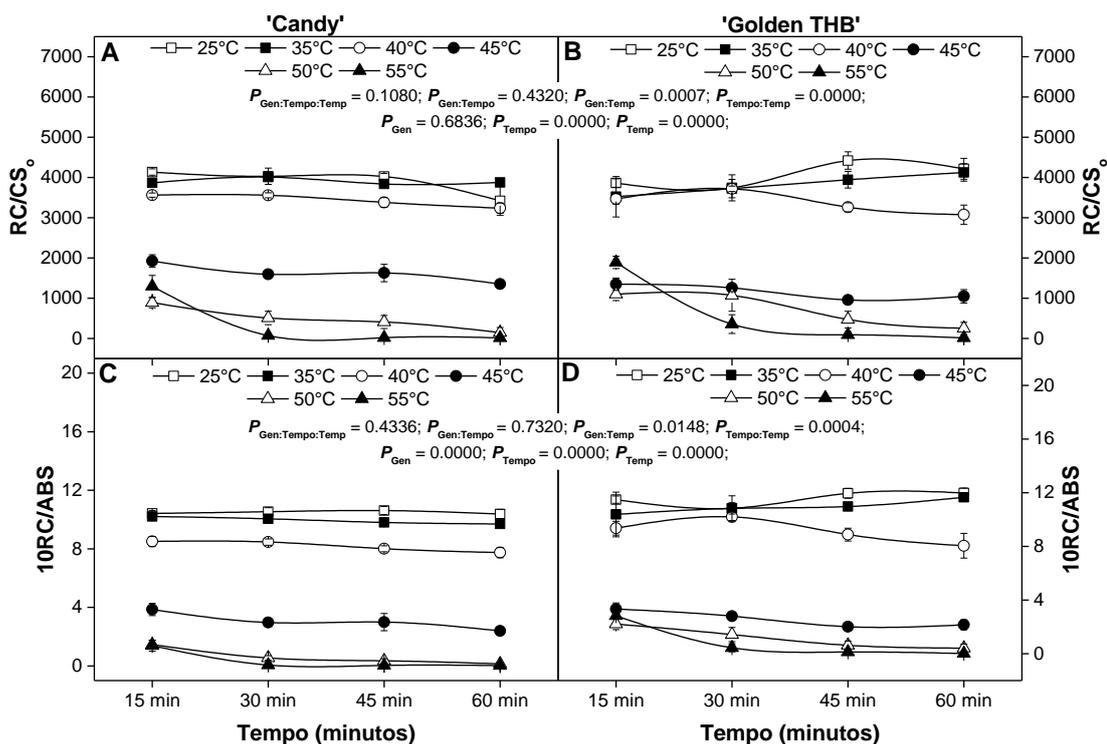


Figura 6. Densidade de centros de reação ativos capazes de reduzir Q_A (RC/CS_0) e Densidade de centros de reação ativos ($10RC/ABS$) obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *Biolzyer*[®], a partir das variáveis técnicas da fluorescência emitida por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=6$). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

THB', respectivamente. Em ambos os genótipos, e após 30 minutos de exposição a temperaturas superiores a 50°C, a redução chegou a valores superiores a 90%.

Analisando o índice de desempenho do PSII (PI_{abs}) (Figuras 7A e 7B), foi possível constatar que a 40°C e após 15 minutos de imersão, o genótipo 'Candy' apresentou redução de aproximadamente 37% em relação ao controle. O genótipo 'Golden THB' somente começou a se diferir a partir de 45 minutos, a 40°C, com redução de 36%. Após 45 minutos de imersão a 45°C, já ocorre redução de 89% e 86% em 'Candy' e 'Golden THB', respectivamente.

Para a variável SFI_{abs} , foi observada interação significativa somente entre tempo e temperatura (Figuras 7C e 7D). Aos 40°C após imersão de 15 minutos, foi possível observar, em relação ao controle, a redução de 22% e 20%, para os genótipos 'Candy' e 'Golden THB', respectivamente. Em ambos os genótipos, aos 15 minutos a 45°C, foram observadas reduções superiores a 60%, chegando a atingir 80% de dano, a partir de 60 minutos de exposição, e progredindo consideravelmente nas temperaturas de 50°C e 55°C, em função do período de exposição.

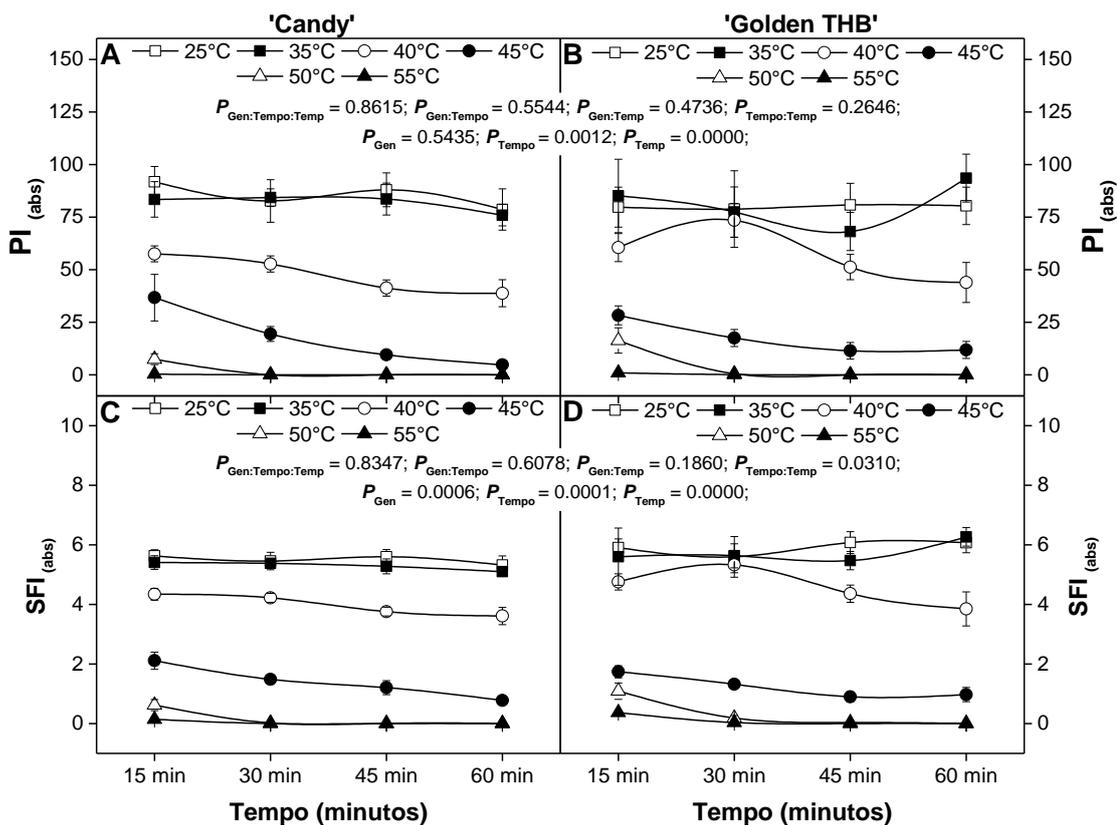


Figura 7. Índice de Desempenho (PI_{abs}) e Índice de estrutura e função (SFI_{abs}) obtidos por meio da análise do JIP_{Test} com o auxílio do software *BioLyzer*[®], a partir das variáveis técnicas da fluorescência emitida por discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) ± EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=6). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

4.2 Fluorescência modulada e Fluorescência por imagem

As variáveis F_o (Figuras 8A e 8B) e F_m (Figuras 8C e 8D) mensuradas por meio da fluorescência modulada por imagem obtidas por meio do *FluorCam 800 MF* mostram uma resposta similar àquelas mensuradas por meio da fluorescência não-modulada obtidas por meio do fluorímetro *Pocket PEA*. Para o genótipo 'Candy' (Figura 8A), os valores de F_o mostraram diferenças mais significativas a partir de 15 minutos de exposição a 50°C, com o aumento de 80% em relação ao controle, atingindo o valor máximo (3,5x maior) após 45 minutos, o que seguiu uma tendência de redução a partir deste valor máximo, a qual pode ser observada também aos 55°C. Em 'Golden THB' (Figura 8B), o valor máximo observado após 45 minutos a 50°C foi cerca de 3x maior que o controle. No entanto, este valor foi relativamente menor que aquele observado no genótipo 'Candy'. Nas Figuras 9A e 9B, é possível observar heterogeneidade espacial e como ocorreu a progressão dos valores de F_o a partir de aumento da temperatura e do tempo de permanência das amostras em cada tratamento térmico aplicado aos discos foliares

Para o genótipo 'Candy', a variável F_m (Figuras 8C e 8D) teve maior amplitude de resposta comparado ao genótipo 'Golden THB'. Apesar de ambos mostrarem redução desta variável a partir de 45°C, é observado um decréscimo mais severo para as amostras de 'Candy', as quais atingiram 60% de redução, enquanto 'Golden THB' atingiu 50%. A amplitude mostrada no gráfico é muito bem representada a partir da escala de cores observada na Figura 9C e 9D para esta variável em ambos os genótipos.

Considerando a variável $QY_{Máx}$, pôde-se observar que ela é proporcional à variável ΦP_o determinada a partir da fluorescência não-modulada e, portanto, apresenta a mesma resposta em relação à temperatura e ao tempo de aplicação do tratamento térmico. Nas Figuras 8E e 8F, observou-se o decréscimo desta variável a partir da exposição a 45°C, com reduções significativas com o aumento da temperatura e do tempo de imersão no banho-maria das amostras. Temperaturas superiores a 50°C são extremamente críticas para esta variável (Figuras 9E e 9F).

Nas Figuras 8G e 8H, foi possível observar que QY_{Lss} mostra médias muito próximas entre os genótipos. Entretanto, a partir de 45 minutos de exposição sob

temperaturas moderadas (25°C e 35°C), o genótipo 'Golden THB' (Figuras 9G e 9H) revelou maior efetividade do uso de energia sob condições de adaptação à luz.

Entretanto, aos 40°C, ambos os genótipos são afetados negativamente pelo aumento da temperatura do disco foliar.

