



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



RAFAELLA DE LIMA ROQUE

ESTUDOS DE PROTEÔMICA EM FRUTOS DE BANANEIRA
DA CULTIVAR PRATA-ANÃ DURANTE O PROCESSO DE
MATURAÇÃO

Feira de Santana, BA

2017

RAFAELLA DE LIMA ROQUE

**ESTUDOS DE PROTEÔMICA EM FRUTOS DE BANANEIRA
DA CULTIVAR PRATA-ANÃ DURANTE O PROCESSO DE
MATURAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da
Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Dr. Edson Perito Amorim
Co-orientadores: Prof. Dr. Carlos Priminho Pirovani
Dr. Márcio Eduardo Canto Pereira

Feira de Santana, BA

2017

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Adriana Rodrigues Passos
(Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS)

Prof.^a Dr.^a Alessandra Selbach Schnadelbach
(Universidade Federal da Bahia – UFBA)

Dr.^a Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki
(Embrapa Mandioca e Fruticultura)

Prof. Dr. Rogério Mercês Ferreira Santos
(Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS)

Dr. Edson Perito Amorim
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Orientador e Presidente da banca

Aos meus pais, Geraldo Roque de Sousa (*in memoriam*) e Luiza Roque de Lima, pelo amor infinito e por tudo que fizeram por mim ao longo da minha formação, amo vocês;

Dedico.

Agradecimentos

A Deus, pela fé, saúde e coragem ao longo dessa caminhada;

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS;

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pela infraestrutura para o desenvolvimento da tese;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB, pela bolsa;

Ao meu orientador Edson Perito Amorim, pela orientação, paciência, confiança e apoio de toda ordem;

Aos meus co-orientadores: Dr.^a Cláudia Fortes, Prof. Dr. Carlos Priminho e Dr. Márcio Eduardo Canto Pereira pelos valiosos ensinamentos;

À Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC pela parceria, em especial ao Centro de Biotecnologia e Genética – CBG por disponibilizar os Laboratórios de Proteômica e Genômica;

Aos colegas Thales Cerqueira, Sara Helen, Helen Louise, Lucas, Edson Mário, Luciana Camillo, Raner José, Juliano, Milena Dória, Ângela e Horlei pela parceria e contribuições durante a execução desse trabalho.

À minha família, meu porto seguro: Mãe (Luiza Roque), irmãos (Socorro, Euda, Zádía, Edna, Edivânia, Junior, Eduarda) e sobrinhos (Pedro Sávio, Nicole, e Antônio Lucas) por serem sempre amáveis e cuidadosos comigo.

Ao meu noivo Teo, pelo amor, companheirismo e paciência ao longo desses seis anos;

À Hilçana, Jacqueline, Camila e Mara, por terem sido a minha família durante essa jornada fora de casa;

Aos amigos: Maiany, Janaira, Tamyres, Karinna, Marciene, Zalmar, Cláudia Garcia e Welinton pelo carinho, amizade e troca de conhecimento;

Aos meus amigos cearenses: Renata, Mariana, Leila, Sarah Alencar, Nara Juliana, Kaene, Waniza, Sarah Denise, Mayara, Laiane, Érika, Pedro, Naiana, Aninha e Danielle pela amizade e encorajamento.

As equipes dos laboratórios da Embrapa Mandioca e Fruticultura: Pós-colheita (Elaine Goes e Pedro Maia); Práticas Culturais de banana (Sinésio, Teles, Magalhães, Jorge, Bizunga e Rafael); Biotecnologia (Andressa, Vanderson e Sr. Raimundo) e LCTA (Jaciene), pelos ensinamentos e por sempre estarem disponíveis a ajudar;

E tantos outros que não foram citados, mas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

Muito obrigada!



Fonte. <http://www.braian.com.br/o-processo-de-amadurecimento-de-uma-banana/>

RESUMO

A banana é uma das frutas mais importantes do mundo uma vez que atributos como cor, sabor e textura, contribuem para a sua popularidade. O Brasil destaca-se mundialmente situado entre os quatro maiores produtores, juntamente com Índia, China e Filipinas, com aproximadamente 7,0 milhões de toneladas produzidas, cultivadas em uma área de 517 mil hectares. Internacionalmente, as cultivares do subgrupo Cavendish são as mais difundidas, sendo consideradas tipo exportação e responsáveis por aproximadamente 50% do comércio mundial da fruta. No Brasil, predomina o cultivo do subgrupo Prata, que ocupa aproximadamente 60% da área cultivada, em especial devido à sua boa aceitação pelo mercado interno em função de características como sabor e aroma. Após a colheita, os frutos passam por várias alterações fisiológicas e bioquímicas decorrentes do processo de maturação, entretanto diferentes condições climáticas podem alterar as características organolépticas do fruto e influenciar todo o processo de maturação. Dessa forma, objetivou-se com esse estudo, avaliar frutos de ‘Prata-Anã’ desenvolvidos em duas épocas distintas (2013 e 2015) para verificar a influência das condições climáticas na qualidade final dos frutos, bem como identificar o perfil proteico dos estádios 1, 4 e 6 de maturação e selecionar genes envolvidos no processo de amadurecimento, a partir da construção do primeiro interatoma de *Musa* spp. De acordo com normas de mercado, os frutos da época I e II foram classificados como Prata de primeira e segunda, respectivamente. As avaliações pós-colheita dos frutos de ‘Prata-Anã’ indicaram que os frutos desenvolvidos nas condições climáticas da época I apresentaram características como comprimento, diâmetro, cor e doçura dos frutos superiores aos frutos da época II. A análise proteômica realizada com frutos da época I dos estádios de maturação 1, 4 e 6, permitiu a identificação de 221 proteínas, sendo 36 exclusivas do fruto verde (E1), 14 do fruto intermediário (E4), 39 do fruto maduro (E6) e 124 diferencialmente expressas. O perfil proteico dos estádios de maturação permitiu a construção da primeira rede de interações de *Musa* spp., com a formação de grupos de funções importantes como catabolismo proteico e metabolismo de carboidratos, possibilitando a identificação de proteínas chave envolvidas no processo do amadurecimento, bem como o reconhecimento dos genes correspondentes, verificados por meio do qRT-PCR. Os resultados obtidos nessa pesquisa podem levar a busca por novas abordagens para explorar vias de controle de desenvolvimento e da maturação de frutos de bananeira.

Palavras-chave: *Musa* spp., qualidade, condições climáticas, interatoma, genes.

ABSTRACT

Bananas are one of the most important fruits worldwide since the attributes of color, flavor and texture contribute to its popularity. Brazil is among the four main banana producers, together with India, China and the Philippines, with approximately 7 million tons produced in a cultivated area of 517 thousand hectares. In the international market, cultivars of the Cavendish subgroup are more exported and responsible for approximately 50% of the world fruit market. In Brazil, bananas from the Prata-type subgroup occupy approximately 60% of the cultivated area, with great acceptance in the internal market due to its flavor and aroma. After harvested, fruits undergo many physiological and biochemical alterations due to ripening. However, different edaphoclimatic conditions may alter organoleptic characteristics of the fruit and influence the entire ripening process. Therefore, the objective of the present work was to evaluate Prata-Anã fruits grown in two different growing periods (2013 and 2015) in order to verify the influence of the edaphoclimatic conditions in the final quality of fruits. Secondly, genes involved in the ripening process were selected from the first *Musa* spp. interatome. Post-harvest evaluations of Prata-Anã fruits indicated that fruits developed under climatic conditions of period I, presented superior fruits as to length, diameter, color and sweetness, in comparison to period II. According to market rules, fruits from period I and II were classified as first and second Prata, respectively. Proteomic analysis with fruits from period I in stages of maturation 1, 4 and 6, identified 221 proteins, whereas 36 were exclusive of the green fruits (E1), 14 of the intermediary fruits (E4), 39 of the ripened fruits (E6) and 124 differentially expressed. The first interatome network of *Musa* spp. was carried out using the protein profile of the ripening stages with important groups and functions such as protein catabolism and metabolism of carbohydrates with the identification of key proteins involved in the ripening process as well as the corresponding genes validated by qRT-PCR. Results may lead to search of new approaches to explore means of control of banana fruit development and ripening.

Key-words: *Musa* spp., quality, edaphoclimatic conditions, interatome, genes.

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO GERAL	11
	REVISÃO DE LITERATURA	13
	REFERÊNCIAS	22
	CAPÍTULO 1- PERFIL PÓS-COLHEITA DE BANANA ‘PRATA-ANÃ’ EM DUAS ÉPOCAS DE COLHEITA	33
1.1	INTRODUÇÃO	36
1.2	MATERIAIS E MÉTODOS	38
1.2.1	Colheita dos frutos	38
1.2.2	Descrições das análises	38
1.2.3	Vida útil pós-colheita	39
1.2.4	Colorimetria	39
1.2.5	Análises físicas e químicas	39
1.2.6	Análise estatística	40
1.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
1.3.1	Vida útil pós-colheita	41
1.3.2	Caracterização da cor da casca dos frutos	43
1.3.3	Análises físicas e químicas	45
	CONCLUSÕES	52
	REFERÊNCIAS	53
	CAPÍTULO 2 - ALTERAÇÕES DO PERFIL PROTEICO DE POLPA DE BANANA CV. PRATA-ANÃ DURANTE O AMADURECIMENTO	58
2.1	INTRODUÇÃO	61
2.2	MATERIAIS E MÉTODOS	63
2.2.1	Colheita e caracterização dos estádios de maturação	63
2.2.2	Extração de proteínas e eletroforese em gel bidimensional	64
2.2.3	Análises das imagens dos géis	65
2.2.4	Extração de peptídeos em gel e análise por espectrometria de massas (LC/MS/MS)	65
2.2.5	Western blot	66
2.2.6	Biologia de sistemas	67
2.2.6.1	Busca de homólogos entre <i>Musa</i> spp. e <i>Arabidopsis thaliana</i>	67
2.2.6.2	Obtenção da rede interatômica	67
2.2.6.3	Análise de rede	67
2.2.7	Extração de RNA, síntese de cDNA e análise por PCR em Tempo Real	68
2.3	RESULTADOS	69
2.3.1	Estabelecimento de perfis proteicos da polpa de banana	69
2.3.2	Caracterização geral da função molecular das proteínas exclusivas envolvidas no processo de maturação	71
2.3.3	Validação dos dados proteômicos por Western blot	72
2.3.4	Interação proteína-proteína	75

2.3.4.1	Análise de clusters e ontologia gênica	75
2.3.5	Níveis de expressão das proteínas do interatoma de <i>Musa</i> spp.	77
2.3.6	Expressão gênica	80
2.4	DISCUSSÃO	83
2.4.1	Cor da casca e funções moleculares	84
2.4.2	Perfil diferencial das proteínas validadas por <i>Western blot</i>	86
2.4.3	Expressão de proteínas e genes informativos do interatoma de <i>Musa</i> spp. envolvidos no processo maturação	86
2.4.3.1	Proteínas associadas com o processo de metabolismo de carboidratos (<i>Cluster 1</i>)	86
2.4.3.2	Proteínas associadas com o amadurecimento (<i>Cluster 3</i>)	89
2.4.3.3	Proteínas associadas com o processo catabólico proteico (<i>Cluster 6</i>)	90
	CONCLUSÕES	94
	REFERÊNCIAS	95
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	104
	ARQUIVOS SUPLEMENTARES	105

INTRODUÇÃO GERAL

A banana é considerada a fruta mais produzida e consumida no mundo, sendo explorada na maioria dos países tropicais. No *ranking* de produção, o Brasil destaca-se na quarta posição, com aproximadamente 7,0 milhões de toneladas produzidas, cultivadas em uma área de 517 mil hectares, atrás da Índia, China e Filipinas (FAOSTAT, 2014).

Detém grande importância econômica e social; é responsável por movimentar a economia de diversos países produtores, além de servir de alimento básico para várias camadas sociais. No Brasil é cultivada em praticamente todo o território, com destaque para as regiões Nordeste e Sudeste, representadas pelos Estados da Bahia, São Paulo e Minas Gerais, maiores produtores da fruta (SOUZA et al., 2011; IBGE, 2016).

Em relação ao valor bruto de produção (VBP) nacional para essa cultura, dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento informam que a banana rendeu 15,5 bilhões de reais ao país no ano de 2016, classificando-a como a quinta cultura mais importante, atrás apenas da soja, cana-de-açúcar, milho e café (MAPA, 2016).

Dada a importância da banana no cenário nacional, a cultura ainda permeia alguns entraves, como os relacionados à qualidade da fruta. A banana é considerada um fruto perecível, sensível a danos mecânicos e ao etileno, razão pela qual sua comercialização deve ser rápida e cuidadosa (VILAS BOAS et al., 2001). Para garantir um fruto de qualidade é necessário um maior cuidado com o manejo, colheita e a pós-colheita, pois essas fases são mais susceptíveis a danos mecânicos, que acabam por refletir na aparência do produto e depreciação da fruta no mercado interno, o que reduz a oportunidade de exportação (LICHTENBERG et al., 2016).

Apesar do número de cultivares de bananas existentes, quando se consideram aspectos como preferência dos consumidores brasileiros, as mais difundidas são as do subgrupo Prata, em especial a cultivar Prata-Anã. Sua produção tem se destacado no cenário nacional por apresentar porte médio a alto, e frutos de sabor doce a suavemente ácido (RATKE et al., 2012; AMORIM et al., 2016).

A cultivar Prata-Anã surgiu no Sul catarinense, a partir da mutação da banana ‘Branca’. Conhecida também como ‘Enxerto’, é considerada uma planta vigorosa, dispensando escoramento. Seu genoma é triploide (AAB), composto pela combinação dos parentais selvagens *Musa acuminata* (genoma A) e *Musa balbisiana* (genoma B) (LICHTENBERG, 2001; CRESTE et al., 2003). Seleccionada e avaliada pela Embrapa Mandioca e Fruticultura, foi recomendada aos agricultores brasileiros no ano de 1985 (ALVES et al., 1985).

Considerados climatéricos, os frutos da bananeira são colhidos ainda verdes e após a colheita passam por várias alterações fisiológicas e bioquímicas, tornando-os aptos para o consumo. Essas mudanças são naturais do processo de maturação, porém o desenvolvimento do cacho pode sofrer influência do clima, de técnicas e de práticas de cultivo que podem alterar atributos, tais como a cor da casca, o conteúdo de sólidos solúveis e o teor de amido, prejudicando com isso a qualidade final do fruto (SOTO BALLESTERO, 1992; COSTA, 1998; PRASANA et al., 2007; TAPRE e JAIN, 2012).

As transformações inerentes ao processo de maturação podem ser analisadas por meio das avaliações pós-colheita, que permitem identificar a evolução dos estádios de maturação, bem como quantificar características como: acidez, pH, sólidos solúveis, cor da casca, teor de amido, dentre outras variáveis. O conhecimento das alterações nas propriedades físicas e químicas, durante o amadurecimento, possibilita um melhor entendimento sobre a fisiologia da fruta.

Além da caracterização realizada por meio da avaliação pós-colheita, análises moleculares como a proteômica e a genômica possibilitam respostas mais aprofundadas, promovendo maior robustez e confiabilidade aos dados. Essas técnicas no âmbito da maturação de frutos permitem identificar proteínas relacionadas às etapas de maturação, bem como os genes que as expressam. As informações obtidas a partir desses procedimentos moleculares tornaram-se mais seguras após a conclusão do sequenciamento do genoma da bananeira, o que promoveu novas perspectivas para o melhoramento genético dessa fruteira (D'HONT et al., 2012).

Dentro dessa premissa, alguns estudos foram realizados envolvendo frutos de bananeira do subgrupo Cavendish. Toledo et al. (2012) avaliaram a cultivar Nanicão nos estádios pré-climatérico e climatérico, o que permitiu a obtenção de mapas proteicos e a identificação de proteínas com prováveis funções durante o amadurecimento, além de uma possível relação com os processos bioquímicos relacionados à qualidade da fruta.

Liu et al. (2012) ao investigarem em frutos de bananeira do subgrupo Cavendish o gene de endoquitinase (MaECH11), em diferentes estádios de maturação, perceberam que os maiores níveis de expressão do gene coincidiram com o momento da maturação, inferindo a participação do mesmo no processo de amadurecimento.

Assim, os resultados oriundos das ciências 'ômicas', como por exemplo a proteômica, permitem o estudo da proteína como parte integrante de uma rede complexa, não apenas como uma entidade isolada, tornando-se possível à compreensão do sistema biológico (DE KEERSMAECKER et al., 2006; SOUZA et al., 2014).

Dessa forma, ferramentas como a bioinformática podem auxiliar na interpretação dos dados moleculares gerados, que aliada à biologia de sistemas, permitem a construção de redes de interação a partir das moléculas identificadas, a exemplo das proteínas, possibilitando a compreensão dos processos biológicos, como função, localização e regulação celular.

O programa de melhoramento genético da bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura têm enfrentado desafios, porém anos de pesquisa permitiram êxitos de extrema relevância para o melhoramento genético da espécie, como o desenvolvimento de cultivares resistentes às principais pragas e doenças, ao estresse hídrico e outras características agronômicas, porém, um dos principais entraves é a melhoria da qualidade pós-colheita dos frutos.

Objetivou-se com esse trabalho verificar a influência das condições climáticas na qualidade final dos frutos, bem como selecionar genes envolvidos no processo de amadurecimento, a partir da construção do primeiro interatoma de *Musa* spp.

REVISÃO DE LITERATURA

A CULTURA DA BANANEIRA

Cultivada em uma extensa área, desde os trópicos até subtropicais, a bananeira possui o Sudeste da Ásia e o Oeste do Pacífico como centros de origem, além de uma considerável diversidade genética presente na África Ocidental, onde ganhou popularidade e importância econômica (CHAMPION, 1963; VALMAYOR, 2001; DE LANGHE et al., 2009).

A bananicultura se destaca como atividade de grande importância econômica e social, sendo cultivada em uma extensa região tropical em todo mundo, geralmente por pequenos agricultores. Em regiões mais pobres, é considerada como grande fonte de carboidratos, onde essa dependência de milhões de pessoas carentes a coloca como alimento principal em fonte de nutrientes. Contém vitamina C e quantidades razoáveis de vitamina A, B1, B2, pequenas quantidades de vitaminas D e E, além de grandes percentagens de potássio, fósforo, cálcio e ferro, que ultrapassam a quantidade presentes em frutas como a maçã e a laranja (DANTAS et al., 1999; FASOLIN, 2007).

O Brasil é o quarto produtor mundial de banana, com produção de aproximadamente 7,0 milhões de toneladas em 2016, em uma área de 517 mil hectares (IBGE, 2016). Ao contrário da bananicultura latino-americana de exportação, baseada nas cultivares do subgrupo Cavendish, no Brasil predominam bananas do subgrupo Prata (SILVA et al., 2016), com

destaque para a 'Prata-Anã', a mais produzida e consumida no país, o que evidencia a tradição de seu cultivo e a sua boa aceitação comercial (DONATO et al., 2009).

Apesar de ser um dos maiores produtores, o Brasil possui sua produção voltada para o consumo interno, pois além de dispor de baixa tecnologia de colheita, a banana possui características que necessitam para uma comercialização ágil e cuidadosa, como rápida maturação, sensibilidade a danos mecânicos e ao amolecimento excessivo (VILAS BOAS et al., 2001; PEREIRA et al., 2011).

São altos os níveis de perdas e desperdícios de alimentos no Brasil, que abrangem tanto as cadeias produtivas como as de distribuição. Os produtos hortícolas e frutícolas desde o instante em que são colhidos, até o momento do preparo ou consumo sofrem uma série de danos que comprometem a qualidade final do mesmo (BORDIN, 1998; RIOSECO, 2007).

A banana é uma das frutas no qual essa questão é relevante. No Brasil, o elevado índice de perdas em sua comercialização faz com que apenas uma parcela, entre 50 a 60% da produção, chegue à mesa do consumidor (MASCARENHAS, 1999).

Entre as principais causas de perdas pós-colheita, encontram-se a falta de transporte adequado, o uso de embalagens impróprias, a falta de amadurecimento controlado e a não utilização da cadeia do frio para armazenagem. A falta de cuidados no manejo pós-colheita é um dos fatores responsáveis pela desvalorização da banana no mercado interno e pela perda de oportunidade de exportação da fruta brasileira (CAMARGO et al., 2002; LICHTENBERG et al., 2016).

INFLUÊNCIA DO CLIMA NAS CARACTERÍSTICAS DA BANANEIRA

Para o desenvolvimento normal da bananeira, o clima deve ser favorável, mas nem todas as áreas produtoras apresentam condições climáticas ideais (PEREZ et al., 1973). A temperatura, por exemplo, pode influenciar processos de crescimento e desenvolvimento da bananeira, que pode alterar o metabolismo, interferindo na atividade das enzimas que dele participam (LARCHER, 2000; ROBINSON e SAÚCO, 2010).

De acordo com a literatura, a atividade vegetativa é paralisada abaixo de 16 °C; considera-se a temperatura ótima para o crescimento e a iniciação floral a de 22 °C; já a temperatura média de 31° C é classificada como a ótima para a taxa de emergência foliar. Em relação a precipitação, aproximadamente 100 mm por mês são necessários para um crescimento satisfatório (TURNER e LAHAV, 1983; ROBINSON e SAÚCO, 2010).

Sobre a umidade relativa do ar, a bananeira apresenta um melhor desenvolvimento com médias anuais acima de 80%, uma vez que esse valor permite uma maior rapidez na emissão, maior longevidade e uniformização na coloração dos frutos (BORGES e SOUZA, 2004).

A elevação da temperatura é acompanhada de baixa umidade e precipitação, e com esses estresses há um decréscimo da fotossíntese e conseqüentemente uma redução na emissão de folhas, número de pencas e tamanho de frutos (DONATO et al., 2016).

Entretanto, com a difusão desta cultura por praticamente todos os países do mundo, processos de adaptação acompanharam esta espécie, possibilitando plantios comerciais em regiões onde o clima não é tão favorável (PAULO, 2010).

Apesar da adaptação de algumas cultivares a determinadas regiões, alguns genótipos apresentam melhores condições de desenvolvimento do que outros. Assim estudos realizados em Santa Catarina revelaram que cultivares do subgrupo Prata (AAB) apresentam danos menores relacionados ao frio nos frutos quando comparados as bananas do grupo Cavendish (AAA) (ZAFFARI et al., 1995; LICHTENBERG et al., 2001).

As alterações ocasionadas na bananeira decorrentes das variações de fatores climáticos como precipitação, temperatura e umidade, também podem afetar a qualidade pós-colheita dos frutos. De acordo com Chitarra e Chitarra (2005) uma mesma cultivar pode apresentar variações físicas com redução da aparência, bem como diferenças de sabor, aroma, textura, espessura da casca ou potencial de armazenamento; sendo essas variações uma possível resposta fisiológica as condições ambientais.

Estudos relataram que frutos de ‘Prata-Anã’ desenvolvidos em épocas mais frias, apresentam maior média de sólidos solúveis quando comparados com frutos produzidos em épocas mais quentes (VIVIANI e LEAL 2007), o que evidencia a influência do clima nas características dos frutos de banana.

AMADURECIMENTO E AVALIAÇÕES PÓS-COLHEITA

Os frutos da bananeira são classificados como climatéricos e essa peculiaridade permite a colheita do cacho ainda verde, porém fisiologicamente desenvolvido. Características como contagem dos dias após emissão da inflorescência, coloração da casca, angulosidade das quinhas e o diâmetro do fruto auxiliam na determinação do ponto de colheita (LICHTENBERG et al., 2016).

Durante o processo de maturação da banana ocorre o aumento da produção de etileno pelo fruto, considerado o principal responsável pela aceleração desse processo e pela

senescência (LICHTEMBERG et al., 2016). Os níveis de etileno variam durante a maturação; quando o fruto está verde os níveis são baixos e constantes, com o amadurecimento ocorre um aumento, e na senescência uma redução. Essas características tornam a vida pós-colheita relativamente curta, apresentando mudanças acentuadas durante o amadurecimento (BRACKMANN, 2006; PINHEIRO, 2009).

Os frutos da bananeira são altamente perecíveis e sensíveis a danos mecânicos e ao etileno, o que acarreta em uma comercialização rápida e cuidadosa para que cheguem ao seu destino em boas condições (VILAS BOAS et al., 2001; PEREIRA et al., 2011).

As mudanças fisiológicas que ocorrem, durante o amadurecimento da banana tornam os frutos saborosos e comestíveis, para isso algumas enzimas participam do processo de maturação dos frutos, atuando, por exemplo, na modificação da estrutura da parede celular e na degradação do amido em açúcares solúveis (CORDENUNSI e LAJOLO, 1995; PERONI-OKITA et al., 2010).

Dentro desta ótica, encontram-se a pectinesterase e a poligalacturonase que agem na degradação da pectina na parede celular, aumentando a concentração da pectina solúvel, que por sua vez altera a textura da polpa tornando-a macia durante a maturação (VERMA et al., 2015). A isoamilase atua como enzima desramificadora, auxilia na hidrólise do amido, produzindo uma mistura de oligossacarídeos e açúcares solúveis, tornando o fruto com textura e sabor agradável (BIERHALS et al., 2004; ROSSETTO et al., 2004).

