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

# Efeito da aplicação exógena de L-prolina e da suplementação luminosa no desenvolvimento e produção de pimentão

**Fernando Ferraz Silveira**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2019

Fernando Ferraz Silveira
Bacharel em Engenharia Agronômica

# Efeito da aplicação exógena de L-prolina e da suplementação luminosa no desenvolvimento e produção de pimentão

Orientadora:
Profa. Dra. **SIMONE DA COSTA MELLO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2019

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

Silveira, Fernando Ferraz

Efeito da aplicação exógena de L-prolina e da suplementação luminosa no desenvolvimento e produção de pimentão / Fernando Ferraz Silveira. - - Piracicaba, 2019.

78 p.

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

1. *Capsicum annuum* L. 2. LED 3. Estresse abiótico 4. Ambiente protegido I. Título

***Aos meus pais, José e Hélen, por todo apoio e dedicação na minha formação pessoal e profissional, me permitindo ser quem sou hoje e seguir meu próprio caminho.***
***E à minha noiva, Lívia, por ser essa pessoa maravilhosa e por todo incentivo e doação constantes, me fazendo acreditar em mim e em um futuro melhor.***

# AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Dominguez Silveira e Hélen Victória Ferraz Silveira, por terem me criado com amor e carinho, por todo suporte, e por serem minha fonte de inspiração e terem me guiado ao longo de toda minha vida, me ajudando a ser uma pessoa honesta, correta e melhor.

À minha noiva, Lívia Moreira de Camargo Barreto, que me acompanhou e me ajudou em todos os momentos desta caminhada, tornando tudo mais fácil e divertido. E por ser uma das melhores pessoas que conheço, não poderia escolher companheira melhor para trilhar o resto da minha jornada nessa vida.

Aos meus irmãos, Ricardo Ferraz Silveira e Rafael Ferraz Silveira, com quem passei e ainda passo grande parte da minha vida, agradeço por todo amor, consideração e todos os momentos divertidos juntos, grande parte dos meus gostos e do que sou hoje são graças a vocês. Também à toda minha família por terem ajudado na minha criação com muito amor e carinho e por contribuirem para o meu eu de hoje.

À minha orientadora Simone da Costa Mello que desde a graduação me apoiou e contribuiu para a minha formação, não medindo esforços para repassar todo seu conhecimento; agradeço também à sua grande amizade ao longo desses anos.

Ao Grupo de Estudos e Práticas em Olericultura (GEPOL) e seus estagiários pela ajuda nos experimentos e por toda amizade e dedicação.

Ao companheiro de pesquisa, Alessandro Sabino, com quem trabalhei junto durante todo o projeto, agradecendo por toda ajuda, dedicação e amizade.

Aos colegas de Pós-Graduação, Antônio Pereira, Isabela Freitas, Walleska Torsian, Rachel Tonhati, Márcia Kobori e Gustavo Quesada pela amizade, auxílio e compartilhamento de conhecimentos

À todos os meus amigos por compartilharem suas vidas comigo, uma vida sem vocês não teria a menor graça.

À todos os professores do Departamento de Produção Vegetal e da ESALQ, em especial ao professor Keigo Minami, por compartilharem um pouco de seus conhecimentos e juntos contribuirem e muito para a minha formação.

Ao professor Ricardo Antunes de Azevedo, à Salete Gaziola e toda equipe do laboratório de Genética e Bioquímica de Plantas, por me auxiliarem e disponibilizarem o laboratório para as análises desta pesquisa.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) por permitir a realização deste sonho.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa concedida, também ajudando na realização deste sonho.

À todos aqueles que de alguma forma passaram e fizeram parte da minha vida, e que indireta ou diretamente contribuiram para a minha jornada e minha formação pessoa e profissional.

*"Small is the number of them that see with their own eyes and feel with their own hearts".*

*Albert Einstein*

# SUMÁRIO

**RESUMO** ..... **7**

**ABSTRACT** ..... **9**

**1. INTRODUÇÃO** ..... **11**

**2. OBJETIVOS** ..... **15**

2.1. OBJETIVO GERAL ..... 15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 15

**3. REVISÃO DE LITERATURA** ..... **17**

3.1. O CULTIVO DO PIMENTÃO EM AMBIENTE PROTEGIDO ..... 17
3.2. SUPLEMENTAÇÃO LUMINOSA E USO DE LEDS NA AGRICULTURA ..... 20
3.3. ESTRESSE ABIÓTICO NO CULTIVO DE PLANTAS ..... 24

**4. MATERIAL E MÉTODOS** ..... **35**

4.1. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL ..... 35
4.2. COLETA DOS DADOS METEOROLÓGICOS ..... 35
4.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS ..... 37
4.4. CONDUÇÃO E MANEJO DA CULTURA ..... 40
4.5. COLHEITA E QUANTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO DE PIMENTÃO ..... 41
4.6. QUALIDADE PÓS-COLHEITA DOS FRUTOS ..... 41
4.7. ANÁLISE DA FOTOSSÍNTESE POR TROCAS GASOSAS ..... 42
4.8. ANÁLISES BIOQUÍMICAS ..... 43
4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA ..... 46

**5. RESULTADOS E DISCUSSÃO** ..... **47**

5.1. ESTRESSE POR TEMPERATURA NO INTERIOR DA CASA DE VEGETAÇÃO ..... 47
5.2. VARIÁVEIS FOTOSSINTÉTICAS ..... 47
5.3. PRODUTIVIDADE DO PIMENTÃO ..... 52
5.4. QUALIDADE PÓS-COLHEITA DOS FRUTOS ..... 55
5.5. ANÁLISES BIOQUÍMICAS ..... 57

**6. CONSIDERAÇÕES FINAIS** ..... **63**

**REFERÊNCIAS** ..... **65**

# RESUMO

## Efeito da aplicação exógena de L-prolina e da suplementação luminosa no desenvolvimento e produção de pimentão

O estresse abiótico por altas e baixas temperaturas e o auto sombreamento de culturas conduzidas verticalmente são fatores que afetam a produção de hortaliças de frutos em cultivo protegido. O uso de LEDs para a suplementação luminosa no interior do dossel apresenta grande potencial para aumentar a fotossíntese na ocorrência do auto sombreamento. A luz também estimula a produção do aminoácido L-prolina em plantas, o qual tem papel importante no alívio do estresse abiótico devido à sua capacidade em reduzir o estresse oxidativo ocasionado por espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo que a aplicação exógena desse aminoácido também pode favorecer a fotossíntese e a produtividade de culturas agrícolas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da aplicação foliar de L-prolina e da suplementação luminosa por LED no cultivo de pimentão vermelho em ambiente protegido, avaliando também as possíveis interações entre o aminoácido e a suplementação luminosa. Foram conduzidos, no mesmo local ao mesmo tempo, dois experimentos, sendo o experimento 1 com luz natural e suplementação luminosa no interior do dossel com lâmpadas LED (80% de luz vermelha e 20% de luz azul), e o experimento 2 com radiação solar natural sem a suplementação luminosa. Em ambos os experimentos foi utilizado o delineamento experimental de blocos casualizados contendo cinco tratamentos e quatro repetições, sendo os tratamentos compostos pelo controle e por quatro doses de L-prolina aplicadas a cada 15 dias: 0, 30, 60, 90, 120 mg/L. O estudo foi conduzido em casa de vegetação com sistema de resfriamento evaporativo (*Pad and Fan*) no campo experimental do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP (Piracicaba/SP). Foram avaliadas características qualitativas dos frutos e a produtividade das plantas de pimentão, além dos parâmetros fotossintéticos, enzimas antioxidantes e quantidade de malonaldeído e de peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$). Durante grande parte do ciclo de cultivo as temperaturas máximas e mínimas ultrapassaram as faixas de temperatura ideais para a cultura, configurando assim estresse térmico ao pimentão. A taxa fotossintética e as outras variáveis fotossintéticas como condutividade estomática, eficiência de carboxilação, taxa de transpiração e taxa aparente de transporte de elétrons, foram maiores com a suplementação por LED, e isso também configurou maior produção por planta e produtividade comercial. A dose de 90 mg/L de L-prolina ocasionou um aumento aproximado de 15% na produção total, produção comercial e produção por plantas e também aumentou a produção endógena de L-prolina, quando comparado ao controle. Todas as doses de L-prolina diminuíram a produção de $H_2O_2$ e aumentaram a quantidade da enzima antioxidante catalase (CAT) em relação ao controle, sendo que as doses de 60, 90 e 120 mg/L também aumentaram a atividade da CAT em relação à dose de 30 mg/L. Houve interação entre a suplementação luminosa por LED e a aplicação de L-prolina, com efeitos sinérgicos do LED e do aminoácido para aumentar a fotossíntese e os parâmetros fotossintéticos nas plantas, além de ampliar a produção endógena de L-prolina e alterar as atividades de CAT e $H_2O_2$.

Palavras-chave: *Capsicum annuum* L., LED, Estresse abiótico, Ambiente protegido

## ABSTRACT

**Effect of exogenous L-proline and light supplementation on the development and production of sweet pepper**

Abiotic stress due to high and low temperatures and the self-shading of vertically conducted crops are factors that affect the production of fruit vegetables grown in a greenhouse. The use of LEDs as interlighting for light supplementation inside the canopy has great potential to increase photosynthesis during self-shading. Light also stimulates the production of the amino acid L-proline in plants, which plays an important role in relieving abiotic stress due to its ability to reduce oxidative stress caused by reactive oxygen species (ROS), and the exogenous application of this amino acid can also favor plant photosynthesis and increase crop yield. Thus, the objective of this work was to study the effect of L-proline foliar application and LED interlighting supplementation on red pepper cultivated in a protected environment, and also evaluate the possible interactions between this amino acid and light supplementation. Two experiments were conducted in a greenhouse at the same time, experiment 1 with natural light and interlighting supplementation with LED lamps (80% red light and 20% blue light), and experiment 2 with only solar radiation without light supplementation. In both experiments, it was used a randomized block design with five treatments and four replications. The treatments consisted of the control and four doses of L-proline applied every 15 days: 0, 30, 60, 90, 120 mg/L. The study was conducted in a greenhouse with an evaporative cooling system (Pad and Fan) in the experimental field of the Department of Plant Production of ESALQ/USP. The qualitative characteristics of the fruits and the yield of the sweet pepper plants were evaluated, besides the photosynthetic parameters, antioxidant enzymes and amount of malonaldehyde and hydrogen peroxide ($H_2O_2$). During most of the cultivation cycle the maximum and minimum temperatures exceeded the ideal temperature ranges for the crop, thus constituting thermal stress to the sweet pepper plants. Photosynthetic rate and other photosynthetic variables, such as stomatal conductivity, carboxylation efficiency, transpiration rate and apparent electron transport rate, were higher when plants were supplemented with light by LEDs, and this also configured higher production per plant and commercial productivity. The dose of 90 mg/L of L-proline caused an approximated 15% increase in total production, commercial production and plant production, in addition to increasing endogenous L-proline concentration, when compared to the control. All doses of L-proline decreased the production of $H_2O_2$ and increased the amount of antioxidant catalase enzyme (CAT) in relation to the control. The 60, 90 and 120 mg/L doses also increased the activity of CAT in relation to the 30 mg/L dose. It was reported interactions between LED interlighting supplementation and L-proline application, with synergistic effects of LED and the amino acid application in order to increase photosynthesis and photosynthetic parameters in plants, in addition to increasing endogenous L-proline production and altering CAT and $H_2O_2$ activities.


Keywords: *Capsicum annuum* L., LED, Abiotic stress, Greenhouse

# 1. INTRODUÇÃO

A população mundial aumentou em um bilhão desde 2007, chegando ao patamar de 7,7 bilhões de pessoas na metade de 2019, e a perspectiva é de que alcance 8,5 bilhões de pessoas em 2030 e 10,9 bilhões até 2100, segundo o relatório *World Population Prospects 2019* da Organização das Nações Unidas (ONU, 2019). Em um mundo onde a população só tende a crescer, é de suma importância o aumento da produtividade agrícola para suprir a demanda crescente de alimentos sem que haja ampliação na área produzida, considerando que as poucas áreas florestais restantes são essenciais para a conservação da vida e para frear as rápidas mudanças climáticas que vem acontecendo no decorrer das últimas décadas devido ao aquecimento global, como a maior incidência de eventos climáticos extremos, tanto em escala global (EMANUEL, 2005; WEBSTER et al., 2005), como local (INPE, 2013).

A luz é um fator limitante na produção agrícola por ser responsável pela fotossíntese, processo fisiológico indispensável que gera energia para o crescimento, desenvolvimento e reprodução das plantas ao logo de todo o seu ciclo de vida (TAIZ et al., 2017). Em países de clima temperado com invernos rigorosos, a baixa radiação solar causa perdas de produtividade e limita a produção no inverno, mesmo em casas de vegetação. Consequentemente, o uso da suplementação luminosa vem sendo estudado e adotado em diversas regiões temperadas (HAO et al., 2018). Por outro lado, em regiões tropicais e subtropicais com alta radiação solar diária, trabalhos e pesquisas com suplementação luminosa são escassos. Todavia, mesmo nessas regiões, culturas hortícolas produzidas em cultivo protegido possuem potencial para aumentar a produtividade através do suplemento artificial de luz, principalmente no caso das hortaliças de fruto que são conduzidas verticalmente, como é o caso do pimentão (*Capsicum annuum* L.).

Em sistemas de produção de hortaliças de fruto com alto valor agregado, a cultura pode ser conduzida ultrapassando dois metros de altura para aproveitar ao máximo a área cultivada na casa de vegetação, acarretando no auto sombreamento das folhas medianas e baixeiras da planta. Em estudo feito na Holanda com pimentão cultivado no período de maior incidência luminosa na região (agosto), 90% da luz foi interceptada pelas folhas do topo até metade do dossel das plantas conduzidas verticalmente até 2,4 m, enquanto a metade inferior do dossel interceptou apenas 10% da luz (DUECK et al., 2006). Isso demonstra o potencial de uso da suplementação luminosa no interior do dossel e entre plantas, podendo se utilizar de diodos emissores de luz (LEDs) para tal aplicação, mesmo sob alta incidência luminosa.

Os LEDs são diodos semicondutores de estado sólido que se assemelham mais a um chip de computador do que a uma lâmpada tradicional e produzem um espectro estreito de luz,

sendo energeticamente mais eficientes do que diversos outros modelos de lâmpadas e atualmente se igualando às lâmpadas de alta pressão de vapor de sódio (HPS) (BOURGET, 2008; WALLACE; BOTH, 2016). Em relação aos sistemas de iluminação tradicionais, como, por exemplo, os que utilizam lâmpadas HPS, os LEDs possuem vantagens para o cultivo em estufas por permitir o fornecimento de comprimentos de onda específicos, possuir maior durabilidade e vida longa útil, tamanho reduzido e esquentar menos (MITCHELL et al., 2012; WALLACE; BOTH, 2016). Assim, podemos empregar LEDs que emitem comprimentos de onda na faixa de luz em que ocorre a máxima absorbância das clorofilas a e b, como é o caso da luz vermelha e azul, sendo as principais fontes de energia utilizadas pelas plantas para a fotossíntese e que, portanto, exercem maior papel no crescimento e produção do que outras faixas de luz (CHORY, 2010; LIN et al., 2013).

Além da luz, o estresse abiótico é outro elemento causador de grandes perdas na agricultura. Esse é o caso, por exemplo, do estresse provocado por salinidade, seca, toxidade por metais pesados, excesso de radiação e de água, e temperaturas muito elevadas ou baixas (RAO; SHIVASHANKARA; LAXMAN, 2016). O estresse abiótico acarreta no estresse oxidativo que, por sua vez, provoca aumentos na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células das plantas. Entre as EROs mais comuns, podemos citar os oxigênios singletos ($^1O_2$), ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) e radicais hidroxila ($OH^\bullet$) (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014). A produção de EROs ocorre normalmente no metabolismo aeróbico durante a fotossíntese e a respiração, assim como a sua eliminação. No entanto, em condições de estresse abiótico, o equilíbrio entre produção e eliminação é interrompido e as EROs se acumulam nas células, ocasionando danos ao DNA, degradação de proteínas, inativação de enzimas do Ciclo de Calvin, descoloração de pigmentos, peroxidação de membranas e morte celular (YORDANOV; VELIKOVA; TSONEV, 2000; APEL; HIRT, 2004; TAIZ et al., 2017).

A inativação das EROs, conforme descrito por Taiz et al. (2017), ocorre através de sistemas de defesa antioxidante não enzimáticos e enzimáticos. Algumas das enzimas antioxidantes responsáveis por essa inativação são: catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutationa redutase (GR), ascorbato peroxidase (APX), glutationa peroxidase (GPX) (SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016). Já na lista dos antioxidantes não enzimáticos estão incluídos os flavonoides, carotenoides, ácidos fenólicos, ácido ascórbico (vitamina C), α-tocoferol (vitamina E) e a glutationa reduzida (GSH) (SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016; TAIZ et al., 2017). Além desses, o aminoácido L-prolina desempenha um papel antioxidante muito importante para a eliminação das EROs e, em situações de estresse, é acumulado demasiadamente nas plantas (MATYSIK et al., 2002).

A L-prolina é um soluto compatível que pode ser acumulado em altas concentrações nas células sem afetar a atividade enzimática ou desestabilizar a membrana celular, possibilitando seu uso pelas plantas como regulador osmótico (TAIZ et al., 2017). O acúmulo desse aminoácido é observado nas células de plantas sob estresse abiótico, podendo ter um incremento de até 100 vezes de sua concentração normal (MATYSIK et al., 2002). Esse acúmulo ocorre pelo aumento na expressão de genes relacionados à sua produção e pela supressão das enzimas envolvidas no seu catabolismo, além disso, a luz também estimula a produção desse aminoácido enquanto que, a falta de radiação intensifica o seu catabolismo (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). Algumas das funções da L-prolina são a capacidade de estabilizar proteínas, DNA e membranas celulares, proteger o aparato fotossintético e as enzimas antioxidantes envolvidas na detoxificação de EROs, estabilizar o balanço redox mantendo a homeostase celular nos cloroplastos durante sua produção endógena, e até mesmo eliminar diretamente algumas EROs como os oxigênios singletos e radicais hidroxila (MATYSIK et al., 2002; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010).

Diversos estudos observaram acréscimos na concentração de diversas enzimas antioxidantes pela aplicação exógena de L-prolina em plantas sob condições de estresse osmótico, toxidez por metais pesados e estresse por altas e baixas temperaturas (HOQUE et al., 2007a; HOQUE et al., 2007b; KAUR et al., 2011; KAUSHAL et al., 2011; SZEPESI; SZŐLLŐSI, 2018). Em casa de vegetação, o estresse osmótico e por metais pesados são pouco relevantes, no entanto, plantas cultivadas em regiões tropicais e subtropicais estão em constante estresse por altas e baixas temperaturas. Assim, a aplicação exógena de L-prolina pode ser uma forma de aliviar o estresse e obter incrementos na produtividade de culturas hortícolas.

Considerando que a L-prolina desempenha um papel importante na fotossíntese de plantas sob estresse abiótico (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010), o emprego da suplementação luminosa com LEDs em concomitância com a aplicação exógena de L-prolina poderia ser uma forma de aumentar ainda mais a produtividade pelo aumento da fotossíntese juntamente com a diminuição do estresse oxidativo. O pimentão é uma cultura com alto valor agregado que pode ser produzido em casa de vegetação, porém, possui maior sensibilidade a altas e baixas temperaturas se comparado a outras culturas hortícolas, como o tomate (GOTO et al., 2016). Ademais, o cultivo vertical dessa cultura ocasiona o sombreamento das folhas medianas e baixeiras, como descrito por Dueck et al. (2006), justificando a utilização dessa cultura na presente pesquisa.

# 2. OBJETIVOS

## 2.1. Objetivo Geral

O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito da aplicação foliar de L-prolina e a suplementação luminosa por LED no cultivo do pimentão vermelho sob ambiente protegido em substrato via fertirrigação.

## 2.2. Objetivos Específicos

- Testar diferentes concentrações de L-prolina na aplicação foliar afim de estabelecer a dose mais adequada para uma maior produtividade e qualidade do pimentão, verificando também a resposta das plantas às diferentes doses;
- Averiguar se houve aumento de produtividade, qualidade e fotossíntese do pimentão vermelho pela suplementação luminosa no interior do dossel;
- Quantificar enzimas relacionadas ao estresse oxidativo nas plantas de pimentão para verificar o efeito da aplicação de L-prolina e da suplementação luminosa no estresse abiótico;
- Verificar se há interação entre a suplementação luminosa e a aplicação de L-prolina na produtividade, qualidade, fotossíntese e estresse das plantas de pimentão.

# 3. REVISÃO DE LITERATURA

## 3.1. O Cultivo do Pimentão em Ambiente Protegido

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) é uma hortaliça de grande importância econômica, se destacando no mercado brasileiro de olerícolas. É uma planta pertencente a extensa família das Solanáceas e assim como todas as espécies do gênero, com exceção de *C. anomalum*, tem origem no continente americano (NUEZ; GIL ORTEGA; COSTA, 1996), ocorrendo desde o sul dos Estados Unidos até o norte do Chile (FILGUEIRA, 2003).

De acordo com Goto (2016), o Brasil é o 15º em área cultivada de pimentão no mundo e o 6º em produtividade. A espécie está, juntamente com o tomate e a batata, entre as treze hortaliças que têm atualmente maior participação no mercado nacional (CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL, 2017). Sua produção, que ocorre em todos os estados do país, chegou em 2017 a 253.807,14 toneladas, tendo a Região Sudeste e Nordeste como as principais produtoras com 48,79% e 22,69% do total da produção, respectivamente. Em relação aos estados, a produção de pimentão se concentra em Minas Gerais, São Paulo, Ceará, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Pernambuco (HFBRASIL, 2019), contudo, o estado de São Paulo é o mais expressivo, produzindo só no ano de 2017 cerca de 60 mil toneladas (IBGE, 2019) e apresentando uma produtividade média de 39,67 t/ha (IEA, 2019a).

