UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Definição do ponto de colheita comercial e da concentração de etileno exógeno
visando melhor aproveitamento do potencial comercial e nutricional de bananas
da cultivar Thap Maeo

Versão corrigida da tese, conforme resolução CoPGr 6018.

O original encontra-se disponível no Serviço de Pós Graduação da FCF/USP.

Lorenzo de Amorim Saraiva

Tese para obtenção do grau de

DOUTOR

Orientadora:

Profa. Tit. Beatriz Rosana Cordenunsi

São Paulo

2015

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S243d	<p>Saraiva, Lorenzo de Amorim</p> <p>Definição do ponto de colheita comercial e da concentração de etileno exógeno visando melhor aproveitamento do potencial comercial e nutricional de bananas da cultivar Thap Maeo / Lorenzo de Amorim Saraiva. -- São Paulo, 2015. 99p.</p> <p>Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental</p> <p>Orientador : Cordenunsi, Beatriz Rosana</p> <p>1. Banana : Bioquímica dos alimentos 2. Fisiologia vegetal I. T. II. Cordenunsi, Beatriz Rosana, orientador.</p> <p>641.3477 CDD</p>
-------	---

Lorenzo de Amorim Saraiva

Definição do ponto de colheita comercial e da concentração de etileno
exógeno visando melhor aproveitamento do potencial comercial e nutricional de
bananas da cultivar Thap Maeo

Comissão Julgadora da Tese para obtenção do grau de Doutor

Profa. Tit. Beatriz Rosana Cordenunsi

Orientador / Presidente

1º. examinador

2º. examinador

3º. examinador

4º. examinador

São Paulo, ____de _____de 2015.

RESUMO

Saraiva, L. A. Definição do ponto de colheita comercial e da concentração de etileno exógeno visando melhor aproveitamento do potencial comercial e nutricional de bananas da cultivar Thap Maeo. 99 p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo

A banana é um fruto consumido no mundo todo e, ao contrário do que acontece na maioria dos países nos quais predomina o grupo Cavendish, uma grande variedade de cultivares são consumidas nas diferentes regiões do Brasil. No entanto, as informações bioquímicas e fisiológicas a respeito das cultivares consumidas no país são ainda restritas e, apesar de serem muito diferentes entre si, são tratadas da mesma maneira na pré e pós-colheita, o que muitas vezes compromete a qualidade do fruto. Diante disso, dois pontos são fundamentais para a obtenção de frutos de melhor qualidade: a definição do ponto de colheita e o tratamento dos frutos com etileno após a colheita. Hoje a colheita é feita em função do diâmetro dos frutos e o tratamento com etileno é o mesmo para todas as cultivares. Porém, frutos com o mesmo diâmetro nem sempre estão no mesmo estágio de maturidade fisiológica e, usualmente, o tratamento pós-colheita feito com etileno, visando o amadurecimento mais rápido e uniforme dos frutos, não segue nenhuma orientação técnica. A consequência da falta de critérios definidos para a colheita e para a aplicação de etileno resulta em bananas com baixa qualidade e com vida-de-prateleira curta. A produção de banana é dificultada pelos problemas fitossanitários que ocorrem nas plantações, incluindo doenças como as Sigatokas Negra e Amarela e o Mal-do-Panamá. Tendo em vista a ameaça que as doenças da bananeira representam e os prejuízos que podem causar, a introdução de cultivares resistentes é a melhor forma para reduzir a pressão desses patógenos sobre a cultura. Por ser resistente às Sigatokas e ao Mal de Panamá este trabalho visou conhecer melhor a cultivar Thap Maeo (*Musa acuminata* AAB cv. Thap Maeo) que tem como defeito principal uma vida-de-prateleira muito curta. Os objetivos deste trabalho foram: (1) estabelecer o ponto de colheita das bananas da cultivar Thap Maeo utilizando a metodologia da soma de temperatura a que a planta está exposta durante o desenvolvimento dos frutos; (2) estabelecer, a partir da caracterização físico-química dos frutos, o teor ideal de etileno exógeno para promover o amadurecimento uniforme dos frutos e, (3) estudar o balanço hormonal no amadurecimento dos frutos. Em uma primeira etapa foi implantado um experimento de campo para determinar a Temperatura Base e a Idade Fisiológica Máxima para esta cultivar. Estes parâmetros são necessários para o cálculo da idade fisiológica e na determinação do ponto de colheita. Com o término desta etapa, foram realizadas colheitas de frutos em diferentes épocas do ano para confirmar a metodologia usada. Foi possível estabelecer uma metodologia para estimar o ponto de colheita dos frutos de acordo com a estação do ano em que estes se desenvolveram. Para estabelecer o teor ideal de etileno exógeno aplicado na pós-colheita, os frutos foram testados com diferentes concentrações de etileno (0 a 1000 ppm) em dose única. Os resultados indicam que mesmo as menores concentrações de etileno aplicadas promovem o amadurecimento uniforme dos frutos, sem diferenças aparentes entre os tratamentos. Além disso, as análises do perfil de compostos voláteis da polpa indicam que a maior diferença entre o aroma dos tratamentos é entre frutos tratados e não tratados. Os frutos que não foram tratados apresentaram maior

quantidade de compostos identificados. Em todas as colheitas realizadas, o período entre o início do amadurecimento e o amadurecimento completo dos frutos foi consideravelmente curto se comparado a bananas do subgrupo Nanica. Para melhor compreender estes resultados, além do etileno, foram quantificados os teores livres dos hormônios ácido indol-3-acético (AIA) e ácido abscísico (ABA). Em comparação com estudos anteriores, com cultivares do subgrupo Nanica, a cultivar Thap Maeo produz mais etileno e ABA durante o amadurecimento, além de apresentar menores teores de AIA quando verde. Estas diferenças hormonais podem explicar o curto período de amadurecimento desta cultivar.

Palavras-chave: Compostos voláteis, Ácido Abscísico, Ácido indol-3-acético, climatização, amadurecimento.

ABSTRACT

Saraiva L. A. Definition of harvest time and exogenous ethylene concentration aiming at the better commercial and nutritional potential of the bananas of the Thap Maeo cultivar. PhD Thesis - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo

Banana is an important staple food. Unlike the world Market, which has only the Cavendish Bananas as export bananas, Brazilian market has many Bananas varieties. However, biochemical and physiological information about these varieties are still scarce and different bananas cultivars are treated the same way in pre or post-harvest, which often affects the quality of the fruit. In this context, two issues are important to reach best fruit quality: definition of harvest time and the exogenous ethylene treatment. Now a day the harvest time is defined by the diameter of the fruits and the ethylene treatment is equal for all cultivars. However, fruits with the same diameter not always are in the same development grade and the post-harvest ethylene treatment, aiming a faster and uniform ripening, does not follow any technical recommendation. The consequences for the lack of criteria in the harvest and for the ethylene treatment might be a low quality and shelf life banana. Banana production is hampered by plant health problems occurring in the production fields, including the diseases such as the Sigatoka and the Panama Wilt. Given the threat of the banana diseases, and the damage they can cause, the introduction of resistant cultivars is the best way to reduce the pressure of these pathogens on this crop. Being resistant to Sigatoka and Panama diseases, this work aimed to know better the cultivar Thap Maeo (*Musa acuminata* AAB cv. Thap Maeo) whose main defect is a short shelf life. The objectives of this work were: (1) to establish the harvest time of Thap Maeo bananas using the thermal sum techniques, (2) using the physico-chemical characterization of the fruit, establish the ideal concentration of exogenous ethylene to promote uniform ripening of fruits and (3) study the hormonal balance in the fruit ripening. The first step was a field experiment to determine the base temperature and the maximum physiological age. These parameters are used to calculate the thermal sum. The next step was to harvest fruits from different times of the year to confirm the methodology. It was established a methodology to estimate the harvest time according to the season in which the fruit has developed. Five ethylene concentration were tested (0-1000 ppm). Results showed that even the low ethylene concentration applied could promote the uniform ripening of the fruits with no apparent differences between the treatments. Furthermore, the analysis of volatile compounds in the pulp indicate that the major difference between the aroma of treatments is between treated and untreated fruits. The fruits that were not treated showed a higher amount of identified compounds. For all harvested fruits, the period between the ripening start and full ripening of the fruit was short when compared to the Nanica bananas. Levels of the hormones indole-3-acetic acid and abscisic acid, in addition to ethylene, were quantified to better understand these results. Compared to previous studies, with cultivars of Nanica subgroup, the cultivar Thap Maeo produce more ethylene and ABA during ripening, and have lower IAA level in the green stage. These hormonal differences may explain the short maturity period of this cultivar.

Keywords: Volatile compounds, Absciscic Acid, acid indole-3-acetic, ripening.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a dedicação de todas as pessoas que me ajudaram neste trabalho.

À Beatriz CORDENUNSI que me orienta no trabalho e na vida.

À Florence CASTELAN minha parceira de todas as horas.

Ao Juca (Fruta Leve), produtor de Thap que disponibilizou toda a sua estrutura para nós.

À Lúcia JUSTINOS, ao Elias ARAUJO, à Maria CALHAU, à Talita PIMENTA, à Vanessa BONATO e ao Victor CASTRO-ALVES pela ajuda nas análises.

Aos professores Eduardo PURGATTO, João NASCIMENTO, João FABI e Neuza HASSIMOTO que me ajudaram muito nesses anos.

Aos colegas de laboratório, todos muito prestativos.

Aos funcionários da FCF que estão sempre dispostos a ajudar.

À Fapesp (proj. n. 2012/07220-3) e ao CNPq pelo financiamento.

OBRIGADO!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1. Bananicultura: importância nacional e cultivares	8
1.2. As doenças da bananeira: Sigatokas e Mal-do-Panama	12
1.3. Thap Maeo	15
1.4. Ponto de colheita, idade fisiológica e temperatura base	16
1.5. Banana e amadurecimento	22
1.5.1 Amadurecimento e qualidade	22
1.5.2 O amadurecimento como o desencadeamento de eventos coordenados	24
1.5.2.1 Etileno e amadurecimento	24
1.5.2.2 Outros reguladores envolvidos	28
2. OBJETIVOS	34
3. MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1. Materiais	34
3.2. Implantação dos experimentos de campo	34
3.3. Temperatura base e soma térmica	37
3.4. Caracterização da cultivar Thap Maeo	38
3.4.1. Características Físicas	39
3.4.1.1 Peso, diâmetro e comprimento	39
3.4.1.2 Cor da casca e firmeza da polpa	39
3.4.2. Produção endógena de etileno e respiração	40
3.4.3. Determinação de amido	40
3.5. Aplicação de etileno exógeno	41
3.5.1. Determinação de açúcares solúveis	42
3.5.2. Determinação do ácido abscísico e ácido indol-3-acético	43
3.5.3. Compostos voláteis	44
3.6. Análise estatística	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1. Primeiras amostragens	46

4.2.	Definição do ponto de colheita: método de regressão linear	53
4.3.	Avaliação dos parâmetros pós-colheita	55
4.4.	Definição do ponto de colheita a partir dos parâmetros determinados na pós-colheita	62
4.5.	Otimização da concentração de etileno no tratamento pós-colheita ...	66
4.5.1.	Amadurecimento: qualidade dos frutos	67
4.5.2.	Amadurecimento: hormônios	77
5.	CONCLUSÕES	82
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

1. INTRODUÇÃO

1.1 Bananicultura: importância nacional e cultivares

A bananeira é uma planta perene que possibilita a colheita o ano todo. Apreciada em todo mundo, é cultivada em diversas regiões tropicais e subtropicais. No ano de 2000 a área cultivada era de nove milhões de hectares e a produção perto de 92 milhões de toneladas por ano em todo o mundo. Esses valores são aproximações, pois boa parte da banana consumida no mundo é proveniente de pequenos produtores ou mesmo de plantações domésticas. No ano de 2006 o Brasil produziu mais de 7 milhões de toneladas de banana, sendo o quinto maior produtor mundial de banana (FAO 2011).

Embora o Brasil esteja entre os maiores produtores mundiais (mais de 500.000 ha são cultivados em todo o país), tanto por pequenos produtores (10-15 ha), como por grandes estruturas de produção (mais de 500 ha), o rendimento médio nacional se mantém muito baixo, com uma média de 14,6 t/ha, contra 46,1 t/ha, por exemplo, na Costa Rica (FAO, 2011).

O mercado consumidor desta fruta no Brasil é caracterizado por forte consumo interno e baixa exportação. A exportação de bananas não chega a 3% do total produzido no país, sendo que, a maior parte (84%) é destinada aos países do MERCOSUL (SECEX, 2010), cujo mercado é menos exigente em termos de aparência e qualidade organoléptica que o Europeu. No biênio 2007-2008 o volume de exportação de bananas foi de 170.237 t para o MERCOSUL e 146.200 t para a União Europeia (UE), movimentando, aproximadamente, 80 milhões de dólares. Embora uma nova política de importação para o setor de banana tenha sido adotada pela UE desde janeiro de 2006, o volume de exportações para os países do MERCOSUL ainda é o predominante, sendo que em 2010, 54% das exportações brasileiras foram destinadas ao MERCOSUL e 40% para UE (SECEX, 2010).

A forte produção voltada para o consumo interno, por sua vez, pode ser explicada por vários fatores: as dimensões do mercado interno, a baixa exigência do mercado local, os preços e custos de produção elevados quando se pretende alcançar a qualidade exigida pelos mercados europeus e norte americano.

Dessa forma, a produção brasileira é praticamente toda destinada ao consumo nacional na forma de fruta fresca e, em menor proporção, de produtos industrializados.

A banana é a fruta mais consumida pelos brasileiros, com um consumo anual médio de 7 kg/habitante (POF 2002-2003), tendo assim um grande impacto na alimentação dos brasileiros. Os desafios se fazem, portanto, sobre um melhor conhecimento da contribuição deste fruto no equilíbrio alimentar das pessoas, particularmente em nutrientes, em função dos diferentes modos de consumo e cultivares.

A comercialização da banana é influenciada pela maneira como a cadeia produtiva está organizada, sendo que o manejo pós-colheita tem grande importância na qualidade final do produto. O amadurecimento dos frutos pode ser controlado, com o uso de câmaras ou estufas que promovam controle da atmosfera atuando sobre os gases envolvidos no amadurecimento, como o dióxido de carbono e o etileno, sendo comum o uso de tratamentos com etileno exógeno para o amadurecimento homogêneo dos frutos (PINO et al, 2000). Popularmente este tratamento é chamado de Climatização. No Brasil, grande parte das bananas comercializadas passam pela climatização.

As estruturas de produção e de comercialização do Brasil variam entre as plantações domésticas, os pequenos produtores e as grandes empresas do setor. Nas regiões sul e sudeste, que possuem proximidade com as grandes capitais dessa região, a produção de banana, mesmo contando com alto nível tecnológico, enfrenta dificuldades para a produção de bananas de qualidade, por causa de limitações do clima, com excesso de chuva no verão e seca com baixas temperaturas no inverno que provocam, entre outras, o escurecimento da casca do fruto. As regiões brasileiras mais propícias ao cultivo da banana, representadas pelos vales dos grandes rios do Nordeste, que apresentam ao mesmo tempo um clima ideal e também uma maior proximidade do mercado norte-americano, estão em transição para o modelo mais tecnológico de produção, pós-colheita, transporte e comercialização, necessário à venda internacional. Como é o caso da produção do vale do rio Açu no Rio Grande do Norte, onde a presença de companhias multinacionais predomina na produção

de banana. Em todos os polos de cultivo da bananeira os produtores enfrentam dificuldades não só com as doenças e pragas da bananeira, mas, também, com a escolha e a adaptação das diferentes variedades de banana.

As bananas comercializadas hoje em dia são diploides, triploides ou tetraploides, descendentes, principalmente, de cruzamentos entre duas espécies selvagens: a *Musa acuminata* Colla e a *Musa balbisiana* Colla. Apesar dos ancestrais *M. acuminata* e *M. balbisiana* produzirem sementes, os descendentes de cruzamentos interespecíficos desenvolveram o fruto partenocárpico, característica aproveitada pelo homem. O cruzamento dessas duas espécies originou os grupos genômicos. Dessa forma, as variedades de banana são classificadas através das letras A e B dispostas de acordo com a ploidia (SIMMÔNDS e SHEPHERD, 1955). Os grupos genômicos são: AA, AB, AAA, AAB, ABB, AAAA, AAAB, AABB e ABBB. As cultivares que descendem de mutações de uma única cultivar original são agrupadas em subgrupos. Por exemplo: Grupo AAB, subgrupo Prata ou Grupo AAB, subgrupo Terra.

Enquanto no mercado internacional da banana são comercializados predominantemente frutos do subgrupo Cavendish (AAA), existe no território brasileiro uma ampla biodiversidade de bananas, sendo que cada região do país tem suas preferências e hábitos. A Prata (AAB) é a preferida no Nordeste, em Belo Horizonte, Vitória, Rio de Janeiro e Florianópolis; enquanto a Nanica (AAA) é a preferida no Sul e no Sudeste. A título de exemplo, a banana-prata representa 80% das vendas do mercado atacadista do Rio de Janeiro, e menos de 20% no mercado de São Paulo. No Nordeste, o consumo das cultivares Terra e Pacovan é muito mais acentuado que em outras regiões (POF 2002-2003). O grande consumo interno confere à banana uma importância particular no Brasil, tanto nas zonas urbanas quanto nas rurais e, apesar dos hábitos alimentares e modos de consumo locais serem extremamente variados, seu impacto, nutricional e alimentar, em populações menos favorecidas não pode ser desconsiderado.

Além dos hábitos de consumo, fatores agronômicos também são fundamentais na disseminação das cultivares de banana. No Brasil, como na maioria das regiões produtoras, as doenças fúngicas representam o principal

custo de produção associado ao cultivo, sendo a resistência ou tolerância a estas doenças uma característica almejada nas variedades cultivadas em todo o mundo. Esta importância é ainda maior levando em conta o crescimento do mercado para produtos orgânicos nos últimos anos.

1.2 As doenças da bananeira: Sigatokas e Mal-do-Panamá

O cultivo da banana no Brasil é tradicional, principalmente nas plantações de pequeno porte, utilizando baixo nível tecnológico tanto no campo quanto na pós-colheita. Assim, a produção de banana é dificultada pelos problemas fitossanitários que ocorrem nas plantações, que incluem doenças como as Sigatokas Negra e Amarela e o Mal-do-Panamá que diminuem a qualidade dos frutos e que precisam ser controladas, o que leva ao aumento do custo de produção dos frutos.

A Sigatoka Amarela foi detectada pela primeira vez em 1902, na ilha de Java na Indonésia. No Brasil, sua primeira constatação foi em Caraguatatuba no ano de 1935 e rapidamente alcançou todas as regiões produtoras do país (NOGUEIRA, 2002).

Em 1998 a Sigatoka Negra foi detectada no Brasil, começando pelo norte do país, nos estados do Amazonas, Acre, Rondônia, Pará, Roraima, Amapá e Mato Grosso. No estado de São Paulo a doença foi detectada em 2004. No Vale do Ribeira a doença foi disseminada rapidamente, afetando a produção do fruto na região; pois a doença além de ter o potencial para necrosar todas as folhas de uma planta ainda pode resultar em frutos senescentes antes da colheita (MOREIRA, 1999).

Em todo o mundo, as Sigatokas são as doenças mais importantes dessa cultura. Atualmente, muitas áreas anteriormente infestadas pela Sigatoka Amarela apresentam presença predominante da Sigatoka Negra. Isso ocorre devido à maior agressividade deste patógeno e, consequentemente, da necessidade de um controle químico mais regular e eficiente que reduz a presença do fungo da Sigatoka Amarela.

Tendo como agentes causais dois fungos ascomicetos semelhantes, as Sigatokas demandam controle químico com fungicidas. A Sigatoka Negra deve

ser controlada rápida e eficientemente, pois pode em pouco tempo necrosar todas as folhas da planta atacada.

O controle das doenças no estado de São Paulo costumeiramente é feito com aplicações de fungicidas dos grupos químicos dos triazóis ou estribirulinas, com frequência quase mensal, deixando de aplicar somente nos meses mais frios do inverno quando a doença progride mais lentamente. Essas aplicações são muito dispendiosas para os pequenos produtores, que aplicam menos vezes ao ano e tem sua produção reduzida em quantidade e qualidade (FRANÇA, 2005). Essa situação vem mudando o perfil dos produtores, já que somente os de maior nível tecnológico têm conseguido permanecer na atividade.