As transformações bioquímicas ao longo do desenvolvimento e na fase pós-colheita são responsáveis por modificações sensoriais e nutricionais (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Com base nessa premissa, alguns parâmetros químicos foram adotados para avaliar a qualidade pós-colheita da polpa de banana, entre eles os mais comuns são: pH, acidez titulável, sólidos solúveis, relação sólidos solúveis/acidez (SS/ATT), açúcares redutores, açúcares não-redutores, açúcares totais, substâncias pécticas e teor de amido (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Entre os atributos físicos de qualidade mais avaliados nos frutos de bananeira destacam-se: comprimento, diâmetro, peso, firmeza, resistência ao despencamento e coloração; esse último possui importante papel na percepção da aparência pelo consumidor e pode estar mais diretamente relacionada a maturidade do fruto (CHITARRA e CHITARRA, 2005; CASTRICINI, 2015).

Para a classificação dos estádios de amadurecimento em bananas, é utilizada a escala de Von Loesecke (1950), baseada na coloração da casca, onde são estabelecidos sete estádios de maturação. Além dessa avaliação visual, usa-se a colorimetria, que mede a cor por meio de características como tonalidade, luminosidade e grau de saturação, disponibilizando

informações em termos numéricos, facilitando a interpretação e comparação dos dados (LOPES et al., 1998; MELCHIADES e BOSCHI, 1999).

Além das mudanças externas, como a cor da casca, ocorrem também modificações na polpa. A adstringência, por exemplo, é resultante da ação de compostos fenólicos, como os taninos que inviabilizam o consumo do fruto verde in natura. Durante o processo de maturação, ocorre uma redução na adstringência, seguida da polimerização dos compostos fenólicos e a degradação do amido, e essas mudanças tornam o fruto doce, macio e menos ácido, sinalizando o amadurecimento (SILVA et al., 2015).

O aumento dos níveis de etileno no início do amadurecimento em frutos climatéricos, como é o caso da banana, é considerado como o fator iniciador dessas modificações. O etileno controla o amadurecimento, coordenando a ativação de vários genes responsáveis pelas transformações nos tecidos (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Além disso, uma vez iniciado o amadurecimento, em frutos climatéricos não pode ser controlado de forma eficiente. Assim, a biologia molecular, no âmbito da proteômica e genômica, podem auxiliar na identificação de genes que atuam no controle dos processos de amadurecimento dos frutos, permitindo uma melhor compreensão dos fatores associados com o amadurecimento (SRIVASTAVA et al., 2008; GUPTA et al., 2008; SRIVASTAVA et al., 2012).

GENÔMICA FUNCIONAL

A primeira planta a ter o genoma completo sequenciado foi a *Arabidopsis thaliana* (The Arabidopsis Initiative 2000), passando a ter como meta a determinação da função de cada gene. Outras plantas, a exemplo do arroz (*Oryza sativa*) e da banana (*Musa* spp.) (LONG et al., 2008; D'HONT et al., 2012), também possuem o genoma completamente sequenciado. O sequenciamento do genoma da bananeira foi finalizado em 2012 pelo *Global Musa Genomics Consortium* com a participação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). O acesso ao genoma completo da bananeira permite a identificação de genes responsáveis por caracteres importantes na cultura, tais como a cor, tamanho, teor de açúcares e enzimas.

Apesar de várias espécies de plantas possuírem o genoma decifrado, a *Arabidopsis thaliana* ainda é utilizada como planta modelo, permitindo que outras espécies de plantas possam ter as sequências de genes e proteínas comparadas as da mesma, o que favorece a identificação de sequências homólogas, levando ao entendimento dos sistemas biológicos de outras espécies (LONG et al., 2008).

Vale ressaltar que apesar da importância do sequenciamento, percebeu-se a necessidade de entender as atribuições dos genes e proteínas no funcionamento dos organismos, visto que o genoma possui caráter estático enquanto seus produtos RNAs mensageiros (transcriptoma) e proteínas (proteoma) possuem a natureza dinâmica, determinada por alterações em resposta à estímulos internos e externos (FURLAN et al 2007).

Dessa forma surge a genômica funcional, também conhecida como pós genômica, que traz técnicas como a transcriptômica, proteômica e metabolômica, com o objetivo de isolar e caracterizar RNA, proteínas e metabólitos, respectivamente (FURLAN et al., 2007; ESPÍNDOLA et al., 2010). A associação desses dados, permite entender a interação dinâmica das macromoléculas e como o sistema genético responde as alterações e estímulos ambientais, capazes de se adaptar a situações específicas (FURLAN et al., 2007; LONG et al., 2008).

Na área de amadurecimento de frutos, vários estudos envolvendo a genômica funcional já foram desenvolvidos, a exemplo de trabalhos com mamão (NOGUEIRA et al., 2012); maçã (ZHENG et al., 2013); damasco (D'AMBROSIO et al., 2013), melão (GUO et al., 2017); manga (ANDRADE et al., 2012; SRIVASTAVA et al., 2016) e banana (ELITZUR et al., 2010; TOLEDO et al, 2012; DU et al., 2016), o que têm propiciado um melhor entendimento a respeito da bioquímica do processo.

Dentro dessa premissa, para a cultura da bananeira, as pesquisas concentram-se com as cultivares do subgrupo Cavendish, que são as preferidas pelo mercado internacional, divergindo do cenário brasileiro que predominam as bananas do subgrupo Prata, com destaque para a 'Prata-Anã' (DONATO et al., 2009; SILVA et al., 2016), razão pela qual surge a necessidade de estudos com essa cultivar.

PROTEÔMICA

As diversas mudanças bioquímicas e estruturais que ocorrem no amadurecimento dos frutos, são rápidas e resultantes da ação de diversas enzimas, que são coordenadas a partir de genes e de fitohormônios, como o etileno, considerado o responsável pelo início e continuidade do amadurecimento (PECH et al., 2008; ELITZUR et al., 2010, TOLEDO et al., 2012).

O desenvolvimento e amadurecimento em frutos climatéricos é um processo complexo que sofre influência de fatores como luz, hormônios e temperatura, e são regulados pela expressão gênica, que traz mudanças na cor, textura, sabor e aroma (NATH et al., 2005; BAPAT et al., 2010; ASIF et al., 2014).

Do ponto de vista molecular, o fenótipo pode ser descrito em termos de mRNA e de proteínas associadas ao genoma, que por sua vez podem ser influenciadas pelo ambiente, tornando-se bastante complexa a relação entre o genótipo e fenótipo (MATTICK, 2003). A atividade das proteínas está proximamente associada à função do gene, uma vez que é o produto final da regulação da atividade gênica.

Dessa forma, a proteômica visa caracterizar o conjunto de proteínas expressas em um dado momento, tornando-se uma poderosa ferramenta no melhoramento genético. Diferentemente do que ocorre quando são utilizados marcadores fenotípicos ou baseados em DNA, a proteômica fornece informação em nível molecular da variabilidade genética que é efetivamente expressa no genoma (WILKINS et al., 1996; PENNINGTON e DUNN, 2001).

Estudos do proteoma complementam os da transcriptômica, e também fornecem informações mais completas e úteis sobre as proteínas e os seus complexos diretamente responsáveis pela sinalização e processos metabólicos. Dado o seu potencial para produzir informações inequívocas para a identidade das proteínas, localizações e modificações pós-translacionais, a proteômica tornou-se um componente integrante de todas as “ômicas” de grande escala (DOYLE, 2011).

Estudos têm sido publicados envolvendo análises proteômicas durante o amadurecimento de frutos de bananeira, bem como outros enfoques. Dominguez-Puigjaner et al. (1992) publicaram um dos primeiros trabalhos explicando o amadurecimento de frutos de bananeira por meio da proteômica. Os autores analisaram de forma qualitativa a polpa da banana do subgrupo Cavendish em quatro fases, nomeadas como pré-climatérico, climatérico inicial, climatérico e pós-climatérico. Foram observadas mudanças no acúmulo de proteínas com o amadurecimento do fruto, além da presença constante de algumas proteínas nos quatro estádios, com alterações significativas nas concentrações de alguns peptídeos.

Zhang et al. (2012) buscaram otimizar um método de extração de proteínas a partir da casca de bananas do subgrupo Cavendish, bem como investigar as que estariam relacionadas ao amadurecimento. A extração com fenol foi a mais eficaz, com mais de 300 *spots* detectados. A eletroforese em gel bidimensional demonstrou uma boa separação das proteínas e a identificação realizada pelo espectrômetro de massas resultou na descoberta das proteínas envolvidas em processos como a glicólise, o ciclo do ácido tricarboxílico e a síntese de etileno.

Ainda na temática amadurecimento, Toledo et al. (2012) publicaram um estudo com a cultivar Nanicão, pertencente ao subgrupo Cavendish, onde avaliaram a polpa dos frutos no estádio pré-climatérico e climatérico. Os mapas proteicos obtidos a partir dos dois estádios

avaliados foram bastante similares. Entretanto, a comparação dos mesmos por 2DE-DIGE revelou diferenças significativas na abundância de proteínas na polpa de banana.

Além das análises proteômicas da polpa e casca, que permitem um melhor entendimento dos processos bioquímicos durante o amadurecimento, outras estruturas da bananeira, tais como as folhas e o meristema foram alvos de estudos com foco no estresse hídrico (CARPENTIER et al., 2007; LU et al., 2013). A proteômica também forneceu subsídios a estudos fitopatológicos, a exemplo dos trabalhos com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal da murcha de *Fusarium*, o qual permitiu a avaliação da germinação dos conídios em diferentes tempos, bem como a identificação de enzimas chave, confirmadas a partir da técnica de Western blot (DENG et al., 2015).

Alguns testes como Western blot são realizados para validar os dados da proteômica (HAVANAPAN et al., 2016). Essa técnica também conhecida como *protein blotting* ou *immunoblotting*, é um importante método utilizado para imunodeteção de proteínas, após a separação destas por eletroforese em gel e transferência para uma membrana adsorvente (KURIEN e SCOFIELD, 2006). Por ser um método semi-quantitativo, baseado na ligação da proteína de interesse em um anticorpo específico, essa análise permite detectar, caracterizar e quantificar múltiplas proteínas, principalmente aquelas que estão em baixas quantidades em determinada amostra (KURIEN e SCOLFELD, 2003; RIBEIRO, 2009).

Clendennen et al. (1998) ao estudarem a proteína P31 perceberam sua associação com o desenvolvimento e maturação precoce de frutos de bananeira, antes associada apenas com a patogenicidade. Com intuito de verificar novas relações com outras partes da bananeira, foi realizada análise de Western blot com amostras da casca, meristema, folha e raiz, entretanto apenas a amostra de polpa foi reconhecida pelo antissoro. Além dessa identificação, a técnica apontou que a P31 diminui sua abundância relativa durante a maturação.

BIOLOGIA DE SISTEMAS

Com o sequenciamento dos genomas de diferentes organismos, muitos dados são gerados, o que promove o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas que permitem avanços nas ciências intituladas “ômicas”, como a transcriptômica, proteômica e metabolômica. O termo “ômica” refere-se à análise global dos sistemas biológicos. Para a interpretação desses resultados, a bioinformática tornou-se uma ferramenta de fundamental importância. O domínio dessa ferramenta cresceu em paralelo a esses avanços que juntamente com a internet

possibilitam a análise de dados, bem como o gerenciamento e a integração de bancos de dados (ESPÍNDOLA et al., 2010).

Como parte da bioinformática, a biologia de sistemas traz as interações entre os componentes de um sistema biológico, e como estas fazem emergir função e comportamento no sistema, surgindo os interatomos (GE et al., 2003).

O estudo do conjunto de interações macromoleculares, físicas e genéticas é denominado de interatoma, sendo que o alinhamento ou comparação global de duas ou mais redes, visando identificar regiões similares é uma das etapas chave da análise em larga escala (SHARAN e IDEKER, 2006). As redes de interação proteína-proteína em larga escala são avaliadas para diferentes modelos de organismos. Em se tratando de vegetais, a planta modelo em estudos genéticos é a *Arabidopsis thaliana*, a primeira a ter o genoma completamente sequenciado (ESPÍNDOLA et al., 2010; THE ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE, 2000).

Na construção das redes interatômicas, são utilizados softwares como: String, Cytoscape, Osprey, HiMAP, dentre outros. A escolha depende do organismo estudado, como também do banco de dados no qual está depositada a sequência estudada, por exemplo, NCBI ou Swiss-Prot. O objetivo final do interatoma é unir as informações seja do genoma, proteoma e/ou metaboloma, gerando informações que auxiliem no entendimento de funções e ações do que se busca (ESPÍNDOLA et al., 2010).

São restritas as pesquisas com a cultura da bananeira que agreguem dados da proteômica à biologia de sistemas. A maioria dos trabalhos são finalizados com a identificação das proteínas e dos seus processos biológicos (TOLEDO et al., 2012; ZHANG et al., 2012).

Em um trabalho com proteínas de membrana extraídas das folhas da bananeira Cachaço, foi utilizado o software Cytoscape para aumentar a confiança na identificação de um peptídeo à sua proteína. Um programa de visualização como Cytoscape pode facilitar a detecção de peptídeos e a visualização da confiança na identificação de proteínas. Nesse programa, os peptídeos são atribuídos a proteínas específicas ligadas por meio de conectores (VERTOMMEN et al., 2011). Entretanto, ainda não há trabalhos publicados com a cultura da bananeira que façam uso de redes para explicar as interações entre as proteínas envolvidas em processos biológicos, a exemplo do amadurecimento.

A bioinformática torna-se cada vez mais importante em termos de integração da informação, buscando impulsionar a aquisição de conhecimento sobre os sistemas biológicos para a geração de novas saídas para problemas. Tornou-se quase impossível avançar em biotecnologia sem a integração da tecnologia da informação com a tecnologia experimental (PIRES et al., 2008).

REFERÊNCIAS

ALVES, E.J.; SHEPHERD, K.; FERREIRA, F.R.; Cultivares de banana caracterizadas e avaliadas no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura. **Comunicado Técnico**, Embrapa, Cruz das Almas - BA, n. 5, p. 1-8, 1985.

AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. S.; AMORIM, V. B. O.; SILVA, S. O. S. **Melhoramento genético**. In: FERREIRA, C. F. et al (Org). **O agronegócio da banana**. Brasília, Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016. 832p.

ANDRADE, J. A.; TOLEDO, T. T.; NOGUEIRA, S. B.; CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M.; NASCIMENTO, J. R. O. 2D-DIGE analysis of mango (*Mangifera indica* L.) fruit reveals major proteomic changes associated with ripening. **Journal of proteomics**, v. 75, n. 11, p. 3331-3341, 2012.

ASIF, M. H.; LAKHWANI, D.; PATHAK, S.; GUPTA, P.; BAG, S. K.; NATH, P.; TRIVEDI, P. K. Transcriptome analysis of ripe and unripe fruit tissue of banana identifies major metabolic networks involved in fruit ripening process. **BMC Plant Biology**, v. 14, n. 316, p. 2-15, 2014.

BAPAT, V. A.; TRIVEDI, P. K.; GHOSH, A.; SANE, V. A.; GANAPATHI, T. R.; NATH, P. Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene. **Biotechnol Advances**, v. 28, n. 1, p. 94–107, 2010.

BIERHALS, J. D.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R.; OLIVEIRA do NASCIMENTO, J. R.. Activity, cloning, and expression of an isoamylase-type starch-debranching enzyme from banana fruit. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 24, p. 7412-7418, 2004.

BORDIN, M. R. **Embalagem para frutas e hortaliças**. In: II CURSO D ATUALIZAÇÃO EM TECNOLOGIA DE RESFRIAMENTO DE FRUTAS E HORTALIÇAS. Campinas: unicamp, 1998 (apostila).

BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. Exigências edáfico climáticas. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S (Org.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279 p.

BRACKMANN, A.; STEFFENS, C.; SESTARI, I.; NEUWALD, D.; HETTWER, R. Armazenamento em atmosfera modificada e controlada de a banana ‘Prata’ com absorção de etileno. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 914-019 2006.

CAMARGO, G. A.; NAKAMAE, I. J.; PASTRELLO, C. P. Perdas pós-colheita de verduras e frutas frescas. **Anuário da Agricultura Brasileira (AGRIANUAL)**. São Paulo. p. 41- 42, 2002.

CARPENTIER, S. C.; WITTERS, E.; LAUKENS, K.; VAN ONCKELEN, H.; SWENNEN, R.; PANIS, B. Banana (*Musa spp.*) as a model to study the meristema proteome: Acclimation to osmotic stress. **Proteomics**, v.7, n. 1, p. 92–105, 2007.

CASTRICINI, A.; SANTOS, L.; DELIZA, R.; COELHO, E.; RODRIGUES, M. Caracterização pós-colheita e sensorial de genótipos de bananeiras Tipo Prata. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 37, n. 1, p. 027-037, 2015.

CHAMPION, J. **Le bananier**. Paris, Maisonneuvée Larose. p. 264, 1963.

CHITARRA, M. I. F, CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de Frutos e Hortaliças: Fisiologia e Manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, p.785, 2005.

CLENDENNEN, S. K.; LOPEZ-GOMEZ, R.; GOMEZ-LIM, M. The abundant 31-kilodalton banana pulp protein is homologous to class-III acidic chitinases. **Phytochemistry**, v. 47, n. 4, p. 613-619, 1998.

CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M. Starch breakdown during banana ripening: sucrose syntase and sucrose phosphate synthase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 347-351, 1995.

COSTA, J. N. M. **Proteção de cachos de bananeira (*Musa sp. AAA*) em diferentes épocas e períodos, após a emergência da inflorescência**. 1998. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; SILVA, S. de O.; FIGUEIRA, A. Genetic characterization of banana cultivars (*Musa spp.*) from Brazil using microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v.132, n. 3, p.259-268, 2003.

D' HONT, A.; DENOUD, F.; MARC-JEAN, A. et al. The banana (*Musa acuminata*) genome and evolution of monocotyledonous plants. **Nature**, v. 488, n. 7410, p. 213-217, 2012.

D'AMBROSIO, C.; ARENA, S.; ROCCO, M.; VERRILLO, F.; NOVI, G.; VISCOSI, V.; et al. Proteomic analysis of apricot fruit during ripening. **Journal of proteomics**, v. 78, p. 39-57, 2013.

DANTAS, J. L. L. et al. Citogenética e melhoramento genético. In: ALVES, E. J. (Org.). **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**, 2. ed. Brasília: Embrapa-SPI /Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, 1999. p. 107-150.

DE KEERSMAECKER, S. C.; THIJS, I.; VANDERLEYDEN, J.; MARCHAL, K. Integration of omics data: how well does it work for bacteria. **Molecular microbiology**, v. 62, n. 5, p. 1239-1250, 2006.

DE LANGHE, E.; VRYDAGHS, L.; DE MARET, P.; PERRIER, X.; DENHAM, T. Why bananas matter: an introduction to the history of banana domestication. **Ethnobotany Research and Applications**, Montpellier, v.7, n. 1, p. 165-177, 2009.

DENG, G. M.; YANG, Q. S.; HE, W. Di.; LI, C. Y., et al. Proteomic analysis of conidia germination in *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4 reveals new targets in ergosterol biosynthesis pathway for controlling *Fusarium* wilt of banana. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, p.7189–7207, 2015.

DOMINGUEZ-PUIGJANER, E.; VENDRELL, M.; LUDEVID, M. D. Differential Protein Accumulation in Banana Fruit during Ripening. **Plant Physiol**, v. 98, n. 1, p. 157-62, 1992.

DONATO, S. L. R.; MAGALHÃES, A. A.; CORDEIRO, Z. J. M. Comportamento fitotécnico da bananeira 'Prata-Anã' e de seus híbridos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.12, p.1608-1615, dez. 2009.

DONATO, S. L. R.; COELHO, E. F.; MARQUES, P. R. R.; ARANTES, A. M. **Considerações ecológicas, fisiológicas e de manejo**. In: FERREIRA, C. F. et al (Org). **O agronegócio da banana**. Brasília, Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016. 832p.

DOYLE, S. Fungal proteomics: from identification to function. **Fems Microbiology Lett**, v. 321, n. 1, p. 1–9, 2011.

DU, L.; SONG, J.; FORNEY, C.; PALMER, L. C.; FILLMORE, S.; ZHANG, Z. Proteome changes in banana fruit peel tissue in response to ethylene and high-temperature treatments. **Horticulture research**, v. 3, p. 16012, 2016.

ELITZUR, T.; VREBALOV, J.; GIOVANNONI, J. J.; GOLDSCHMIDT, E. E.; FRIEDMAN, H. The regulation of MADS-box gene expression during ripening of banana and their regulatory interaction with ethylene. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 5, p. 1523-1532, 2010.

ESPÍNDOLA, F. S.; CALÁBRIA, L. K.; de REZENDE, A. A. A.; PEREIRA, B. B.; SANTANA, F. A.; AMARAL, I. M. R. et al. Recursos de bioinformática aplicados às ciências ômicas como genômica, transcriptômica, proteômica, interatômica e metabolômica. **Biosciense Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 463-477, 2010.

FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2014. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org>>. Acesso em: 29 de março de 2017.

- FASOLIN, L. H.; ALMEIDA, G. D.; CASTANHO, P. S.; NETTO-OLIVEIRA, E. R. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 524-529, 2007.
- FURLAN, L. R.; FERRAZ, A. L. J.; BORTOLOSSI, J. C. A genômica funcional no âmbito da produção animal: estado da arte e perspectivas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 331-341, 2007.
- GE, H., WALHOUT, A. J. M., VIDAL M. Integrating ‘omic’ information: a bridge between genomics and systems biology. **Trends in Genetics**, v. 19, n. 10, p.551-560. 2003.
- GUO, X.; XU, J.; CUI, X.; CHEN, H.; QI, H. iTRAQ-based Protein Profiling and Fruit Quality Changes at Different Development Stages of Oriental Melon. **BMC Plant Biology**, v. 17, n. 1, p. 28, 2017.
- GUPTA, S. M.; SRIVASTAVA, S.; GUPTA, S.; AHMED, Z. Genetic manipulation of fruit ripening: using Antisense mRNA strategies. **J Appl Biosci**, v.34, p. 115–123, 2008.
- HAVANAPAN, P. O.; BOURCHOOKARN, A.; KETTERMAN, A. J.; KRITTANAI, C. Comparative proteome analysis of rubber latex serum from pathogenic fungi tolerant and susceptible rubber tree (*Hevea brasiliensis*). **Journal of Proteomics**, v.131, p. 82–92, 2016.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. LSPA, Levantamento sistemático da Produção Agrícola. 2016. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201212.pdf >. Acesso em 30 de março de 2017.
- KURIEN, B. T.; SCOFIELD, R. H. Protein blotting: a review. **Journal of Immunological Methods**. Amsterdam, v. 274, n. 1, p. 1-15, 2003.
- KURIEN, B. T.; SCOFIELD, R. H. Western blotting. **Methods**. San Diego v. 38, n. 4, p. 283-293, 2006.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, p. 531, 2000.

LICHTEMBERG, L. A.; ALVES, E. J.; VILAS BOAS, E. V. B.; PEREIRA, M. E. C. **Colheita, manuseio pós-colheita e conservação dos frutos**. In: FERREIRA, C. F. et al (Org). **O agronegócio da banana**. Brasília, Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016. 832p.

LICHTEMBERG, L.A. Pós-colheita de banana. In: Simpósio Norte Mineiro sobre a Cultura de Banana, Montes Claros: Unimontes, p. 105-130, 2001.

LICHTEMBERG, L. A., MALBURG, J. L., HINZ, R. H. Cold damage in bananas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n.3, p. 568-572, 2001.

LIU, J. H.; ZHANG, J.; XU, B. Y.; ZHANG, J. B.; JIA, C. H.; WANG, J. S.; JIN, Z. Q. Expression analysis of banana MaECHI1 during fruit ripening with different treatments. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 66, p. 12951-12957, 2012.

LONG, T. A.; BRADY, S. M.; BENFEY, P. N. Systems approaches to identifying gene regulatory networks in plants. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 24, p. 81-103, 2008.

LOPES, R. P.; HARA, T.; SILVA, J. S. Avaliação da qualidade de grãos de café pela colorimetria. **Engenharia na agricultura**, Viçosa, v. 6, n. 3, p. 160-169, 1998.

LU, Y.; QI, Y.X.; ZHANG, H. Separation and identification of *Musa acuminata* Colla (banana) leaf proteins by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 4, p. 6871-6881, 2013.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/valor-bruto-da-producao-de-2016-e-de-r-523-6-bilhoes>>. Acesso em: 01 de abril de 2017.

MASCARENHAS, G.C.C. Banana: Comercialização e mercados. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 196, p. 97-108, 1999.

MATTICK, J. S. Challenging the dogma: the hidden layer of non-protein-coding RNAs in complex organisms. **BioEssays**, v. 25, n. 10, p. 930-939, 2003.

MELCHIADES, F. G.; BOSCHI, A. O. Cores e tonalidades em revestimentos cerâmicos. **Cerâmica Industrial**, v. 4, n. 1-6, p. 11-18, 1999.

NATH, P.; SANE, V.A.; SANE, A.P.; TRIVEDI, P. K. Regulation of Plant Gene Expression. **In Encyclopedia of Molecular and Cell Biology and Molecular Medicine**, v. 10, p. 307–358, 2005.

NOGUEIRA, S. B.; LABATE, C. A.; GOZZO, F. C.; PILAU, E. J.; LAJOLO, F. M.; NASCIMENTO, J. R. O. Proteomic analysis of papaya fruit ripening using 2DE-DIGE. **Journal of proteomics**, v. 75, n. 4, p. 1428-1439, 2012.