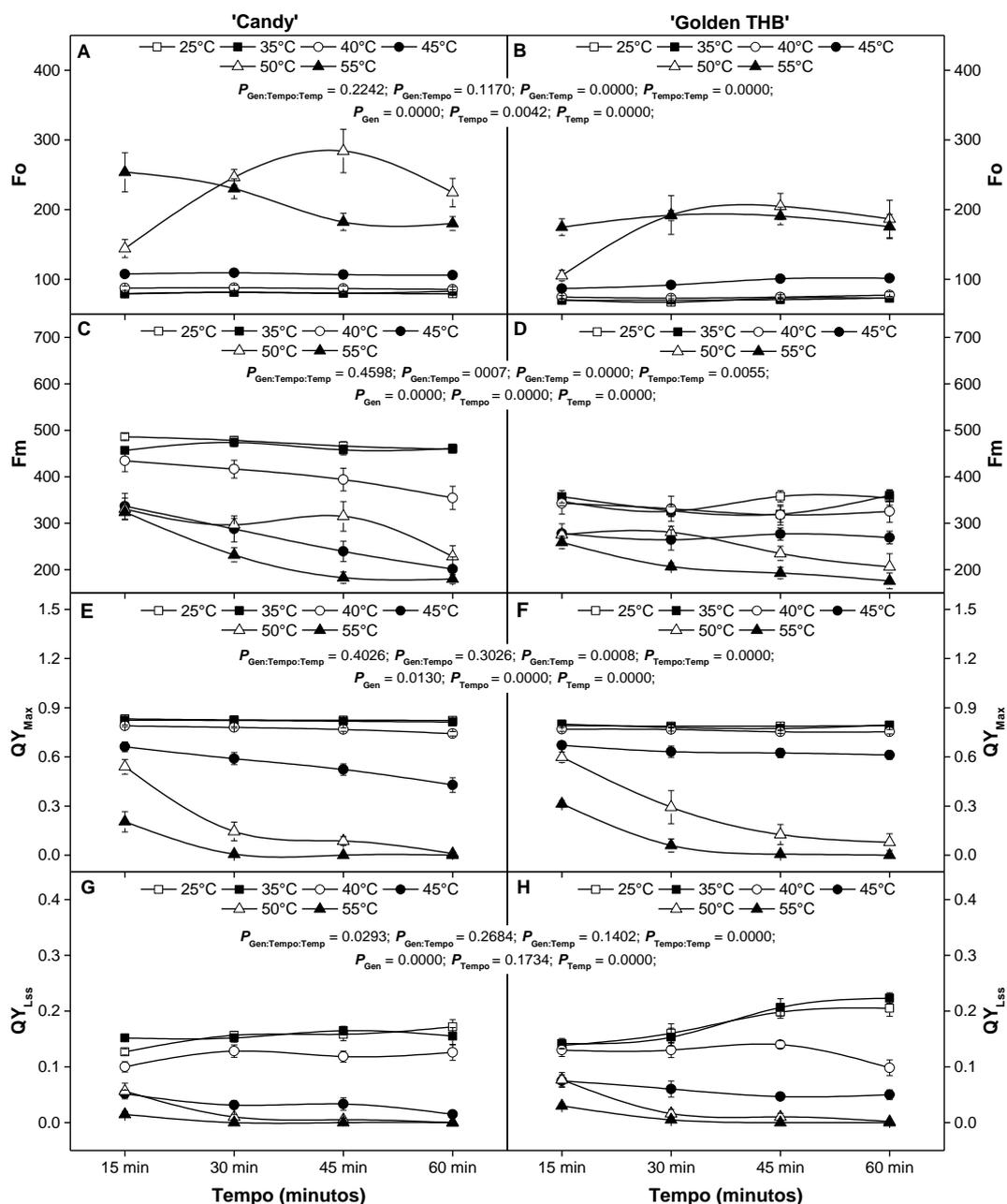


Figura 8. Variáveis obtidas por meio do fluorímetro modulado por imagem *FluorCam 800 MF* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. F₀ - Fluorescência mínima em estado adaptado ao escuro. F_m - Fluorescência máxima em estado adaptado ao escuro. QY_{Máx} - Rendimento quântico máximo do PSII em estado adaptado ao escuro. QY_{Lss} - Rendimento quântico efetivo no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) ± EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=6). P<0,05 foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

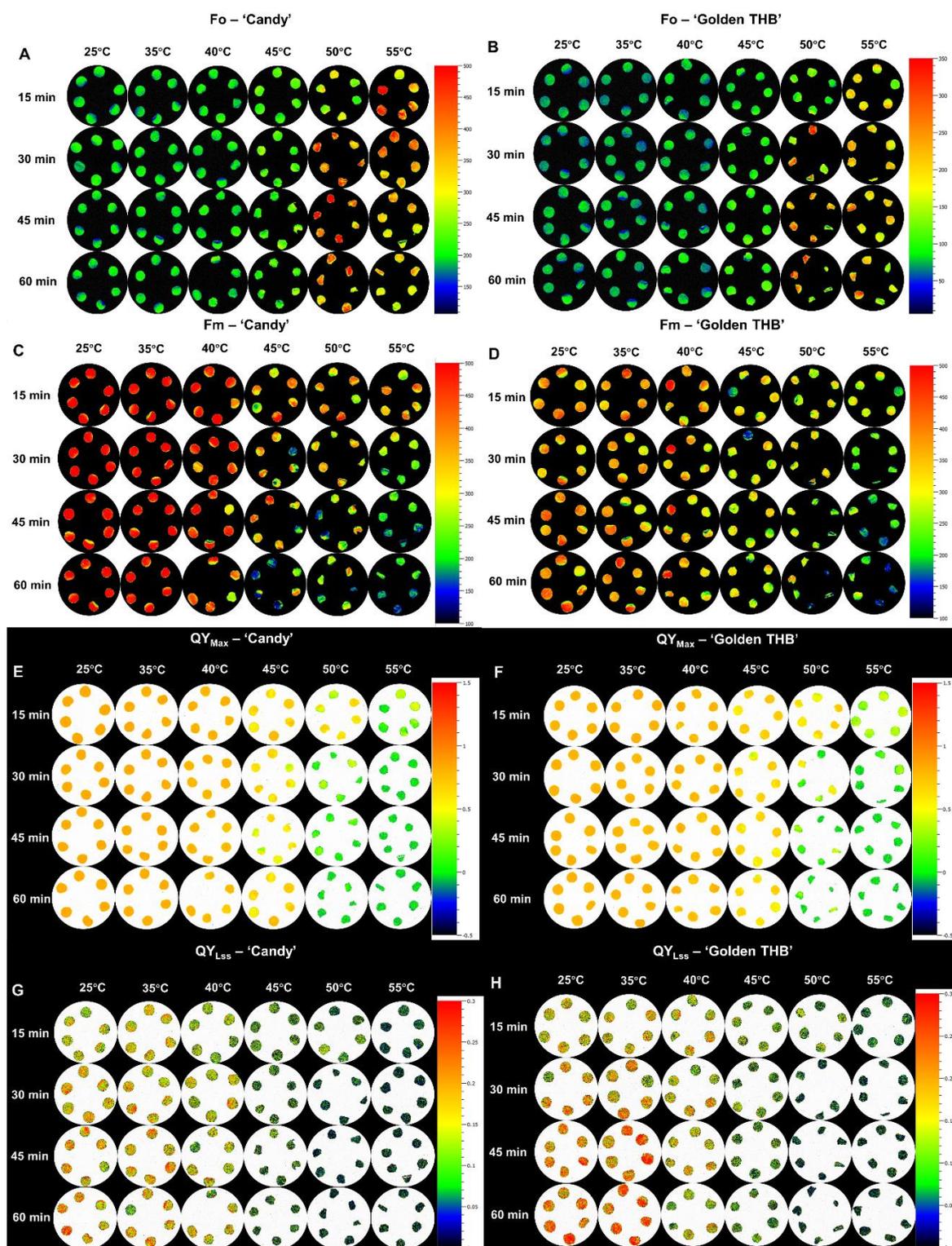


Figura 9. Imagens de fluorescência obtidas por meio do fluorímetro modulado *FluorCam 800 MF* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. F_o - Fluorescência mínima em estado adaptado ao escuro. F_m - Fluorescência máxima em estado adaptado ao escuro. QY_{Max} - Rendimento quântico máximo do PSII em estado adaptado ao escuro. QY_{Lss} - Rendimento quântico efetivo no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz. A escala de cores à direita de cada imagem representa a intensidade de emissão de cada variável ao longo do tecido foliar.

Em relação à variável NPQ_{LSS} , foi observado que para o genótipo 'Candy' (Figuras 10A e 11A), a partir de 45 minutos de exposição a 45°C, foi verificada uma redução na capacidade de dissipação de energia na forma de calor com redução máxima 90%, em relação ao controle. O genótipo 'Golden THB' (Figuras 10B e 11B) somente mostrou esse resultado de decréscimo em torno de 90% em temperaturas superiores a 50°C, com redução variando entre 50% e 90% da capacidade de dissipação de calor, quando comparado ao tratamento controle.

Durante o período de relaxamento do *quenching*, os valores de NPQ_D foram consideravelmente superiores sob a temperatura de 45°C, com aumento de cerca de 8x em 15 minutos para o 'Candy' (Figuras 10C e 11C), e de 5x em 45 minutos para 'Golden THB' (Figuras 10D e 11D). Em ambos os genótipos, e após 15 minutos a 50°C, houve um incremento em um nível não elevado desta variável NPQ_D .

Os valores da variável R_{fd} (Figuras 10F e 11F), a partir de 40°C, e para o genótipo 'Golden THB', quando comparado ao controle, teve cerca de 28% de redução. Para o genótipo 'Candy' (Figuras 10E e 11E), os valores de R_{fd} tiveram redução somente em temperaturas superiores a 45°C, e após 30 minutos de imersão. Após 15 minutos, e a 50°C, houve redução de 52% e 60% para o 'Candy' e o 'Golden THB', respectivamente. Em ambos os genótipos, após 30 minutos, e em relação ao controle, a redução dos valores desta variável foram superiores a 80%.