A sintomatologia das duas doenças é bastante semelhante e consiste no aparecimento de estrias cloróticas nas folhas, que evoluem para manchas necróticas, com maior rapidez no caso da Negra. A necrose das folhas ocasiona perda de área fotossinteticamente ativa e, em casos extremos de infestação, resulta na perda da totalidade dos tecidos fotossintetizantes, o que pode levar a redução do peso e tamanho dos frutos (FOURÉ e GANRY, 2008; MOREIRA, 1999). Apesar da semelhança, as duas doenças são facilmente distinguíveis em seus estádios iniciais da infestação: a Sigatoka Amarela apresenta como primeiro sintoma pequenos traços amarelo pálido na parte superior do limbo foliar. Na Sigatoka negra, esses traços são marrons avermelhados e ficam na parte inferior do limbo.

O efeito das Sigatokas na pós-colheita dos frutos já foi alvo de diversos estudos, entre eles, destaca-se o realizado por Meredith (1970), que mostrou um efeito marcado da Sigatoka Amarela sobre o processo de amadurecimento da banana, apontando como principal consequência o amadurecimento precoce do fruto. Ele mostrou, ainda, que os efeitos da doença são ainda maiores quando a doença se desenvolve próximo ao momento da colheita. Além disso, a Sigatoka Amarela acarreta na descoloração da polpa do fruto, sendo que quanto maior o ataque da doença, maior o efeito observado (MEREDITH, 1970; CHILLET et al., 2014). Um trabalho mais recente (CASTELAN et al., 2012) mostrou que tanto a Sigatoka Negra quanto a Amarela causam amadurecimento mais rápido dos frutos, podendo causar perdas por frutos amadurecidos ainda na planta. Além

disso, a Sigatoka Negra causa redução no peso dos frutos, demonstrando o maior perigo oferecido por esta doença. Além de distúrbios relacionados à velocidade do amadurecimento, a Sigatoka Negra também causa alterações fisiológicas nos frutos envolvendo o metabolismo amido-açúcares (SARAIVA et al., 2013).

O Mal-do-Panamá é uma doença vascular também conhecida por Murcha de *fusarium* tendo como agente causal o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Esta doença está entre as mais importantes na bananeira já que em meados do século passado causou grandes perdas de produção e dizimou as plantações comerciais de banana na América Central. Nesta época a produção de bananas era baseada na variedade Gros Michel, altamente susceptível à doença, tornando impossível seu controle. A solução encontrada foi o plantio de mudas do tipo Cavendish que são mais resistentes (CORDEIRO, MATOS e KIMATI, 2005).

No Brasil, a primeira detecção do Mal-do-Panamá foi no ano de 1930, em Piracicaba - SP, na cultivar Maçã. Esta cultivar é altamente suscetível a esta murcha, sendo que a sua produção vem diminuindo ao longo dos anos em função desta doença. Esta forma de *fusarium* é um fungo de solo que penetra na bananeira pelas raízes secundárias se multiplicando no xilema e levando a murcha da planta quer seja por meio de toxinas ou apenas pela interrupção do fluxo de líquidos na planta. Ainda hoje, o Mal-do-Panamá é uma doença importante, pois além de cultivares, como a Maçã e a Prata, serem suscetíveis às primeiras raças identificadas desse fungo, as cultivares do grupo Cavendish também apresentam suscetibilidade a outras raças do patógeno (CORDEIRO, MATOS e KIMATI, 2005).

Tendo em vista a ameaça que as doenças da bananeira representam e os prejuízos que podem causar, a introdução de cultivares resistentes a estas doenças no mercado é a melhor forma para reduzir a pressão desses patógenos sobre a cultura e também de o produtor continuar na atividade (PLOETZ, 2006).

1.3 Thap Maeo

A cultivar Thap Maeo (AAB) foi selecionada no Brasil pela EMBRAPA a partir de um de clones da cultivar Mysore (origem Tailândia). A Mysore tem como característica acumular pouco amido (~12%), em contraste com a Nanicão (~20%) e, por consequência, acumular poucos açúcares solúveis, o que a torna ideal para consumo de pessoas com diferentes restrições de dieta (MOTA, LAJOLO e CORDENUNSI, 1997). Como consequência do teor mais baixo de açúcares, os ácidos orgânicos naturais da banana tendem a prevalecer. Assim, a Mysore produz frutos com sabor mais ácido do que as outras disponíveis no mercado brasileiro.

A cultivar Mysore é resistente às Sigatokas. Sendo ideal para ambientes com forte pressão dessas doenças como as regiões equatoriais, onde as altas temperaturas e umidade favorecem as doenças. É preciso ter em mente que as substâncias fenólicas estão ligadas à resistência da planta a doenças e, parece não ser coincidência que a cv. Mysore apresente alto teor de compostos fenólicos presente na polpa dos frutos quando comparada a outras cultivares como a Nanicão, a Terra, a Figo e a Pacovan (BENNETT et al, 2010).

A planta da Thap Maeo é de porte alto e o pseudocaule apresenta menos manchas que o da Mysore (Figura 1). Seus frutos, na aparência, lembram os frutos da Banana Maçã, pequenos e sem quinas (Figura 1), com sabor levemente ácido. Esta cultivar apresenta bom rendimento, até 35 T/ha, com cachos grandes chegando a pesar quase 19 kg. Comparativamente, a Thap Maeo se sobressaiu sobre cultivares como a Prata Anã e a Maçã por maior peso do cacho e por consequência produtividade (LEITE et al., 2003).

A Thap Maeo é resistente às Sigatokas, apresentando resistência vertical, ou seja, específica. É resistente ao Mal-do-Panamá e apresenta resistência intermediária a certos tipos de nematoides. Contando com as limitações impostas pelas doenças a cultura da bananeira, que já levaram a mudanças no material plantado, essa cultivar é promissora para produção e comercialização em grande escala. A introdução de novas cultivares resistentes às principais doenças se faz necessária, pois a quantidade de defensivos necessária para controlar as doenças está aumentando e a eficiência do controle está diminuindo.

Para que haja aceitação de novas variedades de frutos no mercado varejista, é necessária a manutenção da qualidade desses frutos. Para isso, é preciso estabelecer as formas de obter os melhores critérios de qualidade. O momento da colheita, por exemplo, pode afetar diversos fatores de qualidade, sendo importante para a comercialização de frutos.

Figura 1. **A** Bananeira da cultivar Thap Maeo com cacho. **B** Penca madura, frutos de Thap Maeo.

1.4 Ponto de colheita, idade fisiológica e temperatura base

O ponto de colheita da banana é determinante na qualidade dos frutos, uma vez que este define, entre outras coisas, o tempo em que os frutos amadurecerão (JULLIEN, 2000). É um importante atributo de qualidade no que se refere ao período de tempo disponível para o transporte e comercialização e

poder prever o momento da colheita, garante ao produtor melhor capacidade de planejamento e menores perdas.

Nos séculos vinte e vinte e um, muitos estudos foram conduzidos para estabelecer qual fator teria maior correlação com o desenvolvimento vegetal, e como se prever eventos como o a emissão de folhas, o florescimento e o momento da colheita. Nesse sentido, muitos são os aspectos que podem afetar o desenvolvimento das plantas, entre eles, radiação solar, fotoperíodo, pluviosidade ou disponibilidade de nutrientes. Dentre estes, a temperatura e o fotoperíodo são fator chave (WILHELM e MCMASTER, 1995; ALLEN et al., 1988). Além disso, para o desenvolvimento desses estudos, foi fundamental a definição do conceito de fenologia, criado por Charles Morren, a partir da denominação de fenológicos aos “fenômenos periódicos” de um vegetal (DEMARRÉE E CHUINE, 2006).

Prever o momento da colheita em frutos como cítricos e de plantas decíduas pode ser mais fácil, devido à sincronia com as estações do ano. No caso da banana, o desenvolvimento de sua inflorescência e de seus frutos é controlado por processos internos da planta e ocorrem em qualquer época do ano. Até mesmo seu desenvolvimento vegetativo ocorre de maneira independente: os perfilhos podem brotar em qualquer fase do desenvolvimento da planta-mãe, tornando ainda mais difícil qualquer tipo de previsão para as subsequentes gerações. Isso é ainda mais dificultado pela existência de diferentes regimes de temperatura ao longo das estações do ano, como ocorre em zonas não equatoriais, pois o período entre a emissão da inflorescência e a colheita varia durante o ano, de acordo com a temperatura. Em condições subtropicais, diferenças de cento e quatro dias podem ocorrer entre plantas que emitiram a inflorescência no início do verão e no início do inverno (ROBINSON E HUMAN, 1988).

À vista disso, muitas metodologias foram desenvolvidas para determinar o ponto de colheita da banana, dentre as mais elementares estão: a medida do diâmetro e o número de dias a partir da emissão do cacho. O diâmetro pode não ser um bom critério a ser utilizado para a cultivar Thap Maeo, pois esta possui plantas de grande porte o que dificulta a visualização dos frutos. A contagem dos

dias após emissão do cacho também não garantirá homogeneidade nos frutos colhidos, já que o desenvolvimento desses frutos irá depender não só do período, mas também, da temperatura a que estão expostos.

Assim, foi a partir da necessidade de se estimar a colheita com parâmetros mais intimamente correlacionados com o desenvolvimento vegetal que surgiu o conceito de unidade térmica. Inicialmente a radiação solar e o fotoperíodo foram os primeiros fatores associados ao desenvolvimento vegetal. Seria lógico pensar que o fotoperíodo está mais intimamente ligado ao florescimento das plantas, já que certas plantas florescem apenas quando expostas a um determinado número de horas no escuro. Porém se assim fosse, essas plantas floresceriam exatamente no mesmo dia todos os anos, indicando que o desenvolvimento desses organismos está condicionado à quantidade de energia que este recebe, por meio da radiação solar diária. No entanto, isto não acontece, e os fenômenos do desenvolvimento vegetal sofrem influência de outros fatores. Na década de 1950, estudos comparando métodos utilizando a temperatura do ar e as horas de radiação solar já demonstravam que a temperatura do ar pode ser uma melhor medida do desenvolvimento do vegetal (LINDSEY e NEWMAN, 1956). Estes autores constataram que um dia frio e claro pode ser ineficaz como fornecedor de energia, enquanto que um dia claro e quente pode ser mais eficaz do que apenas a temperatura possa demonstrar, vale ressaltar que o estudo foi conduzido em Indiana, EUA, onde as temperaturas podem ser abaixo de zero.

A utilização da unidade térmica já é conhecida há mais de dois séculos. Trata-se de técnicas que relacionam o desenvolvimento de um vegetal com a temperatura acumulada diariamente subtraindo-se a temperatura base, que é a temperatura mínima para que o processo de desenvolvimento de interesse ocorra. Segundo Lomas, Gat e Shifrin (1970), o conceito de unidades térmicas vem sendo utilizado para prever os eventos da fenologia de várias espécies vegetais, assim como a colheita de frutos como as cerejas e os cítricos (THORNTHWAITE, 1953). Este (último) autor testou diversas regressões lineares entre os fatores climáticos e os fatores do desenvolvimento de plantas cítricas, e não encontrou diferenças significativas entre os coeficientes de

correlação de diferentes fatores climáticos como: unidades térmicas acumuladas, temperaturas diárias em bulbo úmido ou evaporação diária.

A temperatura base varia entre as espécies e até entre as variedades e cultivares. A primeira pessoa a notar a relação entre a temperatura diária do ar e o desenvolvimento das plantas foi René A. F. de Réaumur, por volta de 1730 (revisado por WANG, 1960). Ele notou que a soma das temperaturas diárias durante um determinado processo de desenvolvimento das plantas (Soma Térmica) era constante de um ano para o outro. Com o passar dos anos esta técnica foi sendo aprimorada: em 1750 foi apresentada uma técnica semelhante à de Réaumur, porém não levando em conta as temperaturas abaixo de zero, somando apenas as temperaturas positivas, logo, a primeira temperatura base idealizada foi a de 0 °C. Posteriormente, foi relatado o uso de uma temperatura mínima para o cálculo (temperatura base) maior que zero. Cerca de cem anos depois, foi evidenciado que a duração do período entre a germinação e qualquer estágio do desenvolvimento da planta é inversamente proporcional as unidades térmicas acumuladas neste período (WANG, 1960).

As técnicas de predição de eventos do desenvolvimento vegetal usando a temperatura do ar evoluíram e se adaptaram para cada espécie e clima. Em 1959, Arnold aprofundou a ideia de temperatura base. Ele utilizou uma regressão linear entre a temperatura e a taxa de desenvolvimento vegetal. A equação resultante disponibilizaria a temperatura base quando o valor de desenvolvimento vegetal fosse igual a zero.

O conceito de temperatura base pode ser descrito tanto fisiologicamente quanto estatisticamente. Fisiologicamente, assume-se que abaixo desta temperatura o desenvolvimento cessa. No entanto, determinar a temperatura base fisiologicamente não é fácil, e esta pode variar a cada medida. Estatisticamente, a temperatura base é o valor que resulta em menor variação da somatória de temperatura entre as amostras. Assim, a temperatura base escolhida será a de menor desvio padrão entre as amostras (YANG, LOGAN e COFFEY, 1995). A temperatura base pode ser determinada utilizando vários métodos, sendo os mais importantes: o menor desvio padrão na somatória de temperaturas (MAGOON E CULPEPPER, 1932) e o menor desvio padrão nos

dias (ARNOLD, 1959). É preciso deixar claro o método utilizado para o cálculo, embora nenhum dos dois métodos tenha apresentado vantagem sobre o outro (MCMASTER E WILHELM, 1997).

Contudo, nem sempre é possível estabelecer uma relação linear entre as unidades térmicas acumuladas e o desenvolvimento vegetal. Thornthwaite (1953), testou diferentes temperaturas base, de 0 a 10 °C. No entanto, nenhuma se adequou para estimar o desenvolvimento vegetal para as espécies testadas. Assim como ele, outros autores também não atingiram o objetivo de estabelecer uma relação matemática entre a temperatura média do ar e o desenvolvimento das plantas. Vários motivos levaram estes autores ao insucesso: o desenvolvimento em diferentes taxas de acordo com diferentes estádios fenológicos ou a variação entre as estações do ano estão entre os principais geradores de erros. Wang (1960), conclui que as diferenças entre microclimas são os maiores obstáculos para esta técnica ser utilizada em diferentes localidades.

Outros métodos e fatores também podem ser utilizados para estimar o desenvolvimento de uma planta. No caso do trigo de inverno, o número de dias pode ser preciso para os primeiros estágios do desenvolvimento. Para os estádios fenológicos mais avançados, a função logarítmica é a que melhor representa o desenvolvimento (HEUR et al., 1978). Segundo Mc Master e Smika (1988), o melhor fator para definir o desenvolvimento vegetal pode variar e a diferença entre estádios fenológicos são os maiores causadores dessa variação. No entanto, em condições iguais de umidade no solo e igualdade de genótipos, o modelo de Graus Dia pode ser adequado se houver uma temperatura base para cada estágio fenológico. Garner e Allard (1920) em experimentos com várias espécies, entre elas soja e tabaco, apontaram a relação direta entre horas de luz e o desenvolvimento vegetal. Porém seus estudos foram realizados em laboratório e não em condições naturais.

Assim, o desenvolvimento do conceito de unidades térmicas (medidas em graus dia – GD) avançou bastante juntamente com a descrição e previsão dos eventos fenológicos, em comparação com métodos utilizados anteriormente, como épocas do ano ou número de dias (MCMASTER e WILHELM, 1997). A

relação matemática entre a temperatura e o desenvolvimento das plantas já foi estudada para várias culturas, como por exemplo: amendoim (WOOD, 1968), arroz (YIN, KROPFF e GOUDRIAAN, 1996) e uvas (SANTOS et al., 2007). Classicamente, o cálculo utilizado no acúmulo de temperatura em GD é expresso por:

$$GD = [(T_{\text{máx}} - T_{\text{mín}}) / 2] - T_{\text{base}}$$

Onde $T_{\text{máx}}$ e $T_{\text{mín}}$ correspondem às temperaturas máximas e mínimas diárias, respectivamente, e a T_{base} é a temperatura base (WILHELM e MCMASTER, 1995).

O cálculo da temperatura base parte da premissa proposta por Arnold (1959), em que a temperatura média diária subtraída da temperatura base, multiplicada pelo número de dias entre o florescimento e o amadurecimento natural, deve resultar em uma constante. Dessa forma, obteve-se a seguinte expressão:

$$D. (T_{\text{média}} - T_{\text{base}}) = k.$$

Onde $T_{\text{média}}$ é a temperatura média diária, D representa o número de dias entre a floração e o amadurecimento natural na planta e k a constante (ARNOLD, 1959).

Em relação ao cultivo da bananeira, os primeiros estudos relacionando a temperatura com o desenvolvimento da bananeira, direcionavam-se para o ritmo de emissão de folhas em diferentes temperaturas (GANRY, 1973; GREEN e KÜHNE, 1970). Os objetivos destes trabalhos eram conhecer a fenologia das bananeiras e também estabelecer a temperatura ótima para o desenvolvimento. Em relação à temperatura ótima para o desenvolvimento, foi demonstrado que a bananeira tolera altas temperaturas e que se desenvolve mesmo em temperaturas acima de 30 °C (TURNER e LAHAV, 1983). Apesar da proximidade genética e de pertencerem ao mesmo grupo, plantas de diferentes cultivares podem apresentar diferenças nos pesos dos cachos e taxa de emissão de folhas (ROBINSON e NEL, 1985), bem como nas temperaturas base (HORD AND SPELL, 1962 *apud* UMBER et al., 2011).

Para definir o ponto de colheita das bananeiras busca-se saber a idade fisiológica do cacho, ou seja, o ponto de desenvolvimento em que se encontra, que pode ser definido pelas unidades térmicas (GD) acumuladas durante o desenvolvimento do cacho. A cultivar Grande Naine (AAA, Cavendish) cultivadas nas condições tropicais, tem o ponto de colheita ideal determinado na idade fisiológica de 900 GD, calculados a partir de uma temperatura base de 14 °C (GANRY e MEYER, 1975). No entanto, o ponto de colheita ideal não foi estabelecido para todas as cultivares e nem para todos os regimes climáticos. No caso de novas cultivares, como a Thap Maeo, informações sobre o manejo dos frutos e tecnologias para a colheita e a pós-colheita podem ajudar o produtor a reduzir perdas.

1.5 Banana e amadurecimento

1.5.1 Amadurecimento e qualidade

A banana é conhecida por ser um alimento benéfico para a saúde humana, em razão de seus teores de minerais, carboidratos e fibras (FEINBERG, FAVIER e IRELAND-RIPERT, 1991). Para consumidores em geral, e para atletas em particular, o consumo de banana é uma maneira de restabelecer rapidamente a energia, em função do alto teor de carboidratos facilmente assimiláveis (glicose, frutose e sacarose), e os níveis de minerais, particularmente potássio e magnésio.

Como característico de um fruto climatérico, a composição da banana verde é bem diferente da banana madura. Isso se deve às diversas modificações na composição bioquímica do fruto, decorrentes da ativação de diversas vias metabólicas durante o processo de amadurecimento. Neste processo, pode ser incluída a degradação de moléculas como amido, celulose, pectina e ácidos orgânicos; a síntese de açúcares solúveis e compostos voláteis; a síntese e degradação de pigmentos, entre outros, que implicam em modificações na cor, textura e *flavor* (sabor e aroma) das frutas maduras (WYLLIE e FELLMAN, 2000).

No caso da banana, um dos eventos mais importantes é o acúmulo de grandes quantidades de amido durante o desenvolvimento do fruto e a degradação da maior parte deste durante o amadurecimento (nas variedades de mesa), com a síntese concomitante de açúcares solúveis. Dependendo da cultivar, os frutos possuem em torno de 12 a 30% de amido no estágio $\frac{3}{4}$ cheio,

considerado o diâmetro referência para a colheita comercial (MOTA, LAJOLO e CORDENUNSI, 1997; SOARES et al., 2011). Ao final do amadurecimento restam, normalmente, teores menores que 5% de amido, com concomitante acúmulo de açúcares solúveis (~15%), com predominância da sacarose (CORDENUNSI, 2004). Além de estar envolvida com o adoçamento do fruto, a mudança no perfil de carboidratos também parece estar relacionada ao amaciamento da polpa da banana (SHIGA et al., 2011).

No que se refere ao perfil de carboidratos, existem diferenças importantes entre as cultivares: enquanto a cultivar Nanicão acumula em torno de 20% de amido durante o desenvolvimento, a cultivar Terra acumula em torno de 30% e a Mysore 12%. Já a mesma Nanicão acumula um teor próximo a 15% de açúcares quando madura, enquanto a Terra acumula menor quantidade (~7%) (MOTA, LAJOLO e CORDENUNSI, 1997; SOARES et al., 2011).

