

**LIMITAÇÃO HÍDRICA E SEXAGEM DO MAMOEIRO:  
PROPRIEDADES ESPECTRAIS DA FOLHA, EFICIÊNCIA  
FOTOQUÍMICA E CRESCIMENTO**

**INGRID TRANCOSO DA SILVA**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

**JULHO – 2022**



LIMITAÇÃO HÍDRICA E SEXAGEM DO MAMOEIRO:  
PROPRIEDADES ESPECTRAIS DA FOLHA, EFICIÊNCIA  
FOTOQUÍMICA E CRESCIMENTO

**INGRID TRANCOSO DA SILVA**

“Tese 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 Doutorado em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Eliemar Campostrini

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

JULHO – 2022

**FICHA CATALOGRÁFICA**

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

S586

Silva, Ingrid Trancoso da.

LIMITAÇÃO HÍDRICA E SEXAGEM DO MAMOEIRO : PROPRIEDADES ESPECTRAIS DA FOLHA, EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA E CRESCIMENTO / Ingrid Trancoso da Silva. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

130 f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2023.

Orientador: Eliemar Campostrini.

1. *Carica papaya* L. . 2. Estresse hídrico . 3. Dimorfismo sexual . 4. Ecofisiologia . 5. Ambiente protegido . I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

LIMITAÇÃO HÍDRICA E SEXAGEM DO MAMOEIRO:  
PROPRIEDADES ESPECTRAIS DA FOLHA, EFICIÊNCIA  
FOTOQUÍMICA E CRESCIMENTO

**INGRID TRANCOSO DA SILVA**

“Tese 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 Doutorado em Produção Vegetal”

Aprovada em 28 de julho de 2022.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Elias Fernandes de Sousa (D. Sc., Produção Vegetal) – UENF

---

Dr. José Altino Machado Filho (D. Sc., Produção Vegetal) – INCAPER

---

Prof. Paulo Ricardo dos Santos (D. Sc., Genética e Melhoramento) – IFAP

---

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

*“Força para seguir  
Fé para não esmorecer  
Luz para eu enxergar  
E amor para agradecer”*

*Padrinho Alfredo*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar força, discernimento e sabedoria para lidar com os desafios e por colocar pessoas no meu caminho, que tanto me auxiliaram;

Dedico e agradeço:

Ao meu amor Evandro Rodrigues, pela parceria durante esses 10 anos de companheirismo;

À mãe Elizabeth, por sempre me incentivar a realizar o que move minha alma. À irmã Indra Raquel por vibrar pelas minhas conquistas e tanto me incentivar. Ao irmão Ralph por sua escuta, conselhos e auxílio na publicação do artigo sobre a canábis. À avó Adelaide pelo incentivo ao estudo e pelo amparo amoroso;

À tia Rosângela e ao tio Carlinhos (*in memoriam*) pelo incentivo durante toda a jornada de estudos;

À irmandade da Virgem da Luz, pela força e amparo;

Às amigas Lívia Mayhoffer e Marcelly Marins pela amizade e acolhimento nos momentos em que precisei ir a Campos e por sempre se disponibilizarem a ajudar;

A amiga Lívia Alves pela presença nos momentos de descontração e reflexões;

Ao amigo Pedro pela positividade e incentivo;

Aos queridos amigos da associação Canapse, Cecília Hedin, Renato Filev e João Menezes, pela parceria, aprendizados e sonhos compartilhados;

Ao amigo Dennys Zsolt pela parceria e aprendizados;

Ao professor Eliemar Campostrini pelos aprendizados, incentivo e pela orientação. Que sorte a minha ser orientada por um dos profissionais que mais admiro;

Aos professores do Programa de Produção Vegetal da UENF, em especial as professoras Telma, Virgínia e Deborah e aos professores Messias e Almy pelos aprendizados;

Aos colegas de laboratório, Késia, Rosana, Diesily, Silas, Amanda, Larissa, João e todos os demais que muito contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho;

Um agradecimento especial, ao Guilherme de Souza pela prestatividade e disponibilidade em me auxiliar no experimento, análises e processamento dos dados, e a Lúcia Leite por toda ajuda nas análises fisiológicas;

Ao colega Rafael Almeida pela prestatividade em ensinar e por toda ajuda nas análises estatísticas;

Ao colega Paulo Ricardo por toda ajuda e incentivo;

À banca avaliadora pelas considerações que contribuíram para o enriquecimento do meu trabalho e aprendizado;

À UENF e ao Programa de Produção Vegetal pela oportunidade de aprendizado e à FAPERJ pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1: A REDUÇÃO DA APLICAÇÃO DE ÁGUA EM PLANTAS DE MAMOEIRO '*Golden THB*' REDUZ A EXPANSÃO FOLIAR, SEM AFETAR A MAQUINARIA FOTOQUÍMICA DAS FOLHAS**

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO .....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. Características gerais do mamoeiro .....	13
2.2. Importância econômica e social do mamoeiro .....	15
2.3. Características ecofisiológicas do mamoeiro .....	16
2.4. Efeitos do estresse hídrico no crescimento e na fotossíntese.....	19
2.5. Estresse hídrico e eficiência fotoquímica .....	21
2.6. Demanda hídrica do mamoeiro.....	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	29
3.1. Localização e delineamento experimental.....	29
3.2. Determinação da capacidade de campo do substrato .....	31
3.3. Monitoramento das condições climáticas .....	34
3.4. Análises de crescimento (biometria).....	35
3.5. Determinação do índice de cor verde das folhas (índice SPAD).....	36
3.6. Eficiência do uso da água (EUA) .....	36
3.7. Emissão da fluorescência da clorofila.....	37
3.8. Análise estatística.....	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41

5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	64
<b>CAPÍTULO 2: FENOTIPAGEM DIGITAL ECOFISIOLÓGICA COMO POSSÍVEL FERRAMENTA PARA SEXAGEM DE MUDAS DE MAMOEIRO EM CONDIÇÃO DE ESTRESSE HÍDRICO</b>	
RESUMO.....	74
ABSTRACT .....	76
1. INTRODUÇÃO .....	78
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	80
2.1. A identificação do sexo no mamoeiro.....	80
2.2. Características ecofisiológicas relacionadas ao sexo.....	82
2.3. Análise de Componentes Principais (PCA) e de Coordenadas Principais (PCoA).....	83
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	87
3.1. Localização e delineamento experimental.....	87
3.2. Sexagem molecular.....	89
3.3. Características avaliadas .....	90
3.3.1. Biometria e matéria seca.....	90
3.3.2. Análises fisiológicas.....	91
3.3.3. Condutância estomática .....	91
3.3.4. Índices espectrais associados à refletância foliar .....	92
3.3.5. Fluorescência da clorofila.....	93
3.4. Análise Estatística .....	96
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	98
4.1. Matéria seca e crescimento .....	99
4.2. Índice Spad.....	101
4.3. Índices espectrais associados à reflectância foliar .....	103
4.4. Condutância estomática.....	110
4.5. Fluorescência da clorofila.....	112
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	122
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	125

Trancoso, Ingrid; D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; julho de 2022; Limitação hídrica e sexagem do mamoeiro: propriedades espectrais da folha, eficiência fotoquímica e crescimento. Orientador: Eliemar Campostrini.

**CAPÍTULO 1: A REDUÇÃO DA APLICAÇÃO DE ÁGUA EM PLANTAS DE MAMOEIRO ‘Golden THB’ REDUZ A EXPANSÃO FOLIAR, SEM AFETAR A MAQUINARIA FOTOQUÍMICA DAS FOLHAS.**

## RESUMO

O mamoeiro é uma das frutíferas mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, e se destaca por ter uma elevada importância econômica e social. A limitação hídrica é uma grande restrição global para a produtividade das lavouras, e atualmente é uma problemática na agricultura devido às mudanças climáticas globais. Um déficit hídrico acentuado pode ocasionar redução no crescimento, efeitos negativos no desenvolvimento do mamoeiro e, desta maneira, reduzir intensamente a produtividade. Desta forma, para propor métodos de manejo eficientes e que contribuam para a economia de água, é importante conhecer os efeitos da disponibilidade hídrica do solo sobre as respostas fisiológicas do mamoeiro. Este trabalho teve como objetivo avaliar as respostas relacionadas ao crescimento e a fisiologia da cultivar ‘Golden THB’ sob diferentes níveis de disponibilidade hídrica no substrato. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos corresponderam aos níveis de disponibilidade hídrica de 50, 70, 80 e 100% da capacidade de retenção de água do substrato. As plantas foram cultivadas por 200 dias, desde a data da semeadura. A partir do dia 11/08 até o dia 17/11 (197 DAS), foram realizadas medidas da altura, diâmetro do caule (DC), comprimento da nervura central (CNC), área foliar total (AFT) e número de folhas fixas (NF). O índice SPAD foi determinado a cada dois dias a partir do dia 08/10/20 (157 DAS) até o dia 17/11/20 (197 DAS) durante a expansão foliar (ontogenia foliar). A eficiência do uso da água (EUA) foi calculada com base nas variáveis de crescimento. A emissão da fluorescência emitida pela clorofila foi determinada a

cada dois dias a partir do dia 10/10/20 (159 DAS) até o dia 17/11/20 (197 DAS). Os dados foram submetidos à análise de variância com aplicação do teste Tuckey em 5% de probabilidade para efetuar a comparação entre as médias de tratamentos e foram aplicados modelos de regressões lineares ou polinomiais para determinação dos parâmetros da curva e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Alterações em relação à eficiência fotoquímica somente foram observadas durante a ontogenia foliar, e esta eficiência fotoquímica teve alterações durante o desenvolvimento da folha. Estas alterações fotoquímicas foram fortemente associadas à concentração de clorofilas na folha em expansão. Um dos principais efeitos entre os tratamentos, foi a diferença na EUA com base no incremento da altura, AFT, DC e CNC, por unidade de água aplicada, de forma que o tratamento 50% apresentou maior EUA para todas essas variáveis. As variáveis altura, DC, AFT e NF não foram influenciadas pela restrição hídrica. Apenas o CNC foi impactado negativamente pela limitação hídrica no tratamento de 50% devido aos efeitos hidráulicos, os quais influenciaram o crescimento e a expansão celular. A máquina fotoquímica do genótipo '*Golden THB*' mostrou tolerância ao estresse hídrico aplicado, tendo em vista que não foi observado nenhum efeito nas várias variáveis associadas à eficiência fotoquímica do fotossistema II (PSII), bem como concentração de clorofilas totais na folha.

Trancoso, Ingrid; D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; July 2022; Water limitation and sexing of papaya: leaf spectral properties, photochemical efficiency and growth. Advisor: Eliemar Campostrini.

CHAPTER 1: REDUCED WATER APPLICATION IN 'Golden *THB*' PAPAYA PLANTS REDUCES LEAF EXPANSION WITHOUT AFFECTING LEAF PHOTOCHEMICAL MACHINERY.

## ABSTRACT

Papaya is one of the most cultivated and consumed fruit trees in the tropical and subtropical regions of the world, stands out for its high economic and social importance. Water limitation is a major global constraint for crop productivity, is currently a problem in agriculture due to global climate change. An accentuated water deficit cause a reduction in growth, negative effects on the development of the papaya tree, and, in this way, intensely reduce productivity. Thus, in order to propose efficient management methods that contribute to water savings, it is important to know the effects of soil water availability on the physiological responses of the papaya tree. This work aimed to evaluate the responses related to the growth ecophysiology of the 'Golden *THB*' cultivar under different levels of water availability in the substrate. The experimental design was in randomized blocks with 4 treatments and 6 replications. The treatments corresponded to water availability levels of 50, 70, 80 and 100% of the substrate water retention capacity. The plants were grown for 200 days from the date of sowing. From 8/11 to 11/17 (197 DAS), height, stem diameter (DC), midrib length (CNC), total leaf area (AFT) and number of fixed leaves (NF) were measured. The SPAD index was determined every two days from 08/10/20 (157 DAS) to 17/11/20 (197 DAS) during leaf expansion (leaf ontogeny). The water use efficiency (EUA) was calculated based on the growth variables. The emission of fluorescence emitted by chlorophyll was determined every two days from 10/10/20 (159 DAS) to 11/17/20 (197 DAS). The data were subjected to analysis of variance with the application of the Tuckey test at 5% probability to compare the means of treatments and linear or polynomial regression

models were applied to determine the parameters of the curve and the coefficient of determination ( $R^2$ ). Changes in photochemical efficiency were only observed during leaf ontogeny, and this photochemical efficiency changed during leaf development. These photochemical changes were strongly associated with chlorophyll concentration in the expanding leaf. One of the main effects among treatments was the difference in EUA based on height increment, AFT, DC e CNC, per unit of water applied, so that the 50% treatment had the highest EUA for all these variables. The variables height, DC, AFT e NF were not influenced by water restriction. Only CNC was negatively impacted by water limitation in the 50% treatment due to hydraulic effects, which influenced cell growth expansion. The photochemical machine of the 'Golden *THB*' genotype showed tolerance to the water stress applied, considering that no effect was observed on the various variables associated with the photochemical efficiency of photosystem II (PSII), as well as the concentration of total chlorophylls in the leaf.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamão é considerado uma das frutas mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, o que destaca a importância econômica e social deste fruto. O Brasil é o segundo colocado no *ranking* de produção mundial sendo o terceiro maior exportador (42,67 mil toneladas), pois cerca de 96% da produção nacional é destinada ao consumo interno (Lucena et al., 2021).

A água é o principal recurso que limita a produção de alimentos. Portanto, torna-se essencial o desenvolvimento de novas estratégias de manejo para permitir que as culturas usem esse recurso de maneira mais eficiente. Tendo em vista o atual cenário ambiental, ocasionado pela mudança climática global, o qual pode causar um aumento da escassez de água; em diversas regiões e impactar a produtividade de culturas agrícolas, o incremento na eficiência da irrigação e o uso racional da água vêm sendo objetos de pesquisa em todo o mundo (Azevedo et al., 2006; Anjum et al., 2011; Ahanger et al., 2016; Campostrini et al., 2018; Santos et al., 2021).

Os estudos mostram que o mamoeiro apresenta certa tolerância às condições de escassez hídrica (Marler e Mickelbart, 1998; Mahouachi et al., 2007; Campostrini et al., 2018). No entanto, por apresentar alta demanda de água, os rendimentos da cultura não são satisfatórios sob condições de déficit hídrico prolongado no solo, o que torna obrigatório o uso da irrigação durante períodos de seca (Coelho et al., 2015). Desta forma, os estudos relacionados aos déficits hídricos são de extrema importância, pois esses déficits podem afetar a produtividade e a qualidade do fruto.

O estresse hídrico ocorre quando o volume de água absorvido pelas raízes é menor do que o volume de água transpirado pelas folhas. Quando a limitação hídrica do solo se inicia, primeiramente ocorre limitação do crescimento, e logo em seguida ocorre o fechamento estomático, o que causa de forma sequencial a redução na assimilação do CO<sub>2</sub> (efeitos estomáticos) (Muller et al., 2011; Claeys e Inzé, 2013). Contudo, a medida que o estresse hídrico do solo avança de forma mais acentuada, a limitação hídrica na planta incrementa intensamente ao ponto de iniciar o processo de comprometimento na fase fotoquímica e bioquímica da fotossíntese (Tezara et al., 1999).

A maioria dos estudos dos efeitos do estresse hídrico do solo sobre a fotossíntese do mamoeiro são sobre os efeitos estomáticos na assimilação do CO<sub>2</sub>, poucos são os trabalhos feitos nesta espécie em que se estuda os efeitos da limitação hídrica do solo sobre a maquinaria fotoquímica da planta.

O conhecimento das respostas fisiológicas e do crescimento do mamoeiro submetido aos diferentes níveis de limitação hídrica pode facilitar o desenvolvimento de técnicas de manejos que sejam eficientes e proporcionem maior economia dos recursos hídricos e manutenção/incremento da produtividade. O objetivo deste trabalho foi estudar na variedade '*Golden THB*', os efeitos do déficit hídrico na eficiência fotoquímica em associação às medidas biométricas relacionadas ao crescimento e a eficiência do uso da água (EUA).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Características gerais do mamoeiro

Popularmente conhecida como mamoeiro ou papaya, a espécie *Carica papaya* L. é uma planta frutífera de crescimento rápido, provavelmente nativo da América Central (sul do México e Nicarágua), que raramente ramifica e tem uma fase juvenil curta (3 a 8 meses) (Campostrini et al., 2018). As plantas desta espécie são consideradas perenes e herbáceas de grande porte, mas a estatura não é típica de uma planta herbácea. Alguns autores consideram o mamoeiro uma herbácea gigante, uma vez que pode alcançar até 9 m (Campostrini e Glenn, 2007).

O mamoeiro apresenta característica de uma planta herbácea perene gigante, mas por apresentar um genoma relativamente pequeno é frequentemente considerado uma planta semi-lenhosa, ou seja, uma posição intermediária entre uma planta herbácea e uma árvore (Ming et al., 2008; Jiménez et al., 2014). Esta posição intermediária ainda está associada ao tamanho e lignificação celular, ao consumo de carboidratos, às respostas ao fotoperíodo, e à produção de metabólitos secundários. De acordo com Ming et al. (2007), nesta espécie, o número de genes envolvidos na síntese de lignina está em um número intermediário entre o *Populus* sp. e a *Arabidopsis thaliana*, o que pode considerar que a cultura está evoluindo de uma planta herbácea para uma planta lenhosa.

Esta espécie é amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo (Kim et al., 2002; Fuentes e Santamaría, 2014), o que dificulta a determinação precisa do centro de origem (Fuentes e Santamaría, 2014). O Noroeste da América do Sul - vertente oriental dos Andes, mais precisamente a

Bacia Amazônica Superior - onde a diversidade genética do mamoeiro é ampla, é considerado um possível centro de origem desta espécie (Dantas e Lima, 2000).

O mamoeiro é cultivado comercialmente em mais de 60 países. A produção se concentra entre as latitudes 21° Norte e 21° Sul, (Marin et al., 1995), mas a espécie também é encontrada entre 30° Norte e 40° Sul, sendo a produção comercial inserida em uma região circunferencial ao redor do equador (Mitra et al., 2019). A cultura desenvolve-se de forma satisfatória, em locais com temperatura média anual de 25 °C, com limites entre 21 °C e 33 °C, e chuvas de 1500 mm por ano bem distribuídas (Serrano e Cattaneo, 2010). As temperaturas ideais do ar para o crescimento e produção de frutos estão na faixa de 25–30 °C (dia) e 11–16 °C (noite) (Carr, 2014).

Entre quatro e seis meses após o transplante, ocorre a floração, e a colheita dos frutos é realizada após um ano. As altas safras são observadas por cerca de dois anos (em até 100 frutos árvore<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>), uma vez que a floração e o lançamento de folhas são contínuos ao longo do ano (Carr, 2014). A densidade de plantio está numa faixa de 1000 - 3000 plantas ha<sup>-1</sup>, e pode variar de acordo com a cultivar, o tipo de solo, e a condição de cultivo (em condição de campo ou cultivo protegido). O mamoeiro tem produção contínua de frutos, e os plantios são renovados, em média, a cada três anos. Após este período, podem haver complicações no manejo devido à elevada altura da planta, bem como podem ocorrer, de forma intensa, ataques de pragas e doenças. Devido à altura das plantas, o controle de pragas e doenças torna-se difícil, o que pode contribuir para a redução acentuada da produtividade (Cruz, 2021).

O mamoeiro, por ser uma espécie de polinização cruzada e ter propagação por sementes, possui alto grau de variabilidade, com variação fenotípica considerável para muitas características morfológicas e hortícolas, como exemplo no tamanho e formato do fruto, cor da polpa, sabor e concentração de açúcar, duração do período juvenil, estatura da planta, carpeloidia e aborto do carpelo (Kim et al., 2002; Pérez et al., 2007; Oliveira et al., 2010). A seleção realizada com variedades nativas de cada local e com acessos mais recentes resultou em uma grande variação no tamanho, forma, sabor do fruto (Mitra et al., 2019). Segundo Mitra et al. (2019), estima-se que há mais de 300 cultivares de mamão disponíveis em todo o mundo, mas apenas cerca de 20 cultivares estão no comércio internacional.

No Brasil, e em condições de cultivo comercial do mamoeiro, são utilizadas cultivares que podem ser enquadradas em dois grupos, o grupo Solo e o grupo Formosa (Silva et al., 2008). As principais características do grupo Formosa são a origem a partir de materiais híbridos, bem como os frutos apresentam tamanho médio, peso de aproximadamente 1 kg, com polpa avermelhada, e destinados principalmente ao mercado interno. O grupo Solo é formado por cultivares (como exemplo a *Sunrise Solo* e a *Golden*) que são oriundas de linhagens puras. Essas cultivares apresentam uniformidade genética, frutos de polpa avermelhada, com tamanho inferior, e peso de 400 a 500g, os quais são consumidos pelo mercado interno e são, preferencialmente, destinados à exportação (Pereira et al., 2009).

As variedades do grupo Solo de maior interesse comercial são a '*Sunrise Solo*', o '*Golden*' e o '*Golden THB*' (Pereira et al., 2009; Serrano e Cattaneo, 2010). A cultivar '*Golden THB*' é caracterizada por apresentar grande uniformidade de plantio, plantas vigorosas e alta produtividade, sendo a produção destinada principalmente para o mercado externo (Serrano e Cattaneo 2010; Oliveira et al., 2019).

## 2.2. Importância econômica e social do mamoeiro

Em 2019, os países com maior produção em milhões de toneladas, foram Índia (6,05), República Dominicana (1,17), Brasil (1,16) e México (1,08) (Tridge, 2019). A produção mundial de mamão corresponde cerca de 13 milhões de toneladas e representa 1,4% da produção mundial de frutas tropicais (Lucena et al., 2021).

O Brasil disputa o segundo colocado no *ranking* de produção mundial, com cerca de 12% da produção total. Contudo, por ter um grande consumo interno, é considerado o terceiro maior exportador (Tridge, 2019; Lucena et al. 2021). O estado do Espírito Santo apresentou maior produção de mamoeiro no ano de 2021 correspondendo a uma produção média anual de 439 toneladas, seguido dos estados da Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte (EMBRAPA, 2020).

Durante um período de 12 meses, a produtividade varia de 130 a 180 kg planta<sup>-1</sup> (Crane, 2019). Os mamoeiros cultivados em estufa apresentam melhor desenvolvimento e frutificação do que os cultivados no campo, devido à temperatura adequada (dependendo das condições ambientais do local de cultivo), proteção contra o vento e exclusão do vírus do mosaico (Rezende e Costa, 1995).

Nas Ilhas Canárias, e ao longo do ano em cultivos protegidos, foram relatados rendimentos anuais de  $80 \text{ t ha}^{-1}$ , com conteúdo de sólidos solúveis totais nos frutos em mais de 11° Brix (Pastor, 2002). Em 2019, a produção brasileira de mamão atingiu uma média de  $42 \text{ t ha}^{-1}$ , variando de  $7,6 \text{ t ha}^{-1}$  no estado do Amapá a  $59,6 \text{ t ha}^{-1}$  no estado do Ceará (EMBRAPA, 2020).

O mamoeiro é considerado uma das plantas frutíferas mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Serrano e Cattaneo, 2010), o que destaca a importância econômica desta espécie. Além da grande importância econômica, deve ser ressaltado o aspecto social, como gerador de emprego e renda devido à necessidade de mão de obra durante todo o ano para aplicação do manejo, tratamentos culturais, colheita e comercialização, efetuadas de maneira contínua nas lavouras de mamoeiro.

Os frutos do mamoeiro (mamão), amplamente consumidos *in natura*, são fontes de cálcio, pró-vitamina A e vitamina C (ácido ascórbico) (Serrano e Cattaneo, 2010). Os frutos maduros também são utilizados no preparo de bebidas, geleias e outros produtos industrializados (Carr, 2014). Além do cultivo para produção de frutos, o mamoeiro também é cultivado para produção de papaína e quimopapaína, duas enzimas proteolíticas industrialmente importantes, encontradas no látex branco leitoso que é exsudado na epiderme dos frutos. O látex é utilizado como amaciante de carne, no tratamento de feridas gangrenadas ou queimaduras, na indústria cervejeira (clarificação da cerveja), de couros, e em produtos cosméticos (Silva et al., 2007).

### 2.3. Características ecofisiológicas do mamoeiro

O mamoeiro possui características metabólicas e anatômicas que conferem a planta ter o metabolismo do tipo C3 (Campostrini et al., 2018). Segundo os autores, essa classificação é baseada na anatomia da folha (ausência de células da bainha do feixe), na taxa fotossintética líquida em luz saturada ( $\approx 25 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  em  $2.000 \mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), e no valor de discriminação isotópica de carbono ( $-27,5\text{‰}$ ).

Em plantas cultivadas em condição de campo, e em  $2000 \mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  usando luz natural, as folhas do mamoeiro tiveram a taxa de assimilação do  $\text{CO}_2$  (fotossíntese atual) máxima próxima de  $28 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  a  $30 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Contudo, em plantas cultivadas em condição de casa de vegetação e em  $2000$

$\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  usando fonte de luz artificial em condição de laboratório, a taxa fotossintética potencial foi de  $12 \mu\text{mol O}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (fotossíntese potencial). Em déficits de pressão de vapor entre a folha e ar ( $\text{DPV}_{\text{folha-ar}}$ ) de 6 a 7 kPa, mesmo quando a planta está sob disponibilidade hídrica no solo, a fotossíntese potencial pode chegar a próximo de zero devido aos efeitos estomáticos do ar seco sobre as células guardas do estômato (Campostrini e Glenn, 2007). Nessas condições, o fechamento estomático também pode estar associado a menor capacidade das raízes (resistência hidráulica) em manter um volume de água necessário para suprir a demanda hídrica devido à elevada transpiração na condição de elevado  $\text{DPV}_{\text{ar}}$ .

Uma planta de mamoeiro pode apresentar até  $20 \text{m}^2$  de área foliar (Cabrera et al., 2021) e densidade estomática foliar em torno de 300/400 estômatos  $\text{mm}^{-2}$  (Jiménez et al., 2014; Paixão et al., 2019). Estas características podem favorecer o maior consumo de água pela planta, tanto para manutenção da turgescência celular, sustentação, absorção de nutrientes minerais e otimização das trocas gasosas, quanto para ganhos na produtividade decorrentes do incremento na taxa fotossintética líquida. Quando o mamoeiro é submetido a um severo estresse hídrico, a área foliar diminui, os frutos diminuem de tamanho e os novos entrenós das flores tornam-se curtos (Carr, 2014).

O mamoeiro pode ser considerado tolerante à seca (Marler e Mickelbart, 1998; Mahouachi et al., 2007; Campostrini et al., 2018). No entanto, em condições de limitação prolongada de água no solo tem-se dano severo (Campostrini et al., 2018), e a irrigação torna-se essencial para a elevação da assimilação fotossintética do carbono, incremento do crescimento da planta e aumento da produtividade. Tendo em vista que é uma espécie herbácea gigante, o mamoeiro demanda a manutenção da disponibilidade de água adequada para manter a rigidez do caule e aumentar a produtividade (Kempe et al., 2013; Lima et al., 2015). De acordo com Marler et al. (1994) a tolerância do mamoeiro está associada à capacidade dessa espécie de retardar a desidratação por meio da manutenção de alto teor de água nas folhas, a qual é associada a um fechamento estomático rápido (Clemente e Marler, 1996). Também tem sido demonstrado que a capacidade do mamoeiro em acumular íons ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) e aminoácidos (prolina) (ajustamento osmótico) contribui para a redução do efeito negativo do déficit hídrico (Mahouachi et al., 2006; Cruz, 2021).

Com relação ao movimento de água na planta do mamoeiro, e dependendo das condições microclimáticas, idade da planta e da disponibilidade hídrica do solo,

as taxas máximas de fluxo de seiva no xilema (*Thermal Dissipation Probe*, TDP) estão em torno de 0,6 a 0,8 L H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, e as taxas de transpiração instantâneas medidas por meio do analisador de gás a infravermelho (IRGA) são de aproximadamente 25 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Reis et al., 2006). Em geral, 1 m<sup>2</sup> de folha pode transpirar mais do que 1 L de água diariamente, mas pode aumentar ou cessar com o aumento da demanda evaporativa do ar (Campostrini et al., 2018). No verão, e em condições de campo, uma planta de mamoeiro com 35 folhas, equivalente a aproximadamente 3,5 – 4 m<sup>2</sup> de área foliar pode fixar cerca de 70 g de CO<sub>2</sub> e transpirar cerca de 10 litros de água por dia (Ferraz et al., 2016). Nesta espécie, com base nos relatos supra-citados, a eficiência média instantânea do uso da água foi próxima a 150 g de água transpirada para cada grama de CO<sub>2</sub> assimilado (Carr, 2014).

A condutância estomática no mamoeiro diminui em 47% quando o DPV aumenta de 1/1,5 kPa para 3,5/4,5 kPa, enfatizando a sensibilidade desta cultura ao DPV do ar em torno da folha (Carr, 2014; Campostrini et al., 2018). Com o incremento no valor do DPV<sub>ar</sub>, há uma redução semelhante na taxa fotossintética. Este valor se compara com a redução de 85% na condutância para a mandioca, uma planta muito sensível, e 30% para o milho, que é menos sensível (El-Sharkawy et al., 1985; Carr, 2014). Em mamoeiro, tanto em condições de adequada disponibilidade hídrica, quanto em condições de limitações hídricas do solo, tem-se uma correlação negativa entre o DPV<sub>ar-folha</sub> e a condutância estomática, transpiração, e a taxa fotossintética (Lima et al., 2015). As técnicas de irrigação PDR (secagem parcial do sistema radicular) e déficit hídrico regulado (RDI) podem elevar a sensibilidade dos estômatos ao DPV<sub>ar</sub> (Lima, 2014).

De acordo com o ambiente, as cultivares podem apresentar diferenças nas respostas fisiológicas. Por exemplo, na comparação da condutância estomática (g<sub>s</sub>) de cinco genótipos, a cultivar '*Golden*', durante o meio do dia, teve a condutância estomática (e taxas de transpiração) superiores aos outros quatro genótipos. No entanto, ao longo do período de 12 semanas de medições, as taxas fotossintéticas foram semelhantes para todos os cinco genótipos estudados (Torres-Netto et al., 2009). Uma vez que este genótipo '*Golden*' tem uma importância no cenário de plantio comercial da espécie no Brasil, estudar os efeitos da limitação hídrica do solo sobre o processo fotoquímico é de grande importância. Esse processo é fundamental para o fornecimento de ATP e NADPH ao ciclo de Calvin-Benson, ciclo esse crucial para o processo de assimilação de CO<sub>2</sub> por meio da enzima Rubisco.

#### 2.4. Efeitos do estresse hídrico no crescimento e na fotossíntese

O estresse hídrico altera substancialmente o metabolismo, diminuindo o crescimento da planta e a fotossíntese devido aos dois fatores relacionados à restrição na difusão de CO<sub>2</sub> na folha, causada por fechamento estomático e a inibição do metabolismo de CO<sub>2</sub> (Tezara et al., 1999). No entanto, o crescimento é muito mais sensível à limitação hídrica do que a fotossíntese, tendo em vista que os carboidratos frequentemente se acumulam em plantas com baixa disponibilidade hídrica, o que mostra que a redução do crescimento não é consequência do déficit de carbono (Claeys e Inzé, 2013). O impacto no crescimento está relacionado à diminuição de expansão e divisão celular (Skirycz e Inzé, 2010) pois a expansão celular é essencialmente regulada por uma combinação de absorção de água e expansão do vacúolo por meio da pressão de turgescência (Lawlor, 1995; Claeys e Inzé, 2013). No mamoeiro, a redução na condutância estomática nos estágios iniciais do estresse hídrico inibe a taxa de transpiração (E), mais do que reduz a fotossíntese (A), devido à relação não linear entre A e g<sub>s</sub> (Morison et al., 2008; Lima, 2014; Santos et al., 2021).

O estresse hídrico ocorre quando a taxa de absorção de água pelas raízes é menor do que a taxa de água transpirada pelas folhas (Tezara et al., 1999), pois as plantas, ao absorverem CO<sub>2</sub>, inevitavelmente perdem água através dos estômatos por meio da transpiração. A diminuição da atividade fotossintética ocasionada pelo estresse hídrico pode ocorrer devido aos mecanismos estomáticos ou não-estomáticos (Anjum et al., 2011).

Os mecanismos não-estomáticos estão relacionados às perturbações nos processos fotoquímicos (redução no transporte de elétrons e na formação de ATP e NADPH) e nos processos bioquímicos (redução na eficiência carboxilativa e/ou na quantidade e atividade da Rubisco e de outras enzimas do metabolismo fotossintético, principalmente as enzimas associadas ao ciclo de Calvin-Benson) (Kanechi et al., 1996; Lu e Zhang, 1999; Torres-Netto, 2005). Estes efeitos não-estomáticos incluem as mudanças na síntese da clorofila, mudanças funcionais e estruturais nos cloroplastos e distúrbios nos processos de acumulação, transporte e distribuição de carboidratos. Os mecanismos estomáticos estão relacionados à menor disponibilidade de CO<sub>2</sub> nos espaços intercelulares, reduzindo a assimilação de CO<sub>2</sub> nos cloroplastos (Lawlor, 1995; Tezara et al., 1999).

Desta forma, a diminuição da taxa fotossintética sob limitação hídrica pode ocorrer devido à difusão limitada de CO<sub>2</sub> nos espaços intercelulares das folhas, como consequência da redução da condutância estomática, e pelo comprometimento do metabolismo pela inibição direta de processos bioquímicos causado por condições iônicas, osmóticas ou outras induzidas pela desidratação celular (Lawlor, 1995).

Em condições de estresse hídrico, o ácido abscísico, principal hormônio que controla o fechamento estomático e, conseqüentemente, a perda de água na planta, é transportado através da corrente transpiratória entre a raiz e as folhas, causando mudanças metabólicas associadas à bioenergética celular (formação do gradiente de prótons), o que resulta na inibição da abertura estomática por promover o efluxo de íons K<sup>+</sup> das células guarda, com redução significativa na perda da pressão de turgor, o que causa o fechamento dos estômatos (Netting, 2000; Mahouachi et al., 2007).

O estresse hídrico pode prejudicar severamente as características relacionadas às trocas gasosas e, conseqüentemente, causar a diminuição na expansão foliar, comprometer a maquinaria fotoquímica, acelerar a senescência foliar, causar oxidação dos lipídios do cloroplasto e mudanças na estrutura dos pigmentos e proteínas (Anjum et al., 2011).

Os estômatos possuem mecanismos para controlar a intensidade de abertura, e esse controle na saída de água e na entrada de CO<sub>2</sub> é atribuído à condutância estomática foliar, que é frequentemente utilizado como indicador da deficiência hídrica. Dessa forma, para evitar a desidratação em condições de limitação hídrica, os estômatos localizados na superfície da folha se fecham progressivamente diminuindo a condutância estomática e, assim, reduzindo a transpiração e a velocidade na progressão dos efeitos fisiológicos do estresse hídrico (Tezara et al., 1999). O fechamento estomático, além de diminuir a perda de água, dificulta a entrada de CO<sub>2</sub> até o sítio de carboxilação, reduzindo o processo de assimilação do CO<sub>2</sub> (Campostrini e Glenn, 2007; Anjum et al., 2011).

Em plantas de mamoeiro '*GreGolden*' cultivadas em vasos de 30 L, com 103 dias de idade, o aumento da tensão hídrica do solo de 10 para 50 kPa causou redução de 85% em g<sub>s</sub> (de 0.7 para 0.1 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e de 66% na taxa fotossintética (de 18 para 6 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) (Lima, 2014; Lima et al., 2015; Campostrini et al., 2018). Ruas et al. (2022) observaram uma tendência similar na transpiração e na condutância estomática em dois genótipos de mamoeiro sob diferentes níveis de

disponibilidade hídrica do solo. Com a limitação hídrica do solo, os autores observaram uma diminuição próxima a 62% na taxa de transpiração para ambos os genótipos e queda na taxa fotossintética em 63 e 56% para os genótipos 'Aliança' e 'Golden', respectivamente (Ruas et al., 2022).

A baixa assimilação fotossintética de CO<sub>2</sub> em plantas sob estresse hídrico pode ser causada pelos efeitos não-estomáticos associados à inibição do ciclo de Calvin-Benson (Tezara et al., 1999). A deficiência de CO<sub>2</sub>, ATP ou RuBP, assim como a inibição da Rubisco, pode comprometer o Ciclo de Calvin e o acúmulo do primeiro acceptor dos elétrons fotossintéticos, o NADPH (Haupt-Herting e Fock, 2000; Torres-Netto, 2005). O desempenho adequado da maquinaria fotossintética depende da atividade do PSII, que pode ser avaliada através da análise da emissão de fluorescência da clorofila *a*. A ótima atividade e estrutura do PSII permitem o fornecimento adequado de ATP e NADPH, que são fundamentais para o funcionamento do ciclo de Calvin-Benson (Lawlor, 1995). Desta maneira, para o mamoeiro, estudar os efeitos da limitação hídrica do solo sobre a maquinaria fotoquímica é de grande importância, uma vez que poucos estudos têm sido feitos relacionados ao tema.

## 2.5. Estresse hídrico e eficiência fotoquímica

Em condição de estresse hídrico severo, o consumo de ATP e NADPH é reduzido devido à menor difusão de CO<sub>2</sub> do ar para os locais de carboxilação, ocasionado pelo fechamento estomático. A energia absorvida dos fótons que chega aos fotossistemas I e II (PSI e PSII) não pode ser utilizada na redução de carbono devido à restrição de CO<sub>2</sub> ocasionada pelo fechamento estomático. Nessas condições, podem ocorrer danos no centro de reação do PSII pelo excesso de energia, uma vez que a limitação no gasto de ATP e NADPH pelo ciclo de Calvin-Benson, reduz acentuadamente a transferência de elétrons (Havaux, 1992; Stefanov e Terashima, 2008; Liang et al., 2020). Nesta condição, embora a planta apresente mecanismo para consumir os elétrons deste estado redutor intenso (sistemas muito excitados) [como por exemplo: elevação na taxa de fotorespiração em plantas C<sub>3</sub>; incremento nas atividades dos processos relacionados ao *quenching* não fotoquímico; e fotofosforilação cíclica (Lima et al., 2015)], nem sempre estes mecanismos conseguem neutralizar o comprometimento do estresse

hídrico severo sobre a maquinaria fotoquímica. Este comprometimento se caracteriza principalmente pela fotoinibição do PSII (Lima et al., 2015).

Os efeitos do estresse hídrico severo sobre a atividade do PSII estão relacionados ao comprometimento do desempenho adequado da cadeia transportadora de elétrons podendo ser resultante da diminuição da atividade da Rubisco / regeneração da RuBP e da produção de ATP (devido à inibição da ATP<sub>sintase</sub>) (Gunasekera e Berkowitz, 1993; Tezara et al., 1999; Maroco et al., 2002; Dias e Brüggemann, 2010) e/ou devido aos danos (ou inibição) provocados no complexo de evolução de oxigênio (Wang et al., 2012). No entanto, esse comprometimento na fase fotoquímica pode estar relacionado ao bloqueio da atividade de outras enzimas, como a G3PDH (enzima que participa na fase de redução do ciclo de Calvin) e a Ru5PK (enzima chave na fase de regeneração do ciclo de Calvin) (Dias e Brüggemann, 2010).