PAULO, Bruno Kreuzburg. **Efeitos de concentrações de etileno e temperaturas na climatização de bananas de regiões subtropicais**. 2010. 95f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia ênfase em Horticultura). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PECH, J. C.; BOUZAYEN, M.; LATCHÉ, A. Climateric fruit ripening: ethylene-dependent and independent regulation of ripening pathways in melon fruit. **Plant Science**, v. 175, n. 1, p. 114-120, 2008.

PENNINGTON, S. R.; DUNN, M .J. Proteomics: from protein sequence to function. New York: **Springer-Verlag eBIOS scientific Plubishers**, v. 1, 2001.

PEREIRA, V. M.de O.; MORAIS, P. L. D. de.; AMBRÓSIO, M. M. de Q.; WANDERLEY, J. A. C.; SOUSA, J. S. Qualidade pós-colheita de cultivares de bananas comercializadas em Pombal – PB. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v.5, n.1, p. 49 – 55, 2011.

PEREZ, F. P. Z.; SIMÃO, S.; MANICA, I. A influência da época de seleção do rebento sobre o desenvolvimento das plantas matrizes em bananeira Musa Cavendish Lamb. CV Nanicão, **Anais da E. S. A. “Luiz de Queiroz”**, v. 30, p. 335-351 1973.

PERONI-OKITA, F. H. G.; SIMÃO, R. A.; CARDOSO, M. B.; SOARES, C. A.; LAJOLO, F. M., CORDENUNSI, B. R. In vivo degradation of banana starch: Structural characterization of the degradation process. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 2, p. 291-299, 2010.

PINHEIRO, Juceliandy Mendes da Silva. **Tecnologia Pós-colheita para conservação de bananas da cultivar Tropical**. 2009. 59f. Dissertação (Produção vegetal no semiárido). Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES.

PIRES, C. V.; SANTANA, F. A.; TANURE, J. P. M. Da Genômica à Biologia de Sistemas: Panorama atual e Perspectivas. **Mesa Redonda**. Seminário em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa. Disponível em:
<http://www.ufv.br/dbg/resumos2008b/Resumo%20Fernanda.htm>. Acesso em: 30 mar. 2008.

PRASANA, V., PRABHA, T. N., THARANATHAN, R. N. Fruit ripening phenomena-na overview. **Reviews in Food Science and Nutrition**, n. 47, p. 1-19, 2007.

RATKE, R. F.; SANTOS, S. C.; PEREIRA, H. S.; SOUZA, E. D. D.; CARNEIRO, M. A. C. Desenvolvimento e produção de bananeiras Thap Maeo e Prata-Anã com diferentes níveis de adubação nitrogenada e potássica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 1, p. 277-288, 2012.

RIBEIRO, E. B. Thematic section - methods in nutrition. Studying the central control of food intake and obesity in rats. **Reviews in Food Science and Nutrition**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 163-171, 2009.

RIOSECO, M. J. Pratos Vazios– Dia Mundial da Alimentação. Santiago – Chile. **Revista Líderes**. p. 69-77, 2007.

ROBINSON, J. C.; GALÁN SAÚCO, V. Bananas and plantains. **Crop production science in horticulturae**, v 19, p. 311, 2010.

ROSSETTO, M. R. M.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Influência do ácido giberélico na degradação do amido durante o amadurecimento da banana. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 24, n. 1, p. 076-081, 2004.

SHARAN, R.; IDEKER, T. Modeling cellular machinery through biological network comparison. **Nature Biotechnology**, New York, v. 24, n. 4, p. 427-433, 2006

SILVA, A. dos. A.; BARBOSA JUNIOR, J. L.; BARBOSA, M. I. M. J. Farinha de banana verde como ingrediente funcional em produtos alimentícios Green banana flour as a functional ingredient in food products. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.12, p.2252-2258, 2015.

SILVA, S. de O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; BORGES, A. L. **Cultivares**. In: FERREIRA, C. F. et al (Org). **O agronegócio da banana**. Brasília, Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016. 832p

SOTO BALLESTERO, M. **Bananos: cultivo y comercialización**. 2. Ed. San José: Imprenta Lil, 1992. 674p

SOUZA, J. T. A., BEZERRA, I. T. F., de FARIAS, A. L., FERREIRA, T. C., SILVA, K. E., OLIVEIRA, S. J. C. 12036-Diagnóstico sócio-produtivo da cultura da banana no Município de Lagoa Seca-PB. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n.2, p. 1-4, 2011.

SOUZA, L. L.; RHODEN, S. A.; PAMPHILE, J. A. A Importância das ômicas como ferramentas para o estudo da prospecção de microrganismos: perspectivas e desafios. **Uningá Review**, v. 18, n. 2, 2014.

SRIVASTAVA, S.; GUPTA, S. M. Role of differentially expressed ripening related genes and promoters in banana fruit: identified by mRNA DDRT-PCR. **Research In Environment And Life Sciences**, v. 1, p. 81-90, 2008.

SRIVASTAVA, S.; GUPTA, S. M.; SANE, A. P.; NATH, P. Isolation and characterization of ripening related pectin methylesterase inhibitor gene from banana fruit. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 18, n. 2, p. 191–195, 2012.

SRIVASTAVA, S.; SINGH, R. K.; PATHAK, G., GOEL, R.; ASIF, M. H.; SANE, A. P.; SANE, V. A. Comparative transcriptome analysis of unripe and mid-ripe fruit of *Mangifera indica* (var.“Dashehari”) unravels ripening associated genes. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.

TAPRE, A. R., JAIN, R. K. Study of advanced maturity stages of banana. **International Journal of Advanced Engineering Research and Studies**, v. 1, p. 272-274, 2012.

THE ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. **Nature**, v. 408, n. 6814, p. 796, 2000.

TOLEDO, T. T.; NOGUEIRA, S. B.; CORDENUNSI, B. R., GOZZO, F. C.; PILAU, E. J.; LAJOLO, F. M.; NASCIMENTO, J. R. O. Proteomic analysis of banana fruit reveals proteins that are differentially accumulated during ripening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 70, p. 51–58. 2012.

TURNER, D. W.; LAHAV, E. The Growth of banana plants in relation to temperature. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 10, n.1, p. 43-53, 1983.

VALMAYOR, R.V. Classification and characterization of *Musa exotica*, *M. alinsanaya* and *M. acuminata* ssp. *Errans*. **Infomusa**, Montpellier, v.10, n.2, p.35-39, 2001.

VERMA, C.; SINGH, R. K.; SINGH, R. B.; MISHRA, S. Biochemical and In-silico Studies on Pectin Methylsterase from G9 Variety of *Musa acuminata* for Delayed Ripening. **The open biochemistry journal**, v. 9, p. 15, 2015.

VERTOMMEN, A.; MULLER, A.L.B.; CORDEWENER, J.H.G. et al. A workflow for peptide-based proteomics in a poorly sequenced plant: A case study on the plasma membrane proteome of banana. **Journal of Proteomics**, v. 7, n. 4, p. 1218 – 1229, 2011.

VILAS BOAS, E. V. B.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; MENEZES, J. B. Banana Pós- Colheita. Brasília: **Embrapa Informação Técnica**, p. 15-19, 2001.

VIVIANI, L.; LEAL, P. M. Qualidade pós-colheita de banana Prata Anã armazenada sob diferentes condições. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP**, v. 29, n. 3, p. 465-470, 2007.

VON LOESECKE, H. W. **Bananas**. 2.ed. New York: Interscience, p.189, 1950.

WILKINS, M. R.; SANCHEZ, J. C.; WILLIAMS, K. L.; HOCHSTRASSER, D. F. Current challenges and future applications for protein maps and posttranslational vector maps in proteome projects. **Electrophoresis**, v.17, n. 5 , p.830-838, 1996.

ZAFFARI, G.R.; LICHTENBERG, L.A.; STUKER, H. Grau de susceptibilidade ao frio de cultivares de bananeira em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.17, n.3, p.69- 75, 1995.

ZHANG, Li-Li.; FENGA, Ren-Jun.; ZHANGA, Yin-Dong. Evaluation of different methods of protein extraction and identification of differentially expressed proteins upon ethylene-induced early-ripening in banana peels. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 10, p. 2106-2115, 2012.

ZHENG, Q.; SONG, J.; CAMPBELL-PALMER, L.; THOMPSON, K., LI, L.; WALKER, B. et al. A proteomic investigation of apple fruit during ripening and in response to ethylene treatment. **Journal of proteomics**, v. 93, p. 276-294, 2013.

CAPÍTULO 1

Perfil pós-colheita de banana da ‘Prata-Anã’ em duas épocas de colheita ¹

¹Trabalho formatado de acordo com as normas da Revista Journal of the Science of Food and Agriculture.

RESUMO

O Brasil é o quarto produtor mundial de banana, com aproximadamente 7,0 milhões de toneladas produzidas no ano de 2016. A bananicultura está presente em todas as regiões geográficas brasileiras, o que confere elevada importância econômica e social. Durante o processo de maturação ocorrem várias mudanças fisiológicas e bioquímicas que tornam os frutos saborosos e comestíveis. Fatores externos tais como: clima, técnicas e práticas de cultivo podem comprometer o amadurecimento, alterando a qualidade dos frutos. Objetivou-se com esse trabalho avaliar as características pós-colheita da banana ‘Prata-Anã’ produzida em duas épocas distintas e sua influência na qualidade pós-colheita. Os frutos desenvolvidos na época I (maior precipitação e menor temperatura) e II (menor precipitação e maior temperatura) foram avaliados para os seguintes parâmetros: cor, comprimento e diâmetro do fruto, diâmetro da polpa, espessura da casca, peso da polpa, rendimento polpa casca, firmeza e rendimento da polpa, acidez total, sólidos solúveis, relação acidez e sólidos solúveis (ratio), pH, teor de amido e açúcares redutores. Os frutos de ‘Prata-Anã’ desenvolvidos em épocas diferentes não indicaram diferença em relação a vida útil pós-colheita, porém as bananas da época I apresentaram maiores valores para os parâmetros comprimento e diâmetro do fruto em relação aos frutos da época II, classificando as bananas como Prata de primeira e Prata de segunda, respectivamente. O aumento da precipitação e a redução da temperatura favoreceram coloração mais atrativa e maior doçura para os frutos da época I. Assim, foi possível observar que bananas da cultivar Prata-Anã desenvolvidas na mesma área e condições de manejo cultural, podem apresentar variações das características pós-colheita como consequência das alterações climáticas.

Palavras-chave: *Musa* spp., estádios de amadurecimento, vida útil pós-colheita, caracterização dos frutos, qualidade.

ABSTRACT

Brazil is the fourth worldwide banana producer with approximately 7 million tons produced in 2016. Banana growing is present in all regions of Brazil with great economic and social relevance. During the ripening process many physiological and biochemical changes occur which make fruits flavorful and edible. External factors such as climate, cultivation techniques and cultural practices, may compromise ripening altering fruit quality. The objective of the present work was to evaluate the post-harvest characteristics of Prata-Anã bananas produced in two different periods and its influence in post-harvest quality. Fruits grown in period I (greater precipitation and lower temperatures) and period II (lower precipitation and higher temperatures), were evaluated as to the following parameters: color, length, diameter of fruits, pulp diameter, peel thickness, pulp weight, pulp-peel yield, firmness and pulp yield, total acidity, soluble solids, pH ratio, starch and reducing sugars. The Prata-Anã fruits developed in different periods did not show any difference as to post-harvest shelf-life, however, bananas from period I presented higher values for the fruit length and diameter parameters in comparison to fruits from period II, classifying the bananas as first and second Prata, respectively. Increase in precipitation and lower temperatures favored a more attractive coloration and greater sweetness for fruits from period I. Therefore, bananas from the Prata-Anã cultivar grown in the same area and cultural management conditions may present variations of the post-harvest characteristics such as a consequence of edaphoclimatic alterations.

Key-words: *Musa* spp., ripening stages, post-harvest shelf-life, fruit characterization, quality.

1.1 INTRODUÇÃO

A banana é uma espécie amplamente cultivada em todo o mundo, possuindo importância tanto no que se refere à produção quanto à comercialização, sendo considerada um alimento rico em vitamina A, em fibras e potássio. Além de ser um valioso produto para exportação é fonte de geração de emprego para muitas famílias de pequenos produtores em vários países produtores da fruta (FIOVARANÇO, 2003; FASOLIN et al., 2007).

O Brasil é o quarto produtor mundial da fruta, com aproximadamente 7 milhões de toneladas em uma área cultivada de 517 mil hectares. Entre as regiões brasileiras, o Sudeste e o Nordeste destacam-se com as maiores produções, em especial os Estados da Bahia, São Paulo e Minas Gerais que juntos respondem por 43% da produção nacional (FAOSTAT, 2014; IBGE, 2016). Em 2016, o valor bruto de produção de banana brasileiro foi de 15,5 bilhões de Reais, colocando a fruta em 8º lugar no *ranking* dos principais produtos agropecuários (MAPA, 2016).

Entre as cultivares mais apreciadas pelos brasileiros, destacam-se as do subgrupo Prata, com destaque para a ‘Prata-Anã’, que ocupa aproximadamente 60% da área cultivada, em especial devido à sua boa aceitação em função de características como sabor e aroma (AMORIM et al., 2009; SILVA et al., 2016). Por outro lado, no cenário mundial a preferência do consumidor recai sobre as cultivares do subgrupo Cavendish, que respondem por aproximadamente 50% do comércio mundial da fruta (LOEILLET et al., 2011).

Apesar da banana ser classificada como uma das frutas mais consumidas existem fatores limitantes à expansão da bananicultura brasileira, como por exemplo o ataque de doenças, entre as quais a Sigatoka-amarela (*Mycosphaerella musicola*, Leach), a Sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet) e a murcha de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*). Além dos problemas citados, a cadeia produtiva de banana também sofre intensamente com perdas pós-colheita, que em alguns casos podem chegar a 40% do total produzido (MAIA et al., 2008; SARTORI e MENEGALLI, 2016; SILVA et al., 2016).

Por ser uma fruta climatérica, é possível realizar a colheita do cacho na maturidade fisiológica, mesmo sem ter atingido o amadurecimento. Esse fato deve-se, em parte, ao hormônio etileno, produzido pelo fruto e responsável por desencadear uma série de alterações fisiológicas necessárias ao amadurecimento, entre os quais mudanças na cor da casca, amaciamento da polpa e aumento no teor de açúcares (BLEINROTH et al., 1992; XIAO et al., 2013).

Diversos fatores externos no período da pré-colheita podem influenciar as mudanças que ocorrem durante o amadurecimento dos frutos, em especial aqueles associados com às

condições climáticas (temperatura, luminosidade, umidade e disponibilidade de água) (SOTO BALLESTERO, 1992; COSTA, 1998). A avaliação pós-colheita de frutos desenvolvidos em épocas do ano distintas, permite compreender a interferência das condições climáticas na evolução dos estádios de maturação e na qualidade final dos frutos.

Alguns estudos relatam que as condições climáticas podem influenciar na redução do ciclo de produção em bananeira. Temperaturas abaixo de 14°C e acima de 34°C podem retardar ou antecipar a colheita dos cachos, respectivamente (SOTO BALESTERO, 2000; ROBINSON e SAÚCO, 2010; DONATO et al., 2016).

Em um trabalho desenvolvido por Viviani e Leal (2007) foi possível observar que frutos de banana da cultivar Prata-Anã, quando produzidos em épocas contrastantes, apresentaram alterações em parâmetros relacionados à qualidade, entre os quais a acidez titulável e os sólidos solúveis, que foram maiores em frutos colhidos em época com maior precipitação e menor temperatura, quando em comparação com frutos colhidos em épocas quentes e secas.

Frutos do subgrupo Cavendish colhidos na época quente apresentaram cores mais intensas e menores valores de luminosidade quando comparadas aos frutos colhidos em época fria (BUGAUD et al., 2007).

Na Martinica, frutos de Grande Naine desenvolvidos em dois anos distintos mostraram maior teor de ácido cítrico e málico em frutos colhidos no período seco e frio quando comparados aos frutos de época chuvosa e quente (BUGAUD et al., 2009).

Além dos frutos de bananeira, outras fruteiras também apresentaram alterações decorrentes das condições climáticas. Veras et al. (2000) trabalhando com maracujá doce, observaram diferença significativa na relação SS/ATT (ratio) entre épocas, com redução desse parâmetro em temperaturas mais amenas. Em macieira, além de alterações na qualidade do fruto, foram observadas modificações na fenologia e no florescimento (DIAMANTIDIS et al., 2002; CHMIELEWSKI et al., 2004).

Apesar de serem poucas as publicações na área de pós-colheita que enfatizem a influência do clima no processo de amadurecimento de frutos de bananeira, percebe-se que outras culturas também evidenciam as alterações do clima ao longo do crescimento, do desenvolvimento e da qualidade dos frutos.

Assim, objetivou-se com esse trabalho identificar alterações nas características pós-colheita de frutos de banana da cultivar Prata-Anã produzidos em duas épocas contrastantes quanto à temperatura média e precipitação.

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado com frutos da cultivar 'Prata-Anã' colhidos na área experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura, situada no Recôncavo da Bahia, na cidade de Cruz das Almas (12°40'19"S e 39°06'22"W, 220 m acima do nível do mar). O clima da região é classificado como tropical úmido (Köppen-Geiger), com temperatura anual média de 23°C, umidade relativa em torno de 80% e precipitação anual de 1.136 mm (CLIMATE-DATE.ORG, 2017).

1.2.1 Colheita dos frutos

Os frutos foram colhidos do mesmo plantio em outubro de 2013 e em maio de 2015, correspondendo ao segundo e terceiro ciclos de produção e o plantio foi manejado de acordo com as recomendações da cultura (ALVES et al., 2004). Foram colhidos a quantidade de cinco cachos aos 130 dias após a floração, quando os frutos estavam fisiologicamente desenvolvidos, com a coloração da casca verde clara e diâmetro em torno de 34 mm para o fruto central da segunda penca (MAHAJAN et al., 2010; LICHTEMBERG et al., 2016). Os dados climáticos referentes aos meses de desenvolvimento dos frutos dos anos de 2013 e 2015, tais como temperatura, umidade relativa e precipitação foram obtidos a partir da estação agroclimatológica convencional instalada na Embrapa Mandioca e Fruticultura.

1.2.2 Descrições das análises

Após a colheita, os cachos foram encaminhados ao Laboratório de Pós-colheita da Embrapa Mandioca e Fruticultura para a realização do despencamento, onde foram descartadas a primeira e última pencas, visando uniformizar as amostras. Na sequência, os frutos foram individualizados e aqueles que estavam isentos de danos mecânicos e bem desenvolvidos foram selecionados e higienizados utilizando-se detergente e água corrente, e em seguida foram identificados, acomodados em bandejas plásticas e armazenados em temperatura média de armazenamento de $24 \pm 0,9$ °C.

Para os frutos das duas épocas de colheita foram realizadas avaliações quanto à vida útil pós-colheita e mensuradas diferentes características físicas e químicas em sete estádios de maturação.

1.2.3 Vida útil pós-colheita

Para a avaliação da vida útil pós-colheita (dias entre a colheita e o estágio 7 de maturação), 50 frutos provenientes da segunda penca foram selecionados e separados em bandejas plásticas. Os mesmos frutos foram avaliados diariamente quanto aos estádios de maturação, determinado-se notas de acordo com a variação da coloração da casca, utilizando-se a escala de maturação de Von Loesecke, que varia de 1 a 7, sendo 1 - totalmente verde; 2 - verde com traços amarelos; 3 - mais verde do que amarelo; 4 - mais amarelo do que verde; 5 - amarelo com ponta verde; 6 - amarelo; 7 - amarelo com áreas marrons (VON LOESECKE, 1950). A análise foi encerrada quando 50% dos frutos atingiram o estágio 7, momento que foi considerado como limite da vida útil pós-colheita de acordo com parâmetros estabelecidos pela Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo para a comercialização de banana (CEAGESP, 2006).

1.2.4 Colorimetria

Para a análise da cor da casca foram realizadas leituras colorimétricas diárias em dois pontos opostos na parte central, dos mesmos 50 frutos usados para determinação da vida útil. Foi utilizado o colorímetro Konica Minolta, modelo CR-400, registrando-se os valores L^* , C^* e Ângulo de cor Hue . O parâmetro L^* indica o grau de luminosidade, variando entre zero (preto) e 100 (branco); C^* , representa a cromaticidade e expressa a intensidade da cor, variando de zero (cores neutras) a 60 (cores vívidas); já o ângulo de cor Hue , assume valor zero para cor vermelha, 90° para amarelo, 180° para verde e 270° para azul (MENDONÇA et al., 2003).

1.2.5 Análises físicas e químicas

Para as análises físicas e químicas foram separados 100 frutos das duas épocas de colheita, para cada época foram selecionados doze frutos de cada estágio de maturação para compor seis repetições de dois frutos.

A caracterização física foi realizada a partir de avaliações como: comprimento do fruto (CFR - mm); diâmetro do fruto e da polpa (DPO - mm); espessura da casca (EC - mm); peso da polpa (PPO - g); rendimento de polpa (RP - %); relação polpa/casca (RPC) e firmeza da polpa (FP - N). Já as análises químicas, foram avaliadas a partir de uma amostra composta com as polpas dos dois frutos correspondentes as repetições de cada estágio, as quais foram trituradas com água destilada na proporção de 1:1 (polpa: amostra), sendo realizadas as seguintes avaliações: sólidos solúveis (SS), com auxílio de refratômetro digital Atago, modelo

PR-32 α , expressos em °Brix (AOAC, 1997); acidez titulável (AT), com resultados expressos em % de ácido málico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985); relação SS/AT, e pH, obtido por meio de leitura direta em pHmetro digital de bancada, Hanna, modelo pH21.

Com a finalidade de quantificar o teor de amido dos frutos desenvolvidos nas épocas I e II, foram realizadas análises com três repetições de 4 g da parte central da polpa de cada estágio de maturação. Para a extração, as amostras foram trituradas e centrifugadas com água destilada gelada para a remoção dos açúcares solúveis. Após a lavagem, as mesmas foram transferidas para Erlenmeyer contendo água e ácido clorídrico, onde permaneceram sob fervura por uma hora. Depois de resfriarem as amostras foram neutralizadas com carbonato de cálcio, avolumadas para balão de 500 mL e filtradas. Para a quantificação utilizou-se triplicatas de três tubos de ensaio com 1 mL do filtrado somados a 1 mL do reativo de Somogyi, aquecidos em banho-maria a 100 °C por 10 minutos. Após resfriados e agitados, acrescentou-se 1 mL do reativo de Nelson e 7 mL de água destilada. Posteriormente, as amostras foram agitadas e lidas a um comprimento de onda de 520 nm e o resultado final das leituras foi expresso em g de amido por 100 g de amostra (OLIVEIRA, 2010).

Além da quantificação do amido para os sete estágios de maturação dos frutos de ambas as épocas de colheita, foram realizadas análises de açúcares redutores; a extração foi obtida por meio da maceração individual de 1g da amostra de polpa em 50 mL de água destilada, seguido de filtração. Esse procedimento foi realizado em três amostras de 1 g para cada estágio, compondo assim as repetições. O sistema de análise compreendeu 1 mL do filtrado somando-se a 1 mL da solução de ácido 3-5 dinitrosalicílico (DNS), em um tubo de ensaio, que foi levado para banho-maria a 100 °C por 5 min. Após o resfriamento em banho de gelo e completado o volume para 10 mL, seguiu-se com a leitura a 540nm (VASCONCELOS et al., 2013).

1.2.6 Análise estatística

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições, de dois frutos por estágio de maturação para cada época.

Os dados foram submetidos a análise de variância considerando o fatorial entre as épocas e os estágios de maturação (épocas x estágios). O teste de Tukey foi estabelecido para comparar as médias entre as duas épocas e o de Scott e Knott para agrupar as médias entre os estágios de maturação, considerando 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas pelo programa *Statistical Analysis System* (SAS) (Sas Institute Inc., 2010).

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora o sistema de cultivo tenha sido o mesmo para os dois experimentos, observou-se diferenças entre as condições climáticas das épocas I (2013) e II (2015). A primeira época foi marcada por maiores médias de precipitação e umidade e baixa temperatura média, em comparação com o período II (Figura 1).