No maior centro de distribuição e comercialização de olerícolas do país – a CEAGESP (Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo) – o pimentão é o 25º produto mais comercializado (CEAGESP, 2019). No ano de 2017, foi registrado pela Companhia a comercialização de 45.886,97 toneladas da olerícola (CEAGESP, 2019) e, de acordo com o Instituto de Economia Agrícola (IEA, 2019b), um valor de produção de mais de R$ 209 milhões.

Os frutos de *C. annuum* podem ser consumidos in natura em estágios verde ou maduros, ou, ainda, serem utilizados na indústria alimentícia e na produção de pigmentos (MINAMI; TESSARIOLI NETO, 1994; SOUZA; NANNETTI, 1998). Quando consumidos imaturos e ao natural, apresentam alto teor de vitamina C, sendo uma das hortaliças com maior riqueza da vitamina (FILGUEIRA, 2003), podendo um pimentão verde médio conter 180% da vitamina C recomendada diariamente (KELLEY; BOYAN, 2009). Contêm também um teor razoável de vitamina A, uma boa quantidade de vitaminas do complexo B (FILGUEIRA, 2003) e são ricos em licopeno (BRAMLEY, 2000).

A forma, o sabor e a coloração do pimentão são bastante variáveis, sendo que o fruto imaturo pode ser verde ou vermelho e quando maduro pode apresentar cores diversas, como vermelho, laranja, amarelo, marrom, creme e roxo (MINAMI; TESSARIOLI NETO, 1994).

Assim, já foram lançadas muitas variedades da espécie no mercado, avaliando-se, atualmente, mais de 60 tipos, entre híbridos e cultivares (VIANA; FREIRE; PARENTE, 2007), movimentando R$ 22,6 milhões por ano no mercado de sementes (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS, 2013).

O pimentão é uma solanácea perene de cultivo anual (FILGUEIRA, 2003) com origem tropical e subtropical que necessita de uma temperatura moderadamente elevada durante seu ciclo (MINAMI; TESSARIOLI NETO, 1994), ao contrário da pimenta que exige temperaturas mais altas (SINNADURAI, 1992 *apud* NKANSAH; NORMAN; MARTEY, 2017) e do tomate que é menos afetado por temperaturas altas e baixas (GOTO et al., 2016). Dessa forma, em São Paulo, a maior produtividade ocorre entre os meses de janeiro e março (MINAMI; TESSARIOLI NETO, 1994).

Apesar de existirem outros fatores que interferem no crescimento e na produção do pimentão, como o comprimento do dia, o fotoperíodo e a umidade relativa (NKANSAH; NORMAN; MARTEY, 2017), a temperatura vem a ser o principal fator ambiental que influencia sua frutificação (RYLSKI, 1972 *apud* MINAMI; TESSARIOLI NETO, 1994). As temperaturas favoráveis variam conforme o seu estádio de desenvolvimento (FILGUEIRA, 2003; GOTO et al., 2016) e de acordo com alguns autores. Para Goto et al. (2016) a temperatura ideal encontra-se entre 16 e 28 °C, enquanto que Nuez, Gil Ortega e Costa (1996) apontam que as temperaturas diurnas ótimas estão entre 23 a 25 °C e as noturnas entre 18 a 20 °C. Tanto Goto et al. (2016) quanto Nuez, Gil Ortega e Costa (1996) ressalvam que é necessária uma diferença entre a temperatura diurna e a noturna de 5 a 8 °C o que, de acordo com os primeiros autores, pode depender dos materiais genéticos utilizados no cultivo.

Vários autores (NUEZ; GIL ORTEGA; COSTA, 1996; FILGUEIRA, 2003; BOSLAND; VOTAVA, 2012; GOTO et al., 2016) alertam que temperaturas inferiores a 15 °C tornam-se limitantes ao pimentão, afetando todas as fases da cultura (FILGUEIRA, 2003). Temperaturas altas, principalmente se associadas a umidade relativa baixa, também são prejudiciais (NUEZ; GIL ORTEGA; COSTA, 1996), podendo ocasionar o abortamento de flores, que ocorre acima de 35 °C segundo Filgueira (2003), e o de frutos recém-formados (NUEZ; GIL ORTEGA; COSTA, 1996; NKANSAH; NORMAN; MARTEY, 2017). Nuez, Gil Ortega e Costa (1996) mencionam que em temperaturas diurnas acima de 30 °C a produção de frutos é muito baixa e que a produtividade acaba aumentando conforme a temperatura vai se aproximando dos 20 °C. Os autores exprimem também que o efeito negativo das altas temperaturas não está completamente claro, porém supõem-se que seja devido a transpiração excessiva ou a translocação insuficiente de açúcar a altas temperaturas.

Pet (1983 *apud* MINAMI; TESSARIOLI NETO, 1994), ao trabalhar com diversos cultivares e híbridos de pimentão em casa de vegetação, obteve melhor crescimento das plantas e produtividade dos frutos quando as temperaturas diurnas/noturnas mínimas foram mantidas a 20/14 °C e máximas a 23/20 °C. Em Taiwan, Saha et al. (2010), ao realizarem um estudo sobre tolerância ao calor em pimentão usando 12 genótipos diferentes, descobriram que a alta temperatura reduzia a porcentagem de frutos e o tamanho dos mesmos, sendo que os melhores resultados para produtividade e dimensão dos frutos foi obtido nas plantas cultivadas a 24/18 °C.

A produção de pimentão pode ser realizada em campo aberto ou cultivo protegido (CIJU, 2019), com a vantagem deste último sistema permitir o cultivo durante o ano todo (AGUIAR et al., 2004). O cultivo protegido de pimentão no Brasil, especialmente em São Paulo, teve expansão na década de 1990, porém acabou estagnado por um curto período de tempo. No entanto, percebe-se um aumento de áreas de cultivo protegido no país devido aos mais recentes materiais genéticos, à introdução de pimentões coloridos de vários formatos, ao mercado diferenciado em ascensão, à melhoria no manejo dos ambientes protegidos e à introdução de novas tecnologias (GOTO, 2016). Os maiores centros de produção de pimentão em cultivo protegido estão nas cidades de Santa Cruz do Rio Pardo/SP, Faxinal/PR e Planaltina/DF (GOTO, 2016). Em São Paulo, praticamente todo o pimentão colorido é produzido em ambiente protegido (MAROUELLI; SILVA, 2012).

No cultivo protegido o maior controle das variáveis climáticas como temperatura, umidade do ar, radiação solar, ventos, chuvas e geadas, resulta em um aumento da eficiência produtiva e reduz o efeito da sazonalidade, possibilitando uma oferta mais equilibrada ao longo do ano, além de menos gastos com o controle de pragas e doenças (SILVA; SILVA; PAGIUCA, 2014). Mesmo exigindo um alto custo de implantação e uma mão de obra qualificada, esse tipo de cultivo acaba gerando diversas vantagens ao produtor (SILVA; SILVA; PAGIUCA, 2014) e permite obter um produto final de melhor qualidade e disponibilizar ao consumidor um produto que, em condições de cultivo em campo, não seria possível (CARVALHO et al., 2011).

A produtividade do pimentão cultivado em campo chega em torno de 25 a 40 t/ha, enquanto em cultivo protegido chega a 180 t/ha (HENZ et al., 2007). Alguns estudos evidenciam esse aumento de produtividade para o pimentão produzido em ambiente protegido. Nkansah, Norman e Martey (2017), que trabalharam com a produção de nove variedades de pimentão em cultivo protegido e em campo aberto, constataram que houve um maior número de frutos por plantas, maior peso e largura de frutos no cultivo protegido. O estudo demonstrou ainda que os pimentões produzidos em casa de vegetação tiveram uma aparência melhor do que os produzidos em campo, fazendo com que os consumidores tivessem preferência por tais pimentões pela

maior qualidade. Cunha, Escobedo e Klosowski (2002) verificaram o fluxo de calor latente pelo balanço de energia em cultivo de pimentão em ambiente protegido e em campo e constataram que o primeiro foi mais eficiente na conversão de radiação líquida disponível em matéria seca total e na produtividade de frutos, mesmo recebendo menor quantidade de radiação solar global do que a cultura no campo.

Desse modo, devido as vantagens apresentadas, a produção de olerícolas em ambiente protegido tem sido muito empregada, em particular na produção de pimentão no estado de São Paulo. No entanto, o cultivo protegido em regiões tropicais e subtropicais não está isento de variações na temperatura dentro da casa de vegetação. A cobertura plástica não impede a perda de calor durante a noite e também ocasiona o aquecimento interno durante o dia (SEEMAN, 1979), podendo ocasionar estresse térmico ao pimentão. Além disso, de modo a aproveitar ao máximo a área cultivada em casa de vegetação, hortícolas como o pimentão são conduzidas verticalmente, o que gera o auto sombreamento das folhas medianas e baixeiras (DUECK et al., 2006).

Por conseguinte, mais informações sobre as práticas de cultivo do pimentão em casas de vegetação são indispensáveis. O uso de LEDs no interior do dossel de forma a diminuir os efeitos do alto sombreamento; e a aplicação do aminoácido L-prolina para a redução do estresse térmico, são algumas opções para contornar os problemas oriundos da condução dessa cultura em ambiente protegido.

## 3.2. Suplementação Luminosa e Uso de LEDs na Agricultura

As plantas aproveitam a energia da luz solar através do processo de fotossíntese para a síntese de compostos carbonados, principalmente açúcares, liberando oxigênio a partir de dióxido de carbono ($CO_2$) e água (TAIZ et al., 2017). Desta forma, a fotossíntese é o único processo biológico de relevância que aproveita a energia luminosa proveniente do Sol, sendo a luz um fator limitante para a produtividade agrícola, dado que a sua falta, excesso e variação afetam esse processo que por sua vez limita o crescimento e a produção das plantas (YAMORI; SHIKANAI, 2016; TAIZ et al., 2017). Em vista disso, a luz é um fator limitante para a produtividade agrícola, dado que a sua falta, excesso e variação afetam a fotossíntese que por sua vez limita o crescimento e a produção das plantas (YAMORI; SHIKANAI, 2016; TAIZ et al., 2017). Uma possibilidade para manter o fluxo de luz constante e aumentar a produtividade das culturas hortícolas em cultivo protegido é a utilização de fontes artificiais de iluminação (BANTIS et al., 2018).

O uso da iluminação artificial na agricultura vem sendo estudado a várias décadas utilizando lâmpadas incandescentes, fluorescentes, vapor de sódio de alta pressão (*High-Pressure Sodium* – HPS), iodeto ou vapor metálico (*Metal Halide* – MH) e vapor de mercúrio, para a produção em câmaras de crescimento (LEISER; LEOPOLD; SHELLEY, 1960) e culturas de tecido (SEIBERT; WETHERBEE; JOB, 1975; CHÉE, 1986), além da sua utilidade como suplementação luminosa em ambiente protegido (RAVICH, 1962; CATHEY; CAMPBELL, 1980). Essas lâmpadas convencionais geralmente possuem baixa eficiência energética e não emitem os espectros de luz ideais ao desenvolvimento de diversas plantas com fotoperíodo específico (BANTIS et al., 2018).

Atualmente, a fonte de suplementação luminosa mais popular utilizada para a produção de hortaliças de fruto em ambiente protegido são as lâmpadas HPS (HAO et al., 2018), as quais possuem um amplo espectro luminoso e fornecem a maior parte da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) nas regiões de comprimento de onda entre o amarelo e o vermelho, carecendo de luz na faixa do azul e emitindo grande quantidade de radiação na região do infravermelho (GUO et al., 2016a; WALLACE; BOTH, 2016). A emissão no infravermelho gera calor que pode afetar as plantas quando as lâmpadas são postas em certa proximidade com a cultura, por consequência, as lâmpadas HPS são geralmente colocadas a pelo menos dois metros de altura (SINGH et al., 2015a). Isso também dificulta o uso das HPS e de outras lâmpadas convencionais em sistemas com suplementação luminosa entre o dossel das plantas, visto que, nesses sistemas, a fonte de luz fica muito próxima das folhas e as HPS operam com alta temperatura.

O emprego de lâmpadas acima da cultura não fornece uma distribuição uniforme de luz para as plantas conduzidas verticalmente com o uso de fitilhos. Esse é o caso do tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pimentão (*Capsicum annuum* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.), principais culturas hortícolas de frutos produzidas em casa de vegetação (HAO et al., 2018). Em um sistema de suplementação luminosa no topo da cultura, a parte superior do dossel muitas vezes chega ao ponto de saturação fotossintética enquanto que, nas folhas medianas e baixeiras, a taxa fotossintética se encontra várias vezes abaixo do ponto de compensação luminoso (HAO et al., 2018). A utilização da suplementação luminosa no interior do dossel e entre plantas poderia compensar esse problema, no entanto, devido à alta temperatura de operação, outras fontes de luz mais adaptadas são necessárias. O uso de diodos emissores de luz (LEDs) é uma forma de contornar esse empecilho por ser uma fonte de luz que não esquenta como as outras lâmpadas convencionais (WALLACE; BOTH, 2016) e apresenta diversas vantagens em comparação com às fontes tradicionais de luz artificial (MITCHELL et al., 2012).

Os LEDs são semelhantes a chips de computador, sendo fabricados com materiais semicondutores de estado sólido. Intencionalmente são adicionadas "impurezas" na estrutura química dos LEDs para criar uma junção p(anodo)-n(catodo), mudando suas propriedades elétricas (BOURGET, 2008). Como em um diodo, os elétrons se movimentam apenas na direção p-n da junção e, ao encontrarem um buraco, os mesmos decaem para um estado de energia menor, liberando energia na forma de fótons (YEH; CHUNG, 2009). A luz emitida pelo LED é determinada pela composição do material semicondutor juntamente com as impurezas adicionadas na junção p-n, permitindo obter LEDs com bandas estreitas de energia e com picos de emissão de comprimento de onda desde 250 nm até mais de 1000 nm (BOURGET, 2008). Desta forma, os chips de LED podem emitir comprimentos de onda específicos, propiciando um controle muito maior do espectro luminoso e atendendo melhor à necessidade das plantas em comparação com outras lâmpadas tradicionais, além da possibilidade do seu uso para suplementação luminosa no interior do dossel por conta da menor emissão de calor (SINGH et al., 2015a). Ainda, segundo Bantis et al. (2018), os LEDs possuem tamanhos reduzidos, maior durabilidade e tempo de operação, e são mais favoráveis economicamente e ambientalmente do que outras fontes de luz tradicionais.

A intensidade e a qualidade da luz são fatores cruciais para o desenvolvimento das plantas, alterando a expressão de uma grande quantidade de genes (OLLE; VIRŠILĖ, 2013). Considerando que as clorofilas a/b apresentam picos de máxima absorbância nos comprimentos de onda de 430/453 nm (azul) e 663/642 nm (vermelho) (CHORY, 2010), os espectros de onda na faixa do azul e do vermelho acabam por ser as principais fontes de energia utilizadas pelas plantas para a assimilação fotossintética de $CO_2$, desempenhando papel maior no seu crescimento do que outras faixas de luz (LIN, 2013). Os comprimentos de onda do vermelho são essenciais para o desenvolvimento do aparelho fotossintético e a morfogênese das plantas, induzindo transformações no fitocromo e regulando a síntese de fitoquímicos, como os compostos fenólicos e oxalatos (CHEN et al, 2017). A luz vermelha sozinha é o suficiente para a fotossíntese e o crescimento normal das plantas (OLLE; VIRŠILĖ, 2013), possuindo assim maior potencial de uso na suplementação luminosa. Todavia, a faixa do espectro de onda do azul é mais atribuída ao desenvolvimento dos cloroplastos, regulando a biossíntese de clorofila, antocianina e a abertura e densidade estomática, além de sua importância na fotomorfogênese (MUNEER et al., 2014; CHEN et al., 2017). Por conta disso, plântulas cultivadas apenas sob luz azul podem apresentar uma maior capacidade fotossintética do que quando cultivadas apenas sob luz vermelha (SAEBØ; KREKLING; APPELGREN., 1995). Hogewoning et al. (2010) observaram disfunções nas operações fotossintéticas de folhas de pepino quando as plantas foram cultivadas

com apenas luz vermelha, porém, essas disfunções foram prevenidas e a taxa fotossintética praticamente dobrou com a adição de apenas 7% de luz azul e o restante em luz vermelha. Assim, é justificável a utilização em conjunto de ambos LEDs vermelhos e azuis na produção e crescimento das plantas.

As luzes no espectro de onda do vermelho distante e do verde também podem ser úteis no cultivo de plantas. O espectro de onda no vermelho distante impulsiona o florescimento de plantas de dia longo e promove maior distância entre nós, por exemplo (MASSA et al., 2008). Já o fornecimento de luz verde pode estimular a fotossíntese em regiões mais baixas do dossel, principalmente em cultivos adensados onde ocorre o auto sombreamento das folhas baixeiras, demonstrando a importância desse espectro no cultivo indoor (SMITH; MCAUSLAND; MURCHIE, 2017). No entanto, levando em conta que a luz natural diária fornece quantidades suficientes de luz verde e vermelho distante para penetrar no interior do dossel ou estimular o alongamento das plantas, principalmente se forem consideradas regiões com alta incidência luminosa, essas faixas de comprimento de onda se tornam menos úteis para a suplementação luminosa no interior do dossel se comparadas aos espectros do vermelho e azul.

A maioria dos trabalhos utilizando LEDs na suplementação luminosa no interior do dossel ou entre plantas foram realizados em regiões de clima mais frio com baixa ocorrência de luz natural, principalmente no inverno, como é o caso dos estudos com tomate no Japão (LU et al., 2012; TEWOLDE et al., 2016; JIANG et al., 2017) e no norte dos Estados Unidos (GÓMEZ et al., 2013), com pepino no Canadá (HAO et al., 2012; GUO et al., 2016b; KUMAR et al., 2016) e com pimentão também no Canadá (GUO et al., 2016c). Nesses estudos utilizando hortícolas conduzidas verticalmente, a eficácia da iluminação artificial por LED no interior do dossel em condições de baixa luminosidade natural para o aumento de produtividade é salientada. Ademais, Tewolde et al. (2016) obtiveram aumentos de produtividade e fotossíntese em tomate produzido no Japão, tanto no inverno quanto no verão, quando essa suplementação foi feita em período noturno no interior do dossel, destacando também a potencialidade do uso de LEDs nessas regiões inclusive no verão.

Pesquisas com suplementação luminosa são escassas em regiões subtropicais ou tropicais com alta incidência de radiação natural. Ainda assim, em pesquisa realizada no Brasil por Roldán (2017) na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) com LEDs vermelhos e azuis no interior do dossel de plantas de minipepino, foram relatados aumentos de produtividade. Outro recente estudo feito em Israel por Joshi et al. (2019) verificou aumentos de produtividade e fotossíntese em pimentão quando utilizados LEDs no interior do dossel. Essas

investigações demonstram o potencial do uso do LED mesmo em condições de alta luminosidade e temperatura.

Embora a luz seja essencial às plantas, em grandes quantidades ela também pode ser causadora de estresse, sendo responsável pela inibição do reparo do fotossistema II, redução da fixação do $CO_2$ e produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (TAIZ et al., 2017). No entanto, a luz também é importante para a produção endógena de compostos que combatem o estresse oxidativo nas plantas, como é o caso do aminoácido L-prolina (LIANG et al., 2013). Em vista disso, aplicações exógenas de compostos antioxidantes como a L-prolina podem aliviar o estresse em condições de alta luminosidade, sendo necessários mais estudos relacionando a suplementação luminosa com o alívio do estresse oxidativo.

## 3.3. Estresse Abiótico no Cultivo de Plantas

### 3.3.1. Estresse Oxidativo de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e Mecanismos de Proteção Antioxidante das Plantas

Todas as plantas cultivadas e seus ancestrais selvagens são sensíveis às condições de estresse abiótico, afetando tanto o seu crescimento quanto o seu desenvolvimento (BOSCAIU et al., 2008). Segundo Veasey et al. (2011), inúmeras são as culturas que apresentam perdas de variabilidade genética por conta da deriva genética decorrida ao longo de muitos anos durante a domesticação das espécies pelo homem, tornando as plantas cultivadas ainda mais suscetíveis ao ataque de pragas, doenças e variações ambientais em relação aos seus parentais selvagens. A principal resposta de plantas em condições de estresse é a redução ou inibição do crescimento vegetativo e do desenvolvimento reprodutivo, já que a maioria de seus recursos são acometidos para a sobrevivência da planta, tornando muitas vezes a produção agrícola economicamente inviável nessas condições. Temperaturas elevadas ou muito baixas, excesso de radiação, secas, excesso de água, salinidade e toxidez por metais pesados são alguns exemplos de estresses abióticos que causam excessivas perdas de produtividade (RAO; SHIVASHANKARA; LAXMAN, 2016).

O estresse oxidativo nas plantas se dá pelo aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), um subproduto que ocorre inevitavelmente em todos os seres vivos durante reações de oxidação em que elétrons ou energia são transferidos para moléculas de oxigênio no decorrer do metabolismo aeróbico, como na fotossíntese e na respiração (APEL; HIRT, 2004; SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016). Existem diferentes espécies reativas de

oxigênio, entre as mais comuns nas plantas podemos citar aquelas na forma de oxigênios singletos ($^1O_2$), ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radicais hidroxila ($OH^{\bullet}$) e peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014), assim como outras, como os radicais alcoxila ($RO^{\bullet}$) e peroxila ($ROO^{\bullet}$), os hidroperóxidos orgânicos (ROOH) e as carbonilas excitadas ($RO^{*}$) (SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016). Em condições normais, a produção e a eliminação das EROs se encontram em equilíbrio, no entanto, em condições de estresse, esse equilíbrio é quebrado e as EROs se acumulam nas células das plantas (APEL; HIRT, 2004; SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016; TAIZ et al., 2017). Quantidades elevadas de espécies reativas de oxigênio podem acarretar em danos ao DNA, inativação de enzimas do Ciclo de Calvin, degradação de proteínas, descoloração de pigmentos, peroxidação das membranas e morte celular (YORDANOV; VELIKOVA; TSONEV, 2000; APEL; HIRT, 2004).

O ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) é geralmente a primeira ERO a ser formada (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014) e é produzido principalmente nas mitocôndrias e nos centros de reação da fotossíntese pela transferência de elétrons para o oxigênio na cadeia de transporte de elétrons, bem como pela NADPH oxidase nas membranas plasmáticas (SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016). Embora seja pouco danoso às células devido à sua curta meia vida e moderada reatividade, o $O_2^{\bullet-}$ está envolvido na formação de outras EROs mais nocivas, como as espécies altamente reativas de oxigênios singletos ($^1O_2$) e radicais hidroxila ($OH^{\bullet-}$), além do peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

Os oxigênios singletos ($^1O_2$) são produzidos nos tilacoides dos cloroplastos durante a fotossíntese pela transferência de energia da clorofila tripleta ($^3Chl$) para o oxigênio tripleto ($^3O$). Durante o estresse abiótico, a condutância estomática é afetada, diminuindo a quantidade intra e intercelular de $CO_2$, o que aumenta as chances da transferência de elétrons ao oxigênio, gerando $^1O_2$ (SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016). O $^1O_2$ tem uma meia vida maior que o $O_2^{\bullet-}$ e pode ter uma alta difusão dentro da planta na fase gasosa, causando reações químicas específicas como dano ao DNA pela reação com a guanina, assim como afetando a integridade estrutural das membranas das proteínas do complexo do fotossistema II (MATYSIK et al., 2002).

O peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) é formado principalmente na cadeia de transporte de elétrons dos cloroplastos, mitocôndrias e membranas celulares, mas também nos peroxissomos pela β-oxidação de ácidos lipídicos e na fotorrespiração. Essa ERO é gerada pela redução ou protonação do $O_2^{\bullet-}$ que podem ocorrer tanto naturalmente como pela enzima superóxido dismutase (SOD) (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014). O $H_2O_2$, por possuir uma meia vida longa e alta permeabilidade de membranas, acaba percorrendo maiores distâncias dentro da célula ao mesmo tempo que causa danos oxidativos, porém, segundo Das e Roychoudhury (2014), essa

ERO pode ser tanto benéfica quanto maléfica, dependendo da concentração. Em altas concentrações intracelulares o $H_2O_2$ oxida resíduos de cisteína e metionina e inativa enzimas do Ciclo de Calvin, ocasionando a morte celular, enquanto que, em baixas concentrações, age como um sinalizador que regula processos fisiológicos essenciais para a planta. No entanto, o $H_2O_2$ é, juntamente com o $O_2^{\bullet-}$, responsável pela formação dos radicais hidroxilas ($OH^{\bullet}$), as espécies mais reativas e tóxicas de oxigênio conhecidas e que possuem a capacidade de destruir membranas, danificar proteínas e provocar a peroxidação de lipídios (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014). O $OH^{\bullet}$ é gerado em pH neutro pela reação de Fenton entre o $H_2O_2$ e o $O_2^{\bullet-}$, que é catalisada por metais de transição, como o ferro (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

Para reduzir os danos causados por espécies reativas de oxigênio durante estresses ambientais, as plantas se adaptaram e desenvolveram um sistema de defesa antioxidante composto por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016), os quais atuam através de um processo de destoxificação, referido por Taiz et al. (2017) como "inativação de EROs".

Como exemplos de enzimas antioxidantes que ajudam na eliminação das EROs durante o estresse abiótico, temos a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD), a ascorbato peroxidase (APX), a glutationa redutase (GR), a glutationa peroxidase (GPX), a monodehidroascorbato redutase (MDHAR) e a dehidroascorbato redutase (DHAR) (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016).

A enzima superóxido dismutase (SOD) representa a primeira linha de defesa contra as EROs em condições de estresse (APEL; HIRT, 2004). Ela é encontrada em cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos, citosol e apoplasto, sendo responsável por oxidar e reduzir o ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio pela reação: $O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$ (TAIZ et al., 2017). Reduzir o ânion superóxido em oxigênio e $H_2O_2$ limita a quantidade do mesmo nas células, evitando que se formem os radicais hidroxilas pela reação de Fenton entre $O_2^{\bullet-}$ e $H_2O_2$. Subsequentemente, o $H_2O_2$ pode então ser inativado pela enzima catalase (CAT) e pelos ciclos da Ascorbato-glutationa e Glutationa peroxidase (APEL; HIRT, 2004). A CAT tem uma alta afinidade pelo $H_2O_2$ (SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016) e converte o mesmo em água e oxigênio nos peroxissomos pela reação: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ (TAIZ et al., 2017). Essa enzima é essencial para a remoção do excesso de $H_2O_2$ durante o estresse abiótico e na ocorrência da fotorrespiração (NOCTOR; VELJOVIC-JOVANOVIC; FOYER, 2000; MITTLER, 2002).

No Ciclo da Ascorbato-glutationa a destoxificação do $H_2O_2$ é feita pela enzima ascorbato peroxidase (APX) nos cloroplastos e citosol (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014)

utilizando o ácido ascórbico (AA) como agente redutor na reação: $H_2O_2$ + AA → $2H_2O$ + MDHA (monodehidroascorbato) (APEL; HIRT, 2004). O MDHA é um radical instável que posteriormente pode se transformar em dehidroascorbato (DHA) e AA espontaneamente, se não for rapidamente reduzido para AA por outra enzima (NOCTOR; FOYER, 1998). As enzimas monodehidroascorbato redutase (MDHAR) e dehidroascorbato redutase (DHAR) são as responsáveis por manter o suplemento de AA para ser utilizado pela APX na redução do $H_2O_2$. A MDHAR reduz o MDHA de volta para AA com a ajuda de um NADPH como doador de elétrons, enquanto que, para a redução do DHA em ácido ascórbico pela enzima DHAR, a glutationa reduzida (GSH) é o agente redutor que funciona como doador de elétrons. A reação de redução do DHA gera glutationa dissulfeto (GSSG) que é reduzida novamente para GSH pela enzima glutationa redutase (GR) utilizando o agente redutor NADPH (NOCTOR; FOYER, 1998). Por fim, durante o Ciclo da Glutationa peroxidase, o $H_2O_2$ é convertido em água pela enzima glutationa peroxidase (GPX) que também necessita da GSH como agente redutor. Desta forma, a enzima GR atua novamente convertendo a GSSG em GSH, sendo importante tanto no Ciclo da Acorbato-glutationa quanto no da Glutationa peroxidase (APEL; HIRT, 2004).

Os processos descritos da destoxificação das principais EROs estão simplificados no esquema da Figura 1 abaixo.

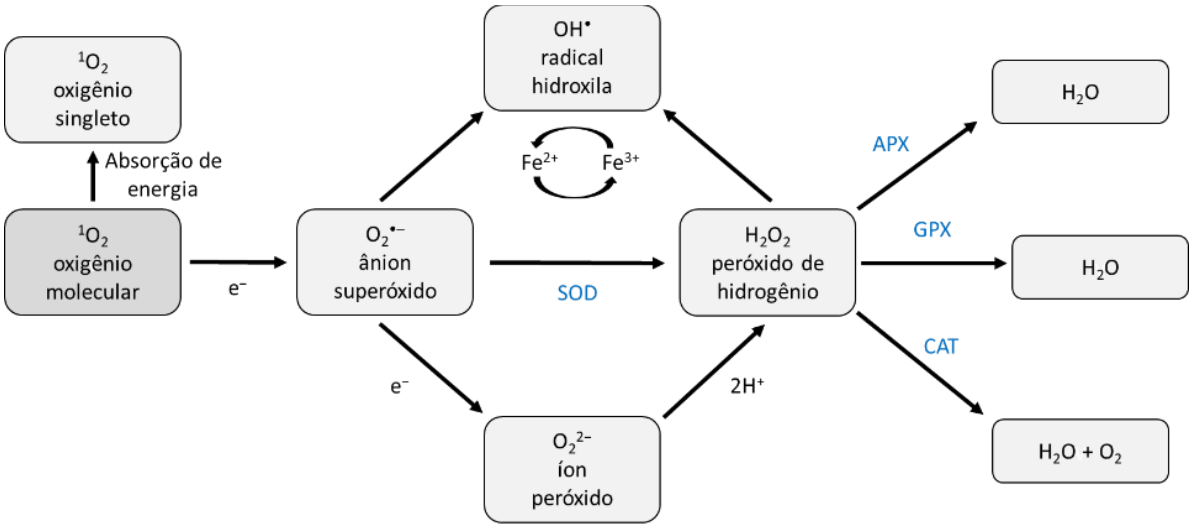


**Figura 1.** Representação esquemática simplificada da geração das principais espécies reativas de oxigênio (EROs) e atuação das principais enzimas antioxidantes.
Fonte: adaptado de Shivashankara, Pavithra e Geetha (2016).

A outra forma de defesa das plantas contra as EROs são os antioxidantes não enzimáticos. Estes são peptídeos ou compostos orgânicos pequenos que possuem a capacidade de aceitar elétrons, característica esta que os permitem neutralizar EROs como $H_2O_2$ e

superóxidos (TAIZ et al., 2017). Dentre estes, estão incluídos os ácidos fenólicos, ácido ascórbico (vitamina C), α-tocoferol (vitamina E), glutationa reduzida (GSH), flavonoides e carotenoides (SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016). Esses compostos antioxidantes precisam estar em sua forma reduzida para neutralizar as EROs. Em vista disso, as células necessitam de diversas redutases, como já visto anteriormente, que utilizam o poder redutor do NADH e NADPH produzidos durante a fotossíntese e respiração para manter esses compostos no estado reduzido (TAIZ et al., 2017). Um outro antioxidante não enzimático é o aminoácido L-prolina, o qual acumula em grandes quantidades nas plantas em diversas condições de estresse (MATYSIK et al., 2002) e desempenha diversas funções, entre elas, a capacidade de eliminar EROs.

### 3.3.2. L-prolina no Metabolismo Antioxidante das Plantas

O aminoácido L-prolina está presente em diferentes tipos de organismos vivos e possui diversas funções nas células (ARAL; KAMOUN, 1997; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). Assim como outros aminoácidos, como os açúcares-alcoóis e os compostos quaternários de amônio, a L-prolina é um soluto compatível que, diferentemente dos íons, são compostos orgânicos osmoticamente ativos nas células que não afetam a atividade enzimática e não desestabilizam a membrana celular mesmo em altas concentrações. Esta propriedade permite que as plantas utilizem os solutos compatíveis como reguladores osmóticos, acumulando-os no citosol para baixar o potencial hídrico das células durante períodos de estresse osmótico sem afetar o metabolismo das plantas (TAIZ et al., 2017). Segundo os mesmos autores, a L-prolina também tem função osmoprotetora, protegendo as plantas de subprodutos tóxicos formados durante períodos de escassez de água, além de disponibilizar nitrogênio e carbono às células durante sua degradação quando as condições osmóticas retornam ao normal.

A síntese de L-prolina nas plantas se dá principalmente no citosol em condições normais e concomitantemente nos cloroplastos em plantas sob estresse (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). A produção de L-prolina é iniciada na redução do glutamato em glutamato-semialdeído (GSA) pela enzima pirrolina-5-carboxilato sintase (P5CS), que é posteriormente convertido em pirrolina-5-carboxilato (P5C) de forma espontânea (HU; DELAUNEY; VERMA, 1992; SAVOURÉ et al., 1995). Em seguida, a P5C é reduzida em L-prolina pela enzima P5C redutase (P5CR) (VERBRUGGEN; VILLARROEL; VAN MONTAGU, 1993). Uma segunda via de produção da L-prolina é a da ornitina/arginina, começando pela conversão da arginina em ornitina pela enzima arginase. A enzima ornitina delta-aminodeltatransferase é então responsável

por transaminar a ornitina em GSA, com sua subsequente redução em L-prolina pela P5CR (KISHOR et al., 2005).

Vários autores citam a via do glutamato como a que desempenha papel principal em condições de estresse osmótico (DELAUNEY; VERMA, 1993; VERBRUGGEN; HERMANS, 2008; SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016), embora durante o estresse osmótico a via da ornitina/arginina também contribua para a produção de L-prolina, como em plantas de *Medicago truncula* (ARMENGAUD et al., 2004), e possa até ser a principal via de produção em determinadas condições, a exemplo de plantas jovens de *Arabdopsis thaliana* L. sob estresse salino (ROOSENS et al., 1998) e plantas em condições de excesso de nitrogênio (DELAUNEY; VERMA, 1993).

Em circunstâncias normais, o catabolismo da L-prolina ocorre na mitocôndria através de sua oxidação para P5C pela ação da enzima prolina desidrogenase (PDH). Sucessivamente, a P5C é convertida a glutamato pela enzima P5C desidrogenase (P5CDH) (KISHOR et al., 2005). Já em plantas sob estresse abiótico, ocorre o acúmulo de L-prolina nas células por conta da supressão das enzimas envolvidas no seu catabolismo e também pelo aumento na expressão dos genes das enzimas relacionadas à sua produção. A luz também é outro fator que aumenta a biossíntese de prolina, enquanto que, durante a noite, o seu catabolismo é intensificado (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). A quantidade de L-prolina representa certa de 5% do total de aminoácidos em plantas em condições normais, no entanto, em situações de estresse pode haver um aumento de até 100 vezes na concentração de L-prolina, configurando até 80% da quantidade total de aminoácidos na planta (MATYSIK et al., 2002).

Devido à sua estrutura molecular especial, a L-prolina possuí algumas propriedades inerentes, como a capacidade de manter a rigidez e estabilidade de proteínas (ARAL; KAMOUN, 1997). Além disso, a biossíntese de L-prolina ajuda a manter estável o balanço redox na homeostase celular nos cloroplastos, funciona como molécula sinalizadora para funções mitocondriais, influencia a proliferação e morte celular, e desencadeia a expressão de genes específicos essenciais para a recuperação da planta sob estresse. A produção de L-prolina é aumentada expressivamente em plantas sob condições de estresse, tendo a capacidade de reduzir diretamente a quantidade de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas por reação com as mesmas, ou indiretamente pelo aumento da quantidade de enzimas antioxidantes (MATYSIK et al., 2002; VERBRUGGEN; HERMANS, 2008; SZABADOS; SABOURÉ, 2010).

O aminoácido L-prolina funciona como um ótimo supressor das EROs oxigênio singleto ($^1O_2$) e radical hidroxila ($OH^{\bullet}$). O $^1O_2$ reage com a calda pirrolidina da L-prolina, a qual possui um baixo potencial ionizante e tem a capacidade de formar um complexo de transferência

de cargas com o $^1O_2$, eliminando-o. Já a reação da L-prolina com o $OH^{\bullet}$ ocorre com a retirada de hidrogênio da molécula, formando um radical mais estável (MATYSIK et al., 2002). A L-prolina também atua como uma chaperona e sua acumulação nas plantas fornece tolerância ao estresse abiótico pela proteção e estabilização de enzimas relacionadas à detoxificação de EROs, reforçando o sistema de defesa antioxidante das plantas (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010; HAYAT et al., 2012). Desta forma, mesmo que não atue diretamente sobre algumas EROs, sua aplicação pode reduzi-las através de outras enzimas.

Como a L-prolina tem a capacidade de combater as EROs que são majoritariamente produzidas nos aparatos fotossintéticos, esse aminoácido desempenha uma função importante na fotossíntese das plantas. A L-prolina também pode exercer um excelente papel na fotossíntese ao fornecer $NADP^+$ durante sua biossíntese (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). Em condições de estresse por seca ou altas temperaturas, a condutância estomática diminui como consequência do fechamento estomático e a disponibilidade de $CO_2$ nas folhas cai, limitando a atividade do Ciclo de Calvin, o que dificulta a oxidação de NADPH e a restauração de $NADP^+$. Esse processo combinado com condições de alta luminosidade pode ocasionar na redução da cadeia de transporte de elétrons, levando à inativação do fotossistema II (PSII) e à inibição da fotossíntese. Isso acontece porque o fluxo de elétrons gerado nessas condições é maior do que a quantidade de aceptores de elétrons $NADP^+$, desta forma a cadeia de transporte de elétrons acaba por utilizar o oxigênio como aceptor de elétrons para evitar maiores danos, produzindo $^1O_2$ no fotossistema I (PSI) e acumulando EROs (APEL; HIRT, 2004; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010).

Uma outra forma de fotoproteção das plantas C3 é através da fotorrespiração, um processo de oxigenação da ribulose-1,5-bifosfato catalisada pela Rubisco, utilizando como substrato o $O_2$ ao invés do $CO_2$. A fotorrespiração é uma alternativa para drenar o excesso de elétrons em condições de alta temperatura e baixa concentração de $CO_2$, prevenindo a fotoinativação do PSII (APEL; HIRT, 2004). Ela também acontece pelo aumento da afinidade da Rubisco com o $O_2$ e diminuição com o $CO_2$, conforme a temperatura aumenta, suprimindo a reação de carboxilação da ribulose-1,5-bifosfato catalisada pela Rubisco para a ocorrência da fotossíntese (HOSSAIN et al., 2014). Por conta do seu alto gasto de energia, a fotorrespiração é responsável por grandes perdas de produtividade agrícola (WALKER et al., 2016), além de ser a principal geradora de $H_2O_2$ durante a fotossíntese ao formar glicolato, o qual é translocado dos cloroplastos para os peroxissomos e oxidado em $H_2O_2$ (APEL; HIRT, 2004).

Dessa maneira, é proposto que o aminoácido L-prolina reduza os danos nos aparatos fotossintéticos pela redução de EROs e aumente a fotossíntese ao ajudar a manter um balanço de $NADPH:NADP^+$ baixo em plantas sob estresse abiótico (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). A

biossíntese de L-prolina necessita de NADPH para reduzir o glutamato em P5C e o P5C em L-prolina, fornecendo $NADP^+$ que poderia ser utilizado como aceptor de elétrons nessas condições, além de utilizar ATP na fosforilação do glutamato, gerando ADP que é aproveitado como substrato para a biossíntese de ATP na fotossíntese. Ademais, a exposição à luz aumenta a expressão da enzima P5CS, estimulando a produção de L-prolina e, portanto, o aumento de $NADP^+$ (LIANG et al., 2013). Assim sendo, o aumento na biossíntese de L-prolina ajuda a manter o fluxo de elétrons constante pelo fornecimento de $NADP^+$, estabiliza o potencial redox e combate a fotoinibição e os danos aos aparatos fotossintéticos durante o estresse (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010).

De Ronde et al. (2004), utilizando plantas transgênicas de soja com orientação anti-sentido (inibição) ou "sentido" do gene P5CR de *Arabidopsis thaliana*, gene este responsável pela produção de L-prolina, estudaram a resposta fotossintética ao estresse provocado por seca e altas temperaturas. Em condições de estresse e mesmo após a recuperação por reidratação, foram observados poucos sintomas de estresse e alta resistência das plantas transgênicas com a expressão do gene P5CR, em comparação com o estresse severo constatado nas plantas transgênicas inibidoras do gene P5CR. As plantas transgênicas que expressavam o gene P5CR também evidenciaram concentrações bem maiores de $NADP^+$ do que as observadas nas plantas selvagens ou nas plantas P5CR anti-sentido inibidoras do gene, além de apresentarem maiores quantidades de L-prolina em plantas sob estresse por dois dias consecutivos. Esse estudo evidencia a importância da biossíntese de L-prolina para a resistência das plantas e na melhora da fotossíntese em condições de estresse abiótico. Uma outra forma de ação da L-prolina que afeta indiretamente a fotossíntese nas plantas é o aumento da atividade das enzimas antioxidantes pelo acréscimo nas concentrações de L-prolina.

Diversos autores observaram incrementos na concentração de enzimas antioxidantes após a aplicação exógena de L-prolina. A maioria desses estudos é em condições de estresse osmótico por salinidade ou seca (HOQUE et al., 2007a; HOQUE et al., 2007b; AHMED et al., 2010; HOSSAIN; HASANUZZAMAN; FUJITA, 2011; NOUNJAN; NGHIA; THEERAKULPISUT, 2012; OSMAN, 2015), já que representam dominante preocupação na agricultura (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008). Entre esses estudos, mudas de feijão-mungo-verde (*Vigna radiata* L.) sob estresse salino pré-tratadas com L-prolina aumentaram a atividade das enzimas CAT, APX, DHAR, GR e GPX, e diminuíram a quantidade de MDA e $H_2O_2$ (HOSSAIN; HASANUZZAMAN; FUJITA, 2011). Pesquisas com a aplicação exógena de L-prolina para aliviar a toxidez por metais pesados, quantificando as enzimas antioxidantes, também são frequentes (ISLAM et al., 2009; SINGH et al., 2015b; ZOUARI et al., 2016; SZEPESI;

SZŐLLŐSI, 2018; ZOUARI et al., 2018). A exemplo disso, o fornecimento de L-prolina em mudas de berinjela conferiu tolerância à toxidez por arsênio e reduziu pela metade sua absorção através da maior ativação das enzimas SOD, CAT, POD e P5CS e diminuição de $H_2O_2$, MDA, radicais superóxido e prolina desidrogenase (PDH), sendo observado uma maior produção endógena de prolina e maior crescimento das mudas (SINGH et al., 2015b).