A excitação das moléculas de clorofila do PSII e PSI e a diminuição na oxidação de NADPH causado pelo estresse hídrico podem aumentar a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), devido a um maior fluxo de elétrons direcionados para o O<sub>2</sub> por meio da reação de Mehler (Carvalho, 2008). A formação de EROs é de fato favorável à cadeia transportada de elétrons, pois equilibra os transportadores de elétrons, tornando-os mais eficientes. No entanto, a alta produção de EROs (como em condições de estresse hídrico severo) pode provocar reações deletérias que danificam as membranas dos tilacoides e o aparelho fotossintético devido ao potencial oxidante dessas moléculas (Carvalho, 2008).

As plantas possuem outros mecanismos de dissipação de energia durante a transferência de elétrons fotossintéticos que previnem a alta formação de EROs. A energia luminosa absorvida pelos cloroplastos é dissipada através de três processos relacionados: transporte fotossintético de elétrons (*quenching* fotoquímico), fluorescência da clorofila, e dissipação de calor (*quenching* não fotoquímico) (Baker, 2008). De forma geral, o estresse hídrico tende a ocasionar diminuição da eficiência do PSII, e aumento nos valores representativos do *quenching* não fotoquímico (Lawlor, 1995; Liang et al., 2020; Shin et al., 2021). Os mecanismos de dissipação de energia têm um papel importante na tolerância de plantas às condições de limitação hídrica (Flexas et al., 2016; Liang et al., 2020).

Em condições de estresse hídrico, a energia utilizada no evento fotoquímico diminui, devido à interferência causada na cadeia transportadora de elétrons. A redução na dissipação de energia pelo processo fotoquímico,

corresponde a um incremento na dissipação da energia por calor e fluorescência. Por isso, a fluorescência da clorofila *a* é uma variável muito utilizada na avaliação do desempenho do processo fotoquímico que fornece informações avançadas sobre a inibição ou os danos causados na transferência de elétrons (Maxwell e Johnson, 2000; Baker, 2008).

Geralmente, a quantidade de energia que chega ao PSII que causa redução da  $Q_A$  (avaliada por meio da relação  $F_v/F_m$ ) se mantém estável nas mudanças iniciais da fotossíntese provocada pelo estresse hídrico. Há relatos de que os processos primários da fase fotoquímica são bastante resistentes aos déficits hídricos leves (Lawlor; 1995; Živčák et al., 2008).

Na cultura do tomate, o aumento da severidade do estresse hídrico causou alteração em variáveis da fluorescência da clorofila *a*, como aumento do *quenching* não fotoquímico (NPQ) e diminuição do rendimento quântico máximo do PSII ( $F_v/F_m$ ) e do rendimento quântico efetivo do PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) (Liang et al., 2020). Apesar da taxa de redução da  $Q_A$  ter diminuído significativamente com o aumento do estresse hídrico, o valor da relação  $F_v/F_m$ , se manteve na faixa considerada adequada (0,75 a 0,85). No entanto, à medida que o estresse progrediu até o estresse hídrico mais severo, o  $\Phi_{PSII}$  diminuiu significativamente. Em plantas sob estresse hídrico, a diminuição do valor do  $\Phi_{PSII}$  está associado ao estado altamente reduzido do primeiro acceptor de elétrons (o *pool* de  $Q_A$ ) (Maroco et al., 2002).

Shin et al. (2021) avaliaram a resposta de mudas de alface submetidas à limitação hídrica durante oito dias e observaram estabilidade das variáveis  $F_v/F_m$  e Rfd [indicador da vitalidade e da taxa fotossintética da planta, (Haitz e Lichtenthaler, 1988) até o 6º dia, mas a partir do 8º dia essas variáveis diminuíram drasticamente.

Wang et al. (2012) avaliaram o efeito do estresse hídrico em duas variedades de uva e observaram estabilidade do valor de  $F_v/F_m$  sob condições de estresse hídrico leve, mas com o aumento da severidade do estresse essa variável diminuiu. De acordo com os autores, o estresse hídrico leve e moderado tem relativamente pouco efeito no parâmetro  $F_v/F_m$ . Contudo, o índice de desempenho ( $PI_{ABS}$ ) se mostrou mais sensível em diferentes níveis de limitação hídrica, como também observado por Živčák et al. (2008) na cultura do trigo.

Maroco et al. (2002) observaram redução do  $\Phi_{PSII}$  em videiras sob estresse hídrico, e estimaram uma redução de 37% na atividade da Rubisco e 32% na capacidade de regeneração da RuBP, quando as videiras foram submetidas ao

estresse comparadas às plantas controle, o que pode ter contribuído no comprometimento da etapa fotoquímica.

Em relação à cultura do mamoeiro, e em plantas submetidas ao estresse hídrico, Ruas et al. (2022) e Marler e Mickelbart (1998) observaram estabilidade da maquinaria fotossintética quando avaliada por meio da fluorescência da clorofila *a*. No entanto, a assimilação do CO<sub>2</sub> diminuiu consideravelmente em relação às plantas controle. De acordo com Ruas et al. (2022), a menor taxa fotossintética está relacionada à menor condutância estomática, comprovada pela diminuição da razão C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub>. Lima et al. (2015) não observaram variação nos parâmetros relacionados à fluorescência da clorofila em mamoeiro da variedade '*GreGolden*' cultivada sob condições de restrição hídrica, de forma que a maquinaria fotoquímica mostrou certa tolerância ao estresse hídrico (Lima et al., 2015). Contudo, estes trabalhos não exploraram a maquinaria fotoquímica de forma mais avançada, em condição de controle hídrico do solo.

Sob condição de limitação hídrica do solo, torna-se importante considerar as variáveis ambientais, como por exemplo, a intensidade luminosa e o déficit de pressão de vapor, pois como a fotossíntese e a capacidade fotossintética são progressivamente reduzidas sob condições de limitação hídrica, conseqüentemente a intensidade luminosa necessária para saturar a assimilação do CO<sub>2</sub> diminui. Nessas condições, as plantas não são capazes de direcionar todo o excesso de energia luminosa para fotossíntese, aumentando a suscetibilidade das plantas à fotoinibição (Flexas e Medrano, 2002; Dias e Brüggemann, 2010). Como observado por Marler e Mickelbart (1998), o ponto de saturação de luz da assimilação de CO<sub>2</sub> diminui consideravelmente em condições de limitação hídrica, diminuindo assim o potencial máximo das folhas de mamoeiro em utilizar a luz para assimilação de carbono.

O déficit hídrico do solo associado ao elevado DPV<sub>ar</sub> pode contribuir em maior intensidade para a redução da condutância estomática que, por sua vez, diminui o suprimento de CO<sub>2</sub> para os sítios de carboxilação da Rubisco e ocasiona queda na taxa fotossintética (Lima et al., 2015). Ou seja, o DPV<sub>ar</sub> elevado (limitação de água no ar), pode tornar a planta de mamoeiro mais sensível à limitação de água no solo.

As alterações bioquímicas que o déficit hídrico causa na etapa fotoquímica depende da espécie, do estágio de desenvolvimento, do nível de estresse que a planta é submetida e das condições ambientais. Em condições de estresse

considerado leve a moderado, a maquinaria fotoquímica tende a se manter estável, no entanto, em condições de estresse severo, pode desencadear respostas que comprometem o desempenho adequado das reações fotoquímicas. De acordo com os resultados observados na literatura, os efeitos da disponibilidade de água no solo sobre o processo fisiológico podem ser exacerbados pelo estresse hídrico prolongado. Desta maneira, conhecer as respostas da maquinaria fotoquímica do mamoeiro cultivado sob diferentes níveis de disponibilidade hídrica pode ser de grande importância na estratégia de manejo da irrigação da espécie.

## 2.6. Demanda hídrica do mamoeiro

A irrigação controlada é realizada na grande maioria dos pomares comerciais de mamoeiro, inclusive em regiões em que chove regularmente, sendo um claro indicativo da susceptibilidade do potencial produtivo dessa cultura ao déficit hídrico (Cruz, 2021). O mamoeiro, durante o estágio inicial de crescimento, entre 7 a 11 semanas após o transplante, é extremamente sensível ao déficit hídrico do solo, mas na fase adulta apresenta maior tolerância (Cruz, 2021). No entanto, dependendo do genótipo, a capacidade máxima produtiva pode ser impactada (Ruas et al., 2022).

Um déficit hídrico acentuado pode ocasionar atraso no desenvolvimento do mamoeiro, reduzir a taxa de crescimento do caule e das folhas, estimular a produção de flores estéreis (Posse et al., 2009). Ainda, um estresse hídrico severo pode causar a perda de flores, folhas e frutos jovens, bem como a produção de frutos pequenos, e com reduzido teor de açúcar (Anjum et al., 2011; Crane, 2019). Posse et al. (2009) observaram que uma redução de 33% da disponibilidade hídrica para o mamoeiro 'UENF / Caliman 01' cultivado em condição de campo causou diminuição média de 51% na produtividade comercial. O maior período de secagem do solo em níveis de água disponível abaixo de 50% influenciou na absorção de água necessária ao crescimento adequado da cultura para a manutenção da produtividade (Posse et al., 2009).

Em condições em que a disponibilidade de água no solo não assume um papel limitante no crescimento e desenvolvimento vegetal, a planta pode apresentar baixa eficiência do uso da água (EUA), uma vez que muita água é transpirada. Entretanto, sob condições de baixa disponibilidade hídrica, é essencial que as plantas se tornem o mais eficiente possível no consumo de água. As variáveis

relacionadas à EUA são frequentemente utilizadas como determinantes para delinear o desempenho das culturas agrícolas em condições de estresse hídrico. Desta forma, técnicas de manejo que resultam no aumento da eficiência intrínseca ou instantânea do uso da água são quase sempre consideradas superiores, pois reduzem a água consumida em relação à quantidade de CO<sub>2</sub> assimilado (Santos et al., 2021). No entanto, é importante levar em consideração o impacto dessas técnicas na produtividade final da cultura.

A limitação de água é uma grande restrição global para a produtividade das plantas, que provavelmente será exacerbada pelas mudanças climáticas (Flexas et al., 2016). De acordo com o IPCC (2021), há previsão de que com o aumento da temperatura em 1,5 °C, devido ao aquecimento global, as secas agrícolas sejam mais frequentes e/ou graves em algumas regiões em todos os continentes (IPCC, 2021). Segundo Zhao et al. (2017), a cada 1°C de elevação na temperatura supra-ótima, pode-se ter uma redução em cerca de 3 a 7% na produtividade das culturas de interesse agrônômico. Sendo assim, melhorar a EUA na planta tornou-se uma das principais metas para a agricultura, de forma a manter a produtividade das culturas e a manutenção dos recursos hídricos.

A eficiência do uso da água (EUA) é um conceito amplo e pode representar a medida da quantidade de biomassa produzida ou a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> por unidade de água usada por uma planta, ou transpiração/condutância estomática, o que mostra uma relação entre a produtividade da planta e o uso da água (Hatfield e Dold, 2019). Essa variável é frequentemente utilizada como determinante para delinear o desempenho das culturas agrícolas em condições de estresse hídrico. Em condições onde a disponibilidade de água no solo não é limitante, os genótipos com reduzidos valores da EUA ( $A/T$  ou  $A/g_s$ ), por meio da elevação da transpiração ( $T$ ) ( $A/T$ ) e da condutância estomática ( $g_s$ ) ( $A/g_s$ ), podem ter maior produtividade. Entretanto, sob condições de baixa disponibilidade hídrica no solo, os genótipos com elevados valores de EUA, por meio da elevação nos valores da taxa fotossintética ( $A$ ), são mais produtivos.

Existem outras definições em relação à EUA, como a eficiência intrínseca e a instantânea. Em nível da folha, a eficiência instantânea do uso da água é definida como a razão entre a fotossíntese ( $A$ ) e a transpiração ( $E$ ), enquanto a eficiência intrínseca é definida como a taxa de assimilação de carbono ( $A$ ) e a condutância estomática ( $g_s$ ) (Morison et al., 2008). A eficiência agrônômica do uso da água pode ser definida como a água utilizada pela cultura em relação ao

desempenho obtido com o crescimento e a produtividade, sendo mais adequada no contexto da produção agrícola (Blum, 2009; Ferraz et al., 2016; Santos et al., 2021).

As mudanças na EUA são reguladas pela coordenação da associação entre assimilação de carbono e consumo de água, que são estratégias importantes utilizadas por plantas em condições de limitação hídrica (Liang et al., 2020). Desta forma, as técnicas de manejo da irrigação, em que se reduz a aplicação de água (buscando aumento da EUA) sem haver comprometimento na fotossíntese e crescimento, são quase sempre consideradas superiores, pois reduzem a água aplicada na cultura por unidade de CO<sub>2</sub> assimilado (Santos et al., 2021).

Nesse sentido, para permitir que os agricultores reduzam a demanda de água no cultivo do mamoeiro, algumas técnicas de irrigação que permitem a redução do consumo de água têm sido avaliadas. De acordo com Torrecillas et al. (2018), têm sido utilizados diferentes métodos de restrição hídrica, sem que haja o comprometimento na produtividade, como por exemplo, a irrigação por déficit sustentado (SDI). Esta técnica se baseia na redução gradual da aplicação de água em determinada cultura. Uma outra técnica conhecida como irrigação por déficit regulado (RDI) preconiza a seleção do momento e do nível do estresse hídrico a ser aplicado sobre a cultura. A secagem parcial da raiz (PRD) é outro método utilizado, que consiste na redução da aplicação de água (30 a 50% da evapotranspiração potencial, ET<sub>0</sub>) em lados alternados do sistema radicular (Morison et al., 2008; Lima et al., 2015). Todos estes métodos são resguardados pelo aumento na síntese de ácido abscísico no lado da raiz com limitação de água, o que resulta, em um primeiro momento, no fechamento estomático e na redução da perda de água por transpiração (causa maior EUA), e em segundo caso, reduz a área foliar e altera o metabolismo bioquímico de frutos influenciando a qualidade (Liu et al., 2006; Lima et al., 2015).

Segundo Lima et al. (2015), as técnicas RDI e PRD são alternativas para economia de água porque resultam em aumentos da EUA sem diminuir a produtividade. De acordo com os resultados apresentados por Lima et al. (2015), técnicas de irrigação que otimizam o uso da água se mostraram eficientes no cultivo do mamoeiro, como a técnica PRD. No estudo de campo, utilizando a técnica PRD com déficit de água de 30%, não foi observada redução significativa no crescimento vegetativo e nos componentes da produção (número de fruto planta<sup>-1</sup>, peso médio

(g) fruto<sup>-1</sup>, kg de fruto ha<sup>-1</sup>, kg de fruto planta<sup>-1</sup>), em comparação à irrigação completa (Lima et al., 2015).

Santos et al. (2021) avaliaram a resposta do mamoeiro do genótipo 'Tainung' sob a técnica PRD em diferentes quantidades e tempos de alternâncias nos lados das raízes. Segundo os autores, a qualidade e produtividade de frutos não foi alterada, sendo recomendado, em condições de escassez de recursos hídricos, a técnica PRD com alternância do lado irrigado a cada sete dias e redução de 35% de ET<sub>0</sub>.

Desta forma, as mudanças na gestão do manejo da água de irrigação podem proporcionar um resultado positivo na EUA sem impactar a produtividade e qualidade do produto colhido, sendo uma alternativa para o cultivo de mamoeiro em regiões que seja comum a escassez hídrica (como exemplo, nas regiões semiáridas do Brasil). O conhecimento das respostas fisiológicas e no crescimento da cultura do mamoeiro sob níveis de déficit hídrico pode facilitar emprego de técnicas de manejo que proporcionem economia dos recursos hídricos.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Localização e delineamento experimental

No período de maio a novembro de 2020, o genótipo de mamoeiro (*C. papaya* L.) 'Golden THB' foi cultivado em casa de vegetação, com redução de  $\cong$  30% da radiação fotossinteticamente ativa (RFA), no campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada em Campos dos Goytacazes, RJ (21°44'47''S e 41°18'24''W e 10 m de altitude) (Figura 1).



Figura 1: Fotografia do experimento na casa de vegetação.

As sementes foram semeadas em tubos plásticos (tubetes) de 280 cm<sup>3</sup> no dia 04/05/2020 (Figura 2A). Aos 60 dias após a semeadura (DAS), e no final do dia (horário de temperatura mais amena, e para evitar a desidratação das raízes), as

plantas foram transplantadas para vasos de polietileno de alta densidade (PEAD) de 100 L (0,10 m<sup>3</sup>), e os vasos cobertos por uma manta aluminizada para evitar a perda de água por evaporação (Figura 2A).

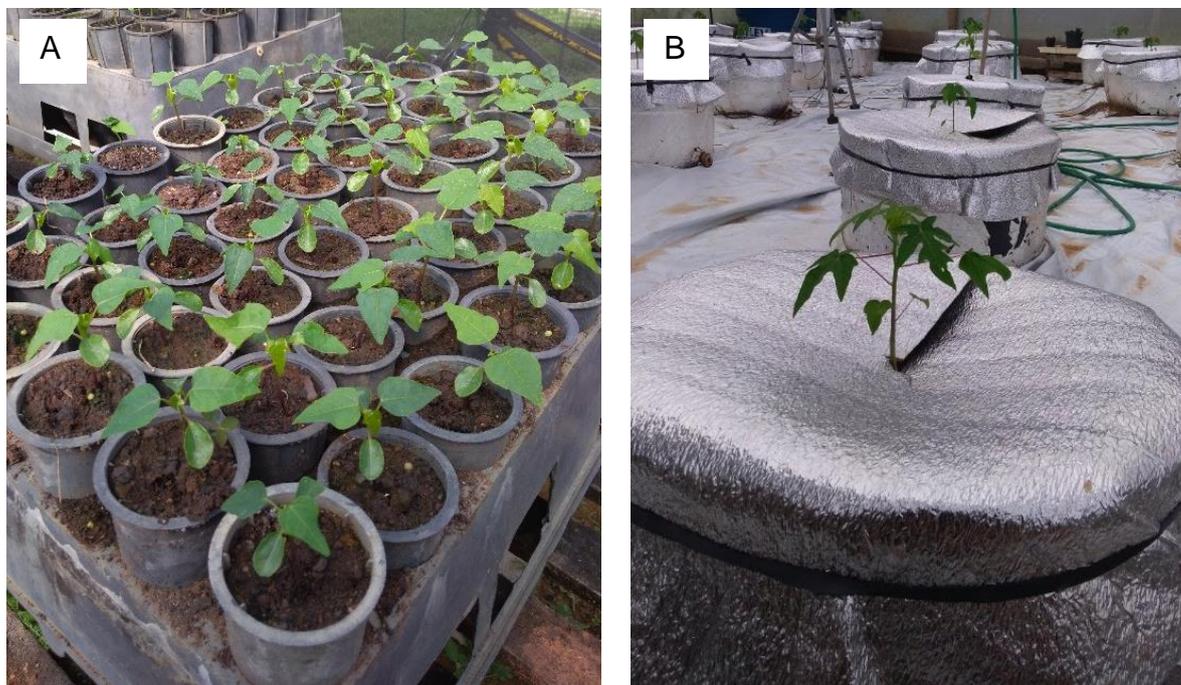


Figura 2: A) Desenvolvimento das mudas em tubetes de 280 cm<sup>3</sup>; B) Vaso com a muda de mamoeiro coberto por uma manta aluminizada.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos corresponderam aos níveis de disponibilidade hídrica de 50, 70, 80 e 100% da capacidade de retenção de água do substrato. O substrato utilizado nos vasos foi composto por uma mistura de latossolo vermelho-amarelo, areia e terra vegetal Terral<sup>®</sup> (1: 1: 1). Após 30 dias do transplântio (31/07/2020) foi aplicado 13g de CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O (6g de N) vaso<sup>-1</sup>. No dia 03/09/2020 foi aplicado 13 g vaso<sup>-1</sup> de CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O; 12 g vaso<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 6 g vaso<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. Nos dias 09/10/2020 e 30/10/2020 foi aplicado 85g de 4-14-7 (26g de CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O), de acordo com as recomendações de adubação propostas por Oliveira et al. (2004).

Após 19 dias do transplântio (22/07/2020), foi aplicado o fungicida *Amstar Top*<sup>®</sup> e 25 dias após o transplântio (28/08/2020) foi aplicado óleo vegetal e extrato de neem (Original Neem<sup>®</sup>) a 1%. No dia 11/09/20 foi aplicado fungicida *Score*<sup>®</sup>. No dia 30/10/2020 foi feita uma segunda aplicação do fungicida *Amstar Top*<sup>®</sup>, de acordo com as recomendações de aplicação do produto.

### 3.2. Determinação da capacidade de campo do substrato

Após a devida homogeneização do substrato, um volume de substrato suficiente para preencher um vaso de 100 L foi distribuído sobre uma lona plástica sob casa de vegetação coberta, a fim de promover a secagem completa do substrato. Após sua completa secagem, o substrato foi colocado no vaso e, utilizando uma balança digital, foi determinado o peso do vaso mais o substrato seco (peso inicial). Posteriormente, este substrato foi molhado com um volume conhecido de água, até atingir a saturação, e coberto com uma manta plástica para impedir a perda de água por evaporação. Concomitante a isto, foi colocado sob o vaso um recipiente para coleta do excesso de água drenado através de perfurações no fundo do vaso, o qual foi também coberto para evitar a evaporação. Decorridas 48h deste processo, com sucessivos molhamentos do substrato com volume conhecido de água e após a drenagem completa do vaso, o vaso foi novamente pesado para obtenção do peso do vaso mais o substrato úmido (peso final). Além disso, o volume de água drenado foi quantificado com auxílio de uma proveta graduada. Desta forma, sabendo-se que a densidade da água é  $1 \text{ g cm}^{-3}$  e que por isso 1L de água é equivalente a 1 kg, a estimativa da capacidade de vaso foi calculada com base na diferença entre o volume de água aplicado para atingir a saturação do substrato e o volume drenado. Esta capacidade de retenção pode ser confirmada com base no diferencial entre o peso final e inicial do vaso. Este vaso foi utilizado como referência ao longo de todo o ciclo de cultivo.

#### Aplicação dos tratamentos:

As plantas foram irrigadas até atingirem a saturação do substrato para manutenção da capacidade de campo até dia 10/08/2020 (98 DAS), e foram mantidas até 15/08/2020 sem irrigação. A aplicação dos tratamentos iniciou em 16/08 (104 DAS), com irrigações diárias (exceto em dias nublados e chuvosos), de acordo com cada tratamento. A partir do dia 10/09/2020, a irrigação foi realizada a cada dois dias, e a partir do dia 15/10/2020 passou a ser normalizada pela área foliar de cada planta estimada com base na equação 1.

$$\text{Água aplicada com base na AF} = \frac{\text{AF} \times \text{AT}}{\text{AFR}} \text{ eq. 1}$$

Em que:

AF = Área foliar da planta a ser irrigada;

AT = Água transpirada pela planta de referência;

AFR = Área foliar da planta de referência.

Durante todo o período experimental, foi cultivada uma planta como referência para irrigação. No período da tarde, o vaso com a planta de referência foi pesado (peso inicial) e, posteriormente, irrigado com um determinado volume de água de forma a atingir a saturação do substrato. A água em excesso era percolada durante a noite e o peso do vaso saturado (peso final) foi novamente determinado na manhã do dia seguinte. Desta forma, foi determinado o volume de água necessário para atingir a saturação do substrato, que foi o mesmo volume transpirado pelas plantas nos dias anteriores no tratamento de 100% (até a última irrigação). A partir da determinação da quantidade de água necessária para atingir a saturação do substrato no tratamento de 100%, foi feito o cálculo do volume de água a ser aplicado nos demais tratamentos.

A título de exemplo, num dia em que o vaso de referência apresentou uma diferença de massa de 2 Kg entre o peso final e o inicial, pressupõe-se que o volume de água transpirado nos dias anteriores, para uma dada área foliar, foi de 2 litros, haja visto, o fato de que a perda por evaporação era limitada (o vaso foi coberto com uma manta plástica impermeável). Sendo assim, os tratamentos de 100% de irrigação receberiam o volume de água referente a 2 litros de água, no entanto, normalizados pela área foliar da respectiva planta. Para o tratamento de 50%, seria aplicado um volume de água referente a 50% dos 2 litros aplicados para tratamentos de 100%, e ainda normalizados pela área foliar das respectivas plantas.

A Figura 3 mostra o incremento total na quantidade de água aplicada (acumulado) em cada tratamento durante o período experimental. De acordo com o gráfico, é possível observar que ao longo do experimento houve um incremento no consumo de água em todos os tratamentos (devido ao desenvolvimento da planta e aumento da área foliar), de forma que o tratamento de 50% recebeu metade da água em comparação ao tratamento de 100%.

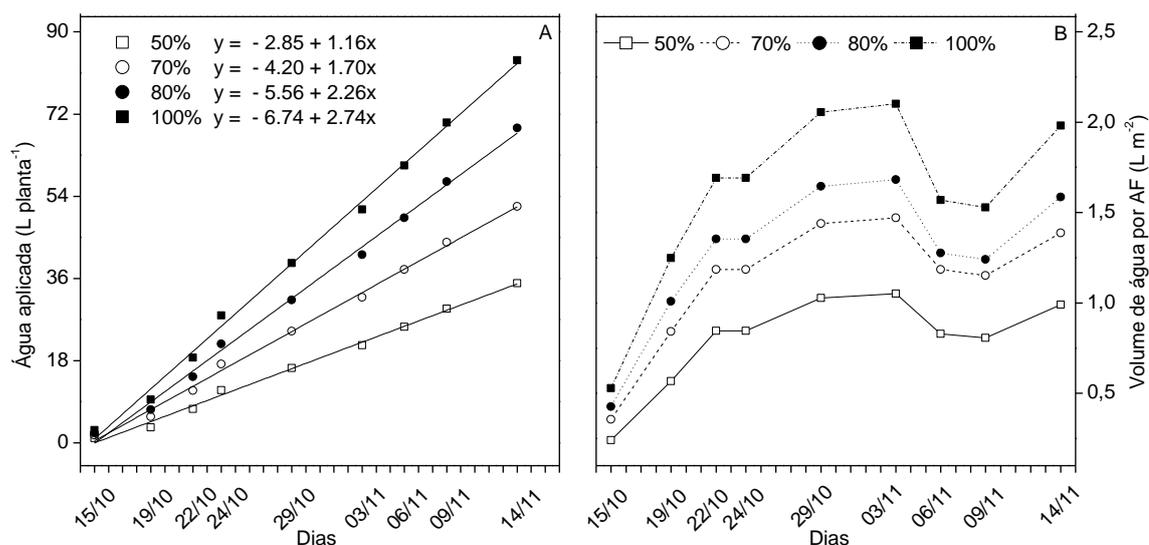


Figura 3: A) Volume de água acumulado e aplicado nos tratamentos baseado na área foliar. B) Volume de água aplicado por unidade de área foliar.

A Figura 4 mostra o volume de água aplicado durante o período experimental (16/08/2020 a 17/11/2020) com a identificação do método utilizado (gravimetria e área foliar) na determinação do volume de água aplicado em cada tratamento e a identificação da data inicial e final de cada avaliação.

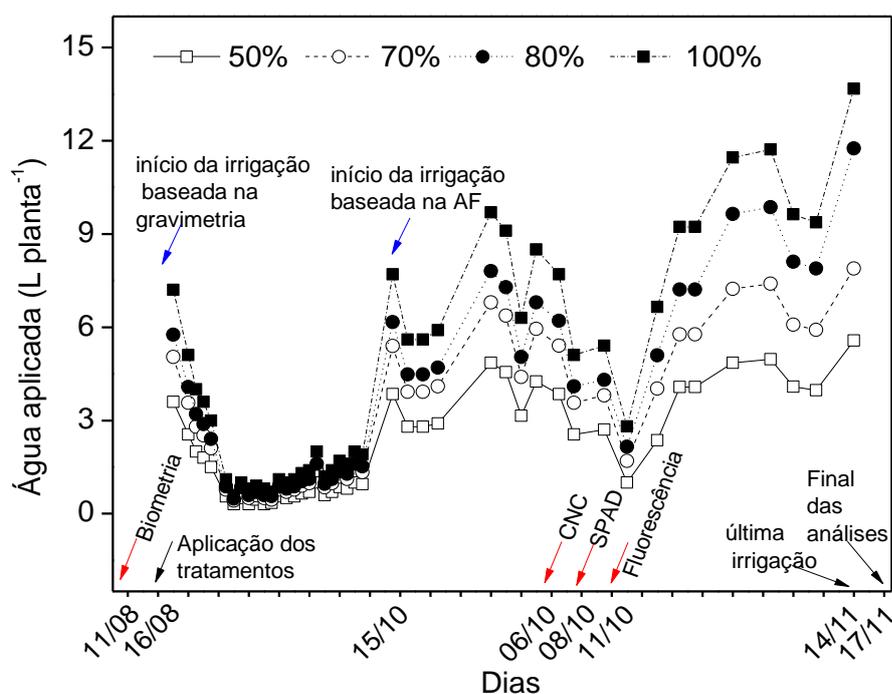


Figura 4. Volume de água aplicado durante o período experimental em cada tratamento por unidade de planta. As setas azuis indicam a data de início do método

utilizado para determinar o volume de água aplicada em cada tratamento. As setas vermelhas indicam as datas de início de cada avaliação e as setas pretas indicam o início e o final (última irrigação) da aplicação dos tratamentos e a data final de todas as avaliações.

### 3.3. Monitoramento das condições climáticas

Durante o período experimental (do início ao final da aplicação dos tratamentos), ao longo do dia com intervalos de 30 minutos, as condições microclimáticas de cultivo dentro da casa de vegetação foram monitoradas por meio de sensores automáticos de coleta de dados (modelo *WatchDog 450*, *Spectrum Technologies*, Illinois, USA). A partir dos dados de temperatura e umidade relativa, foi obtido o déficit de pressão de vapor do ar ( $DPV_{ar}$ ), segundo equação proposta por Jones (1992):

$$DPV_{ar} = 0,61137 * \exp \left( \frac{17,502 * T^{\circ}}{240,97 + T^{\circ}} \right) * (1 - (UR\% / 100)) \text{ (Eq.2)}$$

Em que:

$DPV_{ar}$  = Déficit de Pressão de Vapor (kPa);

exp = Exponencial;

$T^{\circ}$  = Temperatura ( $C^{\circ}$ );

UR = Umidade Relativa (%).

A média dos valores da temperatura ficou em torno de 26,5°C (temperatura média) com valores máximos acima de 45°C em alguns dias dentro da casa de vegetação, tendo uma média de 38°C (temperatura máxima). A média da umidade relativa ficou em torno de 73%, com valores máximos de aproximadamente 94% em alguns momentos do período de monitoramento. O  $DPV_{ar}$ , em média, teve valores em torno de 1,36 kPa e o DPV máximo teve uma média de 4,64 kPa, com valores máximos encontrados até 8,5 kPa. A radiação fotossinteticamente ativa (RFA) teve valores médios de  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , chegando a ter um valor máximo em torno de  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 5).

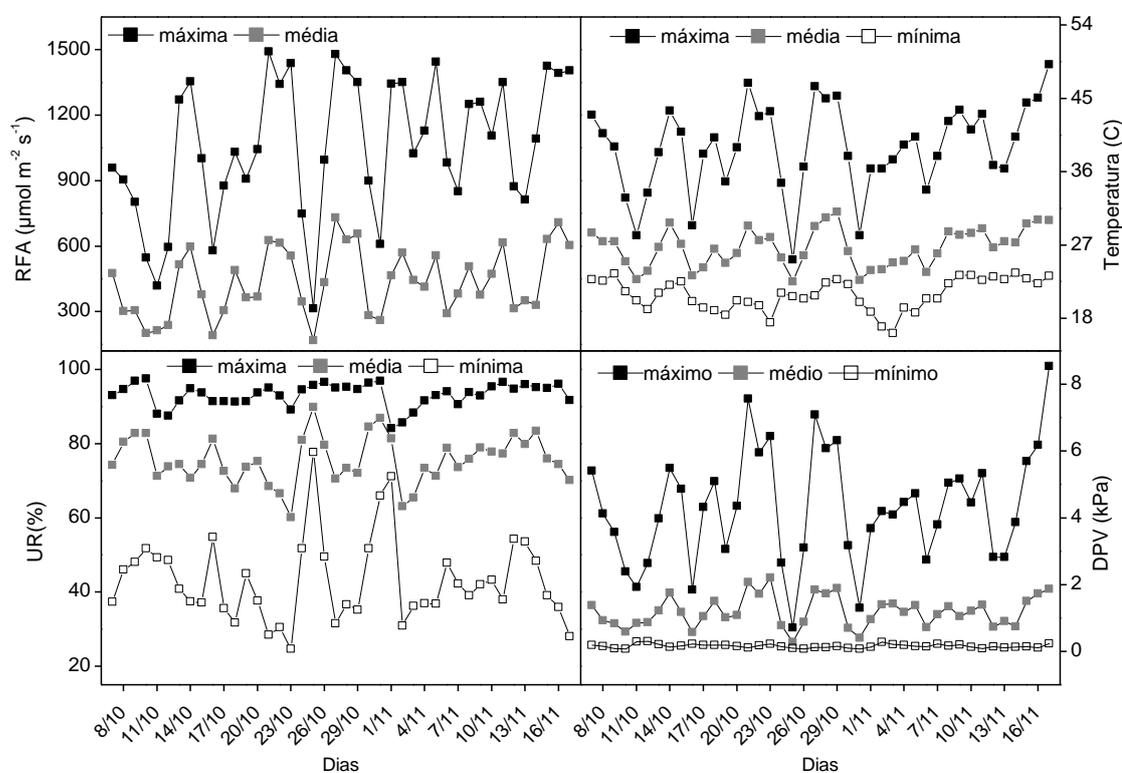


Figura 5: Radiação fotossinteticamente ativa (RFA), temperatura, umidade relativa (UR), e déficit de pressão de vapor do ar (DPV) máximo, médio e mínimo, dentro da casa de vegetação durante o período experimental. Os pontos representam a média diária.

### 3.4. Análises de crescimento (biometria)

A partir do dia 11/08 [38 dias após o transplante (DAT)] até o dia 17/11 (134 DAT) foram realizadas medidas semanais da altura (A), diâmetro do caule

(DC), área foliar total (AFT) e número de folhas fixas (NF) nas plantas de cada tratamento. O comprimento da nervura central (CNC) foi avaliado numa folha jovem [ $\cong$  5cm de CNC], a cada dois dias a partir do dia 06/10 (93 DAT) até 17/11.

Com auxílio de uma trena graduada, a altura foi determinada a partir da região do coleto até a última folha recém-lançada no meristema apical da planta. O diâmetro do caule foi determinado com o uso de um paquímetro digital Starret® modelo 2001, posicionado na altura do coleto.

No dia 06/10 foi selecionada a quarta ou quinta folha contada a partir do ápice, a qual foi marcada e avaliada durante todo o decorrer do experimento. O CNC foi determinado na folha marcada com o auxílio de uma trena, da base da nervura junto ao pecíolo até o final da nervura do lóbulo foliar central. O número de folhas foi determinado pela contagem simples das folhas presentes nas plantas e a área foliar total da planta foi determinada de acordo com a seguinte equação proposta por Posse et al. (2009):

$$AFT = [-89,6623 + (5,0328 \times NF) + (4,9998 \times NF \times CNC^2) - (7,5120 \times CNC^2)]^{1,2607} \times 10^{-4} \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que:

AFT= Área foliar total da planta de mamoeiro (m<sup>2</sup>);

NF= Número de folhas da planta;

CNC2= Média do comprimento da nervura central de duas folhas completamente expandidas (maduras) contadas a partir do ápice da planta.

### 3.5. Determinação do índice de cor verde das folhas (índice SPAD)

O índice SPAD foi determinado a cada dois dias a partir do dia 08/10 (95 DAT) até o dia 17/11 (134 DAT) durante 39 dias de expansão foliar (ontogenia foliar), com a utilização do medidor portátil de clorofila modelo [SPAD-502 (Minolta, Japão)]. Essa avaliação se iniciou numa folha jovem de cada repetição [ $\cong$  5 cm de comprimento da nervura central foliar (CNC)] e respectivos tratamentos, e as avaliações foram feitas até a expansão da folha.

### 3.6. Eficiência do uso da água (EUA)

A partir dos valores da taxa de incremento do CNC [valor da inclinação da parte linear da curva (*slope*)], no intervalo de 06/10 a 17/11 (ver Figura 5), e da altura, área foliar e diâmetro, no intervalo 11/08 a 17/11 (Figura 4), foi realizado o cálculo da EUA. Essa variável foi obtida a partir das relações entre o incremento dessas variáveis (*slope*) dividido pela quantidade de água aplicada no intervalo de avaliação das características de crescimento (CNC, A, AF e DC), e de acordo com o tratamento aplicado. Para tanto foi realizado o cálculo do incremento das variáveis A, CNC, AF e DC em relação a data inicial e a data final das avaliações, e este incremento foi dividido pelo consumo total de água no período avaliado de cada tratamento, obtendo assim a EUA em relação a cada variável estudada.

### 3.7. Emissão da fluorescência da clorofila

A emissão da fluorescência da clorofila foi avaliada a cada dois dias a partir do dia 10/10 (96 DAT) até o dia 17/11 (134 DAT) com o auxílio do fluorímetro não modulado modelo *Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, Inglaterra)*. As análises foram realizadas a cada dois dias a partir das 16h nas mesmas folhas em que foi avaliado o CNC. Em todos os tratamentos, estas avaliações da emissão da fluorescência iniciaram com o CNC médio das folhas em torno de 13cm e foram feitas durante toda a expansão foliar.

Antes das avaliações da emissão da fluorescência, a parte da folha amostrada foi adaptada ao escuro por 30 minutos, com auxílio de pinças específicas (*leafclips*) (Hansatech). Essa adaptação ao escuro foi feita para que os centros de reações dos fotossistemas I e II estivessem completamente na condição de abertos, ou seja, prontos para receberem elétrons e transferi-los a partir da cadeia de transporte na maquinaria fotoquímica (Strasser et al., 2000).

Os dados obtidos em cada avaliação, a partir da cinética rápida de emissão da fluorescência pelo fotossistema II (PSII) em função do tempo, foram analisados de acordo com o JIP<sub>test</sub> (Strasser et al., 2004) utilizando o *software Biolyzer® (Fluoromatics Software, Switzerland)*. De acordo com Goltsev (2016), e a partir das análises feitas pelo *software* (JIPtest) as variáveis utilizadas foram:

- 1)  $F_0$ : Fluorescência mínima (inicial), quando todos os centros de reação do PSII estão abertos (Quinona A ( $Q_A$ ) completamente oxidada);
- 2)  $F_m$ : Intensidade da Fluorescência máxima ( $Q_A$  completamente reduzida);
- 3)  $F_V = F_t - F_0$ : fluorescência variável em qualquer instante de tempo  $t$ ;

4)  $F_v/F_o$ : razão entre as taxas constantes para uso fotoquímico e não fotoquímico da energia de excitação pelos RCs;

5)  $F_o/F_m$ : eficiência quântica para dissipação de energia ( $t=0$ )

6)  $PI_{abs}$ : Índice de desempenho (Potencial) relacionado à conservação de energia de fótons absorvidos pelo PSII utilizados para redução dos aceptores de elétrons do intersistema. Esta variável é multiparamétrica e é formada por três componentes relacionados à eficiência fotoquímica do fotossistema II (PSII). Um componente relacionado à absorção do fóton (RC/ABS), um outro componente relacionado à eficiência na captura do fóton pelos centros de reação ( $F_v/F_o$ ) e o componente relacionado à eficiência no transporte de elétrons (ET/TR-ET).