O teor de fibra alimentar na banana é relativamente alto (~ 3%) e de alta qualidade, uma vez que sua composição em polissacarídeos é semelhante à da aveia (galacturonanas e arabinoxilanas), com boa proporção entre fibra solúvel e insolúvel (CORDENUNSI, SHIGA e LAJOLO, 2008). Além disso, a banana possui em sua composição pequenas quantidades de carboidratos conhecidos como frutooligossacarídeos (FOS), que fazem parte da fração fibra alimentar, e são relacionados a diversos benefícios à saúde humana. Os FOS podem chegar a cerca de 1% de massa fresca do fruto. Nas cultivares Prata, Mysore, Nanicão, e Pacovan os FOS são encontrados em maior quantidade que em outras cultivares como a Figo e Terra (AGOPIAN et al, 2008).

A parede celular (PC) da banana (fração fibra) contém substâncias fenólicas associadas às frações solúvel e insolúvel, e possui atividade antioxidante, o que a torna interessante em termos nutricionais, uma vez que a banana pode ser consumida crua, não sofrendo a ação do processamento. As diferenças entre cultivares em termos de procianidinas ligadas à parede celular, por exemplo, são muito grandes: a fração insolúvel da PC da cv. Mysore possui cerca de 260 µg (equivalentes de ácido ferúlico /100 g PC), enquanto a cv. Terra possui um quarto deste valor e nas outras cultivares analisadas Figo, Nanicão e Pacovan, não foi detectada nenhuma quantidade de procianidinas. Isso se repete em termos de antocianidinas ligadas à fração insolúvel da parede celular:

embora todas as cultivares tenham antocianidinas ligadas às frações solúveis e insolúveis, a Mysore contém as maiores quantidades (BENNETT et al, 2010).

1.5.2 O amadurecimento como o desencadeamento de eventos coordenados

1.5.2.1 Etileno e amadurecimento

Todos os eventos acima descritos ocorrem de maneira coordenada e diversos reguladores vegetais parecem estar envolvidos na ativação desses mecanismos. A ocorrência do climatério respiratório é um evento chave no disparo das vias relacionadas ao amadurecimento, o qual é caracterizado por um aumento na produção auto-catalítica de etileno no início do amadurecimento, concomitante com aumento da respiração (MARRIOTT & PALMER 1980). O etileno participa como regulador de vários processos do amadurecimento (ABELES; MORGAN e SALTVEIT, 1992) e o aumento na produção endógena de etileno marca o final da “vida verde”, que é o tempo existente entre a colheita e o início do amadurecimento do fruto (PEACOCK e BLAKE, 1970). O efeito do etileno nas bananas pode ser explorado através da aplicação exógena, visando o amadurecimento rápido e uniforme dos frutos ou evitado com o uso de inibidores como o 1-metilciclopropeno, visando aumentar a vida verde (JIANG, JOYCE e MCNISH, 1999).

A via de biossíntese do etileno foi descrita por Yang e Hoffman (1984). Segundo o modelo proposto, o aminoácido metionina é o precursor biológico do etileno em todas as plantas superiores, e é convertido a etileno pela via de biossíntese que compreende vários passos com reações enzimáticas. A S-adenosil-metionina (SAM), um dos produtos do ciclo de Yang, é convertida em ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) pela ação da enzima ACC sintase (ACS). O ACC é então metabolizado pela enzima ACC-oxidase (ACO), por uma reação de oxidação que necessita de O₂ e ferro, e que é ativada pelo CO₂ para produzir etileno (VERVERIDIS E JOHN, 1991). O ciclo de Yang constitui uma via metabólica importante para recuperação do enxofre e ressíntese da SAM. O etileno é capaz de regular sua própria produção, induzindo a síntese de novo de isoformas da ACS e da ACO. O ACC, precursor imediato

do etileno, pode ser convertido ainda em malonil-ACC sob a ação da enzima N-maloniltransferase (NMT) e então transportado nessa forma para os vacúolos (THEOLOGIS, 1992).

Como já mencionado, durante o amadurecimento, a expressão de muitos genes que codificam enzimas responsáveis pelas mudanças fenotípicas dos frutos, como cor, aroma, sabor e textura parecem ser regulados pelo etileno (ABELES; MORGAN e SALTVEIT, 1992). Tais mudanças são decorrentes de alterações no padrão de atividade de enzimas envolvidas nos diversos metabolismos ligados às características acima citadas. Como exemplo, a degradação da clorofila na casca da banana catalisada pela clorofilase, cuja atividade aumenta durante a fase climatérica e provoca a perda da coloração verde, revelando a coloração amarela conferida pelos carotenoides presentes (THOMAS e JANAVE 1992). Também o aparecimento do aroma típico da banana decorre do aumento dos níveis do acetato de isoamila, devido ao aumento da atividade da álcool acetiltransferase, após o pico de produção de etileno (HARADA, UEDA E IWATA, 1985). Já a conversão do amido em sacarose ocorre em razão das enzimas que atuam no processo de amadurecimento, como a β -amilase e a sacarose-fosfato sintase, que são reguladas, direta ou indiretamente, pelo aumento de etileno (CORDENUNSI e LAJOLO, 1995; PURGATTO et al., 2001).

O etileno intervém, direta ou indiretamente, na indução ou inibição da expressão de numerosos genes, que durante o amadurecimento parecem ser regulados por um caminho etileno-dependente e outro etileno-independente. De acordo com Klee (2002), genes envolvidos com a biossíntese de licopeno, compostos relativos ao aroma e metabolismo respiratório são considerados dependentes, enquanto genes que codificam as enzimas clorofilase e algumas isoformas da ACC-oxidase parecem ser independentes do etileno. Em frutos climatéricos, o etileno promove aumento da biossíntese das enzimas da sua própria rota metabólica, caracterizando a produção autocatalítica do hormônio.

As alterações de expressão também podem incluir outros tipos de proteínas não caracterizadas como enzimas, como os fatores de transcrição e

os receptores hormonais, que atuam na coordenação dos eventos do amadurecimento (KLEE, 2002; WILKINSON et al, 1995).

As cultivares de banana se diferenciam muito em relação aos seus perfis de produção de etileno e de respiração (MOTA, LAJOLO e CORDENUNSI, 1997; SOARES et al., 2011). Isso indica que deve haver diferenças quanto à sensibilidade ao etileno exógeno, o que poderia estar relacionado com a expressão de receptores de etileno.

O mecanismo de ação do etileno consiste na sua ligação a uma molécula receptora que, por meio de fosforilação e outros processos ainda não totalmente identificados, sinaliza para o núcleo regulando a formação de novos RNAs e novas proteínas. Estas modificações na expressão gênica acarretam mudanças nas respostas fisiológicas e bioquímicas no fruto (LELIEVRE et al., 1997). Devido aos estudos realizados em mutantes de tomates defectivos no amadurecimento, muitos progressos foram obtidos quanto ao entendimento dos mecanismos de percepção ao etileno, sendo um dos principais a identificação e caracterização dos receptores de membrana, responsáveis pela sinalização do hormônio durante o amadurecimento.

Os receptores de etileno constituem-se em uma pequena família de proteínas transmembrana diméricas que guardam semelhança com os receptores de dois componentes encontrados em bactérias. Suas ações dependem da interação com um tipo de proteína quinase similar as Raf-quinases encontradas em células de mamífero, que foi denominada Constitutive Triple Response 1 (CTR1). Ambas as proteínas (receptor e CTR1) formam um complexo localizado na membrana do retículo endoplasmático das células vegetais (GUO e ECKER, 2003).

Grande parte dos estudos iniciais sobre os receptores de etileno foram realizados na planta modelo *Arabidopsis thaliana* e em frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). No caso do tomateiro, por ser um fruto climatérico, boa parte dos estudos com receptores de etileno foram voltados para o amadurecimento dos frutos. Particularmente três receptores, dentre os seis conhecidos, foram caracterizados como fundamentais para o desencadeamento deste processo: o NR (do mutante natural Never-Ripe) ou SIETR3, o SIETR4 e

o SIETR6. Frutos de plantas nas quais os dois últimos receptores citados tiveram sua transcrição silenciada tiveram o amadurecimento acelerado (KEVANY et al. 2007) e o desenvolvimento dessas plantas foi fortemente afetado. A inibição da expressão do receptor NR restabeleceu o amadurecimento normal no mutante *Never-Ripe* (HACKETT, HO e LIN, 2000). Embora pareçam contraditórios, todos os resultados são condizentes com o modelo proposto no qual os receptores de etileno atuam como reguladores negativos das respostas ao hormônio.

Estudos mais detalhados levaram à conclusão de que os receptores estão normalmente ativos quando na ausência de etileno e que sua função, na ausência do hormônio, é bloquear a rota de sinalização que leva à resposta. A ligação do etileno “desliga” os receptores, desfazendo o complexo receptor-CTR, permitindo que a sinalização e a consequente resposta do tecido ocorram (CHEN, ETHERIDGE e SCHALLER, 2005). Com o CTR desacoplado poderá ocorrer a interação com a proteína *Ethylene Insensitive 2* (EIN2) que é a próxima etapa da sinalização (BISSON et al., 2009). A EIN2 transmite o sinal para proteínas nucleares *EIN3-like* (EIL) que são consideradas responsáveis pelo estímulo à expressão de genes do amadurecimento (CHAO et al., 1997).

As informações acima reunidas demonstram a importância do etileno no desencadeamento das modificações bioquímicas relacionadas ao amadurecimento da banana e a complexa resposta que é sinalizada a partir de sua percepção no tecido vegetal. Esta é a razão pelo qual a climatização de bananas é um processo determinante na qualidade das bananas, especialmente em um país que comercializa diferentes variedades de banana, que apresentam diferentes padrões na produção de etileno e no amadurecimento, como um todo. Assim, para a introdução de uma cultivar no mercado, é necessário determinar qual é a sensibilidade de determinada cultivar ao etileno exógeno, para que um excesso não comprometa a qualidade dos frutos.

Além do etileno, outros reguladores vegetais também participam do processo de sinalização de rotas metabólicas complexas que culminam nos eventos ligados ao amadurecimento dos frutos.

1.5.2.2 Outros reguladores envolvidos

A banana Thap Maeo, conforme mencionado, se difere de outras cultivares por particularidades relacionadas ao acúmulo e degradação de carboidratos. Como este é um evento de extrema importância para a qualidade final da banana madura, algum destaque deverá ser dado aos reguladores vegetais envolvidos com este evento na banana, tais como, ácido indol-3-acético (AIA) e ácido abscísico (ABA).

A história do estudo de hormônios vegetais começou no final do século XIX e início do XX, sendo Darwin e Sachs os primeiros autores a relatarem a existência de substâncias que se locomoviam pela planta e estimulavam seletivamente processos do desenvolvimento vegetal (HELDT, 2005). Nesse contexto, as auxinas foram os primeiros hormônios vegetais a serem documentados e sua história foi marcada pela ocorrência de um polêmico equívoco científico: na década de 1930 um grupo de pesquisadores holandeses anunciou ter conseguido isolar duas auxinas a partir não só de amostras vegetais como também da urina humana. Em 1933 eles publicaram os protocolos para o isolamento das auxinas. No entanto, durante as duas décadas seguintes outros grupos tentaram repetir o mesmo experimento sem obter sucesso no resultado. Em 1959, um teste de espectrometria de massas nas amostras originais demonstraram não constar ali as substâncias descritas (WILDMAN, 1997).

Os primeiros estudos com as auxinas foram publicados em 1926, quando um experimento simples demonstrou a ação de uma substância produzida no ápice do coleóptilo de uma plântula de aveia, que foi isolada em um bloco de ágar e tinha poder de alongar células de outras partes das plântulas. Em 1948 foi publicado um estudo afirmando que a auxina presente no coleóptilo da aveia era o ácido indol acético (WILDMAN e BONNER, 1948).

As auxinas atuam em vários tecidos vegetais, provocando efeitos diferentes de acordo com o tecido, que pode resultar em efeito inibitório ou promotor do crescimento, dependendo da dose. Por exemplo, a inibição das brotações laterais causada pela auxina em mudas de ervilha não é acompanhada de maior crescimento em outra parte da planta (THIMANN, 1937). Em outros tecidos vegetais, como os frutos, diversos estudos demonstraram que a auxina retarda o amadurecimento de frutos, tais como: abacates (TINGWA e YOUNG, 1975), pêras (FRENKEL e DYCK, 1973) e morango (GIVEN, VENIS E

GRIERSON, 1988). O primeiro autor a confirmar que o ácido indol-3-acético é uma auxina presente na banana foi Khalifah, (1966) que quantificou o hormônio nos frutos.

Vários compostos podem ser precursores do AIA, alguns deles apresentam atividade como auxinas, considerada a principal auxina vegetal. O triptofano é considerado o principal precursor do AIA, cuja síntese ocorre, principalmente, nas folhas jovens e sementes em desenvolvimento. Este é transportado vascularmente e também célula a célula. Suas funções são variadas, incluindo: crescimento e divisão celular, diferenciação de tecido vascular, iniciação de raízes, respostas trópicas e atraso na senescência de folhas e frutos (DAVIES, 1995).

Em uma das vias de biossíntese propostas para o AIA, o triptofano é transformado em ácido indol-3-pirúvico pela enzima Triptofano Aminotransferase (TAA), o qual é utilizado pela enzima YUCCA na síntese do AIA. As enzimas YUCCA são do tipo flavina monooxigenase e tem participação chave na síntese do AIA nesta via. Em estudos realizados com arroz e *arabidopsis*, mutantes que tem maior expressão dessas proteínas, tem também maior quantidade de AIA em seu sistema, apresentando um fenótipo diferente quando comparado ao tipo selvagem: maior crescimento das plântulas e maior dominância apical. Este fenótipo, chamado de YUCCA, já foi associado ao aumento de expressão de três destas enzimas, sempre acompanhado de maiores teores de AIA (ZHAO et al., 2001; YAMAMOTO et al, 2007, MASHIGUCHI et al., 2011).

A percepção do AIA ocorre através de receptores proteicos do tipo “f-box” (Transport Inhibitor Response 1 – TIR1) que, quando ligados ao AIA, promovem a interação entre o TIR1 e os reguladores negativos auxina/ácido indol-3-acético (AUX/IAA), facilitando sua degradação. A degradação do AUX/IAA permite que os ARFs (auxin response fator, primeiras proteínas identificadas na resposta do AIA) formem dímeros que se ligam aos elementos de resposta cis-auxina, que ativarão ou inibirão a expressão gênica. A forma como o AIA se liga ao TIR1 ou como o TIR1 interage como o AUX/IAA é ainda desconhecida, mas sabe-se que não há alteração na composição do TIR1 (DHARMASIRI, DHARMASIRI e ESTELLE, 2005; KEPINSKI e LEYSER, 2005).

Posteriormente, a regulação dos genes de resposta a auxina é mediada pelos fatores de transcrição ARFs (GUILFOYLE e HAGEN, 2001). Existem ARFs

que também estão ligados a resposta ao etileno, dando indícios de seu papel chave na sinalização cruzada entre esses dois hormônios. Uma mutação nos genes que codificam ARF 7 ou ARF19 levaram a fenótipos com resistência à auxina e o duplo mutante para os dois ARFs apresentou maior resistência que os mutantes simples. Estes resultados evidenciam não só a importância dos ARFs na sinalização das auxinas, como também um mecanismo complexo de regulação com a participação complementar dos ARFs (LI, DAI e ZHAO, 2006).

Nas bananas, o ácido indol-3-acético tem participação no desenvolvimento dos frutos, sendo que a injeção de auxinas nos frutos jovens estimulou a formação de polpa comestível tanto em bananas com sementes quanto nas sem sementes (SHANMUGAVELU E RANGASWAMI, 1962). Já a ausência de auxinas no fruto jovem, simulada com a aplicação de antagonistas deste hormônio, estimulou a partenocarpia e a esterilidade de sementes (SIMMONDS, 1960).

Para o contexto do presente trabalho, a importância deste hormônio vegetal está associada a sua importância central na sinalização de eventos ligados ao amadurecimento, um complexo e organizado esquema em que os hormônios agem complementarmente. Apesar do etileno ser considerado o hormônio chave do amadurecimento, outros hormônios também participam na regulação desse processo. Nas bananas, o AIA é um regulador de destaque, já que é um antagonista ao amadurecimento, sendo que os níveis de AIA livre na polpa decrescem antes do disparo desse processo (PURGATTO et al., 2002). Além disso, a aplicação exógena de AIA neste fruto retarda a degradação do amido, atrasando o aumento na transcrição e atividade da β -amilase, sem afetar, no entanto, as enzimas de síntese de açúcares (PURGATTO et al., 2001).

A aplicação das auxinas AIA e 2,4-D atrasa o amadurecimento de bananas, mesmo com a aplicação posterior de etileno. No entanto, não previne que o amadurecimento aconteça, já que a aplicação de auxinas provocou aumento na respiração e produção de etileno. O tempo de retorno às condições iguais às do controle foi de no máximo 48 horas. As auxinas retornariam o tecido a um estado mais “juvenil” (VENDRELL, 1969).

O tratamento, somente da parte externa do fruto, com auxinas acelerou o amadurecimento. Esta informação contradiz outros estudos nos quais as auxinas retardam o amadurecimento. Uma possível explicação seria que a auxina

aplicada tem pouca mobilidade e na superfície em que é aplicada, como já foi visto por Vendrell (1969), gerando um aumento na produção de etileno. Este etileno tem alta mobilidade e se difunde pelos tecidos, desencadeando o amadurecimento. Neste caso a polpa do fruto irá amadurecer mais rápido e a casca mais devagar (VENDRELL, 1970).

Além disso, a ocorrência de estresse biótico durante o desenvolvimento do fruto pode acarretar em amadurecimento precoce do fruto, como é o caso da infestação da planta pelos fungos das Sigatokas (Chillet et al., 2009; Castelan et al., 2012; Saraiva et al., 2013). Esse amadurecimento precoce foi associado a teores significativamente menores de AIA (e maiores de ABA) no fruto recém colhido, o que acarretou em desarranjos bioquímicos envolvidos com o metabolismo de amido: alto teor de açúcares solúveis no fruto verde, grânulos de amido de tamanho reduzido e com padrão de degradação superficial alterado.

O Ácido Abscísico (ABA) é um hormônio vegetal presente em todos os organismos fotossintetizantes que está relacionado ao controle da resposta ao estresse abiótico e de outros processos do desenvolvimento vegetal, entre eles: manutenção da dormência em sementes, desenvolvimento das sementes, crescimento vegetal e fechamento dos estômatos (HELDT, 2005).

Na década de 1950 começaram os estudos sobre o ácido abscísico com a descoberta de uma substância que provocava a abscisão dos frutos do algodoeiro. Rapidamente foi notado que a abscisão estava relacionada a senescência e aos estresses, injúrias na maioria dos casos. O processo de senescência também pode acontecer em decorrência de mudanças na temperatura ou no fotoperíodo, indicando uma série de processos sendo coordenados até o momento da abscisão. Antes de ser descoberta a participação do ácido abscísico na abscisão das folhas, já se sabia que o AIA poderia atrasá-la e o etileno acelerá-la (ADDICOTT e LYNCH, 1955). No entanto, a primeira identificação do ABA em vegetais, bem como a determinação de sua concentração nos tecidos foi realizada somente oito anos mais tarde (OHKUMA, LYON e ADDICOTT, 1963), período em que o ABA era conhecido como “abscisin II”. A síntese do ABA não tardou a ser descrita (CORNFORTH, MILBOROW e RYBACK, 1965), sendo que dois anos mais tarde, em 1967, foi publicado um estudo analisando as concentrações de ABA em diferentes frutos carnosos

(MILBORROW, 1967), dois anos antes do primeiro trabalho que detectou a presença deste hormônio em frutos de banana (NODDLE E ROBINSON, 1969).

O ABA é um sesc-terpenóide derivado de um carotenóide (NODDLE e ROBINSON, 1969) e apesar de já terem sido propostas diferentes vias para síntese deste hormônio, a via dos carotenoides é, aparentemente, a principal em angiospermas. Uma das evidências que corroboram com este fato foram os experimentos em milho e *arabidopsis* mutantes que não produziam carotenoides: estas plantas também não produziam o ABA (MCCARTY, 1995).

Na primeira parte da síntese do ABA, assim como nos carotenoides, o piruvato e o gliceraldeído 3P são transformados em isopentenil difosfato e dimetilnil difosfato. Esta é a via metabólica do 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP). Estes dois terpenoides são precursores dos carotenoides, através de ligações e da formação de anéis nas extremidades da molécula. A enzima zeaxantina epoxidase (ZEP) transforma o carotenoide zeaxantina em violaxantina e neoxantina. Em seguida, estes dois epóxi-carotenóides, sob a atividade da enzima 9-cis-epoxi-carotenoide dioxigenase (NCED), são quebrados formando a xantoxina, que é convertida em ABA (NAMBARA e MARION-POLL, 2005).