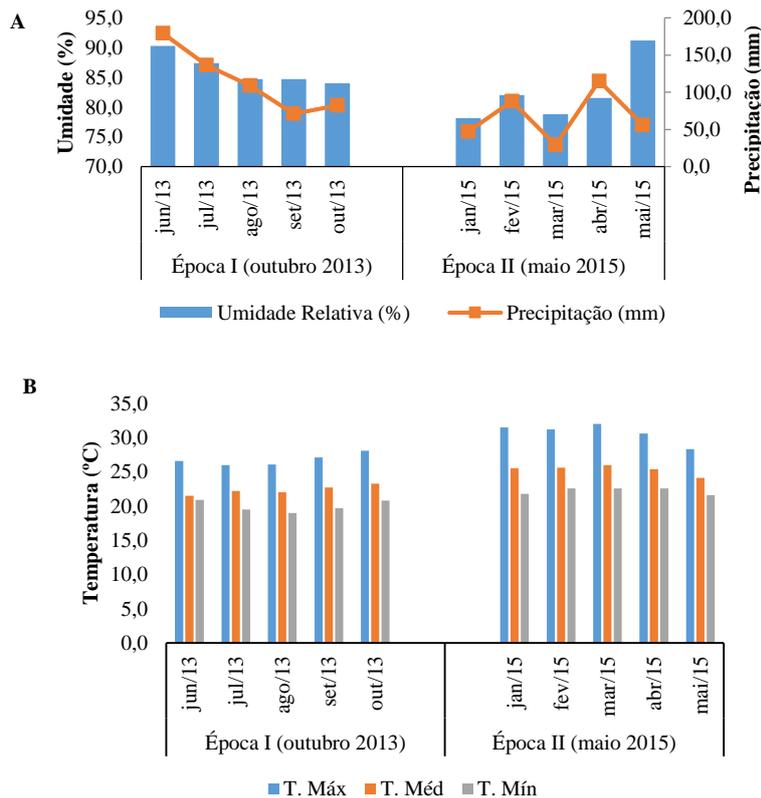


Figura 1. Médias de umidade relativa, precipitações (A) e temperaturas (B) durante os meses de desenvolvimento dos frutos de ‘Prata-Anã’ nos épocas I (2013) e II (2015) em Cruz das Almas – BA. Fonte: Departamento de meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, 2017.

1.3.1 Vida útil pós-colheita

O amadurecimento dos frutos da cultivar Prata-Anã desenvolvidos em épocas distintas ocorreu de forma semelhante, ambos com duração média de 11 dias, observando-se maiores mudanças nos últimos dias de avaliação (Figura 2). A opção por padronizar a colheita dos frutos aos 130 dias após a floração está alinhada com resultados de trabalhos realizados nas mesmas condições de cultivo. Roque et al. (2014), ao avaliarem o desempenho agrônômico da ‘Prata-Anã’ em Cruz das Almas – BA, durante dois ciclos de produção e nas mesmas condições de cultivo, encontraram da floração a colheita uma média de 133 dias. De acordo com Donato et al. (2016), o período entre a floração a colheita, em Prata-Anã, pode variar de 120 a 160 dias.

Na Figura 2 observa-se que os frutos da época I (outubro 2013) permaneceram mais dias no estágio 2, indicando maior vida ‘verde’ em relação aos frutos da época II (maio 2015). Já as primeiras mudanças visíveis da cor verde para amarela, referentes ao estágio 3 de maturação, ocorreram entre os dias sete e oito para os frutos da época I e para os frutos da época II as mudanças ocorreram nos dias seis, sete e oito. Contudo, os frutos da época II atingiram os estádios 5, 6 e 7, em menor tempo quando comparados aos frutos da época I, apontando a influência das condições climáticas na velocidade do amadurecimento.

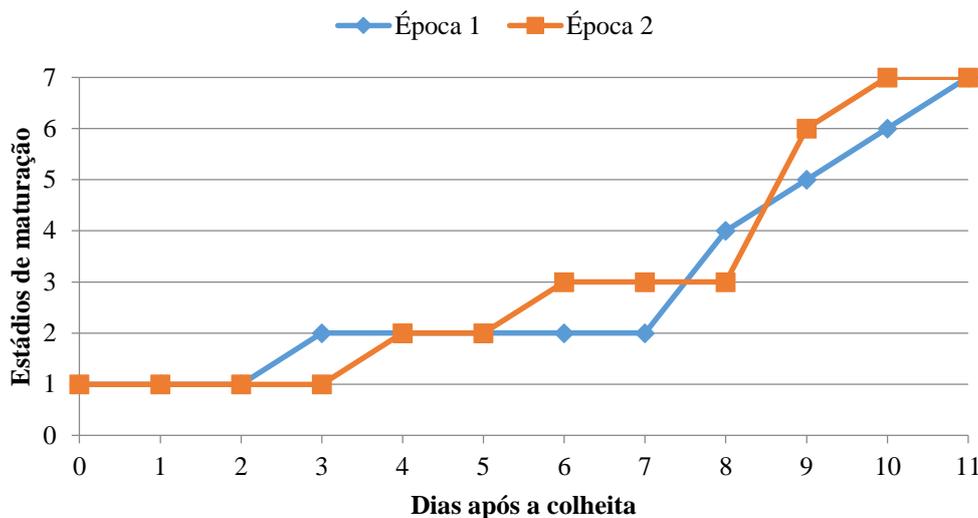


Figura 2. Moda da distribuição dos estádios de maturação das épocas I e II em função dos dias de vida útil pós-colheita. Cruz das Almas, 2017.

A indicação de maior ‘vida verde’ para os frutos da época I permite inferir que bananas desenvolvidas em temperatura média de 22 °C e precipitação média de 115,7 mm (Época I) possuem maior potencial de conservação e menor incidência de perdas pós-colheita quando comparados aos frutos desenvolvidos em temperatura e precipitação média de 25 °C e 67,06 mm (Época II), respectivamente.

Em relação a durabilidade dos frutos, Matsuura et al. (2004) ao desenvolver um estudo na cidade de Cruz das Almas - BA, com pessoas que apreciam banana, identificaram que a maioria dos consumidores ficaram satisfeitos com uma vida útil pós-colheita de até 11 dias. Dessa forma, no que se refere a esse parâmetro, os frutos das duas épocas atendem a demanda de uma parte da população.

1.3.2 Caracterização da cor da casca dos frutos

A análise dos componentes de cor L*, C* e h mostrou diferenças significativas entre os frutos das duas épocas, permitindo inferir que alterações em parâmetros climáticos podem ter influência na coloração final dos frutos de banana (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância referente aos parâmetros Luminosidade (L*), Cromaticidade (C*) e Ângulo de cor Hue (°h), avaliados durante o amadurecimento dos frutos de Prata-Anã desenvolvidos em épocas distintas (Época I – ano 2013 e Época II – ano 2015). Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cruz das Almas, 2017.

FV	GL	QM		
		L*	C*	Hue
Época (Ép)	1	6010,38**	704,04**	4305,14**
Estádio (Es)	6	4781,90**	3342,47**	23801,65**
Ép * Es	6	1146,14**	655,41**	185,33**
Erro	1186	10,35	8,17	9,24
CV(%)		5,44	6,51	2,86
Média Geral		59,20	43,93	106,35

^{ns} não significativo, ** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente pelo teste de F

Os valores e variações de L* foram estatisticamente maiores nos três primeiros estádios de maturação dos frutos da época II (ano 2015), observando-se cores mais claras (Tabela 3).

Resultados semelhantes foram encontrados em frutos da cultivar Nanicão (subgrupo Cavendish) que durante a época quente e fria apresentaram valores de L* de 54,23 e 50,2 (respectivamente), permitindo-se concluir que uma mesma cultivar pode ter sua coloração alterada a depender do clima em que foi produzida (SAKAI, 2015). A produção de frutos com casca mais clara pode estar associada a épocas do ano com maior incidência de luz, que durante o desenvolvimento reflete na inibição da síntese de pigmentos e degradação dos preexistentes, ocasionando menor acúmulo de clorofila (CHITARRA e CHITARRA, 2005; SANTOS et al., 2006).

Tabela 3. Médias para os parâmetros Luminosidade (L*), Cromaticidade (C*) e Ângulo de cor Hue (°h), avaliados durante o amadurecimento dos frutos de ‘Prata-Anã’ desenvolvidos nas épocas I (2013) e II (2015). Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cruz das Almas, 2017.

Estádios	L*		C*		Hue	
	Época I	Época II	Época I	Época II	Época I	Época II
1	50,91 eB	60,49 dA	40,49dB	42,68 bA	116,56 gA	115,66 gB
2	52,61 dB	59,39 dA	40,84 dA	40,75 cA	115,37 fA	109,450 fB
3	56,40 cB	59,78 dA	43,83 cA	41,33 cB	110,06 eA	102,09 eB
4	66,37 bA	62,32 cB	51,53bA	43,54 bB	96,14 dA	94,34 dB
5	69,26 aA	65,17 bB	54,03 aA	47,48 aB	91,01 cA	90,65 cA
6	68,76 aA	67,10 aB	54,72aA	48,63aB	88,64 bA	87,36 bA
7	68,21 aA	66,34 aB	54,69 aA	47,69 aB	87,22 aA	84,96 aB
CV (%)	12,70	6,80	13,21	8,67	11,49	11,40
Média geral	61,79	62,94	48,59	44,59	100,71	97,79

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott e Tukey, respectivamente, a 5% de probabilidade.

Apesar dos frutos da época I terem apresentado menor luminosidade para os estádios iniciais (1, 2 e 3), apresentaram os maiores valores quando a cor amarela se tornou mais presente (estádios 4, 5 e 6), sugerindo que os frutos desenvolvidos nessa época podem manifestar a cor amarela mais clara a medida que amadurecem.

Para a cromaticidade (C*), os frutos desenvolvidos em ambas as épocas apresentaram diferença estatística para quase todos os estádios de maturação, à exceção do estádio 2 (Tabela 3). Essa variável representa a intensidade da cor e está associada com o aumento da saturação em termos de pigmentos, quanto maior for esse valor mais vívida será a cor do fruto (MENDONÇA et al., 2003). Dessa forma, parâmetros como luminosidade e cromaticidade foram mais favoráveis aos frutos maduros da época I, mostrando-se mais atrativos para a comercialização.

A cor amarela, que caracteriza o amadurecimento do fruto, aparece a partir da degradação da clorofila e revelação dos carotenoides (MENDONÇA et al., 2003).

De acordo com Krokida et al. (1998), as alterações das cores dos frutos de bananeira podem ser consequência de reações, tais como a condensação de componentes aminos, a polimerização de fenóis, a destruição de pigmentos, entre outros.

Outra variável importante para quantificar a coloração dos frutos é o Ângulo de cor (*hue*), que detecta variações entre a cor verde e amarela. A análise estatística para essa variável indicou que os estádios 5 e 6 não diferiram entre as épocas avaliadas, apresentando cores semelhantes. Nos demais estádios os frutos da época I (outubro 2013) apresentaram valores

para o Ângulo de cor (*hue*) maiores, quando comparado aos frutos da época II (maio 2015) (Tabela 3), indicando frutos com a cor da casca mais esverdeada.

Esses resultados se assemelham com os de Sakai (2010), onde os frutos da cultivar Nanicão, desenvolvidos em épocas de menor temperatura, apresentaram o ângulo de cor maior do que os frutos de época com maior temperatura.

As variações de luminosidade e temperatura durante o desenvolvimento do cacho da bananeira podem afetar a maturação e a síntese de pigmento do fruto, tendo como resultado uma mudança na coloração da casca, característica utilizada como guia de amadurecimento (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

1.3.3 Análises físicas e químicas

De acordo com o teste F da análise de variância, houve efeito significativo para a fonte de variação ‘Épocas’ para quase todas as variáveis avaliadas, exceto para rendimento de polpa (RP), firmeza de polpa (FPO) e açúcares redutores (AR); permitindo-se inferir que as diferenças climáticas entre os meses de desenvolvimento dos frutos das épocas I e II foram determinantes para as modificações nas características físicas e químicas dos frutos da cultivar Prata-Anã.

O efeito da fonte de variação ‘Estádios’ foi significativo para todas as características mensuradas; fato também observado para a interação entre ‘Épocas vs. Estádios’, onde apenas as características diâmetro da polpa (DPO) e peso da polpa (PPO) não apresentaram variação significativa (Tabela 4).

Fatores climáticos tais como temperatura, umidade relativa, luminosidade, precipitação e vento, exercem influência em algumas características da bananeira, em especial a altura, a quantidade de frutos no cacho e parâmetros físicos e químicos (MANICA, 1997). Outras culturas, a exemplo da maçã, também apresentam alterações fenológicas, atributos como firmeza da polpa e sólidos solúveis foram modificados em decorrência de mudanças de temperatura e precipitação (SUGIURA et al., 2013).

Para os frutos da primeira época foi possível observar comprimento e diâmetro superiores em relação aos da segunda época (Tabela 5). Para a bananeira a precipitação mensal de aproximadamente 100 mm e temperatura de 22 °C são consideradas ideais para o desenvolvimento da mesma e para iniciação floral, refletindo na qualidade final dos frutos (TURNER e LAHAV, 1993; ROBINSON e SAÚCO, 2010).

Tabela 4. Resumo da análise de variância com o teste F, coeficiente de variação e média geral para as características pós-colheita dos frutos de 'Prata-Anã', desenvolvidos nas épocas I e II avaliadas durante o processo de maturação. Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cruz das Almas, 2017.

FV	GL	QM						
		CFR (cm)	DFR (mm)	DPO (mm)	EC (mm)	PPO	RP	RPC
Épocas (Épc)	1	2085,00**	438,03**	277,47**	4,56**	5230,59**	35,97 ^{ns}	0,43*
Estádio (Es)	6	347,50**	16,08**	4,49**	6,76**	156,65**	352,30**	2,57**
Épc * Es	6	413,47**	7,48**	2,35 ^{ns}	1,04**	45,62 ^{ns}	47,79**	0,47**
Erro	70	52,313	1,49	1,23	0,32	32,92	13,43	0,09
CV (%)		4,95	3,75	4,21	18,03	10,27	6,07	19,21
Média Geral		146,23	32,67	26,36	3,15	55,85	60,35	1,61

FV	GL	QM						
		FPO (N)	AT	SS (°Brix)	RATIO	pH	AR	AMIDO
Épocas (Ép)	1	0,98 ^{ns}	0,11**	342,43**	2659,05**	0,10**	0,04 ^{ns}	212,16**
Estádio (Es)	6	1657,29**	0,54**	1250,26**	1848,89**	3,82**	415,92**	446,83**
Ép * Es	6	165,28**	0,04**	44,16**	145,49**	0,21**	10,70**	16,11*
Erro	70	1,64	0,00	1,21	2,64	0,00	0,85	4,62
CV (%)		8,24	7,41	6,90	5,68	2,01	8,61	16,46
Média Geral		15,56	0,501	15,98	28,65	4,66	10,75	13,06

^{ns} não significativo, ** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente pelo teste de F. Comprimento do fruto (CFR), diâmetro do fruto (DFR), diâmetro da polpa (DPO), espessura da casca (EC), peso da polpa (PPO), rendimento da polpa (RP), rendimento polpa casca (RPC), firmeza da polpa (FPO), acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS), relação acidez e sólidos solúveis (Ratio), pH, açúcares redutores (AR), amido.

Para a banana, parâmetros como comprimento e diâmetro são extremamente importantes para a classificação dos frutos. No Brasil, as bananas do subgrupo Prata que possuem comprimento e diâmetro maiores que 16 cm e 32 mm, respectivamente, correspondem no mercado atacadista como Prata de primeira, já os frutos com valores inferiores a esses, como Prata de segunda. Esse aspecto reflete no preço recebido pelo produtor, maior para frutos considerados de primeira ou *premium* (CEAGESP, 2016).

Diante dessas informações, observa-se que os frutos da época I apresentaram a média de comprimento e diâmetro dos frutos correspondentes a classificação Prata de primeira (Tabela 5). Já os valores desses parâmetros para os frutos da época II classificaram os frutos como Prata de segunda, sugerindo que as condições climáticas da época I favoreceram o melhor desenvolvimento dos frutos.

Tabela 5. Média para 11 características pós-colheita avaliadas em frutos de ‘Prata-Anã’ desenvolvidos em épocas distintas, nomeadas como Época I (outubro 2013) e (Época II maio 2015). Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cruz das Almas, 2017.

ESTÁDIOS	CFR		DFR		DPO		EC	
	Época I	Época II	Época I	Época II	Época I	Época II	Época I	Época II
1	148,85 cA	133,08 aB	37,42 aA	30,89 cB	28,01 bA	23,65 bB	4,69 aA	3,62 aB
2	171,67 aA	130,42 aB	33,97 bA	32,29 cB	26,97 bA	24,19 bB	3,50 bA	4,05 aA
3	165,75 aA	125,33 aB	34,15 bA	29,46 bB	27,53 bA	24,63 bB	3,31 bA	2,41 cB
4	166,33 aA	112,83 bB	36,29 aA	30,89 bB	28,01 bA	24,65 bB	4,14 aA	3,12 bB
5	160,08 bA	125,17 aB	35,79 aA	30,13 bB	29,10 aA	24,20 bB	3,34 bA	2,96 bA
6	167,18 aA	136,75 aB	34,21 bA	30,56 bB	28,83 aA	26,03 aB	2,69 cA	2,26 cA
7	173,00 aA	130,83 aB	32,88 bA	28,53 aB	28,77 aA	24,44 bB	2,05 cA	2,04 cA
CV(%)	4,42	5,89	3,36	4,01	3,71	5,26	13,06	20,83
Média geral	164,69	127,77	34,96	30,40	28,18	24,54	3,39	2,92
ESTÁDIOS	PPO		RP		RPC		FP	
	Época I	Época II	Época I	Época II	Época I	Época II	Época I	Época II
1	66,36 aA	44,65 bB	53,89 cB	52,82 dB	1,17 bB	1,13 cB	8,58 aA	-
2	60,03 aA	46,55 bB	54,70 cB	56,51 cB	1,21 bB	1,31 cB	7,25 bA	-
3	61,78 aA	42,83 bB	58,12 bB	57,10 cB	1,39 bB	1,34 cB	3,22 cA	-
4	62,62 aA	45,07 bB	59,50 bB	59,13 cB	1,48 bB	1,45 cB	1,60 dA	2,38 bB
5	64,73 aA	49,85 bB	63,06 aB	62,94 bB	1,71 aB	1,71 bB	1,33 eA	1,58 cA
6	68,14 aA	58,12 aB	65,17 aB	65,00 bB	1,88 aB	1,87 bB	1,22 eA	1,33 cA
7	62,57 aA	48,68 bB	63,46 aB	73,56 aA	1,98 aB	1,79 bB	1,12 eA	1,38 cA
CV(%)	9,83	11,58	7,93	3,50	12,22	18,37	10,27	4,73
Média geral	63,74	47,97	59,70	61,00	1,54	1,51	15,45	15,66
ESTÁDIOS	AT		SS		RATIO		pH	
	Época I	Época II	Época I	Época II	Época I	Época II	Época I	Época II
1	0,15 eB	0,19 eA	1,83 fA	1,93 gA	12,58 gA	10,13 fB	5,68 aA	5,63 aA
2	0,20 dB	0,28 dA	3,67 eA	4,67 fA	18,23 fA	16,58 eA	5,43 bA	5,08 bB
3	0,57 bA	0,41 cB	16,07 dA	7,17 eB	27,86 eA	17,37 eB	4,38 cA	4,83 cB
4	0,63 aA	0,67 bA	22,57 cA	15,17 dB	35,53 dA	22,56 dB	4,25 dA	4,32 dB
5	0,61 aB	0,76 aA	26,27 bA	19,60 cB	43,34 cA	25,74 cB	4,32 dA	4,13 eB
6	0,56 bB	0,79 aA	27,50 aA	23,17 bB	48,94 bA	29,32 bB	4,39 cA	4,15 eB
7	0,53 cB	0,66 bA	28,13 aA	26,07 aB	53,47 aA	39,48 aB	4,46 cA	4,29 dB
CV(%)	5,53	8,48	6,81	6,69	5,17	5,92	1,88	1,97
Média geral	0,46	0,53	18,00	13,97	34,28	23,02	4,70	4,63
ESTÁDIOS	AMIDO		AR					
	Época I	Época II	Época I	Época II				
1	23,32 aA	25,94 aA	0,23 eA	0,35 eA				
2	23,16 aA	24,64 aA	0,51 eA	1,51 eA				
3	14,99 bA	26,56 aB	7,23 dA	6,87 dA				
4	8,56 cA	15,14 bB	9,34 cA	13,18 cB				
5	3,94 dA	10,40 cB	16,63 bA	13,97 cB				
6	1,97 dA	7,28 dB	20,49 aA	17,63 bB				
7	1,43 dA	2,61 eA	21,03 aA	21,52 aA				
CV(%)	19,13	6,74	7,28	4,64				
Média geral	11,06	16,08	10,78	10,75				

Comprimento do fruto (CFR - mm), diâmetro do fruto (DFR - mm), diâmetro da polpa (DPO - mm), espessura da casca (EC - mm), peso da polpa (PPO - g), rendimento da polpa (RP), relação polpa casca (RPC), firmeza da polpa (FP-N), ácido málico (AMA), sólidos solúveis (SS - % °Brix), relação acidez/sólidos solúveis (ratio), pH, amido (g 100g⁻¹), açúcar redutor (g 100g⁻¹). Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott e Tukey, respectivamente, a 5% de probabilidade.

Os meses de desenvolvimento e colheita dos frutos correspondentes a época I, corroboram com o melhor período de compra para as cultivares do subgrupo Prata no Estado de Minas Gerais. Para esse subgrupo os frutos de maior comprimento e diâmetro são encontrados durante os meses de setembro, outubro e novembro, já os outros meses são classificados como os períodos de menor qualidade (HORTIESCOLHA, 2016). Dessa forma, percebe-se que embora a cultura da bananeira seja anual, quando se trata de subgrupos é possível encontrar sazonalidade para os mesmos.

Apesar dos meses citados serem referentes as cultivares desenvolvidas em Minas Gerais, é possível observar que o período considerado como o de melhor compra coincide com a época I de colheita desse estudo e os meses de baixa sazonalidade com a época II, indicando que as condições climáticas da época I foram melhores para o desenvolvimento do fruto. Com isso, é possível inferir que frutos desenvolvidos na época I, classificados como Prata de primeira, possuem maior potencial de mercado, no que diz respeito a qualidade de fruto, apontando maior valoração do produto em relação aos frutos da época II identificados como Prata de segunda.

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005) os parâmetros comprimento e diâmetro do fruto são características importantes que interferem na escolha do consumidor, na seleção de mercado e até mesmo no destino final (*in natura* ou industrialização), afetando o rendimento do fruto para aproveitamento industrial. Os frutos desenvolvidos na época I também foram responsáveis pelos maiores valores das médias referentes ao diâmetro da polpa (DPO), espessura da casca (EC) e peso da polpa (PPO) (Tabela 5).

Em outras culturas, a exemplo do maracujá, Nascimento et al. (1999) encontraram à maior espessura da casca em frutos desenvolvidos em épocas mais frias e chuvosas, e atribuíram essa característica à capacidade de retenção de água pela casca. Para os frutos de bananeira essa variável é um importante componente de resistência ao transporte, assim a maior espessura pode auxiliar na redução de possíveis danos mecânicos durante a comercialização (DONATO, 2006).

Durante o processo de maturação, a redução da espessura da casca resulta da perda de água por transpiração para o ambiente e por osmose para a polpa, contribuindo para um aumento do peso fresco da polpa à medida que a fruta amadurece (DADZIE, 1997). Dessa forma observa-se que a redução da espessura da casca dos frutos da época I no decorrer dos estádios de maturação, também contribuíram para o maior peso da polpa quando comparados aos frutos da época II, esses dados podem ser observados pelos valores da médias gerais entre as épocas (Tabela 5).

Em relação à variável relação polpa/casca (RPC), os frutos desenvolvidos na época II apresentaram a maior média geral quando comparado a época I (Tabela 5).

O aumento da relação polpa/casca pode ser explicado pelo deslocamento de água da casca para a polpa da fruta durante a maturação, consequência do gradiente de pressão osmótica, resultante da maior concentração de açúcares na polpa em relação à casca, contribuindo para o aumento do peso fresco da polpa à medida que a fruta amadurece (CARVALHO et al., 1982).

Das sete variáveis químicas analisadas, apenas os açúcares redutores não apresentaram resultados significativos entre as épocas de cultivo; entretanto para a interação (Ép vs Est), esse parâmetro apresentou resultado significativo (Tabela 4). Parâmetros como acidez titulável, sólidos solúveis e a relação SS/AT (*ratio*) foram significativos para a fonte variação épocas e para a interação. De acordo com Chitarra e Chitarra (2005) esses parâmetros estão entre os mais utilizados para avaliar a qualidade pós-colheita em banana.

Para a variável acidez titulável, os frutos desenvolvidos na época II apresentaram maiores valores quando comparados aos frutos da época I. Essa característica também foi observada em variedades de *citros*, que tiveram a qualidade afetada pelo clima, no qual frutos desenvolvidos em climas mais quentes apresentaram maior acidez. Por outro lado, as mesmas condições responsáveis pelo alto nível de acidez em *citros* permitiram o maior teor de sólidos solúveis (GOLDSCHMIDT, 1997), diferindo dos resultados encontrados em banana.

É possível observar na Tabela 5 que os valores de sólidos solúveis (SS) foram significativamente diferentes entre as épocas a partir do estágio 3, onde os frutos da época I apresentaram as maiores médias quando comparados aos frutos da época II, dessa forma a menor temperatura e a maior precipitação e umidade permitiram maior teor de açúcares nos frutos.

Para o estágio 6, classificado como o de consumo, frutos da época I apresentaram a média de SS de 27,50 °Brix, enquanto a média dos frutos da época II foi de 23,17 °Brix. Resultados semelhantes foram encontrados por Viviani e Leal (2007), que ao avaliarem frutos de 'Prata-Anã' desenvolvidos em época mais fria observaram SS de 23,57 °Brix, enquanto a época mais quente apontou o valor de 19,67 °Brix.