A aplicação exógena de L-prolina para aliviar o estresse causado por altas e baixas temperaturas em condições de campo é menos estudada na literatura se comparado com o estresse osmótico e por metais pesados, e menos ainda sobre a influência desse aminoácido nos antioxidantes das plantas em condições de estresse por temperatura. Todavia, são abundantes os estudos que demonstram maior produção endógena de L-prolina em plantas sob estresse por temperaturas elevadas (SOUZA; CARDOSO; GONÇALVEZ, 2004; GOSAVI et al., 2014; SIDDIQUI et al., 2015; HARSH et al., 2016) ou por baixas temperaturas (SOUZA; CARDOSO; GONÇALVEZ, 2004; KAUR et al., 2011; LIU et al., 2016). Além disso, Kaushal et al. (2011), pesquisando sementes e mudas de grão de bico tratadas com L-prolina em altas temperaturas, observaram acréscimos nas atividades da GR no tratamento de maior temperatura (45/40 °C) e nas atividades da APX na maioria dos tratamentos, conferindo também aumento na concentração do antioxidante glutationa reduzida e maior germinação e crescimento das mudas. Em plantas de grão-de-bico sob estresse por frio, a aplicação de L-prolina conferiu maior produção endógena da mesma, e maior produção de sementes, apresentando também uma melhor retenção das flores, pegamento das vagens, viabilidade e germinação de pólen, e menor dano causado por estresse oxidativo (KAUR et al., 2011). Desta forma, fica evidente a importância da L-prolina em plantas sob condições de estresse por temperatura.

Como já citado, a maioria das pesquisas com a aplicação de L-prolina são para a mitigação do estresse osmótico nas plantas, o que não é tão relevante para a produção de culturas com um alto valor agregado em que se utilizam sistemas de irrigação em substrato sob ambiente protegido. Plantas cultivadas nesses sistemas estão em constante estresse por altas e baixas temperaturas, radiação ou até mesmo por ataque de pragas, principalmente em regiões tropicais e subtropicais em que o controle do clima dentro da casa de vegetação se torna mais difícil e oneroso, considerando também o menor valor comercial dessas culturas em comparação com países desenvolvidos. Nessas regiões mais quentes a casa de vegetação deve possuir aberturas a fim de evitar o aumento exagerado da temperatura, e o custo de implantação de um sistema de resfriamento para manter temperaturas amenas dentro da casa de vegetação é muito elevado. Ainda assim, é possível a utilização de sistemas de refrigeração como o *Pad and Fan*, porém, mesmo nesses sistemas, a temperatura pode subir mais do que o desejado, sendo relatados

temperaturas acima dos 30 °C graus, além de não evitar que as temperaturas caiam muito nos períodos mais frios do inverno, como observado nos estudos de Campagnol (2015) e Roldán (2017).

Desta forma, experimentos de campo com o cultivo em casa de vegetação em regiões tropicais e subtropicais são necessárias para avaliar a aplicação de L-prolina como mitigadora do estresse por temperaturas elevadas e baixas que ocorrem ao longo do ano. Ainda, Segundo Taiz et al. (2017), as plantas gastam grande quantidade de energia para produzir solutos compatíveis como a L-prolina, acarretando perdas de produtividade, o que poderia justificar a sua aplicação exógena para o alívio do estresse e o aumento na produção.

# 4. MATERIAL E MÉTODOS

## 4.1. Caracterização da Área Experimental

O estudo foi conduzido de 07 de abril de 2018 a 08 de janeiro de 2019, em uma casa de vegetação localizada no campo experimental do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP, na cidade de Piracicaba/SP (latitude: 22° 42' 30'' S; longitude: 47º 38' 00'' O; altitude: 546 m). A casa de vegetação de estrutura metálica e telhado tipo arco possuía 28 m de comprimento, 12,8 m de largura e 3,4 m de pé direito. Sua cobertura é de filme de polietileno aditivado (anti-UV) com 150 μm de espessura e suas laterais são fechadas com duplo filme de polietileno aditivado (bolha). A estrutura da casa de vegetação conta com um sistema de resfriamento evaporativo de controle climático (*Pad and Fan*) que é ativado automaticamente quando a temperatura no interior da estufa ultrapassa 28 °C.

O clima da região de Piracicaba, baseado na classificação climática de Köppen, era do tipo Cfa (subtropical úmido com clima oceânico, com ausência de estação seca com verão quente), com alguns anos registrando o clima Cwa (subtropical úmido com inverno seco e verão quente) e desde 1980 passou a ser do tipo Aw (tropical com estação seca) (DIAS; ALVARES; SENTELHAS, 2017). A temperatura média do município nos meses mais quentes ultrapassa os 24 °C e nos meses mais frios é inferior a 18 °C. A precipitação anual atinge em média 1273,1 mm, sendo janeiro o mês mais chuvoso, com precipitação média de 229,4 mm e julho o mês mais seco, com média de 28,8 mm (LEB/ESALQ/USP, 2019).

## 4.2. Coleta dos Dados Meteorológicos

Os valores de temperatura, umidade relativa e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de dentro da casa de vegetação foram registrados continuamente (a cada trinta minutos) pela miniestação meteorológica *WatchDog* 2475 *Plant Growth Station* (*Spectrum Technologies*, Inc.; USA) colocada no centro da mesma a 1,5 m de altura e posicionada de forma a evitar o sombreamento das plantas (Figura 2). Os dados coletados das temperaturas médias diárias, temperaturas máximas e mínimas diárias, de umidade relativa do ar (UR) média, máxima e mínima por dia e de RFA por dia, expressa pela intensidade luminosa diária em mol/m²/dia, constam nas Figuras 3 e 4. Dentro da estufa a temperatura mais alta registrada alcançou 34,9 °C em setembro e a mais baixa 4,4 °C em julho. Quanto à RFA a máxima obtida foi de 33,98 mol/m²/dia e a umidade relativa do ar variou de 99,5% a 12,7%.

**Figura 2.** Miniestação meteorológica utilizada para coleta dos dados de temperatura, umidade relativa e radiação fotossinteticamente ativa (RFA).

Fonte: acervo do autor.

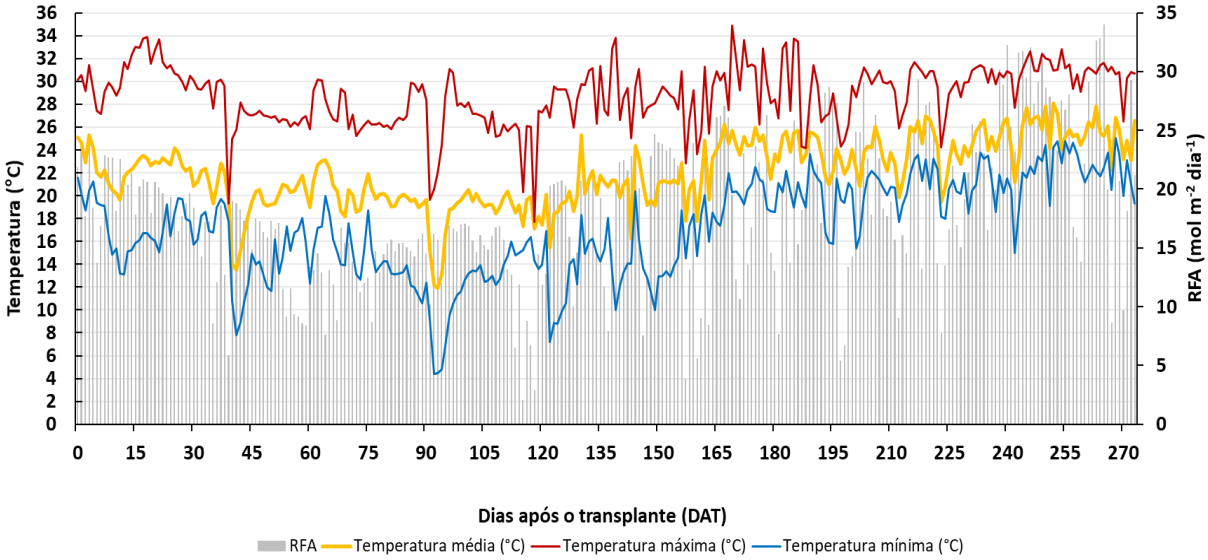


**Figura 3.** Temperaturas média, máxima e mínima e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) diárias registradas no interior da casa de vegetação durante o ciclo de cultivo do pimentão.

Fonte: elaborado pelo autor.

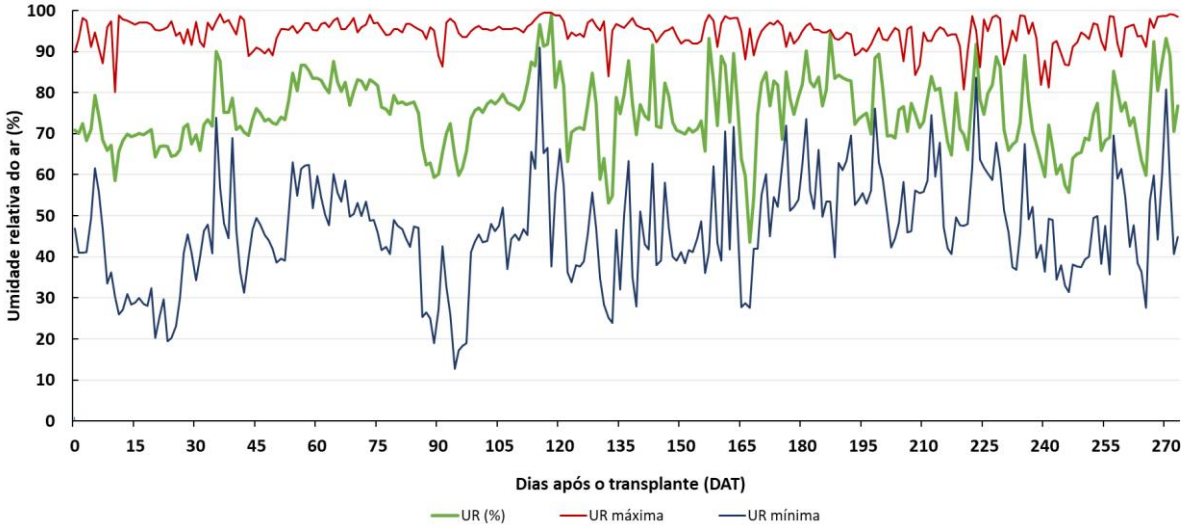


**Figura 4.** Umidade relativa do ar (UR) média, máxima e mínima por dia registradas no interior da casa de vegetação durante o ciclo de cultivo do pimentão.

Fonte: elaborado pelo autor.

## 4.3. Delineamento Experimental e Tratamentos

Dois experimentos foram conduzidos ao mesmo tempo na casa de vegetação, sendo o experimento 1 sob luz natural com suplementação luminosa com lâmpadas LED no interior do dossel e experimento 2 sem suplementação luminosa, apenas com a radiação natural. Em ambos os experimentos foram aplicadas quatro doses de L-prolina, além do controle.

O delineamento experimental utilizado para os dois experimentos foi o de blocos casualizados, sendo cinco tratamentos com quatro repetições, num total de 20 parcelas. Cada parcela foi composta por oito plantas, sendo que as quatro plantas localizadas nas extremidades de cada parcela foram consideradas como bordadura e as quatro plantas centrais como parcela útil, correspondendo as plantas usadas nas avaliações desse trabalho (Figura 5).

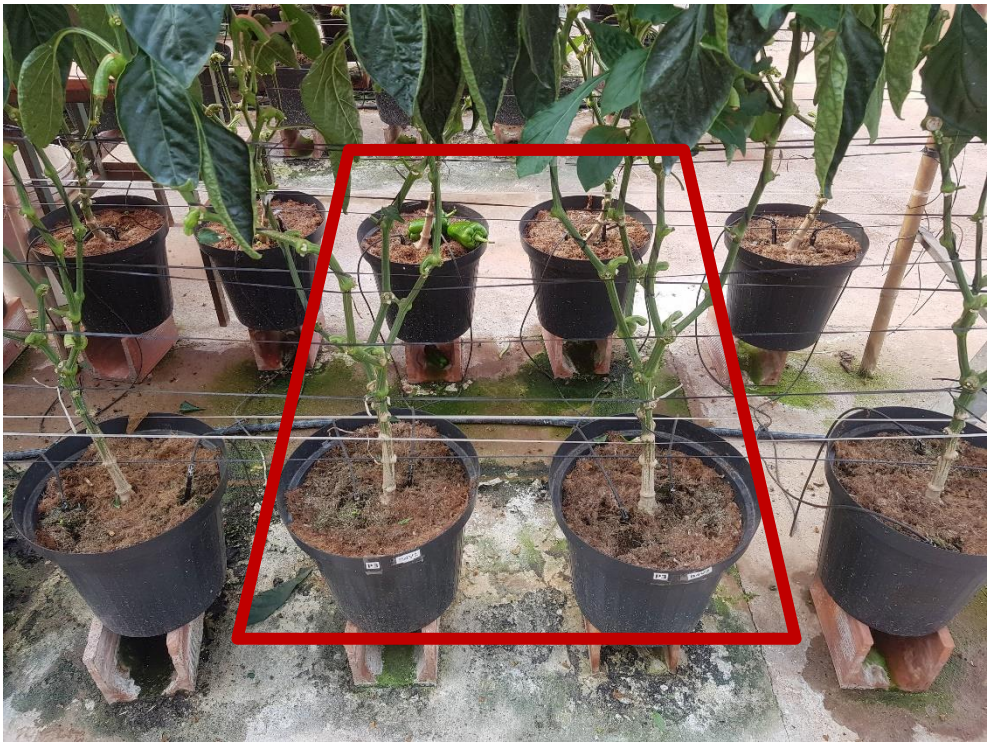

**Figura 5.** Exemplo de uma parcela com oito plantas em linha dupla: quatro plantas ao meio (parcela útil em vermelho) e quatro plantas de bordadura.

Fonte: acervo do autor.

### 4.3.1. Suplementação Luminosa

A suplementação luminosa foi realizada por barras de lâmpadas LED, modelo *Philips GreenPower* LED (*Philips Lighting Holding* B.V.; Holanda) dispostas horizontalmente a 1,5 m de altura entre linhas duplas de pimentão (Figura 6). Essas barras de lâmpadas LED possuem 250 cm de comprimento, 4,2 cm de largura e 7 cm de altura e são compostas por 80% de luz na faixa do vermelho com pico em 662 nm, e 20% na faixa do azul com pico em 452 nm, emitindo 220 µmol de fótons por m² por segundo. O início dessa suplementação luminosa ocorreu somente após as plantas ultrapassarem a altura em que a barra de LED estava posicionada (1,5 m). O fotoperíodo utilizado foi de 16 horas, desse modo, as lâmpadas LED foram programadas para ligar automaticamente às 6h e desligar às 22h.

**Figura 6.** Barras LED posicionadas entre linhas duplas no interior do dossel de plantas de pimentão a 1,5 metros de altura.

Fonte: acervo do autor.

### 4.3.2. Aplicação de L-prolina

Os cinco tratamentos usados nos experimentos foram compostos por quatro doses de L-prolina e o controle: 0, 30, 60, 90 e 120 mg/L. Esse aminoácido foi aplicado por meio de um pulverizador costal com cilindro de $CO_2$ a fim de manter a uniformidade na aplicação e cobertura completa dos tecidos vegetais. As pulverizações foram dirigidas às plantas com uma pressão constante e um volume de solução adequado para cada estádio de seu desenvolvimento (Figura 7). As aplicações de L-prolina foram realizadas prontamente depois do transplante das mudas e o mesmo procedimento foi repetido a cada 15 dias até o fim do ciclo de cultivo do pimentão.

**Figura 7.** Aplicação de L-prolina aos 30 dias após o transplante (DAT).

Fonte: acervo do autor.

## 4.4. Condução e Manejo da Cultura

### 4.4.1. Caracterização da Cultivar

O cultivar de pimentão utilizado na pesquisa foi o Taurus da empresa *Sakata Seeds*, sendo esse um pimentão vermelho intenso com peso médio de frutos de 280 gramas, com média de início da colheita após a semeadura de 165 dias. Ainda, de acordo com a empresa, as plantas apresentam médio vigor, alto pegamento de frutos, e resistência ao fungo *Leveillula taurica* e ao vírus PVY (*Potato virus* Y) das estirpes P0, P1 e P1,2 (SAKATA SEED SUDAMÉRICA, 2019).

### 4.4.2. Sistema de Cultivo e Condução das Plantas

As mudas de pimentão foram produzidas em bandejas plásticas de 123 células com fibra de coco por produtor especializado próximo a região de Piracicaba/SP. Aos 30 dias após semeadura as mudas foram selecionadas para garantir uniformidade de estande e posteriormente transplantadas para vasos plásticos de oito litros contendo substrato à base de fibra de coco. As plantas foram dispostas em linhas duplas com espaçamentos de 0,4 m entre plantas, 0,8 m entre linhas e 1,4 m entre linhas duplas, totalizando aproximadamente 2,23 plantas por metro quadrado.

As plantas foram conduzidas com quatro hastes, sendo que a partir da bifurcação da haste principal foi obtida a segunda haste, e a partir da bifurcação dessas foram obtidas a terceira e quarta haste. O tutoramento vertical das plantas foi feito através de fitilhos plásticos até 2,5 m de altura, quando então foi feita a capação das hastes pelo corte da gema apical. Para manter as plantas com quatro hastes, as demais brotações foram removidas durante todo o ciclo. A primeira flor da primeira bifurcação foi retirada, conforme recomendações de Ferreira, Alves e Nick (2016), a fim de aumentar a produtividade.

### 4.4.3. Manejo da Solução Nutritiva para a Fertirrigação

O manejo da irrigação e nutrição das plantas foi feito via fertirrigações diárias controladas por sistema gasoso de controle de irrigação (Irrigas®), que acionava automaticamente quando a tensão da água no substrato atingia 3,5 kPa, com duração suficiente para obter um percentual de drenagem de aproximadamente 20% do volume aplicado (MIRANDA et al., 2015). O sistema de irrigação foi composto de bicos gotejadores autocompensantes de 8 L $h^{-1}$ espaçados 40 cm entre si e com quatro tubos gotejadores de

polietileno de 16 mm inseridos em cada bico, com vazão de 2 L $h^{-1}$ cada um, empregando dois tubos gotejadores por vaso.

A composição da solução nutritiva para o pimentão em casa de vegetação foi adaptada de Goto e Rossi (1997), e dividida em fases vegetativa e reprodutiva. A solução para a fase vegetativa do pimentão foi aplicada do início do cultivo até os 50 DAT e composta, em mg $L^{-1}$ por: 180 N, 43,5 P, 230 K, 123 Ca, 27 Mg, 32,5 S, 2,02 Fe, 0,46 Mn, 0,09 Mo, 3,69 B, 0,46 Cu, 0,18 Zn, 0,09 Ni. Para o período reprodutivo, que compreendeu dos 51 DAT até a última colheita aos 273 DAT, a concentração dos nutrientes na solução nutritiva, em mg $L^{-1}$, foi de: 176 N, 54 P, 197 K, 142 Ca, 54 Mg, 78 S, 3,22 Fe, 0,46 Mn, 0,09 Mo, 2,67 B, 0,46 Cu, 0,18 Zn, 0,09 Ni.

### 4.5. Colheita e Quantificação da Produção de Pimentão

A primeira colheita do pimentão foi efetuada aos 108 DAT, sendo que as sucessivas colheitas foram feitas aproximadamente a cada 15 dias, dependendo do estádio de maturação dos frutos, totalizando 11 colheitas ao longo do ciclo com a última aos 273 DAT. Após cada colheita, os frutos foram levados ao laboratório para medição da largura, comprimento e peso. A produção total foi determinada pela somatória do peso dos frutos de cada colheita. A produção comercial foi obtida pela diferença entre a produção total e a produção de frutos não comerciais, os quais apresentavam distúrbios fisiológicos (deformações e deficiências nutricionais) ou tamanho e peso não comerciais.

### 4.6. Qualidade Pós-colheita dos Frutos

A qualidade pós-colheita dos frutos foi efetuada por meio da colheita e seleção de quatro frutos representativos (Figura 8) por parcela aos 259 DAT. Os frutos foram picados, triturados e homogeneizados, utilizando uma centrífuga Britânia 1000, para a análise do teor de sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez titulável total (ATT), e ácido ascórbico (vitamina C). O SST da polpa foi quantificado em °Brix com um refratômetro da marca Atago (modelo PR-32α). O pH foi determinado mediante leitura direta da polpa com pHmetro digital (Tec-3MP). O mesmo pHmetro foi utilizado para mensurar a ATT, sendo diluídos 10 gramas da polpa em 90 mL de água para a titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até que o meio atingisse pH 8,1, segundo metodologia recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (PREGNOLATTO; PREGNOLATTO, 1985). Na determinação do ácido ascórbico, uma alíquota de 10 gramas de

polpa foi diluída em 90 mL de solução de ácido oxálico a 1%. A titulação foi efetuada empregando solução de 2,6-diclorofenol-indofenol (CARVALHO et al., 1990).

**Figura 8.** Seleção de quatro frutos por parcela para análises qualitativas.

Fonte: acervo do autor.

### 4.7. Análise da Fotossíntese por Trocas Gasosas

A fotossíntese das plantas de pimentão foi determinada através do equipamento *Infrared Gas Analyzer* (IRGA), da LI-COR, modelo LI 6400XT. Os parâmetros avaliados foram: fotossíntese líquida, através da taxa de assimilação de $CO_2$ (A – µmol $CO_2$ $m^{-2}$ $s^{-1}$); condutância estomática (Gs – mol $H_2O$ $m^{-2}$ $s^{-1}$); concentração interna de $CO_2$ na folha (Ci – µmol $CO_2$ $mol^{-1}$); taxa de transpiração (E – mmol $H_2O$ $m^{-2}$ $s^{-1}$); eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm); taxa aparente de transporte de elétrons (ETR – µmol elétrons $m^{-2}$ $s^{-1}$); eficiência do uso da água (EUA – µmol $CO_2$ $m^{-2}$ $s^{-1}$/mmol $H_2O$ $m^{-2}$ $s^{-1}$ ) medida através da taxa de assimilação de $CO_2$ dividida pela taxa de transpiração (A/E); e a eficiência de carboxilação (A/Ci – µmol $CO_2$ $m^{-2}$ $s^{-1}$/µmol $CO_2$ $mol^{-1}$) calculada pela divisão entre a taxa de assimilação de $CO_2$ e a concentração interna de $CO_2$ na folha. A medição foi realizada aos 243 DAT das 10 h às 12 h, na décima folha totalmente expandida a partir do ápice de uma planta útil de cada repetição.