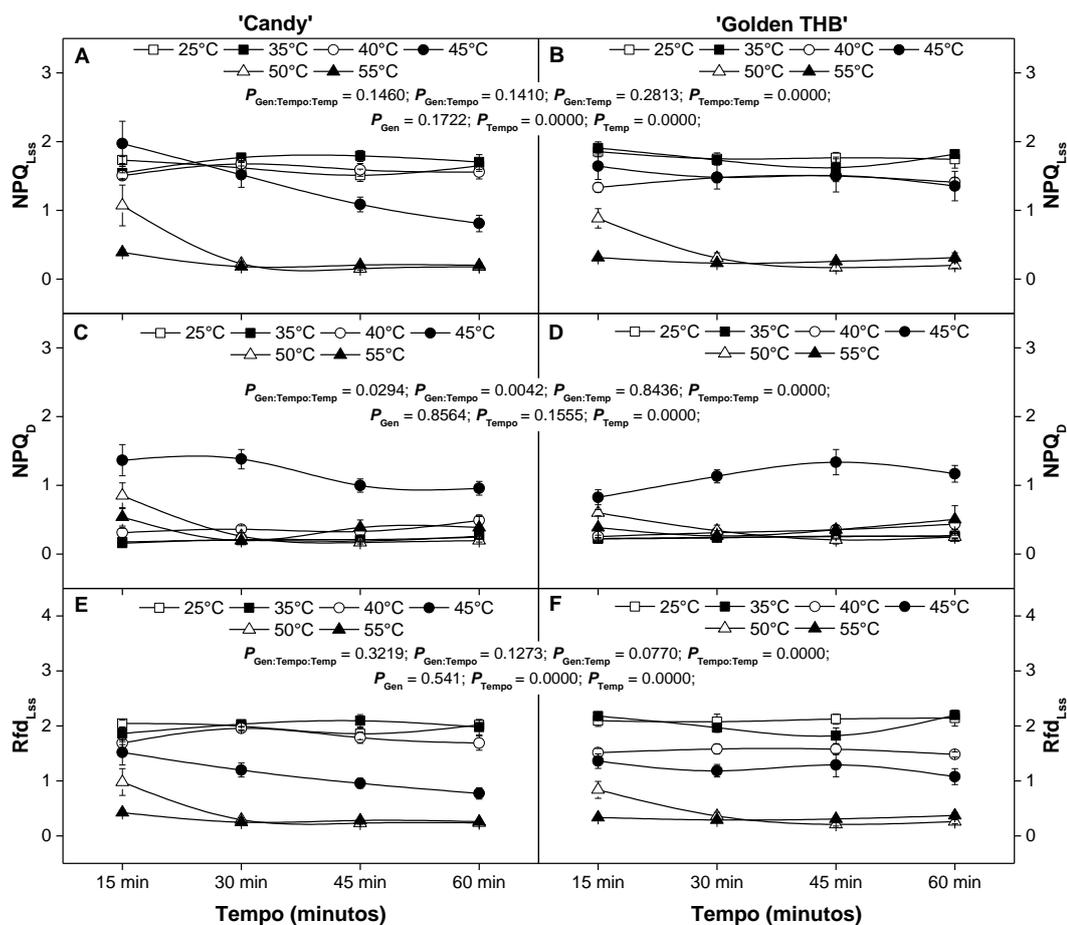


Figura 10. Variáveis obtidas por meio do fluorímetro modulado por imagem *FluorCam 800 MF* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. NPQ_{LSS} - Quenching não-fotoquímico no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz. NPQ_D - Quenching não-fotoquímico instantâneo durante o período de relaxamento da fluorescência no escuro. Rfd_{LSS} - Razão de decréscimo da fluorescência no estado estacionário da fotossíntese. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P -valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=6$). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

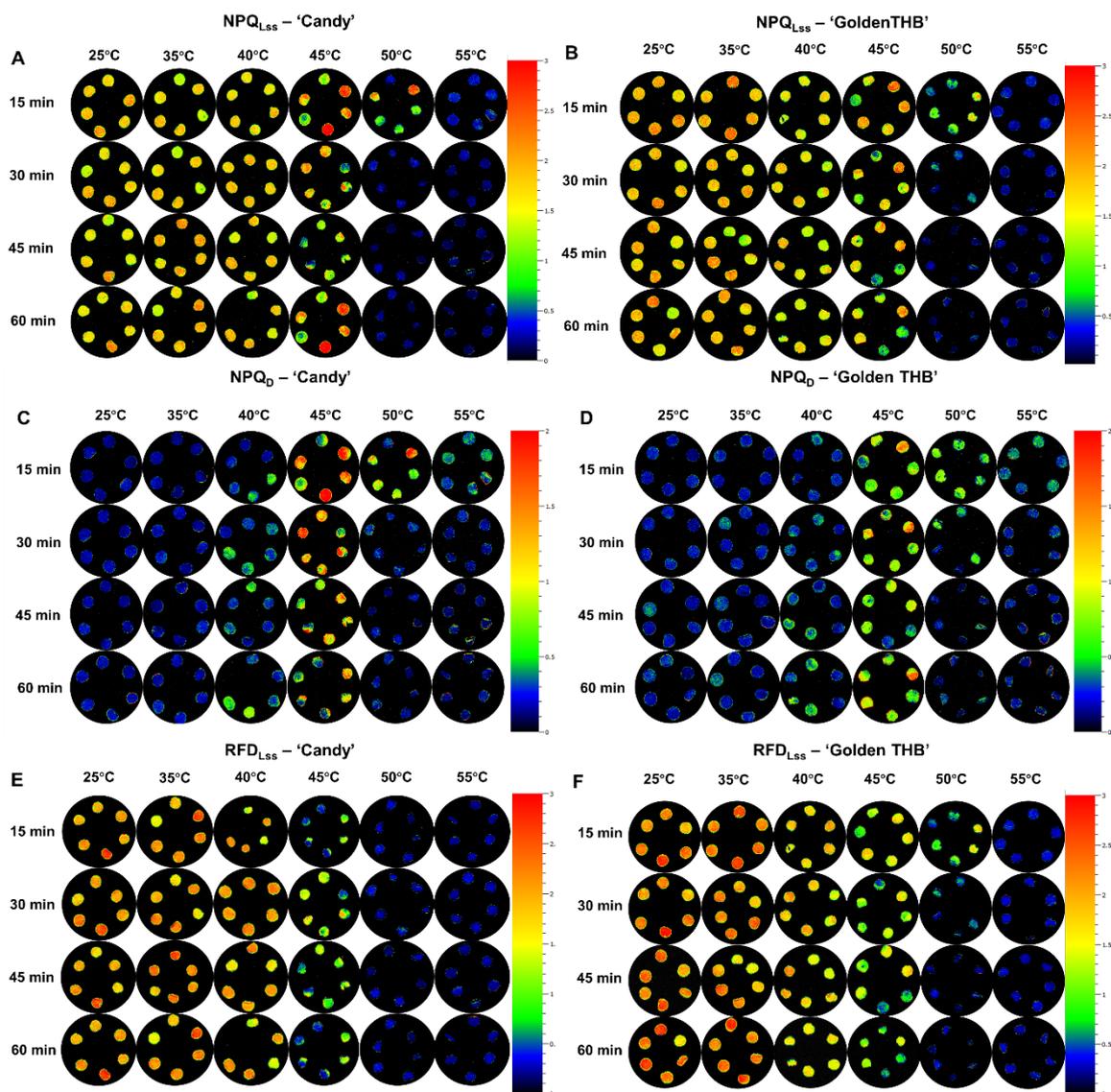


Figura 11. Imagens de fluorescência obtidas por meio do fluorímetro modulado por *FluorCam 800 MF* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. NPQ_{LSS} - Quenching não-fotoquímico no estado estacionário da fotossíntese adaptada à luz. NPQ_D - Quenching não-fotoquímico instantâneo durante o período de relaxamento da fluorescência no escuro. R_{fdLSS} - Razão de decréscimo da fluorescência no estado estacionário da fotossíntese. A escala de cores à direita de cada imagem representa a intensidade de emissão de cada variável ao longo do tecido foliar.

Na Figura 12A, no tempo de 15 minutos de exposição das temperaturas, pode-se observar o declínio do fluxo linear de elétrons, por meio da variável LEF, em função do aumento da temperatura dos discos foliares. Contudo, não houve diferença estatística entre os genótipos estudados. A figura 35 mostra que houve um comprometimento em cerca de 50% na capacidade de manutenção do fluxo de elétrons entre as temperaturas de 35°C a 55°C.

Na Figura 12B, é observado o decréscimo gradual no rendimento quântico para dissipação de energia por processos não regulados (Φ_{NO}), sendo que na temperatura de 55°C, houve uma redução de 64% e 72% para 'Candy' e 'Golden THB', respectivamente, em comparação às amostras mantidas a 35°C.

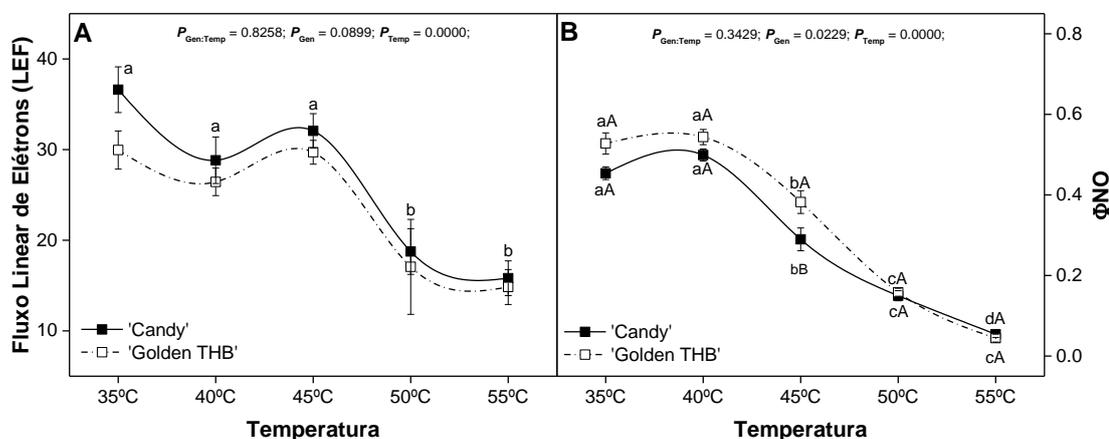


Figura 12. Fluxo linear de elétrons (A) e Rendimento quântico para dissipação de energia por processos não-regulados (Φ_{NO}) obtidos por meio do fluorímetro modulado *Multispeq* em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P-valores (calculados através da ANOVA) são apresentados (n=6). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

4.3 Taxa de evolução de oxigênio (O_2) fotossintético

Com relação à taxa de evolução de O_2 não foi observada diferença significativa entre os genótipos. Entretanto, entre as temperaturas, foi observada redução gradual da liberação de O_2 na medida em que a temperatura aumentou, sendo que aos 55°C a queda na liberação de O_2 chega a 75% dos valores observados a 35°C. Com base nas equações ajustadas, para o genótipo 'Candy', a cada 10°C de incremento na temperatura, causa uma redução de $3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

de oxigênio. Para o genótipo 'Golden THB', a redução é de $4,6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de oxigênio liberado para cada 10°C de incremento na temperatura.