$PI_{abs}$  = absorção x captura x transporte de elétrons

$$PI_{abs} = (RC/ABS) \times (F_v/F_o) \times (ET/TR-ET) \quad (Eq.4)$$

$$PI_{abs} = 1 - (F_o/F_m)/(M_o/V_J) \times (F_m - F_o)/F_o \times (1 - V_J)/V_J \quad (Eq.5)$$

Em que:

$F_o$  é a fluorescência em 50  $\mu$ s;

$F_J$  é a fluorescência no tempo J (2ms);

$F_m$  representa a fluorescência máxima;

$V_J$  fluorescência variável relativa no tempo 2 ms, representa o número de centros de reações fechados relativo ao número total de centros de reações que podem estar fechados;

$$V_J = (F_J - F_o)/(F_m - F_o) \quad (Eq.6)$$

$M_o$  representa a inclinação inicial da curva relacionada à cinética da fluorescência e pode ser derivada da equação:

$$M_o = 4 \times (F_{300\mu s})/(F_m - F_o) \quad (Eq.7)$$

$F_{300}$  é a fluorescência emitida no tempo 300  $\mu$ s.

7)  $\Phi P_o$  (TR<sub>o</sub>/ABS ou  $F_v/F_m$ ): rendimento quântico máximo do PSII;

8)  $DI_o/RC$ : taxa de dissipação de energia por calor, fluorescência e transferência de energia para o PSI (por unidade de centro de reação ativo), ou seja, dissipação de energia do sistema antena não utilizada na redução de  $Q_a$ ;

9)  $RC/CS_o$ : densidade dos centros de reação ativos;

10)  $ET_o/TR_o$  ou  $\Psi E_o$ : probabilidade de que 1 elétron possa se mover além de  $Q_a$ -, ou seja, eficiência com que 1 elétron que tenha reduzido  $Q_A$  entre na cadeia de transporte de elétrons;

11)  $ET_o/ABS$  ou  $\Phi E_o$ : eficiência na qual um fóton absorvido resulta no transporte de elétrons além de  $Q_A$ ;

12)  $A_m$ : área acima da curva de indução da fluorescência da clorofila, que determina a quantidade de plastoquinona do PSII, isto é, a área é proporcional à quantidade de aceptores de elétrons da  $Q_a$  oxidados do PSII.

13)  $RE_o/CS_o$ : redução de aceptores finais no lado do aceptor de elétrons do PSI por seção transversal (reflete a transferência de elétrons no final do PSI) (Lin et al., 2009);

14)  $ABS/CS_o$ : absorção de energia por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante no tempo zero;

15)  $d_v/dt_o$ : corresponde à inclinação (*slope*) inicial da curva no início da fluorescência transiente;

16)  $DI_o/CS_o$ : dissipação térmica de energia no PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante;

17)  $TR/CS_o$ : fluxo de energia capturado pelos RCs do PSII por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em  $t=0$ )

18)  $ET_o/CS_o$ : fluxo de elétrons através do PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em  $t=0$ ).

### 3.8. Ontogenia foliar

Para as avaliações relativas à expansão da folha (ontogenia foliar), [CNC (item 3.4), emissão da fluorescência (item 3.7) e índice de cor verde da folha (item 3.5)], foi escolhida a folha mais jovem recentemente lançada de cada genótipo. As medições iniciaram-se quando a folha que estava jovem atingiu cerca de 5 cm de comprimento da nervura central (CNC). Nestas folhas, foram avaliados a cada 2 dias o índice SPAD, a emissão da fluorescência e o CNC. Na avaliação da eficiência fotoquímica, foi utilizado fluorímetro não modulado modelo *Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, Inglaterra)* como foi relatado no item 3.7.

### 3.9. Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância, e foi aplicado o teste Tuckey em 5% de probabilidade para efetuar a comparação entre as médias de tratamentos com auxílio do *software R Core Team* (2021) utilizando o pacote *expdes.pt*. (Ferreira, 2015). Nas avaliações relativas ao crescimento para efeito de comparação entre os tratamentos, calculou-se, para cada média, o respectivo erro padrão utilizando *Microsoft Office Excel* 2019. Foram estimados modelos de regressões lineares ou polinomiais para determinação dos parâmetros da equação e seu coeficiente de determinação ( $R^2$ ) utilizando o *software Origin* 2016.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### *Eficiência do uso da água*

Neste presente experimento, um dos principais efeitos dos tratamentos aplicados sobre as plantas do mamoeiro 'Golden THB' cultivado em sistema protegido foi a diferença nos valores da eficiência do uso da água (EUA), quando esta foi avaliada por meio da relação entre o incremento da altura (A) ( $EUA_A$ ), da área foliar (AFT) ( $EUA_{AFT}$ ), do diâmetro do caule (DC) ( $EUA_{DC}$ ) e do comprimento da nervura central (CNC) ( $EUA_{CNC}$ ) num determinado intervalo de tempo (42 dias para a variável CNC, e 134 dias para as variáveis A, AFT e o DC). Na Figura 6, observa-se que o tratamento em que se aplicou 50% da água em relação ao tratamento controle (100%) teve a maior EUA para todas essas variáveis. O tratamento de 50% teve maior  $EUA_A$  ( $\cong 0,096 \text{ mm dia}^{-1} \text{ L}^{-1}$ ),  $EUA_{AFT}$  ( $\cong 0,76 \text{ mm}^2 \text{ dia}^{-1} \text{ L}^{-1}$ ),  $EUA_{DC}$  ( $0,057 \text{ mm dia}^{-1} \text{ L}^{-1}$ ) e  $EUA_{CNC}$  ( $0,063 \text{ mm dia}^{-1} \text{ L}^{-1}$ ), com 53%, 50%, 51% e 43% maior, respectivamente, quando comparado ao tratamento de 100%. A  $EUA_A$ ,  $EUA_{AFT}$ ,  $EUA_{DC}$  e  $EUA_{CNC}$  foi significativamente menor no tratamento de 100%, em relação ao tratamento de 50%. Contudo, os valores destas variáveis no tratamento 100% não diferiu do tratamento de 80%, mostrando que a redução de 20% na aplicação de água não afeta o valor dessas variáveis estudadas. Entretanto, para as variáveis  $EUA_{DC}$  e  $EUA_{AFT}$ , não houve diferença significativa entre os tratamentos 70, 80 e 100%, o que pode mostrar que uma redução em 30% na disponibilidade hídrica do substrato não afetou negativamente os valores destas variáveis. No cultivo protegido, estas variáveis  $EUA_{DC}$  e  $EUA_{AFT}$  mostraram ter uma maior estabilidade nos valores em relação ao tratamento controle (100%), mesmo

com a redução de 30% no fornecimento de água, em relação a este tratamento controle.

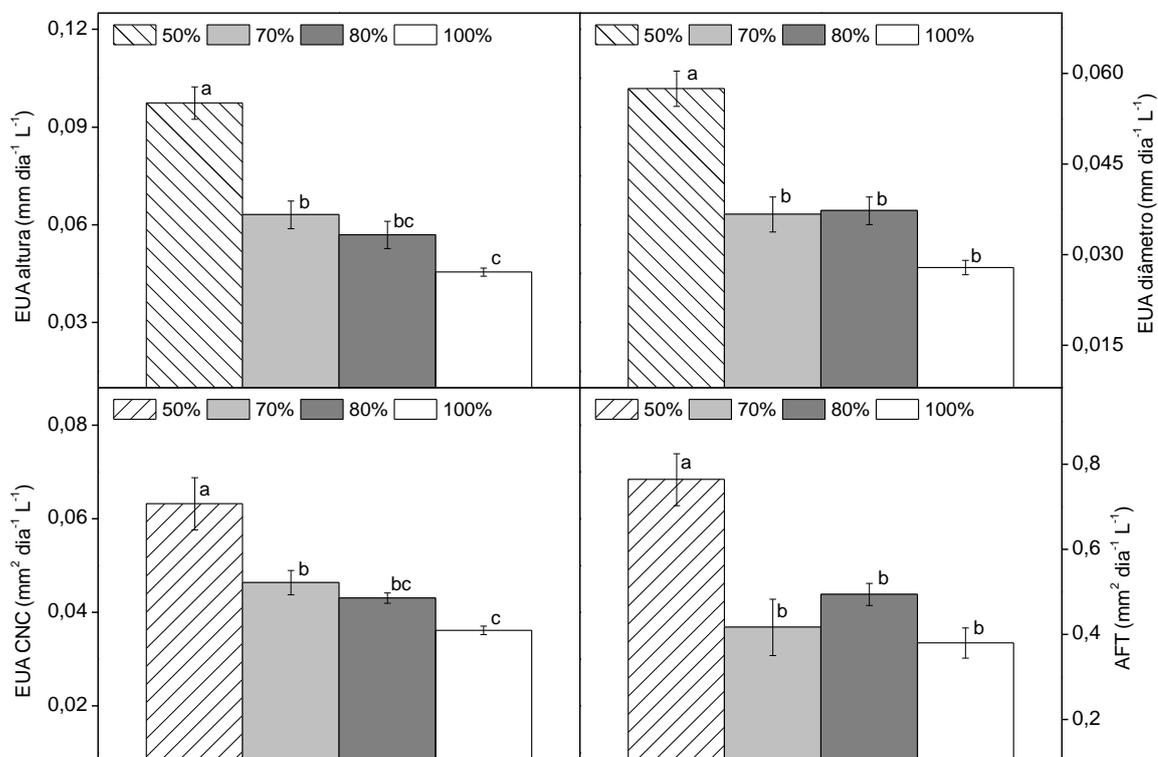


Figura 6: Eficiência do uso da água (EUA) em relação à altura, área foliar total (AFT), diâmetro do caule e comprimento da nervura central (CNC). Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Em estudos fitotécnicos, a avaliação da eficiência agrônômica do uso da água (EAUA), a qual relaciona o consumo de água da cultura com a produção de frutos (kg frutos L<sup>-1</sup>), é a variável importante para determinar se os tratamentos aplicados influenciam a produtividade. Ainda, a EUA pode ser relacionada às variáveis biométricas (massa seca (g) L<sup>-1</sup>), bem como com as variáveis relacionadas às trocas gasosas [ $\mu\text{mol CO}_2$  assimilado mmol H<sub>2</sub>O (eficiência instantânea no uso da água, A/E) ou  $\mu\text{mol CO}_2$  assimilado mmol H<sub>2</sub>O (eficiência intrínseca no uso da água, A/g<sub>s</sub>)], sendo A a taxa fotossintética líquida, E: transpiração, e g<sub>s</sub>: condutância estomática. Sob condições de limitação hídrica do solo, nem sempre estas variáveis fisiológicas supracitadas estão relacionadas à EUA e com a produtividade final das culturas em termos do produto

agronomicamente produzido (órgãos reprodutivos, raízes ou folhas) em relação à quantidade de água consumida pela cultura, como observado por Migliaccio et al. (2010) e Santos et al. (2021).

Nas condições experimentais avaliadas e com base nas características relacionadas às EUA usadas ( $EUA_A$ ,  $EUA_{AFT}$ ,  $EUA_{DC}$  e  $EUA_{CNC}$ ), em vasos de 100L, em que se impediu a evaporação, o genótipo '*Golden THB*', em 50% da disponibilidade hídrica, manteve um maior crescimento quando comparado aos demais tratamentos por unidade de água consumida. Tal resultado mostra que estas variáveis de crescimento não foram afetadas negativamente pela redução da água no substrato. De acordo com o trabalho de Ruas et al. (2022), a resposta do mamoeiro à limitação hídrica variou entre os genótipos avaliados. O genótipo '*Golden*' teve maior EUA em relação ao DC, A, e AF, e maior produtividade de frutos comparado ao genótipo '*Aliança*', que teve uma redução de 83% na produtividade de frutos e menor EUA, o que mostra resposta similar aos resultados obtidos neste trabalho. No entanto, Santos et al. (2021), mostraram que em mamoeiro cultivado sob condição de campo na região semiárida do estado da Bahia uma redução de 50% na disponibilidade de água, a  $EUA_A$  teve o dobro do valor, quando comparada ao tratamento em que foi aplicada 100% da disponibilidade hídrica. Neste experimento publicado por Santos et al. (2021), as plantas que receberam 50% da disponibilidade de água, tiveram menor produtividade ( $\text{kg fruto ha}^{-1}$ ). Também em mamoeiro cultivado no Sul da Flórida, USA, a menor quantidade de água aplicada por planta, elevou a  $EUA_A$  e  $EUA_{DC}$  e causou redução em cerca de 20% na produtividade ( $\text{ton frutos ha}^{-1}$ ) (Migliaccio et al., 2010).

Assim, em mamoeiro, ao que tudo indica, uma maior eficiência no uso da água, (avaliado por meio das variáveis de crescimento, como por exemplo: altura de planta e diâmetro do tronco), não tem relação direta com produtividade de frutos. Desta forma, nem sempre um maior incremento nas características de crescimento, como exemplo, em altura, por unidade de água consumida/aplicada está relacionado à maior produtividade de frutos (Santos et al., 2021). Lima et al. (2015) e Santos et al. (2021) mostraram que uma redução na disponibilidade de água em cerca de 35%, em relação ao tratamento controle de 100%, não afetou a produtividade em mamoeiros cultivados em condição de campo.

Embora no mamoeiro, a irrigação seja um fator limitante para a produtividade dos frutos (Almeida et al., 2003; Carr, 2014, Campostrini et al., 2018), segundo Marler et al. (1994), na fase jovem o mamoeiro pode apresentar um certo

grau de tolerância à seca, devido à manutenção do teor relativo de água na folha, que pode ser associada a uma maior velocidade de fechamento estomático quando se inicia a limitação hídrica do solo. Mahouachi et al. (2006) também relataram uma capacidade de acumular íons na raiz e folha, sob limitação hídrica, o que pode conferir um ajustamento osmótico e, assim, favorecer a absorção de água em condições de limitação hídrica do solo.

Uma vez que a produtividade do mamoeiro está relacionada à capacidade de manter um maior número de flores, e estas se manterem fixas na planta e se transformarem em frutos, os efeitos da limitação sobre algumas características de crescimento em relação à água consumida, (como as estudadas neste experimento (A, DC, AFT e DC)), podem não ser limitantes para o pegamento das flores e formação dos frutos, uma vez que o abortamento floral pode estar associado aos outros fatores, como por exemplo, produção de etileno (Van Doorn, 2002), e não está associado aos comprometimentos na relação entre a altura, diâmetro do tronco, comprimento da nervura central da folha e área foliar total e a água consumida. Uma planta de mamoeiro pode ter uma elevada  $EUA_A$ ,  $EUA_{AFT}$ ,  $EUA_{DC}$  e  $EUA_{CNC}$ , mas, se na condição de limitação hídrica houver uma maior síntese de etileno, este causará abortamento floral (Van Doorn, 2002) o que irá reduzir a produtividade, uma vez que este fitohormônio é produzido em grande quantidade sob estresse hídrico (Guinn, 1976; Morgan et al., 1990; Agustí et al., 2012). De fato, Ruas et al. (2022) relataram que nos genótipos 'Sunrise Solo' e 'Golden' com diferentes teores de clorofilas nas folhas, a limitação hídrica do solo elevou os valores de  $EUA_A$ ,  $EUA_{DC}$  e  $EUA_{AFT}$ . Entretanto, estes autores relataram que nos dois genótipos cultivados sob limitação hídrica houve menor produção de frutos por planta. De fato, quando órgãos reprodutivos (flores e frutos) são as partes importantes agronomicamente, a limitação hídrica tem um efeito maior na produtividade. A fase reprodutiva de uma planta é muito mais sensível, quando comparada à fase vegetativa. Nestas plantas em que o produto colhido é proveniente de órgãos reprodutivos, como o mamoeiro, a limitação hídrica pode afetar de maneira significativa a produtividade final ( $\text{kg frutos ha}^{-1}$ ).

Em outras culturas, também se observou que uma maior taxa de crescimento por unidade de água aplicada, nem sempre se relaciona com maior produtividade. De acordo com um estudo desenvolvido por Azevedo et al. (2006), o déficit hídrico na cultura do coco (*Cocos nucifera* L.) promoveu maior EAU

(número fruto  $L^{-1}$ ) mas provocou menor produtividade final (número de frutos  $ha^{-1}$ ) e menor produção de volume de água por fruto.

Ao que tudo indica, na fase vegetativa do mamoeiro em cultivo protegido, e isolando o fator evaporação do substrato, como foi o caso deste presente trabalho, a redução de água em 50% na capacidade de campo do substrato pode manter uma maior taxa de crescimento em A, DC, e AFT por cada unidade de água aplicada. Contudo, a elevação da  $EUA_A$ ,  $EUA_{AFT}$ ,  $EUA_{DC}$  e  $EUA_{CNC}$ , causados pela redução na aplicação de água, pode ter um efeito negativo sobre produtividade, tendo em vista que a limitação hídrica do solo pode causar abortamento floral, em associação com deformidades das flores (Almeida et al., 2003), uma vez que o produto agronomicamente econômico do mamoeiro é o fruto.

#### *Análises de crescimento e índice SPAD*

Para todos os tratamentos, a Figura 7 mostra as variáveis biométricas altura (A), diâmetro do caule (DC), área foliar (AF) e número de folhas fixas (NF) ao longo do período experimental. Os tratamentos com diferentes níveis de déficit hídrico não influenciaram a variável altura. De fato, em todos os dias em que foram realizadas análises, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos em relação a esta variável. Nos dias 15/09, 22/09, 29/09, 06/10 e 13/10 a área foliar do tratamento de 50% foi significativamente menor ( $p>0,05$ ) aos demais tratamentos. Após o dia 13/10, a área foliar foi estabilizada com valor médio de 7,85  $m^2$ , não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos. O diâmetro do caule teve diferença significativa apenas nos dias 22/09, 29/09 e 13/10. No entanto, essa diferença não pôde ser atribuída aos tratamentos, pois ao final do experimento, não foi observada diferença desta variável. O número de folhas fixas teve diferença significativa ( $p>0,001$ ) no dia 29/09 de forma que o tratamento de 50% foi menor que os demais tratamentos. No entanto no último dia de análise (17/11), os tratamentos de 50, 80 e 100% foram considerados iguais, com média de 41 folhas e o tratamento de 70% foi considerado inferior e diferente, com média de 36 folhas. Essa diferença não pode ser atribuída aos tratamentos aplicados, pois não é possível explicar fisiologicamente esta resposta.

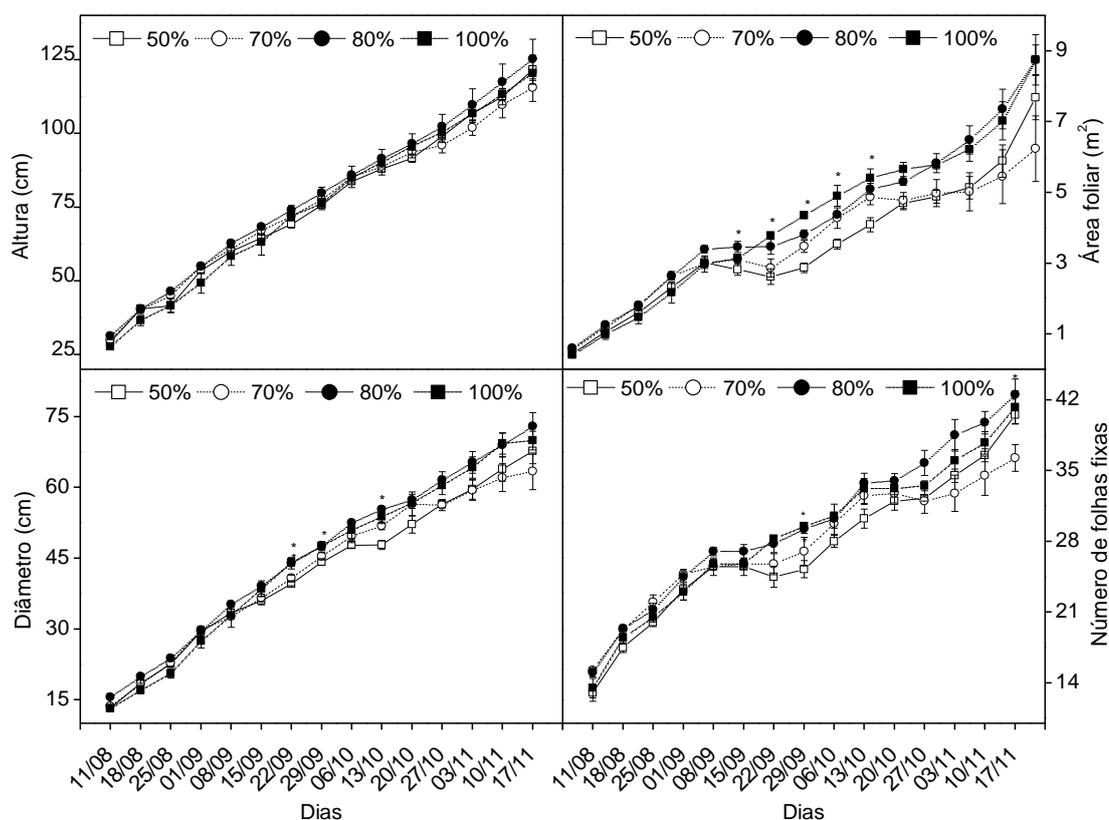


Figura 7: Incremento da altura, área foliar (AF), diâmetro do caule e número de folhas fixas nos tratamentos referentes a 50%, 70%, 80% e 100% da capacidade hídrica do substrato durante o período experimental.

De fato, o crescimento do mamoeiro pode ser afetado pelo déficit hídrico do substrato, mas essa resposta pode variar de acordo com o genótipo, bem como em relação ao sistema de cultivo. Um estudo realizado por Ruas et al. (2022) em cultivo do mamoeiro em condição de campo, e sob condições de limitação hídrica do substrato, o genótipo 'Aliança' teve menor incremento das variáveis relacionadas ao crescimento (A, DC e AF), enquanto que no genótipo 'Golden', essas variáveis não foram afetadas pelo estresse. Como relatado neste presente trabalho com o genótipo 'Golden THB' em cultivo protegido (Figura 7), este genótipo teve também pouco comprometimento nestas variáveis estudadas, o que pode mostrar que este genótipo tem potencial para suportar a limitação hídrica do substrato.

Além do genótipo, o nível de estresse hídrico aplicado, o ambiente de cultivo (campo ou em cultivo protegido) e o estágio de desenvolvimento da planta são fatores que influenciam a resposta do mamoeiro às condições de limitação hídrica do substrato. Santos et al. (2021b) avaliaram a resposta do genótipo 'Tainung' sob limitação hídrica (com a técnica PRD) em duas regiões semiáridas

do Brasil (BA e MG). Os autores observaram que a resposta ao déficit hídrico relacionadas ao crescimento (DC, AF e A) variaram de acordo com o nível do estresse hídrico aplicado, o estágio de desenvolvimento da planta e a região de cultivo. No estágio inicial do desenvolvimento (80 DAT) a restrição hídrica não interferiu no incremento da AF. O DC e a altura se mantiveram estáveis sob determinados níveis de estresse hídrico, mas diminuíram de acordo com o manejo hídrico e o ambiente de cultivo (Santos et al., 2021b). Neste presente trabalho com o genótipo '*Golden THB*', também não se observou efeitos da limitação de água sobre as características de crescimento estudadas.

Lima et al. (2015) não observaram diferença significativa no diâmetro de plantas de mamoeiro do genótipo '*GreGolden*' submetidas às técnicas de restrição hídrica. A baixa sensibilidade nas respostas de crescimento sob restrição hídrica pode ser explicada pelo fato de que as plantas de mamoeiro nessas condições, têm certa capacidade de aumentar o teor de íons como  $K^+$ ,  $Na^+$  e  $Cl^-$ , o que pode contribuir para o ajuste osmótico (Mahouachi et al., 2006), e auxiliar na manutenção do crescimento sob condições de limitação hídrica (Ruas et al., 2022). Ao que tudo indica, os maiores efeitos da limitação hídrica está no vingamento floral, o que vai de fato comprometer na formação do fruto e na produtividade das plantas (Almeida et al., 2003; Ruas et al., 2022).

A partir do dia 22/10 até a data final da análise, o comprimento da nervura central (CNC) foi significativamente maior no tratamento de 100% comparado ao tratamento de 50% (Figura 8). Contudo, o maior valor em CNC não causou diferenças significativas na área foliar (Figura 7). Essa resposta pode ter sido em razão do limbo não ter expandido na mesma proporção que a nervura central.

No final do período de expansão foliar, foi observada uma redução de 11,4, 10,8 e 7,0% no CNC dos tratamentos de 50, 70 e 80%, quando comparados ao tratamento de 100%, respectivamente.

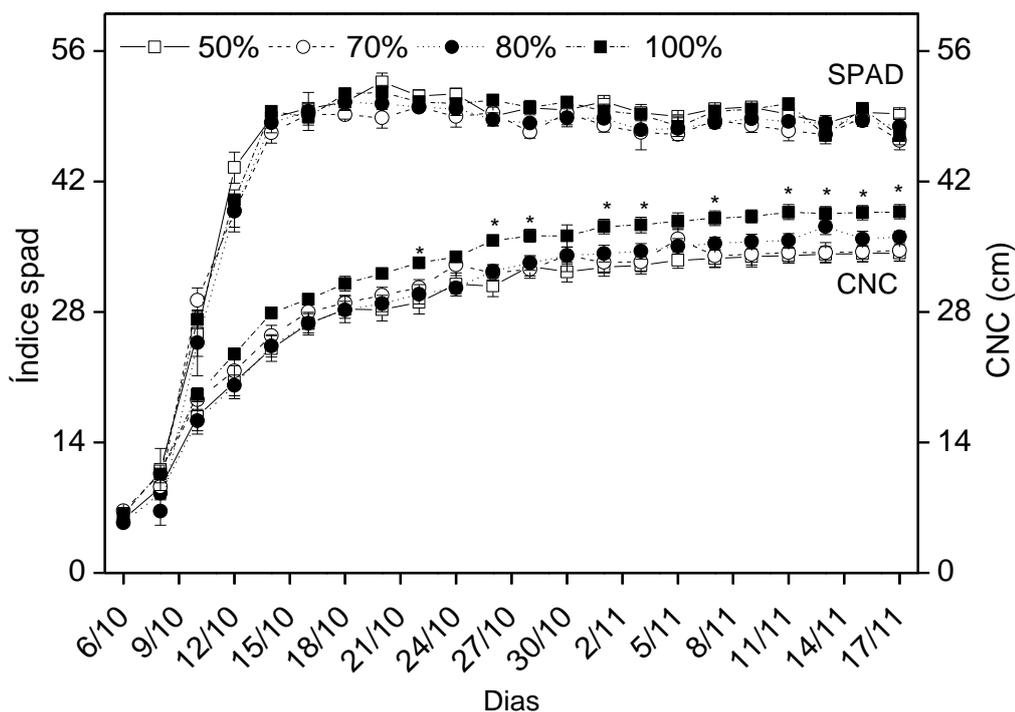


Figura 8: Índice SPAD e o comprimento da nervura central (CNC) nos diferentes tratamentos durante a expansão foliar (ontogenia foliar).

A primeira resposta de plantas sob condições de déficit hídrico moderado é a redução na pressão de turgescência, que diminui a taxa de expansão celular, além de ocasionar redução da assimilação fotossintética do carbono por meio do fechamento estomático e, conseqüentemente, reduz a taxa de crescimento da parte aérea (Hutton et al., 2007; Anjum et al., 2011; Claeys e Inzé, 2013). Desta forma, o menor CNC observado nas plantas do tratamento com maior limitação hídrica pode ser explicado com base na perda de turgor das células, que ocasionou redução na expansão celular, principalmente no período de 21 a 27/10 (Figura 8), possivelmente devido à expansão celular, o que corrobora os trabalhos em que foi observada diminuição da expansão foliar sob déficit hídrico na cultura do feijão (Resende et al., 1981) e do mamoeiro (Lima et al., 2015). Contudo, como foi relatada anteriormente, esta diferença no valor do CNC não refletiu em diferenças significativas nos valores da AFT (Figura 7).

A intensidade de verde nas folhas de mamoeiro avaliada por meio do índice SPAD nos tratamentos de 50, 70, 80 e 100% de disponibilidade hídrica foi de 49.2, 46.3, 47.9 e 46.9, respectivamente, e não teve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos durante todo o período de crescimento avaliado, de forma que a redução na disponibilidade hídrica em 50%, apesar de reduzir o comprimento foliar,

a partir do dia 21/10 não influenciou na degradação das moléculas de clorofilas totais nas folhas dos genótipos estudados.

Em folhas de mamoeiro do genótipo '*Sunrise Solo*', Torres-Netto et al. (2009) avaliaram o índice SPAD e observaram uma média de 45, o que corresponde a uma concentração de clorofilas totais de  $880 \mu\text{mol m}^{-2}$  (Castro et al., 2014), valor próximo ao observado neste trabalho. Paixão et al. (2019) observaram valores de índice SPAD igual a 35 e 53 nos genótipos '*Golden*' e '*Sunrise solo*', respectivamente, e essa diferença foi relacionada à intensidade de coloração verde nas folhas, sendo observada uma coloração verde mais intensa no genótipo '*Sunrise Solo*' devido a uma maior concentração de clorofilas totais nas folhas deste genótipo.

A concentração de clorofila nas folhas pode ser relacionada à eficiência fotossintética das plantas (eficiência fotoquímica), pois são estes os principais pigmentos constituintes dos complexos pigmento-proteicos responsáveis pela absorção e captura da energia luminosa para produção do poder redutor por meio das enzimas ATPases e NADP<sup>+</sup> redutases (ATP e NADPH), durante a fase fotoquímica da fotossíntese (Hazrati et al., 2016). Desta forma, a clorofila é um dos principais componentes do cloroplasto para o processo fotossintético, e o conteúdo relativo deste pigmento tem uma relação positiva com o nitrogênio foliar e a taxa fotossintética (Torres-Netto et al., 2002; Castro et al., 2014). A diminuição do teor de clorofila durante o estresse hídrico tem sido considerada um sintoma típico de estresse oxidativo e pode ser o resultado da foto-oxidação e da degradação deste pigmento (Anjum et al., 2011).

Há relatos de espécies que mantiveram as concentrações de clorofila durante o estresse hídrico como em plantas jovens de mamoeiro (Lima, 2014) e trigo (Shangguan et al., 2000) enquanto outros trabalhos relatam redução destes pigmentos fotossintéticos em plantas sob condições de limitação hídrica, como por exemplo, em plantas de girassol (Manivannan et al., 2008), de feijão (Terzi et al., 2010), de cana de açúcar (Jangpromma et al., 2010) e em mamoeiro (Ruas et al., 2022). A resposta da planta ao estresse hídrico varia de acordo com: a espécie; o estágio de desenvolvimento da planta; e o nível e duração do estresse aplicado; bem como a posição da folha na planta avaliada (Castro et al., 2014). Em mamoeiro sob estresse hídrico moderado e severo, e em condição de limitação por N, o amarelecimento das folhas (degradação das moléculas de clorofilas totais) inicia nas folhas mais velhas e vai progredindo em direção às folhas mais novas (Torres-

Netto et al., 2002; Castro et al., 2014; Ruas et al., 2022). Com a limitação hídrica elevada, algumas folhas mais novas nem sempre mostram sintomas de amarelecimento.

Quando o estresse não é de maneira moderada ou severa, a degradação das moléculas pode não acontecer em folhas localizadas na parte superior do dossel e o índice SPAD pode não alterar. Neste presente experimento, o maior nível de estresse hídrico imposto não foi suficiente para causar degradação nas moléculas de clorofilas durante a expansão da folha mais nova (Figura 8). Ainda, no mamoeiro e na condição de estresse hídrico moderado a severo, é verificada a degradação das moléculas de clorofilas nas folhas mais velhas, e após esta degradação, ocorre queda das folhas (Mahouachi et al., 2006; Mahouachi et al., 2007).

Contudo, neste presente trabalho com mamoeiro '*Golden THB*', a diferença significativa no número de folhas aconteceu somente no tratamento 70%, em que neste tratamento se teve o menor número de folhas. Tal fato mostra que neste presente trabalho, e nas folhas jovens, o estresse imposto no mamoeiro cultivado no cultivo protegido, não foi suficiente para efetuar comprometimentos no crescimento (expansão) e na concentração de clorofilas (Figura 8). Possivelmente, também nas folhas mais basais a degradação não foi observada, uma vez que a limitação de água (50%) não afetou negativamente a variável AFT e NF (Figura 7).

No trabalho realizado por Ruas et al. (2022), na 12<sup>a</sup>/15<sup>a</sup> folha contada a partir do ápice, a concentração de clorofila diminuiu com o aumento da intensidade do estresse hídrico aplicado, sendo observado uma redução de 10% e 11% nos genótipos '*Golden*' e '*Aliança*', respectivamente. Este fato mostra que o nível de estresse aplicado por estes autores foi suficiente para que ocorresse degradação das moléculas de clorofilas nas folhas consideradas adequadas para a máxima assimilação do CO<sub>2</sub> (12<sup>a</sup>/15<sup>a</sup> folha contada a partir do ápice) (Wang et al., 2014). Neste presente experimento, as avaliações do índice SPAD foram feitas durante toda a expansão foliar, o que mostra que o estresse aplicado de 50%, não afetou a concentração e clorofila nas folhas com adequada capacidade fotossintética, uma vez que as avaliações foram feitas em cerca de 1 mês após a estabilização do CNC (Figura 8).

O nível do estresse hídrico aplicado é determinante na resposta fisiológica da planta, condições de estresse hídrico severo podem comprometer a absorção de nutrientes, principalmente o nitrogênio, que é fundamental para a síntese de

clorofilas, contribuindo para a diminuição na concentração deste pigmento. Alguns trabalhos mostram alta relação positiva entre o índice SPAD, o teor de nitrogênio e o teor de clorofila em folhas de mamoeiro (Torres-Netto et al., 2002; Castro et al., 2011). Castro et al. (2014) observaram alta relação positiva entre o teor de nitrogênio no limbo foliar e a concentração de clorofila.

Mesmo que a planta cresça em solos ricos em nutrientes, o estresse hídrico pode causar deficiência nutricional devido à redução na mobilidade e absorção de nutrientes pela planta (Ahanger et al., 2016). O nitrogênio representa em torno de 1,5% da matéria seca do tecido vegetal, sendo o nutriente inorgânico mais importante em plantas e o principal constituinte de clorofilas, aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos e vários cofatores (Clarkson, 1996). A limitação deste nutriente pode afetar o incremento de biomassa via comprometimento na formação de outras moléculas como fitohormônios (auxina e citocininas) e outras associadas (Paixão et al., 2019). Neste experimento com o mamoeiro '*Golden THB*' em cultivo protegido, ao que tudo indica, a imposição do estresse em nível de 50%, não causou distúrbios no metabolismo do N.

Tendo em vista que a limitação hídrica diminui a mobilidade do nitrogênio no solo, plantas sob condições de estresse hídrico tendem a apresentar deficiência de nitrogênio, podendo causar clorose nas folhas e comprometer o crescimento da planta (Ahanger et al., 2016). Em condições em que o estresse hídrico seja moderado ou leve, a absorção de nitrogênio pelas plantas pode ser adequada para a síntese de pigmentos foliares, como observado neste estudo.

Sugiharto et al. (1990) encontraram uma relação positiva significativa entre a capacidade fotossintética e a concentração de nitrogênio foliar, sugerindo que a maior parte do nitrogênio é utilizada para a síntese de componentes do aparato fotossintético. Shangguan et al. (2000) observaram que a concentração foliar de nitrogênio em trigo cultivado sob condição de déficit hídrico reduziu em 40,3% para os tratamentos com baixo teor de nitrogênio disponível no solo e 25,4% para os tratamentos com alto teor de nitrogênio, respectivamente.

De acordo com a Figura 8, é possível observar a relação entre o índice SPAD e o comprimento da nervura central durante a ontogenia foliar. Tendo em vista que o índice SPAD está relacionado à concentração de clorofila, observa-se uma resposta semelhante entre o incremento desses pigmentos fotossintéticos nas folhas e a expansão foliar. Nesta Figura 8, também é possível observar que, em todos os tratamentos, a concentração de clorofilas totais, estimada por meio do

índice SPAD, se estabiliza bem antes do CNC, o que mostra que a maquinaria fotoquímica associada à concentração destes pigmentos, está adequada, antes da folha atingir o máximo crescimento.

Considerando que apesar do CNC apresentar uma diferença significativa entre os tratamentos com maior e menor disponibilidade hídrica, não foi observada diferença no índice SPAD, indicando que a diminuição do CNC no tratamento com menor disponibilidade hídrica foi causada por outros efeitos (redução na pressão de turgescência, que diminui a taxa de expansão celular), que não os associados com as moléculas de clorofilas.

### *Fluorescência da clorofila*

A emissão da fluorescência da clorofila é considerada uma técnica eficaz para avaliação da eficiência fotoquímica (Strasser et al., 2004). Esta técnica tem sido amplamente utilizada em estudos relacionados à ecofisiologia, objetivando verificar os efeitos de estresses abióticos e bióticos sobre a maquinaria fotoquímica de plantas de interesse agrônomo e florestal, pois esta técnica pode mostrar uma possível capacidade da planta em tolerar os fatores ambientais infra e supra-ótimos e até que ponto o estresse pode danificar a capacidade fotossintética (Maxwell e Johnson, 2000). Neste presente trabalho, foi utilizada esta técnica, por meio de diferentes índices de vitalidade da maquinaria fotoquímica, os quais foram obtidos segundo a metodologia proposta por Strasser et al. (2004), e relatados no item 3.7.

Com relação à utilização e a dissipação da energia absorvida pela folha, e avaliada por meio das variáveis da fluorescência da clorofila, durante a expansão das folhas do mamoeiro '*Golden THB*', o estresse hídrico imposto de 50, 70 e 80% não provocou alterações. Entre os tratamentos, os valores das variáveis da fluorescência da clorofila mostraram certa estabilidade, com poucos pontos com diferença significativa entre alguns tratamentos, e as diferenças não foram associadas ao efeito da limitação hídrica. Assim, o estresse hídrico aplicado no genótipo '*Golden THB*' em cultivo protegido, não causou alterações no desempenho da maquinaria fotoquímica, quando esta foi avaliada pela emissão da fluorescência.

A eficiência quântica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ), que é um indicador da capacidade dos fótons em reduzir  $Q_A$  após uma adaptação no escuro, não variou significativamente entre os tratamentos (Figura 9). Os valores desta variável

ficaram na faixa de 0,75 a 0,85, que é a faixa considerada como ótima eficiência do PSII. Esta faixa pode ser interpretada como a probabilidade de que 75 a 85% dos fótons absorvidos pelos pigmentos fotossintéticos sejam usados na redução da  $Q_a$  no PSII, e indica ótima eficiência do PSII (Strasser et al., 2004). Embora alguns trabalhos têm mostrado certa tolerância do PSII à ação da limitação hídrica da planta (Marler e Mickelbart, 1998), os valores reduzidos de  $F_v/F_m$  são causados pelo fenômeno da fotoinibição (Maxwell e Johnson, 2000). Este fenômeno fotoinibição indica um dano na maquinaria fotoquímica devido à ação de espécies reativas de oxigênio sobre as membranas. A fotoinibição acontece quando a capacidade da folha em usar o ATP e o NADPH, por meio do Ciclo de Calvin-Benson, fica aquém da quantidade de moléculas de clorofilas que ficam excitadas por meio de um excesso da energia dos fótons (Raddi et al., 2021). Este fato não foi observado neste presente trabalho, e durante a expansão foliar.