## 4.8. Análises Bioquímicas

Para as análises bioquímicas, foi coletada uma folha de uma planta útil de cada repetição. As folhas corresponderam à quarta folha totalmente expandida a partir do ápice. A coleta foi realizada no período da tarde por volta das 14 h aos 183 DAT, ou seja, no terceiro dia após a aplicação de L-prolina efetuada aos 180 DAT. O dia da coleta foi marcado com temperaturas elevadas, tendo uma máxima de 33,4 °C no período da tarde, média de 25,6 °C e mínima de 22,2 °C. Imediatamente após a retirada das folhas, as mesmas foram colocadas em nitrogênio líquido e levadas para o laboratório. O material vegetal foi macerado a mão com nitrogênio líquido, utilizando almofariz e pistilo (Figura 9), e colocado em tubos Falcon de 50 ml para posterior armazenamento em freezer a -80 °C.

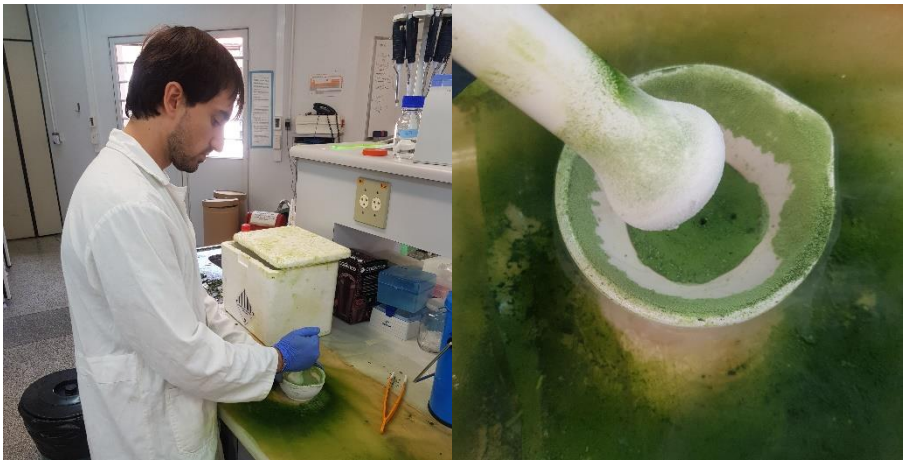

**Figura 9.** Maceração do material vegetal das folhas coletadas utilizando nitrogênio líquido para manter o material congelado.

Fonte: acervo do autor.

### 4.8.1. Extração e Determinação de Proteínas Solúveis Totais

Para a extração das proteínas foi pesado 1 g de material vegetal de cada amostra macerada e adicionado mais 4% de PVPP (polivinilpolipirrolidona) e 3 ml de tampão de extração de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) contendo 1 mM de EDTA e 3 mM de DTT. O material foi centrifugado a 4 °C por 30 minutos a 10.000 rpm para separar as fases sólidas e líquidas, e o sobrenadante foi dividido em alíquotas de 200 µL pipetadas em tubos eppendorf para estocagem em freezer a -80 °C (AZEVEDO et al., 1998). Essas soluções de extração foram utilizadas posteriormente para determinar a concentração de proteínas solúveis totais e atividade das enzimas antioxidantes CAT, SOD e GR.

A determinação do teor de proteínas foi realizada através de método proposto por Bradford (1976), misturando 20 μL da solução de extrato proteico e 1 mL de reagente de Bradford, que foram agitados e mantidos em repouso por dois minutos. Utilizou-se o BSA (*Bovine serum albumin*) para determinar a curva padrão, e as leituras das amostras foram feitas em espectrofotômetro a 590 nm, sendo os resultados expressos em mg por mL de proteínas solúveis totais.

### 4.8.2. Atividade das Enzimas Antioxidantes

#### 4.8.2.1. Catalase (CAT)

A atividade da catalase (CAT) foi determinada através de metodologia adaptada de Azevedo et al. (1998), que por sua vez foi adaptada de metodologia proposta por Kraus, Mckersie e Fletcher (1995). Foram misturados 25 μL da amostra de extrato proteico com 1 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 2,5 μL de peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$). A medição foi feita seguindo a decomposição do $H_2O_2$ por um minuto em espectrômetro a 240 nm, e os valores obtidos foram usados para calcular a quantidade de CAT em μmol/min/mg de proteína através dos valores de proteínas solúveis totais obtidos no item 4.8.1.

#### 4.8.2.2. Superóxido Dismutase (SOD)

A enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada através de espectrômetro por metodologias propostas por Giannopolitis e Ries (1977) e Cembrowska-Lech, Koprowski e Kępczyński (2015). Foi preparada uma mistura contendo 966 μL do tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), 390 μL de metionina (13 mM), 94,5 μL de NBT (63 μM), 15 μL de EDTA (0,1 mM) e 19,5 μL de riboflavina (1,3 μM). Essa mistura foi adicionada em tubos de ensaio juntamente com 15 μL da solução de extrato proteico, sendo agitados por 30 segundos e deixados em iluminação por cinco minutos para posterior medição em espectrofotômetro a 560 nm. Os valores obtidos foram utilizados juntamente com o teor de proteínas para calcular a quantidade de SOD expressa em U SOD/mg de proteína, sendo que uma unidade de SOD (U) é a concentração de SOD necessária para inibir 50% da fotorredução do NBT para formazana.

#### 4.8.2.3. Glutationa Redutase (GR)

A metodologia para determinar a atividade da enzima glutationa redutase (GR) foi adaptada de Azevedo et al. (1998) e Gomes-Junior et al. (2006). Em uma solução tampão de 3 mL contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), DTNB (1 mM), GSSG (1 mM) e NADPH (0,1 mM), foi adicionado 50 μL da amostra de extrato proteico para iniciar a reação de redução da GSSG que foi monitorada em espectrofotômetro a 412 nm por um minuto. O resultado da taxa de redução da GSSG foi utilizado em concomitância com a quantidade de proteínas solúveis totais no cálculo da atividade da GR expresso em μmol/min/mg de proteína.

### 4.8.3. Análise do Estresse Oxidativo

Para avaliar o estresse oxidativo foram determinados a atividade da espécie reativa de oxigênio, peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) e a peroxidação lipídica (MDA), sendo primeiramente macerados 0,2 g do material vegetal, armazenado a -80 °C, junto com 20% de PVPP e 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. As amostras foram centrifugadas por dez minutos a 10.000 rpm e 4 °C e o sobrenadante foi coletado e separado em eppendorf para ser utilizado nas análises de $H_2O_2$ e MDA.

#### 4.8.3.1. Peróxido de Hidrogênio ($H_2O_2$)

A avaliação da quantidade de $H_2O_2$ foi feita por metodologia adaptada de Alexieva et al. (2001), sendo que 200 μL do sobrenadante foram adicionados a 800 μL de iodeto de potássio 1 M e 200 μL de tampão fosfato 100 mM (pH 7,5). A mistura foi homogeneizada por inversão dentro de tubo eppendorf e incubada no gelo por uma hora protegida da luz. Posteriormente, as amostras foram deixadas em temperatura ambiente e lidas em espectrofotômetro a 390 nm, sendo os resultados expressos em μmol de $H_2O_2$ por grama de matéria vegetal fresca.

#### 4.8.3.2. Peroxidação Lipídica – Malonaldeído (MDA)

A quantificação da peroxidação lipídica seguiu metodologia adaptada de Heath e Packer (1968), sendo retirada uma alíquota de 250 μL do sobrenadante e misturada em eppendorf junto com 1 mL de solução contendo 0,5% de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 20% de TCA. As amostras foram incubadas por 30 minutos a 95 °C, resfriadas em gelo por dez minutos e mantidas

subsequentemente em temperatura ambiente para a leitura em espectrofotômetro a 600 e 535 nm. A peroxidação lipídica foi expressada em nM de MDA por mg de matéria fresca.

### 4.8.4. L-prolina

A metodologia utilizada para determinar a concentração de L-prolina foi adaptada de Bates, Waldren e Teare (1973) através da maceração de 0,350 gramas de material vegetal em 7 mL de ácido sulfossalicílico 3%, que foi subsequentemente centrifugado a 6000 rpm por cinco minutos a 15 °C. Em tubos de ensaio foram pipetados 2 mL do sobrenadante, 2 mL de ácido acético glacial e 2 mL de solução de ninidrina ácida (1,25 gramas de ninidrina, 30 mL de ácido acético glacial, 20 mL de ácido fosfórico 6 M), e a mistura foi mantida por uma hora em banho maria a 100 °C. Passado o tempo as amostras foram resfriadas em banho de gelo por dois minutos, pipetadas com 4 mL de tolueno e agitadas por 20 segundos. Os tubos foram deixados em temperatura ambiente e se procedeu com a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 520 nm. A concentração de L-prolina foi determinada através do uso de uma curva padrão e os cálculos foram feitos com base na matéria fresca, com valores expressos em μmol de L-prolina por grama de matéria fresca.

## 4.9. Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA pelo programa *Statistical Analysis System* (SAS v.9.3). A comparação das médias foi feita entre experimentos através do teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p<0.05$).

# 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1. Estresse por Temperatura no Interior da Casa de Vegetação

Durante os 273 dias do ciclo das plantas de pimentão conduzidas nesta pesquisa, as temperaturas registradas variaram de 4 a 34 °C, ultrapassando as faixas de temperatura ideais para a cultura relatadas por Goto et al. (2016). De acordo com os autores, a faixa de temperatura diurna ideal para o desenvolvimento do pimentão está entre 25 e 28 °C e a noturna entre 16 e 20 °C. Foram registrados 170 dias com temperaturas superiores a 28 °C e 111 dias com temperaturas mínimas menores que 16 °C.

O estresse térmico provocado por altas temperaturas pode afetar negativamente o rendimento das culturas, interferindo na fase reprodutiva, com redução da viabilidade e germinação dos grãos pólen, inibindo a diferenciação das flores e desenvolvimento dos frutos, o que reduz a produtividade (BULGARI et al., 2019). Além disso, temperaturas muito elevadas podem causar decréscimo na atividade de enzimas relacionadas à biossíntese de sacarose (CHAITANYA; SUNDAR; REDDY, 2001) e inibir a fotossíntese pela diminuição da atividade de carboxilação da Rubisco e pelo desacoplamento dos processos de transporte de elétrons nas células (TAIZ et al., 2017). Por outro lado, em condições de baixa temperatura a fotossíntese também pode ser limitada pela redução na disponibilidade de fosfato nos cloroplastos em decorrência da menor síntese de amido e sacarose (TAIZ et al., 2017). O frio reduz o metabolismo das plantas, atrasando as respostas fisiológicas. Um metabolismo mais lento ocasionado pelo estresse provocado pelo frio leva à inibição da atividade do fotossistema II e induz danos às membranas celulares com desestabilização das camadas fosfolipídicas (BULGARI et al., 2019).

Dessa forma, nesse estudo, as plantas se encontravam sob estresse térmico na maior parte do seu ciclo de cultivo, o que ajuda a explicar os resultados obtidos com o uso de L-prolina nos processos fisiológicos, bioquímicos e de produtividade, pois esse aminoácido é considerado um osmoprotetor e também um antioxidante que alivia os efeitos do estresse provocado por temperaturas tanto altas como baixas.

## 5.2. Variáveis Fotossintéticas

Foram observadas diferenças significativas nas variáveis fotossintéticas feitas aos 243 DAT nas folhas das plantas de pimentão submetidas à suplementação luminosa por LED e sem

o uso dessa iluminação artificial. A taxa de assimilação de $CO_2$ (taxa fotossintética – A), a condutância estomática (Gs), a eficiência de carboxilação (A/Ci), a taxa de transpiração (E) e a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) foram maiores em plantas cultivadas com suplementação luminosa. A eficiência do uso da água (EUA), porém, foi maior sem a suplementação luminosa. Não houve diferença significativa para a concentração interna de $CO_2$ na folha (Ci) e a eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) (Tabela 1) entre as plantas submetidas à iluminação artificial e sem o uso dessa tecnologia.

Plantas desenvolvidas em ambiente com baixa intensidade luminosa podem apresentar menor capacidade fotossintética, possuindo também maior quantidade de clorofila em relação à de nitrogênio, menor capacidade fotossintética por unidade de nitrogênio, e menor quantidade de nitrogênio e de proteínas Rubisco quando comparadas às plantas desenvolvidas em intensidade luminosa adequada (EVANS, 1989; SEEMANN, 1989). Considerando os resultados obtidos, a maior eficiência de carboxilação da Rubisco e maior taxa de transporte de elétrons poderiam estar relacionadas à maior quantidade de proteínas Rubisco em plantas suplementadas por LED em comparação às plantas sem suplementação luminosa, o que levou a maior taxa fotossintética pela maior assimilação de $CO_2$.

A alta condutância estomática (Gs) em plantas suplementadas por LED pode estar vinculada ao maior número de estômatos por unidade de área, considerando que plantas em condições de baixa luminosidade desenvolvem menos estômatos e possuem baixa Gs (GROSS et al., 1996). Além disso, a iluminação artificial por luz vermelha e azul utilizada nesse estudo pode ter resultado não somente em maior produção de estômatos, mas também em maior abertura estomática (ROTH-BEJERANO; ITAI, 1981), sendo que a luz azul é a que mais influência positivamente na quantidade de estômatos e condutância estomática (MUNEER et al., 2014; WANG et al., 2016).

A taxa fotossintética em plantas cultivadas com LED foi 91,2% (1,91 vezes) superior em relação a obtida em plantas sem LED (Tabela 1), o que demonstra que as folhas no interior do dossel estavam sendo afetadas pelo auto sombreamento. As folhas medianas e baixeiras de pimentão conduzido verticalmente até 2,4 metros chegam a interceptar somente 10% da luz total incidente sobre a cultura (DUECK et al., 2006), o que explica a alta eficácia do LED em aumentar a eficiência do aparato fotossintético e a fotossíntese líquida. Taxas fotossintéticas de 3,5 a 5,7 vezes superiores nas folhas do interior do dossel de plantas de pimentão suplementadas com LED, em relação as folhas das plantas não suplementadas, foram contempladas em pesquisa realizada em Israel (JOSHI et al., 2019).

Jiang et al. (2017) obtiveram valores superiores de taxa fotossintética, condutância estomática (Gs), taxa de transpiração (E) e concentração interna de $CO_2$ (Ci) em folhas de tomate conduzido em linha única com suplementação luminosa por LED no interior do dossel, quando comparados aos valores das plantas sem suplementação. Segundo esses autores, foi constatado que a RFA no meio da cultura de tomate foi apenas 15% da RFA obtida no topo do dossel, sendo os valores obtidos em um dia ensolarado. Mesmo utilizando lâmpadas HPS no interior do dossel de plantas de pepino, Pettersen, Torre e Gislerød (2010) obtiveram taxas fotossintéticas 70% maiores nas folhas mais baixas quando comparado com luz artificial apenas no topo da cultura. Valores maiores de eficiência de carboxilação da Rubisco (A/Ci), E, Gs e taxa de transporte de elétrons (ETR), também foram atestados nas plantas de pepino suplementadas com luz artificial (SINGH et al., 2015a).

**Tabela 1.** Variáveis fotossintéticas obtidas em plantas de pimentão com e sem suplementação luminosa por LED.

| Experimento | A | Gs | Ci | A/Ci | E | EUA | Fv/Fm | ETR |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Com LED | 19,12 A | 0,271 A | 241,6 A | 0,0775 A | 9,249 A | 2,101 B | 0,862 A | 130,04 A |
| Sem LED | 10,00 B | 0.102 B | 223,7 A | 0,0449 B | 3,658 B | 2.801 A | 0.841 A | 101,63 B |

Legenda: A – taxa de assimilação de $CO_2$ (µmol $CO_2$ $m^{-2}$ $s^{-1}$), Gs – condutância estomática (mol $H_2O$ $m^{-2}$ $s^{-1}$), Ci – concentração interna de $CO_2$ na folha (µmol $CO_2$ $mol^{-1}$), A/Ci – eficiência de carboxilação (µmol $CO_2$ $m^{-2}$ $s^{-1}$/ µmol $CO_2$ $mol^{-1}$), E – taxa de transpiração (mmol $H_2O$ $m^{-2}$ $s^{-1}$), EUA – eficiência do uso da água (µmol $CO_2$/mmol $H_2O$), Fv/Fm – eficiência quântica potencial do fotossistema II e ETR – taxa aparente de transporte de elétrons (µmol (elétrons) $m^{-2}$ $s^{-1}$).

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Houve interação significativa entre a suplementação luminosa com LED e a aplicação de L-prolina nos parâmetros fotossintéticos (Tabelas 2 e 3). Plantas pulverizadas com 30, 90 e 120 mg/L de L-prolina tiveram taxa fotossintética líquida 164,4%, 70,4% e 126,8% maior sob suplementação luminosa em relação às plantas sem uso do LED. A Gs e a Ci também foram maiores em plantas pulverizadas com 30 e 120 mg/L de L-prolina sob luz artificial em relação às plantas sem LED. A A/Ci e E foram maiores em plantas suplementadas com iluminação artificial em qualquer dose de L-prolina em relação às plantas não submetidas à suplementação luminosa. A ETR foi maior em plantas com LED pulverizadas com 120 mg/L de L-prolina.

A L-prolina é um aminoácido que depende diretamente da luz para a sua biossíntese (LIANG et al., 2013), além disso, é sabido que a aplicação exógena de L-prolina pode acarretar no aumento de sua produção endógena nas plantas (KAUR et al., 2011; NOUNJAN; NGHIA; THEERAKULPISUT, 2012; SINGH et al., 2015b), sendo que esse aminoácido desempenha papel importante na fotossíntese ao evitar maiores danos nos aparatos fotossintéticos em plantas sob condições de estresse (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010; LIANG et al., 2013). Portanto, essa

relação entre a luz e esse aminoácido pode explicar os resultados positivos obtidos da interação entre esses dois fatores nos parâmetros fotossintéticos discutidos anteriormente.

O aminoácido L-prolina pode reduzir os danos nos aparatos fotossintéticos de plantas sob estresse pela direta redução de algumas espécies reativas de oxigênio (EROs) e por manter um balanço baixo de NADPH:$NADP^+$ necessário para a atividade do Ciclo de Calvin. O fluxo de elétrons necessita constantemente de aceptores de elétrons $NADP^+$, o qual, em condições de estresse abiótico, pode ser interrompido pela baixa disponibilidade de $CO_2$ nas folhas decorrido do fechamento estomático e consequente diminuição da condutância estomática (Gs). Isso promove a inibição da fotossíntese e danos nos aparatos fotossintéticos pela produção de EROs que são utilizados como aceptores de elétrons (APEL; HIRT, 2004; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010), e também ocasiona a fotorrespiração catalisada pela Rubisco, a qual utiliza o $O_2$ ao invés do $CO_2$ em condições de alta temperatura como alternativa para drenar o excedente de elétrons, impedindo a reação de carboxilação da ribulose-1,5-bifosfato para a ocorrência da fotossíntese (APEL; HIRT, 2004). Assim sendo, a biossíntese de L-prolina, que pode ser estimulada pela sua aplicação exógena, necessita de luz a fim de aumentar a expressão da enzima P5CS que irá reduzir o glutamato em GSA, para posterior conversão em P5C e redução em L-prolina pela P5CR (HU; DELAUNEY; VERMA, 1992; VERBRUGGEN; VILLARROEL; VAN MONTAGU, 1993; SAVOURÉ et al., 1995; LIANG et al., 2013). Esse processo requer NADPH e ATP e fornece $NADP^+$ e ADP que, em seguida, podem ser utilizados como aceptores de elétrons e como substrato para a biossíntese de ATP na fotossíntese, respectivamente (LIANG et al., 2013).

Por conseguinte, é de se esperar que a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) tenha sido maior com a maior dose de L-prolina juntamente com a suplementação luminosa por LED. A alta ETR pode ter mantido o fluxo de elétrons constante, ajudando a reduzir o estresse oxidativo e aumentando assim a Gs e a Ci observadas nesta pesquisa. Consequentemente, a eficiência de carboxilação e a fotossíntese liquida também foram aumentadas.

A eficiência do uso da água (EUA), por outro lado, diminuiu em plantas pulverizadas com L-prolina, independente da dose, na presença da iluminação artificial, pelo fato do aumento da taxa de transpiração ter sido proporcionalmente maior em relação ao aumento da fotossíntese liquida. Isso pode ser explicado pelo fato de que a difusão do $CO_2$ no ar é proporcionalmente 1,6 vez mais lenta do que a da água, além de haver uma baixa concentração de $CO_2$ no ar (0,04%) em relação a alta concentração de vapor de água dentro da folha, configurando um gradiente de concentração que aciona o influxo de $CO_2$ cerca de 50 vezes menor do que o que aciona a perda de água (TAIZ et al., 2017). Ainda, a transpiração em uma planta pode continuar a aumentar mesmo após a taxa fotossintética ter atingido o seu máximo, existindo uma relação parabólica

entre a fotossíntese e a transpiração (CHAI et al., 2014). Desta forma, nesta pesquisa o aumento observado na condutância estomática pode ter proporcionado maiores perdas de água na transpiração do que o aumento na fotossíntese, a qual a partir de certo ponto poderia ter atingido o seu máximo, promovendo assim uma menor EUA conforme a transpiração aumentava.