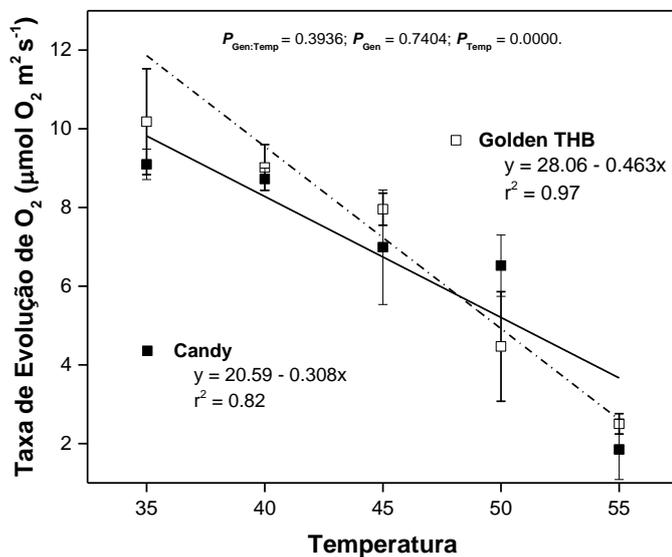


Figura 13. Taxa de evolução de oxigênio em discos foliares de dois genótipos de *Carica papaya* L. ('Candy' e 'Golden THB') submetidos à imersão em banho-maria sob diferentes temperaturas e tempos de imersão. As médias (calculadas a partir do conjunto de dados) \pm EP e os P -valores (calculados através da ANOVA) são apresentados ($n=4$). $P < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 5% de probabilidade.

5. DISCUSSÃO

Em plantas, um dos principais efeitos do estresse por altas temperaturas (estresse supra-ótimo) é o aumento da fluidez de membranas celulares (Harvaux, 1993). Isso resulta em impacto direto sobre as reações fotoquímicas da fotossíntese, haja vista, o fato de que a maioria destas reações ocorre através de estruturas pigmento-proteicas localizadas dentro de cloroplastos de células vegetais, nos tilacoides, e precisamente estas estruturas são componentes dos fotossistemas, PSI e PSII. Em outros complexos não associados a pigmentos, a atividade também depende de estrutura de membranas, como exemplo, o complexo citocromo b_6/f e o complexo de evolução de oxigênio (CEO) (Berry e Bjorkman, 1980; Nievola et al., 2017; Hu et al., 2020).

O aumento de F_o observado para ambos os genótipos de mamoeiro em temperaturas superiores a 45°C, pode indicar a baixa eficiência para transferência de energia de excitação entre as moléculas do complexo antena do PSII (LHCII) (Goltsev et al., 2016). Isso ocorre principalmente, devido à dissociação do LHCII dos centros de reação do PSII ocasionada pelo aumento da fluidez da membrana tilacoide (Harvaux, 1993; Srivastava et al., 1997; Madireddi et al., 2019).

Além do aumento F_o , sob temperaturas superiores a 40°C para o genótipo 'Candy', e 45°C para o genótipo 'Golden THB', o decréscimo no valor de F_m pode indicar que os aceptores de elétrons distribuídos ao longo da cadeia transportadora não foram completamente reduzidos, em função do estresse promovido pelas temperaturas-supra-ótimas (Goltsev et al., 2016).

Um dos fatores mais importantes para diminuição do rendimento de fluorescência por elevadas temperaturas, caracterizada pelo decréscimo de F_m , está associado à inativação do complexo de evolução do oxigênio (CEO), localizado no lado doador do PSII (Chen et al., 2016). Este complexo é formado por um aglomerado de átomos de manganês, e o CEO é o principal responsável pelo fornecimento de elétrons para a cadeia transportadora, a partir da quebra de moléculas de água e liberação de O_2 (Lambers, 2008; Taiz et al., 2017). Este complexo é caracterizado como um dos componentes mais sensíveis ao estresse supra-ótimo, devido à liberação do aglomerado Mn ser causada pelas altas temperaturas (Strasser, 2004; Barra et al., 2005; Oukarroum et al., 2013). Neste trabalho, o comprometimento no CEO com a elevação da temperatura, também pode ser observado por meio de análises de emissão rápida da fluorescência como a obtida pelo *Pocket PEA*, e normalizada em escala de tempo logarítmica. Nesta condição de comprometimento no CEO, ocorre o surgimento de uma fase-K (pico K) exatamente no tempo de $300\mu s$, na curva O-J-I-P (Li et al., 2009). O aparecimento desta fase ocorre porque a inativação do CEO ocasiona um desbalanço no fluxo de elétrons entre o lado doador e os centros de reação no lado acceptor do PSII. Este desbalanço promove a ação de um doador de elétrons alternativo, como a prolina, que é responsável pelo fornecimento de elétrons à cadeia transportadora, uma vez que o CEO está inativado e impossibilita a quebra de moléculas de H_2O , resultando no rápido aumento na concentração de $Pheo^-/QA^-$ e, portanto, o aumento no rendimento de fluorescência a $300\mu s$ (Strasser, 1997; Tóth et al., 2007; De Ronde et al., 2004).

Apesar de não ter sido avaliado o surgimento da fase-K, neste trabalho a inferência pode ser feita indiretamente por meio da análise de $\Delta V/\Delta t_0$, que indica a inclinação média inicial da curva de fluorescência a $300\mu s$. Quanto maior a inclinação inicial da curva, maior será a fase-K aparente e, portanto, maior dano ocasionado ao CEO (Li et al., 2009), como observado neste em temperaturas superiores a $50^\circ C$ e confirmado pela avaliação da taxa de liberação de oxigênio (Li et al., 2009) em amostras mantidas durante 15 minutos entre temperaturas de $35^\circ C$ a $55^\circ C$ indicando o dano térmico intenso no CEO.

Após o aparecimento da fase-K, a redução repentina na cinética de emissão da fluorescência e diminuição do rendimento de fluorescência máxima (F_m), provavelmente ocorreu em função da reabertura dos centros de reação do

PSII, devido à transferência de elétrons de Q_A^- para Q_B e ao acúmulo de P_{680}^+ . O baixo rendimento de fluorescência ocorreu, pois o doador de elétrons alternativo não foi capaz de manter a continuidade de fluxo para suprir a demanda no lado acceptor do PSI (Strasser, 1997; Toth et al., 2007; Oukarroum et al., 2013).

A redução nos valores de F_v/F_o representa o aumento da constante não-fotoquímica (kn) em relação à constante para dissipação fotoquímica (kp), o que significa dizer que menor será a probabilidade com que a transferência de energia resultará numa reação fotoquímica. Estes resultados são confirmados pelas respostas à temperatura com redução nos valores ΦP_o e incremento nos valores ΦD_o .

As variáveis ΦP_o e ΦD_o são inversas entre si, isso porque envolvem processos concorrentes, ou seja, toda energia que não é transferida para resultar na etapa fotoquímica é perdida por meio da dissipação de energia na forma de calor ou mesmo por fluorescência. A variável ΦP_o que corresponde a variável F_v/F_m , e a variável $QY_{Máx}$, representam o rendimento quântico máximo do PSII. A variável QY_{Lss} representa o rendimento quântico efetivo do PSII. A partir da redução nos valores de todas estas variáveis, é possível mostrar que o incremento térmico sob temperaturas superiores a 45°C causou danos severos à capacidade de redução de Q_A por meio do comprometimento da transferência de energia de excitação no PSII (Marutani et al., 2012). Geralmente, tecidos fotossinteticamente ativos e sob condições não estressantes apresentam valores de ΦP_o entre 0,75 e 0,85, o que significa dizer que existe uma probabilidade de 0,75 a 0,85, com média 0,8, de que o fóton de luz azul/vermelha que chega no PSII consiga reduzir Q_A (Strasser, 2000; Li et al., 2009, Strasser et al., 2004). Entretanto, a imposição do estresse térmico acarretou comprometimento na estrutura de membrana (membrana torna-se mais fluida), e ocorre a redução da eficiência com que essa energia é usada para fotoquímica primária. Nesta condição, mais energia é dissipada na forma de calor, fluorescência ou pela transferência entre outros sistemas, o que pode resultar no aumento significativo em ΦD_o em temperaturas superiores 45°C.

Na condição de estresse supra-ótimo (>45°C), o aumento de ΦD_o e a redução nos valores era de ΦP_o , Ψ_o e de ΦE_o . Quanto menos energia de excitação fosse destinada para redução de Q_A , menor seria a probabilidade com que o elétron possa ser transportado além de Q_A^- para redução dos aceptores intersistema e,

portanto, menor será o rendimento quântico para o transporte de elétrons pela cadeia transportadora.

Ao analisar os fluxos específicos de energia, pode-se observar que o aumento no componente absorção (ABS) e no componente captura (TR_o) de energia por centro de reação ativo (RC) em temperaturas superiores a 45°C, não foi reproduzido nas análises de rendimentos e eficiências, vistos anteriormente. O aumento no transporte de elétrons por centro de reação ativo (ET_o/RC) a 45°C, concomitante com o aumento na dissipação de energia (DI_o/RC) não refletiu no aumento da eficiência fotoquímica das amostras, devido ao fato da alta taxa de inativação de centros de reação sob estresse térmico (Lavergne, 1993; Mathur et al., 2011; Zuchi et al., 2012). De fato, em condições de temperaturas supra-ótimas a redução nos valores de RC/CS_o e $10RC/ABS$ se refere à densidade de centros de reação capazes de reduzir Q_A , e menor densidade de centros de reação ativos, respectivamente. Em ambos os casos, é demonstrado o efeito de inativação de centros de reação pelo aumento da temperatura acima de 40°C, de tal forma que toda energia luminosa que chega aos centros de reação ativos tende a causar um alto nível de excitação tanto no complexo antena, quanto no PSII, refletindo a alta absorção e captura dessa energia. Entretanto, nem toda energia de excitação que chega é capaz de ser transportada através da cadeia transportadora, uma vez que o fluxo de elétrons pelo CEO passa a ser limitado pelas altas temperaturas, resultando também na alta dissipação energética.