A sinalização do ABA ainda não é bem esclarecida, começando por seus receptores. Apesar de já terem sido propostas algumas moléculas como receptores do ABA (LIU et al, 2007; PANDEY; NELSON e ASSMANN, 2009), ainda existem dúvidas se estas moléculas são receptores ou participam da sinalização de outra forma. Um tipo de proteína que deve estar envolvida na percepção do ABA são as serina/treonina fosfatases tipo 2C (PP2C), que são dependentes dos íons Mg^{2+} e Mn^{2+} e agem bloqueando o sinal do ABA (NISHIMURA et al., 2007). A forma como as PP2C interagem com a percepção do ABA ainda não está esclarecida, porém a interação destas com as proteínas componentes reguladoras do receptor do ABA (RCARs) já foi evidenciada na percepção do ABA (MA et al., 2009). Neste estudo, um mutante de *Arabidopsis* que possui uma modificação nas PP2C, que impossibilita a ligação com a RCAR1, o fenótipo foi insensível ao ABA. A manipulação da transcrição da RCAR1 afeta vários fatores da sinalização do ABA, como por exemplo a

expressão gênica ou a abertura de estômatos. As RCARs são uma família de 14 proteínas, e aparentemente todas podem ser receptores do ABA, formando complexos receptores. A percepção do ABA promove a fosforilação dos fatores de transcrição (FUJII et al., 2009).

Apesar de ter sido mais extensivamente estudado em sementes, raízes e folhas, o ABA também participa do desenvolvimento de frutos e sua relação com o amadurecimento já foi descrita para várias espécies. O ABA se acumula em frutos, tanto climatéricos como não climatéricos, nos momentos que precedem o amadurecimento (LENG et al. 2014). Maçãs tratadas com ABA apresentaram um pico de produção de etileno ainda no período pré-climatérico (LIEBERMAN, BAKER e SLOGER, 1977). Em uvas, a aplicação de ABA alterou a transcrição de mais de trezentos transcritos, a maioria envolvida nos processos relacionados ao amadurecimento. Nestes frutos houve acúmulo de antocianina e flavonol (KOYAMA, SADAMATSU E GOTO-YAMAMOTO, 2010).

Nas bananas, o tratamento com ABA aumentou a respiração antes do climatérico e não houve diferença na quantidade de etileno produzida. Contudo, o amadurecimento das bananas tratadas foi adiantado, sendo que o início da produção climatérica de etileno ocorreu três dias antes. Aparentemente o ABA atua no amadurecimento induzindo a sensibilidade ao etileno e não agindo diretamente nos eventos característicos deste fenômeno (VENDRELL, 1985). No entanto, genes relacionados à degradação de parede celular, podem ser ativados tanto pelo etileno quanto pelo ABA, de forma independente ou complementar, indicando que o ABA também atua diretamente em alguns processos do amadurecimento (LOHANI, TRIVEDI e NATH, 2004). A aplicação de ABA induziu a expressão do gene MaHIS1, que está relacionado com o amadurecimento e também com a resposta ao estresse (WANG et al. 2012).

Este trabalho pretende utilizar o conceito de unidades térmicas para estimar o ponto de colheita ideal para banana Thap Maeo, cultivar com grande potencial comercial e pouca informação técnica disponível. A estratégia adotada será a determinação de parâmetros térmicos como a Temperatura base (Tbase) e a Soma Térmica, a partir do cálculo matemático proposto por UMBER et al (2011), que utiliza o intervalo entre o florescimento e o amadurecimento natural do fruto

ligado à planta mãe. Este método foi desenvolvido para otimizar o ponto de colheita de variedades de bananas potenciais para comercialização em grande escala. Vale ressaltar que no presente trabalho, esta metodologia foi utilizada no sentido de padronizar as colheitas dos frutos, a fim de se obter amostras fisiologicamente semelhantes para a comparação das dosagens de etilenos exógeno, na segunda fase do trabalho que determinou os teores de etileno ideais para disparar o processo do amadurecimento na cultivar Thap Maeo e se outros hormônios tem participação neste processo.

2. OBJETIVOS

No sentido de estabelecer e maximizar padrões de qualidade dos frutos da cultivar Thap Maeo, quanto à cor, aroma, sabor, tempo de amadurecimento e nutrientes, este trabalho teve como objetivos estabelecer o ponto de colheita adequado para a cultivar Thap Maeo, estabelecer os níveis de etileno adequados para o tratamento pós-colheita da mesma cultivar, além de avaliar comparativamente a fisiologia desses frutos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Este estudo foi realizado com bananeiras e frutos de banana da cultivar Thap Maeo (*Musa acuminata*, grupo AAB, cv Thap Maeo).

3.2 Implantação dos experimentos de campo

Para realização desse estudo, foi selecionada uma plantação comercial de banana Thap Maeo, no sítio São Pedro localizado no município de Itapetininga, SP (coordenadas aproximadas 23°32'16"S e 47°59'30"O). Este sítio possui cerca de 20 ha de plantação de bananeira Thap Maeo e um barracão para realização dos tratamentos pós-colheita e climatização (tratamento com etileno exógeno).

Antes da seleção das parcelas foram feitas três colheitas (Teste 1, Teste 2 e Teste 3). A colheita desses cachos foi feita de acordo com o parâmetro

utilizado na propriedade, ou seja, a estimativa do diâmetro dos frutos. Essas colheitas foram feitas como um teste piloto, permitindo contato com as técnicas utilizadas em todo o estudo e também com os frutos e plantas da cultivar Thap Maeo. Os frutos obtidos nas colheitas teste foram submetidos a diversas análises: pesagem, medida de diâmetro, produção endógena de etileno e CO_2 , avaliação da cor da casca e da firmeza da polpa e análises de carboidratos na polpa (descritas nos itens 3.4, 3.4.1, 3.4.2, 3.4.3 e 3.5.1 respectivamente). As colheitas testes e suas análises foram feitas com a ajuda da Doutoranda Talita Pimenta e do mestrando Victor Castro-Alves.

Após a seleção das parcelas experimentais, apresentada na Figura 2, foi iniciado o período de marcação das plantas no momento do florescimento, também conhecido como dedos horizontais (Figura 2). A seleção de plantas neste estágio deve servir tanto para obtenção dos dados para o cálculo da temperatura base e Idade fisiológica máxima (idade em que os frutos amadurecem naturalmente na planta), quanto para a obtenção de amostras com Idade Fisiológica conhecida para caracterização da cultivar.

Figura 2. A Imagem aérea do Sitio São Pedro com as parcelas selecionadas em amarelo. **B** Antese da bananeira, estágio conhecido como dedos horizontais. A seta mostra a característica de reconhecimento do estágio: a primeira penca mista (dedos grandes e pequenos na mesma penca).

3.3 Temperatura base e soma térmica

Para o estabelecimento da temperatura base utilizada para calcular a soma térmica (ou idade fisiológica) da cultivar Thap Maeo, as plantas foram marcadas, como descrito no item 3.2, durante o período de aproximadamente um ano (Figura 3). As plantas marcadas foram monitoradas durante o desenvolvimento dos cachos até início do amadurecimento natural dos frutos na planta, num total de 59 cachos. Durante este período foi monitorada também a temperatura média diária e o período (em dias) entre o florescimento e o amadurecimento natural dos frutos na planta, ou seja, quando o primeiro fruto se torna amarelo.

Figura 3. Cronograma de marcação de plantas. As células azuis representam os períodos de marcação.

A temperatura base e a idade fisiológica máxima foram estabelecidas baseadas no método desenvolvido por Umber et al. (2011). A soma térmica, subtraída da temperatura base, necessária para que a planta atinja uma determinada idade fisiológica (IF) é dada pela seguinte equação:

$$IF = \sum(Tm - Tb)$$

Onde Tm é a temperatura média nos dias entre o florescimento e a colheita ou amadurecimento e Tb é a temperatura base. Como a temperatura base é constante, temos:

$$\sum(Tm - Tb) = \sum Tm - Tb(dc - df)$$

Onde dc é o dia da colheita (ou do amadurecimento) e df é o dia do florescimento, ou seja, $(dc - df)$ é o número de dias para o desenvolvimento dos frutos (D). Substituindo temos:

$$\sum Tm = D.Tb + \sum(Tm - Tb)$$

Portanto:

$$\sum Tm = D.Tb + IF$$

A equação acima de primeiro grau ($y = ax + b$) indica que há uma relação linear entre a soma da temperatura média diária e o número de dias entre o florescimento e o amadurecimento. Portanto, esta equação foi usada para calcular a temperatura base de uma cultivar que é o coeficiente angular em uma regressão linear.

Os frutos colhidos para a caracterização da cultivar e para o experimento de aplicação de etileno exógeno (descritos nos itens 3.4 e 3.5) tiveram a idade fisiológica calculada com a seguinte equação:

$$IF = \sum (Tm - Tb)$$

Onde: IF, idade fisiológica; Tm, temperatura média diária; Tb, temperatura base.

3.4 Caracterização da cultivar Thap Maeo

Para a caracterização dos frutos da cultivar Thap Maeo e também para o experimento de aplicação de etileno exógeno para o amadurecimento (climatização), descrito no item 3.5, foram realizadas dez colheitas, levando em conta diferentes idades fisiológicas dos frutos. As colheitas 8, 9 e 10 foram utilizadas, também no experimento de climatização. Em cada colheita duas pencas centrais foram selecionadas em cachos de 3 a 6 plantas.

Após a colheita, os frutos foram levados ao laboratório (Figura 4), onde foi realizado o tratamento fitossanitário pós-colheita: lavagem com água e imersão em solução de tiabendazol, 250 mg.l⁻¹, por 4 min, de acordo com Sponholz et al., (2004). Os frutos foram destacados das pencas para serem encaminhados para a caracterização física e armazenamento. Foram medidos os comprimentos, diâmetros e pesos dos frutos que, a seguir, foram armazenados a 20 ± 2 °C em câmaras incubadoras do tipo Demanda Bioquímica do Oxigênio (BOD), sem iluminação ou controle de umidade, durante o amadurecimento até o início da senescência, quando se tornavam impróprios para o consumo.

A partir do segundo dia após a colheita, diariamente, três frutos (por planta) foram selecionados para análise da produção de etileno endógeno, até o início da senescência dos frutos. Após esta análise, três frutos, selecionados ao acaso, foram avaliados quanto à cor da casca, e firmeza da polpa e congelados em Nitrogênio líquido para as análises posteriores. Este procedimento foi realizado em alguns dias antes do pico climatérico e diariamente do pico climatérico até a senescência dos frutos.

Figura 4. Procedimentos pós-colheita.

3.4.1 Características Físicas

3.4.1.1 Peso, diâmetro e comprimento

Os frutos centrais de cada penca foram pesados em balança semi-analítica (Shimadzu). O comprimento foi medido com uma fita métrica longitudinalmente desde a cicatriz do pedúnculo até a outra extremidade fruto e o diâmetro foi medido na parte central do fruto com um paquímetro digital (Starrett série 799, Brasil).

3.4.1.2 Cor da casca e firmeza da polpa

A cor da casca e a firmeza da polpa foram avaliadas, em três frutos, em três pontos por fruto. A análise de cor da casca foi realizada com o fruto inteiro em um colorímetro Color Quest XE (HunterLab, USA), conectado em computador provido de software fornecido pelo fabricante. Foram coletados os valores dos parâmetros L^*a^*b e calculado o ângulo Hue. A firmeza da polpa foi determinada em uma fatia de 3 cm de espessura da porção central da fruta. Foi

utilizado um texturômetro TA.XT2i (Stable Micro Systems, Reino Unido) com uma sonda cilíndrica de 3 mm de diâmetro. O valor obtido corresponde à força necessária para a sonda penetrar na polpa, medida em Newtons. A firmeza da polpa dos frutos das colheitas Teste 1, 2 e 3 foi medida com um penetrômetro manual.

3.4.2 Produção endógena de etileno e respiração

Para as análises, de etileno, três frutos de cada planta foram mantidos em um frasco de vidro vedado por, aproximadamente, 1 hora. Após este período, amostras da mistura de gases no interior dos frascos foram coletadas com uso de seringas de 10 ml. As injeções foram feitas manualmente em cromatógrafo a gás (HP-6890, Hewlett Packard, EUA) equipado com duas colunas HP-PlotQ (30 m x 0,53 mm x 40 µm) (Hewlett-Packard, EUA). Para a detecção do etileno foi utilizado um detector de Ionização de Chamas (FID). O hélio foi utilizado como gás de arraste. As condições de trabalho para o etileno foram: temperatura isotérmica (30 °C), temperatura do injetor de 200 °C e do detector de 250 °C.

As análises da respiração (produção de CO₂) foram realizadas nas mesmas condições e no mesmo aparelho das análises de etileno, utilizando um detector de condutividade térmica (TCD). As análises de respiração foram feitas apenas nos frutos das colheitas Teste 1, Teste 2 e Teste 3.

3.4.3 Determinação de amido

O amido foi determinado através do método enzimático otimizado para bananas por Arêas e Lajolo (1981). Aproximadamente 0,5 g de amostra, triturada em nitrogênio líquido, foi homogeneizada em hidróxido de sódio 0,5 M e neutralizada com ácido acético 0,5 M. O homogenato foi transferido para um balão volumétrico (50 ml) e o volume completado com água destilada. Foi então retirada uma alíquota de 1 mL e o amido foi precipitado pela adição de 4 ml de etanol absoluto. Após agitação, a solução contendo o amido precipitado foi centrifugada a 12000 g por 15 minutos e o sobrenadante descartado. O precipitado foi lavado por mais duas vezes utilizando etanol 80% (v/v) e seco a temperatura ambiente em capela. Ao precipitado seco foi adicionado 1 ml de solução de amiloglicosidase (14 U/ ml, pH 4,8) e incubado a 37 °C por duas horas. A reação foi paralisada adicionando-se 100 µl de ácido perclórico 0,6 M.

A glicose resultante foi quantificada pelo método glicose/peroxidase/ABTS, segundo Bergmeyer (1974), utilizando glicose (Sigma-Aldrich, EUA) como padrão.

3.5 Aplicação de etileno exógeno

Os frutos das colheitas 8, 9 e 10, foram encaminhados para o tratamento com etileno exógeno. Para determinar a concentração ótima de etileno para climatização da Thap Maeo, foram realizados cinco tratamentos cada um com uma diferente concentração de etileno: zero ppm (controle); 10 ppm; 100 ppm; 500 ppm e 1000 ppm. Este experimento se repetiu três vezes, uma vez em cada colheita, nas colheitas 8, 9 e 10. As dosagens foram estabelecidas de acordo com a variação encontrada na literatura (PAULO, 2010; LOHANI, TRIVEDI e NATH, 2004; PAULL, 1995). Para cada tratamento realizado, aproximadamente 35 frutos foram acomodados em caixas acrílicas desenhadas especificamente para este ensaio, fechadas e lacradas com uma borracha e graxa de silicone para vedação (Figura 5). Cada tratamento foi realizado em uma caixa diferente, distantes fisicamente uma da outra. O etileno foi aplicado com seringa através de um septo de borracha posicionado na tampa da caixa e os frutos ficaram expostos ao hormônio durante 24 horas com temperatura controlada (20 °C) a partir do segundo dia após a colheita. Após esse período, as caixas foram abertas para ventilação dos frutos por um período de 2h em ambiente aberto para depois serem novamente acomodados a 20 °C. Os frutos de cada tratamento foram acomodados em diferentes câmaras.

Figura 5. Caixa de acrílico utilizada para o tratamento com diferentes dosagens de etileno.

A partir do dia do tratamento de etileno, os frutos foram monitorados diariamente, em relação à produção de etileno, firmeza da polpa e coloração da casca (como descrito nos itens 3.4.1, 3.4.2 e 3.4.3 respectivamente). Além disso, foram congeladas amostras de polpa em Nitrogênio líquido e armazenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, para a determinação de carboidratos (itens 3.4.3 e 3.5.1) e dos hormônios ácido abscísico e ácido indol-3-acético (item 3.5.2), além de amostras para a análise de compostos voláteis a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.5.1 Determinação de açúcares solúveis

Os açúcares solúveis foram extraídos em 1 ml de etanol 80% (v/v) de cerca de 1 g de amostra previamente triturada em nitrogênio líquido. A mistura foi mantida sob agitação mecânica (15 min a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$). Em seguida o homogenato foi centrifugado (15 min a 12.000 g). O sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 25 ml. A extração foi repetida três vezes. Os sobrenadantes foram somados e o volume foi ajustado com etanol 80% (v/v). Uma alíquota de 1 ml foi retirada e o etanol foi evaporado em sistema speed-vac. O volume foi

reconstituído com água deionizada. As análises foram feitas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector amperométrico de pulso (HPLC-PAD) utilizando o Dionex-DX500 (Thermo Scientific, EUA) com coluna CarboPac PA1 (4 x 250 mm) do mesmo fabricante, em corrida isocrática de NaOH 18 mM. Para análise dos cromatogramas foi utilizado o software PeakNet 5.0 (Thermo Scientific, EUA). Os açúcares solúveis determinados foram: sacarose frutose e glicose. Padrões de sacarose, frutose e glicose (Sigma-Aldrich, EUA) foram utilizados para a identificação dos picos e construção de uma curva padrão.

3.5.2 Determinação do ácido abscísico e ácido indol-3-acético

Os hormônios ácido abscísico (ABA) e ácido indol-3-acético livre (AIA) foram extraídos e quantificados com metodologia adaptada de Ludwig-Müller, Georgiev e Bley (2008). As amostras previamente congeladas foram trituradas em nitrogênio líquido. A extração foi feita em triplicatas com uma solução de ácido acético e isopropanol (95:5, v/v). Foram adicionados os padrões de ABA ($[^2\text{H}_6]$ -ABA) (Olchemim, República Tcheca) e AIA ($[^{13}\text{C}_6]$ -AIA) (Cambridge Isotopes, EUA). As amostras foram agitadas durante uma hora e centrifugadas. O sobrenadante foi recolhido e concentrado em fluxo de nitrogênio. Ao concentrado foi adicionado acetato de etila, agitado e centrifugado para separação das fases. A fase superior foi coletada e transferida para outro tubo. A fase inferior passou pelo mesmo processo mais duas vezes sendo as fases superiores resultantes adicionadas sempre ao mesmo volume extraído anteriormente. As fases superiores combinadas foram secas em sistema speed-vac. O pellet resultante foi ressuspendido em metanol. A metilação foi feita com trimetilsilil-diazometano (Sigma- Aldrich, EUA) para a colheita 9 e com MTBSTFA (Sigma- Aldrich, EUA) para a colheita 10.

A determinação de AIA e ABA foi realizada por cromatografia a gás e espectrometria de massas (CG-MS), utilizando, respectivamente, os aparelhos HP-6890, com coluna HP-5ms e HP-5973 (todos os três da Hewlett-Packard, EUA). A razão entre os picos relativos aos íons com relação massa/carga (m/z) 136 e 195 (correspondentes ao padrão de AIA) e aos íons com m/z 130 e 189 (correspondentes ao AIA endógeno) foi utilizada para calcular a quantidade de AIA nas amostras. O mesmo ocorreu para os íons com m/z 165 e 194 (correspondentes ao padrão de ABA) e para os íons com m/z 162 e 190

(correspondentes ao ABA endógeno) para o cálculo da quantidade de ABA. Os cromatogramas foram analisados utilizando o software MSD ChemStation (Agilent Technologies, EUA).

3.5.3 Compostos voláteis

O preparo e congelamento das amostras para análise de compostos voláteis foram feitos no segundo dia após a colheita (amostras verdes) e no dia em que as bananas estavam completamente maduras, ou seja, totalmente amarelas com pequenas pintas (Figura 6). Os compostos voláteis foram analisados utilizando o método *In Situ* (CHIEBAO, 2013; PESIS et al., 2009). Fatias das partes centrais de três frutos foram cortadas. Um cilindro da polpa de cada fatia foi retirado com o uso de um furador de rolha de latão. Os cilindros foram transferidos para um frasco de vidro âmbar de 20 ml vedado com um septo de silicone, contendo 0,6 g de NaCl. A este frasco foi adicionada 2 ml de solução de NaCl 20% (m/v) que cobriu os cilindros. Os frascos foram armazenados a -20 °C até o dia da análise (Figura 6).