Embora neste trabalho a aplicação de L-prolina sozinha não tenha sido suficiente para melhorar os parâmetros fotossintéticos, alguns estudos demonstram incrementos na fotossíntese e nas respectivas variáveis fotossintéticas com a aplicação desse aminoácido em plantas sob condições de estresse por temperatura. O uso exógeno de L-prolina em plantas de cevada condicionadas a temperaturas elevadas adicionou maior estabilidade e eficiência no fotossistema II (OUKARROUM; EL MADIDI; STRASSER, 2012). Em plantas de feijão-mungo-verde (*Vigna radiata* L.) estressadas por altas temperaturas, a aplicação de L-prolina aumentou a fixação e assimilação de $CO_2$ e, consequentemente, a fotossíntese, assim como a quantidade total de clorofila, L-prolina endógena e água nas folhas, além de ser constatado maior produtividade de vagens (PRIYA et al., 2019). Ademais, são observadas melhoras nos parâmetros fotossintéticos das plantas quando a L-prolina é utilizada para aliviar o estresse ocasionado por outras condições abióticas prejudiciais, como alta salinidade e toxidez por metais pesados (AHMED et al., 2010; SINGH et al., 2015b; ZOUARI et al., 2016), demonstrando assim o potencial desse aminoácido para mitigar o estresse oxidativo e aumentar a fotossíntese nas plantas.

**Tabela 2.** Taxa de assimilação de $CO_2$ (A), condutância estomática (Gs), concentração interna de $CO_2$ na folha (Ci) e eficiência de carboxilação (A/Ci) em plantas de pimentão sob efeito da aplicação exógena de diferentes doses de L-prolina com ou sem suplementação luminosa por LED.

| **Doses de L-prolina (mg/L)** | **A ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$)** | | **Gs ($mol\ H_2O\ m^{-2}\ s^{-1}$)** | | **Ci ($\mu mol\ CO_2\ mol^{-1}$)** | | **A/Ci ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$/ $\mu mol\ CO_2\ mol^{-1}$)** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Com LED** | **Sem LED** | **Com LED** | **Sem LED** | **Com LED** | **Sem LED** | **Com LED** | **Sem LED** |
| 0 | 11,97 Aa | 8,39 Aa | 0,153 Aa | 0,101 Aa | 211,1 Aa | 244,6 Aa | 0,055 Aa | 0,035 Aa |
| 30 | 20,84 Aa | 7,88 Ba | 0,317 Aa | 0,072 Ba | 257,4 Aa | 206,1 Ba | 0,081 Aa | 0,038 Ba |
| 60 | 19,82 Aa | 11,81 Aa | 0,290 Aa | 0,129 Aa | 250,6 Aa | 239,6 Aa | 0,078 Aa | 0,049 Ba |
| 90 | 20,23 Aa | 11,87 Ba | 0,257 Aa | 0,123 Aa | 240,9 Aa | 232,0 Aa | 0,084 Aa | 0,051 Ba |
| 120 | 22,75 Aa | 10,03 Ba | 0,338 Aa | 0,085 Ba | 248,1 Aa | 196,2 Ba | 0,090 Aa | 0,051 Ba |

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

**Tabela 3.** Taxa de transpiração (E), eficiência do uso da água (EUA), eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) e taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) em plantas de pimentão sob efeito da aplicação exógena de diferentes doses de L-prolina com ou sem suplementação luminosa por LED.

| Doses de L-prolina (mg/L) | E (mmol $H_2O$ $m^{-2}$ $s^{-1}$) | | EUA (µmol $CO_2$/mmol $H_2O$) | | Fv/Fm | | ETR (µmol (elétrons) $m^{-2}$ $s^{-1}$) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED |
| 0 | 6,63 Aa | 3,97 Aa | 1,917 Aa | 2,199 Aa | 0,806 Aa | 0.799 Aa | 106,4 Aa | 96,5 Aa |
| 30 | 10,21 Aa | 2,62 Ba | 2,052 Ba | 3,073 Aa | 0,850 Aa | 0.809 Aa | 129,6 Aa | 89,3 Aa |
| 60 | 9,76 Aa | 4,37 Ba | 2,051 Ba | 2,697 Aa | 0,898 Aa | 0.872 Aa | 126,2 Aa | 116,0 Aa |
| 90 | 8,97 Aa | 4,04 Ba | 2,306 Ba | 2,980 Aa | 0,845 Aa | 0.860 Aa | 141,6 Aa | 106,2 Aa |
| 120 | 10,68 Aa | 3,30 Ba | 2,178 Ba | 3,056 Aa | 0,912 Aa | 0.872 Aa | 146,5 Aa | 100,2 Ba |

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

## 5.3. Produtividade do Pimentão

Não houve interação entre a aplicação de L-prolina e a suplementação luminosa por LED nos dados de produtividade: largura média de frutos (LMF), comprimento médio de frutos (CMF), peso médio de frutos (PMF), produção total (PT), produção comercial (PC) e produção por planta (PP).

Na Tabela 4 pode se observar que houve um aumento na produção comercial (PC) e produção por planta (PP) com a suplementação luminosa por LED em relação a ausência do LED. Como citado anteriormente, sistemas de cultivo tutorados verticalmente como os utilizados para tomate, pimentão e pepino, resultam no auto sombreamento das folhas medianas e baixeiras. Em plantas de pimentão cultivadas no período do verão em clima temperado, as folhas da porção mediana e inferior do dossel interceptaram apenas 10% da RFA, enquanto que a porção superior interceptou 90% (DUECK et al., 2006). Assim, para a suplementação luminosa no interior do dossel, se faz necessário o uso de LEDs, e considerando que o desenvolvimento de LEDs para uso na agricultura é algo recente, a maioria dos trabalhos foram feitos em regiões de clima ameno e temperado que demandam um maior suplemento luminoso, principalmente no inverno, e demonstraram aumentos de produtividade para o pimentão (GUO et al., 2016c), pepino (KUMAR et al., 2016) e tomate (TEWOLDE et al., 2016).

Mais recentemente, algumas pesquisas feitas em regiões quentes, como no Brasil com minipepino (ROLDÁN, 2017), e em Israel com pimentão (JOSHI et al., 2019), relataram aumentos significativos na produtividade dessas culturas quando suplementadas com luz por lâmpadas LEDs dispostas no interior do dossel. Roldán (2017) obteve um incremento na taxa fotossintética e de 13,2% na produtividade comercial de minipepino sob suplementação luminosa

entre o dossel, com as mesmas barras LED empregadas nesse estudo. Joshi et al. (2019) obtiveram produtividades de pimentão 36% e 29% maiores nas primaveras de 2017 e 2018, respectivamente, com suplementação luminosa em relação ao controle.

No presente estudo, o incremento na produção comercial e produção por planta com a suplementação luminosa foi de aproximadamente 6,3% (Tabela 4). Os resultados estão de acordo com o aumento na fotossíntese obtido nas folhas do interior do dossel (Tabela 2) que provavelmente estavam sofrendo auto sombreamento, o que deve ter acarretado em maior quantidade de fotoassimilados translocados para os frutos de pimentão, aumentando a produtividade.

**Tabela 4.** Comparação entre as variáveis quantitativas obtidas em plantas de pimentão no experimento com suplementação luminosa por LED e no experimento sem suplementação luminosa por LED.

| Experimento | CMF (cm) | LMF (cm) | PMF (g) | PT (ton/ha) | PC (ton/ha) | PP (kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Com LED | 13,31 A | 7,96 A | 220,61 A | 134,2 A | 131,6 A | 6,32 A |
| Sem LED | 13,17 A | 8,01 A | 220,21 A | 127,3 A | 123,8 B | 5,94 B |

Legenda: CMF – comprimento médio dos frutos; LMF – largura média dos frutos; PMF – peso médio dos frutos; PT – produção total; PC – produção comercial; PP – produção por planta.

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A aplicação de L-prolina na dose de 90 mg/L resultou em aumentos de aproximadamente 15% na produção total (PT), produção comercial (PC) e produção por planta (PP), em relação ao controle (Tabela 5). A aplicação de L-prolina para o alívio de estresse abiótico vem sendo estudada em diversas culturas com a obtenção de aumentos significativos de produtividade pelo uso exógeno desse aminoácido em plantas sob condições de alta salinidade ou seca (OSMAN, 2015; RADY; TAHA; MAHDY, 2016; ZALI; EHSANZADEH, 2018), toxidez por metais pesados (HAYAT et al., 2013), altas temperaturas (PRIYA et al., 2019) e baixas temperaturas (KAUR et al., 2011). No entanto, em pesquisa com pimentão feita por Lima et al. (2016) com o uso exógeno de L-prolina para o alívio de estresse causado por alta salinidade, não foram notadas diferenças na produtividade da cultura, embora outro estudo com pimentão irrigado por água salina tenha demonstrado efeito mitigador da L-prolina ao aumentar as trocas gasosas e a fotossíntese nas plantas afetadas (SÁ et al., 2016).

No experimento de Priya et al. (2019) com feijão *V. radiata* sob estresse por altas temperaturas, a aplicação de L-prolina aumentou não somente a produtividade total da cultura, como também o maior número de vagens fixadas, maior peso e número de sementes nas vagens e maior peso e tamanho das vagens e sementes. Na mesma pesquisa, danos nas funções reprodutivas estavam associados a baixas concentrações endógenas de L-prolina nas anteras,

pólen e óvulos, assim como menor taxa fotossintética e síntese de sacarose. Essas concentrações endógenas do aminoácido foram aumentadas com a suplementação exógena de L-prolina e beneficiaram a fotossíntese, a viabilidade e funcionalidade dos pólens, a receptividade do estigma e a viabilidade dos óvulos. O estresse por temperaturas muito baixas também é um atenuante na viabilidade e germinação de pólens, viabilidade dos óvulos e retenção de flores e vagens de *Vigna radiada* L., e o uso exógeno de L-prolina melhora consideravelmente esses parâmetros e a quantidade de sacarose produzida (KAUR et al., 2011).

Na maioria das folhas, os produtos finais da assimilação fotossintética de $CO_2$ são o amido nos cloroplastos e a sacarose no citosol. A sacarose é um dissacarídeo resultante da conversão do carbono assimilado durante a fotossíntese ou da degradação do amido durante a noite, sendo a mesma exportada das folhas para órgãos de armazenamento e desenvolvimento das plantas através do floema (TAIZ et al., 2017). Desta forma, a sacarose é um dos principais fotoassimilados transportado para as flores para sustentar a micro e mega esporogênese (PRESSMAN et al., 2012; SHARMA; NAYYAR, 2016). Consequentemente, o desenvolvimento das flores é afetado pela falta de sacarose, ocasionando maior abortamento de flores e frutos e redução do tamanho dos frutos (PRIYA et al., 2019). Levando isso em consideração, a capacidade de aumentar a fotossíntese e os respectivos fotoassimilados com o uso da L-prolina evidencia o potencial desse aminoácido para aumentar a produtividade das culturas agrícolas.

Além do que foi exposto, a L-prolina tem outras funções e desempenha papel fundamental para a recuperação ou para amenizar os danos por EROs em plantas sob condições de estresse (MATYSIK et al., 2002; VERBRUGGEN; HERMANS, 2008; SZABADOS; SABOURÉ, 2010). Considerando que as plantas de pimentão estavam em constante estresse por altas e baixas temperaturas ao longo de todo o ciclo de cultivo, podem ter ocorrido danos nos aparatos fotossintéticos e geração de EROs, como o $H_2O_2$. Consequentemente, a aplicação de L-prolina deve ter ajudado no alívio do estresse térmico ao aumentar a produção endógena de L-prolina e da enzima antioxidante CAT, diminuindo assim o $H_2O_2$, como observado nas Tabelas 10, 11 e 12. Houve também interação na aplicação de L-prolina com o LED para aumentar a fotossíntese, ampliando a produção de fotoassimilados que puderam ser direcionados para os órgãos reprodutivos, aumentando assim a produtividade.

**Tabela 5.** Variáveis quantitativas obtidas em plantas de pimentão sob efeito da aplicação exógena de diferentes doses de L-prolina, considerando a média de ambos os experimentos.

| Doses de L-prolina (mg/L) | CMF (cm) | LMF (cm) | PMF (g) | PT (ton/ha) | PC (ton/ha) | PP (kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 13,34 a | 7,95 a | 219,14 a | 120,01 b | 116,45 b | 5,59 b |
| 30 | 13,21 a | 8,07 a | 223,06 a | 129,15 ab | 125,13 ab | 6,01 ab |
| 60 | 13,19 a | 8,06 a | 223,80 a | 132,40 ab | 130,20 ab | 6,25 ab |
| 90 | 13,02 a | 7,90 a | 215,30 a | 138,24 a | 134,34 a | 6,45 a |
| 120 | 13,46 a | 7,94 a | 220,73 a | 134,03 ab | 132,18 ab | 6,34 ab |

Legenda: CMF – comprimento médio dos frutos; LMF – largura média dos frutos; PMF – peso médio dos frutos; PT – produção total; PC – produção comercial; PP – produção por planta.

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

## 5.4. Qualidade Pós-colheita dos Frutos

As variáveis averiguadas de qualidade pós-colheita dos frutos foram: acidez titulável total (ATT), sólidos solúveis totais (SST – °Brix), ácido ascórbico (AA – vitamina C) e pH da polpa. Não foram detectadas variações na qualidade pós-colheita dos frutos de pimentão entre os experimentos com suplementação e sem suplementação luminosa (Tabela 6), assim como nenhuma diferença entre as doses aplicadas de L-prolina (Tabela 7). Além disso, nenhuma possível interação entre as doses de L-prolina e a suplementação luminosa por LED foi constatada (Tabela 8).

Apesar dos resultados deste trabalho, muitos estudos com suplementação luminosa no interior do dossel averiguaram aumentos na qualidade de frutos, enquanto alguns não demonstraram alterações. Jiang et al. (2017) obtiveram aumentos na concentração de SST e de AA em tomate suplementado por LED, sendo os aumentos correlacionados com maiores taxas e parâmetros fotossintéticos. Já em pesquisa realizada por Lu et al. (2012), não houveram diferenças na qualidade de tomate produzido com ou sem suplementação luminosa. Em cultivo de pimentão, foram registrados incrementos na atividade antioxidante e nas concentrações de ácido fenólico total e carotenoides de frutos das plantas suplementadas por LED (GUO et al., 2016c). Os valores de SST e ATT não foram afetados em minipepino suplementado por LED no Brasil, apesar de serem constatados menos frutos curvados e mais frutos comerciais (ROLDÁN, 2017).

Embora os resultados variem de pesquisa para pesquisa, ao se considerar que a suplementação por LED pode complementar a fotossíntese das folhas medianas e baixeiras quando usada no interior do dossel, essa suplementação deve possuir a capacidade de adicionar maior qualidade aos frutos ao aumentar a quantidade de fotoassimiliados que são transportados para os mesmos. Durante a fotossíntese, ocorre a produção de sacarose e sua translocação para

os tecidos-dreno que necessitam importar carboidratos para o seu desenvolvimento, como as flores e os frutos. A fotossíntese também produz amido que é armazenado nos cloroplastos, sendo convertido à noite em sacarose para a utilização como fonte de energia na respiração dos tecidos. Durante o amadurecimento de frutos também ocorre a conversão de amido e fotoassimilados em açúcares, acompanhando o aumento da respiração (TAIZ et al., 2017). Assim, o desenvolvimento de frutos está diretamente ligado à fotossíntese pela translocação de fotoassimilados que pode ser aumentada pela intensidade e qualidade luminosa (WANG et al., 2014). Além do mais, a luz é responsável pela sinalização de genes responsáveis pela acumulação de pigmentos antioxidantes como os carotenoides e flavonoides nos frutos (ADAMS-PHILLIPS; BARRY; GIOVANNONI, 2004). Os LEDs dispostos no interior do dossel, por sua vez, podem oferecer luz nos comprimentos de onda e intensidade ideais para a maior produção e translocação de fotoassimilados de folhas auto sombreadas para os frutos próximos, como é o caso de uma cultura conduzida verticalmente como o pimentão.

**Tabela 6.** Comparação entre acidez titulável total (ATT), sólidos solúveis totais (SST), ácido ascórbico (AA; vitamina C) e pH obtidos em plantas de pimentão no experimento com suplementação luminosa por LED e no experimento sem suplementação luminosa por LED.

| Experimento | ATT (% de ácido cítrico) | SST (ºBrix) | AA (g/100g de polpa) | pH |
|---|---|---|---|---|
| Com LED | 3,380 A | 7,080 A | 8,325 A | 4,99 A |
| Sem LED | 3,375 A | 6,995 A | 8,295 A | 4,98 A |

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A aplicação de L-prolina também apresenta certo potencial para a melhora na qualidade pós-colheita de frutos, ainda que os frutos de pimentão não tenham apresentado diferenças significativas (Tabelas 7 e 8). O uso exógeno de L-prolina em pomares de laranja com 12 anos de idade ocasionou acréscimos na quantidade de sólidos solúveis totais e ácido cítrico nos frutos (CARONIA; GUGLIUZZA; INGLESE, 2010). Takeuchi et al. (2008) constataram aumentos no teor de sólidos solúveis totais em peras pela utilização exógena de L-prolina nas plantas, sendo observado também aumento no teor de clorofila das folhas e melhora no metabolismo do nitrogênio e taxa fotossintética. Desta forma, a capacidade da L-prolina em melhorar a taxa fotossintética, como também observado nesse estudo em conjunto com a suplementação luminosa, pode aumentar a produção de fotoassimilados nas folhas e a sua translocação para os frutos. Esse incremento na concentração de fotoassimilados foi observado em estudo feito por Kaur et al. (2011) que verificaram maior produção de sacarose nas folhas de plantas de *V. radiada* sob estresse por frio, decorrido da aplicação de L-prolina. A L-prolina aplicada em plantas de *Arabidopsis thaliana* L. sob estresse osmótico por falta de água induziu maior tolerância à

fotoinibição, melhorando o funcionamento do PSII, além de aumentar a produção de açúcares solúveis totais nas folhas (MOUSTAKAS et al., 2011).

**Tabela 7.** Acidez titulável total (ATT), sólidos solúveis totais (SST), ácido ascórbico (vitamina C – AA) e pH obtidos em plantas de pimentão sob efeito da aplicação exógena de diferentes doses de L-prolina, considerando a média de ambos os experimentos.

| Doses de L-prolina (mg/L) | ATT (% de ácido cítrico) | SST (ºBrix) | AA (g/100g de polpa) | pH |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 3,32 a | 6,90 a | 8,33 a | 5,00 a |
| 30 | 3,37 a | 7,06 a | 8,31 a | 5,00 a |
| 60 | 3,38 a | 7,03 a | 8,25 a | 4,98 a |
| 90 | 3,41 a | 7,11 a | 8,36 a | 4,96 a |
| 120 | 3,41 a | 7,09 a | 8,30 a | 4,97 a |

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

**Tabela 8.** Acidez titulável total (ATT), sólidos solúveis totais (SST), ácido ascórbico (vitamina C – AA) e pH obtidos em plantas de pimentão sob efeito da aplicação exógena de diferentes doses de L-prolina nos experimentos com ou sem suplementação luminosa por LED.

| Doses de L-prolina (mg/L) | ATT (% de ácido cítrico) | | SST (ºBrix) | | AA (g/100g de polpa) | | pH | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED |
| 0 | 3,31 Aa | 3,34 Aa | 7,03 Aa | 6,78 Aa | 8,35 Aa | 8,3 Aa | 5,00 Aa | 5,01 Aa |
| 30 | 3,37 Aa | 3,37 Aa | 7,15 Aa | 6,98 Aa | 8,23 Aa | 8,4 Aa | 5,01 Aa | 4,99 Aa |
| 60 | 3,40 Aa | 3,36 Aa | 7,03 Aa | 7,03 Aa | 8,23 Aa | 8,28 Aa | 4,98 Aa | 4,98 Aa |
| 90 | 3,42 Aa | 3,40 Aa | 7,15 Aa | 7,08 Aa | 8,48 Aa | 8,25 Aa | 4,97 Aa | 4,96 Aa |
| 120 | 3,41 Aa | 3,41 Aa | 7,05 Aa | 7,13 Aa | 8,20 Aa | 8,40 Aa | 4,97 Aa | 4,97 Aa |

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

## 5.5. Análises Bioquímicas

Afim de verificar o estresse nas plantas de cada experimento e sob diferentes doses de L-prolina, foram feitas as análises bioquímicas das folhas de pimentão. Não houve efeito isolado da suplementação luminosa por LED nas concentrações endógenas do aminoácido L-prolina, nas enzimas antioxidantes catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), e glutationa redutase (GR), na peroxidação lipídica (MDA) e na espécie reativa de oxigênio peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) (Tabela 9).

**Tabela 9.** Comparação entre as variáveis das análises bioquímicas obtidas em plantas de pimentão no experimento com suplementação luminosa por LED e no experimento sem suplementação luminosa por LED.

| Experimento | L-prolina | CAT | SOD | GR | $H_2O_2$ | MDA |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Com LED | 2,90 A | 55,760 A | 7,710 A | 0,655 A | 3781 A | 38,45 A |
| Sem LED | 2,25 A | 53,976 A | 7,573 A | 0,619 A | 3504 A | 38,86 A |

Legenda: L-prolina – concentração endógena de L-prolina (µmol de prolina/g de matéria fresca); CAT – catalase (µmol/min/mg de proteína); SOD – superóxido dismutase (U SOD/mg de proteína); GR – glutationa redutase (µmol/min/mg de proteína); $H_2O_2$ – peróxido de hidrogênio (mol/g de matéria fresca); MDA – peroxidação lipídica (nM de MDA/mg de matéria fresca).

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Analisando as Tabelas 10 e 11, são constatadas interações entre a suplementação luminosa e as doses aplicadas de L-prolina nas variáveis bioquímicas. Esse é o caso da própria concentração endógena de L-prolina, a qual foi maior na dose aplicada de 90 mg/L de L-prolina em relação ao controle, e isso é observado somente com a suplementação luminosa por LED, não havendo diferença estatística entre as doses de L-prolina sem a suplementação luminosa. Em relação à enzima CAT, as maiores concentrações nas plantas suplementadas por luz LED foram obtidas nas doses de 90 e 120 mg/L, as quais diferiram do controle e também da dose de 30 mg/L. Já a dose de 60 mg/L diferiu apenas do controle, enquanto a dose de 30 mg/L foi estatisticamente igual ao controle. No experimento sem LED todas as doses tiveram concentrações de CAT superiores ao controle, sendo que as doses de 60 e 120 mg/L também diferiram da dose de 30 mg/L. Também foram observadas interações entre dose aplicada e suplementação por LED nas concentrações da espécie reativa de oxigênio $H_2O_2$. O controle foi o que se mostrou ter as maiores concentrações de $H_2O_2$ com e sem a suplementação por LED, porém na suplementação luminosa o controle diferiu apenas da dose de 60 mg/L, enquanto que sem o uso de LEDs a dose de 120 mg/L foi a que diferiu do controle. Não houveram diferenças significativas nas concentrações de SOD, GR e peroxidação lipídica.