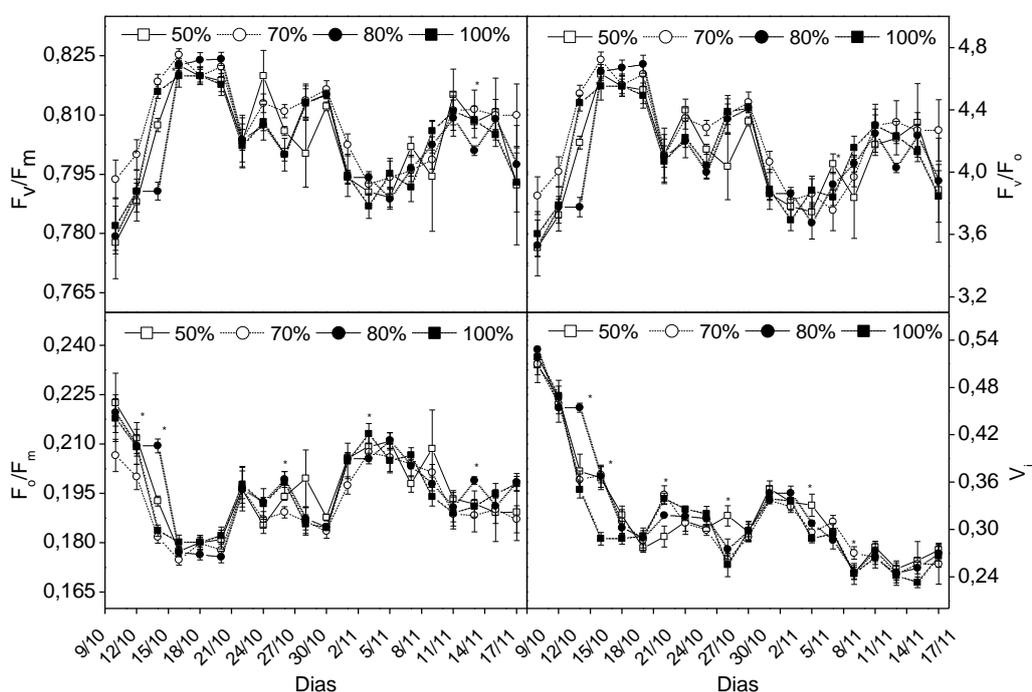
De fato, os valores de  $F_v/F_m$  não reduziram em folhas já expandidas em plantas de mamoeiro do genótipo '*Red Lady*' cultivados no campo sob condições de déficit hídrico moderado, indicando tolerância do PSII sob condições de seca (Marler e Mickelbart 1998). No trabalho de Torres-Netto (2005), foi observada variação nos valores de  $F_v/F_m$  em plantas jovens de mamoeiros cultivados em ambiente protegido e submetidos aos diferentes níveis de déficit hídrico. A autora observou que os valores de  $F_v/F_m$  no genótipo '*Golden*' não tiveram variação quando cultivados em condição de estresse hídrico moderado, mas houve redução nos valores desta relação em condições de estresse hídrico severo. Já o genótipo híbrido '*UENF/Caliman*', os valores de  $F_v/F_m$  diminuíram sob estresse moderado e severo (Torres-Netto, 2005). Ruas et al. (2022) observaram estabilidade nos valores de  $F_v/F_m$  em folhas já expandidas, em dois genótipos de mamoeiro cultivados em condições de campo em limitação hídrica severa.

Terzi et al. (2010) não observaram variação nos valores de  $F_v/F_m$  em cinco cultivares de feijão submetidas ao estresse hídrico. A resposta de três espécies de carvalho sob diferentes níveis de estresse hídrico apresentou variação nos valores de  $F_v/F_m$  (Raddi et al., 2021). Em mudas de alface, o valor de  $F_v/F_m$  se manteve estável em condições de estresse hídrico moderado e diminuíram com o aumento da severidade do estresse (Shin et al., 2021). Desta forma, fica evidente que a resposta ao estresse hídrico pode variar de acordo com a espécie, o genótipo e o nível de estresse aplicado (Havaux, 1992; Živčák et al., 2008) Neste experimento com plantas jovens de mamoeiro '*Golden THB*' crescido em cultivo protegido, a

maior limitação hídrica imposta (50%) não foi suficiente para causar comprometimento na eficiência fotoquímica.

Figura 9: Razão  $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_o$ ,  $F_o/F_m$  e  $V_j$ , obtida por meio do fluorímetro *Pocket PEA* não-modulado, em folhas do genótipo de *Carica papaya* L. 'Golden THB' - submetido aos diferentes níveis de limitação hídrica (50%, 70%, 80% e 100% da capacidade de água do substrato). Cada símbolo representa a média de seis repetições e as barras indicam o erro padrão de cada tratamento.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos em



nenhuma das variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila obtidas por meio do  $JIP_{test}$  ( $F_v/F_o$ ,  $F_o/F_m$ ,  $V_j$ ,  $DI_o/RC$ ,  $dv/dt_o$ ,  $RC/CS_o$ ,  $ABS/CS_o$ ,  $\Phi E_o$ ,  $Am$ ,  $ET_o/TR_o$  ( $\Psi E_o$ ),  $DI_o/CS_o$ ,  $TR_o/CS_o$ ,  $ET_o/CS_o$  e  $PI_{abs}$ ) (Figuras 9, 10, 11 e 12). Apenas alguns dias de análise foram observadas variações significativas entre algumas variáveis, as quais não são atribuídas aos tratamentos aplicados. O estresse não foi severo o suficiente para causar danos à maquinaria fotoquímica. Como base nos valores das variáveis do  $JIP_{test}$ , e no tratamento de maior nível de estresse hídrico (50%), a maquinaria fotoquímica teve potencial para fornecer ATP e NADPH para o processo de assimilação de  $CO_2$ , caso os estômatos estejam abertos. Este fato pode explicar os poucos efeitos da limitação hídrica imposta sobre as características de crescimento (Figura 7).

De acordo com os resultados da análise da fluorescência da clorofila, a maquinaria fotoquímica foliar apresentou estabilidade sob as condições de limitação hídrica. De fato, há relatos sólidos que mostram que o PSII de diferentes espécies é altamente resistente à limitação hídrica, como observado por Havaux (1992) em amostras de folhas destacadas e submetidas à dessecação drástica.

Ruas et al. (2022) observaram que as variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila ( $F_v/F_m$ , ET/TR, ET/ABS, RC/CS<sub>o</sub>, DI/CS<sub>o</sub> e PI<sub>abs</sub>) foram mantidas em valores estáveis em dois genótipos de mamoeiro submetidos à limitação hídrica severa, quando comparadas ao tratamento irrigado. De forma que o déficit hídrico severo aplicado não foi o suficiente para causar danos ao aparato fotoquímico das plantas (Ruas et al., 2022). Lima et al. (2015) relataram que a maquinaria fotoquímica do mamoeiro apresenta certa tolerância ao estresse hídrico, tendo em vista que não foi observado nenhum efeito em várias variáveis associadas à eficiência do PSII sob limitação hídrica. Marler e Mickelbart (1998) observaram que a taxa fotossintética de diferentes genótipos de mamoeiro sob déficit hídrico diminuiu. No entanto, as variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila não foram alteradas. Uma possível explicação para a tolerância do PSII, tolerância esta avaliada pela emissão da fluorescência, é que o limbo das folhas do mamoeiro sob limitação hídrica fica paralelo à radiação solar (paraeliotropismo) (Reis e Campostrini, 2008). Este fenômeno permite que a folha diminua a capacidade da luz em excitar as moléculas de clorofilas (radiação solar não-ortogonal a folha). Além disso, na condição de estresse hídrico, os estômatos se fecham impedindo a entrada de CO<sub>2</sub> até os sítios de carboxilação da Rubisco. Com menos CO<sub>2</sub> disponível, o consumo de ATP e NADPH será reduzido. Este fato cria uma sobrecarga de excitação das moléculas de clorofilas, sem que estas possam dissipar a energia para a formação destes compostos. Nesta condição, as moléculas de clorofilas excitadas passarão a energia para o oxigênio, o que produzirá muitas espécies reativas de oxigênio, com grandes possibilidades de danos ao sistema de membranas das organelas. O limbo foliar do mamoeiro ficando paralelo à radiação solar protege o PSII contra o excesso da radiação solar.

Os processos primários da fase fotoquímica ( $PI_{abs}$ ) do PSII são bastante resistentes aos déficits hídricos leves (Havaux, 1992). As plantas que apresentam elevado  $PI_{abs}$  sob condições de intensa limitação hídrica do solo são capazes de retardar (pelo menos até certo ponto) a senescência foliar, o que é considerado uma característica importante e favorável para tolerar o estresse nas plantas (Živčák et al., 2008). Neste presente experimento, em todo experimento exceto somente no dia 27/10, o valor do  $PI_{abs}$  no tratamento 50% foi menor que os demais tratamentos (Figura 10). Tal fato evidencia que a limitação hídrica aplicada neste experimento não foi capaz de comprometer a maquinaria fotoquímica durante toda a expansão foliar. Durante este período de estudo da emissão da fluorescência, as plantas de mamoeiro de todos os tratamentos lançaram em média 14 folhas. Tal fato mostra que as últimas avaliações foram feitas na 13<sup>a</sup> e 14<sup>a</sup> folhas. Estas folhas são consideradas as folhas de maior taxa fotossintética da planta de mamoeiro (Wang et al., 2014).

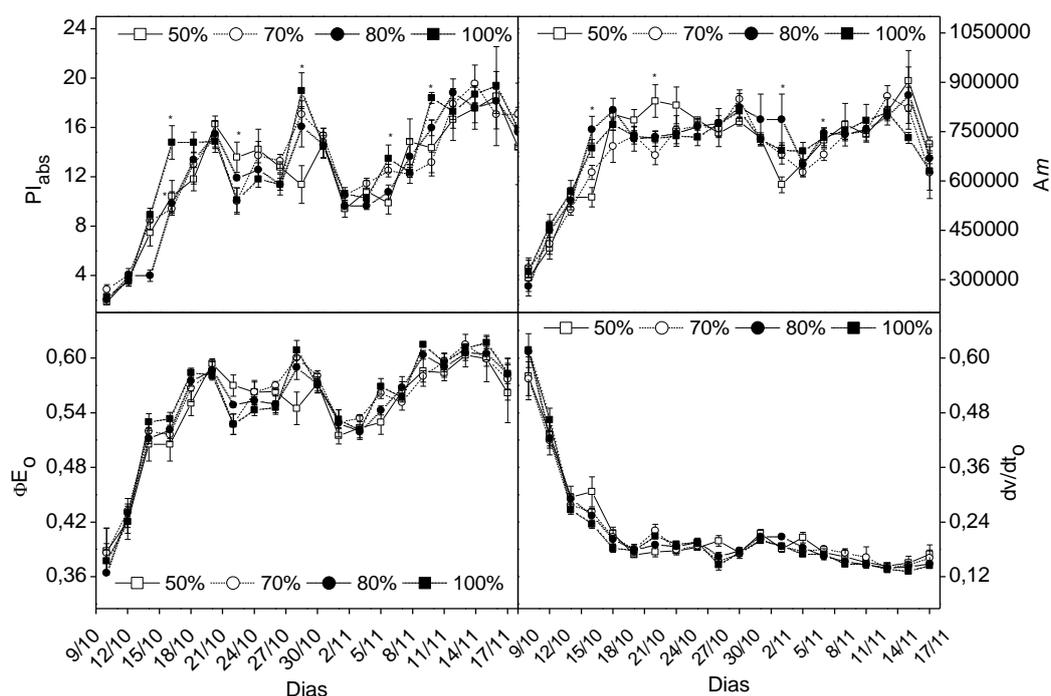


Figura 10:  $PI_{abs}$ ,  $Am$ ,  $\Phi E_o$ , e  $dv/dt_o$  obtida por meio do fluorímetro *Pocket PEA* não-modulado, em folhas do genótipo de *Carica papaya* L. 'Golden THB' - submetido aos diferentes níveis de limitação hídrica (50%, 70%, 80% e 100% da capacidade de água do substrato). Cada símbolo representa a média de seis repetições e as barras indicam o erro padrão de cada tratamento.

A manutenção da síntese de pigmentos entre os tratamentos, obtida pelo índice SPAD, pode explicar a estabilidade da variável  $RC/CS_o$  (Figura 11) a qual está relacionada ao número de centros de reação ativos, e pode ser correlacionada

à concentração de clorofilas nas folhas (Castro et al., 2011). Novamente, em todos os tratamentos, independentemente da quantidade de água no substrato, houve a manutenção nos valores de RC/CS, o que mostra que, durante todo o período de expansão da folha, e até o tamanho final desta (Figura 11), os centros de reação se mantiveram em plena atividade (Strasser et al., 2004).

Em genótipos de mamoeiro, Castro (2014) observou que a relação  $F_v/F_m$  e o estado fisiológico do aparato fotossintético avaliado por meio da relação  $F_o/F_m$ , não estavam relacionados à concentração de clorofila, quando esta concentração estava em nível considerado adequado ( $500 \mu\text{mol m}^{-2}$ ). Contudo, abaixo deste valor, observou uma relação linear entre a concentração de clorofilas totais e a atividade do PSII, quando esta atividade foi avaliada pelas razões  $F_v/F_m$  e  $F_o/F_m$ . Essa falta de correlação sugere que, para o mamoeiro, a diminuição da atividade do PSII ocorre a um valor inferior a  $500 \mu\text{mol m}^{-2}$  (Campostrini e Glenn, 2007; Castro et al., 2014). Entre os tratamentos com diferentes quantidades de água no substrato, a manutenção da concentração de clorofila observada neste trabalho pode justificar a manutenção das variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila.

Torres-Netto (2005) avaliaram o efeito do estresse hídrico em duas cultivares de mamoeiro ('Golden' e 'UENF / Caliman 01') (plantas de três meses em vasos de 12 L), cultivadas por 24 dias com um déficit de água no solo (20% de conteúdo de água no solo) e observou diminuição no potencial hídrico da folha, teor de água relativo da folha, crescimento e condutância estomática. Além disso, após 24 dias de estresse hídrico (considerado estresse severo), a diminuição da disponibilidade de água do solo nos vasos causou uma diminuição significativa na eficiência fotoquímica máxima do PSII e no *quenching* fotoquímico, indicando um efeito não estomático negativo do estresse hídrico no metabolismo fotoquímico das folhas. Tal resultado pode mostrar que neste presente experimento, 50% da água aplicada em relação à quantidade considerada adequada, pode ser considerado um estresse leve, uma vez que não comprometeu a maquinaria fotoquímica do genótipo 'Golden THB' estudado. De fato, na condição de um estresse hídrico considerado leve, outros mecanismos associados à fotorrespiração e à reação de

Mehler, podem drenar o poder redutor formado na fase fotoquímica, o que pode evitar danos intensos ao PSII (Wingler et al., 1999; Chaves et al., 2002).

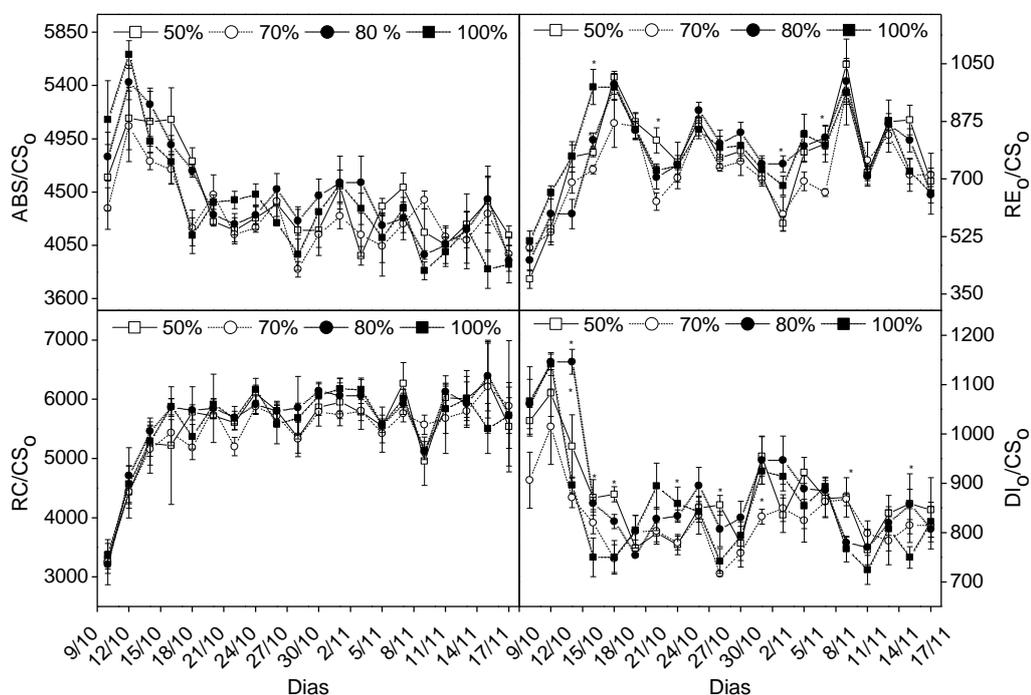


Figura 11: ABS/CS<sub>0</sub>, RE/CS<sub>0</sub>, RC/CS<sub>0</sub>, DI<sub>0</sub>/CS<sub>0</sub> obtida por meio do fluorímetro Pocket PEA não-modulado, em folhas do genótipo de *Carica papaya* L. 'Golden THB' - submetido aos diferentes níveis de limitação hídrica (50%, 70%, 80% e 100% da capacidade de água do substrato). Cada símbolo representa a média de seis repetições e as barras indicam o erro padrão de cada tratamento.

A variável  $V_j$ , que representa o número de centro de reações fechados relativos ao número total de centros de reações que podem estar fechados (Goltsev et al., 2016), apresentou uma correlação negativa com a ontogenia foliar (Figura 13). Conforme a folha desenvolve, ocorre aumento da síntese de clorofilas e do número de centros de reações que podem ser reduzidos. Desta forma, mais energia luminosa é demandada para reduzir completamente os centros de reações ativos. O aumento da variável  $dv/dt$  indica que a reoxidação da  $Q_A^-$  em  $Q_A$  é inibida sob condições de estresse (Wang et al., 2012). No entanto, neste presente estudo com mamoeiro 'Golden THB', os valores foram estáveis, o que significa que o estresse aplicado não interferiu na atividade da  $Q_A$ .

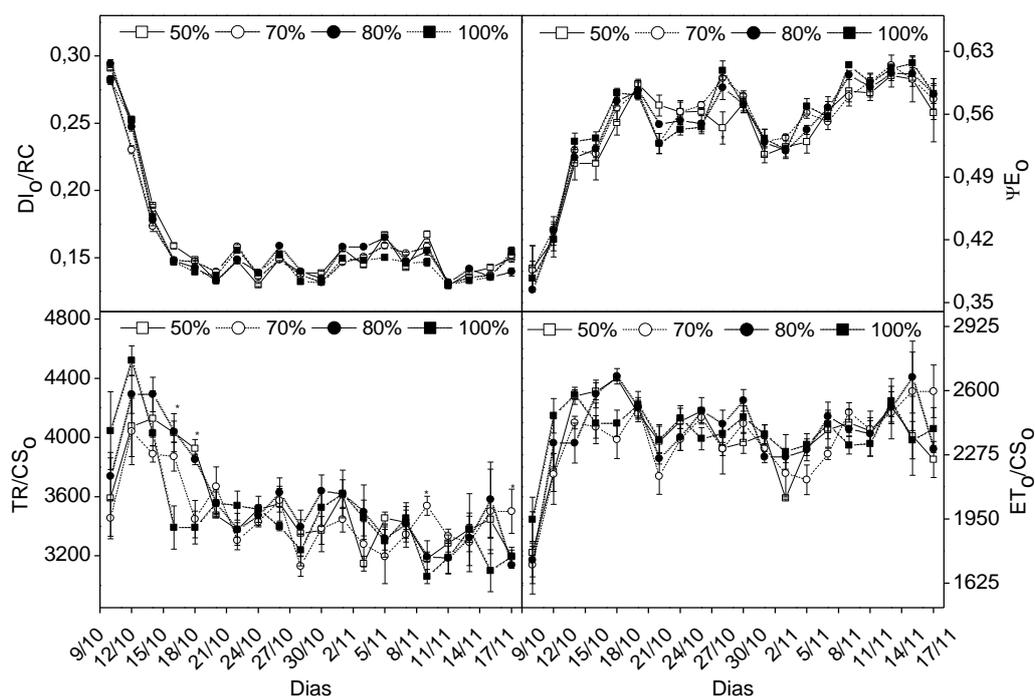


Figura 12:  $DI_0/RC$ ,  $\Psi E_0$ ,  $TR/CS_0$ ,  $ET_0/CS_0$  obtida por meio do fluorímetro *Pocket PEA* não-modulado, em folhas do genótipo de *Carica papaya* L. 'Golden THB' - submetido aos diferentes níveis de limitação hídrica (50%, 70%, 80% e 100% da capacidade de água do substrato). Cada símbolo representa a média de seis repetições e as barras indicam o erro padrão de cada tratamento.

Durante a ontogenia foliar, é possível observar que determinadas variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila aumentaram de valor (Figuras 13 e 14). Considerando que o desenvolvimento do aparato fotossintético está diretamente correlacionado à síntese de pigmentos fotossintéticos, ou seja, as folhas mais jovens possuem o aparato fotossintético ainda incompleto, mas com o desenvolvimento foliar, há uma completa formação da maquinaria fotoquímica, e elevação da síntese de clorofilas (índice SPAD). Este fato mostra que, para o genótipo 'Golden THB' em estudo, a eficiência fotoquímica torna-se máxima em valores de índice SPAD próximo a 50 (Figura 13). Desta forma, as variáveis  $\Phi E_0$ ,  $\Psi E_0$  e  $A_m$  apresentaram uma relação positiva e elevada com a ontogenia foliar/expansão da folha, o que pode ser explicado devido ao aumento da síntese de clorofilas durante a expansão da folha. Nesta figura, pode-se observar que a limitação hídrica aplicada não alterou a relação entre o índice SPAD e as variáveis da fluorescência  $V_j$ ,  $\Psi E_0$ ,  $\Phi E_0$  e  $A_m$ , o que evidencia novamente que o estresse hídrico aplicado durante a expansão foliar até o crescimento máximo foliar não comprometeu a eficiência fotoquímica das folhas do genótipo em estudo.

De acordo com o trabalho de Castro (2005), a menor concentração de clorofila nas folhas do mamoeiro reduz o tamanho efetivo do complexo antena, a taxa de captura máxima de PSII, a concentração de centros de reação ativos e o transporte de elétrons em uma seção transversal do PSII.

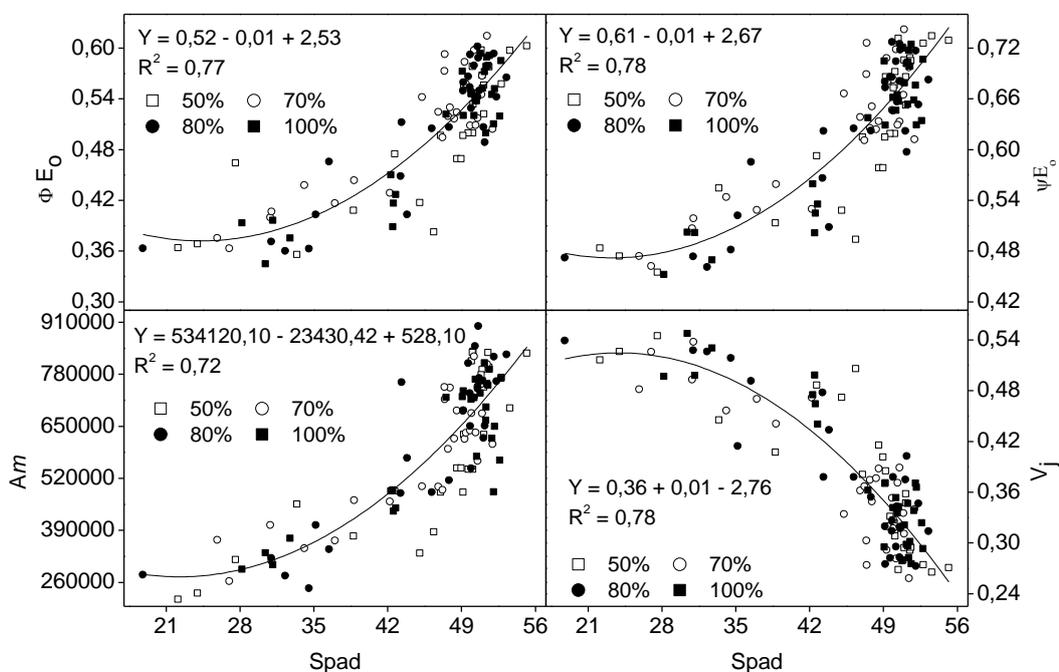


Figura 13: Índice Spad correlacionado aos valores de  $V_j$ ,  $\Psi E_o$ ,  $\Phi E_o$ , e  $Am$  ao longo do tempo obtidos por meio do fluorímetro *Pocket PEA* não-modulado, em folhas do genótipo de *Carica papaya* L. 'Golden THB' - submetido aos diferentes níveis de limitação hídrica (50%, 70%, 80% e 100% da capacidade de água do substrato). Cada símbolo representa a média de seis repetições.

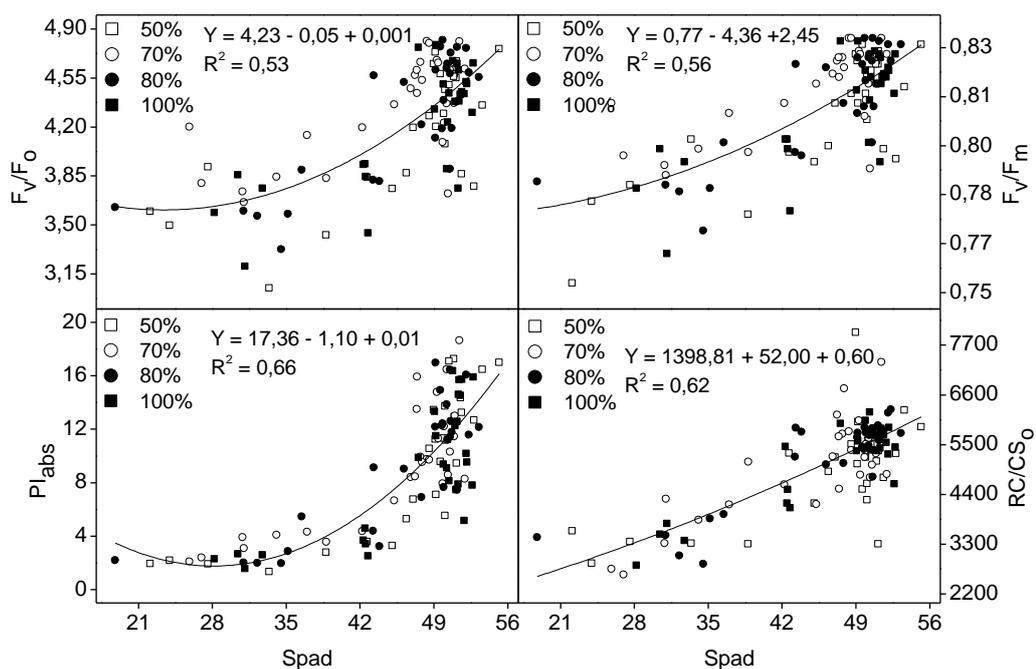


Figura 14: Índice Spad correlacionado aos valores de  $F_v/F_o$ ,  $F_v/F_m$ ,  $PI_{abs}$  e  $RC/CS_0$  ao longo do tempo obtidos por meio do fluorímetro *Pocket* PEA não-modulado, em folhas do genótipo de *Carica papaya* L. 'Golden THB' - submetido aos diferentes níveis de limitação hídrica (50%, 70%, 80% e 100% da capacidade de água do substrato). Cada símbolo representa a média de seis repetições.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

A limitação hídrica pode afetar diretamente a produtividade das lavouras, e atualmente é uma problemática na agricultura de diversas regiões devido às mudanças climáticas globais. Um déficit hídrico acentuado pode ocasionar redução no crescimento, efeitos negativos no desenvolvimento do mamoeiro e, desta maneira, reduzir intensamente a produtividade. Desta forma, para propor métodos de manejo eficientes e que contribuam para a economia de água, é importante conhecer os efeitos da disponibilidade hídrica do solo sobre as respostas fisiológicas do mamoeiro. Este trabalho teve como objetivo avaliar as respostas relacionadas ao crescimento e a fisiologia da cultivar '*Golden THB*' sob diferentes níveis de disponibilidade hídrica no substrato. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos corresponderam aos níveis de disponibilidade hídrica de 50, 70, 80 e 100% da capacidade de retenção de água do substrato. As plantas foram cultivadas por 200 dias, desde a data da semeadura. A partir do dia 11/08 até o dia 17/11 (197 DAS), foram realizadas medidas da altura, diâmetro do caule (DC), comprimento da nervura central (CNC), área foliar total (AFT) e número de folhas fixas (NF). O índice SPAD foi determinado a cada dois dias a partir do dia 08/10/20 (157 DAS) até o dia 17/11/20 (197 DAS) durante a expansão foliar (ontogenia foliar). A eficiência do uso da água (EUA) foi calculada com base nas variáveis de crescimento. A emissão da fluorescência emitida pela clorofila foi determinada a cada dois dias a partir do dia 10/10/20 (159 DAS) até o dia 17/11/20 (197 DAS). Os dados foram submetidos à análise de variância com aplicação do teste Tuckey em 5% de probabilidade para efetuar a comparação entre as médias de tratamentos e foram aplicados modelos

de regressões lineares ou polinomiais para determinação dos parâmetros da curva e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Alterações em relação à eficiência fotoquímica somente foram observadas durante a ontogenia foliar, e esta eficiência fotoquímica teve alterações durante o desenvolvimento da folha. Estas alterações fotoquímicas foram fortemente associadas à concentração de clorofilas na folha em expansão. A máquina fotoquímica do genótipo '*Golden THB*' mostrou tolerância ao estresse hídrico aplicado, tendo em vista que não foi observado nenhum efeito nas várias variáveis associadas à eficiência fotoquímica do fotossistema II (PSII), bem como na concentração de clorofilas totais na folha. Um dos principais efeitos entre os tratamentos, foi a diferença na EUA com base no incremento da altura, AFT, DC e CNC, por unidade de água aplicada, de forma que o tratamento 50% apresentou maior EUA para todas essas variáveis. A EUA relacionada à altura, ao diâmetro do caule e à área foliar foi significativamente maior no tratamento de 50% de disponibilidade hídrica em relação aos demais tratamentos (70%, 80% e 100%). As variáveis altura, DC, AFT e NF não foram influenciadas pela restrição hídrica. Apenas o CNC foi impactado negativamente pelo estresse hídrico aplicado em nível de 50% em relação à capacidade de campo devido aos efeitos hidráulicos, os quais influenciaram o crescimento e a expansão celular. O diâmetro do caule, a área foliar total, a altura e o número de folhas não foram influenciados pelos níveis de disponibilidade hídrica aplicados neste experimento. Desta forma, o estresse hídrico aplicado em nível de 50% em relação à capacidade de campo, afetou negativamente apenas a expansão foliar (CNC), e não alterou a concentração de clorofilas totais e a eficiência fotoquímica durante a ontogenia foliar. A maquinaria fotoquímica do '*Golden THB*' se mostrou tolerante no nível de estresse aplicado quando avaliada por meio da emissão da fluorescência da clorofila.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agustí, J., Gimeno, I., Merelo, P., Serrano, R., Cercós, M., Conesa, A., Talón, M., Tadeo, F. R. (2012) Early gene expression events in the laminar abscission zone of abscission-promoted citrus leaves after a cycle of water stress/rehydration: involvement of citbhlh1. *Journal of Experimental Botany*, 63 (17): 6079–91.
- Ahanger, M. A., Morad-Talab, N., Abd-Allah, E. F., Ahmad, P., Hajiboland, R. (2016) Plant growth under drought stress. *In: Water Stress and Crop Plants*, 649–68. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Almeida, F. T., Marinho, C. S., Souza, E. F., Grippa, S. (2003) Expressão sexual do mamoeiro sob diferentes lâminas de irrigação na região norte fluminense. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25 (3):383–85.
- Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C., Lei, W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6 (9): 2026–32.
- Azevedo, P. V., Sousa, I. F., Silva, B. B., Silva, V. P. R. (2006) Water-use efficiency of dwarf-green coconut (*Cocos nucifera* L.) orchards in northeast Brazil. *Agricultural Water Management*, 84 (3): 259–64.
- Baker, N. R. (2008) Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59:89-113.
- Barradas, A., Correia, P. M. P., Silva, S., Mariano, P., Pires, M. C., Matos, A. R., Silva, A. B., Silva, J. M. (2021) Comparing machine learning methods for classifying plant drought stress from leaf reflectance spectra in *Arabidopsis thaliana*. *Applied Sciences*, 11 (14): 6392.
- Blum, A. (2009) Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research* 112 (2–3): 119–23.
- Cabrera, J. A., Ritter, A., Raya, V., Pérez, E., Lobo, M. G. (2021) Papaya (*Carica*

- papaya* L.) phenology under different agronomic conditions in the subtropics. *Agriculture*, 11 (2): 173.
- Campostrini, E., Glenn, D. M. (2007) Ecophysiology of papaya: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19 (4): 413–24.
- Campostrini, E., Schaffer, B., Ramalho, J. D., González, J. C., Rodrigues, W. P., da Silva, J. R., Lima, R. S. (2018). Cap. 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*. Cambridge: Academic Press, p. 481-505.
- Carr, M. K. V. (2014). The water relations and irrigation requirements of papaya (*Carica papaya* L.): a review. *Experimental Agriculture*, 50 (2): 270–83.
- Castro, F. A., Campostrini, E., Torres-Netto, A., Viana, L. H. (2011) Relationship between photochemical efficiency (JIP-Test Parameters) and portable chlorophyll meter readings in papaya plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 23 (4): 295–304.
- Castro, F. A., Campostrini, E., Torres-Netto, A., Gomes, M. M. A., Ferraz, T. M., Glenn, D. M. (2014) Portable Chlorophyll Meter (PCM-502) values are related to total chlorophyll concentration and photosynthetic capacity in papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 26 (3-4): 201–10.
- Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., Carvalho, I., Faria, T., Pinheiro C. (2002) How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89 (7): 907–16.
- Claeys, H., Inzé, D. (2013) The agony of choice: How plants balance growth and survival under water-limiting conditions. *Plant Physiology*, 162 (4): 1768–79.
- Clarkson, D. (1996) Mineral nutrition of higher plants. *Annals of Botany*, 78 (4): 527–528.
- Clemente, H. S., Marler, T. E. (1996) Drought stress influences gas-exchange responses of papaya leaves to rapid changes in irradiance. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121 (2): 292–95.
- Coelho, E. F., Oliveira, A. M. G., Coelho Filho, M. A., Cruz, J. L. (2015) Irrigação e fertirrigação na cultura do mamão. In: Souza, V. F., Marouelli, W. A., Coelho, E. F., Pinto, J. M., Coelho Filho, M. A. (eds.). *Irrigação e fertirrigação em fruteiras e hortaliças*. Brasília: Embrapa, p. 441–472.
- Crane, J. H. (2019) Papaya growing in the Florida home landscape. Florida. <https://edis.ifas.ufl.edu>. Acesso em: 20 de jun. de 2021.
- Carvalho, M. H. C. (2008) Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling & Behavior*, 3 (3): 156–65.

- Cruz, J. L. (2021) A cultura do mamoeiro. *In*: Oliveira, A. M. G., Meissner Filho, P. E. (Eds.), 1 ed. Brasília: EMBRAPA.
- Dantas, J. L. L., Lima, J. F. (2000) Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro-avaliação de linhagens e híbridos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23: 617–21.
- Dias, M. C., Brüggemann, W. (2010) Limitations of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* under drought stress: gas exchange, chlorophyll fluorescence and calvin cycle enzymes. *Photosynthetica*, 48 (1): 96–102.
- Van Doorn, W. G. (2002) Effect of ethylene on flower abscission: a survey. *Annals of Botany*, 89 (6): 689–93.
- El-Sharkawy, M.A., Cock, M.J.H., Hernandez, A.D.P. (1985) Stomatal response to air humidity and its relation to stomatal density in a wide range of warm climate species. *Photosynthesis Research*, 7: 137–49.
- Embrapa (2020) Produção brasileira de mamão em 2021. [http://www.cnpmf.embrapa.br/Base\\_de\\_Dados/index\\_pdf/dados/brasil/mao/b1\\_mamao.pdf](http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/mao/b1_mamao.pdf). Acesso em: 20 de jun. de 2021.
- Ferraz, T. M., Rodrigues, W. P., Torres-Netto, A., Reis, F. O., Peçanha, A. L., Figueiredo, F. A. M. M. A., Sousa, E. F., Glenn, D. M., Campostrini, E. (2016) Comparison between single-leaf and whole-canopy gas exchange measurements in papaya (*Carica papaya* L.) plants. *Scientia Horticulturae* 209: 73–78.
- Ferreira, M. M. C. (2015) *Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações*. Campinas, Editora Unicamp. 493p.
- Flexas, J., Díaz-Espejo, A., Conesa, M. A., Coopman, R. E., Douthe, C., Gago, J., Gallé, A., Medrano, H., Ribas-Carbo, M., Tomàs, M., Niinemets, Ü. (2016). Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub> and rubisco as targets for improving intrinsic water use efficiency in C<sub>3</sub> plants. *Plant, Cell & Environment*, 39 (5): 965–82.
- Flexas, J., Medrano, H., (2002) Energy dissipation in C<sub>3</sub> plants under drought. *Functional Plant Biology*, 29 (10): 1209.
- Fuentes, G., Santamaría, J. M. (2014) Papaya (*Carica papaya* L.): origin, domestication, and production. *In*: Ming, R., Moore, P. H. (eds.) *Genetics and Genomics of Papaya*. New York: Springer New York. p. 3 -15.
- 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): 869–93.
- Guinn, G. (1976) Water deficit and ethylene evolution by young cotton bolls. *Plant Physiology* 57 (3): 403–5.
- Gunasekera, D., Berkowitz, G. A. (1993) Use of transgenic plants with ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase antisense DNA to evaluate the rate

- limitation of photosynthesis under water stress. *Plant Physiology*, 103 (2): 629–35.
- Haitz, M., Lichtenthaler, H. K. (1988) The measurement of rfd-values as plant vitality indices with the portable field chlorophyll fluorometer and the PAM-fluorometer. - In: Lichtenthaler, H. K. (ed.): Applications of Chlorophyll Fluorescence. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht - Boston – London, 249-254.
- Hatfield, J. L., Dold, C. (2019) Water-use efficiency: advances and challenges in a changing climate. *Frontiers in Plant Science*, 10:103.
- Haupt-Herting, S., Fock, H. P. (2000) Exchange of oxygen and its role in energy dissipation during drought stress in tomato plants. *Physiologia Plantarum*, 110 (4): 489–95.
- Havaux, M., Strasser, R. J., Hubert, G. (1991) A theoretical and experimental analysis of the Qt, and QN coefficients of chlorophyll fluorescence quenching and their relation to photochemical and nonphotochemical events. *Photosynthesis Research*, 27: 41–55.
- Havaux, M. (1992) Stress tolerance of photosystem II in vivo antagonistic effects of water, heat, and photoinhibition stresses. *Plant Physiology*, 100.
- Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Modarres-Sanavy, S. A. M., Mokhtassi-Bidgoli, A., Nicola, S. (2016) Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 106:141–48.
- Hutton, R. J., Landsberg, J. J., Sutton, B. G. (2007) Timing irrigation to suit citrus phenology: a means of reducing water use without compromising fruit yield and quality? *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47 (1): 71.
- Jangpromma, N., Songsri, P., Thammastirirak, S., Jaisil, P. (2010) Rapid assessment of chlorophyll content in sugarcane using a spad chlorophyll meter across different water stress conditions. *Asian Journal of Plant Sciences*, 9 (6): 368–74.
- Jiménez, V. M., Mora-Newcomer, E., Gutiérrez-Soto, M. V. (2014) Biology of the papaya plant. In: Ming, R., Moore, P. H. (eds.) *Genetics and Genomics of Papaya*. New York: Springer, p.17–33.
- Jones, H. G. (1999) Use of infrared thermometry for estimation of stomatal conductance in irrigation scheduling. *Agricultural and Forest Meteorology*, 95(3): 139-149.
- Kanechi, M., Uchida, N., Yasuda, T., Yamaguchi, T. (1996) Non-stomatal inhibition associated with inactivation of rubisco in dehydrated coffee leaves under unshaded and shaded conditions. *Plant and Cell Physiology*, 37 (4): 455–60.
- Kempe, A., Lautenschläger, T., Lange, A., Neinhuis, C. (2013) How to become a tree without wood-biomechanical analysis of the stem of *Carica papaya* L. *Plant Biology*, 16 (1): 264-271.