Para a análise dos compostos voláteis foi utilizada a técnica de micro-extração em fase sólida (SPME), empregando uma fibra de resina de carboxeno, divinilbenzeno e polidimetilsiloxano (CAR/DVB/PDMS) de 100 µm de espessura (Supelco, Sigma-Aldrich, EUA) para coleta dos compostos voláteis.

As amostras foram descongeladas em banho-maria a 30°C com agitação por 30 minutos. Após o descongelamento as amostras permaneceram em repouso para o equilíbrio e passados 15 minutos a fibra foi exposta dentro do frasco por 15 minutos. A detecção dos compostos voláteis foi feita em CG-MS (HP-6890 e HP-5973, Hewlett-Packard, EUA) com a coluna Supelcowax 10 (Supelco, Sigma-Aldrich, EUA). A temperatura de corrida programada foi: rampa de temperatura de 2°C/min de 40°C à 150°C. A temperatura da interface entre o cromatógrafo e o detector seletivo de massas foi de 230°C e a ionização foi feita por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons mantida a 150°C. Os cromatogramas foram analisados utilizando o software MSD ChemStation (Agilent Technologies, EUA). A identificação dos picos foi feita através da comparação com a biblioteca NIST, sendo considerados válidos os compostos

com índice de qualidade a partir de 70% encontrados em pelo menos três replicatas.

Figura 6. **A** Exemplos de frutos nos pontos verde e maduro para análise de compostos voláteis. **B** Esquema do preparo das amostras para análise de compostos voláteis: **1** e **2** corte de uma fatia de 3 cm. **3** e **4** Corte de pequenos cilindros com um furador de rolha. **5** Imersão em solução de NaCl 20% (m/v). **6** Armazenamento a -20 °C.

3.6 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se os softwares OriginPro 8 (OriginLab, USA) e XLSTAT (Addinsoft, EUA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Primeiras amostragens

As primeiras colheitas realizadas foram chamadas Teste 1, Teste 2 e Teste 3. Nestas três colheitas os cachos foram escolhidos de acordo com o diâmetro dos frutos. Seis pencas, de três diferentes plantas, foram colhidas em cada colheita. Apesar de terem sido colhidos de acordo com a estimativa visual do diâmetro, os frutos de duas das colheitas teste apresentaram diferenças em relação à média dos diâmetros e dos pesos (Tabela 1).

Os frutos do Teste 3 tiveram médias menores de peso. Porém, o diâmetro médio desses frutos foi próximo ao de Teste 2. A diferença entre a média dos frutos com os maiores diâmetros (Teste 1) e os frutos com os menores diâmetros (Teste 3) foi de apenas 5,9 mm. Embora a colheita dos frutos tenha sido definida visualmente, as três colheitas apresentaram diâmetro médio dos frutos semelhantes. A diferença é dificilmente perceptível. Principalmente quando se considera a altura das plantas da Thap Maeo, que podem passar de 4m.

Os frutos dos Testes 1 e 2 tiveram pesos e diâmetros semelhantes. No Teste 3 os frutos eram consideravelmente menores e mais leves. A comparação entre os pesos dos frutos de diâmetros próximos é um indicativo de que este não é critério adequado para definição do ponto de colheita dos frutos.

Tabela 1. Características físicas dos frutos (total 18 pencas) por colheita (3 colheitas), tendo como parâmetro a estimativa do diâmetro dos frutos.

	Teste 1	Teste 2	Teste 3
Peso (g)*	121,0 ± 15,1	104,5 ± 15,3	75,5 ± 8,2
Diâmetro (mm)*	39,8 ± 2,6	36,6 ± 2,0	33,9 ± 1,8

*Médias ± desvio padrão.

Durante o período entre a colheita e o início da senescência dos frutos, medidas diárias da respiração (produção de CO₂) e da produção de etileno foram realizadas com intuito de acompanhar o amadurecimento dos frutos. Em todas

as colheitas os perfis de produção dos dois gases avaliados se assemelharam no que diz respeito ao aumento de produção característico do climatérico no início do amadurecimento. Para determinar o início do amadurecimento dos frutos foi estabelecido o dia em que a produção de etileno alcança $1 \mu\text{l.kg fruto}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, sendo considerado este o último dia da vida verde. No entanto, cada uma das colheitas apresentou um tempo diferente para o amadurecimento. Os frutos apresentaram diferenças em relação à vida verde (Figura 7).

Os frutos de Teste 1 apresentaram uma produção muito alta de etileno já no primeiro dia de análise (Figura 7). No segundo dia, estes frutos já apresentaram o pico de produção deste hormônio. Assim, a vida verde desses frutos foi igual a zero. Em apenas 6 dias os frutos já estavam iniciando a senescência e, por tanto, ficaram impróprios para o consumo. De acordo com estas análises, os frutos de Teste 1 já haviam iniciado o climatérico no momento da colheita. Isto explicaria uma produção tão alta de etileno já que os frutos das outras colheitas ficaram de dois a quatro dias entre o início do amadurecimento e a produção de etileno alcançar $5 \mu\text{l.kg fruto}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

No Teste 2, os frutos tiveram uma vida verde de 6 dias. O pico de produção de etileno, assim como nos frutos das outras colheitas Teste, foi próximo a $12 \mu\text{l.kg fruto}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (Figura 7). Apesar de apresentarem diâmetros e pesos médios próximos, estes frutos tiveram uma vida verde mais apropriada em termos de tempo que o produtor e o comerciante possuem para armazenar ou transportar os frutos antes da climatização com etileno, que os frutos de Teste 1. No caso de um produtor que vende seus frutos em mercados próximos e de rápido acesso, apenas alguns dias de vida verde são necessários para que não haja perdas. No caso de um produtor que comercializa seus frutos em mercados mais distantes, mais dias de vida verde serão necessários.

Os frutos de Teste 3 apresentaram uma vida verde de 19 dias, consideravelmente maior (13 dias) que a vida verde dos frutos de Teste 2. Porém, os frutos dessas duas colheitas possuíam diâmetros próximos, apenas 3 mm de diferença entre as médias. A vida verde está inversamente relacionada com a idade fisiológica do cacho. Quanto mais idade o cacho tiver, menor será a sua vida verde. Assim, o Teste 3 é a colheita de menor idade fisiológica ou

colhida mais precocemente. Da mesma forma, o Teste 1 foi a colheita de maior idade fisiológica ou colhida mais tardiamente, já que foi a que teve menor vida verde.

Os dados obtidos nas colheitas teste expuseram a dificuldade de se estimar o período da colheita ou a vida verde através do parâmetro mais utilizado, que é a estimativa do diâmetro. A colheita baseada nesta estimativa não proporciona frutos com vida verde homogênea. Os produtores que desejam conhecer o tempo disponível para a comercialização dos frutos colhidos e também desejam reduzir as perdas, deverão buscar técnica mais precisas.

Figura 7. Etileno (■) e respiração (□) durante o amadurecimento de bananas (*Musa acuminata* AAB cv. Thap Maeo), colhidas com base no diâmetro dos frutos, em três diferentes colheitas: Teste 1, 2 e 3. As setas (↓) indicam o

primeiro dia em que a produção de etileno foi maior que $1 \mu\text{l.kg fruto}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Barras de erro representam o desvio padrão ($n = 9$).

O amadurecimento dos frutos dos Testes 1, 2 e 3, foi acompanhado ao longo do tempo de armazenamento pelas medidas de cor da casca e firmeza da polpa. A cor da casca foi comparada através do ângulo hue (Figura 8). O ângulo hue representa uma escala de cor e os valores compreendidos entre 60° e 120° representam as cores entre o verde e o amarelo (McGUIRE, 1992). Sendo que, quanto mais próximos ao 60° forem os valores, mais próxima do amarelo estará a cor da casca dos frutos. A produção de etileno e a cor das cascas foram alteradas de maneira concomitante, para todos os frutos em tempos diferentes, de acordo com a colheita. Os frutos de Teste 1 sofreram alteração na cor da casca mais rápido que os frutos de Teste 2 que, também, sofreram alteração na cor da casca mais rápido que os frutos de Teste 3 (Figura 8). No entanto, a cor das cascas dos frutos das três colheitas atingiu a cor amarela, diferenciando-se apenas temporalmente.

Figura 8. Cor da casca dos de bananas (*Musa acuminata* AAB cv. Thap Maeo) colhidas com base no diâmetro dos frutos, em três diferentes colheitas. Colheita 1 (■), Colheita 2 (□) e Colheita 3 (●). As setas (↓) indicam o primeiro dia em que a produção de etileno foi maior que $1 \mu\text{l/kg fruto.h}$. As barras de erro representam o desvio padrão ($n = 3$).

Também foram feitas medidas da firmeza da polpa através da força necessária para a probe penetrar na polpa do fruto. É esperado que, com o amadurecimento do fruto, a força necessária para penetrar a polpa diminua. Isto é, o fruto se torna mais macio com o amadurecimento. De fato, os frutos se tornaram mais macios e as medidas foram de aproximadamente 8 N até próximas de zero N (Figura 9). O início da redução da firmeza da polpa

aconteceu próximo ao início da produção de etileno. Portanto, os frutos de Teste 1 perderam firmeza mais rapidamente, os frutos de Teste 3 foram os que demoraram mais e os frutos de Teste 2 tiveram comportamento intermediário.

Figura 9. Firmeza da polpa de bananas (*Musa acuminata* AAB cv. Thap Maeo) colhidas com base no diâmetro dos frutos, em três diferentes colheitas: Colheita 1 (C1 ■), Colheita 2 (C2 □) e Colheita 3 (C3 ●). As setas (↓) indicam o primeiro dia em que a produção de etileno foi maior que $1 \mu\text{l.kg fruto}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Barras de erro representam o desvio padrão ($n = 3$).

Com os resultados de peso, diâmetro, respiração, produção de etileno, cor da casca e firmeza da polpa foi possível observar que existe uma diferença entre os frutos amostrados. Por exemplo, apesar dos frutos dos Testes 1 e 2 terem diâmetros semelhantes, apresentaram vida verde de zero e seis dias, respectivamente. De acordo com esses dados, todos os frutos amadureceram normalmente, porém, em tempos diferentes. Assim, os frutos, embora colhidos com o mesmo diâmetro, estivessem em estágios diferentes de desenvolvimento.

Assim como nas outras características do amadurecimento, a degradação do amido durante o amadurecimento da banana se acentua com a produção de etileno. Porém, é possível observar (Figura 10) que já estava ocorrendo antes da produção do etileno ser detectada. Os frutos das três colheitas teste, além de se diferenciarem no tempo de amadurecimento, também se diferenciam em relação à taxa de degradação do amido (Figura 10). Os frutos dos Testes 1 e 2 tiveram praticamente todo o conteúdo de amido acumulado no desenvolvimento do fruto degradado em aproximadamente 6 dias, a partir do início do

amadurecimento, indo de um teor de aproximadamente $20 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ a um teor próximo $1 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$. Os frutos de Teste 3 passaram de um teor de aproximadamente $20 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ para um teor de, aproximadamente, $8 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$. O peso dos frutos, aproximadamente 40% menor em relação à Teste 1, sugerem uma falta de maturidade fisiológica do fruto do Teste 3 no momento da colheita e os altos teores finais de amido, quando o fruto foi considerado maduro, evidenciam que o sistema de degradação do amido não funcionou adequadamente. Os dois fatos, aliados à vida verde anormalmente alta (19 dias) para os padrões da cultivar, mostram que os frutos desta colheita (Teste 3), estavam imaturos, em termos fisiológicos, quando colhidos, apesar de estarem dentro dos padrões de diâmetro preconizados. A determinação de açúcares solúveis (Figura 10) confirmou os dados obtidos de amido, uma vez que os frutos do Teste 3, quando maduros, tiveram o menor teor de açúcares entre todas as amostras.

Estes resultados demonstram a importância de ter um método mais preciso do que o diâmetro do fruto, para determinar o momento da colheita, que proporcione frutos com o tempo de amadurecimento conhecido e satisfatório e também frutos com boa qualidade quando maduros.

Figura 10. Degradação do amido (■) e acúmulo de açúcares solúveis (□) na polpa de bananas (*Musa acuminata* AAB cv. Thap Maeo) colhidas com base no diâmetro dos frutos em três diferentes colheitas: Teste 1, 2 e 3. As setas (↓) indicam o primeiro dia em que a produção de etileno foi maior que $1 \mu\text{l.kg fruto}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. (n = 3, amido; n = 9, açúcares solúveis).

Os açúcares solúveis analisados foram: a sacarose, a glicose e a frutose. Como já foi visto em trabalhos anteriores (CORDENUNSI E LAJOLO, 1995; SOARES et al. 2011), a sacarose foi o açúcar predominante em todas as amostras, com teores finais muito semelhantes nos frutos maduros de todas as colheitas (Figura 11). Em relação à glicose e frutose, houve diferença entre colheitas. Nos frutos do Teste 2 houve um acúmulo grande de glicose e frutose, pouco usual em bananas (MOTA, LAJOLO e CORDENUNSI, 1997; SARAIVA et al., 2013; SOARES et al, 2011).

Figura 11. Teores de glicose (■), sacarose (□) e frutose (●) na polpa de bananas (*Musa acuminata* AAB cv. Thap Maeo) colhidas com base no diâmetro dos frutos em três diferentes colheitas: Teste 1, 2 e 3. As setas (↓) indicam o primeiro dia em que a produção de etileno foi maior que $1 \mu\text{l.kg fruto}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Barras de erro representam o desvio padrão ($n = 9$).

Os frutos do Teste 2 tiveram vida verde de 6 dias, adequada para a comercialização próxima ao produtor, que não necessite de transporte a longa distância. Os frutos colhidos no Teste 1 tiveram a vida verde nula mostrando a inadequação do método escolhido para determinar a época da colheita já que, apesar de terem diâmetros aparentemente iguais aos de Teste 2, é provável que já estivessem no início do amadurecimento quando colhidos. Os frutos do Teste 1 representam um risco de perdas para o produtor: estes frutos, mesmo quando verde, produziam altas quantidades de etileno, se fossem transportados na mesma câmara que frutos pré-climatéricos, o etileno produzido por estes frutos poderiam causar o amadurecimento precoce de todos os frutos da câmara. Este exemplo mostra a importância de um método preciso para estimar o momento da colheita.

4.2 Definição do ponto de colheita: método de regressão linear

Após as colheitas testes iniciaram-se os experimentos para determinação do momento da colheita mais apropriado para os frutos da cultivar Thap Maeo, fazendo uso da soma de temperaturas (descrito no item 3.3). Para tal, é preciso estabelecer a equação que determina a idade fisiológica dos frutos e também qual a idade mais apropriada para a colheita. A idade fisiológica é expressa em graus dias (GD), cada grau dia é 1 °C da média diária acima da temperatura base determinada. A primeira etapa é o estabelecimento da temperatura base a ser utilizada no cálculo. Usando o modelo de regressão linear (UMBER et al. 2011) é possível estabelecer a temperatura base e a idade fisiológica de amadurecimento na planta (idade fisiológica máxima). Esses parâmetros são determinados a partir da regressão linear entre os dados de soma das temperaturas médias diárias e número de dias entre florescimento e o amadurecimento natural dos frutos na planta. A temperatura base corresponde ao coeficiente angular (a) da equação da reta $y=ax+b$. Nesta expressão, o coeficiente linear (b) representa a Soma de Temperatura que os frutos desta cultivar devem amadurecer na planta, na temperatura base encontrada.

Com o término do primeiro experimento de campo, foi possível estabelecer a Temperatura Base de 12 °C e a Idade Fisiológica Máxima de 1171 GD para a cultivar Thap Maeo. A Figura 12 representa a regressão linear dos dados referentes as plantas observadas. Com a temperatura base estabelecida, a Idade Fisiológica de um cacho pode ser calculada a partir da equação:

$$IF = \sum (T_m - 12)$$

Onde IF corresponde a Idade Fisiológica, ou seja, GD acumulados e T_m correspondem à temperatura média diária.

Figura 12. Soma de Temperaturas e o número de dias entre a marcação e o amadurecimento natural dos frutos na planta, cada ponto representa uma planta (n=59). A equação da reta fornece o valor da Temperatura Base (12 °C - coeficiente angular) e a Idade Fisiológica Máxima (1171 GD – coeficiente linear).

A idade fisiológica máxima (1171 GD) não representa o ponto de colheita ideal, e sim momento no qual a vida verde é igual a zero. A colheita deve ser realizada numa Idade Fisiológica inferior visando menores perdas de fruto e um período suficiente para manuseio e transporte ou tratamento com etileno exógeno (climatização). Mais adiante, foram feitas colheitas com idades fisiológicas menores e seus frutos foram analisados. Estas análises serviriam para comprovar a equação da idade fisiológica aqui encontrada e também para estabelecer qual idade fisiológica forneceria frutos de melhor qualidade.

4.3 Avaliação dos parâmetros pós-colheita

Tendo a temperatura base definida e também a idade fisiológica máxima (1171 GD), as próximas colheitas foram realizadas de acordo com a idade fisiológica, calculada segundo a equação $IF = \sum (T_m - 12)$. Inicialmente seriam colhidos frutos em idades 5%, 10% e 15% menores que a idade fisiológica máxima, ou seja, nas idades de aproximadamente 1110 GD, 1050 GD e 995 GD

No entanto, como explicado a seguir. Colheitas em idades fisiológicas diferentes foram incluídas do experimento.

No experimento de caracterização da cultivar, foram realizadas dez colheitas afim de avaliar o comportamento pós-colheita dos frutos de acordo com a idade fisiológica (Tabela 2), calculada a partir da fórmula estabelecida no experimento de campo. Inicialmente as colheitas foram realizadas com 85, 90 e 95% da Idade fisiológica máxima. No entanto, observou-se que frutos com essas idades, colhidos em diferentes épocas do ano (Figura 13), não apresentavam padrão na vida verde e que, algumas vezes, esta era correspondente a zero (frutos já estavam maduros no momento da colheita), mesmo com idades fisiológicas menores que a Idade Fisiológica Máxima estabelecida, como é o caso das colheitas 4, 5 e 7 (Tabela 2), que amadureceram com idades fisiológicas menores ou próximas à 85% da idade fisiológica máxima, ou seja, 995 GD. A partir do momento que alguns frutos apresentaram vida verde igual a zero, ou seja, já apresentavam produção climatérica de etileno no primeiro dia de análise, outras idades fisiológicas começaram a ser testadas para a colheita.

A colheita 4, apesar da baixa idade fisiológica (967 GD) teve vida verde igual a zero. Os frutos da colheita 5 foram colhidos com apenas 956 e também tiveram a vida verde igual a zero. Tentando contornar este amadurecimento precoce que já se evidenciava estar relacionado com as baixas temperaturas, a colheita 6 foi colhida com 853 GD uma idade fisiológica 103 GD menor. Esta colheita teve vida verde de 8 dias. A relação entre a vida verde e a idade fisiológica será melhor discutida adiante (item 4.4).

Os frutos das colheitas 8, 9 e 10 se desenvolveram durante as estações mais quentes do ano e tiveram a vida verde semelhante aos frutos com mesma idade fisiológica das colheitas 1, 2 e 3. A colheita 9 foi colhida com uma baixa idade fisiológica e com frutos visivelmente pequenos (~30 mm de diâmetro). A decisão de colher frutos menores foi tomada porque estes frutos também foram utilizados para o tratamento com etileno exógeno e por isso é interessante a comparação entre frutos de baixas e altas idade fisiológicas.

Os frutos apresentaram ampla variação nas dimensões e no peso, embora essa variação não tenha sido refletida diretamente na vida verde. Os

frutos mais compridos, não foram os que tiveram menor vida verde. Nem os de menores comprimentos foram os de maior vida verde. Os frutos da colheita 5 possuíam um peso médio de apenas 71,8 g ainda assim a vida verde desses frutos foi igual a zero.

Figura 13. Período e temperatura média de desenvolvimento dos frutos colhidos. Cada barra representa o período entre a marcação e a colheita dos cachos de 10 colheitas diferentes (1-10).