Os fluxos de energia fenomenológicos (por meio da expressão CS no denominador da fração) permitiram evidenciar com maior clareza os efeitos do estresse térmico ao longo de uma porção foliar considerando o *pool*/total de centros de reação, estejam eles ativos ou não. O aumento da temperatura promoveu maior absorção energética pelos complexos antena do PSII, como demonstrado pelos valores de ABS/CS_o . Entretanto, a redução significativa sob temperaturas de 50°C e 55°C na captura de energia pelos centros de reação do PSII (TR_o/CS_o) em ambos os genótipos (Zuchi et al., 2012), pode estar relacionada à inativação por calor dos centros de reação, devido à dissociação de uma proteína extrínseca de 33kDa responsável pela estabilização do manganês (Enami et al., 1994). Esta resposta tanto de ABS/CS_o quanto TR_o/CS_o pode indicar que o maior comprometimento do fluxo de energia nas reações fotoquímicas para o mamoeiro está mais relacionado

à inativação de centros de reação do que à capacidade que o complexo antena mantém de absorver energia (Gounaris et al., 1984).

As temperaturas de até 45°C durante determinado período, e que promoveram um maior fluxo de elétrons através do PSII (ET_o/CS_o), estão diretamente relacionadas ao estímulo do PSI, aumentando a probabilidade de os elétrons serem transportados dos aceptores intersistema reduzidos para os aceptores finais do PSI (Harvaux, 1991; Sharkey, 2005; Oukarroum et al., 2013). Entretanto, a permanência sob estas altas temperaturas por um longo período ou sob temperaturas maiores pode comprometer drasticamente a capacidade de transporte de elétrons. Estes resultados podem ser confirmados pela queda no fluxo linear de elétrons com o aumento da temperatura acima de 35°C, mas com uma leve recuperação aos 45°C, voltando a cair aos 50°C. Obviamente, como muita energia foi absorvida pelo complexo antena (indicado pelos elevados valores de ABS/CS_o), houve baixa eficiência na captura desta energia pelos centros de reação (indicado pela redução nos valores de TR_o/CS_o) e como consequência uma redução no fluxo de elétrons (indicado pela redução nos valores de ET_o/CS_o). Todo excedente de energia luminosa absorvida foi dissipado por meio de processos regulados ou não regulados. Este comprometimento do estresse supra-ótimo na atividade fotoquímica é evidenciado por meio da elevação nos valores da variável D_{lo}/CS_o. De fato, temperaturas superiores a 45°C promovem uma alta taxa de dissipação térmica de energia, principalmente no genótipo 'Candy'. Entretanto, o decréscimo no *quenching* não-fotoquímico em estado estacionário (NPQ_{LSS}), pode ser explicada devido ao fato de que é uma variável diretamente dependente de F_m e F_{mLSS} [NPQ_{LSS} = (F_m - F_{mLSS}) / F_{mLSS}], e como visto anteriormente, o dano à variável F_m foi tão intenso sob temperaturas muito altas. O NPQ é um mecanismo relacionado à dissipação não-fotoquímica de energia na forma de calor e controlado, principalmente, pelas alterações no ciclo das xantofilas. Dias et al. (2010) atribuíram essa redução em NPQ ao uso do ATP sintetizado nas reações fotoquímicas pelo Ciclo de Calvin-Benson e à diminuição do gradiente de prótons transtilacoidal para proteção do sistema antena de PSII (Joshi et al., 1995; Sharkey e Zhang, 2010; Brestic et al., 2016).

A dissipação de energia por processos não-regulados (ΦNO) é drasticamente comprometida pelo aumento da temperatura. Curiosamente, os valores significativamente altos da variável NPQ_D, nos tratamentos térmicos de

50°C e 55°C a 15 minutos e de 45°C em todos os tempos de imersão, indica a capacidade de recuperação do aparato fotossintético sob estresse térmico moderado, promovido pela dinâmica do ciclo das xantofilas.

O aumento da fluidez de membranas afeta toda a estruturação e funcionalidade dos tilacoides, bem como os componentes principais deste sistema membranoso dos cloroplastos (Niu e Xiang, 2018). Sabe-se que estes componentes estruturais e funcionais são espacialmente separados ao longo das membranas do tilacoide, sendo que os complexos LHCII e PSII se concentram na porção empilhada (grana) dos tilacoides, PSI e complexo ATPase se concentram nos tilacoides em contato com o estroma, e o complexo Cyt b6/f se encontra distribuído nas duas porções (Ivanov et al., 2017; Taiz et al., 2017). Quando ocorre o aumento da temperatura e consequente aumento da fluidez das membranas, ocorre a perda da estrutura dos cloroplastos e da organização lateral nos tilacoides, acarretando a perda ou comprometimento de funções/atividades da maquinaria fotoquímica (Gounaris et al., 1984, Mohanty et al., 2011; Ivanov et al., 2017). Estas respostas podem ser avaliadas por meio da redução em SFI_{abs} temperaturas acima de 40°C (principalmente no genótipo 'Candy'). Esta variável é um índice de estrutura e função do aparato fotossintético e sua redução pode indicar o comprometimento estrutural e funcional das folhas de *Carica papaya* L.

Outro importante índice baseado nas variáveis da fluorescência e utilizado para detectar o nível de danos causados pelo estresse por elevadas temperaturas é o índice de desempenho fotossintético (*photosynthetic index ou performance index* - PI_{abs}). Esta variável é multiparamétrica, uma vez que envolve outras variáveis como a variável relacionada ao componente absorção (ABS), o componente captura (TR) e o componente transporte de elétrons (ET) (Strasser et al., 2004). Esta variável PI_{abs} é considerada por vários autores como uma variável mais sensível aos estresses abióticos, como estresse hídrico e térmico (Strasser et al., 2004; Yusuf et al., 2010; Kalaji et al., 2016), entretanto, assim como o SFI_{abs} , o PI_{abs} se mostrou ter, para ambos os genótipos, maior sensibilidade somente a partir de 40°C, mais especificamente para o genótipo 'Candy'.

A razão de decréscimo da fluorescência (R_{fd}), também chamada de índice de vitalidade do PSII, fornece indicativos das interações entre as etapas fotoquímica e bioquímica da fotossíntese (Lichtenthaler et al., 2004, Goltsev et al., 2016). Para avaliação do estresse térmico em plantas, a exemplo do mamoeiro, o

uso desta variável foi importante, pois o aumento da temperatura tem um impacto direto na atividade enzimática do ciclo de Calvin-Benson, principalmente sobre a capacidade de carboxilação da RuBisCO (Sharkey, 2005). Portanto, a redução nos valores desta variável indica o desequilíbrio entre as reações fotoquímicas nos tilacoides e as reações enzimáticas no estroma (Lichtenthaler et al., 2005). Além disso, quando são considerados os efeitos estomáticos da fotossíntese, esta variável apresenta correlação linear com a taxa de assimilação de carbono (Rinderle e Lichtenthaler, 1988). Apesar deste trabalho desconsiderar os efeitos estomáticos do aumento de temperatura sobre a eficiência fotossintética nos genótipos de mamoeiro estudados, a redução desta variável em temperaturas superiores a 40°C para 'Golden THB' e 45°C para 'Candy', pode refletir tanto em danos ao aparato fotoquímico quanto no aparato bioquímico, principalmente pelos valores próximos de zero sob temperaturas de 50°C e 55°C.

Além das inúmeras variáveis quantitativas observadas neste trabalho, é importante ressaltar a importância das imagens de fluorescência geradas para algumas das variáveis citadas anteriormente. Como visto, o uso desta técnica permite a compreensão da heterogeneidade com a qual a intensidade dos valores de cada variável estudada se distribui ao longo do tecido foliar (Figuras 9 e 11), o que possibilita a caracterização visual do nível de dano ocasionado ao aparato fotossintético por meio da ação do estresse supra-ótimo de temperatura (Oxborough, 2004).

Em trabalhos futuros, deverão ser realizados experimentos objetivando avaliar se a extensão do dano fotoquímico provocado pelo aumento da temperatura possui caráter de reversibilidade ou não; ou seja, se a extensão do dano causado em temperaturas superiores a 40°C é mantida ou não, após a exposição da temperatura do tecido foliar retornar às temperaturas consideradas controle (25°C).

6. RESUMO E CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi observado que as temperaturas superiores a 45°C, já por 15 minutos, desencadeiam comprometimentos na maquinaria fotoquímica de folhas dos genótipos de mamoeiro 'Candy' e 'Golden THB'. Entretanto, o genótipo 'Candy' mostrou ser ligeiramente mais sensível que o genótipo 'Golden THB', considerando as variáveis RC/CS_o , $10RC/ABS$, $PI_{(abs)}$ e $SFI_{(abs)}$. Apesar da diferença interespecífica ao tratamento térmico, as diferenças mostraram-se muito mais relevantes entre as diferentes temperaturas, e os diferentes tempos de exposição, do que ao material genético utilizado, ou ao grupo que o genótipo está inserido (Formosa ou Solo).

Entre os diferentes métodos de avaliação da emissão de fluorescência da clorofila *a*, foram observadas variáveis que foram mais sensíveis (F_v/F_o , RC/CS_o , SFI_{abs} , $10RC/ABS$, PI_{abs}) ao estresse térmico moderado do que outras (ABS/RC , TR_o/RC , ET_o/RC e DI_o/RC). Portanto, a escolha da variável utilizada para caracterizar o estresse térmico deve ser feita buscando obter o máximo de informações possíveis a respeito da atividade do aparato fotossintético.

Portanto, o uso das diferentes metodologias de medição da emissão de fluorescência da clorofila *a* para detecção do estresse por temperaturas supra-ótimas em genótipos de mamoeiro é eficiente, desde que as variáveis mais sensíveis em cada metodologia sejam selecionadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, E. C. (2005). *Irrigação na cultura do mamoeiro na região norte do Estado do Espírito Santo: diagnóstico e estudo de lâmina de irrigação*. 2005. 106 f. Tese (Doutorado Recursos Hídricos e Ambientais) Universidade Federal de Viçosa.
- Alves, F. de L., Pacova, B. E. V, Galvaes, P. A. O. (2003). Seleção de plantas matrizes de mamão, grupo Solo, para produção de sementes. *A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção*. Vitória: Incaper, 103–114.
- Apel, K., Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55(1): 373–399.
- Asada, K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, 141(2): 391 – 396.
- Ashraf, M., Hafeez, M. (2004). Thermotolerance of pearl millet and maize at early growth stages: growth and nutrient relations. *Biologia Plantarum*, 48(1): 81–86.
- Badillo, V. M. (1971). *Monografía de la familia Caricaceae*. Universidad Central de Venezuela, Maracay (Venezuela). Facultad de Agronomía.
- Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1): 89–113.
- Barbagallo, R. P., Oxborough, K., Pallett, K. E., Baker, N. R. (2003). Rapid, noninvasive screening for perturbations of metabolism and plant growth using chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology*, 132(2): 485 – 493.
- Barra, M., Haumann, M., Dau, H. (2005). Specific loss of the extrinsic 18 kDa protein from photosystem II upon heating to 47 °C causes inactivation of oxygen evolution likely due to Ca release from the Mn-complex. *Photosynthesis Research*, 84(1–3): 231–237.
- Benkeblia, N., McHenry, M., Crisp, J., Roudier, P. (2018). Tropical crops and resilience to climate change. *climate change and crop production: foundations for agroecosystem resilience*, CRC Press, p. 83-103.