O aumento de sólidos solúveis pode estar relacionado com a transformação das reservas acumuladas durante a formação e desenvolvimento dos mesmos (JERONIMO e KANESIRO, 2000), que possivelmente foram menores nos frutos da época II. Esses mesmos resultados foram encontrados em frutos de pereira-japonesa, onde as pêras cultivadas em região mais fria apresentaram maior teor de sólidos solúveis ao serem comparadas aos que foram desenvolvidos em temperaturas superiores (FAORO e ORTH, 2010).

De acordo com Marchi (1993), o aumento da concentração de açúcares dura toda a fase de crescimento de maturação estando diretamente relacionado à intensidade do processo fotossintético e as condições climáticas. O teor de sólidos solúveis indica a quantidade de açúcares existente no fruto, levando em consideração pequenas proporções de outros compostos, entre os quais alguns ácidos, vitaminas e pectinas (KLUGE et al., 2002), logo o maior nível de SS é considerado uma característica desejável.

A relação das variáveis acidez e sólidos solúveis (AT/SS) resulta no parâmetro ratio ou índice de maturação, que em bananas maduras apresentam médias variando de 44,21 a 61,91 (MATSUURA et al., 2002; JESUS et al., 2004). O valor apresentado pelos frutos do estádio 6 desenvolvidos na época I foi de 48,94 se encaixando nesse perfil, no entanto, os frutos da época II, para o mesmo estádio, demonstraram uma média de 29,32 (Tabela 5). Esse valor reduzido pode ser consequência da baixa quantidade de sólidos solúveis totais ou do aumento nas concentrações de ácido málico quando comparado a época I. A relação AT/SS possui grande importância para a caracterização do sabor, que aliada aos compostos voláteis tornam a combinação atraente para o paladar e o olfato, considerado, portanto, um bom parâmetro para a maturação (ALMEIDA e DURIGAN, 2006).

Em relação às médias de pH dos estádios entre as épocas, foi possível visualizar uma redução dos valores com o avanço do amadurecimento dos frutos e um incremento no estádio final (Tabela 5). Dados semelhantes foram encontrados por Etienne et al. (2013), que ao acompanharem o amadurecimento de frutos de banana de cultivares do subgrupo Cavendish observaram que alterações no pH resultam da redução dos teores de ácido oxálico presentes em grandes quantidades quando o fruto ainda está verde, e da consequente redução no decorrer do amadurecimento, sobressaindo os ácidos málico e cítrico, que contribuem para a acidez do fruto, e como consequência, levam a redução do pH do mesmo.

Para o teor de amido, foi possível observar diferença significativa entre os frutos desenvolvidos nas duas épocas. Os frutos da época I apresentaram média geral entre os sete estádios de $11,06 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ de amido, enquanto os frutos da época II apresentaram valores médios de $16,8 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ (Tabela 5). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Bonnet et al. (2013) ao quantificarem os teores de amido em frutos da cultivar Grande Naine, pertencente ao subgrupo Cavendish. Segundo os autores, na época de menor precipitação, os teores de amido foram significativamente mais elevados que os observados na época de maior precipitação e temperatura amena.

O início do desenvolvimento dos frutos da segunda época foi marcado por temperaturas máximas altas e precipitação reduzida, quando confrontado aos frutos da primeira época (Figura

1), ocasionando maior acúmulo de amido quando comparado aos frutos da época I. Sabendo-se que a água é a substância mais abundante transportada pelo floema e que os solutos como os carboidratos encontram-se dissolvidos em água, por esse motivo especula-se que a redução da precipitação durante os meses de desenvolvimento dos frutos da época II tenha favorecido a maior concentração do teor de amido nos frutos (OLIVEIRA e PRIESTLEY, 1988).

Durante o processo de maturação ocorre a redução dos teores de amido, pois o mesmo é degradado e utilizado para a síntese de açúcares solúveis (PIMENTEL et al., 2010), assim é comum observar um alto teor de amido nos estádios iniciais de maturação. Entretanto mesmo com a degradação do amido durante o amadurecimento, os frutos da época II permaneceram com os teores desse carboidrato elevado quando comparados aos estádios dos frutos da época I.

Para o parâmetro açúcares redutores constatou-se que os estádios iniciais 1, 2 e 3 demonstraram os mesmos resultados em ambas as épocas; já os estádios 4, 5 e 6 apresentaram diferenças significativas, onde os frutos desenvolvidos na época I apontaram os maiores valores para essa variável quando comparada à época II. De acordo com Chitarra e Chitarra (2005) durante a maturação ocorre o acúmulo de açúcares, principalmente glicose, frutose e sacarose, sendo os redutores os mais importantes do ponto de vista do sabor. O teor de açúcares pode variar dentro de uma mesma espécie em função de fatores como práticas culturais, solo, cultivares e condições climáticas.

Da mesma forma, Souza et al. (2010), ao estudarem a influência das precipitações pluviométricas sob as características físico-químicas de frutos de goiabeira, perceberam que independente do estágio de maturação o aumento da precipitação promove a redução dos açúcares redutores, indicando diluição do carboidrato nessa época. Esses resultados divergem dos dados encontrados nesse estudo, onde o maior teor de açúcares redutores foi identificado na época I, indicando que as condições climáticas favoreceram a concentração desses açúcares em relação à época II para os frutos da cultivar Prata-Anã.

CONCLUSÕES

Há variações das características pós-colheita dos frutos da cultivar Prata-Anã desenvolvidas em uma mesma área, sob os mesmos tratamentos culturais, como consequência das alterações climáticas.

Bananas ‘Prata-Anã’ desenvolvidas durante os meses de maior precipitação, maior umidade e menor temperatura na Região do Recôncavo da Bahia apresentam melhor qualidade: maior tamanho (mais frutos ‘de primeira’), melhor coloração e maior espessura de casca, menor acidez, maiores teores de sólidos solúveis e açúcares redutores e maior relação SS/AT.

REFERÊNCIAS

- Almeida, GBV, Durigan, JF, Relação entre as características químicas e o valor dos pêssegos comercializados pelo sistema veiling frutas Holambra em Paranapanema-SP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **28**: 218-221 (2006).
- Alves, EJ, Lima, MB, Carvalho, JEB, Borges, AL. Tratos culturais e colheita. In: Borges, AL; Souza, L da S. (Org). *O cultivo da bananeira*. Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Brasília, pp. 107-131 (2004).
- Amorim, EP, Lessa, LS, Ledo, CDS, Amorim, VDO, Reis, RD, Santos-Serejo, JD, and Silva, SDO, Caracterização agrônômica e molecular de genótipos diplóides melhorados de bananeira. *Revista Brasileira de Fruticultura* **31**: 154-161 (2009).
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. 16th ed., AOAC, Arlington, p. 850 (1997).
- Bleinroth, EW, Sigrist, JMM, de FG Ardito, E, de Castro, JV, and Spagnol, WA, Tecnologia de pós-colheita de frutas tropicais, Campinas, ITAL, Manual técnico p. 203 (1992).
- Bonnet, CB, Hubert, O, Mbeguie-A-Mbeguie, D, Pallet, D, Hiol, A, Reynes, M, and Poucheret, P, Effect of physiological harvest stages on the composition of bioactive compounds in Cavendish bananas. *Journal of Zhejiang University Science B*, **14**: 270-278 (2013).
- Bugaud, C, Daribo, MO, Dubois, C. Climatic conditions affect the texture and colour of Cavendish bananas (Grande Naine cultivar). *Scientia horticultrae*, **113**: 238-243 (2007).
- Bugaud, C, Daribo, MO, Beauté, MP, Telle, N, Dubois, C Relative importance of location and period of banana bunch growth in carbohydrate content and mineral composition of fruit. *Fruits*, **64**: 63-74 (2009).
- Carvalho, VD, T Pádua, and AR. Moraes. "Efeito da época de amostragem e do amadurecimento nas características físicas, físico-químicas e químicas da banana 'Prata'". *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal **4**: 43-52 (1982).
- Ceagesp, Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo. Normas de classificação da banana 2006. http://www.ceagesp.gov.br/produtor/classific/fc_banana [29 April 2016].
- Ceagesp, Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo. Banana, Tabela de equivalência e valoração 2016. <http://static.hortiescolha.com.br/static/django-summernote/2016-03-03/b51aa45e-e66b-4d8e-a12e-d3babf332a2b.pdf> [09 April 2017].
- Chitarra, MIF, Chitarra, AB. Pós-colheita de Frutos e Hortaliças: Fisiologia e Manuseio, 2. ed. UFLA , Lavras, p. 785 (2005).
- Chmielewski, FM, Müller, A and Bruns, E, Climate changes and trends in phenology of fruit trees and field crops in Germany, 1961–2000. *Agricultural and Forest Meteorology*, **121**: 69-78 (2004).

CLIMA-DATE.ORG. Clima Cruz das Almas, BA. <https://pt.climate-data.org/location/43358/>. [28 March 2017].

Costa, JNM. Proteção de cachos de bananeira (*Musa* sp. AAA) em diferentes épocas e épocas, após a emergência da inflorescência. Doctoral dissertation, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo (1998).

Dadzie, BK, Orchard, JE. Routine post-harvest screening of banana/plantain hybrids: criteria and methods. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), (1997).

Diamantidis, G, Thomai, T, Genitsariotis, M, Nanos, G, Bolla, N and Sfakiotakis, E, Scald susceptibility and biochemical/physiological changes in respect to low preharvest temperature in ‘Starking Delicious’ apple fruit. *Scientia Horticulturae*, **92**: 361-366 (2002).

Donato, SLR, Silva, SDO, Lucca Filho, OA, Lima, MB, Domingues, H, and Alves, JDS, Comportamento de variedades e híbridos de bananeira (*Musa* spp.), em dois ciclos de produção no sudoeste da Bahia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **28**:139-144 (2006).

Donato, SLR., Coelho, EF, Marques, PRR.; Arantes, A. M. Considerações ecológicas, fisiológicas e de manejo. In: FERREIRA, C. F. et al (Org). **O agronegócio da banana**. Brasília, Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016. 832p.

Etienne, A, Génard, M, Bancel, D, Benoit, S, and Bugaud, C, A model approach revealed the relationship between banana pulp acidity and composition during growth and post harvest ripening. *Scientia Horticulturae*, **162**: 125-134 (2013).

Faoro, ID, Orth, AI. Comunicação científica qualidade de frutos da pereira-japonesa colhidos em duas regiões de Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, **32**: 308 (2010).

Faostat, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2014. <http://www.faostat.fao.org>. [29 March 2017].

Fasolin, LH, Almeida, GD, Castanho, PS, and Netto-Oliveira, ER. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **27**: 524-529 (2007).

Fioravanço, JC. Mercado mundial da banana: produção, comércio e participação brasileira. *Informações econômicas*, **33**: 15-27 (2003).

Goldschmidt, EE, Effect of climate on fruit development and maturation. *Citrus Flowering & Fruiting Short Course*, 93-97 (1997).

Hortiescolha, Hortipedia guia de informações sobre produtos, Banana-sazonalidade 2016. <http://www.hortiescolha.com.br/hortipedia/produto/banana> [09 April 2017].

Ibge, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. LSPA, Levantamento sistemático da Produção Agrícola. 2016. http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201212.pdf . [30 March 2017].

- Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo, **1**: 533 (1985).
- Jesus, SC de, Folegatti, MIS, Matsuura, FCAU, Cardoso, RL. Caracterização física e química de frutos de diferentes genótipos de bananeira. *Bragantia*, Campinas, **63**: 315-323 (2004).
- Jeronimo, RF, Kaneshiro, MAB, Efeito da associação de armazenamento sob refrigeração e atmosfera modificada na qualidade de mangas 'Palmer'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal **22**: 237-243 (2000).
- Kluge, RA, Fachinello, JC, Bilhalva, JC and Barreira, A, Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado 2 ed. Rev. e ampl. Campinas: Rural, p. 214 (2002).
- Krokida, MK., Tsami, E, Maroulis, ZB, Kinetics on color changes during drying some fruits vegetables. *Drying Technology*, **16**: 667-685 (1998).
- Loeillet, D, Imbert, E, Dawson, C, Banana. *FruiTrop*, **189**:15–62 (2011).
- Lichtemberg, LA, Alves, EJ, Vilas Boas, EVB, Pereira, MEC, Colheita, manuseio pós-colheita e conservação dos frutos. In: Ferreira, CF. et al (Org). *O agronegócio da banana*. Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Brasília, pp. 17-832 (2016).
- Maia, VM, Salomão, LCC, Siqueira, DL, Puschmann, R, Mota Filho, VJG and CECOM, PR, Tipos e intensidade de danos mecânicos em bananas 'Prata-Anã' ao longo da cadeia de comercialização. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, **30**: 365-370 (2008).
- Marchi, RJ. Determinação das curvas de maturação de laranja 'pera' na região de Bebedouro, SP. Dissertation. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal (1993).
- Manica, I. *Fruticultura tropical*. 4: Banana. Porto Alegre: Cinco continentes, p. 485 (1997).
- Matsuura, FCAU, Cardoso, RL and Ribeiro, DE, Qualidade sensorial de frutos de híbridos de bananeira cultivar Pacovan. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **24**: 263-266 (2002).
- Matsuura, FCAU, Costa, JD, Folegatti, MDS. Marketing de banana: preferências do consumidor quanto aos atributos de qualidade dos frutos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **26**, 48-52 (2004).
- Mapa, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento 2016. <http://www.agricultura.gov.br/noticias/valor-bruto-da-producao-de-2016-e-de-r-523-6-bilhoes> [01 April 2017].
- Mendonça, K, Jacomino, AP, Melhem, T.X and Kluge, RA, Concentração de etileno e tempo de exposição para desverdecimento de limão "siciliano". *Brazilian Journal of Food Technology*, **6**: 179-183 (2003).

- Nascimento, TB do, Ramos, DJ, Menezes, JB, Características físicas do maracujá-amarelo produzido em diferentes épocas. *Revista de Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, **34**: 2353-2358 (1999).
- Oliveira, CM, Priestley, CA. Carbohydrate reserves in deciduous in fruit trees. *Horticultural Review*, Hoboken, **10**: 403-430 (1988).
- Oliveira, LA de, Manual de laboratório: Análises Físico-químicas de Frutas e Mandioca. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 87 (2010).
- Pimentel, R. M. A.; Guimarães, F. N.; Santos, V. M; Resende, J. C. F. Qualidade pós-colheita dos genótipos de banana pa42-44 e prata-anã cultivados no norte de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 32, n. 2, Jaboticabal, (2010).
- Roque, RL, Amorim, T, Ferreira, CF., Ledo, C and Amorim, EP, Desempenho agrônômico de genótipos de bananeira no Recôncavo da Bahia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **36**: 598-609 (2014).
- Robinson, JC and Saúco, VG, Bananas and plantains. *Crop production science in horticulturae*, 2nd ed. Cambridge: CAB, **19**: 311 (2010).
- Santos, CMS, Roas, EDBV, Botrel, N and Marques, AC, Influência da atmosfera controlada sobre a vida pós-colheita e qualidade da banana Prata-Anã, *Ciência Agrotécnica*, Lavras, **30**, 317-322 (2006).
- Sakai, R. K, Desenvolvimento e qualidade de frutos de banana em função da proteção física dos cachos. Doctoral dissertation, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (2015).
- Sartori, T and Menegalli, FC, Development and characterization of unripe banana starch films incorporated with solid lipid microparticles containing ascorbic acid. *Food Hydrocolloids*, **55**: 210-219 (2016).
- Sas Institute Inc. SAS/STAT: User’s Guide, **9**: 2. Cary (2010).
- Silva. S de O, Amorim, EP, Santos-Serejo, JA, Borges, AL, Cultivares. In: Ferreira, CF. et al (Org). *O agronegócio da banana*. Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Brasília, pp. 17-832 (2016).
- Soto Balestero, M. Bananos: cultivo y comercialización. 2nd ed. San José: Imprenta Lil. 1 CD-ROM, (2010).
- Soto Ballestero, M. Bananos: cultivo y comercialización. 2. Ed. San José: Imprenta Lil, p. 674 (1992).
- Souza, MD, Silva, ACD, Souza, APD, Tanaka, AA, Leonel, S. Influência das precipitações pluviométricas em atributos físico-químicos de frutos da goiabeira ‘Paluma’ em diferentes estádios de maturação. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **32**: 637-646 (2010).
- Sugiura, T, Ogawa, H, Fukuda, N and Moriguchi, T, Changes in the taste and textural attributes of apples in response to climate change. *Scientific Reports*, **3**: 2418 (2013).

Turner, DW, Lahav, E, The Growth of banana plants in relation to temperature. *Australian Journal of Plant Physiology*, **10**: 43-53 (1993).

Vasconcelos, NM de, Pinto, GAS, Aragão, FA de S, Determinação de Açúcares Redutores pelo Ácido 3,5-Dinitrosalicílico: Histórico do Desenvolvimento do Método e Estabelecimento de um Protocolo para o Laboratório de Bioprocessos. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento*. ISSN 1679-6543. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, **88**: 1-22 (2013).

Veras, MCM, Pinto, ADQ, and Meneses, JD. Influência da época de produção e dos estádios de maturação nos maracujás doce e ácido nas condições de cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **35**, 959-966 (2000).

Viviani, L, Leal, PM, Qualidade pós-colheita de banana Prata-Anã armazenada sob diferentes condições. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, **29**: 465-470 (2007).

Von Loesecke, HW. *Bananas*. 2.ed. New York: Interscience, 189p, (1950).

Xiao, YY, Chen, JY, Kuang, JF, Shan, W, Xie, H, Jiang, YM and Lu, WJ, Banana ethylene response factors are involved in fruit ripening through their interactions with ethylene biosynthesis genes. *Journal of experimental botany*, **64**: 2499-2510 (2013).

CAPÍTULO 2

Alterações do perfil proteico de polpa de banana cv. Prata-Anã durante o amadurecimento²

²Trabalho formatado de acordo com as normas da Revista Plant Physiology

RESUMO

A alta perecibilidade da banana leva à busca por informações mais detalhadas sobre a redução da vida útil pós-colheita. A abordagem genético-molecular a exemplo da análise proteômica é considerada viável para um melhor entendimento do processo de maturação. Dentre os subgrupos que classificam as cultivares de banana, destaca-se o subgrupo Prata, no qual a cultivar Prata-Anã se distingue das demais por apresentar características como sabor e aroma superiores, o que agrega a boa aceitação pelos consumidores, fato comprovado pela bananicultura brasileira, no qual 60% da área cultivada corresponde a cultivares Prata-Anã. Nesse trabalho analisou-se o perfil proteômico da polpa da cultivar Prata-Anã, durante os estádios de maturação 1, 4 e 6, com a finalidade de compreender melhor os processos envolvidos no amadurecimento e detectar genes alvos a partir da construção de redes de interações. No total foram identificadas 221 proteínas, sendo 36 detectadas exclusivamente no fruto verde (E1), 14 do fruto intermediário (E4), 39 do fruto maduro (E6) e 124 diferencialmente expressas, presentes nos três estádios. O nível de expressão das proteínas ATP β e catalase foi confirmado por Western blot. A primeira abordagem empregando a rede de interações de *Musa* spp. formou grupos com funções importantes, tais como catabolismo proteico, amadurecimento e metabolismo de carboidratos e identificou proteínas chave envolvidas no processo de maturação, bem como a identificação dos genes correspondentes, verificados por meio do qRT-PCR. O interatoma indicou proteínas importantes para o processo de maturação, como a dissulfeto isomerase, que possui alto valor para betweenness dentro da rede, sendo assim um gargalo, o que sugere uma provável ação como reguladora do amadurecimento. Na análise por PCR em tempo real, genes como o da ácido 1-carboxílico-aminociclopropano oxidase (ACCO), indicaram o mesmo perfil de expressão da proteína. A glicose-6-fosfato isomerase mostrou divergência entre os níveis de expressão proteica e gênica, inferindo uma possível modificação pós-traducional. Os resultados obtidos nessa pesquisa podem levar a novas abordagens para explorar vias de controle de desenvolvimento e da maturação de frutos de bananeira.

Palavras-chave: Proteínas, maturação, melhoramento, carboidrato, interatoma, genes, *Musa* spp.

ABSTRACT

High perishability of bananas leads to the search for more detailed information as to the reduction of post-harvest shelf-life. The genetic-molecular approach is considered viable for better understanding of the ripening process, whereas comprehension of certain mechanisms has been made possible from complementary molecular techniques such as proteomics. Given the relevance of the Prata-Anã cultivar in the Brazilian banana culture, where it occupies 60% of the cultivated area and its great acceptance by consumers due to characteristics such as flavor and aroma, the objective of the present study was to obtain information regarding alterations that occur in the proteome of the pulp of the Prata-Anã cultivar during the 1,4 and 6 maturation stages and identify target genes from the construction of interaction networks. 221 proteins were identified in total, 36 being exclusive of the green fruits (E1), 14 of the intermediary fruits (E4), 39 of the ripened fruits (E6) and 124 differentially expressed. The Western blot technique confirmed the presence and level of expression of the ATP β and catalase proteins. The first approach employing the network of interactions in *Musa* spp. formed groups with important functions such as protein and carbohydrate metabolism, also identifying key proteins involved in the ripening process, as well as the recognition of corresponding genes, validated by qRT-PCR. The interatome indicated important proteins involved in the processes of ripening, such as disulfide isomerase, which showed high value for betweenness in the network, being considered a bottleneck, which suggests its probable action as ripening regulator. For the real time PCR analyses, genes such as 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACCO), indicated the same profile of expression of the protein. In contrast, glucose-6-phosphate demonstrated differences in its levels of protein and gene expression, inferring possible post-transduction modification. Results may lead to new approaches to explore control pathways in the development and ripening of banana fruits.

Key-words: Proteins, ripening, breeding, carbohydrates, interatome, genes, *Musa* spp.

2.1 INTRODUÇÃO

A bananicultura desempenha importante papel na segurança alimentar e na economia de muitas regiões tropicais e subtropicais do mundo, em especial devido ao seu valor nutricional, baixo custo e oferta de frutos constante ao longo de todo o ano (LIU et al., 2012; HUAPING et al., 2017). De acordo com Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação - FAO, em 2014, a produção mundial de bananas foi de aproximadamente 114 milhões de toneladas, cultivadas em 5,4 milhões de hectares (FAOSTAT, 2014).

No cenário mundial, o Brasil ocupa a quarta posição, ficando atrás da Índia, China e Filipinas. Em 2016, a produção nacional de bananas foi de aproximadamente 7,0 milhões de toneladas, cultivadas em aproximadamente 517 mil hectares (FAOSTAT, 2014; IBGE, 2016). Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil em 2016 a banana gerou um valor bruto de produção (VBP) de 15,5 bilhões de reais, figurando entre as cinco mais importantes culturas, atrás apenas da soja, cana-de-açúcar, milho e café. Considerando a produção agropecuária, a banana ocupa a oitava posição, respondendo por aproximadamente 3% do VPB brasileiro (MAPA, 2016).

Embora o plantio da cultura se estabeleça por todo o país, as principais regiões produtoras concentram-se no Sudeste e Nordeste, com destaque para os Estados da Bahia, São Paulo e Minas Gerais, como os maiores produtores da fruta (IBGE, 2016).

Apesar de existir um grande número de cultivares de bananas, quando se considera padrão de exportação e preferência do consumidor as cultivares do subgrupo Cavendish e Plátanos respondem em conjunto por 61% da produção mundial (RATKE et al., 2012; PLOETZ, 2015). Em contraponto, no Brasil predominam as bananas do subgrupo Prata, em especial a ‘Prata-Anã’ e a ‘Pacovan’, que juntas ocupam aproximadamente 70% da área cultivada no país (AMORIM et al., 2016).

Independente da cultivar, as pragas e doenças são atualmente um dos maiores fatores limitantes à produção e a expansão das lavouras, em especial as sigatokas amarela (*Mycosphaerella musicola*, Leach) e negra (*M. fijiensis*, Morelet) e a murcha de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*). Além das doenças supra citadas, as perdas pós-colheita também exercem forte influência na produção, uma vez que em alguns casos essas perdas podem chegar a 40% do volume total produzido (MAIA et al., 2008; SARTORI e MENEGALLI, 2016).

Os prejuízos referentes às perdas pós-colheita na bananicultura relacionam-se com as particularidades da cultura e com os cuidados exigidos no manejo, desde a colheita dos frutos.

Como fruta climatérica, a banana possui a capacidade de completar o amadurecimento, mesmo desprendida da planta, a partir do aumento dos níveis de respiração estimulados pela produção de etileno endógeno. Essas particularidades a caracterizam como uma fruta perecível, de rápida maturação, e sensível a danos mecânicos, o que exige cuidados durante toda a cadeia de produção (colheita, transporte, embalagem, climatização e manuseio), e a ausência desses cuidados pode levar à desvalorização da fruta no mercado interno e externo (CAMARGO, 2002; CHITARRA e CHITARRA, 2005; LICHTEMBERG et al., 2016).

Embora a rápida maturação seja uma característica marcante em frutos de bananeira, quando se compara cultivares de subgrupos diferentes percebe-se também uma diferença na velocidade de amadurecimento, a exemplo das cultivares do subgrupo Prata, que apresentam redução na vida útil pós-colheita mais acentuada quando comparada aos representantes do subgrupo Cavendish (RINALDI et al., 2010).