Tabela 2. Resumo descritivo das colheitas realizadas

Colheita	Dia da Marcação	Dia da Colheita	PMC	Soma Térmica	IF	Vida verde	n plantas	n pencas	n frutos	Peso	Comprimento	Diâmetro
1	06/11/2012	04/02/2013	90	2149	1056	9	5	10	10	82,8 ± 6,4	13,1 ± 0,6	32,0 ± 0,9
2	16/01/2013	24/04/2013	98	2174	997	12	5	10	10	81,4 ± 16,6	12,0 ± 1,0	32,7 ± 2,4
3	25/01/2013	20/05/2013	115	2489	1108	4	4	8	16	81,3 ± 23,0	11,6 ± 1,2	34,8 ± 3,2
4	21/02/2013	25/06/2013	124	2454	967	0	5	10	20	90,8 ± 13,1	12,1 ± 1,0	35,8 ± 1,4
5	06/03/2013	05/08/2013	151	2743	956	0	3	6	12	71,8 ± 10,4	11,0 ± 0,9	33,0 ± 1,3
6	12/04/2013	19/09/2013	160	2751	853	8	3	6	12	88,0 ± 10,5	12,7 ± 0,8	34,0 ± 1,8
7	15/05/2013	30/10/2013	167	2996	1002	0	3	6	12	84,5 ± 19,9	12,6 ± 1,0	33,9 ± 2,6
8	16/10/2013	23/01/2014	99	2317	1114	3	6	12	24	86,3 ± 17,2	12,6 ± 0,9	33,8 ± 2,4
9	26/11/2013	07/02/2014	73	1856	967	16	5	10	20	67,2 ± 7,8	11,3 ± 0,8	30,8 ± 1,2
10	09/01/2014	28/03/2014	78	1954	1027	12	5	10	20	94,3 ± 14,6	13,36 ± 1,1	33,9 ± 1,5

PMC = período entre a marcação das plantas e a colheita (dias); Soma Térmica = somatória das temperaturas médias diárias (Tm) ao longo do PMC; IF = idade fisiológica expressa em graus dia, calculados a partir da expressão $IF = \sum (Tm-12)$; n = número.

Diversos parâmetros foram avaliados ao longo do completo amadurecimento dos frutos colhidos (Figura 14). Apesar dos frutos colhidos serem diferentes em idade fisiológica, período entre a marcação das plantas e a colheita (PMC), peso, diâmetro e comprimento, a maior diferença expressa no amadurecimento dos frutos colhidos foi o tempo decorrido entre a colheita e o disparo do amadurecimento, ou seja, a vida verde. Isso já era esperado devido à diferença na idade fisiológica dos frutos. De modo geral, foi possível observar que o amadurecimento ocorreu de maneira semelhante entre todos os parâmetros analisados (Figura 14), resultando em um fruto maduro muito semelhante em relação a firmeza da polpa e a cor da casca.

A colheita 9, teve frutos mais firmes quando colhidos, quando comparado às outras colheitas e demoraram mais que os outros para começarem a amadurecer. No entanto, os frutos desta colheita ficaram tão macios quanto os outros frutos colhidos em um período aproximadamente igual (~ 6 dias). A queda na firmeza da polpa e a mudança na cor da casca acontece rapidamente e em apenas um dia a força necessária para penetrar a polpa pode reduzir mais de 5 N. A casca pode se tornar totalmente amarela em apenas quatro dias após o pico climatérico.

Os frutos maduros foram semelhantes em relação à firmeza da polpa e cor da casca. Em relação ao teor de amido também houve semelhança entre os frutos. O teor inicial de amido, ou o amido acumulado durante o desenvolvimento, foi praticamente igual para todas as amostras apresentando pequena variação na média de todas as amostras analisadas (~2 g.100 g⁻¹). Os frutos de todas as colheitas tiveram um teor de amido inicial de aproximadamente 20 g.100 g⁻¹. Os teores de amido ao final do amadurecimento também foram semelhantes entre os frutos das diferentes colheitas (~1 g.100 g⁻¹), com exceção dos frutos da colheita nove que mesmo maduros apresentaram um teor de amido consideravelmente alto (~ 4 g.100 g⁻¹). Os parâmetros analisados na pós-colheita mostram que frutos diferentes no campo resultam semelhantes quando maduros, não sendo afetada a sua qualidade, já que apresentam cor da casca, firmeza da polpa e teor de carboidratos semelhantes. Dessa forma, a seguir, os

Figura 14. Parâmetros avaliados ao longo do amadurecimento em nove colheitas (C1-C10): **A** Produção endógena de etileno (n=9), **B** firmeza da polpa (n=3), **C** coloração da casca dos frutos (n=3) e **D** teor de amido na polpa (n=3). As linhas com símbolos representam frutos que iniciaram o desenvolvimento no Outono ou Inverno.

parâmetros que apresentaram diferenças entre as colheitas serão utilizados para definir-se o melhor indicador da vida verde e que, portanto, pode ser utilizado para determinar o ponto de colheita ideal.

4.4 Definição do ponto de colheita a partir dos parâmetros determinados na pós-colheita

Os dados obtidos após a colheita dos frutos foram associados à vida verde em gráficos de regressão linear, tentando encontrar os fatores que apresentam maior relação com a vida verde (Figura 15). Alguns fatores apresentaram correlação muito baixa com a vida verde, com coeficiente de determinação (R^2) entre -0,2 e 0,2 como por exemplo: o comprimento, o peso e o período entre a marcação das plantas e a colheita (PMC). Os fatores que tiveram maior correlação com a vida verde foram: diâmetro, Soma Térmica (somatória das temperaturas médias diárias ao longo do PMC) e Idade fisiológica, calculada a partir da expressão $IF = \sum (T_m - 12)$.

Os dados da regressão linear entre a vida verde e a idade fisiológica mostrados na Figura 15 confirmam o observado ao longo do experimento de campo: a Idade Fisiológica não apresenta uma boa correlação com a vida verde ($R^2 < 0,4$). Este resultado foi fortemente influenciado por apenas uma colheita, a colheita 6. Estes frutos tiveram seu desenvolvimento durante o inverno. Os frutos da colheita 6 tiveram comportamento contrastante com o comportamento dos frutos desenvolvidos durante as estações mais quentes. Apesar de sua baixa idade fisiológica (853 GD) a vida verde destes frutos não foi extraordinariamente alta (8 dias). Os outros frutos que se desenvolveram em meses mais frios (colheitas 4, 5 e 7) tiveram vida verde igual a zero apesar de alguns deles terem idade fisiológica relativamente baixa, 956 GD no caso da colheita 5. As colheitas 4, 5 e 7 não puderam ser incluídas nas regressões lineares, já que a vida verde desses frutos foi igual a zero e não é possível saber quando eles começaram a amadurecer.

Quando excluídos os resultados da colheita 6 (Figura 16), os graus dias acumulados apresentam alta correlação com a vida verde ($R^2 > 0,97$). Esta correlação demonstra que, para frutos que se desenvolveram nos meses mais

Figura 15. Regressão linear entre a vida verde e outros parâmetros avaliados na pós-colheita das bananas. PMC = período entre a marcação e a colheita; IF = Idade fisiológica

Figura 16. Regressão linear entre a vida verde e a Idade fisiológica (IF) dos frutos desenvolvidos nos meses mais quentes do ano.

quentes do ano, com florescimento na primavera ou na primeira metade do verão, a temperatura base de 12 °C é adequada para o cálculo da idade fisiológica dos frutos. Assim, o ponto de colheita dos frutos que se desenvolveram nas estações mais quentes do ano pode ser definido de acordo com a vida verde desejada. Os frutos que são vendidos para localidades distantes para os quais são necessários 12 dias para a comercialização podem ser colhidos com a idade fisiológica de, aproximadamente, 1010 GD. Os frutos que serão comercializados nas proximidades do produtor e apenas quatro dias são suficientes para sua comercialização, podem ser colhidos com aproximadamente 1100 GD.

Os frutos que se desenvolveram durante os meses mais frios do ano, como os das colheitas 4, 5, 6, e 7, iniciaram o amadurecimento mesmo em idade fisiológica baixa. Para estas colheitas, a temperatura base (12 °C), e por consequência, o cálculo da idade fisiológica não se adequam ao desenvolvimento dos frutos. Neste caso, a vida verde apresentou maior correlação com a Soma Térmica. Isso mostra que a cultivar Thap Maeo cultivada nas condições subtropicais pode não obedecer a uma só temperatura base, como as cultivares avaliadas no trabalho de UMBER et al. (2011) nas condições

tropicais. Porém, ela responde às variações de temperatura diária, sendo que nas estações mais quentes do ano o PMC pode ser até 50% menor do que no inverno (Tabela 2).

Uma vez que a Soma Térmica é o parâmetro de maior correlação com a vida verde, quando se leva em consideração frutos que se desenvolveram nos meses mais frios do ano, é possível utilizar a sua equação da reta de regressão linear ($y = -47,254 x + 2650$) para determinar a Soma Térmica ideal para colheita de frutos desenvolvidos durante o outono e o inverno, de acordo com a vida verde desejada. Assim, para uma vida verde almejada “x”, a equação acima fornecerá um Soma Térmica “y”.

Esta relação matemática deve auxiliar na estimativa da vida verde de um cacho, de acordo com a Soma Térmica. Por exemplo, para a comercialização realizada em território nacional, uma vida verde de 12 dias representaria tempo suficiente para transporte e este agricultor deve optar por colher seus frutos com a Soma Térmica de aproximadamente 2080 °C. No caso da comercialização local, uma vida verde de três dias seria suficiente, de modo que os frutos devem ser colhidos quando atingirem a Soma Térmica de 2510 °C.

Os experimentos realizados forneceram dados sobre o desenvolvimento e o amadurecimento dos frutos de Thap Maeo provenientes de áreas subtropicais. Os frutos, colhidos em diferentes épocas do ano com diferentes idades fisiológicas apresentaram diferenças de qualidade. Apesar de terem alcançado os mesmos índices de cor da casca, firmeza da polpa e conteúdo de açúcares (com exceção da colheita 9), os frutos tiveram dimensões e pesos diferentes. Como a diferença de qualidade dos frutos foi em relação ao tamanho dos frutos, sendo o desejável que as maiores dimensões com a vida verde desejada. Para isso, poderá ser feito uso das duas metodologias apresentadas acima, uma para os frutos desenvolvidos nas estações mais quentes e outra para os desenvolvidos nas estações mais frias do ano. Como os frutos de banana, após a colheita, passam pelo tratamento com etileno exógeno para disparar e homogeneizar o amadurecimento, é necessário saber qual concentração desse hormônio é ideal para manter os atributos de qualidade dos frutos com mínimos custos.

4.5. Otimização da concentração de etileno no tratamento pós-colheita

As bananas comercializadas no Brasil passam por um tratamento com etileno exógeno (climatização) antes de chegarem ao consumidor, visando acelerar e homogeneizar o amadurecimento dos frutos. No entanto, os frutos de diferentes espécies possuem diferentes sensibilidades a esse hormônio, requisitando, assim, diferentes doses do hormônio para ativar os processos do amadurecimento. Da mesma forma, dentro de uma mesma espécie, frutos de diferentes variedades, ou mesmo em diferentes estágios de desenvolvimento, podem requerer diferentes doses de etileno (SALTVEIT, 1999). As bananas dos grupos Nanica e Prata são as mais comercializadas no Brasil e foram objetos de numerosos trabalhos, que estabeleceram as concentrações mais adequadas para climatização dos frutos. Para as cultivares mais recentes ainda faltam estudos deste tipo e são tratadas como se pertencessem aos grupos Nanica ou Prata, ainda que os parâmetros de tratamento possam ser excessivos, resultando em frutos de baixa qualidade, com menor possibilidade de comercialização.

Os frutos da Thap Maeo, amadurecem muito rápido, podendo ser devido a uma maior sensibilidade ao etileno. É possível que o tratamento com uma quantidade exagerada de etileno possa ocasionar perda na qualidade dos frutos. Ademais, o etileno usado é um produto comercial e o uso em excesso gera maiores custos aos produtores.

Neste sentido, neste trabalho, os frutos de Thap Maeo de três diferentes colheitas (colheitas 8, 9 e 10) foram tratados com diferentes doses de etileno em um tratamento único de 24 horas. As concentrações para os tratamentos foram 0 ppm (controle); 10 ppm; 100 ppm; 500 ppm e 1000 ppm. As dosagens foram estabelecidas de acordo com a variação encontrada na literatura (PAULO, 2010; LOHANI, TRIVEDI e NATH, 2004; PAULL, 1995).

4.5.1 Amadurecimento: qualidade dos frutos

Os frutos tratados com diferentes dosagens de etileno apresentaram semelhança em quase todas as características analisadas (Figura 17). Estes

Figura 17. Evolução da produção de etileno, da firmeza da polpa (estimada como a força necessária para penetrar a polpa) e da coloração da casca (medida pelo Ângulo Hue). Os pontos representam a média (n=3) dos resultados para cada concentração usada no tratamento com etileno exógeno: 0 ppm para as colheitas 8 (8), 9 (C9) e 10 (C10), 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm e 1000 ppm. O tratamento de etileno foi realizado no segundo dia após a colheita.

frutos tiveram um pico de produção de etileno no oitavo dia após a colheita, 6 dias após o tratamento, sendo que esta produção de etileno foi a maior encontrada entre as amostras avaliadas neste ensaio ($> 8 \mu\text{l C}_2\text{H}_4.\text{kg fruto}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Os frutos tratados com 10 ppm de etileno amadureceram no mesmo período que os frutos tratados com concentrações maiores do hormônio. No entanto, estes frutos apresentaram uma produção máxima de etileno menor que os outros frutos tratados. A colheita 8 dentre as três colheitas aqui analisadas foi a que teve menor vida verde (entre os frutos controle). Os frutos controle da colheita 8 apresentaram um comportamento semelhante aos frutos tratados com etileno, não apresentando pico de produção no oitavo dia assim como os frutos tratados com 10 ppm.

A firmeza da polpa decaiu rapidamente nos frutos tratados com etileno. Em apenas dois dias a polpa dos frutos pode ficar três vezes mais macia. O comportamento dos frutos tratados com etileno não se diferenciou entre os tratamentos, o que fica claro na análise visual dos resultados (Figura 17), que mostra as linhas e pontos relacionados a cada tratamento em posição quase coincidente no gráfico. Os frutos controle da colheita 8, assim como para o etileno, tiveram um dia de atraso na redução da firmeza quando comparados aos frutos tratados. Dessa forma, os frutos do grupo controle, a partir do momento do aumento na produção de etileno endógeno, apresentaram queda na firmeza da polpa nas mesmas proporções.

O mesmo ocorre com a evolução da coloração da casca, que se altera rapidamente, sendo que o fruto deixa de ser verde em apenas três dias, atingindo os mesmos patamares que os frutos tratados. De fato, o tratamento com diferentes dosagens de etileno não ocasionou qualquer diferença quanto à aparência do fruto, como pode ser observado na Figura 18.

Aparentemente os parâmetros avaliados até aqui mostram não haver diferença em relação às diferentes concentrações (0-1000 ppm) de etileno usadas na climatização, exceto temporalmente pelo momento do disparo do amadurecimento. Assim, sob a perspectiva da produção de etileno, do amaciamento da polpa e da coloração da casca, o processo de amadurecimento parece ter ocorrido de maneira similar, sendo os frutos maduros muito semelhantes entre os diferentes tratamentos (Figuras 17 e 18).

Figura 18. Evolução da aparência dos frutos ao longo do amadurecimento. Cada fruto é representativo de cada um dos tratamentos com etileno exógeno: 0 ppm (controle); 10 ppm; 100 ppm; 500 ppm; 1000 ppm, da esquerda para a direita.

Além disso, outro evento de extrema importância na qualidade final da banana é a degradação de amido e concomitante síntese de açúcares solúveis, uma vez que este evento é determinante no adoçamento e amaciamento da fruta (SHIGA et al., 2011). Os diferentes tratamentos de etileno parecem não ter afetado a degradação do amido, que ocorreu de forma semelhante entre as amostras (Figura 19). A degradação do amido ocorreu simultaneamente nas amostras tratadas com etileno e os teores finais de amido não foram diferentes, inclusive quando comparadas aos controles. As amostras controle tiveram a degradação do amido iniciada posteriormente às outras amostras, no entanto, a partir do início da degradação, o tempo para alcançar os menores teores de amido foi igual ao das amostras tratadas com etileno.

A síntese de açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose) também ocorreu de forma semelhante entre as amostras tratadas (Figura 19). As amostras tratadas com 10 ppm de etileno sintetizaram uma quantidade um pouco maior desses açúcares em relação as outras amostras, porém, essa diferença não foi significativa. Excluindo este fato, a síntese de açúcares solúveis seguiu a mesma cronologia para todas as amostras tratadas com etileno, sendo que nas amostras controle, o início da síntese de açúcares solúveis foi um pouco atrasado em relação ao início da degradação do amido. No entanto, o conteúdo final de açúcares foi semelhante ao de todas as outras amostras. Vale ressaltar que a quantidade de carboidratos nessas bananas é semelhante a bananas dos

Figura 19. Degradação do amido (símbolos cheios) e síntese de açúcares solúveis (símbolos vazios), $n=3$. Cada gráfico representa uma concentração diferente no tratamento com etileno exógeno: 0 ppm para as colheitas 8 (C8), 9 (C9) e 10 (C10), 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm e 1000 ppm. O tratamento foi realizado no segundo dia após a colheita.

subgrupos Nanica ou Prata e maior que nas bananas Mysore, segundo análises já realizadas em nosso laboratório (CORDENUNSI e LAJOLO, 1995; SARAIVA et al, 2013).

Portanto, a análise do perfil de carboidratos, juntamente com a produção de etileno e da evolução da coloração da casca e amaciamento, evidencia um processo de amadurecimento bastante semelhante entre os diferentes tratamentos, exceto pela diferença temporal, ocasionada pelo disparo antecipado no amadurecimento dos frutos tratados, conforme esperado. Esse resultado sugere que a qualidade final dos frutos maduros seja similar, no que se refere à doçura, maciez e aparência, independente da dosagem de etileno utilizada.

Ainda que as diferentes dosagens de etileno não acarretem consequências para a aparência e doçura, é possível que outros processos do amadurecimento ou outras vias metabólicas tenham sido afetados, podendo comprometer outros atributos de qualidade, como o aroma, parâmetro que influencia diretamente o *flavor* do fruto. O aroma do fruto é determinado por dezenas a milhares de compostos gerados principalmente durante o desenvolvimento e amadurecimento do fruto, cumprindo papel essencial na atração de dispersores e dispersão das sementes (OSORIO, MUÑOZ e MALPUESTA, 2010),

Por isso, a fim de elucidar potenciais diferenças relacionadas ao aroma do fruto, os compostos voláteis dos frutos verdes e maduros foram investigados. Os compostos voláteis do aroma encontrados nas amostras de frutos verdes foram: Hexanal, Heptanal, n-Nonanal, 3-Hexen-1-ol, cis-2-Pentenol, 1-Octen-3-ol, 2-Pentylfurano, correspondentes à amostra pré-climatérica, coincidentes entre os tratamentos. Estes compostos, aldeídos e álcoois na maioria, são típicos de frutos de banana verde (FACUNDO, 2013; CALHAU, 2014). No fruto maduro, uma maior variedade de compostos foi encontrada (Tabela 3), sendo a grande maioria ésteres, corroborando outros estudos realizados em compostos voláteis de banana (FACUNDO, 2013; CHIEBAO, 2013). Todos os voláteis identificados foram utilizados como variáveis na Análise de Componentes Principais (PCA) pelo método de Pearson (Figura 20).

Figura 20. Análise de componentes principais dos compostos voláteis identificados na polpa dos frutos. Zero ppm, 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm representam a concentrações de etileno exógeno com que os frutos foram tratados. **A** Dispersão e agrupamento dos tratamentos de etileno, em relação a F1 e F2. **B** Biplot com a dispersão de cada composto, em relação às variáveis canônicas F1 e F2.

A PCA evidenciou diferenças observadas no perfil de compostos voláteis de amostras tratadas com diferentes dosagens de etileno, sendo que a maior diferença foi encontrada entre frutos tratados e não tratados (0 ppm), que foram completamente separados pela componente F1 desta análise. Além disso, esta análise também revela que a componente F2 foi capaz de separar amostras tratadas com uma dosagem mais alta (500 e 1000 ppm) de amostras tratadas com uma dosagem mais baixa (10 e 100 ppm), mostrando que a dosagem do tratamento também afetou a síntese de compostos voláteis.

Esta análise também ajuda a visualizar a importância de cada composto no distanciamento ou aproximação das amostras no plano, o que pode ser feito matematicamente pela análise do autovetor, e ilustrado no *Biplot* (Figura 20). Assim, é possível identificar quais compostos estão mais abundantes em determinada amostra, a partir da relevância desta na diferenciação das amostras.