- Berry, J., Bjorkman, O. (1980). Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 31(1): 491–543.
- Brestic, M., Zivcak, M., Kunderlikova, K., Allakhverdiev, S. I. (2016). High temperature specifically affects the photoprotective responses of chlorophyll b-deficient wheat mutant lines. *Photosynthesis Research*, 130(1): 251–266.
- Bucci, S. J., Scholz, F. G., Goldstein, G., Meinzer, F., Sternberg, L. da S. L. (2003). Dynamic changes in hydraulic conductivity in petioles of two savanna tree species: factors and mechanisms contributing to the refilling of embolized vessels. *Plant, Cell Environment*, 26(10): 1633–1645.
- Bukhov, N. G., Wiese, C., Neimanis, S., Heber, U. (1999). Heat sensitivity of chloroplasts and leaves: Leakage of protons from thylakoids and reversible activation of cyclic electron transport. *Photosynthesis Research*, 59(1): 81–93.
- Bussotti, F., Desotgiu, R., Pollastrini, M., Cascio, C. (2010). The JIP test: A tool to screen the capacity of plant adaptation to climate change. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 25(SUPPL. 8): 43–50.
- Camejo, D., Rodríguez, P., Angeles Morales, M., Miguel Dell'Amico, J., Torrecillas, A., Alarcón, J. J. (2005). High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. *Journal of Plant Physiology*, 162(3): 281–289.
- Campostrini, E., Glenn, D.M., Yamanishi, O.K. (2010). Papaya: ecophysiology of growth and production. In: DaMatta, F. (Ed.): *Ecophysiology of Tropical Tree Crops*. Nova Science Publishers, New York, pp. 287e307.
- Campostrini, E., Schaffer, B., Ramalho, J.D.C., González, J.C., Rodrigues, W.P., da Silva, J.R., Lima, R.S.N. (2018). Chapter 19 - Environmental factors controlling carbon assimilation, growth, and yield of papaya (*Carica papaya* L.) under water-scarcity scenarios. In: Tejero, I.F.G., Zuazo, V.H.D. (eds.) *Water scarcity and sustainable agriculture in semiarid environment*. Academic Press, p. 481-505.
- Carneiro, C. E., Cruz, J. L. (2009). Caracterização anatômica de órgãos vegetativos do mamoeiro. *Ciência Rural*, 39(3): 918–921.
- Cavatte, P. C., Martins, S. C. V, Morais, L. E., Silva, P. E. M., DaMatta, F. M. (2012). The physiology of abiotic stresses. In: Fritsche-Neto, R., Borém, A. (eds.) *Plant Breeding for Abiotic Stress Tolerance*. Berlin: Springer, pp. 21–51.
- Chan, Y.-K. (2009). Breeding papaya (*Carica papaya* L.). In: Jain, S.M., Priyadarshan, P.M. (eds.) *Breeding plantation tree crops: tropical species*. New York: Springer. pp. 121–159.
- Chen, L.-S., Cheng, L. (2009). Photosystem 2 is more tolerant to high temperature in apple (*Malus domestica* Borkh.) leaves than in fruit peel. *Photosynthetica*, 47(1): 112–120.
- Chen, S., Yang, J., Zhang, M., Strasser, R. J., Qiang, S. (2016). Classification and characteristics of heat tolerance in *Ageratina adenophora* populations using fast chlorophyll a fluorescence rise O-J-I-P. *Environmental and Experimental Botany*, 122, 126–140.

- Costa, A. F.S., Pacova, B.E.V. (2003). Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. *In: Martins, D.S. e Costa, A.F.S. A Cultura Do Mamoeiro: Tecnologias de Produção*. Vitória: Incaper, p. 59–102.
- Crafts-Brandner, S. J., Salvucci, M. E. (2002). Sensitivity of photosynthesis in a C4 plant, maize, to heat Stress. *Plant Physiology*, 129(4): 1773 – 1780.
- Crafts-Brandner, S. J., Salvucci, M. E. (2004). Analyzing the impact of high temperature and CO₂ on net photosynthesis: biochemical mechanisms, models and genomics. *Field Crops Research*, 90(1): 75–85.
- Dames, J., Redfern, S. P., Ripley, B. S. (2004). Quantification of the photosynthetic performance of phosphorus-deficient sorghum by means of chlorophyll-a fluorescence kinetics. *South African Journal of Science*, 100(11): 615–618.
- Dantas, J. L. L., Junghans, D. T., de Lima, J. F. (2013). *Mamão: o produtor pergunta, a Embrapa responde*. Brasília, DF: Embrapa, 170 p.
- De Las Rivas, J., Barber, J. (1997). Structure and thermal stability of photosystem II reaction centers studied by infrared spectroscopy. *Biochemistry*, 36(29): 8897–8903.
- De Ronde, J. A., Cress, W. A., Krüger, G. H. J., Strasser, R. J., Van Staden, J. (2004). Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress. *Journal of Plant Physiology*, 161(11): 1211–1224.
- Delieu, T. J., Walker, D. A. (1983). Simultaneous measurement of oxygen evolution and chlorophyll fluorescence from leaf pieces. *Plant Physiology*, 73(3): 534 – 541.
- Dhekney, S. A. (2004). *Molecular investigations, cryopreservation and genetic transformation studies in papaya (Carica papaya L.) for cold hardiness*. PhD thesis, University of Florida, U.S.A., 184p.
- Dias, A. S., Semedo, J., Ramalho, J. C., Lidon, F. C. (2011). Bread and durum wheat under heat stress: a comparative study on the photosynthetic performance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197(1): 50–56.
- Dogra, V., Kim, C. (2019). Chloroplast protein homeostasis is coupled with retrograde signaling. *Plant Signaling Behavior*, 14(11): 1656037.
- Dusenge, M. E., Duarte, A. G., Way, D. A. (2019). Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. *New Phytologist*, 221(1): 32-49.
- Ehlert, B., Hinch, D. K. (2008). Chlorophyll fluorescence imaging accurately quantifies freezing damage and cold acclimation responses in Arabidopsis leaves. *Plant Methods*, 4(1): 12.
- El Moussaoui, A., Nijs, M., Paul, C., Wintjens, R., Vincentelli, J., Azarkan, M., Looze, Y. (2001). Revisiting the enzymes stored in the laticifers of *Carica papaya* in the context of their possible participation in the plant defence mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 58(4): 556–570.
- Enami, I., Kitamura, M., Tomo, T., Isokawa, Y., Ohta, H., Katoh, S. (1994). Is the primary cause of thermal inactivation of oxygen evolution in spinach PS II

membranes release of the extrinsic 33 kDa protein or of Mn? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1186(1): 52–58.

- Evans, E. A., Ballen, F. H. (2012). An overview of global papaya production, trade, and consumption: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/FE913> em 15/12/2020.
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., Saud, S., Ihsan, M. Z., Alharby, H., Wu, C., Wang, D., Huang, J. (2017). Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Frontiers in Plant Science*, 8, p. 1147.
- Faria, A. R. N., Noronha, A. C. da S., Oliveira, A. A. R., Oliveira, A. M. G., Cardoso, C. E. L., Ritzinger, C., de Oliveira, E. J., Coelho, E. F., Santos Filho, H. P., Cruz, J. L. (2009). *A cultura do mamão*. Brasília, DF: Embrapa. Coleção Plantar, 65, 119p.
- Ferraz, T. M., Netto, A. T., De Oliveira Reis, F., Peçanha, A. L., De Sousa, E. F., Filho, J. A. M., Rodrigues, W. P., Glenn, D. M., Campostrini, E. (2015). Relationships between sap-flow measurements, whole-canopy transpiration and reference evapotranspiration in field-grown papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 27(3): 251–262.
- Field, C. B., Barros, V., Stocker, T. F., Dahe, Q. (2012). *Managing the risks of extreme events and disasters to advance climate change adaptation: special report of the intergovernmental panel on climate change*. Cambridge University Press. Cambridge, UK, and New York, USA, p. 582.
- Fisher, J. B. (1980). *The vegetative and reproductive structure of papaya (Carica papaya)*. *Lyonia* 1(4):191-208
- Food And Agriculture Organization Of The United Nations (FAO). Principais países produtores de papayas. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 12 Jan. 2021.
- Force, L., Critchley, C., van Rensen, J. J. S. (2003). New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynthesis Research*, 78(1): 17-13.
- Fukamachi, H., Tsukaguchi, T., Ozawa, K., Komori, S., Ogawa, K. (2002). Effect of foliar mist spraying on root growth and photosynthesis of papaya plants. *Acta Horticulturae*, 578, 373–375.
- Galán Saúco, V. G. (2002). Greenhouse cultivation of tropical fruits. *Acta Horticulturae*, 575, 727–735.
- Galán Saúco, V., Rodríguez Pastor, M. A. C. (2007). Greenhouse cultivation of papaya. *Acta Horticulturae*, 740, 191–195.
- Garruña-Hernández, R., Orellana, R., Larque-Saavedra, A., Canto, A. (2014). Understanding the physiological responses of a tropical crop (*Capsicum chinense* Jacq.) at High Temperature. *PLOS ONE*, 9(11): e111402.
- Goltsev, V. N., Kalaji, H. M., Paunov, M., Bąba, W., Horaczek, T., Mojski, J., Kociel, H., Allakhverdiev, S. I. (2016). Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(6): 869–893.
- Gorbe, E., Calatayud, A. (2012). Applications of chlorophyll fluorescence imaging