O desenvolvimento de cultivares com vida útil pós-colheita mais longa, em especial no subgrupo Prata, permitirá agregar valor à fruta e acessar novos mercados, em especial o de exportação, hoje concentrado nas cultivares ‘Cavendish’. O melhoramento genético apresenta-se como uma das melhores alternativas para o desenvolvimento das referidas cultivares, que aliadas a práticas de manejo adequadas permitirão que a fruta brasileira tenha acesso ao mercados exterior. Por tratar-se de um grande desafio, o melhoramento genético precisa fazer uso de modernas ferramentas da biologia molecular para que o alcance dos objetivos seja atingido, considerando que o processo de maturação em *Musa* spp. é um processo altamente coordenado, geneticamente programado e irreversível (PRASANA et al., 2007; KAUR et al., 2014).

Com o advento da genômica funcional, técnicas como a proteômica, quando associadas à bioinformática, auxiliam na compreensão do organismo em nível sistêmico, onde as proteínas analisadas se integram a uma rede complexa deixando de ser analisadas de forma isolada (DE KEERSMAECKER et al., 2006; FURLAN et al., 2007; GUPTA et al., 2006; LONG et al., 2008; ESPÍNDOLA et al., 2010).

Associada à proteômica, técnicas como *Western blot* permitem a confirmação e a quantificação das proteínas identificadas no proteoma da espécie em estudo, proporcionando maior confiança e robustez às análises (KURIEN e SCOLFIELD, 2003; ABD SEROTEC, 2014).

As cultivares do subgrupo Cavendish, em função da sua importância no mercado internacional de exportação, possuem vários estudos associados sobre a pós-colheita dos frutos, fato ainda incipiente quando se considera cultivares do subgrupo Prata.

Atualmente são encontrados vários estudos relacionados com o amadurecimento dos frutos em bananeira do subgrupo Cavendish (DOMINGUEZ-PUIGJANER et al. 1992; CLENDENEN e MAY, 1997; TOLEDO et al. 2012; DU et al. 2016) e também várias outras fruteiras cujo proteoma foi avaliado quanto ao amadurecimento, a exemplo de mamão (NOGUEIRA et al., 2012); damasco (D'AMBROSIO et al., 2013) e melão (GUO et al., 2017).

Embora vários estudos tenham avaliado o proteoma de algumas fruteiras a fim de entender o processo de maturação, até o momento não existem trabalhos que integrem os resultados da análise proteômica à biologia de sistemas em *Musa* spp. por meio de redes interatômicas. Essa abordagem permite separar módulos funcionais e complexos protéicos que caracterizam melhor o sistema, possibilitando a identificação de funções para proteínas desconhecidas, por meio da associação dos *clusters* de proteínas com a análise de ontologia gênica (BROHÉE et al., 2006; SPIRIN e MIRNY, 2003, WANG et al., 2010). Além dos estudos de *clusters*, as abordagens de interatômica permitem a análise de centralidade usando parâmetros como *betweenness* e *degree* que permitem visualizar o sistema de modo a identificar os nós mais importantes para o equilíbrio do sistema (*hubs*, *gargalos* e *hubs-gargalos*) (JEONG et al., 2001; BONATTO e NAKAYA, 2015).

Baseado nessas informações e dada a importância do subgrupo Prata, em especial a cultivar Prata-Anã, objetivou-se com esse estudo identificar as proteínas presentes nas amostras da polpa da cultivar Prata-Anã dos estádios 1 (totalmente verde), 4 (mais verde do que amarelo) e 6 (totalmente amarelo) de maturação (VON LOESECKE, 1950), bem como construir a primeira rede de interações relacionada ao processo de amadurecimento.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Colheita e caracterização dos estádios de maturação

Para a realização desse trabalho, os frutos da cultivar Prata-Anã foram colhidos na área experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura situada no Recôncavo da Bahia, na cidade de Cruz das Almas, que possui as seguintes coordenadas geográficas: 12°40'19"S e 39°06'22"W e altitude de 220 m considerando o nível do mar. O clima da região é classificado como tropical úmido (Köppen-Geiger), com temperatura anual média de 23,0 °C, umidade relativa em torno de 80% e precipitação anual de 1.136 mm (CLIMATE-DATE.ORG, 2017).

A colheita dos cachos foi realizada aos 130 dias após a emissão floral quando os frutos estavam fisiologicamente desenvolvidos, com a coloração da casca verde clara e diâmetro em

torno de 34 mm para o fruto central da segunda penca (MAHAJAN et al., 2010; LICHTENBERG et al., 2016).

Os cachos foram transportados ao Laboratório de Pós-colheita da Embrapa Mandioca e Fruticultura, onde os frutos foram individualizados, selecionados higienizados, acondicionados em bandejas plásticas e mantidos sob temperatura ambiente de 24 °C. Para a seleção dos estádios de maturação a serem avaliados quanto ao perfil proteico, foram realizadas avaliações diárias atribuindo-se notas que variaram de 1 a 7, de acordo com a escala Von Loesecke, sendo 1 - totalmente verde; 2 - verde com traços amarelos; 3 - mais verde do que amarelo; 4 - mais amarelo do que verde; 5 - amarelo com ponta verde; 6 - amarelo e 7 - amarelo com áreas marrons (VON LOESECKE, 1950). Para a análise proteômica foram selecionados os estádios de maturação 1 (totalmente verde), 4 (mais amarelo do que verde) e 6 (amarelo), representando as fases: inicial, intermediária e de consumo, respectivamente (Figura 1).

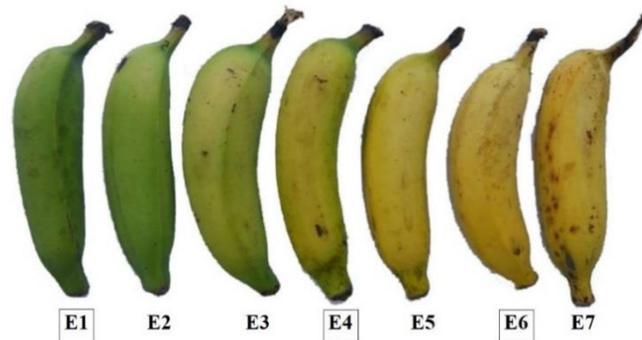


Figura 1. Caracterização fisiológica dos estádios de amadurecimento de frutos de banana da cultivar Prata-Anã. Os frutos com as identificações E1 (estádio 1), E4 (estádio 4) e E6 (estádio 6), foram selecionadas para o estudo de proteômica. Cruz das Almas, 2017.

2.2.2 Extração de proteína e Eletroforese em gel bidimensional

As amostras da parte central da polpa de cada fruto dos três estádios selecionados foram previamente liofilizadas, seguidas da maceração individual em almofariz com N₂ líquido até a obtenção de um pó fino. Um *pool* representativo foi formado a partir das triplicatas biológicas de cada estádio, sendo utilizado um total de 0,2 g do macerado de cada estádio. O método empregado na extração de proteínas totais foi baseado no protocolo descrito por Pirovani et al. (2008). O precipitado proteico final foi solubilizado em *rehydration* buffer (7 mol·L⁻¹ urea, 2 mol·L⁻¹ thiourea, 1% CHAPS, and traces of bromophenol blue).

A determinação da concentração proteica das amostras foi obtida por meio do 2-D Quant-kit (GE Healthcare Biosciences, Little Chalfont, UK), usando albumina do soro bovino

(BSA) como padrão, seguindo as recomendações do fabricante. Uma massa de 500 µg de proteínas de cada amostra foi submetida a focalização isoeétrica em sistema Ettan IPGphor 3 Isoelectric Focusing System (GE Healthcare) em *strips* de 13 cm, com gradiente de pH imobilizado 3 a 10 NL (pH 3-10NL, 130 × 3 × 0,5 mm, GE Healthcare, Immobiline™ Dry-Strip) (SILVA et al., 2013). Cada estágio de maturação foi constituído por triplicatas técnicas totalizando três *strips* por estágio.

Após a focalização isoeétrica, os *strips* foram tratados (2 x 15 min) em tampão de equilíbrio (ureia 6 mol L⁻¹, SDS 2%, glicerol 30%, Tris-HCl 0,05 mol L⁻¹, pH 8,8) contendo DTT 1% e iodoacetamida a 2,5% e em tampão de corrida 1X (Tris, 0,025 mol L⁻¹, Glicina 0,19 mol L⁻¹, SDS 0,1%, pH 8,3), sob agitação lenta.

A segunda dimensão da eletroforese foi conduzida em gel 12,5 % no sistema de eletroforese vertical SE 600 Ruby (Hoeffer) em condições similares às usadas por Silva et al. (2013). Os géis foram corados com azul de comassie coloidal 0,08 % (NEUHOFF et al., 1988)

2.2.3 Análise das imagens dos géis

As triplicatas dos géis de cada estágio de maturação foram verificadas por meio do Labscanner (Amersham Bioscience), já a análise para detecção e quantificação relativa foi realizada pelo software ImageMaster 2D Platinum 7.0 (GE Healthcare), considerando a área e a intensidade dos *spots*. Os géis de referência (gel mestre) foram utilizados para identificar *spots* exclusivos e comparar a acumulação relativa de proteínas presentes nos diferentes estádios de maturação.

Os *spots* comuns considerados diferencialmente expressos entre os estádios de maturação obedeceram variações de intensidade (*fold*) ≥ 1,5 e significância estatística determinada por valores de $p < 0,05$ para o cálculo da ANOVA. A imagem do gel do estágio 1 de maturação (controle) foi comparado com as dos estádios 4 e 6.

2.2.4 Extração de peptídeos em gel e análise por espectrometria de massas (LC/MS/MS)

Os *spots* de cada estágio de maturação selecionados pelo software ImageMaster foram excisados do gel e submetidos a digestão com tripsina de acordo com Shevchenko et al. (2006).

Para remoção do corante e impurezas, os *spots* foram lavados com uma solução de bicarbonato de amônio com acetonitrila. Em seguida essa solução foi trocada por acetonitrila pura. Após sua remoção, os fragmentos foram reidratados com solução de tripsina e bicarbonato de amônio, sendo incubadas por 17 horas a 37°C. Os fragmentos trípticos foram eluídos com

uma solução de acetonitrila com ácido fórmico. As amostras foram reduzidas sob vácuo até um volume de 15 μ L.

Os peptídeos obtidos foram analisados por “*online nano flow liquid chromatography tandem mass spectrometry*” (LC-MS/MS) em um cromatógrafo nanoAcquity (Waters, Milford, MA) acoplado ao espectrômetro de massas Q-ToF micro (Waters), de acordo com Oliveira et al. (2012). As proteínas foram identificadas pelo programa MASCOT (<http://www.matrixscience.com/>) que comparou as sequências obtidas com as sequências depositadas no banco de dados do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), utilizando-se dos seguintes parâmetros: NCBIInr, Viridiplantae (planta verde), digestão pela enzima tripsina, carbamidometil (C) como modificação fixa e oxidação (Met) como modificação variável; máximo de uma perda de sítio de clivagem; e $\pm 0,3$ Da para o erro de tolerância de peptídeos e 0,1 Da para erros dos íons fragmentados.

Com a identificação das proteínas foi possível obter as sequências dos aminoácidos e identificar a ontologia gênica pelo software BLAST2GO (<http://www.blast2go.com/b2ghome>) por meio do banco de dados de *Musa* spp. O perfil de expressão das proteínas foi avaliado por agrupamentos hierárquicos representados por heatmaps. A análise foi realizada pelo software R (Core team, 2014) utilizando os pacotes gplots e RColorBrewer.

2.2.5 Western blot

Para os testes de *immunoblotting*, foram aplicadas 20 μ g de cada amostra em minigéis de poliacrilamida 12,5% (SDS-PAGE) e após o fracionamento das amostras proteicas por eletroforese, realizou-se as transferências das proteínas para as membranas de nitrocelulose durante 7 min por meio do iBlot® Dry Blotting System (Invitrogen, Life Technologies), de acordo com as instruções do fabricante.

As membranas de nitrocelulose foram submetidas à solução de bloqueio, com 2,5% de leite em pó desnatado em tampão TBS-T (Tris-HCl 100 mmol L⁻¹, pH 8,0, NaCl 140 mmol L⁻¹, Tween 20, 0,05% v. v⁻¹) por 30 minutos. Em seguida, foram lavadas três vezes com TBS-T 1X com o tempo de 5 minutos cada lavagem. As proteínas ATP sintase (53,93 kDa), ADH álcool desidrogenase (41,17 kDa), BiP (73 kDa) e Catalase (56,93 kDa), foram detectadas utilizando os anticorpos primários policlonais na proporção 1:2000 sendo estes: anti-sintase ATP, (Agrisera-AS05085), anti-ADH (Agrisera-AS10685), anti-BiP (Agrisera-AS09481-100) e anti-catalase (Agrisera-AS09501-100); todos pertencentes a *Arabidopsis thaliana*. Após a retirada do anticorpo primário, as membranas foram submetidas a mais três lavagens consecutivas por

15 min em TBS-T, seguido da imersão do anticorpo secundário anti-IgG de coelho conjugado com fosfatase alcalina a uma diluição de 1:10000 durante 60 min. Com a remoção do anticorpo secundário, as membranas foram lavadas três vezes consecutivas por 15 min em tampão TBS-T.

O complexo anticorpo-proteína foi visualizado pela imersão da membrana em sistema de revelação colorimétrico, o NBT (nitroblue tetrazolium) e BCIP (5-bromo-4-cloro-3-indolylfosfato) foram utilizados como substratos para a reação colorimétrica da atividade da fosfatase alcalina. O acúmulo da ATP sintase, ADH álcool desidrogenase, BiP e Catalase foi quantificado a partir das imagens das membranas de nitrocelulose utilizando o software GelQuant.Net 1.7.8.

2.2.6 Biologia de sistemas

2.2.6.1 Busca de homólogos entre *Musa* spp. e *Arabidopsis thaliana*

Para obtenção da predição das redes de interações das proteínas, baseados nos perfis proteicos dos estádios 1, 4 e 6 de maturação da cultivar Prata-Anã (*Musa* spp), utilizou-se a metodologia da homologia das sequências (ortólogos) contra banco de interações *The Arabidopsis Information Resource* (TAIR) a fim de identificar as sequências em comuns.

2.2.6.2 Obtenção da rede interatômica

A abordagem para a construção da rede de interações das proteínas identificadas foi baseada na conservação funcional entre as proteínas homólogas de *A. thaliana* e *Musa* sp., revelando possíveis interações em funções e processos biológicos (YANG et al., 2012).

As proteínas homólogas identificadas foram empregadas na construção da rede de interação proteína-proteína. Inicialmente foi estabelecida uma rede para cada um dos estádios. Para isso, foi feito o *download* do interatoma de *A. thaliana* no *STRING database* (SNEL et al., 2000) visualizado no *Cytoscape* versão 3.3.1 (SHANNON et al., 2003). A junção das redes correspondentes aos três estádios de maturação em uma única, foi realizada por meio da função *merge network*.

2.2.6.3 Análise de rede

A rede obtida foi empregada na realização de análises para identificar *clusters* funcionais e complexos protéicos, com o algoritmo *Fastgreedy.community*, do pacote *Igraph* do programa estatístico R. Análises de enriquecimento dos processos biológicos das proteínas que

constituíram os *clusters*, foram realizadas por meio do *plugin Bingo* (MAERE et al., 2005) no programa *Cytoscape*. A centralidade (*degree e betweenness*) das proteínas da rede foi calculada pelo *plugin centiscape* (SCARDONI et al., 2009) (<http://apps.cytoscape.org/apps/centiscape>).

2.2.7 Extração de RNA, síntese de cDNA e análise por PCR em Tempo Real

A seleção dos genes para expressão gênica teve por base os resultados da análise proteômica e do interatoma, onde a partir de bancos de dados *online* como o NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) foi possível identificar as sequências gênicas correspondentes às proteínas alvo para esse estudo. Foram selecionados cinco genes envolvidos no processo de maturação, a saber: proteína associada ao amadurecimento, glucose-6-fosfato isomerase, pectinesterase, invertase da parede celular e ácido 1-carboxílico-aminociclopropano oxidase.

O RNA total foi extraído previamente por meio do kit RNAqueous (AM1912-Ambion) e posteriormente tratado com DNase (RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit Thermo Scientific). A síntese do cDNA foi realizada com o kit High Capacity RNA-to-cDNA (Applied biosystems), de acordo com as recomendações do fabricante.

A reação de PCR em tempo real foi executada com *primers* específicos (Arquivo suplementar 1: Tabela S1), desenhados a partir das sequências de mRNA das proteínas identificadas na análise proteômica. Os *primers* foram elaborados de acordo com as indicações dos parâmetros de Thorton e Basu (2010), com auxílio do *software* Custom Primers - OligoPerfect™ Designer (Invitrogen) e o programa OligoAnalyser 3.1 (IDT SciTools/Integrated DNA Technologies, Inc. – Califórnia, EUA).

O PCR quantitativo em tempo real foi executado com o objetivo de avaliar a abundância relativa dos transcritos de alguns dos genes relacionados aos estádios 1, 4 e 6 de maturação da polpa de ‘Prata-Anã’. As reações foram conduzidas em triplicatas biológicas para cada estágio, cada uma constituída por triplicatas técnicas. O volume utilizado na reação foi de 20 µL, contendo 240 ng de cDNA, 1 µl de cada iniciador (R + F) 10 µmol.L⁻¹ e 10 µL SYBR Select Master Mix (Applied Biosystems).

Para o ciclo de amplificação foram utilizadas os seguintes passos: 50 ° C durante 5 minutos, 95 ° C durante 5 minutos, 95 ° C durante 30 segundos, 60 ° C durante 1 minuto e 72° durante 1 minuto, as três últimas etapas foram repetidas ao longo de 40 ciclos. Ao final do ciclo de amplificação do gene, os produtos foram dissociados, confirmando a formação de produtos únicos e específicos. Neste caso, as etapas conduzidas apresentaram as seguintes características: 95 ° C por 1 minuto; 55 ° C durante 30 segundos e 95 ° C por 30 segundos. Para realizar a

análise de expressão relativa, foi utilizado o método $2^{-\Delta\Delta Ct}$, com os genes de referências beta tubulina e Actina de *Musa* spp., utilizados para a normalização dos dados (PODEVIN et al., 2012).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Estabelecimento de perfis proteicos da polpa de banana

O perfil proteico dos frutos nos estádios de maturação 1, 4 e 6 foi estabelecido em eletroforese unidimensional (Figura 2). O protocolo de extração proteica desenvolvido por Pirovani et al. (2008) permitiu a visualização de bandas bem definidas, sem arraste e ausência de degradação das proteínas. As bandas são observadas na faixa de 14 a aproximadamente 97 kDa, com uma variação de intensidade entre os estádios em torno de 30 kDa.

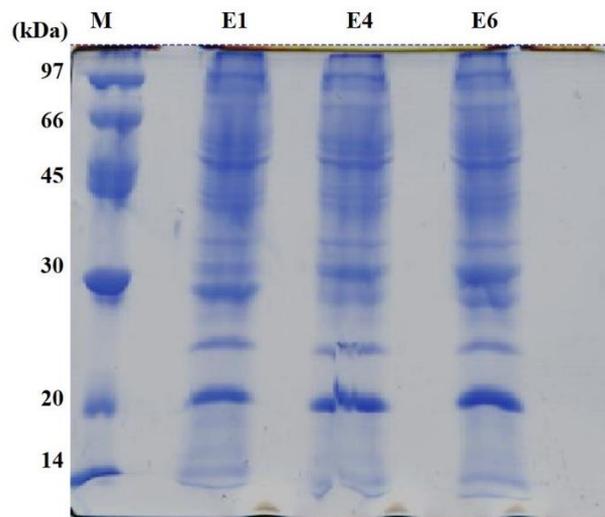


Figura 2. Eletroforese SDS-PAGE (poliacrilamida 12,5%) de proteínas totais de amostras da polpa de banana da cultivar Prata-Anã nos estádios 1, 4 e 6 de maturação respectivamente. Os números à esquerda indicam peso e massa molecular em kDa. Cruz das Almas, 2017.

A quantidade do extrato obtido permitiu o uso de 500 μ g de proteínas para as triplicatas, correspondentes aos três estádios de maturação, proporcionando uma boa visualização e distribuição dos *spots*, principalmente, na faixa de massa molecular de 14 a 97 kDa e na faixa de pH de 5 a 9 (Figura 3). No total foram detectados 597 spots, dos quais 438 foram excisados dos géis e 221 foram identificados por espectrometria de massas (Arquivo suplementar 2: Tabela S2). Desses, 36 foram detectados exclusivamente no estádios 1 (fruto totalmente verde), 14 no estádio 4 (fruto mais amarelo do que verde), 39 no estádio 6 (fruto totalmente amarelo) e 124 diferencialmente expressos, presentes nos três estádios de maturação (Figura 4).

Algumas proteínas foram detectadas em mais de um *spot*, sugerindo a presença de modificações pós-traducionais, caracterizadas por mecanismos que regulam a estrutura e função das proteínas alterando tamanho, carga, estrutura e conformação das mesmas (CLARK et al., 2005). O nível de expressão das 221 proteínas pode ser observado no Arquivo suplementar 3: Figura S3).

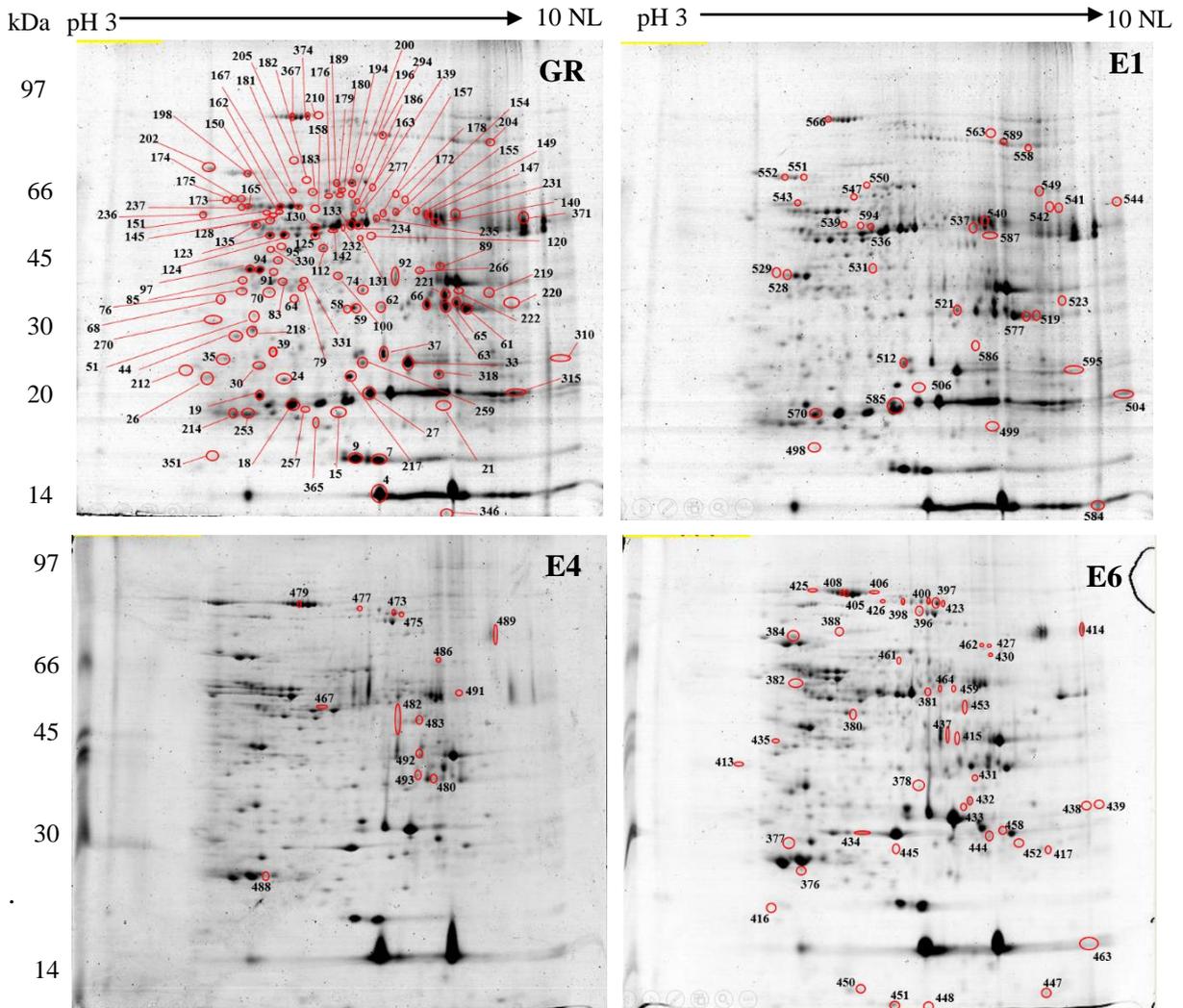


Figura 3. Perfil proteômico de três estádios de maturação de frutos de banana Prata-Anã. Gel de referência (GR) com a numeração dos spots comuns aos três tratamentos identificados por ms/ms (RG) e proteínas exclusivas dos estádios de maturação 1 (E1), 4 (E4) e 6 (E6). Cruz das Almas, 2017.