Dessa forma, dentre os compostos mais influentes na separação de amostras tratadas e não tratadas estão os ésteres de cadeia ramificada associados à via da Leucina (TRESSL e DRAWERT, 1973; MAYR et al., 2002) e ésteres e álcoois derivados de ácidos graxos (TRESSL e DRAWERT, 1973). Além disso, foi observado que os compostos mais abundantes nos frutos que amadureceram naturalmente, e que mais contribuíram para o isolamento desta amostra em relação às tratadas, são ésteres de cadeia ramificada, como o isovalerato de isoamila, o 2-metilpropanoato de 3-metilbutila e o butirato de isobutila. Em contrapartida, entre os mais abundantes nas amostras tratadas, tem-se, além de ésteres de cadeia ramificada, ésteres de cadeia reta, álcoois e compostos multifuncionais. Curiosamente dentre os compostos derivados de ácidos graxos, foi verificado que os mais abundantes nas amostras tratadas possuem o ácido hexanóico como precursor, como o álcool hexílico, enquanto que os mais abundantes nas amostras não tratadas parecem ser provenientes do ácido butírico, como o butirato de etila, e butirato de isobutila (TRESSL e DRAWERT, 1973) evidenciando diferenças nas vias de síntese dos compostos voláteis, influenciadas pela concentração de etileno.

Outro resultado intrigante está relacionado aos compostos chaves na formação do aroma da banana, principalmente, o acetato de isobutila e o acetato de isoamila (MAYR et al., 2002; SELLI et al., 2012). O acetato de isoamila tem odor doce característico de banana e o acetato de isobutila tem odor de frutas (pera e groselha) e floral (BURDOCK, 2010). Estes compostos foram mais abundantes e contribuíram fortemente não só para a separação de amostras tratadas e não tratadas, mas também parecem diferenciar as amostras entre as concentrações de etileno usadas, sendo que estes compostos apresentaram maior abundância nas amostras tratadas com dosagens mais baixas, como o de 10 e 100 ppm (Figura 20). Este resultado é um indício de que as bananas tratadas com doses mais baixas de etileno apresentam aroma característicos de banana mais intenso.

É provável que o número maior de compostos identificados no controle (Tabela 3) seja em função do amadurecimento natural. Isto mostra, não só que os frutos amadurecidos naturalmente têm potencial para uma maior qualidade, como também que existem vias de formação de compostos voláteis que não foram, ou não são, ativadas pelo etileno.

Os resultados indicam que todos os eventos do amadurecimento estudados ocorrem de maneira semelhante entre todos os tratamentos, exceto o controle. Portanto, não havendo vantagens nos tratamentos com maiores concentrações de etileno, a concentração recomendada para o tratamento dos frutos é de 10 ppm, pois apresenta a dose mais econômica (menor gasto de produto) alcançando a mesma qualidade obtida com outras dosagens. É preciso enfatizar que esta quantidade de etileno pode ser 100 vezes menor do que recomendações para outras cultivares.

Tabela 3. Compostos voláteis encontrados nas amostras de bananas maduras tratadas com diferentes concentrações de etileno exógeno (0 a 1000 ppm).

	0 ppm	10 ppm	100 ppm	500 ppm	1000 ppm
Benzaldeído	●	●	●	●	
2-Etil-1-hexanol	●	●	●	●	●
Butirato de etila	●	●	●		●
Butirato de isoamila	●	●	●		●
Isovalerato de butila	●				
Butirato de butila	●	●	●	●	●
Acetato de isobutila	●	●	●		●
Alcool hexílico	●	●		●	●
Hexanoato de etila	●	●	●		●
Acetato de isoamila	●	●	●	●	●
Butirato de isobutila	●	●	●	●	●
Isovalerato de isoamila	●	●	●	●	●
2-metilpropanoato de 3-metilbutila	●			●	
hexanoato de isoamila	●		●		●
3-hidroxihexanoato de etila	●	●	●	●	●
Isobutirato de hexila	●		●		
2-Hidroxi-3-metil butirato de etila	●	●	●	●	
Butirato de hexila	●			●	
2-Metilbutanoato de 3-Metilbutila	●		●		●
Butirato de octila		●			●
Acetato de butila		●		●	
Valerato de butila		●	●	●	

● marca em quais amostras o composto volátil foi identificado.

4.5.2. Amadurecimento: hormônios

Como já foi dito, a disponibilidade de tempo para amadurecer é outro importante atributo de qualidade, com sérias implicações para a comercialização do fruto, especialmente para os frutos da Thap Maeo, que apresentam um período curto entre o início do amadurecimento e o amadurecimento completo dos frutos. Este fato tem implicações tecnológicas, por se tratar de um fruto delicado e de casca fina, o transporte desse fruto só pode ocorrer com o fruto totalmente verde. Com o objetivo de buscar evidências metabólicas que explicassem essa particularidade no processo de amadurecimento desses frutos, os níveis de ácido abscísico (ABA) e o ácido indol-3-acético livre (AIA) foram investigados ao longo do amadurecimento, uma vez que a sinalização desses hormônios está intimamente relacionada ao disparo do amadurecimento (TINGWA e YOUNG, 1975; PURGATTO et al., 2002; LENG et al. 2014).

De fato, os resultados mostram que o comportamento desses hormônios ao longo do amadurecimento é similar ao encontrado em cultivares como a Nanicão (PURGATTO et al., 2001; SARAIVA et al., 2013), em que os teores de ABA aumentam e os de AIA decrescem e enquanto os níveis destes últimos permanecem altos, os frutos não amadurecem (Figura 21). No entanto, os teores iniciais do AIA são reduzidos nos frutos da Thap Maeo: ao redor de 7 ng.g^{-1} contra 10 ng.g^{-1} de cultivares do grupo Nanica. Isso explica, pelo menos em parte, o menor período existente entre o início do amadurecimento e o amadurecimento completo do fruto, uma vez que o disparo deste processo é mediado por um balanço entre a diminuição dos níveis de AIA, que parece ter ação antagônica ao etileno, e o aumento do etileno (PURGATTO et al., 2002). Este fato também é coerente com os maiores níveis de etileno máximo encontrados nos perfis dos frutos da Thap ($5 \text{ a } 10 \mu\text{L.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$), quando comparados aos de frutos da cultivar Nanicão ($2 \text{ a } 4 \mu\text{L.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Além disso, os níveis de ABA das amostras podem ser considerados altos quando comparado a Nanicão na qual o nível de ABA na fruta verde não ultrapassou 1500 ng.g^{-1} (CASTRO-ALVES, 2014).

Em relação ao ABA, houve diferença entre as amostras estudadas (Figura 21): enquanto as amostras que foram tratadas com etileno tiveram um teor

Figura 21. Teores de ácido abscísico (símbolos cheios) e ácido indol-3-acético livre (símbolos vazios). Cada gráfico representa uma concentração diferente no tratamento com etileno exógeno: zero ppm para as colheitas 9 (C9) e 10 (C10), 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm e 1000 ppm. O tratamento foi realizado no segundo dia após a colheita.

máximo de ABA de, aproximadamente, 1400 ng.g^{-1} , os frutos controle atingiram teores acima de 2000 ng.g^{-1} . Isto sugere que o tratamento com etileno diminui a importância da participação do ABA no amadurecimento, provavelmente por uma inibição provocada pelos altos níveis de etileno, enquanto que nos frutos não tratados foi necessária uma maior quantidade de ABA para que o amadurecimento ocorresse. Contudo, as diferenças observadas nos perfis de compostos voláteis, nos quais o controle teve maior quantidade de compostos, indicam a atuação direta do ABA na expressão de genes relacionados a alguns eventos isolados do amadurecimento, como já foi visto em uvas (KOYAMA, SADAMATSU E GOTO-YAMAMOTO, 2010), sugerindo envolvimento direto do etileno na ativação da maior parte das vias relacionadas ao amadurecimento, mas não de todas.

O tempo de amadurecimento de um fruto depende do balanço de alguns hormônios já identificados e, provavelmente, outros fatores que ainda não foram identificados. Apesar de muitos genes estarem envolvidos no amadurecimento, uma alteração em um gene pode diminuir ou aumentar este período, através da quantidade sintetizada de etileno. No caso da ACS, por exemplo, a presença de uma ou mais cópias de um de seus genes pode determinar o tempo para o amadurecimento. O mesmo pode acontecer para pequenas alterações em um desses genes, como já foi visto para peras e maçãs (ITAI et al., 1999; SUNAKO et al., 1999). Os fatores de resposta ao etileno (ERFs) são uma grande família de controladores de transcrição atuando na via de transdução do etileno. Os ERFs podem ser mediadores da expressão de genes da ACS e da ACO, visto que já foi vista a interação dessas moléculas com a região promotora dos genes da ACS e ACO que, conhecidamente, são regulados pelo etileno no amadurecimento (LIN et al., 2008). Na banana foram encontrados 5 genes para os fatores de transcrição EIN3-like: MA-EIL1, MA-EIL2/AB266318, MA-EIL3/AB266319, MA-EIL4/AB266320 e AB266321. Desses, apenas um (EIL2/AB266318) teve a expressão induzida no amadurecimento (MBÉGUIÉ-A-MBÉGUIÉ et al., 2008). Este panorama mostra que a resposta ao etileno no amadurecimento sofre forte influência dos fatores de transcrição e que pequenas diferenças geram grandes mudanças. Esta longa cadeia de eventos na sinalização do etileno disponibiliza elementos suficientes para um sistema de

resposta muito complexo (Figura 22). Apesar de não ser possível estabelecer precisamente o que faz o amadurecimento mais rápido da Thap Maeo em relação às outras cultivares mais conhecidas, as informações aqui levantadas, mostram que os hormônios investigados estão participando desse processo.

A alta sensibilidade ao etileno dos frutos estudados dá indícios que talvez, em comparação com a Nanica e com a Prata, estes frutos possuam um diferente arranjo das primeiras moléculas envolvidas na resposta ao etileno: os receptores. A sensibilidade ao etileno é maior quando há menos expressão dos genes de receptores e menor quando há mais expressão (TIEMAN et al., 2000). A ligação com o etileno reduz a quantidade de receptores pois aumenta a susceptibilidade destes à degradação (KEVANY et al., 2007). Na banana já foram identificados 4 receptores de etileno: ETR1, ERS1, ERS2 e ERS3 (CHIEBAO, 2011). Os diferentes receptores possuem diferentes funções e a falta de um não pode ser compensada pelo excesso de outro (WANG et al., 2003). O AIA também pode influenciar na resposta ao etileno, afetando os seus receptores. Em relação aos transcritos dos receptores, o AIA atua diferentemente em cada receptor, podendo causar redução ou aumento na transcrição (FORESTO, 2012). Este estudo corrobora com a suposição de que os baixos níveis de AIA na Thap Maeo podem contribuir para sua alta sensibilidade ao etileno. Deste modo, é possível que os frutos de Thap Maeo apresentem uma quantidade diferente (menor) de receptores ou apenas uma diferente configuração dessas proteínas.

Existe uma diferença genética entre as cultivares de banana, e no caso de diferentes grupos genômicos esta diferença é ainda maior. O amadurecimento das bananas é um fenômeno de intensa transformação, regulado de várias maneiras. Na figura 22 é possível visualizar que, mesmo em um esquema simplificado, existem vários pontos já conhecidos nos quais o amadurecimento pode ser regulado. Contudo, muitos participantes desse processo ainda são desconhecidos. Assim, a comparação da fisiologia do amadurecimento de frutos em diferentes estágios de desenvolvimento, tratados com diferentes doses de etileno ou mesmo de diferentes cultivares, pôde fornecer informações sobre a importância de cada hormônio neste processo.

Figura 22. Participação do etileno, do Ácido Abscísico (ABA), do Ácido Indol-3-acético e de fatores de transcrição no amadurecimento de bananas. EIN2 – ethylene Insensitive 2; EIL - EIN3-like; ERF - Ethylene Response Factors; ARF Auxin Response Factors; TIR1 Transport Inhibitor Response 1; ACO ACC oxidase; ACS ACC sintase. Adaptado de PECH et al., 2012. Outras referências: CHIEBAO, 2011; DHARMASIRI, DHARMASIRI e ESTELLE, 2005; MA et al., 2009.

5. Conclusões

A alta rusticidade da cultivar Thap Maeo confere não só a resistência às doenças mas também, aparentemente, às temperaturas baixas. Os frutos desenvolvidos nas estações mais frias do ano se desenvolveram mais rapidamente do que a previsão dada pela equação da idade fisiológica encontrada. Dessa forma, duas formulas devem ser usadas para calcular o momento da colheita de acordo com a estação do ano em que se deu o desenvolvimento dos frutos: para os frutos desenvolvidos na primavera e verão deve se usar a Idade Fisiológica, somando-se a média de temperaturas diárias subtraídas de 12 °C. Para os frutos desenvolvidos no outono e primavera, deve-se usar a soma térmica, que é a soma simples das temperaturas médias diárias.

Os frutos de Thap Maeo são, de fato, muito sensíveis ao etileno e todas as concentrações testadas deste hormônio acarretaram num amadurecimento semelhante. Dessa forma, recomenda-se o uso de 10 ppm (dose mais econômica) de etileno exógeno para o amadurecimento de frutos de Thap Maeo.

O rápido amadurecimento e a alta sensibilidade dos frutos são parcialmente explicados pelos teores de AIA e ABA e etileno deste fruto.

Os compostos voláteis indicam que a biossíntese de alguns desses compostos pode acontecer independente da sinalização do etileno.

6. Referências Bibliográficas

ABELES, F.; MORGAN, P.; SALTVEIT, M. Ethylene in plant biology. London: Academic Press, 2a ed., 414 p., 1992.

ADDICOTT, F.; LYNCH, R. Physiology of abscission. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* v. 6, pp. 211-238, 1955.

AGOPIAN, R.; SOARES, C.; PURGATTO, E.; CORDENUNSI, B.; LAJOLO, F. Identification of Fructooligosaccharides in Different Banana Cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 56, p. 3305-3310, 2008.

ALLEN, R.; DETTMANN, E.; JOHNS, G.; TURNER, D. Estimation of Leaf Emergence Rates of Bananas. *Aust. J. Agric.* v. 39, pp. 53-62, 1988.

ARÊAS, J.; LAJOLO, F. Starch transformation during banana ripening: I – the phosphorylase and phosphatase behavior in *Musa acuminata*. *J. Food Biochem.* v.5, pp.19-37, 1981.

ARNOLD, C. The determination and significance of the base temperature in a linear heat unit system. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, v. 74, pp. 430-445, 1959.

BENNETT, R.; SHIGA, T.; HASSIMOTTO, N.; ROSA, E.; LAJOLO, F.; CORDENUNSI, B. Phenolics and Antioxidant Properties of Fruit Pulp and Cell Wall Fractions of Postharvest Banana (*Musa acuminata* Juss.) Cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, Washington, v. 58, n. 13, p. 7991–8003, 2010.

BERGMEYER, H. Methods of enzymatic analysis, New York: Academic Press, 2ed., v.3, pp. 1212-1215, 1974.

BISSON, M.; BLECKMANN, A.; ALLEKOTTE, S.; GROTH, G. EIN2, the central regulator of ethylene signalling, is localized at the ER membrane where it interacts with the ethylene receptor ETR1. *Biochem. J.* v. 424, p. 1-6, 2009.

BURDOCK, G. A. Fenaroli's handbook of flavor ingredients. *CRC press*, 2010.

CALHAU, M. A influência da proximidade da biodiversidade da Mata Atlântica no perfil de compostos voláteis de bananas (*Musa acuminata* AAA cv. Nanicão) produzidas no Vale do Ribeira-SP. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2014.

CASTELAN, F.; SARAIVA, L.; LANGE, F.; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, L.; CORDENUNSI, B.; CHILLET, M. Effects of Black Leaf Streak Disease and Sigatoka Disease on fruit quality and maturation process of bananas produced in the subtropical conditions of southern Brazil. *Crop Protection*, v. 35, p. 127-131, 2012.

CHAO, Q.; ROTHENBERG, M.; SOLANO, R.; ROMAN, G.; TERZAGHI, W.; ECKER, J. Activation of the ethylene gas response pathway in *Arabidopsis* by the nuclear protein ETHYLENE-INSENSITIVE 3 and related proteins. *Cell*, v. 89, p. 1133-1144, 1997.

CHEN, Y.; ETHERIDGE, N.; SCHALLER, G. Ethylene Signal Transduction. *Annals of Botany*, v. 95, p. 901–915, 2005.

CHIEBAO, H. Expressão gênica dos receptores de etileno (ETR1, ERS2, ERS3 e CTR1) no desenvolvimento da banana (*Musa acuminata* cv. Nanicão) e sua correlação com variações hormonais e atributos de qualidade do fruto. 2011. Exame de Qualificação (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2011.

CHIEBAO, H. Perfis de compostos voláteis de banana submetidos a diferentes tratamentos pós-colheita e suas correlações com a expressão diferencial dos

receptores de etileno. Tese de doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2013.

CHILLET, M., ABADIE, C., HUBERT, O., CHILIN-CHARLES, Y., DE LAPEYRE DE BELLAIRE, L. Sigatoka disease reduces the greenlife of bananas. *Crop Prot*, v. 28, pp. 41-45, 2009.

CHILLET, M.; CASTELAN, F.; ABADIE, C.; HUBERT, O.; CHILIN-CHARLES, Y.; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, L. Effect of different levels of Sigatoka disease severity on banana pulp colour and early ripening. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 36, pp. 48-53, 2014.

CORDEIRO, Z.; MATOS, A.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: H. Kimati, L. Amorin, et al (Ed.). Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Editora Agronômica Ceres. Doenças da bananeira (*Musa* spp.), p.99-117, 2005.

CORDENUNSI, B. Aspectos químicos, bioquímicos e ultraestruturais do grânulo de amido durante o amadurecimento da banana. Tese de Livre-Docência, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2004.

CORDENUNSI, B.; LAJOLO, F. Starch breakdown during banana ripening - Sucrose synthase and sucrose-phosphate synthase. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 43, p. 347-351, 1995.

CORDENUNSI, B.; SHIGA T.; LAJOLO F. Non-starch polysaccharide composition of two cultivars of banana (*Musa acuminata* L.: cvs Mysore and Nanicação). *Carbohydrate Polymers*. v. 71, p. 26–31, 2008.

CORNFORTH, J.; MILBOROW, B.; RYBACK, G. Synthesis of (±)-Abscisin II. *Nature*, v. 206, p. 715, 1965.

DAVIES, P. The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In: *Plant Hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Amsterdam: *KluwerAcademic Publishers*, v.2, p.1-12, 1995.

DEMARÉE, G.; CHUINE, I. A concise history of the phenological observations at the Royal Meteorological Institute of Belgium. In: *Actes du ESF exploratory workshop. Phenology and agroclimatology*. pp. 1-11, 2006.

Dharmasiri, N.; Dharmasiri, S.; Estelle, M. The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, v. 435, pp. 441-445, 2005.

Facundo, H. Armazenamento a Baixas Temperaturas de Diferentes Cultivares de Bananas: Efeito nos Atributos de Qualidade. Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2009.

FEINBERG, M.; FAVIER, J.; IRELAND-RIPERT, J. Répertoire Général des Aliments Table de composition. *INRA, Paris*, 1991.

FOURÉ, E.; GANRY, J. Biological forecasting system to control Black Leaf Streak disease of bananas and plantains. *Fruits*, v. 63, p. 311-317, 2008.

FORESTO, M. Influência da aplicação de ácido indol-3-acético na expressão dos receptores de etileno e na atividade de duas enzimas relacionadas ao metabolismo de amido em bananas. Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2013.

FRANÇA, A. Vale do Ribeira (SP): Proposições econômicas, sociais, políticas e ambientais para o crescimento e desenvolvimento sustentável dos municípios da região administrativa de Registro. *PUC-SP, São Paulo*, 323 p., 2005.

FRENKEL, C.; DYCK, R. Auxin Inhibition of Ripening in Bartlett Pears. *Plant Physiology*, v. 51, n. 1, pp. 6-9, 1973.

FUJII, H.; CHINNUSAMY, V.; RODRIGUES, A.; RUBIO, S.; ANTONI, R.; PARK, S.; CUTLER, S.; SHEEN, J.; RODRIGUEZ, P.; ZHU, J. In vitro reconstitution of an abscisic acid signalling pathway. *Nature*, v. 462, pp. 660-664, 2009.

GANRY, J. Etude du developpement du systeme foliaire du bananier en fonction de la temperature. *Fruits*, v.28, pp. 499-516, 1973.

GANRY, J.; MEYER, J. Recherche d'une loi d'action de la température sur la croissance des fruits du bananier. *Fruits*, v. 30, p. 375–392, 1975.

GARNER, W.; ALLARD, H. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *Experiment Station Record, Dept. Ag., Washington, EUA*, v. 42, 818 p, 1920.

Given, N.; Venis, M.; Grierson, D. Hormonal regulation of ripening in the strawberry, a non-climacteric fruit. *Planta*, v. 174, pp.402-406, 1988.

GREEN, G.; KÜHNE, F. The response of banana foliar growth to widely fluctuating air temperatures. *Agroplanta*, v. 2, n. 3, pp. 105-107, 1970.