Essa interação entre a suplementação luminosa por LED e a aplicação de L-prolina pode ser explicada pelo fato de tanto a luz quanto a L-prolina serem fatores que afetam a produção de enzimas antioxidantes e aminoácidos, assim como a produção de EROs. Como citado anteriormente, a luz aumenta diretamente a produção de L-prolina nas plantas (LIANG et al., 2013), assim como a aplicação exógena desse aminoácido estimula a produção endógena do mesmo (KAUR et al., 2011; NOUNJAN; NGHIA; THEERAKULPISUT, 2012; SINGH et al., 2015b). Isso condiz com os resultados obtidos na Tabela 10 em que não se notaram diferenças entre tratamentos no experimento sem LED para a concentração endógena do aminoácido L-prolina, no entanto, o oposto foi observado no experimento com LED, onde a dose de 90 mg/L aumentou a sua produção nas folhas. No entanto, a luz também pode ser uma indutora de

estresse oxidativo (DEMMIG-ADAMS; ADAMS III, 1992), sendo constatado que em condições de alta temperatura (35 °C), o mecanismo de reparo do PSII é suprimido e o PSI pode ser danificado quando a energia proveniente da alta incidência luminosa não é dissipada, acarretando na fotoinibição dos fotossistemas I e II e acúmulo de $H_2O_2$ (LU et al., 2017). Ademais, altas concentrações de L-prolina podem também ocasionar estresse em plantas e gerar EROs (SZEPESI; SZŐLLŐSI, 2018). Isso poderia explicar o fato de, no experimento com LED, a maior concentração endógena de L-prolina observada no tratamento com 90 mg/L não ter sido convertida em menores quantidades de $H_2O_2$, embora tenha sido observado maior acúmulo de CAT nas folhas. Assim, mais estudos seriam necessários para avaliar a interação entre o uso de L-prolina e a luz suplementada artificialmente no metabolismo antioxidante das plantas em condições de estresse.

**Tabela 10.** Concentração endógena de L-prolina (L-prolina), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutationa redutase (GR) obtidas em plantas de pimentão sob efeito da aplicação exógena de diferentes doses de L-prolina nos experimentos com ou sem suplementação luminosa por LED.

| Doses de L-prolina (mg/L) | L-prolina (µmol de prolina/g de matéria fresca) | | CAT (µmol/min/mg de proteína) | | SOD (U SOD/mg de proteína) | | GR (µmol/min/mg de proteína) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED |
| 0 | 1,54 Ab | 1,31 Aa | 46,00 Ac | 42,19 Ac | 7,84 Aa | 7,40 Aa | 0,520 Aa | 0,515 Aa |
| 30 | 2,39 Aab | 1,59 Aa | 52,45 Abc | 51,48 Ab | 7,58 Aa | 7,83 Aa | 0,509 Aa | 0,576 Aa |
| 60 | 3,49 Aab | 2,35 Aa | 56,46 Aab | 59,73 Aa | 7,26 Aa | 7,75 Aa | 0,509 Aa | 0,608 Aa |
| 90 | 4,33 Aa | 3,45 Aa | 60,12 Aa | 57,54 Aab | 7,48 Aa | 7,62 Aa | 0,720 Aa | 0,816 Aa |
| 120 | 2,76 Aab | 2,56 Aa | 63,78 Aa | 58,95 Aa | 8,39 Aa | 7,27 Aa | 0,839 Aa | 0,760 Aa |

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

**Tabela 11.** Concentração de peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) e peroxidação lipídica (MDA) obtidas em plantas de pimentão sob efeito da aplicação exógena de diferentes doses de L-prolina nos experimentos com ou sem suplementação luminosa por LED.

| Doses de L-prolina (mg/L) | $H_2O_2$ (µmol de $H_2O_2$/g de matéria fresca) | | MDA (nM de MDA/mg de matéria fresca) | |
|---|---|---|---|---|
| | Com LED | Sem LED | Com LED | Sem LED |
| 0 | 4456 Aa | 4144 Aa | 37,21 Aa | 37,74 Aa |
| 30 | 3551 Aab | 3419 Aab | 37,85 Aa | 39,61 Aa |
| 60 | 3439 Ab | 3262 Aab | 37,81 Aa | 41,36 Aa |
| 90 | 3793 Aab | 3498 Aab | 39,47 Aa | 39,55 Aa |
| 120 | 3667 Aab | 3200 Ab | 39,94 Aa | 36,04 Aa |

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Considerando apenas as diferentes doses de L-prolina (Tabela 12), não houveram diferenças estatísticas nas concentrações da enzima antioxidante GR e na peroxidação lipídica (MDA). Por outro lado, as concentrações endógenas de L-prolina foram maiores na aplicação de 90 mg/L desse aminoácido, diferenciando do tratamento de 30 mg/L e do controle. O controle também foi o que teve as menores concentrações enzimáticas de CAT, diferindo de todos os outros tratamentos. A dose de 30 mg/L teve uma concentração de CAT maior do que no controle, porém menor do que nas outras doses de 60 a 120 mg/L. No que se refere à espécie reativa de oxigênio $H_2O_2$, o tratamento controle teve a maior concentração verificada, sendo superior a todas as aplicações de L-prolina, que não diferiram entre si.

São abundantes os estudos com aplicação de L-prolina em plantas para amenizar o estresse abiótico, aumentando a defesa e as enzimas antioxidante nas culturas. Condições de estresse térmico podem aumentar a atividade da GR e da APX em plantas de grão de bico sob elevadas temperaturas (KAUSHAL et al., 2011) ou maior produção endógena de L-prolina e diminuição do dano por estresse oxidativo nas plantas de grão de bico sob baixas temperaturas (KAUR et al., 2011). As concentrações de CAT e SOD também podem ser aumentadas e a de $H_2O_2$ diminuída quando a L-prolina é utilizada no alívio do estresse osmótico (AHMED et al., 2010; HOSSAIN; HASANUZZAMAN; FUJITA, 2011; OSMAN, 2015), embora, na presente pesquisa, a SOD não tenha sofrido alterações.

À vista deste trabalho e das pesquisas citadas, é perceptível o potencial que o aminoácido L-prolina tem para aliviar os danos causados pelo estresse oxidativo em condições abióticas desfavoráveis para diferentes culturas agrícolas. Isso porque um dos mecanismos de proteção da L-prolina é a estabilização de proteínas e enzimas antioxidantes (LIANG et al., 2013). Desta forma, o aumento da concentração endógena de L-prolina após sua aplicação em conjunto com o LED pode ter estabilizado e aumentado a quantidade de CAT nas folhas, que por sua vez possui alta afinidade pelo $H_2O_2$ e é essencial para a remoção do excesso dessa ERO produzida durante o estresse abiótico e na fotorrespiração (NOCTOR; VELJOVIC-JOVANOVIC; FOYER, 2000; MITTLER, 2002; SHIVASHANKARA; PAVITHRA; GEETHA, 2016).

**Tabela 12.** Variáveis das análises bioquímicas obtidas em plantas de pimentão sob efeito da aplicação exógena de diferentes doses de L-prolina, considerando a média de ambos os experimentos.

| Doses de L-prolina (mg/L) | L-prolina | CAT | SOD | GR | $H_2O_2$ | MDA |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 1,424 b | 44,09 c | 7,62 a | 0,517 a | 4299.9 a | 37,47 a |
| 30 | 1,988 b | 51,96 b | 7,70 a | 0,542 a | 3484.8 b | 38,73 a |
| 60 | 2,917 ab | 58,09 a | 7,51 a | 0,559 a | 3350.6 b | 39,58 a |
| 90 | 3,891 a | 58,83 a | 7,55 a | 0,768 a | 3645.6 b | 39,51 a |
| 120 | 2,659 ab | 61,36 a | 7,83 a | 0,800 a | 3433.4 b | 37,99 a |

Legenda: L-prolina – concentração endógena de L-prolina (µmol de prolina/g de matéria fresca); CAT – catalase (µmol/min/mg de proteína); SOD – superóxido dismutase (U SOD/mg de proteína); GR – glutationa redutase (µmol/min/mg de proteína); $H_2O_2$ – peróxido de hidrogênio (mol/g de matéria fresca); MDA – peroxidação lipídica (nM de MDA/mg de matéria fresca).

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

# 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação luminosa por LED no interior do dossel foi capaz de aumentar a produtividade comercial do pimentão em toneladas por hectare e em quilogramas por planta, o que pode ser explicado pelo aumento da taxa fotossintética das folhas do interior do dossel com essa suplementação. Por outro lado, as folhas do interior do dossel de plantas não suplementadas devem ter sofrido com o auto sombreamento, sendo observados valores menores de fotossíntese e de parâmetros fotossintéticos, como condutividade estomática, eficiência de carboxilação, taxa de transpiração e taxa aparente de transporte de elétrons.

Foi constatado que as plantas de pimentão estavam em constante estresse por altas e baixas temperaturas. Os tratamentos com aplicação do aminoácido L-prolina mitigaram o estresse oxidativo nas plantas ao aumentar a produção de L-prolina endógena e da enzima antioxidante catalase (CAT), além de reduzir a quantidade da espécie reativa de oxigênio, peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$), nas folhas de pimentão. Dentre as doses aplicadas de L-prolina, a de 90 mg/L se destacou ao aumentar a produtividade total, comercial e por planta em aproximadamente 15%.

Foi notado que a suplementação luminosa por LED e a aplicação exógena de L-prolina tiveram efeitos sinérgicos ao interagirem para aumentar a fotossíntese e melhorar os parâmetros fotossintéticos das plantas, assim como para aliviar o estresse oxidativo ao ampliar a produção endógena de L-prolina e exercer mudanças na atividade de CAT e $H_2O_2$.

À vista da presente pesquisa, conclui-se que tanto a suplementação luminosa por LED no interior do dossel quanto o uso exógeno do aminoácido L-prolina podem ser empregados para aumentar a fotossíntese e a produtividade de plantas de pimentão em cultivo protegido em regiões subtropicais sob estresse por temperatura.

## REFERÊNCIAS


ADAMS-PHILLIPS, L.; BARRY, C.; GIOVANNONI, J. Signal transduction systems regulating fruit ripening. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 7, p. 331–338. 2004.

AGUIAR, R.; DAREZZO, R.; ROZANE, D.; AGUILERA, G.; SILVA, D. **Cultivo em ambiente protegido: histórico, tecnologia e perspectivas**. Viçosa: UFV, 2004. 322 p.

AHMED, C. B.; ROUINA, B. B.; SENSOY, S.; BOUKHRISS, M.; ABDULLAH, F. B. Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 7, p. 4216–4222. 2010.

ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 12, p. 133–1344. 2001.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373–399. 2004.

ARAL, B.; KAMOUN, P. The proline biosynthesis in living organisms. **Amino Acids**, v. 13, n. 3–4, p. 189–217. 1997.

ARMENGAUD, P.; THIERY, L.; BUHOT, N.; MARCH, G. G.; SAVOURÉ, A. Transcriptional regulation of proline biosynthesis in *Medicago truncatula* reveals developmental and environmental specific features. **Physiologia Plantarum**, v. 120, n. 3, p. 442–450. 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS. 2013. **Levantamento de dados socioeconômicos do agronegócio de hortaliças 2013 ano base 2012**. Disponível em http:<//www.abcsem.com.br/dados-do-setor.pdf.>. Acesso em: 19 jul. 2019.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, n. 2, p. 280–292. 1998.

BANTIS, F.; SMIRNAKOU, S.; OUZOUNIS, T.; KOUKOUNARAS, A.; NTAGKAS, N.; RADOGLOU, K. Current status and recent achievements in the field of horticulture with the use of light-emitting diodes (LEDs). **Scientia Horticulturae**, v. 235, p. 437–451. 2018.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 20 –207. 1973.

BOURGET, C. M. An introduction to light-emitting diodes. **HortScience**, v. 43, n. 7, p. 1944–1946. 2008.

BOSCAIU, M.; LULL, C.; LIDON, A.; BAUTISTA, I.; DONAT, P.; MAYORAL, O.; VICENTE, O. Plant responses to abiotic stress in their natural habitats. Bulletin of university of agricultural sciences and veterinary medicine Cluj-Napoca. **Horticulture**, v. 65, n. 1, p. 53–58. 2008.

BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. **Peppers: vegetable and spice capsicums**. Wallingford: Cabi, 2012. 248 p.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254. 1976.

BRAMLEY, P. M. Is Lycopene Beneficial to Human Health? **Phytochemistry**, v. 54, n. 3, p. 233–236. 2000.

BULGARI, R.; FRANZONI, G.; FERRANTE, A. Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. **Agronomy**, v. 9, n. 6, p. 306. 2019.

CAMPAGNOL, R. **Nitrogênio e tipos de substratos no monitoramento nutricional, na produtividade e na qualidade do tomateiro cultivado em ambiente protegido climatizado**. 2015. 95 p. Tese (Doutorado em Ciências, área de concentração em Fitotecnia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

CARONIA, A.; GUGLIUZZA, G.; INGLESE, P. Influence of L-proline on *Citrus sinensis* (L.) ['New Hall' and 'Tarocco Scire'] fruit quality. **Acta Horticulturae 884**, p. 423–426. 2010.

CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B.; CARVALHO, P. R. N.; MORAES, R. M. M. **Análises químicas de alimentos**. Campinas: ITAL, 1990. 121p.

CARVALHO, J. A.; REZENDE, F. C.; AQUINO, R. F.; FREITAS, W. A.; OLIVEIRA, E. C. Análise produtiva e econômica do pimentão-vermelho irrigado com diferentes lâminas, cultivado em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 6, p. 569–574, 2011.

CATHEY, H. M.; CAMPBELL, L. E. Light and lighting systems for horticultural plants. **Horticultural Reviews**, v. 2, p. 491–537. 1980.

CEAGESP. **Guia CEAGESP**. Disponível em: <www.ceagesp.gov.br/guia-ceagesp/pimentao-vermelho/>. Acesso em: 19 jul. 2019.

CEMBROWSKA-LECH, D.; KOPROWSKI, M.; KĘPCZYŃSKI, J. Germination induction of dormant *Avena fatua* caryopses by KAR1 and GA3 involving the control of reactive oxygen species ($H_2O_2$ and $O^{2-}$) and enzymatic antioxidants (superoxide dismutase and catalase) both in the embryo and the aleurone layers. **Journal of Plant Physiology**, v. 176, p. 169–179. 2015.

CHAI, Q.; GAN, Y.; TURNER, N. C.; ZHANG, R. Z.; YANG, C.; NIU, Y.; SIDDIQUE, K. H. M. Water-saving innovations in Chinese agriculture. In: SPARKS, D. L. (Ed.) **Advances in Agronomy 126**. Academic Press, 2014, p. 149–201.

CHAITANYA, K. V.; SUNDAR, D.; REDDY, A. R. Mulberry leaf metabolism under high temperature stress. **Biologia Plantarum**, v. 44, n. 3, p. 379–384. 2001.

CHÉE, R. In vitro culture of Vitis: the effects of light spectrum, manganese sulfate and potassium iodide on morphogenesis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 7, n. 2, p. 121–134. 1986.

CHEN, X. L.; YANG, Q. C.; SONG, W. P.; WANG, L. C.; GUO, W. Z.; XUE, X. Z. Growth and nutritional properties of lettuce affected by different alternating intervals of red and blue LED irradiation. **Scientia Horticulturae**, v. 223, p. 44–52. 2017.

CHORY, J. Light signal transduction: an infinite spectrum of possibilities. **The Plant Journal**, v. 61, n. 6, p. 982–991. 2010.

CIJU, R. J. **Bell Peppers: Growing Practices and Nutritional Value**. Agrihortico, 2019. 90 p.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. **Mapeamento e Qualificação da Cadeia Produtiva das Hortaliças do Brasil**. Brasília: CNA, 2017. 79 p.

CUNHA, A. R.; ESCOBEDO, J. F. KLOSOWSKI, E. S. Estimativa do fluxo de calor latente pelo balanço de energia em cultivo protegido de pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 735–743. 2002.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 53. 2014.

DE RONDE J. A.; CRESS, W. A.; KRÜGER, G. H. J.; STRASSER, R. J.; VAN STADEN, J. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an *Arabidopsis* P5CR gene, during heat and drought stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, n. 11, p. 1211–1224. 2004.

DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The Plant Journal**, v. 4, n. 2, p. 215–223. 1993.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS III, W. W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. **Annual Review of Plant Biology**, v. 43, p. 599–626. 1992.

DIAS, H. B.; C. A. ALVARES; P. C. SENTELHAS. Um século de dados meteorológicos em Piracicaba, SP: Mudanças do clima pela classificação de Köppen. In: XX Congresso Brasileiro de Agrometeorologia; V Simpósio de Mudanças Climáticas e Desertificação do Semiárido Brasileiro, 2017, Petrolina/Juazeiro. XX Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, Petrolina/Juazeiro: Sociedade Brasileira de Agrometeorologia; Embrapa, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/322211096_Um_seculo_de_dados_meteorologicos_em_Piracicaba_SP_Mudancas_do_clima_pela_classificacao_de_Koppen>. Acesso em: 19 jul. 2019.

DUECK, T. A.; GRASHOFF, C.; BROEKHUIJSEN, G.; MARCELIS, L. F. M. Efficiency of light energy used by leaves situated in different levels of a sweet pepper canopy. **Acta Horticulturae 711**, p. 201–206. 2006.

EMANUEL, K. Increasing destructiveness of tropical cyclones over the past 30 years. **Nature**, v. 436, p. 686–688. 2005.

EVANS, J. R. Partitioning of nitrogen between and within leaves grown under different irradiances. **Functional Plant Biology**, v. 16, n. 6, p. 533–548. 1989.

FERREIRA, M. G.; ALVES, F. M.; NICK, C. Tratos Culturais. In: NICK, C.; BORÉM, A. (Org.). **Pimentão: do Plantio à Colheita**. Viçosa: UFV, 2016, p. 89–94.

FILGUEIRA, F. A. R. **Solanáceas: Agrotecnologia Moderna na Produção de Tomate, Batata, Pimentão, Pimenta, Berinjela e Jiló**. Lavras: UFLA, 2003. 333 p.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314. 1977.

GÓMEZ, C.; MORROW, R. C.; BOURGET, C. M.; MASSA, G. D.; MITCHELL, C. A. Comparison of intracanopy light-emitting diode towers and overhead high-pressure sodium lamps for supplemental lighting of greenhouse-grown tomatoes. **HortTechnology**, v. 23, n. 1, p. 93–98. 2013.

GOMES-JUNIOR, R. A.; MOLDES, C. A.; DELITE, F. S.; POMPEU, G. B.; GRATÃO, P. L.; MAZZAFERA, P.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, v. 65, n. 8, p. 1330–1337. 2006.

GOSAVI, G. U.; JADHAV, A. S.; KALE, A. A.; GADAKH, S. R.; PAWAR, B. D.; CHIMOTE, V. P. Effect of heat stress on proline, chlorophyll content, heat shock proteins and antioxidant enzyme activity in sorghum (*Sorghum bicolor*) at seedlings stage. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 13, p. 356–363. 2014.

GOTO, R. A Cultura. In: NICK, C.; BORÉM, A. (Org.). **Pimentão: do Plantio à Colheita**. Viçosa: UFV, 2016, p. 9–16.

GOTO, R; CUNHA, A. R.; SANDRI, M. A.; ONO, E. O. Exigências climáticas e ecofisiologia. In: NICK, C.; BORÉM, A. (Org.). **Pimentão: do Plantio à Colheita**. Viçosa: UFV, 2016, p. 17–33.

GOTO, R.; ROSSI, F. **Cultivo de pimentão em estufa – Manual**. Viçosa: CPT, 1997.

GROSS, K.; HOMLICHER, A.; WEINREICH, A.; WAGNER, E. Effect of shade on stomatal conductance, net photosynthesis, photochemical efficiency and growth of oak saplings. **Annals of Forest Science**, v. 53, n. 2–3, p. 279–290. 1996.

GUO, X.; HAO, X.; KHOSLA, S.; KUMAR, K. G. S.; CAO, R.; BENNETT, N. Effect of LED interlighting combined with overhead HPS light on fruit yield and quality of year-round sweet pepper in commercial greenhouse. **Acta Horticulturae 1134**, p. 71–78. 2016c.

GUO, X.; HAO, X.; ZHENG, J. M.; LITTLE, C.; KHOSLA, S. Effects of plasma vs. high pressure sodium lamps on plant growth, fruit yield and quality in greenhouse cucumber production. **Acta Horticulturae 1134**, p. 79–86. 2016a.

GUO, X.; HAO, X.; ZHENG, J. M.; LITTLE, C.; KHOSLA, S. Response of greenhouse mini-cucumber to different vertical spectra of LED lighting under overhead high pressure sodium and plasma lighting. **Acta Horticulturae 1134**, p. 87–94. 2016b.

HAO, X.; GUO, X.; LANOUE, J.; ZHANG, Y.; CAO, R.; ZHENG, J.; LITTLE, C.; LEONARDOS, D.; KHOLSA, S.; GRODZINSKI, B.; YELTON, M. A review on smart application of supplemental lighting in greenhouse fruiting vegetable production. **Acta Horticulturae 1227**, p. 499–506. 2018.

HAO, X.; ZHENG, J. M.; LITTLE, C.; KHOSLA, S. LED inter-lighting in year-round greenhouse mini-cucumber production. **Acta Horticulturae 956**, p. 335–340. 2012.