- Khan, A. L., Al-Harrasi, A., Numan, M., AbdulKareem, N. M., Mabood, F., Al-Rawahi, A. (2021) Spectroscopic and molecular methods to differentiate gender in immature date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Plants*, 10 (3): 536.
- Kim, M. S., Moore, P. H., Zee, F., Fitch, M. M. M., Steiger, D. L., Manshardt, R. M., Paull, R. E., Drew, R. A., Sekioka, T., Ming, R. (2002) Genetic diversity of *Carica papaya* as revealed by AFLP markers. *Genome*, 45 (3): 503–12.
- Lawlor, D. W. (1995) Effects of water deficit on photosynthesis. In: Smirnoff, N. (ed.). *Environment and Plant Metabolism*. Scientific Publishers, 129–160.
- Liang, G., Liu, J., Zhang, J., Guo, J. (2020) Effects of drought stress on photosynthetic and physiological parameters of tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 145 (1): 12–17.
- Lima, R. S. N. (2014) Irrigação parcial do sistema radicular e déficit de irrigação regulado em mamoeiro (*Carica papaya* L.): Capacidade fotossintética, crescimento e eficiência no uso da água. Tese (Doutorado - Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 129p.
- Lima, R. S. N., Figueiredo, F. A. M. M., Martins, A. O., Deus, B. C. S., Ferraz, T. M., Gomes, M. M. A., Sousa, E. F., Glenn, D. M., Campostrini, E. (2015) Partial rootzone drying (PRD) and regulated deficit irrigation (RDI) effects on stomatal conductance, growth, photosynthetic capacity, and water-use efficiency of papaya. *Scientia Horticulturae*, 183: 13–22.
- Liu, F., Shahnazari, A., Andersen, M. N., Jacobsen, S. E., Jensen, C. R. (2006) Physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) to partial rootzone drying: ABA signalling, leaf gas exchange, and water use efficiency. *Journal of Experimental Botany*, 57 (14): 3727–35.
- Lu, C., Zhang, J., (1999) Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Experimental Botany*, 50 (336): 1199–1206.
- Lucena, C. C., Gerum, Á. F. A. A., Santana, M. A., Souza, J. S. (2021) Aspectos Socioeconômicos. In: Oliveira, A. M. G. Meissner Filho, P. E. *A Cultura Do Mamoeiro*, Brasília, DF: Embrapa, 426p.
- Mahouachi, J., Socorro, A. R., Talon, M. (2006) Responses of papaya seedlings (*Carica papaya* L.) to water stress and re-hydration: growth, photosynthesis and mineral nutrient imbalance. *Plant and Soil*, 281 (1–2): 137–46.
- Mahouachi, J., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A. (2007) Hormonal changes in papaya seedlings subjected to progressive water stress and re-watering. *Plant Growth Regulation* 53, 43–51.
- Manivannan, P., Jaleel, C. A., Chang-Xing, Z., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., Arabia, S. (2008) Variations in growth and pigment composition of sunflower varieties under early season drought stress. *Global Journal of Molecular Sciences*, 3 (2): 50–56.
- Marin, S.L.D., Gomes, J.A., Salgado, J. S., Martins, D.S., Fullin, E. A. (1995)

Recomendações para a cultura do mamoeiro dos grupos Solo e Formosa no estado do Espírito Santo. 4 ed. Vitória: EMCAPA, Circular Técnica, 57p.

- Marler, T. E., Mickelbart, M. V. (1998) Drought, leaf gas exchange, and chlorophyll fluorescence of field-grown papaya. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123 (4): 714–18.
- Maroco, J. P., Rodrigues, M. L., Lopes, C., Chaves, M. M. (2002) Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought - Metabolic and modelling approaches. *Functional Plant Biology*, 29 (4): 451–59.
- Maxwell, K., Johnson, G. N. (2000) Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51 (345): 659–68.
- Migliaccio, K. W., Schaffer, B., Crane, J. H., Davies, F. S. (2010) Plant response to evapotranspiration and soil water sensor irrigation scheduling methods for papaya production in south Florida. *Agricultural Water Management*, 97(10): 1452-1460.
- Ming, R., Yu, Q., Blas, A., Chen, C., Na, J., Moore, P. H. (2008) Genomics of papaya a common source of vitamins in the tropics. In: Moore, P.H., Ming, R. (eds) *Genomics of tropical crop plants. plant genetics and genomics: crops and models*. New York: Springer, p. 405–20.
- Mitra, S. K., Sharma, S. K., Pathak, P. K. (2019) Papaya cultivars of the world. *Acta Horticulturae*, 1250: 15–22.
- Morgan, P.W., He, C. J., Greef, J. A., Proft, M. P. (1990) Does water deficit stress promote ethylene synthesis by intact plants? *Plant Physiology*, 94 (4): 1616–24.
- Morison, J. I.L., Baker, N. R., Mullineaux, P. M., Davies, W. J. (2008) Improving water use in crop production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363 (1491): 639-658.
- Muller, B., Pantin, F., Génard, M., Turc, O., Freixes, S., Piques, M., Gibon, Y. (2011) Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *Journal of Experimental Botany*, 62 (6): 1715–29.
- Netting, A. G. (2000) PH, abscisic acid and the integration of metabolism in plants under stressed and non-stressed conditions: cellular responses to stress and their implication for plant water relations. *Journal of Experimental Botany*, 51 (343): 147–58.
- Ni, Z., Lu, Q., Huo, H., Zhang, H. (2019) Estimation of chlorophyll fluorescence at different scales: a review. *Sensors*, 19 (13): 3000.
- Oliveira, A. M. G., Souza, L. F. S., Raij, B. V., Magalhães, A. F. J., Bernardi, A. C. C. (2004) Nutrição, calagem e adubação do mamoeiro irrigado. Circular Técnica 69, Cruz das Almas: Embrapa, 10p.
- Oliveira, E. J., Amorim, V. B. O., Matos, E. L. S., Costa, J. L., Castellen, M. S., Pádua, J. G., Dantas, J. L. L. (2010) Polymorphism of microsatellite

- markers in papaya (*Carica papaya* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*, 28: 519-530.
- Oliveira, V. S., Santos, K. T. H., Ambrósio, T. J., Santos, J. S. H., Santana, W. R., Malikouski, R. G., Nascimento, A. L., Santos, G. P., Schmildt, O., Schmildt, E. R. (2019) Mathematical modeling for leaf area estimation from papaya seedlings 'Golden THB.' *Journal of Agricultural Science*, 11 (5): 496.
- Paixão, J. S., Silva, J. R., Ruas, K. F., Rodrigues, W. P., Machado Filho, J. A., Bernado, W. P., Abreu, D. P., Ferreira, L. S., Gonzalez, J. C., Griffin, K. L., Ramalho, J. C., Campostrini, E. (2019) Photosynthetic capacity, leaf respiration and growth in two papaya (*Carica papaya*) genotypes with different leaf chlorophyll concentrations. *AoB PLANTS*, 11 (2).
- Pastor, M. C. R. (2002) Different plantation densities for papaya (*Carica papaya*, L) Cv. 'Baixinho de Santa Amalia' culture in the Canary islands. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24 (3): 707–10.
- Pereira, A. F., Carneiro, M. R., Andrade, L. M. (2009) A cultura do mamão. 3. ed. Brasília: Embrapa, 119p.
- Pérez, J. O., D'eeckenbrugge, G. C., Risterucci, A. M., Dambier, D., Ollitrault, P. (2007) Papaya genetic diversity assessed with microsatellite markers in germplasm from the caribbean region. *Acta Horticulturae*, 740: 93–102.
- Posse, R. P., Salassier B., Elias F. S., Messias G. P., Monnerat, Gottardo, R. D. (2009) Relação entre a produtividade do mamoeiro e o déficit hídrico (ky) na região norte fluminense. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 13 (2): 158–64.
- Raddi, S., Giannetti, F., Martini, S., Farinella, F., Chirici, G., Tani, A., Maltoni, A., Mariotti, B. (2021) Monitoring drought response and chlorophyll content in quercus by consumer-grade, near-Infrared (NIR) camera: a comparison with reflectance spectroscopy. *New Forests*, 1–25.
- Reis, F. O., Campostrini, E., Sousa, E. F., Silva, M. G. (2006) Sap flow in papaya plants: laboratory calibrations and relationships with gas exchanges under field conditions. *Scientia Horticulturae*, 110 (3): 254-259.
- Reis, F. O., Campostrini, E. (2008) Trocas gasosas e eficiência fotoquímica potencial em mamoeiro do grupo 'Formosa' cultivado em condição de campo. *Bragantia*, 67 (4): 815–822.
- Resende, M., Henderson, D. W., Fereres, E. (1981) Frequencia de irrigação, desenvolvimento e produção do feijão Kidney 1. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 16 (3): 363-370.
- Rezende, J. A. M., Costa, A. S. (1995) Alternatives for integrated control of papaya ringspot. *Acta Horticulturae*, 370: 129-132.
- Ruas, K. F., Baroni, D. F., Souza, G. A. R., Bernado, W. P., Paixão, J. S., Santos, G. M., Machado Filho, J. A., Abreu, D. P., Sousa, E. F., Rakocevic, M., Rodrigues, W. P., Campostrini, E. (2022) A *Carica papaya* L. genotype with low leaf chlorophyll concentration copes successfully with soil water stress

in the field. *Scientia Horticulturae*, 293: 110722.

- Santos, D. L., Coelho, E. F., Cunha, F. F., Donato, S. L. R., Bernado, W. P., Rodrigues, W. P., Campostrini, E., (2021a) Partial root-zone drying in field-grown papaya: gas exchange, yield, and water use efficiency. *Agricultural Water Management*, 243: 106421.
- Santos, D. L., Coelho, E. F., Oliveira, R. A., Filgueiras, R., Alves, M. S., Rodrigues, W. P., Campostrini, E., Sampaio, A. H. R., Reis, J. B. R. S., Cunha, F. F. (2021b) Impact of soil water regimes and partial root-zone drying in field-grown papaya in semi-arid conditions. *Scientific Reports*, 11 (1): 10638.
- Serrano, L. A. L., Cattaneo, L. F. (2010) O cultivo do mamoeiro no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32 (3).
- Shangguan, Z. P., Shao, M. A., Dyckmans, J. (2000) Nitrogen nutrition and water stress effects on leaf photosynthetic gas exchange and water use efficiency in winter wheat. *Environmental and Experimental Botany*, 44 (2): 141–49.
- Shin, Y. K., Bhandari, S. R., Jo, J. S., Song, J. W., Lee, J. G. (2021) Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, phytochemical contents, and antioxidant activities in lettuce seedlings. *Horticulturae*, 7 (8).
- Silva, F. F., Messias, G. P., Ramos, H. C. C., Damasceno, P. C., Pereira, T. N. S., Viana, A. P., Daher, R. F., Ferregueti, G. A. (2008) Estimation of genetic parameters related to morpho-agronomic and fruit quality traits of papaya. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8 (1): 65–73.
- Silva, J. T., Rashid, Z., Nhut, T. D., Sivakumar, D., Gera, A., Souza Junior, M. T., Tennant, P. F. (2007) Tree and forestry science and biotechnology papaya (*Carica papaya* L.) biology and biotechnology. *Tree and Forestry Science and Biotechnology*, 1 (1): 47–73.
- Skirycz, A., Inzé, D. (2010) More from less: plant growth under limited water. *Current Opinion in Biotechnology*, 21 (2): 197–203.
- Stefanov, D., Terashima, I. (2008) Non-photochemical loss in PSII in high- and low-light-grown leaves of *Vicia faba* quantified by several fluorescence parameters including L(NP), Fo/F'm, a novel parameter. *Physiologia Plantarum*, 133 (2): 327–38.
- Strasser, R. J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples 445 the fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus, M., Path, U., Mohanty, P. (eds.) *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation*. London: CRC Press. p. 445–83.
- Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Srivastava, A. (2004) Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou, G. C., Govindjee (eds.) *Advances in photosynthesis and respiration*, Springer, Dordrecht, (19): 321–62.
- Sugiharto, B., Miyata, K., Nakamoto, H., Sasakawa, H., Sugiyama, T. (1990)

- Regulation of expression of carbon-assimilating enzymes by nitrogen in maize leaf. *Plant Physiology*, (92): 963–969.
- Terzi, R., Sağlam, A., Kutlu, N, m Nar, H., Kadioğlu, A., (2010) Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem ii and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars. *Turkish Journal of Botany*, 34: 1–10.
- Tezara, W., Mitchell, V. J., Driscoll, S. D., Lawlor, D. W., (1999) Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature*, 401:(6756): 914–17.
- Torres-Netto, A. (2005) Atributos fisiológicos e relações hídricas em genótipos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) na fase juvenil. Tese (Doutorado Produção vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 116p.
- Torres-Netto, A., Campostrini, E., Azevedo, L. C., Souza, M. A., Ramalho, J. C., Chaves, M. M., (2009) Morphological analysis and photosynthetic performance of improved papaya genotypes. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 21 (3): 209–22.
- Torres-Netto, A., Campostrini, E., Oliveira, J. G., Yamanishi, O. K. (2002) Portable chlorophyll meter for the quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and the possible use for assessment of the photochemical process in *Carica papaya* L. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14 (3): 203–10.
- Tridge, (2019) Global production of fresh papaya. <https://www.tridge.com/intelligences/papaya/production>. Acesso em: 20 de jun. de 2021.
- Vasconcellos, M A. S., Carvalho, J. E. B., Pádua, T. R. P., Martelleto, L. A. P., Oliveira, A. M. G. (2021) Implantação da cultura e práticas culturais. In: Oliveira, A. M. G., Meissner Filho, P. E. (eds.) *A cultura do mamoeiro*, Brasília: Embrapa, p.153-90.
- Wang, R. H., Chang, J. C., Li, K. T., Lin, T. S., Chang, L. S. (2014) Leaf age and light intensity affect gas exchange parameters and photosynthesis within the developing canopy of field net-house-grown papaya trees. *Scientia Horticulturae*, 165: 365-373.
- Wang, Z. X., Chen, L., Ai, J. , Qin, H. Y., Liu, Y. X., Xu, P. L., Jiao, Z. Q., Zhao, Y., Zhang, Q. T. (2012) Photosynthesis and activity of photosystem II in response to drought stress in Amur grape (*Vitis amurensis* Rupr.). *Photosynthetica*, 50 (2): 189–96.
- Wingler, A., Quick, W. P., Bungard, R. A., Bailey, K. J., Lea, P. J., Leegood, R. C. (1999) The Role of photorespiration during drought stress: an analysis utilizing barley mutants with reduced activities of photorespiratory enzymes. *Plant, Cell and Environment*, 22 (4): 361–73.
- Zhao, C., Liu, B., Piao, S., Wang, X., Lobell, D. B., Huang, Y., Huang, M., et al. (2017) Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. *Proceedings of the National Academy of*

*Sciences*, 114 (35): 9326–31.

Živčák, M., Brestič, M., Olšovská, K., Slámka, P. (2008) Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant, Soil and Environment*, 54 (4): 133–39.

## **CAPÍTULO 2: FENOTIPAGEM DIGITAL ECOFISIOLÓGICA COMO POSSÍVEL FERRAMENTA PARA SEXAGEM DE MUDAS DE MAMOEIRO EM CONDIÇÃO DE ESTRESSE HÍDRICO.**

### RESUMO

No cultivo do mamoeiro para produção de frutos, as plantas hermafroditas (H) são preferidas pelos produtores, tendo em vista a maior qualidade comercial dos frutos devido à maior relação polpa/volume. Desta forma, torna-se essencial identificar o sexo das plantas (que geralmente é feita observando as flores em torno de três a quatro meses após o transplante), para se ter uma população somente de plantas H na lavoura. A sexagem durante a fase inicial do desenvolvimento da planta pode auxiliar na redução dos custos de produção e possibilitar o crescimento de plantas mais vigorosas. Algumas espécies apresentam dimorfismo sexual de características secundárias sob condições de estresse. Em algumas espécies, como no mamoeiro, a limitação hídrica do solo tem se mostrado com potencial uso em permitir a expressão de características fisiológicas a serem utilizadas na identificação do sexo de indivíduos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas de mudas de mamoeiro em condição de limitação hídrica. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e quatro tratamentos correspondentes aos dois genótipos '*Candy*' e '*Golden THB*' e aos dois níveis de disponibilidade hídrica, estresse hídrico e controle. Aos 39 DAS, foi aplicado o estresse hídrico com a suspensão parcial de água durante 48h num tubete de 50 cm<sup>3</sup>, e durante cinco dias consecutivos foram realizadas análises de índice Spad, condutância estomática e índices espectrais de reflectância foliar. As análises da emissão da fluorescência da clorofila e a determinação das variáveis biométricas (DC, MSF, MSC, MSR e NF) foram feitas no último dia de análise. As médias das variáveis obtidas em cada genótipo e para

cada sexo de planta foram comparadas pelo Teste t ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) e as médias das variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila também foram submetidas à análise de coordenadas principais (PCoA). Como resultado, foi observado que as variáveis biométricas NF, DC, MSF e MSR e a condutância estomática não variaram entre os sexos em ambos os genótipos. No genótipo '*Candy*', no último dia de análise, as plantas em que foi aplicado o estresse hídrico apresentaram o índice SPAD 17% maior em plantas femininas do que em plantas hermafroditas. Em relação às variáveis relacionadas à emissão da fluorescência da clorofila, e na condição ótima de disponibilidade hídrica, apenas a  $ET_0/CS_0$  foi significativamente superior em plantas femininas do genótipo '*THB*'. A análise de PCoA na condição de limitação hídrica, mostrou que os indivíduos foram agrupados de acordo com o sexo. Desta forma, a avaliação da fluorescência da clorofila em plantas jovens de mamoeiro dos genótipos '*Golden THB*' e '*Candy*' submetidas ao estresse hídrico moderado pode ser uma ferramenta para distinguir plantas femininas e hermafroditas, quando esta avaliação está associada à análise de PCoA.

## CHAPTER 2: DIGITAL ECOPHYSIOLOGICAL PHENOTYPING AS A POSSIBLE TOOL FOR SEXING PAPAYA SEEDLINGS UNDER WATER STRESSED CONDITIONS.

### ABSTRACT

In papaya cultivation for fruit production, hermaphrodite plants (H) are preferred by producers, considering the higher commercial quality of the fruits due to the higher pulp/volume ratio. In this way, it becomes essential to identify the sex of the plants (which is usually done by observing the flowers around 3 to 4 months after transplanting), in order to have a population of only H plants in the crop. Sexing during the initial phase of plant development can help reduce production costs and enable the growth of more vigorous plants. Some species exhibit sexual dimorphism of secondary traits under stress conditions. In some species, such as papaya, soil water limitation has been shown to have potential use in allowing the expression of physiological characteristics to be used in identifying the sex of individuals. Thus, the objective of this work was to evaluate the physiological responses of papaya seedlings under conditions of water limitation. The experimental design was in randomized blocks with 4 replications and 4 treatments corresponding to two genotypes '*Candy*' and '*Golden THB*' and two levels of water availability, water stress and control. At 39 DAS, water stress was applied with partial suspension of water for 48 hours in a 50 cm<sup>3</sup> tube, and for 5 consecutive days, Spad index, stomatal conductance and spectral indices of leaf reflectance were performed. Analysis of chlorophyll fluorescence emission and determination of biometric variables (DC, MSF, MSC, MSR and NF) were performed on the last day of analysis. The means of the variables obtained in each genotype and for each sex of plant were compared by the t Test at a significance level of 5% ( $p < 0,005$ ) and the means of the variables related to chlorophyll fluorescence were also submitted to principal

coordinate analysis (PCoA). As a result, it was observed that the biometric variables NF, DC, MSF, MSR and stomatal conductance did not vary between sexes in both genotypes. In the '*Candy*' genotype, on the last day of analysis, the plants in which water stress was applied showed the SPAD index was 17% higher in female plants than in hermaphrodite plants. Regarding the variables related to the emission of chlorophyll fluorescence, and in the optimal condition of water availability, only  $ET_o/CS_o$  was significantly higher in female plants of the '*THB*' genotype. The PCoA analysis in the condition of water limitation showed that the individuals were grouped according to gender. Thus, the evaluation of chlorophyll fluorescence in young papaya plants of the '*Golden*' *THB*' and '*Candy*' genotypes subjected to moderate water stress can be a tool to distinguish female and hermaphrodite plants, when this evaluation is associated with PCoA analysis.

## 1. INTRODUÇÃO

No cultivo do mamoeiro para produção de frutos, é essencial identificar o sexo das plantas que serão cultivadas em campo ou em cultivo protegido, uma vez que a comercialização dos frutos é feita somente com os frutos das plantas hermafroditas. Devido à segregação sexual nas mudas obtidas por meio da propagação seminífera, a ausência de uniformidade no *stand* final de plantas hermafroditas causadas por este tipo de propagação, resulta em redução na produtividade comercial, e este fato tem sido um problema na produção comercial de frutos (Ming et al., 2007; Vasconcellos et al., 2021).

Desta forma, para se obter o cultivo uniforme com plantas hermafroditas, as quais são mais produtivas comercialmente (maior relação polpa/volume dos frutos), este cultivo requer o plantio de duas a cinco mudas por cova. Após cerca de três a quatro meses do plantio, ou seja, no início da fase reprodutiva, é realizado o desbaste das plantas (elimina-se as plantas masculinas e femininas), mantendo na cova apenas a planta hermafrodita, de acordo com as características florais. Neste sistema de manejo em que se usa a propagação seminífera, sem o conhecimento do sexo das mudas no momento do plantio, e até cerca de três a quatro meses após o plantio, as plantas (duas a cinco mudas por cova) competem por recursos, como água, a radiação fotossinteticamente ativa (RFA), e nutrientes minerais. Esta competição por recursos pode reduzir o diâmetro do tronco, ter plantas de maior altura (> relação altura/diâmetro) (plantas mais estioladas) e, como resultado, as plantas demandam maior tempo para atingir a emissão da primeira flor.

Em mudas de mamoeiro, a identificação prévia do sexo pode ser uma forma de aumentar a produtividade e reduzir os custos de produção (Honoré et al., 2020). Na fase juvenil, a identificação do sexo do mamoeiro pode ser realizada por meio de diferentes técnicas, como por meio da análise molecular (Vasconcellos et al., 2021) e da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) (Fernandes et al., 2022). Contudo, esses métodos ainda não se mostraram viáveis para utilização comercial.

Algumas espécies apresentam dimorfismo sexual de características secundárias (Retuerto et al., 2018). Em condições ambientais ótimas, os indivíduos de diferentes sexos podem apresentar diferenças fisiológicas, enquanto outros indivíduos apenas manifestam variações pronunciadas, em condições de estresse. No mamoeiro, Lopes (2014) observou que em condição de limitação hídrica, a discriminação isotópica do carbono foi maior em plantas F do que em plantas H, e em condição de disponibilidade hídrica adequada, não houve distinção entre plantas F e H. Assim, reduzir a disponibilidade hídrica do substrato pode alterar o padrão de transpiração nas plantas H e F, o que pode ser uma forma de distinguir o sexo das plantas por meio da avaliação das trocas gasosas, ou por meio de outras avaliações associadas à capacidade fotossintética da folha. Entre as características utilizadas para avaliar a capacidade fotossintética, pode-se relatar a emissão da fluorescência da clorofila e as propriedades espectrais da folha (Manivannan et al., 2008; Barradas et al., 2021; Fernandes et al., 2022).

Durante a fase inicial de crescimento, a caracterização do sexo por meio do emprego de ferramentas da área de ecofisiologia associada à técnica de PCoA pode ser uma alternativa para diferenciar o sexo das plantas durante a fase inicial de crescimento (Khan et al., 2021; Fernandes et al., 2022). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas e de crescimento de plantas jovens de dois genótipos de mamoeiro em condição de estresse hídrico para implementação da sexagem precoce com abordagem uni e multivariada.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. A identificação do sexo no mamoeiro

A espécie *C. papaya* é considerada sexualmente polimórfica, e há relatos de que seja classificada como trioicas (Ming, et al., 2007) ou dioica (Campostrini e Glenn, 2007; Carr, 2014). De acordo com Oliveira et al. (2010), o mamoeiro pode ser classificado como 1) dioicos (quando apresenta flores masculinas e femininas em árvores separadas); 2) ginodioicas (quando apresentam flores femininas em algumas plantas e flores bissexuais (hermafroditas) em outras); e (3) trioicas (quando apresentam flores masculinas, femininas e hermafroditas em plantas diferentes) (Oliveira et al., 2010).

No cultivo do mamoeiro para produção de frutos, é essencial identificar o sexo das plantas, tendo em vista a necessidade do produtor em se ajustar à demanda do comércio de frutos, o qual exige que estes frutos sejam apenas de plantas hermafroditas, devido à maior relação polpa/volume destes órgãos nestas plantas. De acordo com Crane (2019), as plantas femininas produzem frutos de formato redondo, médio a grande, de boa qualidade e com uma cavidade grande, onde se localizam as sementes. As plantas hermafroditas produzem frutos pequenos ou grandes com forma alongada, de boa qualidade e com uma cavidade menor. As plantas masculinas podem produzir flores hermafroditas, as quais podem produzir alguns frutos alongados, em forma de pera, e de baixa qualidade organoléptica (Crane, 2019). Em diversas regiões do mundo, devido à uma maior relação polpa/volume dos frutos, as plantas hermafroditas são as mais utilizadas no cultivo comercial de frutos, uma vez que todas as plantas produzirão frutos. Contudo, no plantio em que se usa plantas femininas, na área de plantio, vai

necessitar da presença de plantas masculinas para polinizá-las, o que pode resultar na perda de 6 a 10% do espaço do campo, com o plantio de plantas masculinas (Ming et al., 2007).

Devido à segregação sexual nas mudas obtidas por meio da propagação seminífera, a ausência de uniformidade de plantas hermafroditas resulta em redução na produtividade comercial, e tem sido um problema na produção comercial de frutos (Ming et al., 2007). Desta forma, para se obter uma planta hermafrodita por cova, requer o plantio de duas a cinco mudas e, após quatro a seis meses, o sexo das plantas pode ser identificado por meio das características da flor. Neste momento da sexagem, a planta hermafrodita é selecionada e mantida, e as plantas femininas e masculinas são eliminadas da cova (Ming et al., 2007; Araya-Valverde et al., 2019; Vasconcellos et al., 2021). No sistema de manejo em que não se sabe o sexo das mudas até o 3º ou 4º mês após o plantio, as plantas crescem competindo por recursos (como água, radiação fotossinteticamente ativa (RFA) e nutrientes minerais). Esta competição pode causar maior altura de plantas, com menor diâmetro (plantas estioladas) e maior tempo para emitir a primeira flor (Ming et al., 2007; Araya-Valverde et al., 2019).

De acordo com Salinas et al. (2018), as plantas com sexo definido e levadas ao campo/cultivo protegido, e tendo somente uma planta por cova, apresentam o crescimento mais rápido, com maior diâmetro, quando comparadas às plantas (três a cinco plantas) que estão crescendo num sistema competitivo (Salinas et al., 2018). Desta maneira, em mudas de mamoeiro a identificação prévia do sexo pode ser uma forma eficiente de aumentar a produtividade comercial, além de auxiliar na redução dos custos de produção (Honoré et al., 2020), como por exemplo, economia na mão de obra, devido a necessidade de cultivar menos mudas, dispensar a seleção das plantas no campo, e redução na aquisição de um número menor de sementes e na menor demanda de insumos como água e nutrientes minerais.

Os avanços recentes em genômica e biologia molecular forneceram ferramentas e recursos que permitem a determinação do sexo em mamoeiro. A identificação do sexo do mamoeiro na fase juvenil pode ser realizada por meio de diferentes técnicas, como por exemplo o uso de marcadores químicos colorimétricos, marcadores morfológicos, uso de técnicas biotecnológicas por meio de sistemas isoenzimáticos e marcadores moleculares. No entanto, esses métodos

ainda não se mostraram economicamente viáveis para utilização comercial (Vasconcellos et al., 2021).

Apesar da técnica de identificação por meio de marcadores moleculares ser realizada há mais de 15 anos em diferentes lugares do mundo, eleva o preço das plantas, por isso muitos pesquisadores e produtores de mamão questionam o desenvolvimento dessa técnica em nível comercial (Honoré et al., 2020). Ainda, além da técnica molecular ser de preço elevado, é ecologicamente não sustentável, uma vez que utiliza reagentes que, quando descartados no solo ou água, possuem um elevado efeito poluidor. Desta forma, os marcadores moleculares mais precisos, confiáveis, econômicos, altamente reprodutíveis e relativamente mais rápidos, são necessários para a identificação do sexo na fase juvenil (Vashistha et al., 2016).

## 2.2. Características ecofisiológicas relacionadas ao sexo

O dimorfismo sexual de características secundárias (diferenças entre indivíduos de diferentes sexos em outras características além dos órgãos sexuais) é comum nas plantas (Retuerto et al., 2018). Essas diferenças podem ser morfológicas, fisiológicas e na resposta as condições ambientais (Rabska et al., 2021). De acordo com variações das condições abióticas, os indivíduos masculinos e femininos das espécies *Pistacia lentiscus* L. (Said et al., 2013), *Amaranthus palmeri* (Korres et al., 2017) e *Juniperus communis* L. (Rabska et al., 2021) apresentaram diferenças no desempenho fotoquímico e na concentração de pigmentos.

No mamoeiro, o estudo realizado por Chutteang et al. (2007) mostrou que a taxa de transporte de elétrons, o conteúdo de clorofila e a condutância estomática foram maiores nas plantas femininas do que nas plantas hermafroditas, e a taxa fotossintética líquida foi maior em aproximadamente 20% nas plantas femininas ( $27,9 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  em folhas femininas e  $22,5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  nas folhas hermafroditas).

A diferença na resposta fisiológica entre os sexos das plantas pode variar de acordo com a espécie e com as condições ambientais. Em algumas espécies, os indivíduos de diferentes sexos podem apresentar diferenças fisiológicas em condições ambientais ótimas (Montesinos et al., 2012; Rabska et al., 2021), enquanto em outras espécies, os indivíduos apenas manifestam variações

pronunciadas em condições de estresse (Lopes, 2014), e na variação sazonal das condições ambientais (Said et al., 2013).

Em condições de elevada intensidade da RFA e de baixa disponibilidade de nitrogênio e fósforo no solo, a concentração de clorofila e a taxa de transporte de elétrons foi menor em plantas femininas, quando comparadas às plantas masculinas de *Amaranthus palmeri* (Korres et al., 2017). Na espécie *Populus cathayana*, as plantas masculinas tiveram maior condutância estomática, transpiração e concentração de cloroplasto e prolina, do que as plantas femininas em condição de reduzida temperatura (Zhang et al., 2011). Em condição de reduzida disponibilidade nutricional, as plantas masculinas da espécie *Juniperus communis* L. tiveram maior taxa de transporte de elétrons, maior eficiência quântica do PSII e maiores valores do *quenching* não fotoquímico (NPQ) do que plantas femininas (Rabska et al., 2021).

De acordo com o sexo do indivíduo, o estresse hídrico pode induzir respostas variadas, como foi observado na espécie *Salix glauca* que, sob limitação hídrica, as plantas femininas (em relação às plantas masculinas) apresentaram maior condutância estomática e menor potencial hídrico foliar (Dudley e Galen, 2007). A limitação hídrica no solo também influenciou algumas características fisiológicas da *Pistacia lentiscus* L., como exemplo a menor taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> e menor condutância estomática em plantas femininas (Correia e Barradas, 2000). Em condição de estresse hídrico no solo, e na espécie *Ginkgo biloba*, a concentração de clorofila, a taxa fotossintética, a condutância estomática e o *quenching* fotoquímico (qP) e não fotoquímico (NPQ) foram superiores em plantas masculinas do que em plantas femininas (He et al., 2016). No mamoeiro, Lopes (2014) observou que em condição de limitação hídrica, a discriminação isotópica do carbono (relacionado inversamente ao valor da relação Ci/Ca) foi maior em plantas F do que em plantas H e em condição de disponibilidade hídrica adequada, não houve distinção entre plantas F e H (Lopes, 2014).

Desta forma, considerando a existência de dimorfismo sexual de características secundárias na cultura do mamoeiro, a fenotipagem sexual com o emprego de ferramentas associadas à ecofisiologia pode ser uma alternativa para diferenciar o sexo das plantas durante a fase juvenil.

### 2.3. Análise de Componentes Principais (PCA) e de Coordenadas Principais (PCoA)

A análise de PCA e PCoA são ferramentas de análise multivariada que representam a variação presente no conjunto de dados usando um pequeno número de fatores (Mohammadi e Prasanna, 2003). Tal análise, tem como objetivo reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados, preservando o máximo de “variabilidade” (ou seja, informações estatísticas) (Jolliffe e Cadima, 2016). Os dados são transformados para criar novas variáveis e eixos que respondem por mais variação nos dados originais do que qualquer variável isolada. Desta forma, muitas variáveis podem ser examinadas simultaneamente (Lezzoni, 1991).

Na análise PCA, procura-se redistribuir a variação observada nos eixos originais de forma a se obter um conjunto de eixos ortogonais não correlacionados. Esse método consiste em projetar os dados multivariados em um espaço de dimensão menor, reduzindo assim a dimensionalidade do espaço original do conjunto de dados sem que as relações entre as amostras sejam afetadas (Granato et al., 2018).

Para representar as variações presentes em muitas variáveis, é realizada a transformação da matriz de dados por meio de um número menor de “fatores”, também denominados de componentes principais (Morgano et al., 1999; Ferreira, 2015). Cada componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais e descreve uma porcentagem da variância total dos dados. Desta forma, um novo sistema de eixos é construído, que são denominados de fatores, componentes principais, variáveis latentes ou autovetores, para representar as amostras, no qual a natureza multivariada dos dados pode ser visualizada em poucas dimensões (Morgano et al., 1999; Ferreira, 2015). Cada componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais, são independentes entre si, e estimados com o propósito de reter, em ordem de estimação, o máximo de informação, em termos da variação total contida nos dados (Hongyu et al., 2016).

Dessa forma, é possível identificar quais variáveis originais são passíveis de descarte, que são aquelas que explicam percentuais muito reduzidos da variância total que, além de serem pouco informativas, promovem acréscimo no trabalho de avaliação, e não apresentam informação adicional (Meira et al., 2013). De acordo com Jolliffe (1973) e Meira et. al. (2013), as variáveis relacionadas aos componentes cuja variância (autovalor) for inferior a 0,7 devem ser descartadas.

Esta técnica (PCA) possibilita a geração de índices e agrupamento de indivíduos, pois agrupa os indivíduos de acordo com a variação, ou seja, os

indivíduos são agrupados segundo as variâncias, representado pela variação do conjunto de características que define o indivíduo (Varella, 2008).

A PCoA é um método de escalonamento ou ordenação que começa com uma matriz de dissimilaridade entre um conjunto de indivíduos e tem como objetivo produzir um gráfico de menor dimensão de dados de tal forma que as distâncias entre os pontos do gráfico sejam próximas das diferenças originais (Mohammadi e Prasanna, 2003). Assim, a matriz de ponto de partida de semelhanças ou diferenças para PCoA é diferente daquela de PCA, que começa com a matriz de dados inicial.

A PCoA representa as distâncias entre amostras em um espaço de baixa dimensão. Especificamente, a correlação linear entre as distâncias é maximizada na matriz de distâncias e as distâncias em um espaço de baixa dimensão. O primeiro passo é a construção de uma matriz de (dis)similaridade que pode ser calculada a partir de variáveis semiquantitativas, quantitativas, qualitativas e mistas. Embora se baseie em uma matriz de (dis)similaridade, pode ser semelhante em interpretação com PCA devido à derivação por autoanálise (Mohammadi e Prasanna, 2003).

Quando há relativamente poucos caracteres e nenhum dado ausente, os resultados da PCA e da PCoA são semelhantes. No entanto, quando há dados perdidos, o uso da PCoA é mais recomendado, pois na PCA, cada valor ausente é simplesmente substituído pelo valor médio da variável e, como consequência, indivíduos com muitos dados ausentes podem ser agrupados mais próximo do centro do grupo. Para superar o problema de falta de dados na PCA, o coeficiente entre dois indivíduos deve ser calculado independentemente usando apenas os caracteres que foram registrados para ambos os indivíduos. Desta forma, o PCoA é recomendado em vez do PCA, quando há muitos dados ausentes e quando há menos indivíduos do que caracteres (Rohlf, 1972).

Fernandes et al. (2022) avaliaram a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) associada às técnicas multivariadas como ferramenta para identificação do sexo de mudas e sementes de mamoeiro. Os autores observaram que os espectros de NIR tanto das folhas de mudas quanto de sementes, foram similares entre os sexos não sendo possível identificar diferenças espectrais entre o tipo de sexo. No entanto, o uso de PCA apresentou resultados satisfatórios para discriminação de sementes e mudas por tipo de sexo com potencial para ser

utilizado como um método rápido de sexagem de mudas e sementes de mamoeiro (Fernandes et al., 2022).