- technique in horticultural research: A review. *Scientia Horticulturae*, 138: 24–35.
- Gounaris, K., Brain, A. R. R., Quinn, P. J., Williams, W. P. (1984). Structural reorganisation of chloroplast thylakoid membranes in response to heat-stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 766(1): 198–208.
- Guidi, L., Degl’Innocenti, E. (2011). Imaging of chlorophyll a fluorescence: a tool to study abiotic stress in plants. In: Shanker, A. and Venkateswarlu, B. *Abiotic stress in plants - mechanisms and adaptations*. IntechOpen. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/chapters/18395>> Acesso em 20 dez. 2020.
- Guidi, L., Mori, S., Degl’Innocenti, E., Pecchia, S. (2007). Effects of ozone exposure or fungal pathogen on white lupin leaves as determined by imaging of chlorophyll a fluorescence. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(10): 851–857.
- Gunes, E., Gübbük, H. (2012). Growth, yield and fruit quality of three papaya cultivars grown under protected cultivation. *Fruits*, 67(1): 23–29.
- Harlan, J. R. (1971). Agricultural origins: centers and noncenters. *Science*, 174(4008): 468 – 474.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R., Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5): 9643-9684.
- Hatfield, J. L., Boote, K. J., Kimball, B. A., Ziska, L. H., Izaurralde, R. C., Ort, D., Thomson, A. M., Wolfe, D. (2011). Climate impacts on agriculture: implications for crop production. *Agronomy Journal*, 103(2): 351–370.
- Havaux, M. (1993). Rapid photosynthetic adaptation to heat stress triggered in potato leaves by moderately elevated temperatures. *Plant, Cell Environment*, 16(4): 461–467.
- Havaux, M., Greppin, H., Strasser, R. J. (1991). Functioning of photosystems I and II in pea leaves exposed to heat stress in the presence or absence of light. *Planta*, 186(1): 88–98.
- Havaux, M., Tardy, F. (1996). Temperature-dependent adjustment of the thermal stability of photosystem II in vivo: possible involvement of xanthophyll-cycle pigments. *Planta*, 198(3): 324–333.
- Hermida-Carrera, C., Kapralov, M. V, Galmés, J. (2016). RuBisCO catalytic properties and temperature response in crops. *Plant Physiology*, 171(4): 2549 – 2561.
- Hu, S., Ding, Y., Zhu, C. (2020). Sensitivity and responses of chloroplasts to heat stress in plants. *Frontiers in Plant Science* 11: 375.
- Ivanov, A. G., Velitchkova, M. Y., Allakhverdiev, S. I., Huner, N. P. A. (2017). Heat stress-induced effects of photosystem I: an overview of structural and functional responses. *Photosynthesis Research*, 133(1): 17–30.
- IBGE - PAM Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística – Produção Agrícola Municipal. Tabelas. 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: 12 fev. 2020.
- IPCC. (2018). *Global warming of 1.5° C: an IPCC special report on the impacts of*

- global warming of 1.5° C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty. In: Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Pörtner, H.-O., Roberts, D., Skea, J. Shukla, P.R., Pirani, A., Moufouma-Okia, W., Péan, C., Pidcock, R., Connors, S., Matthews, J.B.R., Chen, Y. Zhou, X., Gomis, M.I., Lonnoy, E., Maycock, T., Tignor, M., and Waterfield, T. (eds.) Intergovernmental Panel on Climate Change. Disponível em: <<https://www.ipcc.ch/sr15/>> Acesso em 20 dez. de 2020.*
- Joët, T., Cournac, L., Peltier, G., Havaux, M. (2002). Cyclic electron flow around photosystem I in C(3) plants. In vivo control by the redox state of chloroplasts and involvement of the NADH-dehydrogenase complex. *Plant Physiology*, 128(2): 760 – 769.
- Joshi, M. K., Desai, T. S., Mohanty, P. (1995). Temperature dependent alterations in the pattern of photochemical and non-photochemical quenching and associated changes in the photosystem II conditions of the leaves. *Plant and Cell Physiology*, 36(7): 1221–1227.
- Kadam, N. N., Xiao, G., Melgar, R. J., Bahuguna, R. N., Quinones, C., Tamilselvan, A., Prasad, P. V. V., Jagadish, K. S. V. (2014). *Chapter Three - Agronomic and physiological responses to high temperature, drought, and elevated CO₂ interactions in cereals. In: Sparks, D. (ed.), 127, pp. 111–156. Academic Press.*
- Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Łukasik, I., Goltsev, V., Ladle, R. J. (2016). Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(4): 102.
- Kalaji, H. M., Schansker, G., Brestic, M., Bussotti, F., Calatayud, A., Ferroni, L., Goltsev, V., Guidi, L., Jajoo, A., Li, P., Losciale, P., Mishra, V. K., Misra, A. N., Nebauer, S. G., Pancaldi, S., Penella, C., Pollastrini, M., Suresh, K., Tambussi, E., Yanniccari, M., Zivcak, M., Cetner, M. D., Samborska, I. Z., Stirbet, A., Olsovska, K., Kunderlikova, K., Shelonzek, H., Rusinowski, S., Bąba, W. (2017). Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynthesis Research*, 132(1): 13–66.
- Kalaji, H. M., Schansker, G., Ladle, R. J., Goltsev, V., Bosa, K., Allakhverdiev, S. I., Brestic, M., Bussotti, F., Calatayud, A., Dąbrowski, P., Elsheery, N. I., Ferroni, L., Guidi, L., Hogewoning, S. W., Jajoo, A., Misra, A. N., Nebauer, S. G., Pancaldi, S., Penella, C., Zivcak, M. (2014). Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues. *Photosynthesis Research*, 122(2): 121–158.
- Kalaji, M. H., Goltsev, V. N., Żuk-Gołaszewska, K., Zivcak, M., Brestic, M. (2017). *Chlorophyll fluorescence: understanding crop performance - basics and applications*. Boca Raton: CRC Press, p. 236.
- Konno, K., Hirayama, C., Nakamura, M., Tateishi, K., Tamura, Y., Hattori, M., Kohno, K. (2004). Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex. *The Plant Journal*, 37(3): 370–378.
- Lassoudiere, A., 1968. Le papayer (Deuxieme partie). *Fruits*, 23(11), 585-596.

- Lavergne, J., Leci, E. (1993). Properties of inactive Photosystem II centers. *Photosynthesis Research*, 35(3): 323–343.
- Leal-Costa, M. V., Munhoz, M., Meissner, F., Reinert, F., Tavares, E. S. (2010). Leaf anatomy of genetically modified and wild-type *Carica papaya* L.(Caricaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 24(2): 595–597.
- Lesk, C., Rowhani, P., Ramankutty, N. (2016). Influence of extreme weather disasters on global crop production. *Nature*, 529(7584): 84–87.
- Li, P., Cheng, L., Gao, H., Jiang, C., Peng, T. (2009). Heterogeneous behavior of PSII in soybean (*Glycine max*) leaves with identical PSII photochemistry efficiency under different high temperature treatments. *Journal of Plant Physiology*, 166(15): 1607–1615.
- Lichtenthaler, H. K., Langsdorf, G., Lenk, S., Buschmann, C. (2005). Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity with the flash-lamp fluorescence imaging system. *Photosynthetica*, 43(3): 355–369.
- Linnaeus, C. von. (1753). *Species plantarum, vol. 1*. Holmiae [Stockholm]: impensis Laurentii Salvii.
- Lobell, D. B., Schlenker, W., Costa-Roberts, J. (2011). Climate trends and global crop production since 1980. *Science*, 333(6042): 616 – 620.
- Losciale, P., Manfrini, L., Morandi, B., Novak, B., Pierpaoli, E., Zibordi, M., Corelli Grappadelli, L., Anconelli, S., Galli, F. (2014). Water restriction effect on pear rootstocks: photoprotective processes and the possible role of photorespiration in limiting carbon assimilation. *Acta Horticulturae*, 1058, 237–244.
- Madireddi, S. K., Nama, S., Devadasu, E., Subramanyam, R. (2019). Thylakoid membrane dynamics and state transitions in *Chlamydomonas reinhardtii* under elevated temperature. *Photosynthesis Research*, 139(1): 215–226.
- Marin, S. L. D., Gomes, J. A., Salgado, J. S., Martins, D. dos S., Fullin, E. A. (1995). Recomendações para a cultura do mamoeiro dos grupos Solo e Formosa no Estado do Espírito Santo. Vitória: Emcapa, 3, p. 57.
- Marutani, Y., Yamauchi, Y., Kimura, Y., Mizutani, M., Sugimoto, Y. (2012). Damage to photosystem II due to heat stress without light-driven electron flow: involvement of enhanced introduction of reducing power into thylakoid membranes. *Planta*, 236(2): 753–761.
- Mathur, S., Agrawal, D., Jajoo, A. (2014). Photosynthesis: Response to high temperature stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 137, 116–126.
- Mathur, S., Allakhverdiev, S. I., Jajoo, A. (2011). Analysis of high temperature stress on the dynamics of antenna size and reducing side heterogeneity of photosystem II in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1807(1): 22–29.
- Ming, R., Hou, S., Feng, Y., Yu, Q., Dionne-Laporte, A., Saw, J. H., Senin, P., Wang, W., Ly, B. V., Lewis, K. L. T., Salzberg, S. L., Feng, L., Jones, M. R., Skelton, R. L., Murray, J. E., Chen, C., Qian, W., Shen, J., Du, P., Alam, M. (2008). The draft genome of the transgenic tropical fruit tree papaya (*Carica papaya* Linnaeus).