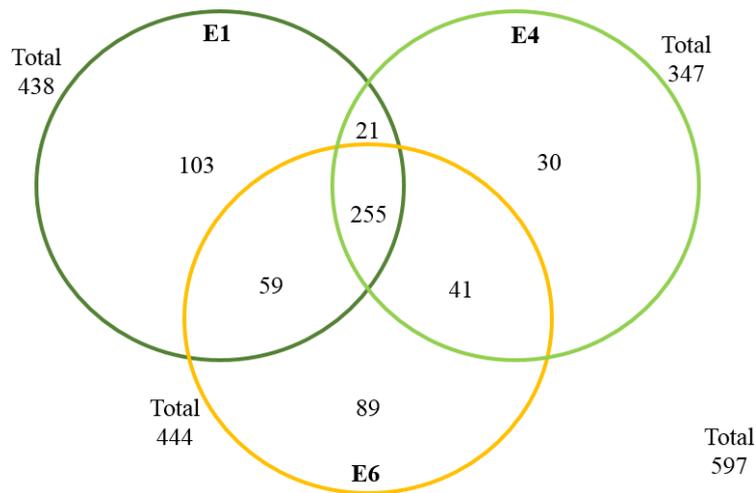


Figura 4. Número de spots de proteínas totais do gel 2-DE. Diagrama de Venn dos *spots* totais obtidos do perfil proteico das amostras da polpa dos frutos de banana da cultivar Prata-Anã, nos estádios 1, 4 e 6 de maturação. Cruz das Almas, 2017.

2.3.2 Caracterização geral da função molecular das proteínas exclusivas envolvidas no processo de maturação

A Figura 5 representa o nível hierárquico 2 da ontologia gênica para a categoria função molecular das proteínas de *Musa* spp., obtidos a partir do software Blast2GO, utilizando o banco de dados do NCBI. Observa-se a comparação entre o percentual das proteínas que possuem a mesma função molecular para os diferentes estádios de maturação, além de comprovar a complexidade do nível 3 em relação ao nível 2.

As proteínas do fruto verde (Estádio 1) foram categorizadas em duas classes com funções moleculares de atividade catalítica e de ligação. Por outro lado, as proteínas dos estádios 4 e 6 foram distribuídas em três classes, sendo que duas permaneceram com as mesmas funções do fruto verde e uma terceira classe associada a atividades antioxidantes e de transporte, respectivamente. Esses resultados sugerem que os estádios 4 e 6 detêm um maior percentual de proteínas envolvidas nessas atividades quando comparado ao E1, o que facilitou a detecção da terceira classe pelo nível 2. Já para o E1, essas funções só foram passíveis de detecção a partir do nível 3, no qual percebeu-se uma maior anotação para todos os estádios de maturação (Figura 5).

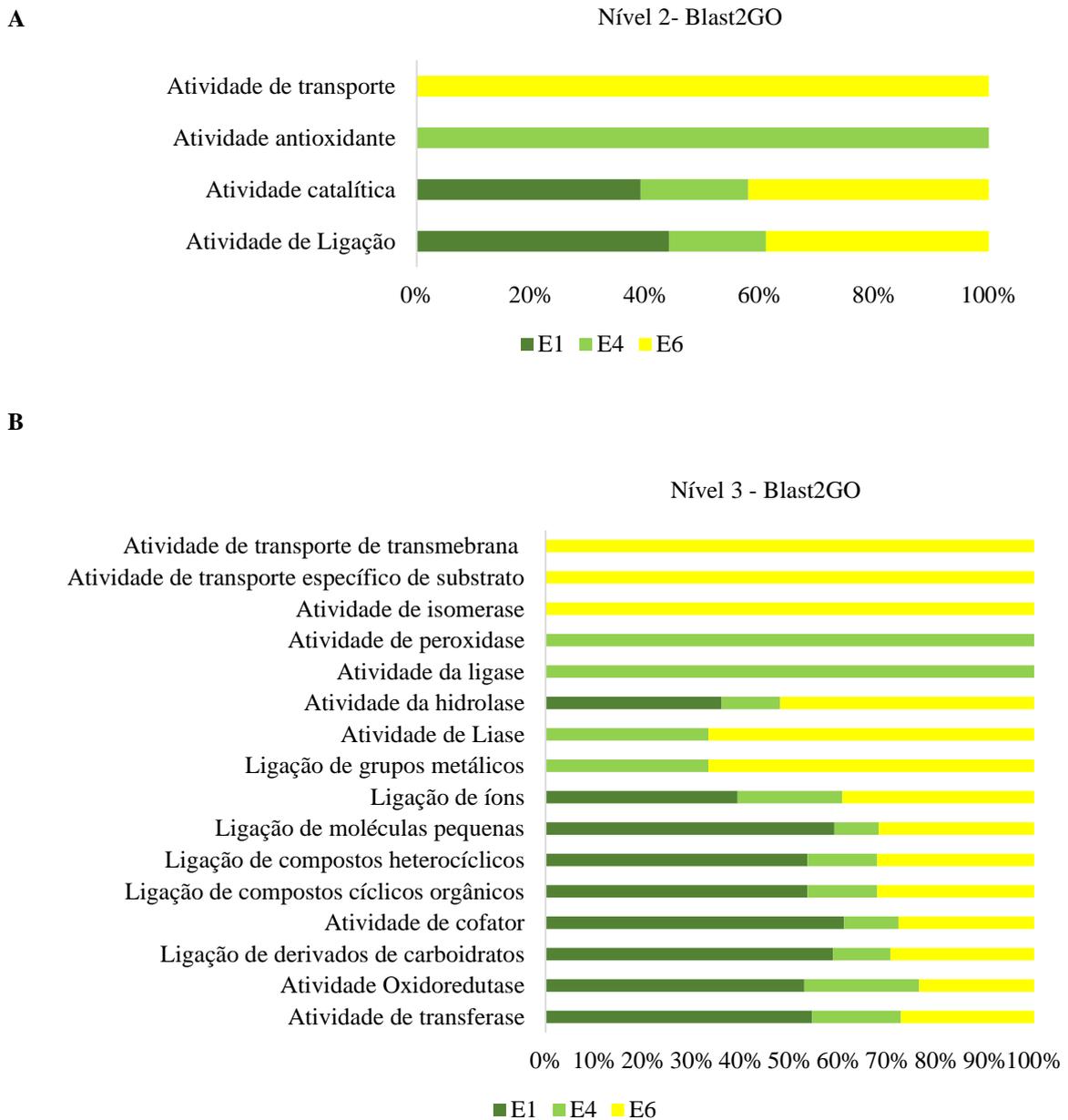


Figura 5. Comparação da categorização funcional para os níveis 2 (A) e 3 (B) das proteínas exclusivas da polpa de banana da cultivar Prata-Anã em resposta aos estádios de maturação 1, 4 e 6, pelo Blast2GO. Cruz das Almas, Brasil, 2017.

2.3.3 Validação dos dados proteômicos por *Western blot*

A análise de *Western blot* validou os resultados oriundos da espectrometria de massas, por meio da confirmação da presença das proteínas catalase (CAT), ATP sintase subunidade beta (ATP β), ADH (álcool desidrogenase,) e BiP (proteína de ligação luminal). Os anticorpos utilizados estão associados ao estresse oxidativo, visto que o aumento na respiração e a

produção de etileno podem ser apontados como um tipo de resposta ao estresse (RESENDE, 2010).

Dos anticorpos avaliados (Figura 6A), a ATP β e a CAT validaram os resultados com os níveis de intensidades das bandas (Figura 6B) que corresponderam às expressões das proteínas identificadas no proteoma (Figura 6C). A ADH e a BiP não apresentaram o mesmo perfil, porém, essa discordância pode ser atribuída a percentagem geral de proteínas identificadas no proteoma, uma vez que das 438 excisadas dos géis, apenas 221 foram classificadas, permitindo inferir-se que alguns spots correspondentes a essas proteínas, poderiam estar presentes, mas não foram identificados (Figura 6).

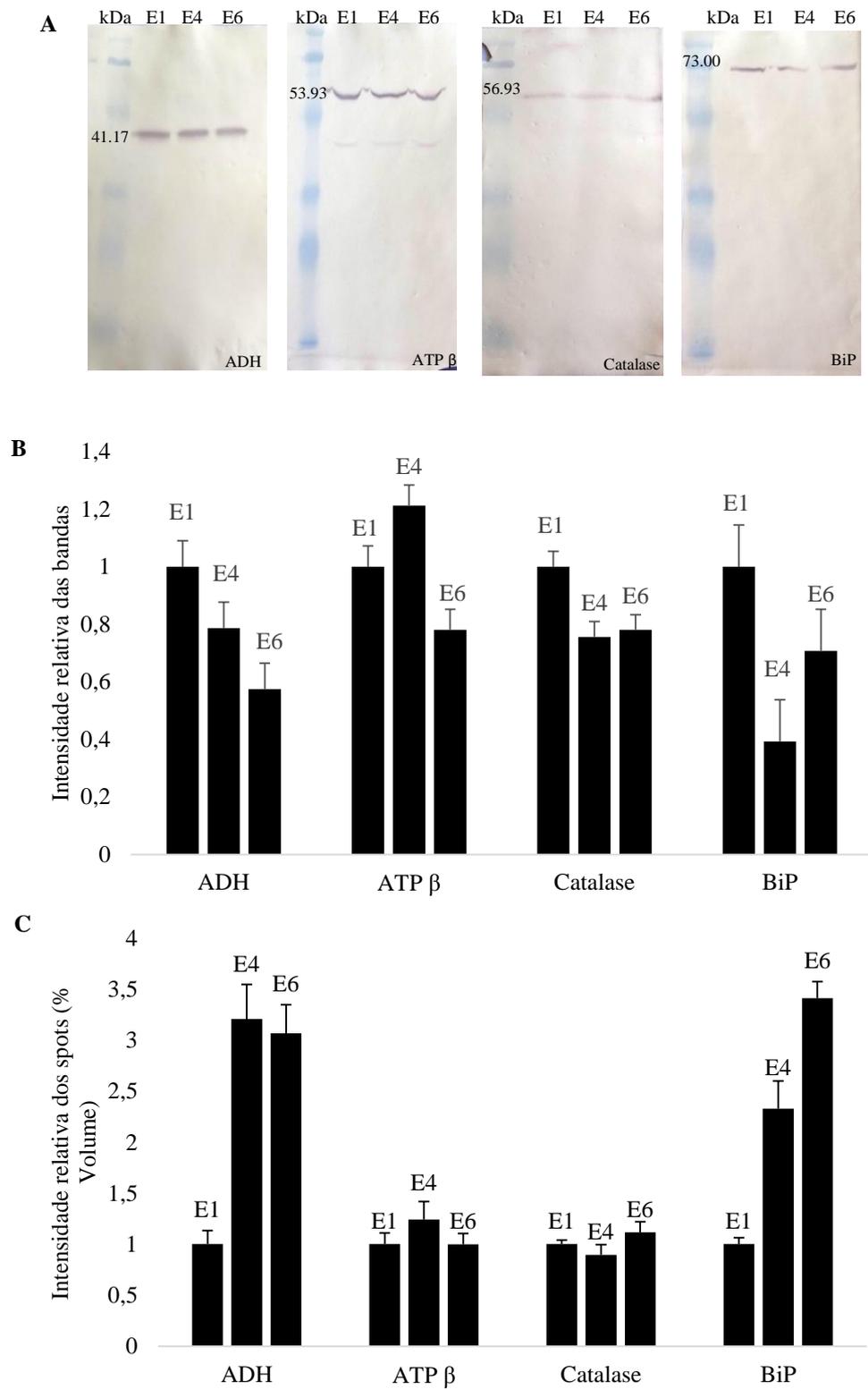


Figura 6. Confirmação da espectrometria de massas por análise de *Western blot*. Perfil de reconhecimento dos anticorpos anti-ADH; anti-ATP β ; anti-catalase e anti-BiP (A), Quantificação da intensidade relativa das bandas (B) e da percentagem de volume correspondente aos spots identificados nos géis (C). Cruz das Almas, 2017.

2.3.4 Interação proteína-proteína

A análise das proteínas ortólogas de *A. thaliana* permitiu a correspondência com 68 das 221 proteínas de Prata-Anã. A rede desenvolvida para as fases de maturação da cultivar em estudo incluiu 1.021 proteínas para o estágio 1 de maturação (fruto verde) com 43.890 interações, 770 proteínas no estágio 4 (fruto em amadurecimento), com 14.672 interações; e 16.133 interações no estágio 6 (fruto maduro) a partir de 893 proteínas (Figura 7). A união dessas redes gerou um interatoma com 1.155 nós e 45.581 conectores, o qual foi empregado nas análises.

Com base na interseção proposta pela rede de interações, o estágio 1 (fruto verde) apresentou 4 proteínas exclusivas, o estágio 6 (fruto maduro) apontou 12 e o estágio 4 (em amadurecimento) compartilhou 1 proteína com o estágio 6; já as proteínas comuns, totalizaram 51, integrando as 68 proteínas homólogas à *A. thaliana* (Arquivo suplementar 4: Tabela S4).

2.3.4.1 Análise de clusters e ontologia gênica

O interatoma obtido foi dividido em 8 *clusters* funcionais e a avaliação das proteínas mais relevantes foi realizada por meio da análise de centralidade que classificou as proteínas em comuns, *hubs* e/ou gargalos (Arquivo suplementar 5: Tabela S5).

Os *clusters* 1 e 6 (Figura 7), quando comparados aos demais, apresentaram os maiores números de proteínas de *Musa* spp., e essas fazem parte das funções de catabolismo proteico e metabolismo de carboidratos, respectivamente. Entretanto, importante destacar a presença do

cluster 3, que apesar de ter apresentado apenas duas proteínas de *Musa* spp., está diretamente relacionado ao processo de amadurecimento.

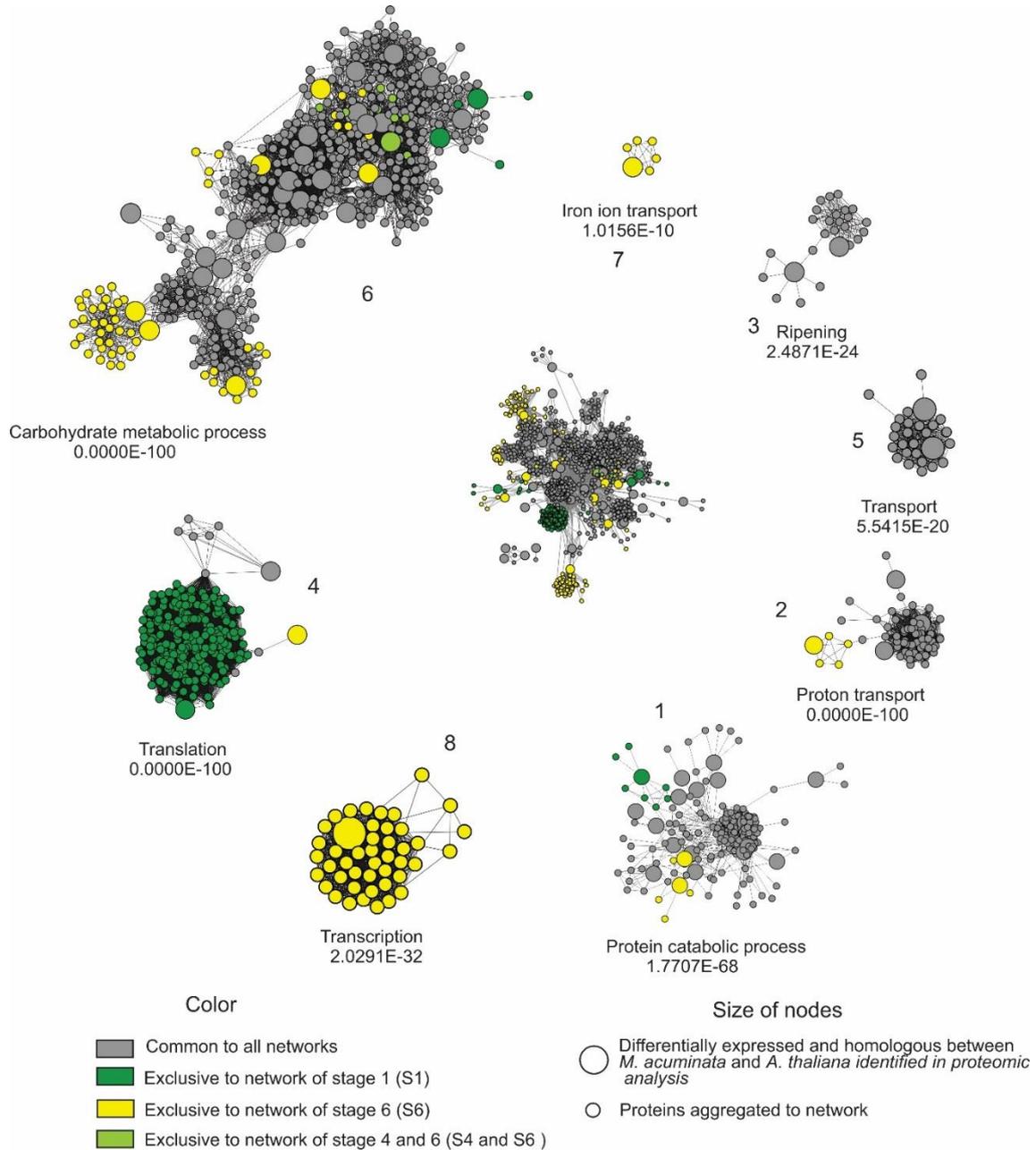


Figura 7. Rede de interações de proteínas ortólogas de *A. thaliana* relacionadas ao processo de maturação em *Musa* spp., constituído por oito *clusters* funcionais. Cruz das Almas, 2017.

Entre as 21 proteínas do *cluster 1* responsáveis pelo processo catabólico proteico, podem ser citadas: amido sintase ligada ao grânulo (GBSS) e a endoquitinase, consideradas proteínas comuns para o interatoma e com poucas interações, porém importantes para o processo de maturação. Já a proteína dissulfeto isomerase, apesar de pertencer aos três estádios na rede, foi

identificada como gargalo, apresentando capacidade de se comunicar com outras proteínas ou processos biológicos.

O *cluster* 3 nomeado de amadurecimento, apresentou as proteínas ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano oxidase e a LOC103987064 (3 hidroxiaçil desidratase) como as únicas proteínas de *Musa* spp. integrantes do *cluster*, ambas com uma capacidade diferencial de se comunicar com outras proteínas, sendo portanto denominadas de gargalo.

No *cluster* 6, ficaram reunidas 31 proteínas responsáveis pelo processo metabólico de carboidratos. Entre elas, a Adenosil homocisteína comum a todos os estádios, e pectinesterase exclusiva da rede do estádio 6 (fruto maduro), ambas classificadas como gargalo; já a glicose-6-fosfato isomerase, foi predita como *hub*-gargalo, sendo considerada fundamental para o funcionamento da rede.

2.3.5 Níveis de expressão das proteínas do interatoma de *Musa* spp.

No *heatmap*, é possível constatar a alteração no perfil de expressão das proteínas dos estádios de maturação 1, 4 e 6 (Figura 8).

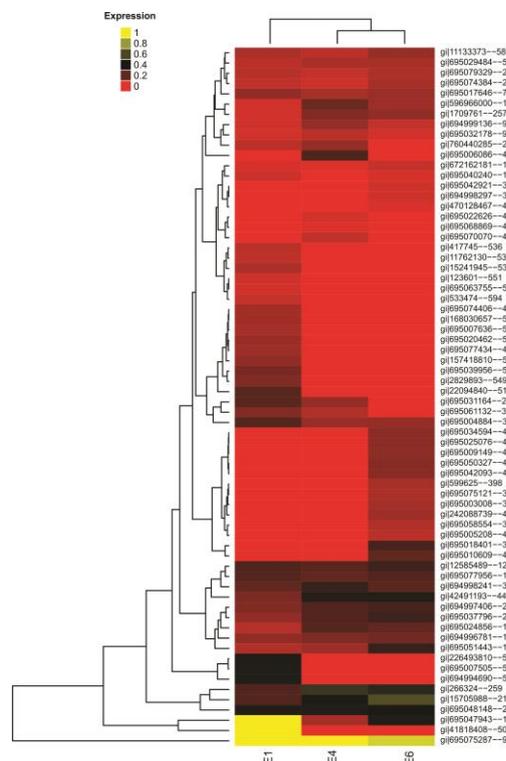


Figura 8. Análise de agrupamento hierárquico do nível de expressão das 68 proteínas de *Musa* spp. que foram homólogas as de *A. thaliana*. Cruz das Almas, 2017.

Além da visualização geral da rede de interação e do perfil de expressão das proteínas que a constitui (Figura 7 e 8), foi possível observar separadamente a rede de interação dos *clusters* 1, 3 e 6 (Figura 9. A1, B1, C1), responsáveis pelos processos de catabolismo proteico, amadurecimento e metabolismo de carboidratos, respectivamente, bem como a expressão das proteínas que integram os *clusters* (Figura 9. A2, B2, C2).

Dentre as proteínas do *cluster* de metabolismo proteico (*Cluster 1*) (Figura 9.A1), observa-se que a expressão da dissulfeto isomerase (*spot 236*) responsável pelo estresse oxidativo e pela interação com transportadores de sacarose, aumentou de acordo com a evolução da maturação, onde o estágio 1 (frutos verde) apresentou a menor expressão e os estádios 4 (fruto intermediário) e 6 (fruto intermediário) apontaram o maior perfil de expressão (Figura 9.A2).

Ainda no *cluster 1*, observa-se, que a enzima amido sintase ligada ao grânulo (GBSS) (*spot 151*) que atua no processo de biossíntese de amido mostrou-se mais expressa no estágio 4, fase intermediária do amadurecimento e uma redução no estágio 6 (9.A2), indicando a finalização da gênese do amido.

O perfil de expressão da proteína endoquitinase (*spot 217*) entres os estádios de maturação mostrou-se notável (Figura 9.A2), com intensificação da expressão durante o amadurecimento.

No *cluster* relacionado ao amadurecimento (*Cluster 3*) (Figura 9.A1), a enzima ácido 1-carboxílico-aminociclopropano oxidase apontou maior nível de expressão nos estádios 4 e 6 quando comparado ao estágio 1 (Figura 9.A2), esse fato se deve a função da enzima, já que a mesma atua no processo de biossíntese de etileno.

Para as proteínas de metabolismo de carboidratos (*Cluster 6*) (Figura 9.C1), percebe-se que a expressão da glicose-6-fosfato isomerase (*spot 158*) foi semelhante entre os estádios de maturação (Figura 9.C2). Essa enzima é responsável pelo processo de gliconeogênese, e atua na transformação da glicose-6-fosfato em frutose-6-fosfato, um dos intermediários da glicólise. Ainda no *cluster 6* (Figura 9.C1), encontra-se a pectinesterase (*spots 378 e 413*) uma das enzimas responsáveis pelo amaciamento da polpa de banana característica do amadurecimento, o que explica a expressão no estágio 6, fruto totalmente maduro (Figura 9.C2).

2.3.6 Expressão Gênica

Com a importância das proteínas selecionadas para o amadurecimento e para a rede de interações, foi possível confirmar o padrão de expressão e investigar a relação entre a transcrição do gene e a proteína, utilizando para tal a técnica de PCR em Tempo Real. A análise de transcritos mostrou a variação da expressão de um mesmo gene entre as amostras dos diferentes estádios de maturação (Figura 10).

A comparação entre a expressão da proteína e do gene para os três estádios de maturação só foi possível para o ácido 1-carboxílico-aminociclopropano oxidase (ACCO), que na análise

proteômica apresentou expressão da proteína para os três estádios e onde foi possível observar semelhanças entre as expressões do gene e da proteína (Figura 10C).

De uma forma geral, dos cinco genes avaliados, três apresentaram maior expressão para a polpa madura (E6): proteína associada ao amadurecimento, invertase da parede celular e glicose-6-fosfato isomerase (Figura 10.A2, B2 e D2). Já os dois genes restantes, ácido 1-carboxílico-aminociclopropano oxidase e pectinesterase, tiveram maior expressão na polpa em amadurecimento (E4) (Figura 10.C2, E2).