O método de PCA, associado aos métodos de infravermelho e de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), foi capaz de diferenciar entre amostras foliares de plantas masculinas e femininas de tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) (Khan et al., 2021).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Localização e delineamento experimental

O experimento foi realizado em casa de vegetação no campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada em Campos dos Goytacazes, RJ (21°44'47''S e 41°18'24''W e 10 m de altitude). Neste local, as sementes foram semeadas no dia 26/01/2022 em tubos plásticos (tubetes) de 50 cm<sup>3</sup> com uso do substrato comercial Basaplant<sup>®</sup> adicionado de 0,55 g de Osmocote<sup>®</sup> 19-6-10 Mini Prill (3M) em cada tubete. A irrigação foi realizada diariamente por micro aspersão cinco vezes por dia (nos horários de 6h, 9h, 12h, 14h e 17h).

As sementes começaram a germinar 15 dias após a semeadura (DAS) e no período de 26/01/2022 a 05/03/2022, as mudas dos genótipos '*Golden THB*' e '*Candy*' foram cultivadas em casa de vegetação. A cobertura da casa de vegetação proporcionou redução de  $\cong 30\%$  da radiação fotossinteticamente ativa (RFA). A RFA máxima dentro da casa de vegetação foi de aproximadamente 1300  $\mu\text{mol}$  sob temperatura média de 36°C e máxima (média) de 47°C, umidade relativa média de 63% e DPV<sub>ar</sub> médio de 3,3 kPa com valores máximos acima de 8 kPa. Os valores diários das variáveis ambientais são apresentados na Figura 1 (A, B e C).

Para diminuir a velocidade de evapotranspiração, no dia 05/03/2020 (37 DAS) as mudas foram transferidas para uma bancada (dentro da casa de vegetação) sob sombrite (RFA máxima de  $\cong 400 \mu\text{mol}$ ). Neste ambiente, foi observada temperatura média de 28,5°C e máxima (média) de 37,5°C, umidade

relativa média de 71% e  $DPV_{ar}$  médio de 2,3 kPa com valores máximos próximos a 4 kPa. A Figura 1 (D, E e F) mostra os dados climáticos deste ambiente sob sombrite.

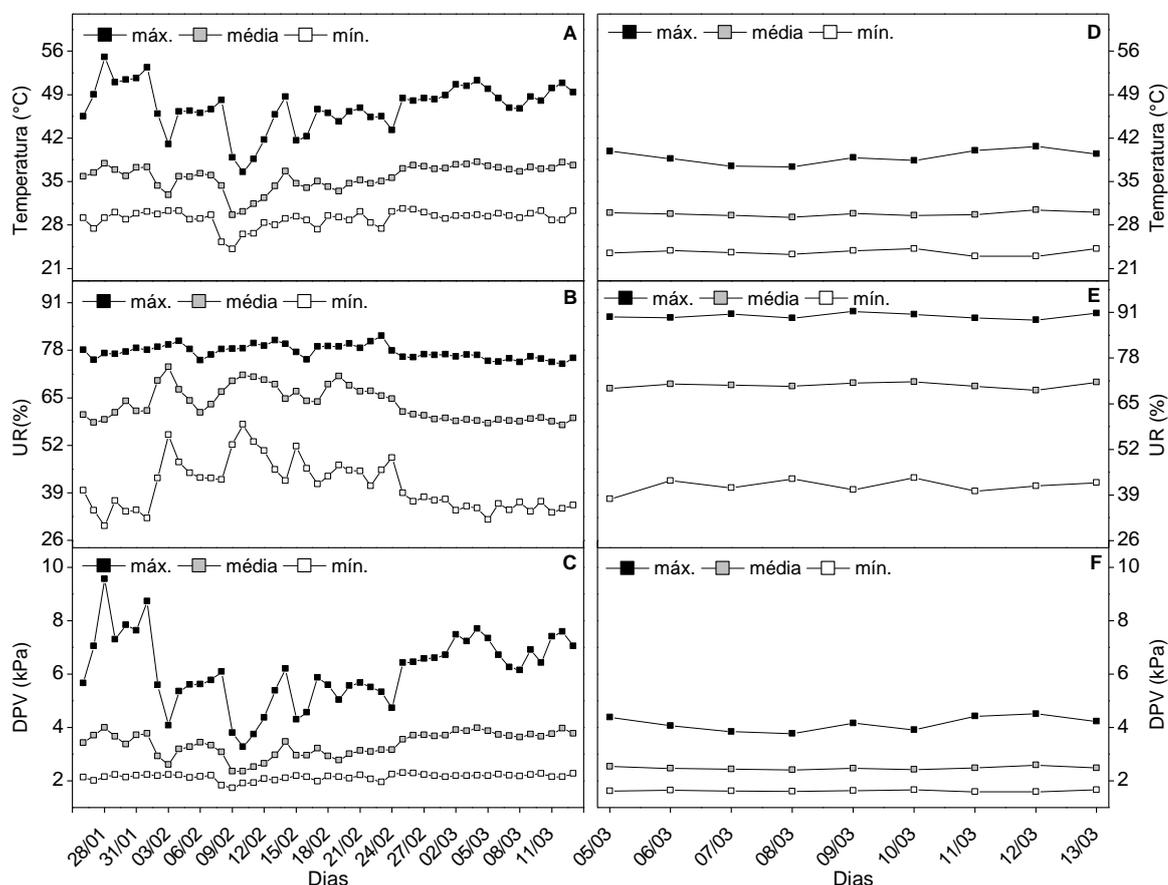


Figura 1: Temperatura, umidade relativa (UR), e déficit de pressão de vapor do ar (DPV) máximo, médio e mínimo, dentro da casa de vegetação durante o período de germinação e desenvolvimento das plântulas (gráficos A, B e C) e durante o período experimental (dentro da casa de vegetação e sob o sombrite) (gráficos D, E e F). Os pontos representam a média diária.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com quatro tratamentos correspondentes aos dois genótipos, 'Candy' e 'Golden THB' e a dois níveis de disponibilidade hídrica, estresse hídrico e tratamento controle, avaliados em quatro repetições sendo 20 plantas por parcela de cada genótipo nas condições de controle e de estresse hídrico, totalizando 320 plântulas. Aos 39 DAS (07/03/2022) a irrigação das plântulas do tratamento considerado estresse hídrico foi suspensa durante 44h, de forma que a última irrigação foi realizada as 17h do dia 06/03/2022 e, posteriormente, foi retomada as 13h do dia 08/03/2022. As plântulas do tratamento considerado controle foram irrigadas diariamente de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1: Datas e horários em que as plântulas foram irrigadas nos tratamentos controle e sob estresse hídrico.

Data	Controle	Estresse hídrico
06/03/2022	8h; 12h; 17h	8h; 12h; 17h
07/03/2022	8h; 12h; 17h	-
08/03/2022	13h; 18h	13h
09/03/2022	15h;18h	15h; 18h
10/03/2022	13h;18h	13h; 18h
11/03/2022	13h;18h	13h;18h
12/03/2022	13h;18h	13h;18h

A irrigação foi realizada de forma manual com uso de um regador e a quantidade de água fornecida em cada rega foi o suficiente para umedecer todo o substrato devido à percolação pelo tubete. A periodicidade da irrigação foi determinada de acordo com a condutância estomática das plantas sob estresse hídrico. Antes de iniciar a aplicação do tratamento, foi realizada uma avaliação para determinação do momento em que deveria ser realizada a irrigação. Para tanto, foram selecionadas cinco plantas as quais foram submetidas a limitação hídrica para avaliação da condutância estomática com o porômetro foliar (Leaf Promoter SC – 1; DECAGON DEVICES, EUA). A última irrigação foi realizada a tarde e no dia seguinte (após a suspensão da irrigação) a condutância estomática foi avaliada três vezes ao dia, nas cinco plantas selecionadas submetidas à limitação hídrica.

A média da condutância estomática das plantas submetidas à limitação hídrica foi de 130 mmol.m<sup>2</sup>.s, as quais apresentaram as folhas inclinadas como sinal de murcha. Após a verificação da condutância estomática, as cinco plantas submetidas ao estresse hídrico foram descartadas. Desta forma, foi determinado que as plantas submetidas à limitação hídrica deveriam ser irrigadas quando apresentassem as folhas inclinadas (sinal de murcha). A Tabela 1 mostra a periodicidade de irrigação das plantas em ambos os tratamentos.

### 3.2. Sexagem molecular

Em todos os tratamentos, e no dia 24/02/2022 (30 DAS), amostras foliares (pedaços do limbo foliar de 3 mm de diâmetro) foram retiradas de cada planta para determinação do sexo. A análise foi realizada por meio da extração do DNA genômico e amplificação da PCR. A extração e amplificação foi realizada usando o kit *TransDirect Plant Tissue* PCR kit (TransBionovo). Para a extração, foram coletados 0,5 cm<sup>2</sup> de tecido foliar e adicionados 40 µL do buffer PD1. As amostras foram incubadas por 95° C por 10 minutos e adicionados 40 µL do buffer PD2. As amostras foram “vortexadas” e o lisado foi utilizado como “*template*” para a PCR.

As reações de PCR foram realizadas pelo kit *TransDirect Plant Tissue* PCR kit (TransBionovo) seguindo as recomendações do fabricante. O *primer* utilizado foi desenvolvido por Deputy et al. (2002), que é um marcador específico para o sexo feminino/hermafrodita do mamoeiro. As amplificações do DNA foram realizadas no termociclador Gradiente da marca *AppliedBiosystems*, de acordo com o seguinte programa: um ciclo de sete minutos a 94°C para a desnaturação inicial do DNA, seguido de 35 ciclos por 30 segundos a 94°C para desnaturação, 30 segundos a 56°C para o anelamento dos *primers* e 1 minuto a 72°C para a extensão dos *primers*.

Posteriormente, um ciclo de sete minutos a 72°C foi executado para a extensão final. Aos produtos de amplificação, foram adicionados 3 µL de *Gel Red* e a eletroforese foi realizada em gel de agarose 2%, submetido a 0,40 amperes por 2 horas. Posteriormente, as imagens foram capturadas pelo sistema de fotodocumentação *MiniBis Pro* (*Biolmaging Systems*).

### 3.3. Características avaliadas

Para avaliar a resposta de plântulas femininas (F) e hermafroditas (H) de mamoeiro em condições de estresse hídrico e na condição adequada de água (Tabela 1) foram avaliadas as características abaixo relacionadas.

#### 3.3.1. Biometria e matéria seca

No dia 14/03/2022 (48 DAS) (final do experimento) foi realizada a contagem do número de folhas e a verificação do diâmetro do caule (DC) de cada plântula. O DC foi avaliado com o uso de um paquímetro digital. Após essas avaliações, as folhas, caule e raízes foram separados e acondicionados em sacos de papel para secagem em estufa de circulação forçada (72 h a 70°C). As raízes foram previamente lavadas em água corrente para retirada do substrato. Após o período de secagem na estufa, a massa seca das amostras (folhas, caule e raízes) foram determinadas com uso de uma balança analítica.

### 3.3.2. Análises fisiológicas

No dia 13/03/2022 (47 DAS), as plântulas foram retiradas da casa de vegetação, de uma condição de aproximadamente  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  avaliada por meio de um sensor de RFA (*LightScout Light Sensor Reader – Spectrum Technologies, Inc.*) e transferidas para um ambiente sombreado com  $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de RFA. As análises de condutância estomática (porômetro) e do índice verde das folhas (spad) foram realizadas diariamente a partir do dia 08/03/2022 (42 DAS) até 12/03/2022 (46 DAS). As análises de refletância foliar iniciaram no dia 09/03/2022 (43 DAS) e finalizaram no dia 12/03/2022 (46 DAS). No final do experimento (13/03/2022) (47 DAS), as análises da emissão da fluorescência da clorofila foram avaliadas com um fluorímetro do tipo modulado (Fluorcam) e um outro do tipo não modulado (*Pocket*). As avaliações de fluorescência, índice de cor verde das folhas (SPAD), índices espectrais da folha e condutância estomática foram realizadas na terceira folha contada a partir do coleto da plântula. As análises supra relatadas serão detalhadas nos itens seguintes.

### 3.3.3. Condutância estomática

A condutância estomática ( $g_s$ ) foi avaliada do dia 08/03/2022 (42 DAS) até 12/03/2022 (46 DAS) a partir das 06h da manhã, com o uso do porômetro foliar (*Leaf Promoter SC – 1; DECAGON DEVICES, EUA*). A parte abaxial da terceira folha contada a partir do coleto da plântula foi avaliada. Antes das medições, o equipamento foi calibrado de acordo com as recomendações do fabricante.

A folha foi posicionada dentro da cabeça do sensor e a minicâmara foi fechada suavemente. Uma barra de progresso e um cronômetro mostram o status

da medição. Após finalizado o tempo da medição, que dura cerca de 30 segundos, a folha foi removida cuidadosamente do sensor. O sistema do porômetro SC – 1; *DECAGON DEVICES*, EUA é classificado como estado–estacionário, ou seja, monitora a umidade relativa em dois pontos ao longo do caminho do fluxo e, uma vez que o gradiente de fluxo atinge um estado estacionário, calcula a condutância de difusão da água da folha (Toro et al., 2019).

### 3.3.4. Índices espectrais associados à refletância foliar

O mini espectrômetro foliar portátil CI-710 (*CID-Bio-Science*, Inc., Camas, Washington, USA) é um instrumento que mede o espectro de refletividade, transmissão ou absorção utilizado para avaliação das propriedades da folha em estudo.

Para avaliar a influência do estresse hídrico nas folhas das mudas de mamoeiro, por meio dos índices de reflectância foliar, foi utilizado o mini espectrômetro portátil de folha CI-710 (*CID Bio-Science*). O equipamento foi configurado para realizar as leituras de reflectância, adotando o tempo de integração do sinal ajustado para 300 ms, fator de *Integration Time* no valor mais elevado, relação ‘sinal:ruído’ *Scans Average* de 2 e o valor 10 para *Boxcar Width* (Oliveira et al., 2017; Janeczko et al., 2018). As medições foram realizadas diariamente de 09 (43 DAS) a 12 de março (46 DAS) na terceira folha contada a partir da região do coleto das plantas. Os índices utilizados pelo mini espectrômetro portátil de folha CI-710 (*CID Bio-Science*) são descritos a seguir.

**a) Índice de Reflectância de Carotenoides (CRI):** Abrange os índices CRI1 e CRI2 podendo variar de 0 a 15.

$CRI1 = (1/R_{510}) - (1/R_{550})$ : associado à absorção combinada por carotenoides e clorofilas totais; e

$CRI2 = (1/R_{510}) - (1/R_{700})$ : refere-se à absorção de clorofilas totais (Gitelson et al., 2007).

**b) Índice de Reflectância de Flavonoides (FRI):**  $[(1 / R_{410}) - (1 / R_{460})] \times R_{800}$  (Merzlyak et al., 2005): a reflectância está intimamente relacionada ao conteúdo de clorofilas totais e carotenoides e minimamente afetada pela absorção de flavonoides.

- c) **Greenness Index (G) ou Índice de Verde:**  $R_{554}/R_{677}$ . Associado à concentração de clorofila. Não apresenta um valor fixo como parâmetro, quanto maiores são os valores, mais verde estará a folha e, conseqüentemente, com maior concentração de clorofilas totais.
- d) **Índice de Reflectância Fotoquímica (PRI):**  $(R_{531} - R_{570})/(R_{531} + R_{570})$  (Gamon et al., 1992): está relacionado às mudanças na intensidade de reflectância em torno de 531 nm e informa sobre as alterações no ciclo das xantofilas. Pode variar de -1 a 1.
- e) **Water Beindex (WBI) ou Índice de Banda de Água:**  $R_{900}/R_{970}$ : usado para rastrear mudanças no conteúdo relativo de água (RWC), (Peñuelas et al., 1993). Este índice pode variar de -1 a 1, em que valores na faixa de 0,8 a 1,2 indicam uma folha em um estado hídrico adequado.
- f) **Structure Insensitive Pigment Index (SIPI) ou Índice pigmento estrutural independente:**  $(R_{800} - R_{445})/(R_{800} - R_{680})$  (Peñuelas e Baret, 1995): está associado à relação entre os carotenoides totais e as clorofilas totais da folha a e pode variar de 0 a 2, sendo as médias adequadas entre 0,8 e 1,8 (Peñuelas et al., 1995).

### 3.3.5. Fluorescência da clorofila

A análise da emissão da fluorescência da clorofila foi realizada no final do experimento (13/03/2022) (47 DAS), com o uso do fluorímetro portátil não-modulado modelo *Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, Inglaterra)* e do fluorímetro por imagem modulado modelo *FluorCam 800 MF (Photon System Instruments, República Tcheca)*, que permite a separação dos *quenchings* fotoquímicos (qP) e não fotoquímicos (qN) (Havaux e Strasser, 1991).

Os fluorímetros não modulados têm uma estrutura simples e são fáceis de operar. A luz contínua é usada em todo o processo de medição. Os fluorímetros modulados possuem uma fonte de luz modulada que permite medições da fluorescência de clorofila em todos os estados fisiológicos (Ni et al., 2019).

As análises da fluorescência da clorofila foram realizadas na terceira folha contada a partir da região do coleto. As mudas foram adaptadas ao escuro para

que os centros de reações dos fotossistemas I e II estivessem completamente na condição de abertos, ou seja, prontos para receber elétrons e transferi-los a partir da cadeia de transporte na maquinaria fotoquímica (Strasser et al., 2000). Após a adaptação no escuro, a terceira folha foi retirada da planta e posicionada dentro do fluorímetro modulado por imagem (FluorCam 800 MF). O fluorímetro foi previamente configurado e calibrado para o protocolo “*Quenching*”. A partir do protocolo “*Quenching*”, as variáveis abaixo relacionadas e obtidas a partir do fluorímetro modulado por imagem (FluorCam 800 MF) foram obtidas:

- 1) a fluorescência mínima em estado adaptado ao escuro,  $F_0$ , quando  $Q_A$  está oxidada e o *quenching* não-fotoquímico relaxado é considerado nulo ( $NPQ = 0$ ),
- 2) a fluorescência máxima emitida, quando todos os centros de reação do PSII estão fechados [ $F_P$  ( $F_M$ )] (Goltsev et al., 2016).
- 3) a razão de decréscimo da fluorescência no estado estacionário da fotossíntese:  $R_{fd} = (F_M - F_T)/F_T$ . Esta variável é usada para avaliar a vitalidade de plantas (está relacionada à atividade do ciclo de Calvin-Benson) (Lichtenthaler et al., 2005).
- 4) o rendimento quântico máximo do PSII em estado adaptado ao escuro. ( $QY_{Max} = F_v/F_m$ ).

Após a análise da fluorescência modulada, as folhas foram readaptadas ao escuro para determinação da fluorescência não modulada por meio do fluorímetro Pocket PEA. A partir da cinética rápida de emissão da fluorescência pelo PSII em função do tempo, foram analisados de acordo com o  $JIP_{test}$  (Strasser et al., 2004) utilizando o *software Biolyzer*<sup>®</sup> (Fluoromatics Software, Switzerland). De acordo com Goltsev (2016), e a partir das análises feitas pelo *software (JIPtest)* as variáveis utilizadas foram:

- 1)  $PI_{abs}$ : Índice de desempenho (potencial) relacionado à conservação de energia de fótons absorvidos pelo PSII utilizados para redução dos aceptores de elétrons do intersistema. Esta variável é multiparamétrica e é formada por três componentes relacionados à eficiência fotoquímica do fotossistema II (PSII). Um componente relacionado à absorção do fóton (RC/ABS), um outro componente relacionado à eficiência na captura do fóton pelos centros de reação ( $F_v/F_0$ ) e o componente relacionado à eficiência no transporte de elétrons (ET/TR-ET).

$PI_{abs} = \text{absorção} \times \text{captura} \times \text{transporte de elétrons}$

$$PI_{abs} = (RC/ABS) \times (F_v/F_o) \times (ET/TR-ET) \quad (\text{Eq.1})$$

$$PI_{abs} = 1 - (F_o/F_m)/(M_o/V_J) \times (F_m - F_o)/F_o \times (1 - V_J)/V_J \quad (\text{Eq.2})$$

Em que:

$F_v = F_t - F_o$ : fluorescência variável em qualquer instante de tempo  $t$ ;

$F_o$  é a fluorescência mínima (inicial) em 50  $\mu\text{s}$ ; quando todos os centros de reação do PSII estão abertos (Quinona A ( $Q_A$ ) completamente oxidada);

$F_J$  é a fluorescência no tempo  $J$  (2 ms);

$F_m$  representa a fluorescência máxima ( $Q_A$  completamente reduzida);

$V_J$  fluorescência variável relativa no tempo 2 ms, representa o número de centros de reações fechados relativo ao número total de centros de reações que podem estar fechados;

$$V_J = (F_J - F_o)/(F_m - F_o) \quad (\text{Eq.3})$$

$M_o$  representa a inclinação inicial da curva relacionada à cinética da fluorescência e pode ser derivada da equação:

$$M_o = 4 \times (F_{300\mu\text{s}})/(F_m - F_o) \quad (\text{Eq.4})$$

$F_{300}$  é a fluorescência emitida no tempo 300  $\mu\text{s}$ .

2)  $\Phi P_o$  ( $TR_o/ABS$  ou  $F_v/F_m$ ): rendimento quântico máximo do PSII;

3)  $DI_o/RC$ : taxa de dissipação de energia por calor, fluorescência e transferência de energia para o PSI (por unidade de centro de reação ativo), ou seja, dissipação de energia do sistema antena não utilizada na redução de  $Q_A$ ;

4)  $ET_o/TR_o$  ou  $\Psi E_o$ : probabilidade de que 1 elétron possa se mover além de  $Q_A^-$ , ou seja, eficiência com que 1 elétron que tenha reduzido  $Q_A$  entre na cadeia de transporte de elétrons;

5)  $ET_o/ABS$  ou  $\Phi E_o$ : eficiência na qual um fóton absorvido resulta no transporte de elétrons além de  $Q_A^-$ ;

6)  $RE_o/CS_o$ : redução de aceptores finais ao lado do acceptor de elétrons do PSI por seção transversal (reflete a transferência de elétrons no final do PSI) (Lin et al., 2009);

7)  $RE_o/RC$ : fluxo de elétrons transferidos por centro de reação ativo e redução dos aceptores finais no lado do acceptor de elétrons do PSI por centro de reação;

8)  $ABS/CS_o$ : Absorção de energia por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante no tempo zero;

9) ABS/RC: Fluxo de energia absorvido por centro de reação ativo, reflete a proporção entre a quantidade de moléculas de clorofila a emisoras de fluorescência em complexos de antena e nos centros de reação ativos;

10) DI<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub>: Dissipação térmica de energia no PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante;

11) TR/CS<sub>o</sub>: Fluxo de energia capturado pelos RCs do PSII por unidade de seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0);

12) TR<sub>o</sub>/RC: Fluxo excitação de energia capturada por centro de reação ativo no início da iluminação da amostra adaptada ao escuro;

13) ET<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub>: Fluxo de elétrons através do PSII por seção transversal de uma amostra fotossintetizante (em t=0);

14) ET<sub>o</sub>/RC: Fluxo de elétrons transferido por centro de reação ativo.

### 3.4. Análise Estatística

#### Análise Univariada:

As médias das variáveis obtidas em cada genótipo e para cada expressão sexual das plantas definidas pela análise molecular e em cada dia de avaliação, foram comparadas pelo Teste t ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). As análises foram realizadas com auxílio do programa R (R. Core Team, 2021), a partir das funções disponíveis no pacote "stats". Nas avaliações relativas ao crescimento, para efeito de comparação entre os tratamentos, calculou-se, para cada média, o respectivo erro padrão da média utilizando *Microsoft Office Excel* 2019.

#### Análise Multivariada:

As variáveis qualitativas (feminino e hermafrodita) e quantitativas, relacionadas à fluorescência da clorofila ( $F_o$ ,  $F_P$ ,  $QY_{máx}$ ,  $R_{fd}$ , ABS/RC, DI<sub>o</sub>/RC, TR<sub>o</sub>/RC, ET<sub>o</sub>/RC, RE<sub>o</sub>/RC,  $\Phi_{P_o}$  (TR<sub>o</sub>/ABS ou  $F_v/F_m$ ),  $\Psi_{E_o}$  (ET<sub>o</sub>/TR<sub>o</sub>),  $\Phi_{E_o}$  (ET<sub>o</sub>/ABS), ABS/CS<sub>o</sub>, DI<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub>, TR<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub>, ET<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub>, RE<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub>, PI<sub>abs</sub>). foram analisadas simultaneamente, utilizando o algoritmo de Gower (Gower, 1971). O índice de dissimilaridade de Gower foi utilizado porque o conjunto de variáveis em estudo formou um grupo misto de características qualitativas e quantitativas, no qual este gera um único índice de dissimilaridade, variando de 0 a 1. A dissimilaridade foi dada por:

$$S_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} \cdot S_{ijk}}{\sum_{k=1}^p W_{ijk}} \quad (\text{Eq.5})$$

Onde  $i$  e  $j$  representam os indivíduos a serem comparados no que diz respeito à característica  $k$ ;  $p$  = número total de características, e  $S_{ij}$  = contribuição da variável  $k$  para a distância total. Se uma variável é qualitativa,  $S_{ijk}$  assume o valor 1, quando a concordância é positiva ou negativa para a característica  $k$  entre os indivíduos  $i$  e  $j$ , e por outro lado quando a variável é quantitativa:

$$S_{ij} = \frac{|Y_{ik} - Y_{jk}|}{R_k} \quad (\text{Eq.6})$$

Onde  $R_k$  = a amplitude de variação da variável  $k$ , tendo valores entre 0 e 1. O valor de  $W_{ijk}$  foi usado para definir as contribuições dos indivíduos  $S_{ijk}$ . Assim, quando o valor da variável  $k$  está ausente em um ou ambos os indivíduos,  $W_{ijk} = 0$  ou, de outra forma, é igual a 1. A análise que calcula a distância de Gower foi realizada no programa R através do pacote *StatMatch* pela função *gower.dist* e *kmeans*.

A análise de coordenadas principais (PCoA) entre os genótipos ('Candy' e 'Golden THB') para as condições de estresse e não estresse hídrico foi analisada a partir dos índices de dissimilaridade de gower com o uso do programa R utilizando o pacote *vegan* (Oksanen, 2017). A análise descritiva das variáveis analisadas e da distribuição dos genótipos em cada ambiente de condição hídrica e a discriminação dos sexos em espaço bidimensional foi realizada a partir das coordenadas principais, levando em consideração a dispersão dos tratamentos. A fim de visualizar esta distribuição, a análise discriminante pelas Análises de Coordenadas Principais (PCoA) foram geradas.

A análise de componentes principais das variáveis quantitativas ecofisiológicas, a partir da matriz de correlação, que consistiu em transformar um conjunto de variáveis  $Z_1, Z_2, \dots, Z_p$  em um novo conjunto de variáveis  $Y_1$  (CP<sub>1</sub>),  $Y_2$  (CP<sub>2</sub>), ..... ,  $Y_p$  (CP<sub>p</sub>) foi realizada (Reis et al., 2022). Dessa forma, um novo conjunto de  $p$  variáveis não correlacionadas entre si e arranjadas numa ordem decrescente de variâncias é definido. A ideia principal com esse procedimento é de que poucos, entre os primeiros componentes principais, contenham a maior variabilidade dos dados originais. Contudo, pode-se racionalmente descartar os demais componentes, reduzindo o número de variáveis. Tendo em vista o grande número de variáveis medidas em unidades diferentes, foi necessária a padronização das variáveis originais  $X_j$  ( $j = 1, 2, \dots, p$ ) em  $Z_j$ . Após essa transformação, todas as variáveis originais têm a mesma variância unitária e, dessa maneira, a base para extração dos componentes principais se torna a matriz de correlação  $R$ . Neste caso,

os coeficientes dos componentes principais são indicadores da magnitude da correlação entre as variáveis padronizadas e os componentes principais, pois a correlação pode ser obtida pela seguinte expressão:

$$r_{CP_i Z_j} = \sqrt{\lambda_i} \times a_{ij} \quad (\text{Eq.7})$$

em que  $\lambda_i$  = autovalor associado ao  $CP_i$ , que é uma constante;  $a_{ij}$  = coeficiente do  $CP_i$  relacionado à variável  $Z_j$ . Para situações em que se trabalha com dados simulados e reais, com a análise de componentes principais a partir da matriz de correlação, o critério para descarte de variáveis utilizado foi o recomendado por Jolliffe, (1973) (Reis et al., 2022). Esse critério estabelece que o número de variáveis descartadas deve ser igual ao número de componentes cuja variância (autovalor) é inferior a 0,7. No descarte de variáveis, a variável que apresenta o maior coeficiente (valor absoluto), no componente principal de menor autovalor (menor variância), deve ser menos importante para explicar a variância total e, portanto, passível de descarte (Reis et al., 2022). Assim, o processo de descarte consiste em considerar o autovetor (coeficientes do CP) correspondente ao menor autovalor e rejeitar a variável associada ao maior coeficiente (valor absoluto). Então, o próximo menor autovetor é avaliado. Esse processo continua até que o autovetor associado ao autovalor inferior a 0,7 seja considerado. A razão para isso é que variáveis altamente correlacionadas aos componentes principais de menor variância representam variação praticamente insignificante (Mardia, et al., 1977).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1. Matéria seca e crescimento

Quando submetido à condição de estresse hídrico, o genótipo '*Candy*' apresentou menor MSC, MSF, DC e NF em 40%, 33,3%, 6,4% e 12,5%, respectivamente, comparado ao tratamento controle enquanto a produção de MSR não diferiu entre os tratamentos (Figura 2 e Tabela 1). Sob condição de estresse hídrico, o genótipo '*Golden THB*' apresentou menor MSC, MSF, DC e NF em 36,3%, 35%, 7,7%, 22,2% comparado ao tratamento controle, sendo que neste genótipo o estresse hídrico provocou menor crescimento do sistema radicular em 12,5%. Em condições de estresse hídrico, a diminuição do crescimento é um dos fatores mais impactados, devido à redução na pressão de turgescência, o que diminui a taxa de expansão celular e da assimilação fotossintética do carbono por meio do fechamento estomático e, conseqüentemente, causa redução da taxa de crescimento da planta (Hutton et al., 2007; Anjum et al., 2011; Claeys e Inzé, 2013).

As plantas submetidas ao estresse hídrico apresentaram clorose da primeira folha contada a partir da região do coleto, e posterior queda destas folhas amarelas, o que pode justificar o menor NF comparado ao tratamento controle (Figura 2B). A produção de MSC, MSR, MSF, DC e NF não diferiu entre plantas H e F. De acordo com este experimento, em mudas de mamoeiro submetidas ao estresse hídrico, bem como nas mudas em disponibilidade hídrica adequada do substrato, essas variáveis não foram úteis para identificação precoce do sexo.

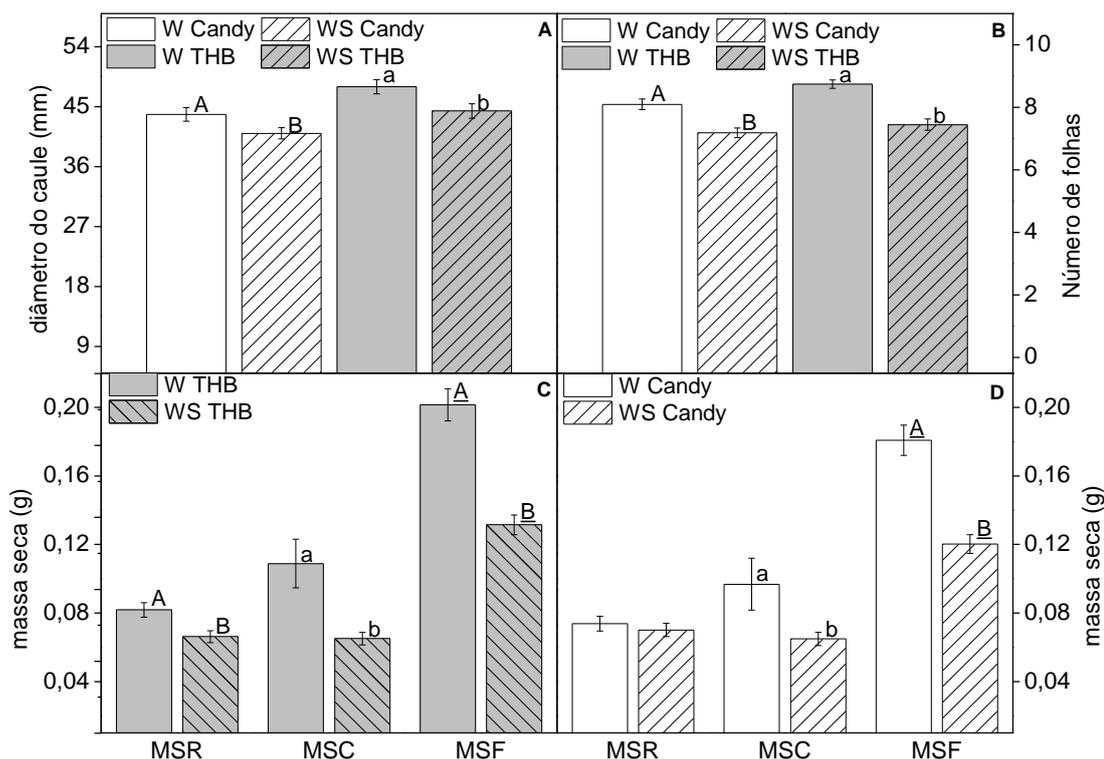


Figura 2: Diâmetro do caule (A), número de folhas (B), massa seca da raiz (MSR), do caule (MSC) e das folhas (MSF) do genótipo ‘*Golden THB*’ (C) e massa seca da raiz (MSR), do caule (MSC) e das folhas (MSF) do genótipo ‘*Candy*’ (D) sob condição irrigada (W) e de estresse hídrico (WS).

Tabela 1: Massa seca do caule (MSC), massa seca da folha (MSF), Massa seca da raiz (MSR), diâmetro do caule (DC) e número de folhas (NF) nos dois genótipos avaliados (*Candy* e *Golden THB*) sob condições de estresse hídrico (WS) e irrigada (W).

Variáveis	Genótipos/Condição hídrica					
	‘ <i>Candy</i> ’			‘ <i>Golden THB</i> ’		
	W	WS	P valor	W	WS	P valor
MSC	0,10 A	0,06 B	0,04	0,11 A	0,07 B	0,00
MSF	0,18 A	0,12 B	0,00	0,20 A	0,13 B	0,00
MSR	0,07ns	0,07ns	-	0,08 A	0,07 B	0,01
DC	4,38 A	4,10 B	0,03	4,80 A	4,43 B	0,01
NF	8,00 A	7,00B	0,00	9,00 A	7,00 B	0,00

Outros trabalhos obtiveram resultados similares ao observado neste estudo. Lopes (2014) não encontrou diferença entre plantas F e H de dois genótipos de mamoeiro (*‘Golden’* e *‘UENF-Caliman 01’*) em relação ao diâmetro do caule. Em

plantas adultas de duas cultivares de mamoeiro ('Sunrise' e 'Tainung'), as variáveis altura e o diâmetro do caule não diferiram significativamente entre os sexos das plantas (Montesinos et al., 2012). A produção de biomassa não diferiu entre plantas femininas e masculinas da espécie *Juniperus thurifera* (Montesinos et al., 2012). No estudo de Rabska et al. (2021), e durante a maior parte do experimento, com exceção ao mês de julho, foi observado que a relação massa/área foliar não diferiu entre o sexo das plantas (*Juniperus communis* L).

#### 4.2. Índice Spad

A concentração de clorofila nas folhas, que é diretamente relacionada ao índice Spad (Torres-Netto et al., 2002; Castro et al., 2014) variou entre os genótipos, de forma que sob estresse hídrico, durante todos os dias de avaliação, o genótipo 'Candy' apresentou, quando comparado ao tratamento controle, menor concentração de clorofilas totais (Figura 3B). Contudo, para o genótipo 'Golden THB', essa variável se manteve estável, tanto no tratamento controle, quanto no tratamento sob estresse hídrico (Figura 3A).

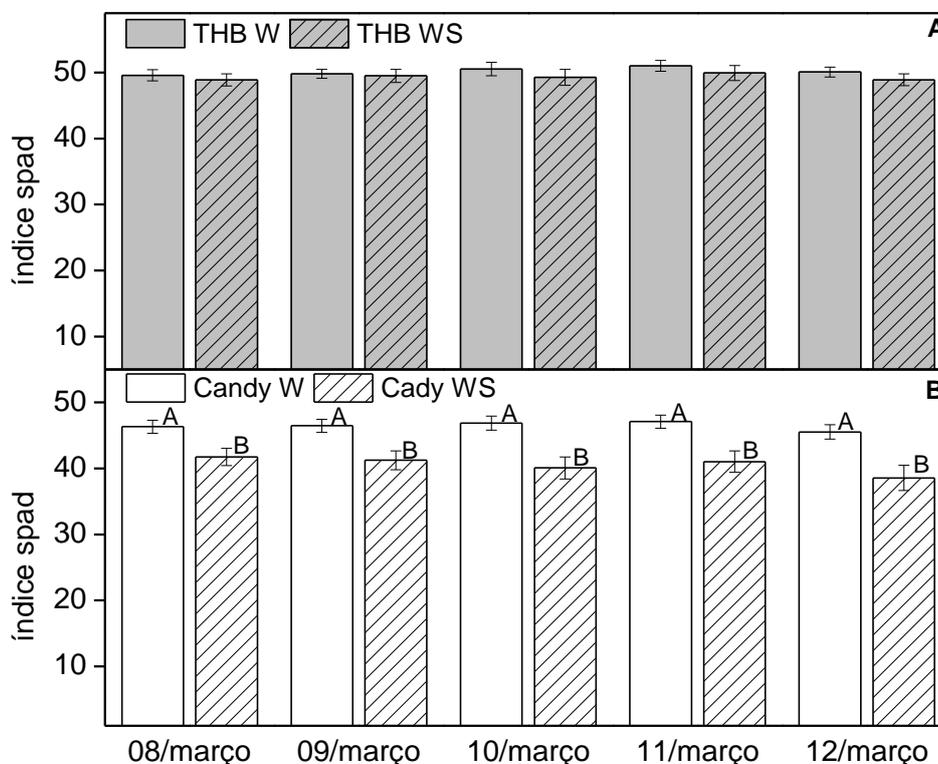


Figura 3: A) Índice Spad em folhagens do genótipo 'Golden THB' sob condição irrigada (W) e de estresse hídrico (WS) e B) Índice Spad em folhagens do genótipo Candy sob condição irrigada (W) e de estresse hídrico (WS).

O índice Spad diferiu em função dos genótipos e da disponibilidade hídrica (Figura 4). De acordo com esta Figura, é possível observar que, durante o período de avaliação, o teor de clorofilas totais no genótipo 'Candy' sob o tratamento controle não diferiu entre plantas F e H (Figura 4A). No entanto, no último dia de análise, sob condição de estresse hídrico, foi observado um menor índice Spad (cerca de -17%) nas plantas H, quando comparadas às plantas F (Figura 4B). Ao longo do período de avaliação, e em ambos os tratamentos, as plantas F e H do genótipo 'Golden THB' mantiveram o valor do índice Spad estável (Figuras 4C e 4D). De acordo com esses dados, observa-se que a resposta do teor de clorofilas totais em plantas submetidas ao estresse varia de acordo com o genótipo e provavelmente com a intensidade do estresse aplicado (moderado ou severo). Neste experimento, verificou-se uma maior sensibilidade das plantas H do genótipo 'Candy', quando a disponibilidade hídrica no substrato foi reduzida, o que pode ser uma característica interessante a ser observada, e assim, com potencial uso na sexagem deste genótipo.