GUILFOYLE, T.; HAGEN G. Auxin response factors: Recent advances in auxin biology. *Journal of plant growth regulation*, v.20, pp. 281-291, 2001.

GUO, H.; ECKER, J. Plant responses to ethylene gas are mediated by SCF(EBF1/EBF2)-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor. *Cell*, v. 115, pp. 667–677, 2003.

HACKETT, R.; HO, C.; LIN, Z. Antisense inhibition of the Nr gene restores normal ripening to the tomato Never-ripe mutant, consistent with the ethylene receptor-inhibition model. *Plant Physiology*, v. 124, p. 1079–1085, 2000.

HARADA, M.; UEDA, Y.; IWATA T. Purification and some properties of alcohol acetyltransferase from banana fruit. *Plant Cell Physiol.* v. 26, n. 6, p. 1067-1074, 1985.

HELDT, H. Plant Biochemistry. Elsevier Academic Press, 2005

HEUR, G.; HEERMANN, D.; MCKEE, T.; BENCI, J. Predicting winter wheat phenology using temperature and photoperiod. Atmospheric Science Paper n. 296, 1978.

ITAI, A., KAWATA, T.; TANABE, K.; TAMURA, F.; UCHIYAMA, M.; TOMOMITSU, M.; SHIRAIWA, N.; Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase genes controlling the ethylene level of ripening fruit in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Mol. Gen. Genet.* v. 261, pp. 42-49, 1999.

JIANG, Y.; JOYCE, D.; MCNISH, A. Extension of the shelf life of banana fruit by 1-methylcyclopropene in combination with polyethylene bags. *Postharvest biology and technology*, v. 16, p. 187 –193. 1999.

JULLIEN, A. Croissance, développement et qualité des fruits du bananier (*Musa* spp. groupe AAA cv 'Grande Naine'). Modélisation de la répartition des assimilats entre les fruits du régime. Thèse de PhD, *Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris*, 92 p, 2000.

KEVANY, B.; TIEMAN, D.; TAYLOR, M.; DALCIN, V.; KLEE, H. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit. *Plant J.* v. 458–467, 51 p. 2007.

KEPINSKI, S.; LEYSER, O. The Arabidopsis F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, v. 435, pp. 446-451, 2005.

KHALIFAH, R. Indolyl-3-acetic acid from the developing banana fruit. *Nature*, v. 212, pp. 1471-1472, 1966.

KLEE H. Control of ethylene-mediated processes in tomato at the level of receptors. *Journal of Experimental Botany*, v. 53, p. 2057-2063, 2002.

KOYAMA, K.; SADAMATSU, K.; GOTO-YAMAMOTO, N. Absciscic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape. *Funct. Integr. Genomics*. v. 10, pp. 367–381, 2010.

LEITE, J.; SILVA, S.; ALVES, E.; LINS, R.; JESUS, O. Caracteres da planta e do cacho de genótipos de bananeira, em quatro ciclos de produção, em Belmonte, Bahia. *Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal - SP*, v. 25, n. 3, p. 443-447, 2003.

LELIÈVRE, J.; LATCHÉ, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M.; PECH, J. Ethylene and fruit ripening. *Physiologia Plantarum*, v.101, p.727-739, 1997.

LENG, P.; YUAN, B.; GUO, Y.; CHEN, P. The role of absciscic acid in fruit ripening and responses to abiotic stress. *Journal of Experimental Botany*, v. 65, pp. 4577–4588, 2014.

LIEBERMAN M.; BAKER, J. E.; SLOGER, M. Influence of Plant Hormones on Ethylene Production in Apple, Tomato, and Avocado Slices during Maturation and Senescence. *Plant Physiol.* v. 60, pp. 214-217, 1977.

LI, J.; DAI, X.; ZHAO, Y. A Role for Auxin Response Factor 19 in Auxin and Ethylene Signaling in Arabidopsis. *Plant Physiology*, v. 140, pp. 899-908, 2006.

LINDSEY, A.; NEWMAN, J. Use of Official Weather Data in Spring Time: Temperature Analysis of an Indiana Phenological Record. *Ecology*, v. 37, n. 4, pp. 812-823, 1956.

LIN, Z.; HONG, Y.; YIN, M.; LI, C.; ZHANG, K.; GRIERSON, D. A tomato HD-Zip homeobox protein, LeHB-1, plays an important role in floral organogenesis and ripening. *The Plant Journal*, v. 55, pp. 301-310, 2008.

LIU, X.; YUE, Y.; LI, B.; NIE, Y.; LI, W.; WU, W.; MA, L. A G Protein–Coupled Receptor is a plasma membrane receptor for the plant hormone abscisic acid. *Science*, v. 315, pp. 1712-1716, 2007.

LOHANI, S.; TRIVEDI, P.K.; NATH, P. Changes in activities of cell wall hydrolases during ethylene-induced ripening in banana: effect of 1-MCP, ABA and IAA. *Postharvest Biology and Technology*, v. 31, p. 119–126, 2004

LOMAS, J.; GAT, Z.; SHIFRIN, B. Methods of forecasting the ripening dates of citrus fruit in various regions of Israel. *Agr. Meteorol.* v. 7, pp. 321-327, 1970.

LUDWIG-MÜLLER, J.; GEORGIEV, M.; BLEY, T. Metabolite and hormonal status of hairy root cultures of Devil’s claw (*Harpagophytum procumbens*) in flasks and in bubble column bioreactor. *Process Biochemistry*, v. 43, p. 15-23, 2008.

MAGOON, C.; CULPEPPER, C. Response of sweet corn to varying temperatures from time of planting to canning maturity, *US Dept. Agric. Technical Bulletin*, v. 312, 1932.

MARRIOTT, J.; PALMER J. Bananas – physiology and biochemistry of storage and ripening for optimum quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 13, p. 41–88, 1980.

MASHIGUCHI, K.; TANAKA, K.; SAKAI, T.; SUGAWARA, S.; KAWAIDE, H.; NATSUME, M.; HANADA, A.; YAENO, T.; SHIRASU, K.; YAO, H.; MCSTEEN, P.; ZHAO, Y.; HAYASHI, K.; KAMIYA, Y.; KASAHARA, H. The main auxin biosynthesis pathway in *Arabidopsis*. *PNAS*, v. 108, pp. 18512-18517, 2011.

MAYR, D.; MÄRK, T.; LINDINGER, W.; BREVARDB, H.; YERETZIAN, C. Breath-by-breath analysis of banana aroma by proton transfer reaction mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, v. 223–224, pp. 743–756, 2003.

MA, Y.; SZOSTKIEWICZ, I.; KORTE, A.; MOES, D.; YANG, Y.; CHRISTMANN, A.; GRILL, E. Regulators of PP2C Phosphatase Activity Function as *Abscisic Acid* Sensors. *Science*, v. 324, pp. 1064-1068, 2009.

MBÉGUIÉ-A-MBÉGUIÉ, D.; HUBERT, O.; FILS-LYCAON, B.; CHILLET, M; BAURENS, F. EIN3-like gene expression during fruit ripening of Cavendish banana (*Musa acuminata* cv. Grande naine). *Physiologia Plantarum*, v. 133, pp. 435-448, 2008.

MCCARTY, D. Genetic control and integration of maturation and germination pathways in seed development. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* v. 46, pp.71-93, 1995.

MCGUIRE, R.G. Reporting of objective color measurements. *Hort Science*, v. 27, p.1254-1255, 1992.

MCMASTER, G., SMIKA, D. Estimation and evaluation of winter wheat phenology in the central Great Plains. *Agric. For. Meteorol.* v. 43, pp. 1-18. 1988.

MCMASTER, G.; WILHELM, W. Growing degree-days: one equation, two interpretations. *Agric. Forest Meteorol.* v. 87, p. 291–300, 1997.

MEREDITH, D. Banana Leaf Spot Disease (Sigatoka) Caused by *Mycosphaerella musicola* Leach. Common wealth Mycological Institute, Kew, England, *Phytopathological Papers*, v. 11, 147 p., 1970.

MILBORROW, B. The Identification of (+)-Abscisin II [(+)-Dormin] in Plants and Measurement of its Concentrations. *Planta*, v. 76, pp. 93-113, 1967.

MOREIRA, R. Banana: teoria e prática de cultivo. *São Paulo: Fundação Cargill*. 1 CD-Rom, 1999.

MOTA, R; LAJOLO, F; CORDENUNSI, B. Composição em carboidratos de algumas cultivares de banana (*musa spp.*) durante o amadurecimento. *Ciência e tecnologia de Alimentos, Campinas*, v. 17, n. 2, p. 94-97, 1997.

NODDLE, R.; ROBINSON, D. Biosynthesis of Absciscic acid: Incorporation of Radioactivity from [2-¹⁴C] Mevalonic Acid. *Biochem. J.* v. 112, pp. 547-548, 1969.

NAMBARA, E; MARION-POLL, A. Absciscic Acid Biosynthesis and Catabolism. *Annu. Rev. Plant Biol.* v. 56, pp. 165-185, 2005

NISHIMURA, N.; YOSHIDA, T.; KITAHATA, N.; ASAMI, T.; SHINOZAKI, K.; HIRAYAMA, T. ABA-Hypersensitive Germination1 encodes a protein phosphatase 2C, an essential component of absciscic acid signaling in *Arabidopsis* seed. *The Plant Journal*, v. 50, pp. 935–949, 2007.

NOGUEIRA, E. Principais Doenças da Bananeira. VI Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Instituto Biológico, p. 9-20, 2002.

OHKUMA, K. LYON, J.; ADDICOTT, F. Abscisin II, an Abscission-Accelerating Substance from *Young Cotton Fruit*. *Science*, v. 142, pp. 1592-1593, 1963.

OSORIO, S.; MUÑOS, C; VALPUESTA, V. Physiology and biochemistry of fruit flavors. In: *HandBook of fruit and vegetable flavors*. *Wiley*, pp. 25-43, 2010.

PANDEY, S.; NELSON, D.; ASSMANN, S. Two novel GPCR-type G proteins are abscisic acid receptors in *Arabidopsis*. *Cell*, v. 136, pp. 136-148, 2009.

PAULL, R. E. Ethylene, storage and ripening temperatures affect Dwarf Brazilian banana finger drop. *Postharvest Biology and Technology*, v. 8, p. 65-74, 1996.

PAULO, B. Efeitos de concentrações de etileno e temperaturas na climatização de bananas de regiões subtropicais. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 82p, 2010.

PEACOCK, B.; BLAKE, J. Some effects of non-damaging temperatures on the life and respiratory behavior of bananas. *Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences*, v. 27, p. 147–168, 1970.

PECH, J.; PURGATTO, E.; BOUZAYEN, M.; LATCHÉ, A. Ethylene and fruit ripening. *Annual Plant Reviews*, v. 44, pp. 275–304, 2012.

PESIS, E., IBÁÑEZ, A. M., PHU, M.L., MITCHAM, E. J., EBELER, S.E., DANDEKAR, A. M. Superficial scald and bitter pit development in cold-stored transgenic apples suppressed for ethylene biosynthesis. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 57, pp. 2786-2792, 2009.

PINO, F.; FRANCISCO, V.; PEREZ, L.; AMARO, A. A cultura da banana no Estado de São Paulo. *Informações Econômicas*, São Paulo, v.30, n.6, 2000.

PLOETZ, R. Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Phytopathology*, v. 96, n. 6, p. 653-656. 2006.

PURGATTO, E.; LAJOLO, F.; NASCIMENTO, J.; CORDENUNSI, B. Inhibition of β -amylase activity, starch degradation and sucrose formation by indole-3-acetic acid during banana ripening. *Planta*, v. 212, p. 823-828, 2001.

PURGATTO, E.; NASCIMENTO, J.; LAJOLO, F.; CORDENUNSI, B. Onset of starch degradation during banana ripening is concomitant to changes in the content of free and conjugated forms of indole-3-acetic acid. *J. Plant physiol.* v.159, pp.1105-1111, 2002.

ROBINSON, J.; HUMAN, N. Forecasting of banana harvest ('Williams') in the subtropics using seasonal variations in bunch development rate and bunch mass. *Scientia Horticulturae*, v. 34. pp. 249-263, 1988.

ROBINSON, J.; NEL, D. Comparative morphology, phenology and production potential of banana cultivars 'dwarf cavendish' and 'williams' in the eastern Transvaal Lowveld. *Scientia Horticulturae*, v. 25, pp. 149-161, 1985.

SALTVEIT, M.; Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, v. 15, pp. 279–292, 1999.

SANTOS, C.; ROBERTO, S.; SATO A.; JUBILEU, B. Caracterização da fenologia e da demanda térmica das videiras 'Cabernet Sauvignon' e 'Tannat' para a região norte do Paraná. *Acta Sci. Agron.* v. 29, n. 3, p. 361-366, 2007.

SARAIVA, L.; CASTELAN, F.; SHITAKUBO, R.; HASSIMOTTO, N.; PURGATTO, E.; CHILLET, M. CORDENUNSI, B. Black leaf streak disease affects starch metabolism in banana fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, pp. 5582-5589, 2013.

SELLI, S.; GUBBUK, H.; KAFKAS, E.; GUNES, E. Comparison of aroma compounds in Dwarf Cavendish banana (*Musa* spp. AAA) grown from open-field and protected cultivation area. *Scientia Horticulturae*, v. 141, pp. 76–82, 2012.

SHANMUGAVELU, K.; RANGASWAMI, G. Tryptophan and indole compounds in banana ovaries. *Nature*, v. 194, pp. 775-776, 1962.

SHIGA, T.; SOARES, C.; NASCIMENTO, J.; PURGATTO, E.; LAJOLO, F.; CORDENUNSI, B. Ripening-associated changes in the amounts of starch and non-starch polysaccharides and their contributions to fruit softening in three banana cultivars. *J. Sci. Food Agric*, v. 91, pp. 1511–1516, 2011.

SIMMONDS, N. Experiments on Banana Fruit Development. *Annals of Botany*, v. 24, pp. 212-222, 1960.

SIMMONDS, N.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origin of the cultivated bananas. *The Botany Journal of the Linnean Society of London*, London, v. 55, p. 302-312, 1955.

SOARES, C.; PERONI-OKITA, F.; CARDOSO, M.; SHITAKUBO, R.; LAJOLO, F.; CORDENUNSI, B. Plantain and Banana Starches: Granule Structural Characteristics Explain the Differences in Their Starch Degradation Patterns. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 59, p. 6672–6681, 2011.

SPONHOLZ, C.; BATISTA, U; ZAMBOLIM, L.; SALOMÃO, L.; CARDOSO, A. Efeito do Tratamento Hidrotérmico e Químico de Frutos de Banana ‘Prata’ no Controle da Antracnose em Pós-Colheita. *Fitopatologia Brasileira*, v. 29, pp. 480-485, 2004.

SUNAKO, T.; SAKURABA, W.; SENDA, M.; AKADA, S.; ISHIKAWA, R.; NIIZEKI, M.; HARADA, T. An allele of the Ripening-Specific 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Synthase gene (ACS1) in apple fruit with a long storage life. *Plant Physiology*, v. 119, pp. 1297-1303, 1999.

THEOLOGIS, A. One rotten apple spoils the whole bushel: the role of ethylene in fruit ripening. *Cell*, v. 70, p. 181-184, 1992.

THOMAS, P. and JANAVE, M. Effect of temperature on chlorophyllase activity, chlorophyll degradation and carotenoids of Cavendish bananas during ripening. *Int. J. Food Sci. & Tech.* v. 27, p. 57-63, 1992.

THORNTHWAITE, C. Temperature relations to time of maturity of vegetable crops. Encontro annual da sociedade de horticultura do estado de Nova Jersey, EUA Johns Hopkins Univ., Baltimore, Md. (mimeograph), 1953.

THIMANN, K. On the nature of inhibitions caused by auxin. *American Journal of Botany*, v. 24, pp. 407-412, 1937.

TIEMAN, D.; TAYLOR, M.; CIARDI, J.; KLEE, H. The tomato ethylene receptors NR and LeETR4 are negative regulators of ethylene response and exhibit functional compensation within a multigene family. *PNAS*, v. 97, pp. 5663-5668, 2000.

TINGWA, P.; YOUNG, R. The Effect of Indole-3-acetic Acid and Other Growth Regulators on the Ripening of Avocado Fruits. *Plant Physiology*, v. 55, n. 5, pp. 937-940, 1975

TRESSL, R.; DRAWERT, F. Biogenesis of Banana Volatiles. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 21, pp. 560-565, 1973.

TURNER, D.; LAHAV, E. The Growth of Banana Plants in Relation to Temperature. *Aust. J. Plant Physiol.* v. 10, pp. 43-53, 1983.

UMBER M.; PAGET B.; HUBERT O.; SALAS I.; SALMON F.; JENNY C.; CHILLET M.; BUGAUD C. Application of thermal sums concept to estimate the time to harvest new banana hybrids for export. *Scientia Horticulturae*, v. 129, p. 52-57, 2011.

VENDRELL, M. Effect of abscisic acid and ethephon on several parameters of ripening in banana fruit tissue. *Plant Science*, v. 40, pp. 19-24, 1985.

VENDRELL, M. Relationship between internal distribution of exogenous auxins and accelerated ripening of banana fruit. *Aust. J. biol. Sci.* v. 23, pp. 1133-1142, 1970.

VENDRELL, M. Reversion of senescence: effects of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid and indole acetic acid on respiration, ethylene production, and ripening of banana fruit slices. *Aust. J. biol. Sci.* v.22, pp. 601-610, 1969.

VERVERIDIS, P.; JOHN, P. Complete recovery in vitro of ethyleneforming enzyme activity, *Phytochemistry*, v. 30, 725 -727, 1991.

WANG, J. A Critique of the Heat Unit Approach to Plant Response Studies. *Ecology*, v. 41, pp. 785-790, 1960.

WANG, W.; HALL, A.; O'MALLEY, R.; BLEECKER, A. Canonical histidine kinase activity of the transmitter domain of the ETR1 ethylene receptor from *Arabidopsis* is not required for signal transmission. *PNAS*, v. 100, pp. 352-357, 2003.

WANG, J.; KUANG, J.; SHAN, W.; CHEN, J.; XIE, H.; LU, W.; CHEN, J.; CHEN, J. Expression profiles of a banana fruit linker histone H1 gene MaHIS1 and its interaction with a WRKY transcription factor. *Plant Cell Rep.* v. 31, pp. 1485–1494, 2012.

WILDMAN, S.; BONNER, J. Observations on the chemical nature and formation of auxin in the *Avena* coleoptile. *Amer. J. Bot.* v. 35, pp.740–746, 1948.

WILDMAN, S. The auxin-A, B enigma: scientific fraud or scientific ineptitude? *Plant Growth Regulation* v. 22 pp. 37–68, 1997.

WILHELM, W.; MCMASTER, G. The importance of the phyllochron in studying the development and growth of grasses. *Crop Sci.* v. 35, p. 1–3, 1995.

WILKINSON, J.; LANAHAHAN, M.; YEN, H.; GIOVANNONI, J.; KLEE, J. An ethylene inducible component of signal transduction encoded by *Never-ripe*. *Science*, v. 270, p. 1807-1809, 1995.

WOOD, I. the effect of temperature at early flowering on the growth and development of peanuts (*arachis hypogaea*). *Aust. J. agric.*, v, 19, p. 241-51, 1968.

WYLLIE, G.; FELLMAN, K. Formation of Volatile Branched Chain Esters in Bananas (*Musa sapientum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 48, pp. 3493-3496, 2000

YANG, S.; HOFFMAN, N. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* v. 35, p. 155-89, 1984.

YANG, S.; LOGAN, J.; COFFEY, D. Mathematical formulae for calculating the base temperature for growing degree days. *Agricultural and Forest Meteorology*, v. 74, pp. 61-74, 1995.

YAMAMOTO, Y.; KAMIYA, N.; MORINAKA, Y.; MATSUOKA, M.; SAZUK, T. Auxin Biosynthesis by the YUCCA Genes in Rice. *Plant Physiology*, v. 143, pp. 1362–1371, 2007

YIN, X.; KROPFF, M; GOUDRIAAN, J. Differential Effects of Day and Night Temperature on Development to Flowering in Rice. *Annals of Botany*, v. 77, p. 203-213, 1996.

ZHAO, Y.; CHRISTENSEN, S.; FANKHAUSER, C.; CASHMAN, J.; COHEN, J.; WEIGEL, D.; CHORY, J. A role for flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science*, v.291, pp. 306-309, 2001.

Sites consultados

Embrapa www.embrapa.br

FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations): www.fao.org.br

IBGE - POF: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica>

Ministério do desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior - SECEX:
<http://www.desenvolvimento.gov.br/sitio/>