HARSH, A.; SHARMA, Y. K.; JOSHI, U.; RAMPURIA, S.; SINGH, G.; KUMAR, S.; SHARMA, R. Effect of short-term heat stress on total sugars, proline and some antioxidant enzymes in moth bean (*Vigna aconitifolia*). **Annals of Agricultural Sciences**, v. 61, n. 1, p. 57–64. 2016.

HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M. N.; AHMAD, A. Proline enhances antioxidative enzyme activity, photosynthesis and yield of *Cicer arietinum* L. exposed to cadmium stress. **Acta Botanica Croatica**, v. 72, n. 2, p. 323–335. 2013.

HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M. N.; WANI, A. S.; PICHTEL, J.; AHMAD, A. Role of proline under changing environments: a review. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 11, p. 1456–1466. 2012.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198. 1968.

HENZ, G. P.; COSTA, C. S. R.; CARVALHO, S.; BANCI, C. A. Como cultivar pimentão: alta produtividade. **Revista Cultivar Hortaliças e Frutas**, n. 42, p. 1–7. 2007.

HFBRASIL. **HORTIFRUTI/CEPEA: Principais Características do Pimentão no BR**. Disponível em: <https://www.hfbrasil.org.br/br/hortifruti-cepea-principais-caracteristicas-do-pimentao-no-br.aspx>. Acesso em: 20 jul. 2019.

HOGEWONING, S. W.; TROUWBORST, G.; MALJAARS, H.; POORTER, H.; VAN IEPEREN, W.; HARBINSON, J. Blue light dose–responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of Cucumis sativus grown under different combinations of red and blue light. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 11, p. 3107–3117. 2010.

HOQUE, M. A.; BANU, M. N. A.; OKUMA, E.; AMAKO, K.; NAKAMURA, Y.; SHIMOISHI, Y.; MURATA, Y. Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate–glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 11, p. 1457–1468. 2007b.

HOQUE, M. A.; OKUMA, E.; BANU, M. N. A.; NAKAMURA, Y.; SHIMOISHI, Y.; MURATA, Y. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 5, p. 553–561. 2007a.

HOSSAIN, M. A.; HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Coordinate induction of antioxidant defense and glyoxalase system by exogenous proline and glycinebetaine is correlated with salt tolerance in mung bean. **Frontiers of Agriculture in China**, v. 5, n. 1, p. 1–14. 2011.

HOSSAIN, M. A.; HOQUE, M. A.; BURRITT, D. J.; FUJITA, M. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms. In: **Oxidative Damage to Plants**. San Diego: Academic Press, 2014. p. 477–522.

HU, C. A.; DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. A bifunctional enzyme (delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyzes the first two steps in proline biosynthesis in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 89, n. 19, p. 9354–9358. 1992.

IBGE. **Censo Agropecuário**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6619>. Acesso em: 19 jul. 2019.

IEA. Estatísticas da Produção Paulista. Disponível em: <ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/subjetiva.aspx?cod_sis=1&idioma=1>. Acesso em: 20 jul. 2019.

IEA. **Valor da Produção dos Principais Produtos da Agropecuária do Estado de São Paulo**. Disponível em: <ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/vp.aspx?cod_sis=15>. Acesso em: 20 jul. 2019.

INPE. **INPE revela aumento de tempestades com raios**. 2013. Disponível em: <http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=3358>. Acesso em: 15 de Fev. 2019.

ISLAM, M. M.; HOQUE, M. A.; OKUMA, E.; BANU, M. N. A.; SHIMOISHI, Y.; NAKAMURA, Y.; MURATA, Y. Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, n. 15, p. 1587–1597. 2009.

JIANG, C.; JOHKAN, M.; HOHJO, M.; TSUKAGOSHI, S.; EBIHARA, M.; NAKAMINAMI, A.; MARUO, T. Photosynthesis, plant growth, and fruit production of single-truss tomato improves with supplemental lighting provided from underneath or within the inner canopy. **Scientia Horticulturae**, v. 222, p. 221–229. 2017.

JOSHI, N. C.; RATNER, K.; EIDELMAN, O.; BEDNARCZYK, D.; ZUR, N.; MANY, Y.; SHAHAK, Y.; AVIV-SHARON, E.; ACHIAM, M.; GILAD, Z.; CHARUVI, D. Effects of daytime intra-canopy LED illumination on photosynthesis and productivity of bell pepper grown in protected cultivation. **Scientia Horticulturae**, v. 250, p. 81–88. 2019.

KAUR, G.; KUMAR, S.; THAKUR, P.; MALIK, J. A.; BHANDHARI, K.; SHARMA, K. D.; NAYYAR, H. Involvement of proline in response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to chilling stress at reproductive stage. **Scientia Horticulturae**, v. 128, n. 3, p. 174–181. 2011.

KAUSHAL, N.; GUPTA, K.; BHANDHARI, K.; KUMAR, S.; THAKUR, P.; NAYYAR, H. Proline induces heat tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) plants by protecting vital enzymes of carbon and antioxidative metabolism. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 17, n. 3, p. 203–213. 2011.

KELLEY, W. T., BOYHAN, G. Pepper History, Scope, Climate and Taxonomy. In: The University of Georgia, Cooperative Extension. **Commercial Pepper Production Handbook**. Athens: Learning for Life, 2009. 55 p. Disponível em: <http://athenaeum.libs.uga.edu/bitstream/handle/10724/12339/B1309.pdf?sequence=1>. Acesso em: 19 jul. 2019.

KISHOR, P. B. K.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; LAXMI, P. S.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; RAO, S.; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 88, n. 3, p. 424–438. 2005.

KRAUS, T. E.; MCKERSIE, B. D.; FLETCHER, R. A. Paclobutrazol-induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve increased antioxidant enzyme activity. **Journal of Plant Physiology**, v. 145, n. 4, p. 570–576. 1995.

KUMAR, K. G. S.; HAO, X.; KHOSLA, S.; GUO, X.; BENNETT, N. Comparison of HPS lighting and hybrid lighting with top HPS and intra-canopy LED lighting for high-wire mini-cucumber production. **Acta Horticulturae 1134**, p. 111–118. 2016.

LEB/ESALQ/USP. **Série de Dados Climatológicos do Campus Luiz de Queiroz de Piracicaba, SP – Departamento de Engenharia de Biossistemas**. Disponível em: <http://www.leb.esalq.usp.br/leb/postocon.html>. Acesso em: 10 set. 2019.

LEISER, A. T.; LEOPOLD, A. C.; SHELLEY, A. L. Evaluation of light sources for plant growth. **Plant Physiology**, v. 35, n. 3, p. 392–395. 1960.

LIANG, X.; ZHANG, L.; NATARAJAN, S. K.; BECKER, D. F. Proline mechanisms of stress survival. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 19, n. 9, p. 998–1011. 2013.

LIMA, G. S.; SANTOS, J. B.; SOARES, L. A. A.; GHEYI, H. R.; NOBRE, R. G.; PEREIRA, R. F. Irrigação com águas salinas e aplicação de prolina foliar em cultivo de pimentão 'All Big'. **Comunicata Scientiae**, v. 7, n. 4, p. 513–522. 2016.

LIN, K. H.; HUANG, M. Y.; HUANG, W. D.; HSU, M. H.; YANG, Z. W.; YANG, C. M. The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. capitata). **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 86–91. 2013.

LIU, Z.; LI, L.; LUO, Z.; ZENG, F.; JIANG, L.; TANG, K. Effect of brassinolide on energy status and proline metabolism in postharvest bamboo shoot during chilling stress. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 240–246. 2016.

LU, N.; MARUO, T.; JOHKAN, M.; HOHJO, M.; TSUKAGOSHI, S.; ITO, Y.; ICHIMURA, T.; SHINOHARA, Y. Effects of supplemental lighting with light-emitting diodes (LEDs) on tomato yield and quality of single-truss tomato plants grown at high planting density. **Environmental Control in Biology**, v. 50, n. 1, p. 63–74. 2012.

LU, T.; MENG, Z.; ZHANG, G.; QI, M.; SUN, Z.; LIU, Y.; LI, T. Sub-high temperature and high light intensity induced irreversible inhibition on photosynthesis system of tomato plant (*Solanum lycopersicum* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 365, 2017.

MAROUELLI, W. A.; SILVA, L. C. W. **Irrigação na cultura do pimentão**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2012. 20 p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 101).

MASSA, G. D.; KIM, H. H.; WHEELER, R. M.; MITCHELL, C. A. Plant productivity in response to LED lighting. **HortScience**, v. 43, n. 7, p. 1951–1956. 2008.

MATYSIK, J.; ALIA; BHALU, B.; MOHANTY, P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. **Current Science**, v. 82, n. 5, p. 525–532. 2002.

MINAMI, K.; TESSARIOLI NETO, J. T. **Cultura do Pimentão**. Piracicaba, 1994. 67 p.

MIRANDA, F. R.; ABREU, R. D. M.; MESQUITA, A.; MARTINS, M.; ROSSETTI, A. **Irrigação automatizada com sensores Irrigas® para o cultivo do pimentão em substrato de fibra de coco**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical – Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 96, 2015. p. 21.

MITCHELL, C. A.; BOTH, A. J.; BOURGET, C. M.; BURR, J. F.; KUBOTA, C.; LOPEZ, R. G.; MORROW, R. C.; RUNKLE, E. S. LEDs: The future of greenhouse lighting! **Chronica Horticulturae**, v. 52, n. 1, p. 6–12. 2012.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405–410. 2002.

MOUSTAKAS, M.; SPERDOULI, I.; KOUNA, T.; ANTONOPOULOU, C. I.; THERIOS, I. Exogenous proline induces soluble sugar accumulation and alleviates drought stress effects on photosystem II functioning of *Arabidopsis thaliana* leaves. **Plant Growth Regulation**, v. 65, p. 315–325. 2011.

MUNEER S.; KIM, E. J.; PARK. J. S.; LEE, J. H. Influence of green, red and blue light emitting diodes on multiprotein complex proteins and photosynthetic activity under different light intensities in lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 3, p. 4657–4670. 2014.

NKANSAH, G. O.; NORMAN, J. C.; MARTEY, A. Growth, Yield and Consumer Acceptance of Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L.) as Influenced by Open Field and Greenhouse Production Systems. **Journal of Horticulture**, v. 4, n. 4, p. 192–216. 2017.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Biology**, v. 49, p. 249–279. 1998.

NOCTOR, G.; VELJOVIC-JOVANOVIC, S.; FOYER, C. H. Peroxide processing in photosynthesis: antioxidant coupling and redox signalling. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 355, n. 1402, p. 1465–1475. 2000.

NOUNJAN, N.; NGHIA, P. T.; THEERAKULPISUT, P. Exogenous proline and trehalose promote recovery of rice seedlings from salt-stress and differentially modulate antioxidant enzymes and expression of related genes. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, n. 6, p. 596–604. 2012.

NUEZ, F.; GIL ORTEGA, R.; COSTA, J. ***El Cultivo de Pimentos, Chiles y Ajies***. Madrid: *Ediciones Mundi-Prensa*, 1996. 607 p.

OLLE, M.; VIRŠILE, A. The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. **Agricultural and Food Science**, v. 22, n. 2, p. 223–234. 2013.

ONU. **World Population Prospects 2019: Highlights**. New York: United Nations, Department of Economics and Social Affairs, Population Division. 2019. Disponível em: <https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf>. Acesso em: 02 set. 2019.

OSMAN, H. S. Enhancing antioxidant–yield relationship of pea plant under drought at different growth stages by exogenously applied glycine betaine and proline. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 60, n. 2, p. 389–402. 2015.

OUKARROUM, A.; EL MADIDI, S.; STRASSER, R. J. Exogenous glycine betaine and proline play a protective role in heat-stressed barley leaves (*Hordeum vulgare* L.): a chlorophyll *a* fluorescence study. **Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 146, n. 4, p. 1037–1043. 2012.

PETTERSEN, R. I.; TORRE, S.; GISLERØD, H. R. Effects of intracanopy lighting on photosynthetic characteristics in cucumber. **Scientia Horticulturae**, v. 125, n. 2, p. 77–81. 2010.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. P. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, v. 3, 1985. p. 533.

PRESSMAN, E.; SHAKED, R.; SHEN, S.; ALTAHAN, L.; FIRON, N. Variations in carbohydrate content and sucrose-metabolizing enzymes in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) stamen parts during pollen maturation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 3, n. 2, p. 252–260. 2012.

PRIYA, M.; SHARMA, L.; SINGH, I.; BAINS, T. S.; SIDDIQUE, K. H.; BINDUMADHAVA, H.; RAMKRISHNAN M. N.; NAYYAR, H. Securing reproductive function in mungbean grown under high temperature environment with exogenous application of proline. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 140, p. 136–150. 2019.

RADY, M. M.; TAHA, R. S.; MAHDI, A. H. A. Proline enhances growth, productivity and anatomy of two varieties of *Lupinus termis* L. grown under salt stress. **South African Journal of Botany**, v. 102, p. 22 –227. 2016.

RAO, N. S. S.; SHIVASHANKARA, K. S.; LAXMAN, R. H. (Eds.). **Abiotic stress physiology of horticultural crops**. New Delhi: Springer, 2016.

RAVICH, L. E. **Artificially climatized greenhouse**. U.S. Patent n. 3,063,195. 1962. Disponível em: <https://patentimages.storage.googleapis.com/91/9b/15/a02978e61637d3/US3063195.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2019.

ROLDÁN, G. A. Q. **Supplemental LED interlighting on the physiological response and yield of mini-cucumber**. 2017. 63 p. Tese (Doutorado em Ciências, área de concentração em Fitotecnia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

ROOSENS, N. H. C. J.; THU, T. T.; ISKANDAR, H. M.; JACOBS, M. Isolation of the ornithine-δ-aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**, v. 117, n. 1, p. 263–271. 1998.

ROTH-BEJERANO, N.; ITAI, C. Involvement of phytochrome in stomatal movement: effect of blue and red light. **Physiologia Plantarum**, v. 52, n. 2, p. 201–206. 1981.

SÁ, F. V. S.; LIMA, G. S.; SANTOS, J. B.; GHEY, H. R.; SOARES, L. A. A.; CAVALCANTE, L. F.; PAIVA, E. P.; SOUZA, L. P. Growth and physiological aspects of bell pepper (*Capsicum annuum*) under saline stress and exogenous application of proline. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 36, p. 1970–1976. 2016.

SAEBØ, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 41, n. 2, p. 177–185. 1995.

SAHA, S. R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, M. M.; KUO, C. G.; ABDULLAH, S. Effect of high temperature stress on the performance of twelve sweet pepper genotypes. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, v. 35, n. 3, p. 525–534. 2010.

SAKATA SEED SUDAMÉRICA. **Taurus**. Disponível em: < https://www.sakata.com.br/hortalicas/solanaceas/pimentao/retangular-vermelho/taurus>. Acesso em: 15 de mar. 2019.

SAVOURÉ, A.; JAOUA, S.; HUA, X. J.; ARDILES, W.; VAN MONTAGU, M.; VERBRUGGEN, N. Isolation, characterization, and chromosomal location of a gene encoding the Δ1-pyrroline-5-carboxylate synthetase in *Arabidopsis thaliana*. **FEBS Letters**, v. 372, n. 1, p. 13–19. 1995.

SEEMANN, J. Greenhouse climate. In: SEEMANN, J.; CHIRKOV, Y. I.; LOMAS, L.; PRIMAULT, B. **Agrometeorology**. Berlin, Heidelberg: Springer, 1979. p. 165–178.

SEEMANN, J. R. Light adaptation/acclimation of photosynthesis and the regulation of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase activity in sun and shade plants. **Plant Physiology**, v. 91, n. 1, p. 379–386. 1989.

SEIBERT, M.; WETHERBEE, P. J.; JOB, D. D. The effects of light intensity and spectral quality on growth and shoot initiation in tobacco callus. **Plant Physiology**, v. 56, n. 1, p. 130–139. 1975.

SHARMA, K. D.; NAYYAR, H. Regulatory networks in pollen development under cold stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 402. 2016.

SHIVASHANKARA, K. S.; PAVITHRA, K. C.; GEETHA, G. A. Antioxidant protection mechanism during abiotic stresses. In: RAO, N. S. S.; SHIVASHANKARA, K. S.; LAXMAN, R. H. (Eds.). **Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops**. New Delhi: Springer, 2016. p. 47–69.

SIDDIQUI, M. H.; AL-KHAISHANY, M. Y.; AL-QUTAMI, M. A.; AL-WHAIBI, M. H.; GROVER, A.; ALI, H. M.; AL-WAHIBI, M. S. Morphological and physiological characterization of different genotypes of faba bean under heat stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, n. 5, p. 656–663. 2015.

SILVA, B. A.; SILVA, A. R.; PAGIUCA, L. G. **Cultivo protegido: em busca de mais eficiência produtiva!** Hortifruti Brasil, v. 1, p. 10–18. 2014. Disponível em: <http://www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/132/mat_capa.pdf>. Acesso em: 19 jul. 2019.

SINGH, D.; BASU, C.; MEINHARDT-WOLLWEBER, M.; ROTH, B. LEDs for energy efficient greenhouse lighting. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, p. 139–147. 2015a.

SINGH, M.; SINGH, V. P.; DUBEY, G.; PRASAD, S. M. Exogenous proline application ameliorates toxic effects of arsenate in *Solanum melongena* L. seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 117, p. 164–173. 2015b.

SMITH, H. L.; MCAUSLAND, L.; MURCHIE, E. H. Don't ignore the green light: exploring diverse roles in plant processes. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 9, p. 2099–2110. 2017.

SOUZA, G, M.; CARDOSO, V. J. M.; GONÇALVES, A. N. Proline content and protein patterns in *Eucalyptus grandis* shoots submitted to high and low temperature shocks. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 355–362. 2004.

SOUZA, R. J.; NANNETTI, D. C. **A cultura do pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. Lavras: UFLA, 1998. 49 p. (Boletim técnico).

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 2, p. 89–97. 2010.

SZEPESI, Á.; SZŐLLŐSI, R. Mechanism of proline biosynthesis and role of proline metabolism enzymes under environmental stress in plants. In: AHMAD, P.; AHANGER, M. A.; SINGH, V. P.; TRIPATHI, D. K.; ALAM, P.; ALYEMENI, M. N. (Eds.). **Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress**. Londres: Academic Press, 2018. p. 337–353.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017.

TAKEUCHI, M.; ARAKAWA, C.; KUWAHARA, Y.; GEMMA, H. Effects of L-proline foliar application on the quality of "Kosui" Japanese pear. **Acta Horticulturae 800**, p. 549–554. 2008.

TEWOLDE, F. T.; LU, N.; SHIINA, K.; MARUO, T.; TAKAGAKI, M.; KOZAI, T.; YAMORI, W. Nighttime supplemental LED inter-lighting improves growth and yield of single-truss tomatoes by enhancing photosynthesis in both winter and summer. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 448. 2016.

VEASEY, E. A.; PIOTTO, F. A.; NASCIMENTO, W. F.; RODRIGUES, J. F.; MEZETTE, T. F.; BORGES, A.; BIGUZZI, F. A.; SANTOS, F. R. C.; SOBIERAJSKI, G, R.; RECCHIA, G. H.; MISTRO, J. C. Processos evolutivos e a origem das plantas cultivadas. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1218–1228. 2011.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, v. 35, n. 4, p. 753–759. 2008.

VERBRUGGEN, N; VILLARROEL, R; VAN MONTAGU, M. Osmoregulation of a pyrroline-5-carboxylate reductase gene in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**, v. 103, n. 3, p. 771–781. 1993.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; PARENTE, G. B. **Controle das Principais Doenças do Pimentão Cultivado nas Regiões Serranas do Estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa, 2007. 4 p. (Embrapa. Comunicado Técnico 132).

WALLACE, C.; BOTH, A. J. Evaluating operating characteristics of light sources for horticultural applications. **Acta Horticulturae 1134**, p. 435–444. 2016.

WALKER, B. J.; VANLOOCKE, A.; BERNACCHI, C. J.; ORT, D. R. The costs of photorespiration to food production now and in the future. **Annual Review of Plant Biology**, v. 67, p. 107–129. 2016.

WANG, L. N.; YANG, X. Y.; REN, Z. H.; WANG, X. F. Regulation of photoassimilate distribution between source and sink organs of crops through light environment control in greenhouses. **Agricultural Sciences**, v. 5, p. 250–256. 2014.

WANG, J.; LU, W.; TONG, Y.; YANG, Q. Leaf morphology, photosynthetic performance, chlorophyll fluorescence, stomatal development of lettuce (*Lactuca sativa* L.) exposed to different ratios of red light to blue light. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 250. 2016.

WEBSTER, P. J.; HOLLAND, G. J.; CURRY, J. A.; CHANG, H. R. Changes in tropical cyclone number, duration, and intensity in a warming environment. **Science**, v. 309, n. 5742, p. 1844–1846. 2005.

YAMORI, W.; SHIKANAI, T. Physiological functions of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis and plant growth. **Annual Review of Plant Biology**, v. 67, p. 81–106. 2016.

YEH, N.; CHUNG, J. P. High-brightness LEDs – Energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 8, p. 2175–2180. 2009.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. **Photosynthetica**, v. 38, n. 1, p. 171–186. 2000.

ZALI, A. G.; EHSANZADEH, P. Exogenous proline improves osmoregulation, physiological functions, essential oil, and seed yield of fennel. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 133–140. 2018.

ZOUARI, M.; AHMED, C. B.; ZORRIG, W.; ELLOUMI, N.; RABHI, M.; DELMAIL, D.; ROUINA, B. B.; LABROUSSE, P.; ABDALLAH, F. B. Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 100–108. 2016.

ZOUARI, M.; ELLOUMI, N.; LABROUSSE, P.; ROUINA, B. B.; ABDALLAH, F. B.; AHMED, C. B. Olive trees response to lead stress: Exogenous proline provided better tolerance than glycine betaine. **South African Journal of Botany**, v. 118, p. 158–165. 2018.