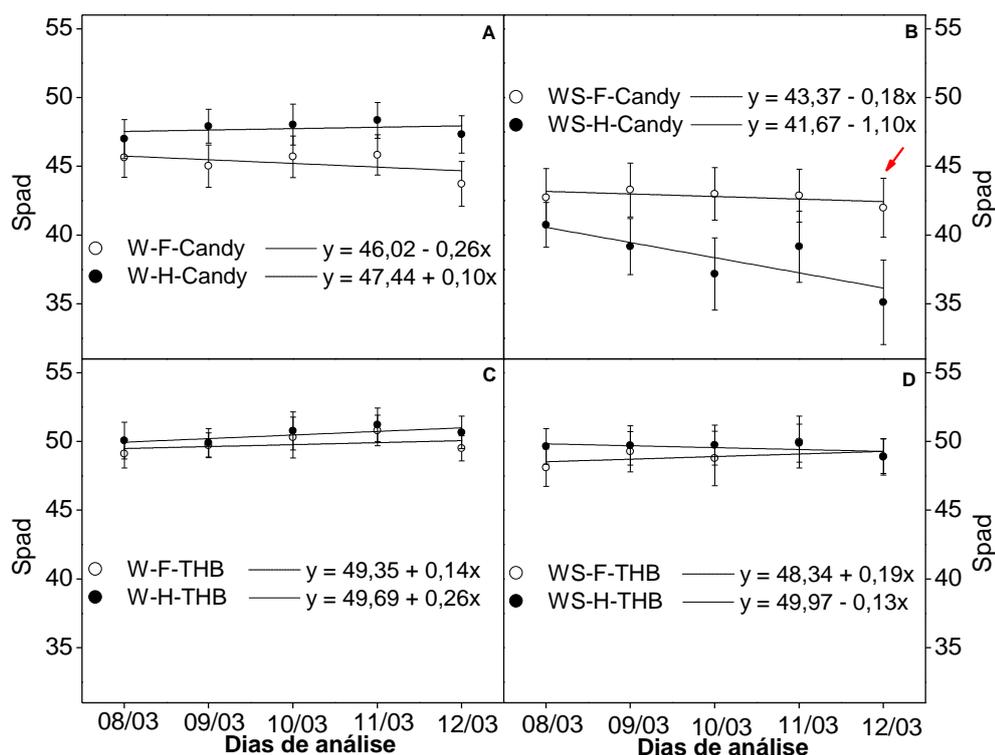


Figura 4: Índice Spad em plantas femininas (F) e hermafroditas (H): do genótipo 'Candy' sob condição irrigada (W) (A) e de estresse hídrico (WS) (B) e do genótipo 'Golden THB' sob condição irrigada (W) (C) e de estresse hídrico (WS) (D). A seta vermelha indica o dia da avaliação que foi observada diferença significativa no teor de clorofila entre as plantas F e H.

O teor de clorofila é uma característica frequentemente utilizada para avaliar o dimorfismo sexual em diferentes espécies. Em plantas adultas de mamoeiro, cultivadas no campo e sem estresse hídrico, há relato da menor concentração deste pigmento em plantas F do que em plantas H (Chutteang et al., 2007). Os resultados deste presente experimento foram diferentes dos resultados encontrados pelos autores supracitados, o que pode ser atribuído à diferença em relação à disponibilidade hídrica, o genótipo e a fase de desenvolvimento da planta.

He et al. (2016) observaram que, sob condição de estresse hídrico, o teor de clorofilas totais das plantas femininas da espécie *Ginkgo biloba* foram maiores em relação às plantas masculinas. Contudo, em condição de disponibilidade hídrica adequada, as plantas masculinas apresentaram maior produção destes pigmentos. Nas espécies *Juniperus communis* L. (Rabska et al., 2021) e *Salix purpurea* (Gouker et al., 2021), as plantas masculinas, em relação às plantas femininas, apresentaram maior produção de clorofila. No entanto, o contrário foi observado em plantas de *Salix paraplesia* cultivadas em condição de limitação hídrica (Liao et al., 2019). Os resultados foram similares ao observado neste trabalho para o genótipo 'Candy', em que no último dia de análise, e sob limitação hídrica do substrato, o índice Spad em plantas F foi superior ao de plantas H.

#### 4.3. Índices espectrais associados à reflectância foliar

O índice de reflectância foliar é uma técnica não destrutiva que possibilita a quantificação de pigmentos por meio da reflectância espectral de fótons de diferentes comprimentos de onda (Gitelson et al., 2007). O conteúdo de pigmento foliar pode fornecer informações sobre o desempenho fisiológico das folhas. As quantidades absolutas dos pigmentos, bem como as proporções, são características fisiológicas importantes que podem variar de acordo com o crescimento/desenvolvimento da planta e as condições ambientais (Merzlyak et al., 2003), como por exemplo, a disponibilidade hídrica no solo (Jaleel et al., 2009; Barradas et al., 2021).

O índice G, relacionado ao teor de clorofilas totais, variou entre os genótipos e os tratamentos. Apenas no segundo dia de análise, foi observada diferença no índice G no genótipo 'Candy', de forma que no tratamento controle, e em relação às plantas H, as plantas F obtiveram índice G significativamente superior (cerca de 4,2%) (Figura 5A). No tratamento em que foi aplicado estresse

hídrico, essa variável foi superior nas plantas H (cerca de 14%), quando comparada às plantas F (Figura 5B). No genótipo ‘*Golden THB*’, e no tratamento controle, o índice G não diferiu entre plantas F e H (Figura 5C). No entanto, neste genótipo *THB*, em relação às plantas F e nos dois últimos dias de avaliação, no tratamento sob estresse hídrico, as plantas H obtiveram maior índice G (cerca de 10%) (Figura 5D).

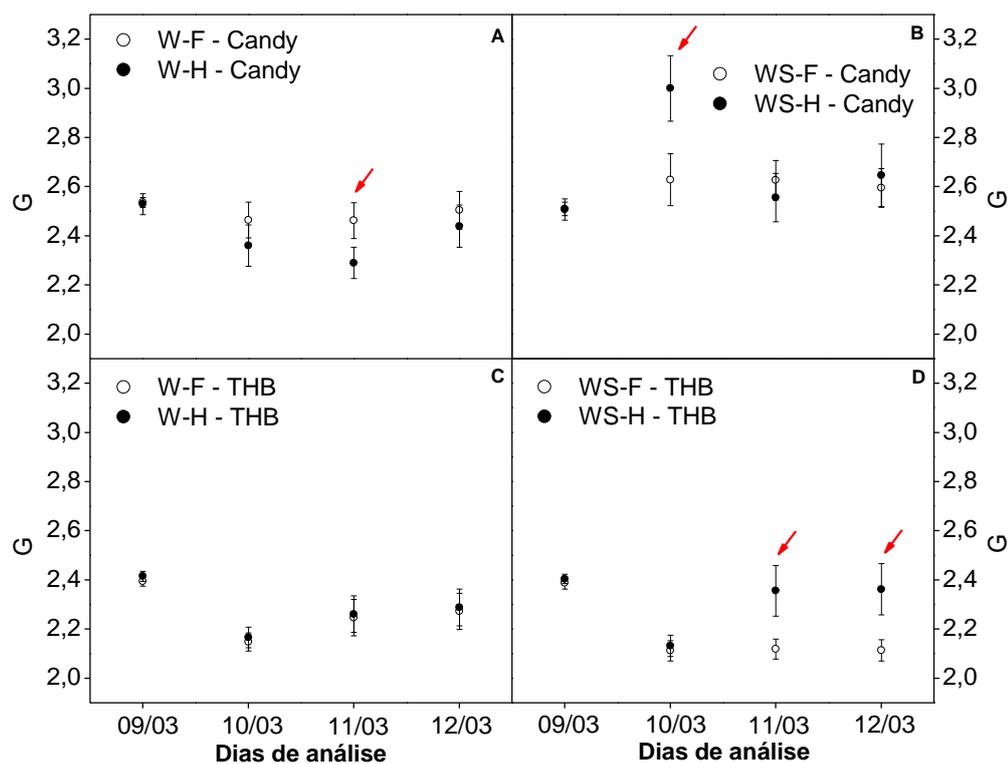


Figura 5: Índice G em plantas femininas (F) e hermafroditas (H): do genótipo ‘*Candy*’ sob condição irrigada (W) (A) e de estresse hídrico (WS) (B) e do genótipo ‘*Golden THB*’ sob condição irrigada (W) (C) e de estresse hídrico (WS) (D). A seta vermelha indica o dia da avaliação que foi observada diferença significativa no índice G entre as plantas F e H.

Assim, torna-se importante considerar que as respostas do índice SPAD e do índice G obtidas neste estudo não convergiram, o que pode ser explicado devido às diferenças no comprimento de onda que cada equipamento emite sobre a folha (650 nm no SPAD e 554 e 677 nm para o espectrômetro foliar-CI 710). O CI-710 pode medir o índice verde das folhas, o qual está relacionado ao teor de clorofilas totais, no entanto, as medidas são relativas. Desta maneira, para desenvolver uma correlação espécie-específica para quantificação exata da concentração de clorofilas nas folhas, é recomendado combinar medições do CI-710 com dados de

extração de clorofila nas folhas obtidas por solventes, como por exemplo: acetona, dimetilsulfóxido, éter etílico etc.

O índice CR1, relacionado à concentração de carotenoides e de clorofilas totais, apenas variou no último dia de avaliação no genótipo ‘Candy’ submetido ao estresse hídrico. Nesta condição, as plantas F apresentaram índice ligeiramente superior (7,5%) às plantas H (Figura 6B). A degradação de pigmentos foliares é relatada em diversas culturas submetidas ao estresse hídrico (Manivannan et al., 2008; Jaleel et al., 2009).

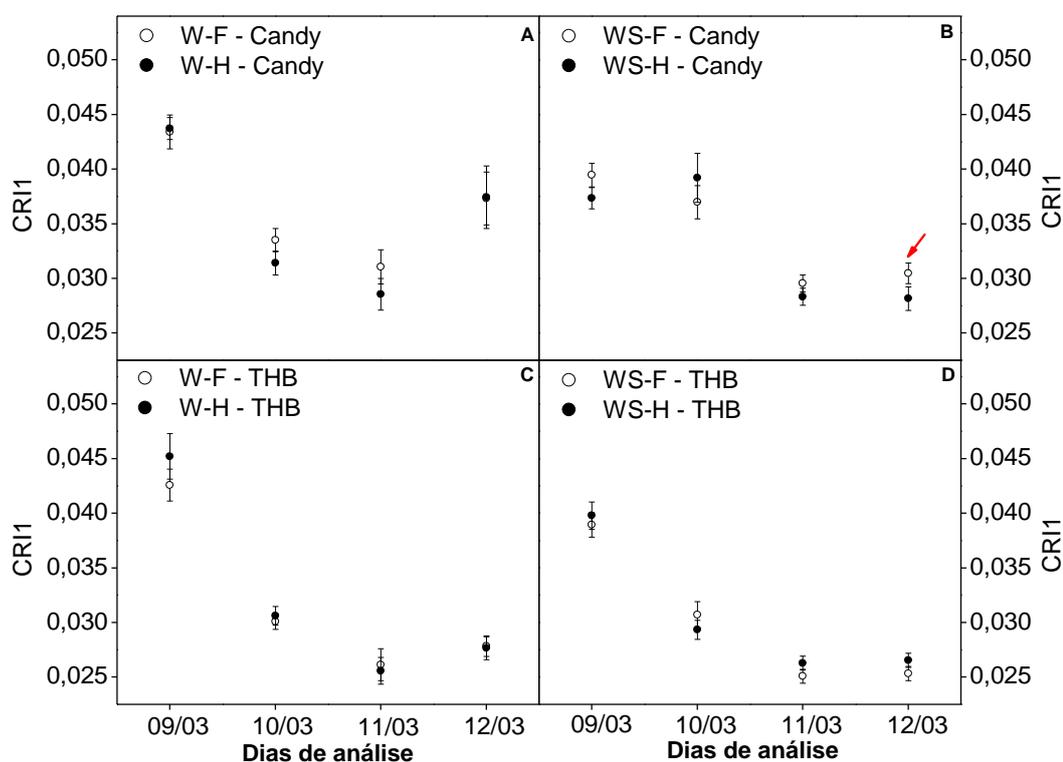


Figura 6: Índice CR1 em plantas femininas (F) e hermafroditas (H): do genótipo ‘Candy’ sob condição irrigada (W) (A) e de estresse hídrico (WS) (B) e do genótipo ‘Golden THB’ sob condição irrigada (W) (C) e de estresse hídrico (WS) (D). A seta vermelha indica o dia da avaliação que foi observada diferença significativa no índice CR1 entre as plantas F e H.

De acordo com a Figura 6, tanto no tratamento controle, quanto no tratamento sob limitação hídrica, é possível observar que neste experimento ocorreu diminuição na concentração do índice CR1 ao longo dos dias de avaliação em ambos os genótipos. Deve ser considerado que, apesar das plantas do tratamento controle terem absorvido mais água, também podem ter passado por um estresse hídrico moderado, tendo em vista o tamanho do tubete utilizado no experimento. Neste tubete, o qual comportava pouco substrato e,

consequentemente, apresentava rápida secagem, devido à demanda hídrica intensa do ar nas condições deste experimento, no momento das avaliações (Figura 1) pode-se justificar essa redução no índice CR1, mesmo nas plantas irrigadas, durante o período de avaliação.

Como pode ser observado na Figura 7, o índice WBI, correlacionado ao conteúdo relativo de água na folha (Peñuelas et al., 1993), diminuiu em ambos os tratamentos e mostra de fato que esta variável está correlacionada ao teor de água na folha, como foi relatado por Peñuelas et al. (1993). Contudo, em ambos os genótipos e nas condições hídricas estudadas, essa variável não se mostrou adequada na diferenciação do sexo das plantas

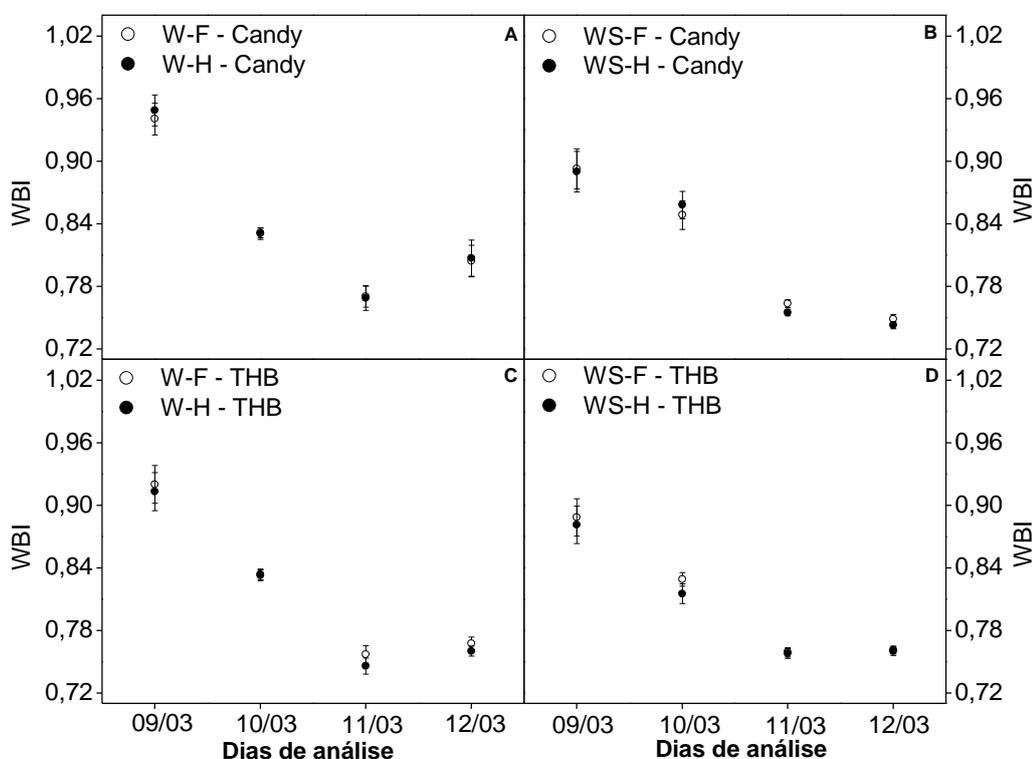


Figura 7: Índice WBI em plantas femininas (F) e hermafroditas (H): do genótipo 'Candy' sob condição irrigada (W) (A) e de estresse hídrico (WS) (B) e do genótipo 'Golden THB' sob condição irrigada (W) (C) e de estresse hídrico (WS) (D).

Além dos índices SPAD e G, o índice CRI2 também está correlacionado à concentração de clorofilas totais. De acordo com a Figura 8A, observa-se que no tratamento controle, o índice CRI2 das plantas F do genótipo 'Candy' diferiu significativamente (14,5%) das plantas H. Contudo, no tratamento sob estresse hídrico, não foi observada a variação nesta variável entre plantas F e H (Figura 8B). No tratamento controle o índice CRI2 das plantas F e H do genótipo 'Golden THB'

não diferiu ao longo dos dias de análise (Figura 8C). Entretanto, na condição de estresse hídrico, as plantas H apresentaram esse índice mais elevado (cerca de 20%) nos dois últimos dias de análise (Figura 8D), e uma resposta similar a observada para o índice G (Figura 5D).

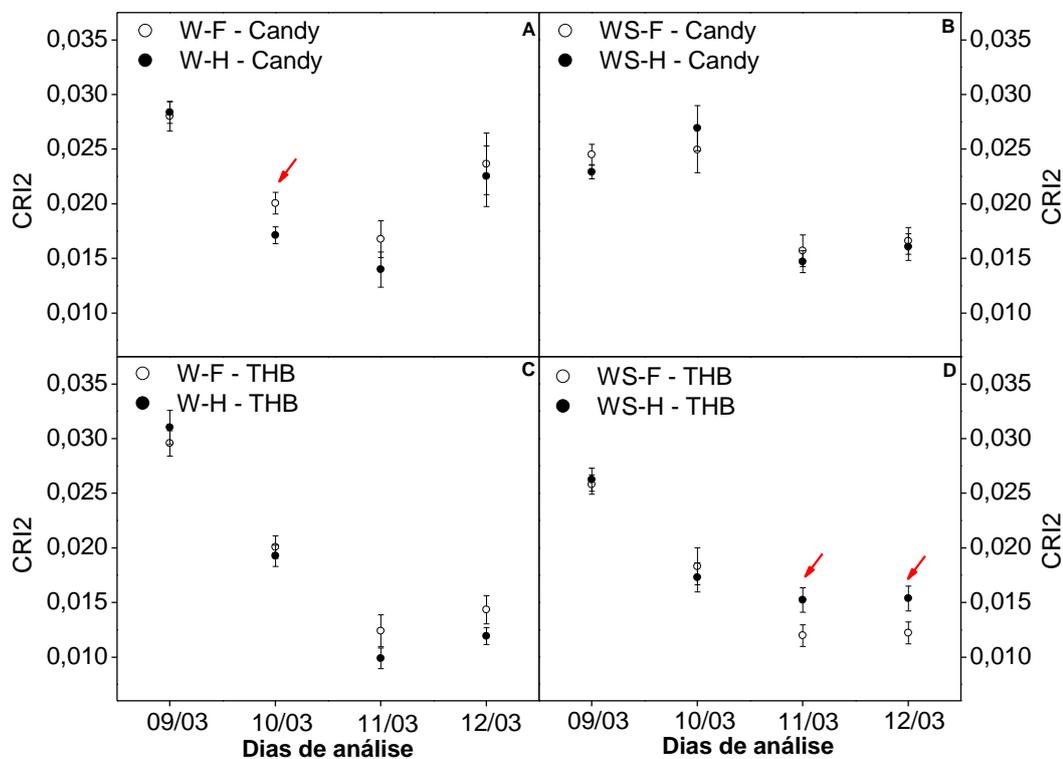


Figura 8: Índice CRI2 em plantas femininas (F) e hermafroditas (H): do genótipo ‘Candy’ sob condição irrigada (W) (A) e de estresse hídrico (WS) (B) e do genótipo ‘Golden THB’ sob condição irrigada (W) (C) e de estresse hídrico (WS) (D). A seta vermelha indica o dia da avaliação que foi observada diferença significativa no índice CR2 entre as plantas F e H.

Para o índice pigmento estrutural independente (SIPI), associado à relação entre os carotenoides totais e as clorofilas totais, foi observado que apenas no primeiro dia de avaliação as plantas F do genótipo ‘Candy’, submetidas à limitação hídrica, apresentaram o valor mais elevado, quando comparadas às plantas H (Figura 9B).

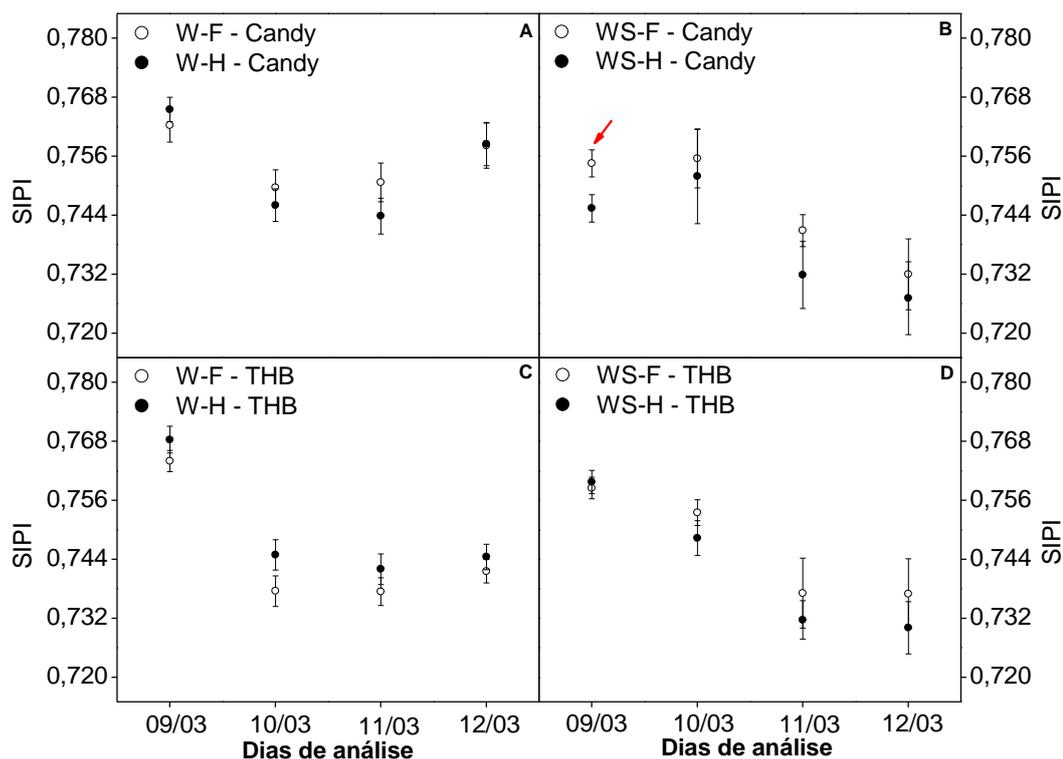


Figura 9: Índice SIPI em plantas femininas (F) e hermafroditas (H): do genótipo 'Candy' sob condição irrigada (W) (A) e de estresse hídrico (WS) (B) e do genótipo 'Golden THB' sob condição irrigada (W) (C) e de estresse hídrico (WS) (D). A seta vermelha indica o dia da avaliação que foi observada diferença significativa no índice SIPI entre as plantas F e H.

Na condição do tratamento controle as plantas F do genótipo 'Candy' apresentaram o índice FRI (relacionado ao conteúdo de clorofilas totais e carotenoides), maior do que as plantas H no segundo (14%) e terceiro (11,4%) dia de avaliação. Sob condição de limitação hídrica, esse índice se manteve estável entre plantas F e H (Figura 10B). Na condição controle, o índice FRI não variou entre as plantas F e H do genótipo 'Golden THB' (Figura 10C). No entanto, nos dois últimos dias de análise na condição de limitação hídrica, as plantas H obtiveram índices mais elevados (cerca de 10%) em relação às plantas F (Figura 10D).

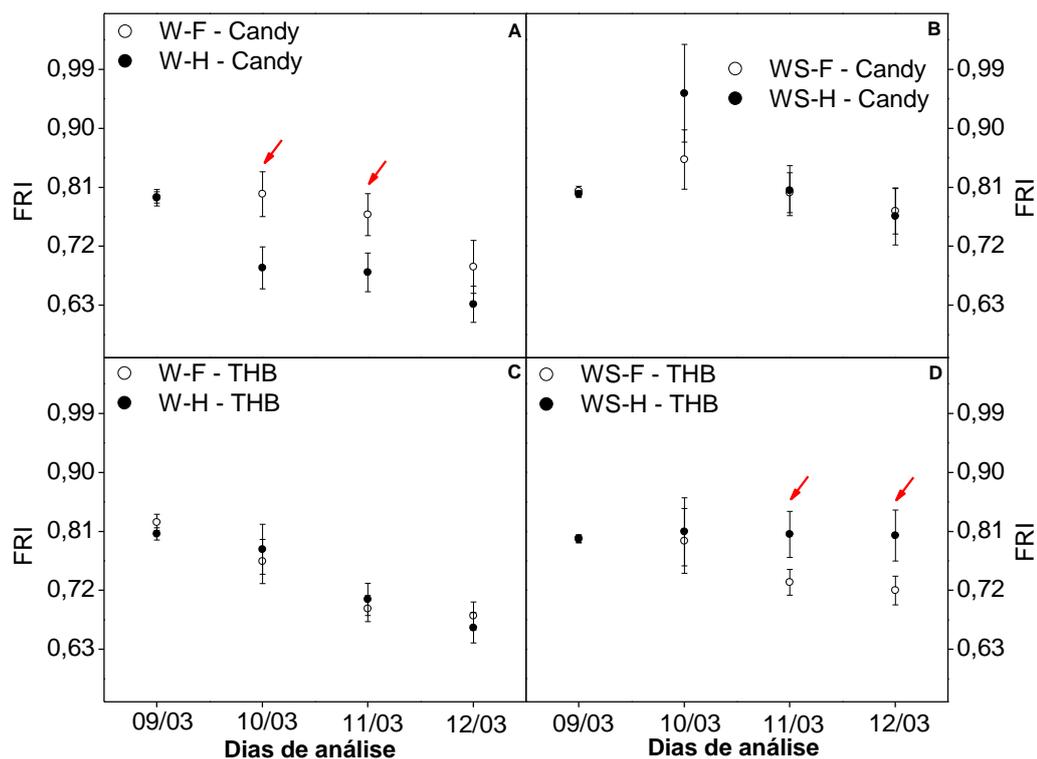


Figura 10: Índice FRI em plantas femininas (F) e hermafroditas (H): do genótipo 'Candy' sob condição irrigada (W) (A) e de estresse hídrico (WS) (B) e do genótipo 'Golden THB' sob condição irrigada (W) (C) e de estresse hídrico (WS) (D). A seta vermelha indica o dia da avaliação que foi observada diferença significativa no índice FRI entre as plantas F e H.

No tratamento controle, o índice PRI, que está relacionado à atividade do ciclo das xantofilas, não variou entre plantas F e H do genótipo 'Candy' (Figura 11A). Entretanto, no segundo dia de análise, e na condição de limitação hídrica do substrato, as plantas F, em relação as plantas H, apresentaram valor mais elevado (36%) (Figura 11B). No genótipo 'Golden THB', tanto no tratamento controle como na condição de limitação hídrica, o índice PRI não variou entre as plantas F e H (Figuras 11C e 11D).

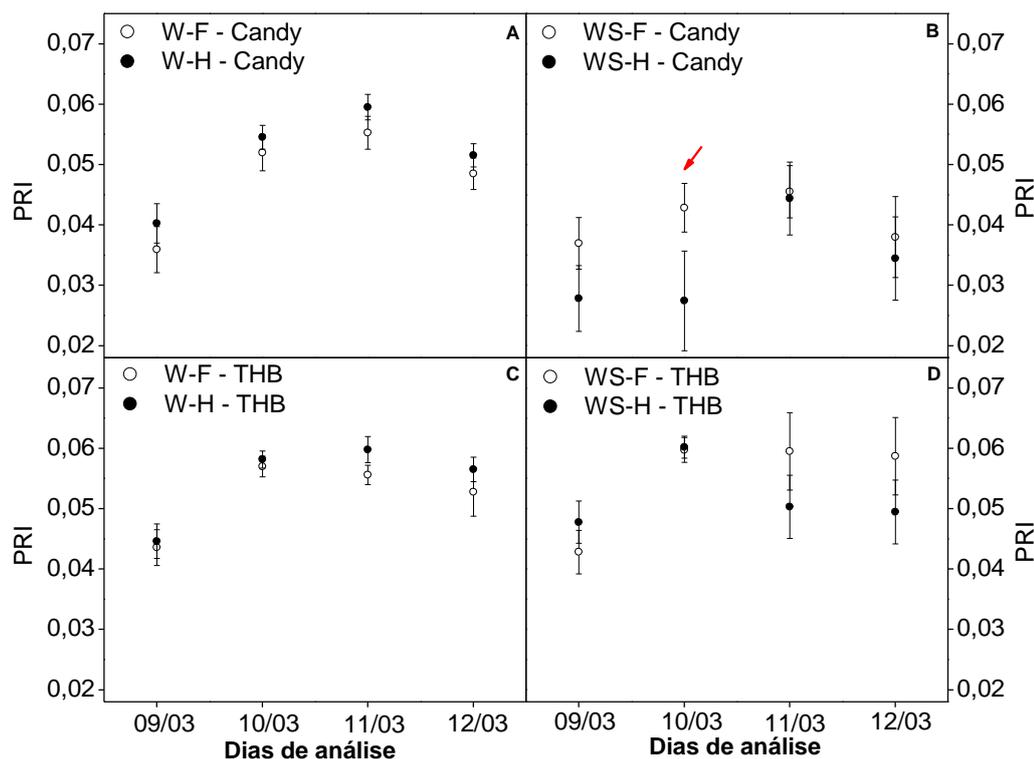


Figura 11: Índice PRI em plantas femininas (F) e hermafroditas (H): do genótipo 'Candy' sob condição irrigada (W) (A) e de estresse hídrico (WS) (B) e do genótipo 'Golden THB' sob condição irrigada (W) (C) e de estresse hídrico (WS) (D). A seta vermelha indica o dia da avaliação que foi observada diferença significativa no índice PRI entre as plantas F e H.

#### 4.4. Condutância estomática

A condutância estomática ( $g_s$ ) está relacionada diretamente à abertura estomática e ao estado hídrico foliar, uma vez que os estômatos fecham progressivamente com o aumento do estresse hídrico do solo (Anjum et al. 2011). Desta forma, esta variável é frequentemente utilizada como indicadora da deficiência hídrica. A  $g_s$  não variou entre plantas F e H em ambos genótipos e tratamentos.

De acordo com as Figuras 12A e 12B, no genótipo 'Candy' e nos tratamentos controle e de limitação hídrica, é possível observar que a  $g_s$  diminuiu ao longo dos dias de avaliação. No tratamento controle, a diminuição dessa variável pode ser justificada devido à elevada demanda hídrica da atmosfera (elevado valor do  $DPV_{ar}$ ). De fato, Campostrini et al. (2018) relatam que o elevado valor do  $DPV_{ar}$  pode causar redução em  $g_s$ , a qual pode estar associada à evaporação periestomática (El-Sharkawy et al., 1985).

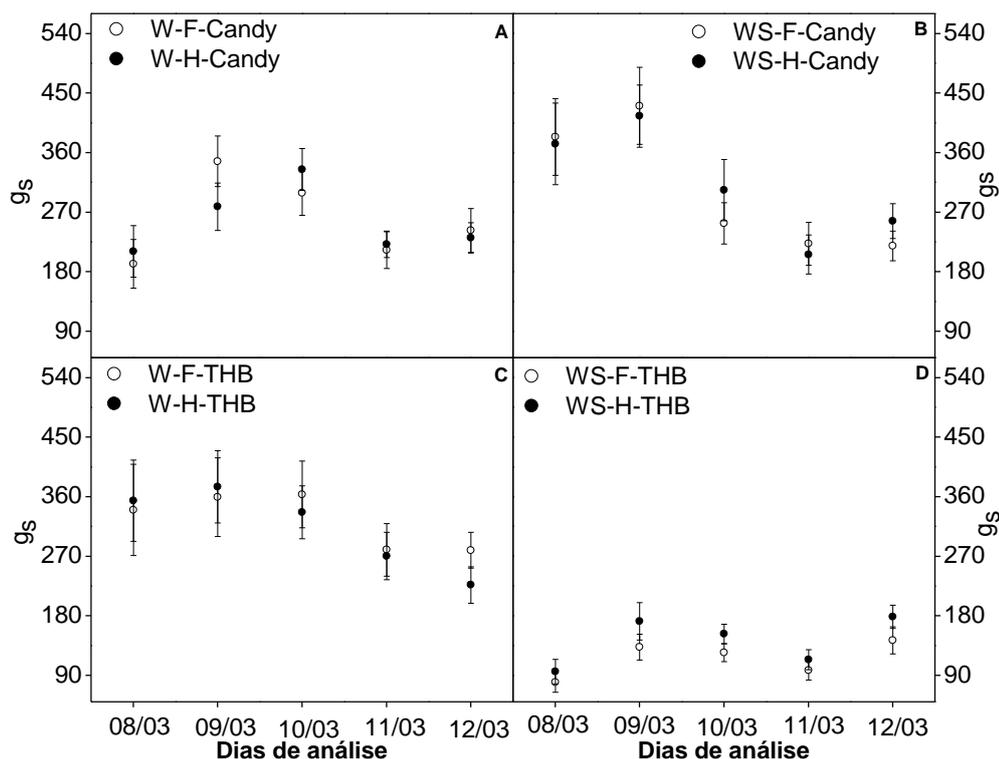


Figura 12: Condutância estomática ( $g_s$ ) em plantas femininas (F) e hermafroditas (H): do genótipo 'Candy' sob condição irrigada (W) (A) e de estresse hídrico (WS) (B) e do genótipo 'Golden THB' sob condição irrigada (W) (C) e de estresse hídrico (WS) (D).

No tratamento controle, as plantas do genótipo 'Golden THB' também apresentaram redução em  $g_s$  ao longo do período de avaliação (Figura 12C). No entanto, sob condição de limitação hídrica, a  $g_s$  foi consideravelmente menor (cerca de 60%, considerando a média ao longo dos dias de avaliação) em relação ao tratamento controle (Figura 12D), o que pode evidenciar que, neste presente trabalho, este genótipo possui maior sensibilidade à limitação hídrica no substrato.

Há relatos da condutância estomática diferir entre o sexo de diferentes espécies, como no caso das espécies *Juniperus thurifera* (Montesinos et al., 2012), *Ginkgo biloba* (He et al., 2016) e *Salix glauca* (Dudley e Galen, 2007). Nestas espécies, as plantas femininas apresentaram maior  $g_s$  em relação às plantas masculinas. Na espécie *Pistacia lentiscus* L., a  $g_s$  foi menor em plantas femininas do que nas plantas masculinas (Correia e Barradas, 2000). Em alguns estudos, essa diferença apenas foi observada em condições de estresse (Correia e Barradas, 2000; Dudley e Galen, 2007). Em mamoeiro, a condutância estomática não variou entre o sexo das plantas de dois genótipos ('Golden' e 'UENF-Caliman

01') sob condição controle e sob limitação hídrica (Lopes, 2014). Entretanto, no estudo desenvolvido por Chutteang et al. (2007), a  $g_s$  foi superior nas plantas femininas do que nas hermafroditas.

#### 4.5. Fluorescência da clorofila

Diversas variáveis da fluorescência da clorofila foram significativamente diferentes entre as plantas de mamoeiro crescidas no tratamento controle e no tratamento com limitação hídrica (Tabela 2). Para as plantas do genótipo '*Candy*', as variáveis que apresentaram diferença significativa entre os tratamentos foram  $F_p$ ,  $QY_{máx.}$ ,  $F_o/F_m$ ,  $PI_{abs}$ ,  $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_o$ ,  $TR_o/RC$ ,  $ET_o/RC$ ,  $RE_o/RC$ ,  $\Phi P_o$ ,  $\Phi E_o$  e  $TR_o/CS_o$ . No genótipo '*Golden THB*', apenas as variáveis Área,  $ET_o/RC$ ,  $ABS/RC$  e  $TR_o/RC$  foram significativamente diferentes. Essas diferenças mostram que o estresse hídrico aplicado impactou a maquinaria fotoquímica de forma variável de acordo com o genótipo em estudo.

Tabela 2: Variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila que apresentaram diferença significativa entre as plantas do tratamento irrigado e do tratamento não

irrigado, sem separar os sexos. Estas avaliações foram feitas aos 47 DAS (no final do experimento)

<b>Genótipo 'Golden THB'</b>			
<b>Variável</b>	<b>irrigado</b>	<b>não irrigado</b>	<b>P valor</b>
Área	649670,00	582776,80	0,01
ET <sub>o</sub> /RC	0,60	0,65	0,00
ABS/RC	1,07	1,13	0,01
TR <sub>o</sub> /RC	0,87	0,92	0,01
<b>Genótipo 'Candy'</b>			
<b>Variável</b>	<b>irrigado</b>	<b>não irrigado</b>	<b>P valor</b>
F <sub>p</sub>	875,36	777,17	0,00
Q <sub>ymáx.</sub>	0,81	0,77	0,00
F <sub>o</sub> /F <sub>m</sub>	0,20	0,24	0,01
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	0,80	0,76	0,01
PI <sub>Inst</sub>	8,18	6,15	0,00
F <sub>v</sub> /F <sub>o</sub>	4,12	3,40	0,00
TR <sub>o</sub> /RC	0,78	0,97	0,00
ET <sub>o</sub> /RC	0,54	0,61	0,00
RE <sub>o</sub> /RC	0,14	0,18	0,00
ΦP <sub>o</sub>	0,80	0,75	0,01
ΦE <sub>o</sub>	0,56	0,52	0,04
TR <sub>o</sub> /CS <sub>o</sub>	4651,63	4422,53	0,04
PI <sub>abs</sub>	9,83	7,37	0,00

Apenas a variável ET<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub>, que representa o fluxo de elétrons após a redução de Q<sub>A</sub> através do PSII por seção transversal, apresentou diferença significativa entre as plantas F e H no genótipo 'Golden THB' (Figura 13A), de forma que as plantas F do tratamento irrigado apresentaram valor cerca de 3,0% superior às plantas H. No entanto, na condição de limitação hídrica, não foi observada diferença entre os sexos das plantas. As plantas do genótipo 'Golden THB' não apresentaram diferença nesta variável ET<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub> em nenhum dos tratamentos (Figura 13B). Resultado similar foi observado por Chutteang et al. (2007), em que plantas femininas de mamoeiro também apresentaram maior taxa de transferência de elétrons (ETR) (cerca de 9,6% - considerando a média das avaliações) do que as plantas hermafroditas (Chutteang et al., 2007). No trabalho desenvolvido por Lopes (2014) em plantas de mamoeiro do genótipo 'UENF-Caliman', a variável ET<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub> não diferiu entre plantas F e H.