- Nature*, 452(7190): 991–996.
- Ming, R., Moore, P. H. (2013). *Genetics and genomics of papaya*. New York: Springer, 1, p. 438.
- Mohanty, P., Kreslavski, V. D., Klimov, V. V, Los, D. A., Mimuro, M., Carpentier, R., Allakhverdiev, S. I. (2012). Heat stress: susceptibility, recovery and regulation. *In: . Eaton-Rye, J.J., Tripathy, B. C., Sharkey, T. D. (eds.) Photosynthesis: plastid biology, energy conversion and carbon assimilation*, Netherlands: Springer, pp. 251–274.
- Morales, D., Rodriguez, P., Dell'Amico, J., Nicolas, E., Torrecillas, A., Sanchez-Blanco, M. J. (2003). High-temperature preconditioning and thermal shock imposition affects water relations, gas exchange and root hydraulic conductivity in tomato. *Biologia Plantarum*, 46(2): 203–208.
- Morton, J. F. (1987). Papaya. *In: Morton, J. (Ed.) Fruits of Warm Climates*, Miami, 336-346.
- Mullineaux, C. W., Kirchhoff, H. (2009). Role of Lipids in the Dynamics of Thylakoid Membranes. *In: Wada H., Murata N. (eds) Lipids in photosynthesis. Advances in photosynthesis and respiration*. Dordrecht: Springer, 30, pp 283–294.
- Murchie, E. H., Lawson, T. (2013). Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of Experimental Botany*, 64(13): 3983–3998.
- Myers, S. S., Smith, M. R., Guth, S., Golden, C. D., Vaitla, B., Mueller, N. D., Dangour, A. D., Huybers, P. (2017). Climate change and global food systems: potential impacts on food security and undernutrition. *Annual Review of Public Health*, 38(1): 259–277.
- Nath, V., Kumar, G., Pandey, S. D., Pandey, S. (2019). Impact of climate change on tropical fruit production systems and its mitigation strategies. *In: Mahdi S. S. (eds.) Climate change and agriculture in india: impact and adaptation*. Springer, p. 129–146.
- Nievolá, C. C., Carvalho, C. P., Carvalho, V., Rodrigues, E. (2017). Rapid responses of plants to temperature changes. *Temperature*, 4(4): 371–405.
- Niu, Y.; Xiang, Y. (2018). An overview of biomembrane functions in plant responses to high-temperature stress. *Frontiers in Plant Science*, 9: 915.
- Oukarroum, A., Goltsev, V., Strasser, R. J. (2013). Temperature effects on pea plants probed by simultaneous measurements of the kinetics of prompt fluorescence, delayed fluorescence and modulated 820 nm reflection. *Plos One*, 8(3): e59433.
- Oxborough, K. (2004). Imaging of chlorophyll a fluorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. *Journal of Experimental Botany*, 55(400): 1195–1205.
- Pastenes, C., Horton, P. (1996). Effect of high temperature on photosynthesis in beans (II. CO₂ Assimilation and Metabolite Contents). *Plant Physiology*, 112(3): 1253 – 1260.
- Perdomo, J. A., Capó-Bauçà, S., Carmo-Silva, E., Galmés, J. (2017). RuBisCO and

- RuBisCO activase play an important role in the biochemical limitations of photosynthesis in rice, wheat, and maize under high temperature and water deficit. *Frontiers in Plant Science*, 8: 490.
- Porcar-Castell, A., Tyystjärvi, E., Atherton, J., van der Tol, C., Flexas, J., Pfündel, E. E., Moreno, J., Frankenberg, C., Berry, J. A. (2014). Linking chlorophyll a fluorescence to photosynthesis for remote sensing applications: mechanisms and challenges. *Journal of Experimental Botany*, 65(15): 4065–4095.
- Portis, A. R. (2003). RuBisCO activase – RuBisCO's catalytic chaperone. *Photosynthesis Research*, 75(1): 11–27.
- Raza, A., Razzaq, A., Mehmood, S. S., Zou, X., Zhang, X., Lv, Y., Xu, J. (2019). Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plants*, 8(2): 34.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161(11): 1189–1202.
- Redillas, M. C. F. R., Strasser, R. J., Jeong, J. S., Kim, Y. S., Kim, J.-K. (2011). The use of JIP test to evaluate drought-tolerance of transgenic rice overexpressing OsNAC10. *Plant Biotechnology Reports*, 5(2): 169–175.
- Rinderle, U., Lichtenthaler, H. K. (1988). The chlorophyll fluorescence ratio F690/F735 as a possible stress indicator BT. In: Lichtenthaler, H. K. (ed.) *Applications of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research, Stress Physiology, Hydrobiology and Remote Sensing: An introduction to the various fields of applicatio*. Netherlands: Springer, p. 189–196.
- Rodrigues, W. P., Silva, J. R., Ferreira, L. S., Filho, J. A. M., Figueiredo, F. A. M. M. A., Ferraz, T. M., Bernado, W. P., Bezerra, L. B. S., de Abreu, D. P., Cespom, L., Ramalho, J. C., & Campostrini, E. (2018). Stomatal and photochemical limitations of photosynthesis in coffee (*Coffea* spp.) plants subjected to elevated temperatures. *Crop and Pasture Science*, 69(3): 317–325.
- Rodríguez, M., Canales, E., Borrás-Hidalgo, O. (2005). Molecular aspects of abiotic stress in plants. *Bioteconología Aplicada*, 22(1): 1–10.
- Rühle, T., Reiter, B., Leister, D. (2018). Chlorophyll fluorescence video imaging: a versatile tool for identifying factors related to photosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 9: 55.
- Salvucci, M. E., Crafts-Brandner, S. J. (2004). Inhibition of photosynthesis by heat stress: the activation state of RuBisCO as a limiting factor in photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 120(2): 179–186.
- Sánchez-Moreiras, A. M., Graña, E., Reigosa, M. J., Araniti, F. (2020). imaging of chlorophyll a fluorescence in natural compound-induced stress detection. *Frontiers in Plant Science*, 11: 1991.
- Saran, P. L., Solanki, I. S., Choudhary, R. (2016). *Papaya: biology, cultivation, production and uses*. Boca Raton: CRC Press, 1: 286.
- Schrader, S. M., Wise, R. R., Wacholtz, W. F., Ort, D. R., Sharkey, T. D. (2004). Thylakoid membrane responses to moderately high leaf temperature in *Pima*

- cotton. Plant, Cell Environment*, 27(6): 725–735.
- Schreiber, U. (1986). Detection of rapid induction kinetics with a new type of high-frequency modulated chlorophyll fluorometer. *Photosynthesis Research*, 9(1): 261–272.
- Sharkey, T. D. (2005). Effects of moderate heat stress on photosynthesis: importance of thylakoid reactions, RuBisCO deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene. *Plant, Cell Environment*, 28(3): 269–277.
- Sharkey, T. D., Zhang, R. (2010). High temperature effects on electron and proton circuits of photosynthesis. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52(8): 712–722.
- Silvestre, S., de Sousa Araújo, S., Vaz Patto, M. C., Marques da Silva, J. (2014). Performance index: An expeditious tool to screen for improved drought resistance in the *Lathyrus* genus. *Journal of Integrative Plant Biology*, 56(7): 610–621.
- Srivastava, A., Guissé, B., Greppin, H., Strasser, R. J. (1997). Regulation of antenna structure and electron transport in photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1320(1): 95–106.
- Stefanov, D., Petkova, V., Denev, I. D. (2011). Screening for heat tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines and cultivars using JIP-test. *Scientia Horticulturae*, 128(1): 1–6.
- Sthapit, B. R., Ramanatha Rao, V., Sthapit, S. R. (2012). *Tropical fruit tree species and climate change*. New Delhi: Biodiversity International, 142.
- Stirbet, A., Govindjee. (2011). On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 104(1–2): 236–257.
- Storey, W. B. (1941). The botany and sex relationships of the papaya. *Hawaii Agricultural Experiment Station*, 87, 5–23.
- Strasser, B. J. (1997). Donor side capacity of Photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients. *Photosynthesis Research*, 52(2): 147–155.
- Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Srivastava, A. (2004). Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou, G. C., Govindjee (Eds.): *Chlorophyll a fluorescence: A signature of photosynthesis*. Netherlands: Springer, 19: 321–362).
- Strasser, R. J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*, 445–483.
- Strasser, R. J., Srivastava, A. (1995). Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochemistry and photobiology*, 61(1): 32–42.
- Strauss, A. J., Krüger, G. H. J., Strasser, R. J., Heerden, P. D. R. Van. (2006).

- Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. *Environmental and Experimental Botany*, 56(2): 147–157.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., Murphy, A. (2017). Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Porto Alegre: Artmed Editora, 6.ed.: 887.
- Tóth, S. Z., Schansker, G., Garab, G., Strasser, R. J. (2007). Photosynthetic electron transport activity in heat-treated barley leaves: the role of internal alternative electron donors to photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1767(4): 295-305.
- Trige. (2020). Disponível em (<https://www.tridge.com/intelligences/papaya/production>). Acesso em: 20 jan. 2021.
- Tsimilli-Michael, M., Strasser, R. J. (2008). In vivo assessment of stress impact on plant's vitality: applications in detecting and evaluating the beneficial role of mycorrhization on host plants. In: Varma, A. (eds.) *Mycorrhiza*. Heidelberg: Springer, p. 679–703
- Vani, B., Pardha Saradhi, P., Mohanty, P. (2001). Alteration in chloroplast structure and thylakoid membrane composition due to in vivo heat treatment of rice seedlings: correlation with the functional changes. *Journal of Plant Physiology*, 158(5): 583–592.
- Vavilov, N. I., Vavilov, M. I., Vavilov, N. Í., Dorofeev, V. F. (1992). *Origin and geography of cultivated plants*. Cambridge: Cambridge University Press. p. 498.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61(3): 199–223.
- Wang, Q.-L., Chen, J.-H., He, N.-Y., Guo, F.-Q. (2018). Metabolic reprogramming in chloroplasts under heat stress in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (3): 849
- Weng, J.-H., Lai, M.-F. (2005). Estimating heat tolerance among plant species by two chlorophyll fluorescence parameters. *Photosynthetica*, 43(3): 439–444.
- Wise, R. R., Olson, A. J., Schrader, S. M., Sharkey, T. D. (2004). Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature. *Plant, Cell Environment*, 27(6): 717–724.
- Woo, N. S., Badger, M. R., Pogson, B. J. (2008). A rapid, non-invasive procedure for quantitative assessment of drought survival using chlorophyll fluorescence. *Plant Methods*, 4(1): 27.
- Yang, X., Chen, X., Ge, Q., Li, B., Tong, Y., Zhang, A., Li, Z., Kuang, T., Lu, C. (2006). Tolerance of photosynthesis to photoinhibition, high temperature and drought stress in flag leaves of wheat: A comparison between a hybridization line and its parents grown under field conditions. *Plant Science*, 171(3): 389–397.
- Yusuf, M. A., Kumar, D., Rajwanshi, R., Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Govindjee, Sarin, N. B. (2010). Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. *Biochimica et*

Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 1797(8): 1428–1438.

Zhang, D., Zhang, Z., Li, J., Chang, Y., Du, Q., Pan, T. (2015). Regulation of vapor pressure deficit by greenhouse micro-fog systems improved growth and productivity of tomato via enhancing photosynthesis during summer season. *PLOS ONE*, 10(7): e0133919.

Żróbek-Sokolnik, A. (2012). Temperature stress and responses of plants. *In*: Ahmad, P., Prasad, M. (eds.) *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*. New York: Springer, p. 113–134.

Zushi, K., Kajiwara, S., Matsuzoe, N. (2012). Chlorophyll a fluorescence OJIP transient as a tool to characterize and evaluate response to heat and chilling stress in tomato leaf and fruit. *Scientia Horticulturae*, 148: 39–46.