Os estudos mostram que as variáveis associadas à fase fotoquímica da fotossíntese podem variar de acordo com o sexo da planta de diferentes espécies (Chutteang et al., 2007; Xu et al., 2008; He, et al., 2016; Rabska et al., 2021). Como

exemplo, em relação às plantas femininas, as plantas masculinas da espécie *Juniperus communis* L., apresentaram maior capacidade fotossintética, devido às maiores taxas de transferência de elétrons e de eficiência quântica do PSII (Rabska et al., 2021). Em condição de limitação hídrica, as plantas femininas da espécie *Populus cathayana* apresentaram maior limitação da capacidade fotossintética do que as plantas masculinas. Esta resposta foi explicada devido ao menor valor da eficiência quântica máxima do PSII, resultando em menor capacidade de absorção de energia luminosa e transporte de elétrons (Xu et al., 2008). Ainda, na condição de limitação hídrica, as plantas femininas de *Ginkgo biloba* apresentaram maior capacidade fotossintética (maior qP e NPQ) do que as plantas masculinas (He et al., 2016).

A resposta das plantas de uma mesma espécie pode variar em níveis diferentes de acordo com o genótipo, a fase de desenvolvimento, as condições ambientais e o nível de estresse aplicado. Como no caso da *Urtica dioica* L., não foi observada diferenças na resposta de plantas masculinas e femininas submetidas a estresse abiótico (combinação de estresse hídrico e nutricional) (Oñate et al., 2011). Contudo, na condição de estresse hídrico severo e reduzida disponibilidade de fósforo, a máxima eficiência do PSII ( $F_v/F_m$ ) foi menor em plantas femininas do que em plantas masculinas (Simancas et al., 2016).

Na espécie *Pistacia lentiscus* L., Said et al. (2013) observaram maior valor do rendimento quântico máximo do PSII ( $F_v/F_m$ ) em indivíduos femininos em relação aos indivíduos masculinos. No entanto, essa diferença foi sazonal, e não ocorreu durante o verão. A diferença observada foi apenas durante a primavera, provavelmente devido à limitação hídrica durante esse período. Juvany et al., (2014) observaram que as plantas femininas da espécie *Pistacia lentiscus* apresentaram menor capacidade de fotoproteção (maior valor de NPQ) do que as masculinas (Juvany et al., 2014). Em condições de elevada intensidade da radiação solar e reduzida disponibilidade nutricional, a concentração de clorofilas totais e a taxa de transporte de elétrons foi menor em plantas femininas do que em plantas masculinas de *Amaranthus palmeri* (Korres et al., 2017).

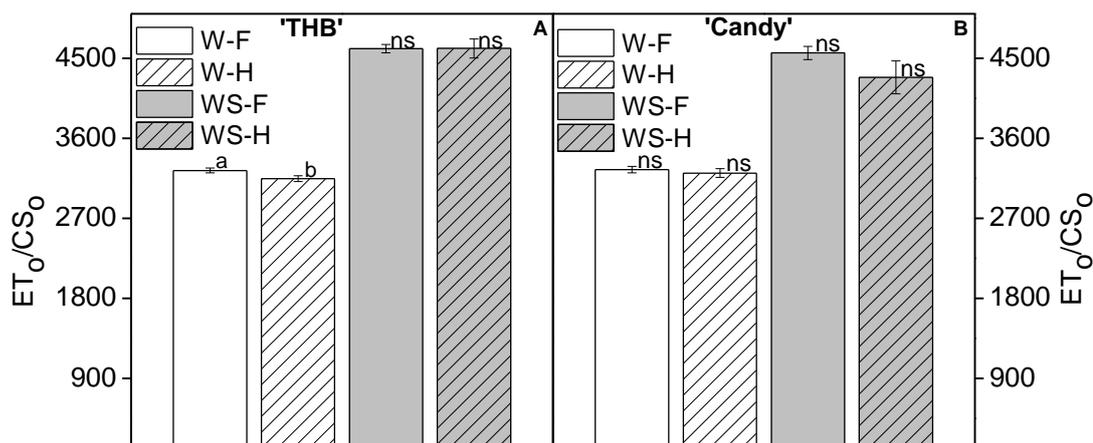


Figura 13: Variável  $ET_0/CS_0$  nas plantas femininas (F) e hermafrodita (H) dos tratamentos controle (W) e sob limitação hídrica (WS) do genótipo 'Golden THB' (A) e do genótipo 'Candy' (B).

De forma geral, nos dois genótipos avaliados, as médias das variáveis da fluorescência da clorofila foram similares entre plantas femininas e hermafroditas (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3: Médias e erro padrão (EP) das variáveis da fluorescência da clorofila a de plantas femininas (F) e hermafroditas (H) sob condição controle (W) e de estresse hídrico (WS) do genótipo 'Candy'. Estas avaliações foram feitas aos 47 DAS.

	Genótipo 'Candy'							
	F-W	EP	H-W	EP	F-WS	EP	H-WS	EP
$F_o$	162	±2	161	±2	166	±4	167	±6
$F_p$	866	±18	885	±16	820	±28	734	±38
$QY_{max}$	0,81	±0,00	0,82	±0,00	0,79	±0,01	0,76	±0,02
Rfd	0,83	±0,07	0,80	±0,08	0,70	±0,03	0,78	±0,06
ABS/RC	0,97	±0,01	0,97	±0,01	1,19	±0,05	1,90	±0,64
$Di_o/RC$	0,19	±0,00	0,19	±0,00	0,26	±0,01	0,87	±0,53
$TR_o/RC$	0,78	±0,01	0,79	±0,01	0,93	±0,04	1,03	±0,12
$ET_o/RC$	0,54	±0,01	0,55	±0,01	0,62	±0,01	0,61	±0,02
$Re_o/RC$	0,15	±0,01	0,14	±0,01	0,18	±0,01	0,18	±0,01
$\Phi_{Po}$	0,80	±0,00	0,81	±0,00	0,78	±0,01	0,73	±0,03
$\Psi E_o$	0,69	±0,01	0,70	±0,01	0,68	±0,01	0,67	±0,03
$\Phi E_o$	0,56	±0,01	0,56	±0,01	0,53	±0,01	0,51	±0,03
ABS/CS	9,68	±0,46	9,96	±0,38	7,56	±0,76	7,21	±0,78
$Di_o/CS_o$	5864	±94	5730	±71	5855	±103	5981	±245
$TR_o/CS_o$	1177	±44	1113	±27	1296	±57	1695	±315
$ET_o/CS_o$	4687	±60	4616	±55	4559	±72	4286	±175
$Re_o/CS_o$	3246	±36	3208	±46	3107	±63	2953	±185
$PI_{abs}$	883	±34	818	±32	899	±56	904	±69

Tabela 4: Médias e erro padrão (EP) das variáveis da fluorescência da clorofila a de plantas femininas (F) e hermafroditas (H) sob condição controle (W) e de estresse hídrico (WS) do genótipo 'Golden THB'.

	Genótipo 'Golden THB'							
	F-W	EP	H-W	EP	F-WS	EP	H-WS	EP
<b>F<sub>o</sub></b>	161	±1,87	161	±2,04	162	±2,31	167	±4,61
<b>F<sub>p</sub></b>	917	±11,04	912	±13,59	916	±13,07	941	±14,74
<b>QY<sub>max</sub></b>	0,82	±0,00	0,82	±0,00	0,82	±0,00	0,82	±0,00
<b>Rfd</b>	0,67	±0,04	0,68	±0,04	0,71	±0,03	0,72	±0,03
<b>ABS/RC</b>	1,08	±0,01	1,07	±0,02	1,11	±0,02	1,16	±0,04
<b>Di<sub>o</sub>/RC</b>	0,20	±0,00	0,20	±0,00	0,21	±0,00	0,22	±0,01
<b>TR<sub>o</sub>/RC</b>	0,88	±0,01	0,87	±0,02	0,91	±0,02	0,94	±0,03
<b>ET<sub>o</sub>/RC</b>	0,61	±0,01	0,60	±0,01	0,64	±0,01	0,66	±0,01
<b>Re<sub>o</sub>/RC</b>	0,19	±0,01	0,18	±0,01	0,19	±0,01	0,21	±0,01
<b>ΦP<sub>o</sub></b>	0,81	±0,00	0,81	±0,00	0,81	±0,00	0,81	±0,00
<b>ΨE<sub>o</sub></b>	0,70	±0,01	0,69	±0,01	0,70	±0,01	0,71	±0,01
<b>ΦE<sub>o</sub></b>	0,57	±0,01	0,56	±0,01	0,57	±0,01	0,58	±0,01
<b>ABS/CS<sub>o</sub></b>	9,64	±0,47	9,25	±0,48	9,61	±0,47	9,80	±0,61
<b>Di<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub></b>	5719	±67,23	5646	±86,66	5669	±63,61	5674	±148,19
<b>TR<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub></b>	1063	±16,30	1061	±23,89	1061	±22,77	1064	±43,51
<b>ET<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub></b>	4656	±52,09	4585	±67,97	4608	±46,09	4610	±105,62
<b>RE<sub>o</sub>/CS<sub>o</sub></b>	3237	±27,66	3145	±32,79	3241	±35,16	3245	±31,61
<b>PI<sub>abs</sub></b>	1006	±31,39	923	±31,68	967	±31,95	1020	±40,25

Em relação aos resultados da análise de coordenadas principais (PCoA), é possível observar que no tratamento controle não ocorreu a formação de grupos que distinguem os genótipos ou os tipos sexuais em relação às variáveis de fluorescência da clorofila (Figura 13). Ou seja, a análise multivariada PCoA não foi uma estratégia capaz de implementar a sexagem em mudas de mamoeiro dos genótipos avaliados nesse estudo na condição ótima de disponibilidade hídrica aplicada neste experimento. Apesar das características observadas nesta Figura 13 não divergirem entre os sexos das plantas, as duas primeiras coordenadas principais (PCoA 1 e PCoA2) explicaram 72% da variância total das características analisadas.

De acordo com o método Jolliffe, as variáveis passíveis de descarte são aquelas que explicam percentuais muito reduzidos da variância total que, além de serem pouco informativas, promovem acréscimo no trabalho de avaliação, e não apresentam informação adicional (Meira et al., 2013). Desta forma, é recomendado descartar as variáveis relacionadas aos componentes cuja variância (autovalor) é inferior a 0,7 (Jolliffe 1973; Meira et al., 2013).

As principais variáveis relacionadas que contribuíram para essa variação foram: a dissipação de energia do sistema antena, energia esta que não foi utilizada na redução de  $Q_A$  ( $Di_o/CS_o$ ); a absorção de energia por centro de reação ativo ( $ABS/RC$ ); o fluxo de elétrons, após a redução de  $Q_A$ , através do PSII por seção transversal ( $ET_o/CS_o$ ); o fluxo de energia capturado (redução da  $Q_A$ ) pelos centros de reação do PSII por unidade de seção transversal ( $TR_o/CS_o$ ); a razão de decréscimo da fluorescência no estado estacionário da fotossíntese ( $R_{fd}$ ); e a fluorescência mínima (inicial) ( $F_o$ ) (Tabela 5).

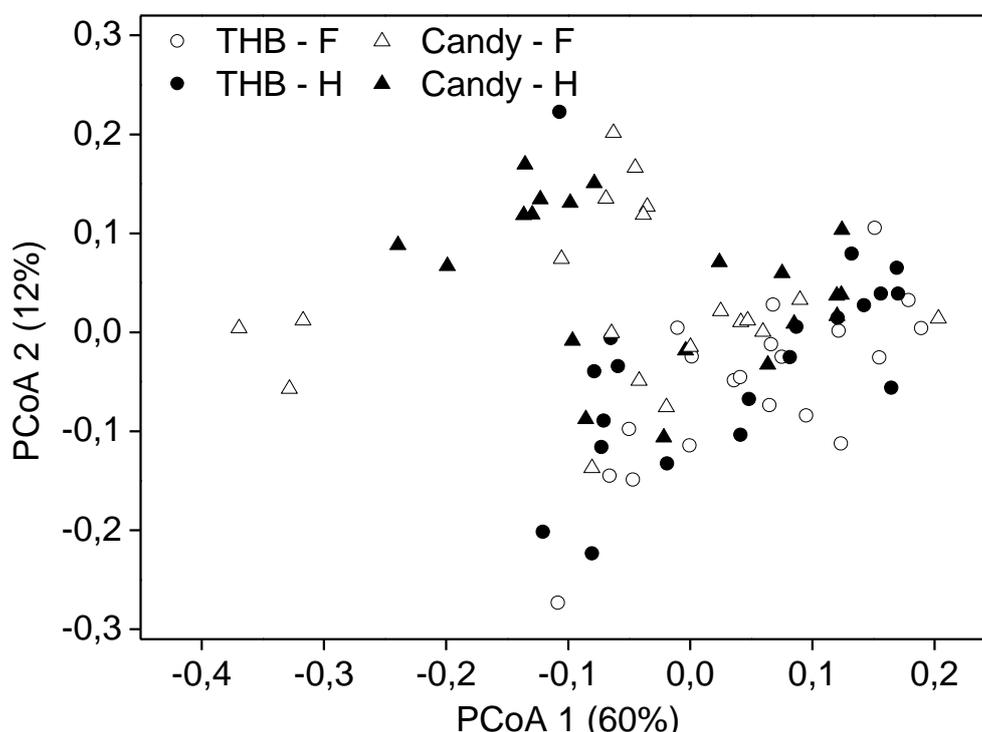


Figura 13: Análises de Coordenadas Principais (PCoA) das variáveis da fluorescência da clorofila de plantas femininas (F) e hermafroditas (H) de dois genótipos de mamoeiro sob condição controle (sem estresse hídrico). Dados obtidos no último dia do experimento (47 DAS).

Tabela 5: Autovalores e porcentagem da variância explicada pelas coordenadas (% importância) das variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila no tratamento irrigado.

<b>Autovalor</b>	<b>Tratamento Irrigado importância (%)</b>	<b>Variável</b>
7,38	41,00%	Di <sub>o</sub> /CS <sub>o</sub>
4,8	26,70%	ABS/RC
2,24	12,40%	ET <sub>o</sub> /CS <sub>o</sub>
1,66	9,30%	TR <sub>o</sub> /CS <sub>o</sub>
0,91	5,10%	Rfd
0,51	2,80%	F <sub>o</sub>
0,25	1,42%	Re <sub>o</sub> /CS <sub>o</sub>
0,12	0,69%	QY <sub>max</sub>
0,23	0,13%	PI <sub>abs</sub>
0,021	0,12%	Di <sub>o</sub> /RC
0,013	0,08%	F <sub>p</sub>
0,011	0,06%	TR <sub>o</sub> /RC
0,0069	0,04%	ΦE <sub>o</sub>
0,0056	0,03%	RE <sub>o</sub> /RC
0,0029	0,02%	ET <sub>o</sub> /RC
0,0017	0,01%	ΨE <sub>o</sub>
0,0008	0,00%	ΦP <sub>o</sub>
0	0,00%	ABS/CS <sub>o</sub>

Na condição de limitação hídrica, a análise de PCoA mostrou que a dispersão das médias ocorreu precisamente de acordo com a expressão sexual das plantas em femininas e hermafroditas (Figura 14). Nesta figura, é mostrada a formação de dois grandes grupos distintos e sem sobreposição, considerando as variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila, independente dos genótipos avaliados (Figura 14). As duas primeiras coordenadas principais (PCoA 1 e PCoA2) explicaram 80% da variância total das características analisadas. De acordo com Morrison (1976), os dois primeiros componentes devem reter 75% de toda variação pronunciada, e Cruz e Carneiro (2003) recomendam que, no mínimo, 80% da variação seja absorvida até os três primeiros componentes principais, tornando assim, mais segura a representação gráfica em planos bi ou tridimensionais.

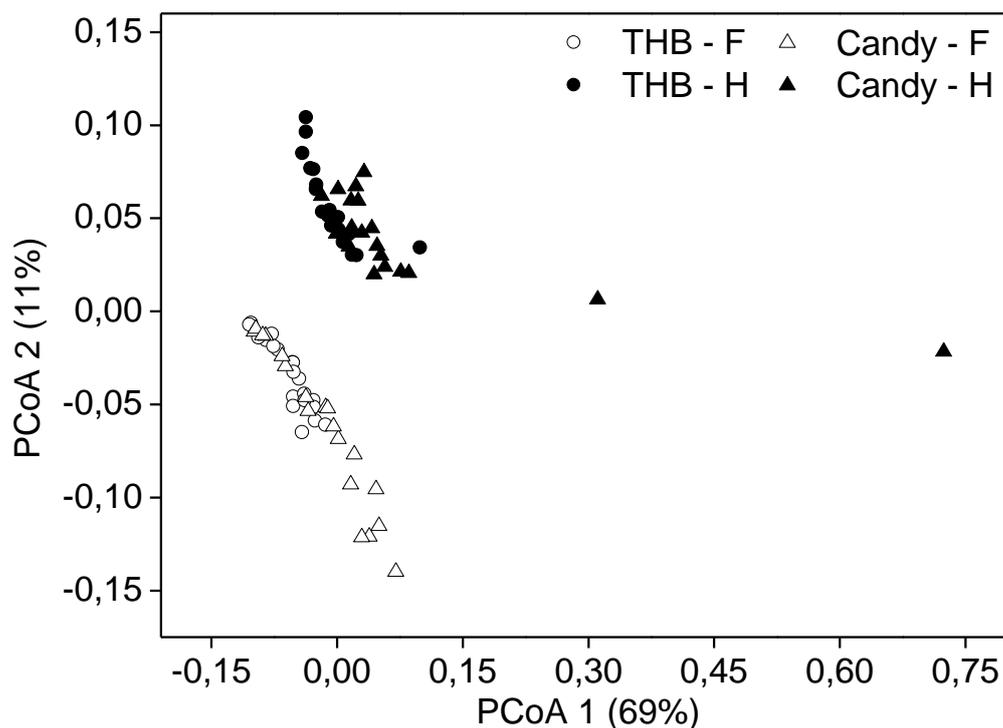


Figura 14: Análises de Coordenadas Principais (PCoA) associadas às variáveis da fluorescência da clorofila de plantas femininas (F) e hermafroditas (H) de dois genótipos de mamoeiro sob estresse hídrico. Dados obtidos no último dia do experimento (47 DAS).

Em condição de limitação hídrica do substrato, as diferenças entre os sexos das plantas foram principalmente relacionadas às variáveis: absorção de energia por unidade de seção transversal ( $ABS/CS_0$ ); fluorescência mínima (inicial) ( $F_0$ ); redução de aceptores finais no lado do acceptor de elétrons do PSI por seção transversal ( $RE_0/CS_0$ ) e por centro de reação ativo ( $RE_0/RC$ ); a fluorescência máxima emitida quando todos os centros de reação do PSII estão fechados ( $F_p$ ); e a razão de decréscimo da fluorescência no estado estacionário da fotossíntese ( $Rfd$ ) (Tabela 6). Como pode ser observado na Tabela 6, a importância das demais variáveis foi pequena para explicar a separação dos grupos de acordo com o sexo das plantas.

Tabela 6: Autovalores e porcentagem da variância explicada pelas coordenadas (% importância) das variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila *a* no tratamento sob limitação hídrica.

<b>Autovalor</b>	<b>Tratamento limitação hídrica importância (%)</b>	<b>Variável</b>
10,41	57,86%	ABS/CS <sub>o</sub>
2,64	14,70%	F <sub>o</sub>
1,85	10,33%	RE <sub>o</sub> /CS <sub>o</sub>
1,28	7,14%	RE <sub>o</sub> /RC
0,92	5,16%	F <sub>p</sub>
0,57	3,21%	R <sub>fd</sub>
0,15	0,85%	ET <sub>o</sub> /RC
0,078	0,44%	ΨE <sub>o</sub>
0,026	0,15%	PI <sub>abs</sub>
0,016	0,09%	ΦP <sub>o</sub>
0,0054	0,03%	TR <sub>o</sub> /CS <sub>o</sub>
0,0025	0,01%	QY <sub>max</sub>
0,0014	0,01%	ΦE <sub>o</sub>
0,0007	0,00%	ET <sub>o</sub> /CS <sub>o</sub>
0,0002	0,00%	TR <sub>o</sub> /RC
0	0,00%	Di <sub>o</sub> /RC
0	0,00%	Di <sub>o</sub> /CS <sub>o</sub>
0	0,00%	ABS/RC

De acordo com Jolliffe (1973), quando se dispõe de um grande número de variáveis, muitas podem ser passíveis de descarte, dado o baixo valor informativo adicionado à avaliação. Assim, é recomendado que o número de variáveis descartadas seja igual ao número de componentes cuja variância (autovalor) não ultrapasse o valor de 0,70 (Jolliffe 1973; Meira et al., 2013). Desse modo, a partir dos autovalores discriminados na Tabela 6, nota-se que, dos 18 autovalores gerados, 13 apresentaram variância inferior a 0,70.

Embora o teste de médias não tenha diferenciado os sexos, a PCoA se mostrou como uma ferramenta que pode auxiliar na identificação de indivíduos femininos e hermafroditas. Considerando que as variáveis que melhor explicaram a separação dos grupos foram ABS/CS<sub>o</sub>, F<sub>o</sub>, RE/CS<sub>o</sub>, RE<sub>o</sub>/RC, F<sub>p</sub> e R<sub>fd</sub>, elas podem ser alvo de investigação em estudos futuros sendo que a redução do número de variáveis analisadas, otimiza o procedimento estatístico para construção do PCoA.

Um estudo publicado por Fernandes et al., (2022) mostrou o alto potencial de identificar o sexo em sementes e plantas jovens de mamoeiro por meio da técnica de espectroscopia de infravermelho associada à análise multivariada

(Fernandes et al., 2022). A análise multivariada é uma ferramenta que deve ser explorada nos estudos de sexagem pois apresenta resultados satisfatórios em termos estatísticos.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

No cultivo do mamoeiro para produção de frutos, as plantas hermafroditas (H) são preferidas pelos produtores, tendo em vista a maior qualidade comercial dos frutos. Desta forma, torna-se essencial identificar o sexo das plantas para se ter uma população somente de plantas H na lavoura. Em algumas espécies, como no mamoeiro, a limitação hídrica do solo tem se mostrado com potencial uso em permitir a expressão de características fisiológicas a serem utilizadas na identificação do sexo de indivíduos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas de mudas de mamoeiro em condição de limitação hídrica. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e quatro tratamentos correspondentes aos dois genótipos '*Candy*' e '*Golden THB*' e aos dois níveis de disponibilidade hídrica, estresse hídrico e controle.

Como resultado, foi observado que as variáveis biométricas NF, DC, MSF e MSR e a condutância estomática não variaram entre os sexos em ambos os genótipos. Os índices spad e de reflectância foliar (G e CRI2) relacionados ao teor de clorofila apresentaram diferenças de acordo com o genótipo, sexo da planta e ao nível de disponibilidade hídrica. Em condição de estresse hídrico (no último dia de análise), as plantas F do genótipo '*Candy*' apresentaram o índice SPAD 17% maior do que em plantas H. O índice G (no segundo dia de análise) do genótipo '*Candy*' sob limitação hídrica foi superior nas plantas H (cerca de 14%) em relação às plantas F. O índice G (nos dois últimos dias de análise) do genótipo '*Golden THB*' sob estresse hídrico foi superior nas plantas H (cerca de 10%) em relação às plantas F. O índice CRI2 do genótipo '*Candy*' das plantas F diferiu

significativamente (14,5%) das plantas H no tratamento controle, mas sob estresse hídrico não houve diferença. O índice CRI2 do genótipo '*Golden THB*' (nos dois últimos dias de análise) das plantas H foi significativamente superior (20%) das plantas F no tratamento sob limitação hídrica, mas na condição controle não houve diferença.

Para o índice SIPI foi observado que apenas no primeiro dia de avaliação as plantas F do genótipo '*Candy*', submetidas à limitação hídrica, apresentaram o valor mais elevado em relação às plantas H. Para o índice FRI, sob tratamento controle as plantas F do genótipo '*Candy*' apresentaram o índice FRI maior do que as plantas H no segundo (14%) e terceiro (11,4%) dia de avaliação. Sob condição de limitação hídrica, esse índice se manteve estável entre plantas F e H. O índice FRI na condição controle não variou entre as plantas F e H do genótipo '*Golden THB*', mas na condição de limitação hídrica (nos dois últimos dias de análise) as plantas H obtiveram índices mais elevados (cerca de 10%) em relação às plantas F. O índice PRI do genótipo '*Candy*' sob o tratamento controle não variou entre plantas F e H, mas na condição de limitação hídrica (segundo dia de análise) as plantas F, apresentaram valor mais elevado (36%) em relação as plantas H. No genótipo '*Golden THB*', tanto no tratamento controle como na condição de limitação hídrica, o índice PRI não variou entre as plantas F e H.

Em relação às variáveis relacionadas à emissão da fluorescência da clorofila, e na condição ótima de disponibilidade hídrica, apenas a  $ET_0/CS_0$  foi significativamente superior em plantas femininas do genótipo '*Golden THB*'. A análise de PCoA na condição de limitação hídrica, mostrou que os indivíduos foram agrupados de acordo com o sexo. Desta forma, a avaliação da fluorescência da clorofila em plantas jovens de mamoeiro dos genótipos '*Golden THB*' e '*Candy*' submetidas ao estresse hídrico moderado pode ser uma ferramenta para distinguir plantas femininas e hermafroditas, quando esta avaliação está associada à análise de PCoA. Desta forma, foi possível observar que as diferenças fisiológicas entre os sexos das plantas estudadas podem variar de acordo com o genótipo. No tratamento sem limitação hídrica (controle) e no genótipo '*Golden THB*', embora tenha sido observada diferença na taxa de transporte de elétrons entre plantas femininas e hermafroditas, a análise de PCoA indica que a condição de estresse hídrico aplicada neste experimento pode estimular diferenças entre os sexos das plantas em ambos genótipos avaliados, nas variáveis relacionadas à eficiência fotoquímica.

Em condição de limitação hídrica do substrato a PCoA permitiu identificar que as variáveis que contribuíram em maior escala para a variabilidade encontrada entre as plantas femininas e hermafroditas relacionadas à fluorescência da clorofila foram: absorção de energia por unidade de seção transversal ( $ABS/CS_0$ ); fluorescência mínima (inicial) ( $F_0$ ) e redução de aceptores finais no lado do acceptor de elétrons do PSI por seção transversal ( $RE_0/CS_0$ ). Desta forma, a avaliação da emissão da fluorescência da clorofila em mudas de mamoeiro dos genótipos '*Golden THB*' e '*Candy*' submetidas ao estresse hídrico particular deste experimento, e os dados analisados por meio da análise PCoA, pode auxiliar na identificação de plantas femininas e hermafroditas

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C., Lei, W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6 (9): 2026–2032.
- Araya-Valverde, E., Bogantes, A., Holst, A., Vargas-Mora, C. (2019) Field performance of hermaphrodite papaya plants obtained through molecular selection and micropropagation. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 19 (4): 420–427.
- Barradas, A., Correia, P. M. P., Silva, S., Mariano, P., Pires, M. C., Matos, A. R., da Silva, A. B., Marques da Silva, J. (2021) Comparing machine learning methods for classifying plant drought stress from leaf reflectance spectra in *Arabidopsis thaliana*. *Applied Sciences*, 11 (14): 6392.
- Campostrini, E., Glenn, D. M. (2007) Ecophysiology of papaya: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19 (4): 413-424.
- Carr, M. K. V. (2014) The water relations and irrigation requirements of papaya (*Carica papaya* L.): a review. *Experimental Agriculture*, 50 (2): 270–283.
- Chutteang, C., Yingjajaval S., Wasee, S. (2007) Leaf photosynthetic potential of female and hermaphrodite papaya (*Carica papaya* cv. Khaeg Nuan). *Acta Horticulturae*, 740, 197–202.
- Claeys, H., Inzé, D. (2013) The agony of choice: how plants balance growth and survival under water-limiting conditions. *Plant Physiology*, 162 (4): 1768–1779.
- Correia, O., Barradas, M. C. D. (2000) Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia lentiscus* L. *Plant Ecology*, 149,131–142.
- Crane, J. H. (2019) Papaya growing in the Florida home landscape. Florida. <https://edis.ifas.ufl.edu>. Acesso em: 20 de jun. de 2021.

- Cruz, C. D.; Carneiro, P. C. S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 668p.
- Castro, F. A., Campostrini, E., Torres-Netto, A., Gomes, M. M. A., Ferraz, T. M., Glenn, D. M. (2014) portable chlorophyll meter (PCM-502) values are related to total chlorophyll concentration and photosynthetic capacity in papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 26 (3–4): 201–10.
- Dudley, L. S., Galen, C. (2007) Stage-dependent patterns of drought tolerance and gas exchange vary between sexes in the alpine willow, *Salix glauca*. *Oecologia*, 153 (1):1–9.
- El-Sharkawy, M. A., Cock, M. J. H., Hernandez, A. D. P. (1985) Stomatal response to air humidity and its relation to stomatal density in a wide range of warm climate species. *Photosynthesis Research*, 7,137–149.
- Fernandes, T. F. S., Silva, R. V. O., Freitas, D. L. D., Sanches, A. G., Silva, M. B., Cunha Júnior, L. C., Lima, K. G., Teixeira, G. H. A. (2022) Sex type determination in papaya seeds and leaves using near infrared spectroscopy combined with multivariate techniques and machine learning. *Computers and Electronics in Agriculture*, 193.
- Ferreira, M. M. C. (2015) Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações. Campinas: editora da Unicamp, 493p.
- Gitelson, A. A., Zur Y., Chivkunova, O. B., Merzlyak M. N. (2007) Assessing carotenoid content in plant leaves with reflectance spectroscopy. *Photochemistry and Photobiology*, 75 (3): 272–281.
- Goltsev, V. N., Zur Y., Chivkunova, O. B., Merzlyak, M. N. (2016) Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63 (6): 869–893.
- Gouker, F. E., Carlson, C.H., Zou, J., Evans, L., Crowell, C. R., Smart, C. D., Di Fazio, S. P., Smart, L. B. (2021) Sexual dimorphism in the dioecious willow *Salix purpurea*. *American Journal of Botany*, 108 (8) 1374-1387.
- Gower, J. C. (1971) A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*, 27, 857–87.
- Granato, D., Santos, J. S., Escher, G. B., Ferreira, B. L., Maggio, R. M. (2018) Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 83–90.
- He, M., Shi, D., Wei, X., Hu, Y., Wang, T., Xie, Y. (2016) Gender-related differences in adaptability to drought stress in the dioecious tree *Ginkgo biloba*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38 (5).

- Hongyu, K., Sandanielo, V. L. M., Junior, G. J. O. (2016) Análise de componentes principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. *E&S Engineering and Science*, 5 (1): 83–90.
- Honoré, M. N., Belmonte-Ureña, L.J., Navarro-Velasco, A., Camacho-Ferre, F. (2020) Effects of the size of papaya (*Carica papaya* L.) seedling with early determination of sex on the yield and the quality in a greenhouse cultivation in continental Europe. *Scientia Horticulturae*, 265.
- Hutton, R. J., Landsberg, J. J., Sutton, B. G. (2007) Timing irrigation to suit citrus phenology: a means of reducing water use without compromising fruit yield equality? *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47 (1): 71.
- Iezzoni, A. F. (1991) Applications of principal component analysis to horticultural research. *HortScience*, 26: 334–338.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburl, H. J., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11 (1): 100–105.
- Janeczko, A., Dziurka, M., Gullner, G., Kocurek, M., Rys, M., Saja, D., Skoczowski, A., Tóbiás, I., Kornas, A., Barna, B. (2018) Comparative studies of compatible and incompatible pepper-Tobamovirus interactions and the evaluation of effects of 24-epibrassinolide. *Photosynthetica*, 56 (3): 763–775.
- Jolliffe, I. T. (1973) Discarding variables in a principal component analysis II: real data. *Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics)*, 22 (1), 21–31.
- Jolliffe, I. T., Cadima, J. (2016) Principal component analysis: a review and recent developments. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 374: 20150202.
- Juvany, M., Müller, M., Pintó-Marijuan, M., Munné-Bosch, S. (2014) Sex-related differences in lipid peroxidation and photoprotection in *Pistacia lentiscus*. *Journal of Experimental Botany*, 65 (4):1039-1049.
- Korres, N. E., Norsworthy, J. K., FitzSimons, T., Roberts, T. L. Oosterhuis, D. M. (2017) Differential response of palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) Gender to Abiotic Stress. *Weed Science*, 65 (2): 213–227.
- Liao, J., Song, H., Tang, D., Zhan, S. (2019) Sexually differential tolerance to water deficiency of *Salix paraplesia* — A female-biased alpine willow. *Ecology and Evolution*, (9):15, 8450–8464.
- Lichtenthaler, H. K., Buschmann, C., Knapp, M. (2005) How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio Rfd of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica*, 43 (3): 379–393.
- Lopes, T. S. (2014) Trocas gasosas, termografia por infravermelho e eficiência fotoquímica: associação com o sexo em genótipos de mamoeiro (*Carica*

- papaya* L.). Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 124p.
- Manivannan, P., Jaleel, C. A., Chang-Xing, Z., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., Arabia, S. (2008) Variations in growth and pigment composition of sunflower varieties under early season drought stress. *Global Journal of Molecular Sciences*, 3 (2): 50–56.
- Mardia, K. V., Kent, J. T., Bibby, J. M. (1977) Multivariate analysis. In: Birnbaum, Z. W., Lukacs, E. (eds.) 6. ed. London: Academic Press, 267p.
- Meira, C. T., Pereira, I. G., Farah, M. M., Pires, A. V., Garcia, D. A., Cruz, V. A. R. (2013) Seleção de características morfofuncionais de cavalos da raça Mangalarga Marchador por meio da análise de componentes principais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65 (6): 1843-1848.
- Merzlyak, M. N., Gitelson, A. A., Chivkunova, O. B., Solovchenko, A. E., Pogosyan, S. I. (2003) Application of reflectance spectroscopy for analysis of higher plant pigments. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50 (5): 704-710.
- Merzlyak, M. N., Solovchenko, A. E., Smagin, A. I., Gitelson, A. A. (2005) Apple flavonols during fruit adaptation to solar radiation: spectral features and technique for non-destructive assessment. *Journal of Plant Physiology*, 162 (2): 151–160.
- Ming, R., Yu, Q., Moore, P. H. (2007) Sex determination in papaya. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 18 (3): 401–408.
- Mohammadi, S. A., Prasanna, B. M. (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43 (4): 1235–1248.
- Montesinos, D., Villar-Salvador, P., García-Fayos, P., Verdú, M. (2012) Genders in *Juniperus thurifera* have different functional responses to variations in nutrient availability. *New Phytologist*, 193 (3): 705–712.
- Morgano, M. A., Queiroz, S. C. N., Ferreira, M. M. C. (1999) Aplicação da análise exploratória na diferenciação de vegetais. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2: 73–79.
- Morrison, D. F. (1976) Multivariate statistical methods. 3 ed. University of Pennsylvania. Singapore: McGraw-Hill, 78p.
- Oksanen, F. J. (2017) Vegan: Community Ecology Package. R package Version 2.4-3. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. Acesso em: 20 de jun. de 2021.
- Oliveira, E. J., Amorim, V.B.O., Matos, E. L. S., et al., (2010) Polymorphism of microsatellite markers in papaya (*Carica papaya* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*, 8, 519–530.

- Oliveira, L. F. R., Oliveira, M. L. R., Gomes, F. C., Santana, R. C. (2017) Estimating foliar nitrogen in eucalyptus using vegetation indexes. *Scientia Agricola*, 74 (2): 142–147.
- Oñate, M., Blanc, J., Munné-Bosch, S. (2011) Influence of stress history on the response of the dioecious plant *Urtica dioica* L. to abiotic stress. *Plant Ecology & Diversity*, 4 (1): 45–54.
- Peñuelas, J. F., Baret, F. I. (1995) Semi-empirical indices to assess carotenoids/chlorophyll a ratio from leaf spectral reflectance. *Photosynthetica*, 31: 21–230.
- Rabska, M., Obakowski, P., Ratajczak, E., Żytkowiak, R., Iszkuło, G., Perskamczyc, E. (2021) Photochemistry differs between male and female *Juniperus communis* L. independently of nutritional availability. *Trees*, 35 (1): 27–42.
- R. CORE TEAM. The R Project for Statistical Computing. Disponível em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 20 de jun. de 2021.
- Reis, M. V. M., Damasceno Junior, P. C., Dias, L. A. S., Antoniassi, R., Pinto, T. O., Abboud, A. C. S. (2022) Proposal of descriptors for the characterisation of *Jatropha curcas*. *Revista Ciência Agronômica*, 53 (2).
- Retuerto, R., Sánchez Vilas, J.; Varga, S. (2018) Sexual dimorphism in response to stress. *Environmental and Experimental Botany*, 146, 1- 4.
- Rohlf, F. J. (1972) An empirical comparison of three ordination techniques in numerical taxonomy. *Systematic Biology*, 21 (3): 271–280.
- Said, S., Torre, S., Derridj, A., Gauquelin, T., Mevy, J. P. (2013) Gender, mediterranean drought, and seasonality: photosystem II photochemistry in *Pistacia lentiscus* L. *Photosynthetica*, 51 (4) 552–564.
- Salinas, I., Salehi, M., Hueso, J. J., Cuevas, J. (2018) Assessment of two sex-determining procedures in 'BH-65' papaya from an economical and developmental point of view. *Fruits*, 73 (3): 184–190.
- Simancas, B., Juvany, M., Cotado, A., Munné-Bosch, S. (2016) Sex-related differences in photoinhibition, photo-oxidative stress and photoprotection in stinging nettle (*Urtica dioica* L.) exposed to drought and nutrient deficiency. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 156, 22–28.
- Toro, G., Flexas, J., Escalona, J. M. (2019) Contrasting leaf porometer and infrared gas analyser methodologies: an old paradigm about the stomatal conductance measurement. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 31 (4) 83–492.
- Torres-Netto, A., Campostirini E., Oliveira, J. C., Yamanishi, O. K. (2002) Portable chlorophyll meter for the quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and the possible use for assessment of the photochemical process in *Carica papaya* L. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14 (3) 203–210.

- Varella, C. A. A. (2008) Análise de componentes principais. In: Varella, C. A. A. *Análise Multivariada Aplicada as Ciências Agrárias*. Rio de Janeiro: UFRRJ, 12p.
- Vasconcellos, M A. S., Carvalho, J. E. B., Pádua, T. R. P., Martelleto, L. A. P., Oliveira, A. M. G. (2021) Implantação da cultura e práticas culturais. In: Oliveira, A. M. G., Meissner Filho, P. E. (eds.) *A cultura do mamoeiro*, Brasília: Embrapa, p.153-90.
- Vashistha, P., Yadav, A., Dwivedi, U., Yadav, B. (2016) Genetics of sex chromosomes and sex-linked molecular markers in papaya (*Carica papaya* L.). *Molecular Plant Breeding*, 28 (7):1-18.
- Xu, X., Peng, G., Wu, C., Korpelainen, H., Li, C. (2008) Drought inhibits photosynthetic capacity more in females than in males of *Populus cathayana*. *Tree Physiology*, 28 (11): 1751–1759.
- Zhang, S., Jiang, H., Peng, S., Korpelainen, H., Li, C. (2011) Sex-related differences in morphological, physiological, and ultrastructural responses of *Populus cathayana* to chilling. *Journal of Experimental Botany*, 62 (2): 675–686.