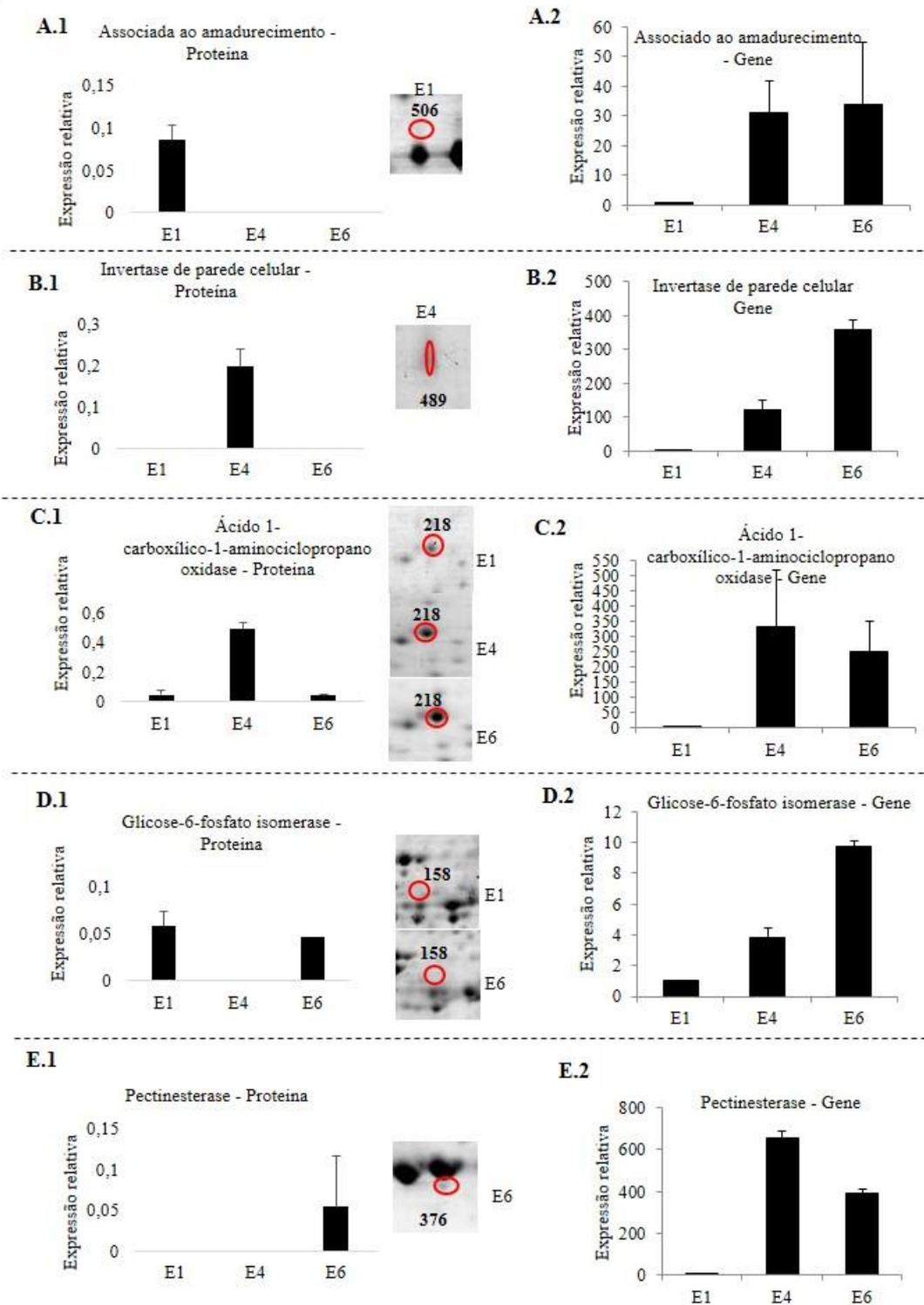


Figura 10. Perfis de expressão relativa das proteínas e dos genes: Associado ao amadurecimento (A), Invertase da parede celular (B), Ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano oxidase (C), Glicose-6-fosfato isomerase (D) e Pectinesterase (E), envolvidos no processo de maturação da polpa de banana de Prata-Anã durante os estádios de maturação 1, 4 e 6. As quantificações foram normalizadas utilizando os genes de referência Beta tubulina e Actina. Cruz das Almas, 2017.

2.4 DISCUSSÃO

2.4.1 Cor da casca e funções moleculares

A coloração da casca avaliada de acordo com a escala de Von Loesecke (1950), mostrou-se eficiente na distinção dos estádios de maturação de frutos da cultivar Prata-Anã, permitindo a seleção de três fases do processo de maturação, inicial, intermediária e de consumo, representadas pelos estádios 1, 4 e 6, respectivamente.

A mudança na coloração, apresenta-se como primeiro sinal perceptivo do início da maturação, sendo portanto fator decisivo para o consumidor no momento da compra (MATSUURA et al., 2004; CHITARRA e CHITARRA 2005). A alteração da cor verde para a amarela por exemplo, indica a decomposição estrutural da clorofila por meio da ativação da enzima clorofilase e da síntese de carotenos, o que substitui a cor verde pela amarela nos frutos, indicando a maturidade nos mesmos (MENDONÇA et al., 2003)

Com o amadurecimento, além de mudanças na cor da casca, ocorrem alterações na textura, no sabor, e no aroma, resultados da ativação do metabolismo da parede celular, da síntese de açúcares, dos ácidos orgânicos, e dos compostos voláteis que provém das modificações no padrão de expressão de vários genes (CROSS, 1987; TUCKER, 1993; GIOVANNONI, 2004).

A análise de ontologia gênica do conjunto de dados proteômicos pelo software Blast2GO, apontou funções moleculares relevantes para o processo de maturação nos níveis hierárquicos 2 e 3 da ontologia gênica (Figura 5). O nível 2, apesar de apresentar menor anotação quando comparado ao nível 3, identificou atividades de oxidoreductase para o E4 e de transporte para o E6, o que não foi possível identificar para o estágio 1 no mesmo nível.

A identificação da classe de proteínas com funções de oxidoreductase e de transporte para os estádios 4 e 6, respectivamente, em nível de menor da anotação gênica (nível 2), sugerem que a maioria das proteínas desses estádios estão relacionadas com essas funções, favorecendo a presença da classe em níveis de menor complexidade quando comparada ao estágio 1, onde essas funções só foram passíveis de detecções com o aumento do nível hierárquico para o nível 3 (Figura 5).

Na classe de proteínas de atividade oxidoreductase por exemplo, encontram-se as enzimas relacionadas com reações de óxido-redução que atuam em processos de respiração e fermentação (BARBOSA et al., 2014).

O acúmulo de antioxidantes como polifenóis, podem variar de acordo com o estágio de maturação (SEVERO et al., 2010). Durante o processo de maturação, o acúmulo de enzimas antioxidantes como a catalase é atribuída como resposta ao estresse oxidativo, que ocorre principalmente no início da maturação, sendo considerada umas das enzimas responsáveis pela remoção H_2O_2 (LI et al., 2016).

O nível 3 (Figura 5B), apresentou maior anotação gênica, o que facilitou a visualização de um maior número de funções não detectadas no nível menor (nível 2), indicando também variação no valor percentual das funções moleculares, que apresentou-se maior ou menor de acordo com a importância da proteína para o respectivo estágio de maturação.

O E1 apresentou 59% de proteínas com funções de ligação de derivados de carboidratos, enquanto os estádios 4 e 6 reduziram esse valor para 12 e 29%, respectivamente (Figura 5B). Durante a maturação ocorre uma importante via metabólica para o metabolismo de carboidratos e é nessa etapa que o amido é hidrolisado em sacarose (YUAN et al., 2017), apontando assim, um maior percentual de proteínas envolvidas nessa função para os frutos verdes, quando comparados aos estádios finais de maturação devido aos níveis de amido presentes na polpa.

Com o aumento da sacarose, ocorre a perda de firmeza da polpa e com isso a integração e participação de várias hidrolases que provocam a desintegração dos hidratos de carbono da parede celular, tornando a polpa macia e apta para ingestão (BRADY, 1987; GAYATHRI et al., 2013). Essa característica explica o maior percentual da classe de proteínas com atividade de hidrolase no estágio 6 (56%), que é considerado o de consumo em relação aos estádios 1 (36%) e 4 (12%) (Figura 5B), onde a polpa ainda apresenta-se firme.

Esses resultados conjecturam que diferentes processos moleculares ocorrem durante a fase pós-colheita e que as funções moleculares variam de acordo com o grau de maturação do fruto.

2.4.2 Perfil diferencial das proteínas validadas por *Western blot*

A análise de *Western blot* validou a presença de proteínas como: a álcool desidrogenase (ADH) (*spots* 92, 266, 437, 482), a ATP sintase beta (ATP β) (*spots* 128, 135) a catalase (*spots* 147, 149, 155, 491, 540, 542) e a *chaperone* molecular BiP (*spots* 198, 202, 425, 451, 551) e permitiu avaliar a expressão das mesmas, cuja abundância foi alterada em resposta aos estádios de maturação.

Na Figura 6C percebe-se o aumento da intensidade da enzima álcool desidrogenase (ADH) do fruto verde (E1) para os frutos em amadurecimento (E4) e maduro (E6).

Provavelmente essa enzima pode estar relacionada à biossíntese do aroma volátil e possui importante função na formação de álcoois e ésteres, além de atuar na transformação de etanol em acetaldeído, favorecendo o processo da diminuição de flavanoides (EDAGI e KLUGE, 2009; GUO et al., 2017).

Alguns estudos envolvendo o amadurecimento de banana, revelaram um aumento da atividade enzimática da ADH relacionado ao avanço dos estádios de maturação, indicando um aumento da proteína em paralelo com a atividade (SKAKOUN e DAUSSANT, 1975; HYODO et al., 1983).

Esses resultados são concordantes com os encontrados em frutos climatéricos como melão e tomate, porém destoaram em frutos não climatéricos, como foi o caso do morango, no qual houve uma redução da presença da ADH durante o amadurecimento, indicando que não há um padrão na expressão, podendo a enzima estar associada ao perfil de amadurecimento de cada fruto (ALMEIDA et al., 2015; SONG et al., 2015; GUO et al., 2017).

Já a enzima ATP sintase (subunidade beta), apresentou maior intensidade na amostra do estágio 4, etapa da maturação que envolve maiores mudanças bioquímicas entre as quais o aumento da respiração e a produção autocatalítica de etileno (WATADA et al., 1984). Entretanto, no estágio 6, observou-se uma redução da intensidade dessa enzima fato que pode ser atribuído à redução de sua atividade durante a maturação e senescência (PALMA et al., 1995). Esses dados corroboram com os resultados encontrados em frutos de tomate, onde os níveis de ATP sintase atingiram o pico durante o climatérico, sendo reduzido durante o amadurecimento, indicando o declínio de 50% das subunidades α e β de ATP sintase durante o processo de amadurecimento (HOLTZAPFFEL et al., 2002).

Para os dados de intensidade da enzima catalase, foi possível observar uma maior expressão no estágio 6 de maturação. Essa enzima é responsável por catalisar a decomposição do peróxido de hidrogênio em água, preservando as células das espécies reativas de oxigênio que aumentam durante a maturação. No entanto, esse sistema de proteção é eficaz apenas durante o aumento do etileno, que coincide com a alta atividade da catalase, que é reduzida no início da senescência (MASIA, 1998; GHASEMNEZHAD et al., 2008).

Esses dados corroboram com os resultados encontrados para a polpa de maçã e mamão, onde a atividade enzimática foi maior nas amostras maduras, exibindo o mesmo perfil de expressão identificado para a polpa de banana (MASIA, 1998; SRIVASTAVA e DWIVEDI, 2000; SHADMANI et al., 2015).

Na Figura 6C, a *chaperone* molecular BiP (proteína de ligação luminal), foi representada pelo conjunto de proteínas da família HSP70, que reconhecem o processo de

maturação como um tipo de estresse. Para essas proteínas, observa-se no gráfico o aumento dos níveis de expressão à medida que os frutos amadureceram e essa elevação poder ser considerada como uma resposta ao estresse, a fim de manter a homeostase celular (SUN et al., 2010; PONGPRASER et al., 2011).

O maior nível de expressão dessa proteína foi encontrado no estágio 6, que caracteriza o fruto maduro. De acordo com Pongpraser et al. (2011), as mudanças que ocorrem durante a maturação, como degradação da parede celular e excesso de agentes oxidantes na célula, são consideradas pelas HSP70 como sinais de instabilidade, justificando assim o aumento da expressão.

2.4.3 Expressão de proteínas e genes informativos do interatoma de *Musa* sp. envolvidos no processo da maturação.

A identificação das proteínas envolvidas nas fases de maturação da cultivar Prata-Anã possibilitou a elaboração da primeira abordagem interatômica em *Musa* spp. A construção do interatoma foi baseada no acervo das interações proteína-proteína de *Arabidopsis thaliana*, disponível no banco de dados *String*. Os produtos proteicos do genoma de *A. thaliana* participam de aproximadamente 200.000 interações proteína-proteína, o que torna a espécie bastante informativa (LIN et al., 2009).

Na análise do interatoma, os *clusters* 1 (catabolismo proteico) e 6 (metabolismo de carboidratos), se destacaram por concentrarem o maior número de proteínas de *A. thaliana* homólogas a *Musa* spp., e por apresentarem funções efetivas com o amadurecimento. Já o *cluster* 3 do interatoma apresentou apenas duas proteínas homólogas à espécie em estudo, porém com função diretamente relacionada ao amadurecimento. Os níveis de expressão dessas proteínas podem ser observados na Figura 9. Para os *clusters* restantes, observa-se que a maioria das proteínas foram agregadas à rede, não apresentando homologia com *Musa* spp. (Figura 7).

2.4.3.1 Proteínas associadas com o processo de catabolismo proteico (*Cluster* 1)

No *cluster* 1, a proteína dissulfeto isomerase (*spot* 236), apontada como gargalo dentro da rede interações (Arquivo suplementar 5: Tabela S5), apresentou aumento no nível de expressão com o avanço dos estádios de maturação (Figura 9A). A ausência de trabalhos na literatura que relatem o envolvimento dessa proteína em processos de maturação para *Musa* spp., classifica esse estudo como o primeiro a identificar e relatar o envolvimento da dissulfeto isomerase no processo de amadurecimento da espécie.

Alguns trabalhos identificaram a interação da proteína dissulfeto isomerase com genes transportadores de sacarose em batata (SUT1) e em tomate (SUT4), fato também observado em pêra (KRUGEL et al., 2012; GAO et al., 2016). O silenciamento desse gene em frutos de morango reduziu significativamente os níveis de transcrição e os teores de sacarose, retardando o amadurecimento dos frutos; por outro lado, a sua super expressão aumentou os níveis de sacarose e acelerou o amadurecimento (JIA et al., 2013).

Dessa forma, infere-se que o aumento no nível de expressão da proteína dissulfeto isomerase pode estar correlacionada ao acúmulo de açúcares pelo transportador de sacarose, já que ocorre interação entre ambos, o que justifica a elevação da expressão dessa enzima no fruto maduro, onde o teor de açúcares é maior.

Análises dos níveis de transcritos de dissulfeto isomerase em alfafa revelaram maior expressão na flor madura quando comparada com a raiz e a folha (SHORROSH e DIXON., 1991). Resultados semelhantes também foram observados em estudos com *A.thaliana*, onde relatou-se o envolvimento da proteína disulfide-isomerase na maturação das estruturas das flores, como o tubo polínico e o saco embrionário (CHO et al., 2011).

Diante dessas informações, é possível constatar a relação dessa proteína com a maturidade de estruturas vegetais, reforçando a descoberta inédita dessa proteína no processo de amadurecimento de frutos de banana.

Dada a importância da dissulfeto isomerase para o interatoma, e sabendo-se da interação da mesma com o transportador de sacarose e da correlação desse último com o amadurecimento, recomenda-se a investigação em nível de silenciamento gênico, para confirmar o seu papel como um possível regulador do amadurecimento *Musa spp.*

No *cluster 1* (Figura 9A), a análise do nível de expressão da enzima amido sintase ligada ao grânulo (GBSS) (*spot 151*), também conhecida como proteína cerosa, demonstrou um aumento da expressão do E1 para o E4, seguida de uma redução no E6. Essa enzima é responsável pela biossíntese da amilose, um dos constituintes do amido, principal carboidrato de cereais, tubérculos, leguminosas e fruteiras (MIAO et al., 2014).

Estudos como a inibição da expressão de GBSSI por RNAi e silenciamento de genes em batata doce e trigo, respectivamente, resultaram em uma batata transgênica isenta de amilose e em uma redução significativa nos teores desse polissacarídeo em trigo, evidenciando a importância dessa proteína na regulação da formação de amilose (OTANI et al., 2007 e WILLIAMS et al., 2007).

Em trabalhos com banana a enzima GBSS apresentou maior atividade durante o desenvolvimento dos frutos, etapa de maior acúmulo de reservas de amido, seguida de uma

redução após a colheita; além de uma diminuição nos níveis de transcritos dessa enzima no mesmo período (CLENDENNEN et al., 1997 e MIAO et al., 2014).

Parte das alterações fisiológicas que ocorrem no fruto durante o processo de maturação são devido a uma resposta à produção de etileno (BURDON et al., 1994). Portanto, é provável que o aumento no nível de expressão da enzima GBSS no E4 de maturação seja regulado pelo etileno e que nesse estágio encontra-se em maior atividade quando comparado com o início (E1) e final da maturação (E6).

A proteína identificada como associada ao amadurecimento (*spot* 506), detectada apenas no fruto verde (E1) não permaneceu no interatoma após o *blast* com *A. thaliana*, porém, sua sequência apresentou 97% de semelhança com a endoquitinase (*spot* 217), proteína integrante desse *cluster* e presente nos três estádios de maturação, onde o nível de abundância aumentou com o avanço da maturação (Figura 9A2). Esses dados concordaram com os resultados da análise de PCR em tempo real, onde o gene correspondente se expressou nos três estádios de maturação, com um aumento gradual da expressão (Figura 10A2). Estudo com o gene endoquitinase em bananas do subgrupo Cavendish mostrou abundância no nível de expressão durante todo o processo de amadurecimento do fruto (XU et al., 2007).

Em experimentos realizados com bananas utilizando diferentes tratamentos para avaliar os níveis de expressão do gene de endoquitinase (MaECHI1), foi possível observar o aumento gradual da expressão gênica para os frutos amadurecidos naturalmente. Já para os frutos que foram submetidos a etileno exógeno, percebeu-se aumento de 300 vezes maior da expressão gênica, quando comparados aos frutos amadurecidos naturalmente. Na presença de 1-metil-ciclo-propeno (1-MCP) considerado um inibidor da biossíntese de etileno, foi possível verificar a repressão desse gene (LIU et al., 2012).

Os resultados da expressão gênica dos frutos amadurecidos naturalmente corroboram com os dados encontrados no presente trabalho, indicando que aumento progressivo da expressão do gene endoquitinase, correlaciona-se com o processo de amadurecimento, ao que sugere a regulação do gene durante a maturação.

Apesar de não pertencer à rede de interações, a proteína invertase da parede celular (CWINV) (*spots* 489, 414) (Arquivo suplementar 2: Tabela S2), possui importante função no processo de metabolismo de carboidratos. Os spots identificados no proteoma foram encontrados apenas nos estádios 4 e 6, inferindo-se uma relação com a maturação já que a mesma não foi detectada no fruto verde. A expressão gênica de CWINV (*spot* 489), foi *up-regulated* com a evolução dos estádios, revelando uma correspondência com o progresso do processo de maturação (Figura 10.B2).

A CWINV é responsável por hidrolisar a sacarose em glicose e frutose, onde são removidos por meio de transportadores de hexoses para as células do parênquima. Açúcares são moléculas sinalizadoras com potencial de regular o metabolismo celular e alocação de recursos energéticos, o que justifica a crescente expressão do gene, já que no E6, encontram-se os maiores teores de açúcares (RUAN et al., 2010; HU et al., 2016). Esses resultados correspondem aos encontrados em frutos de bananeira do subgrupo Cavendish e em fruteiras como jaca, onde foi relatado a regulação do açúcar pela CWINV (FILS-LYCAON et al., 2011; HU et al., 2016).

2.4.3.2 Proteínas associadas com o amadurecimento (*Cluster 3*)

O *cluster 3* concentra poucas proteínas de *Musa* spp., porém estão diretamente relacionadas ao processo de amadurecimento, como é o caso da enzima ácido 1-carboxílico-aminociclopropano oxidase (ACCO) (*spot 44 e 218*) que participa da via de sinalização do etileno, importante fitohormônio da maturação em frutos climatéricos como a banana (REID, 1995). De acordo com Poloni et al. (2014), a ACCO foi considerada uma proteína gargalo dentro da rede de interações devido a sua capacidade funcional de se interagir com outras proteínas no interatoma sendo, portanto, importante para o processo de maturação.

Em nível proteômico, observou-se que o fruto em amadurecimento (E4), apresentou o nível de expressão superior aos frutos verdes (E1) e maduros (E6), que conservaram os mesmos valores entre si (Figura 10.C1). A análise de expressão do gene correspondente à enzima ACCO, também foi maior para o fruto em amadurecimento (E4), o que confirma o padrão de expressão da proteína. Nos estádios 1 e 6, percebe-se que os níveis de transcritos foram maiores no fruto maduro (E6), o que caracteriza a maior ação do etileno em relação ao fruto verde (E1) (Figura 10.C2). Assim, percebe-se que a redução da expressão do gene no E6, pode estar relacionada à diminuição do oxigênio, já que o fruto totalmente maduro se aproxima da fase de senescência.

Estudos proteômicos com damasco, mamão e banana, também revelaram maior abundância da proteína ácido 1-carboxílico-aminociclopropano oxidase (ACCO) em frutos em amadurecimento, onde apresentam maiores picos de respiração e biossíntese de etileno (D'AMBROSIO et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2012; TOLEDO et al., 2012).

Além da proteína ACCO, outras proteínas como S-Adenosil L-homocisteína hidrolase (SAHH) (*spots 26, 131, 139, 172, 186, 231, 277, 461, 464, 536*) e S-adenosil metionina sintetase

(SAM) (spot 100) (Arquivo suplementar 2: Tabela S2), também participam da rota de biossíntese do etileno e foram identificadas no proteoma da ‘Prata-Anã’.

A maioria dos *spots* correspondentes à proteína SAHH apresentaram maior nível de expressão para o estágio 4 de maturação. O mesmo ocorreu com *spot* que representa a SAM (Arquivo suplementar 2: Tabela S2). De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), para frutos climatéricos como a banana, a produção do etileno aumenta após o início do processo de amadurecimento que marca as fases de desenvolvimento e senescência dos frutos. Assim, entre os estádios 1, 4 e 6, o estágio 4 pode ser considerado passível das maiores mudanças relacionadas à biossíntese do etileno; fato comprovado pelo aumento do nível de expressão das proteínas precursoras do etileno nesse estágio.

Para esse estudo, a proteína S-Adenosil L-homocisteína hidrolase (SAHH) foi considerada a mais abundante, e essa característica pode ser atribuída a modificações pós-traducionais, pois a presença da mesma foi detectada em diferentes pontos do proteoma, sugerindo a presença de isoformas. Infere-se ainda que o acúmulo dessa proteína em banana esteja relacionado ao aumento de SAM na síntese de etileno e a metilação do DNA, já que a mesma é responsável pela regulação das reações de metilação (TOLEDO et al., 2012).

Durante a maturação, a SAM, que provém da metionina, é convertida no ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) pela ação da enzima em ACC sintetase. Em condições aeróbicas, o ACC é convertido em etileno pela enzima ACC oxidase (ADAMS & YANG, 1979). Já a SAHH participa do ciclo da metionina como enzima chave na regulação das reações de metilação intracelular, que são dependentes de SAM. Uma das funções de SAHH é catalisar o subproduto de SAM, que é a enzima S-adenosil-l-homocisteína (SAH) em homocisteína e adenosina, etapas indispensáveis à síntese de etileno (DU et al., 2014).

2.4.3.3 Proteínas associadas com o processo de metabolismo de carboidrato (*Cluster 6*)

A enzima glicose-6-fosfato isomerase, ou fosfoglicose isomerase (*spot* 158), catalisa a conversão de frutose-6-fosfato em glicose-6-fosfato, que é então convertida em glicose-1-fosfato pela fosfoglicomutase, necessária para a biossíntese de amido, considerado produto final da via metabólica do ciclo de Calvin Benson. Essa enzima exerce importante papel na fixação do carbono, atuando na síntese dos produtos da fotossíntese como o amido e a sacarose (STREB et al., 2009; SÁNCHEZ-LÓPEZ et al., 2016).

Dentro do interatoma a glicose-6-fosfato isomerase foi classificada como hub gargalo (Arquivo suplementar 5: Tabela S5), pois possui alto valor de conectividade, apresentando uma

capacidade funcional de comunicação com outras proteínas e processos biológicos, considerada fundamental para o funcionamento da rede (POLONI et al., 2014).

Em relação ao nível de expressão dessa proteína, foi possível observar que as amostras do fruto verde (E1) e maduro (E6) mantiveram níveis semelhantes, embora a proteína no E1 tenha apresentado a expressão um pouco maior quando comparada ao E6 (Figura 10.D1). Apesar do estágio 4 não ter revelado a glicose-6-fosfato isomerase, esse fato não significa a inexistência da mesma para a amostra, mas uma possível falha em sua detecção. Com auxílio da análise de PCR em tempo real, foi possível detectar a presença do gene que expressa a glicose-6-fosfato isomerase nos três estágios de maturação, bem como o aumento da expressão da mesma durante a maturação (Figura 10.D2).

Nesse caso, foi possível observar que o gene foi *up-regulated* para o E6, enquanto que a expressão da proteína para o mesmo estágio se mostrou *down-regulated* regulada (Figura 10D), evidenciando a ausência da relação entre a transcrição do gene e o nível de expressão dessa proteína.

Assim, percebe-se que as proteínas podem ou não ocorrer em proporção com os níveis de mRNA. E esses níveis podem ser determinados pela relação entre as taxas de processo e degradação das moléculas participantes. Para que ocorra a produção e manutenção das proteínas, é necessário que haja a transcrição, processamento e degradação de mRNAs para que aconteça a tradução, modificação e destruição programada das mesmas. Dessa forma, o nível de expressão das proteínas reflete o equilíbrio dinâmico entre esses processos, podendo variar com os eventos pós-traducionais (VOGEL e MARCOTTE, 2012 e GAO et al., 2016). O aumento da expressão gênica durante a evolução dos estágios avaliados, revela a relação do gene glicose-6-fosfato isomerase com o processo de maturação dos frutos.

Em pesquisas com as cultivares Nanica, Nanicão e Ouro, a enzima glicose-6-fosfato isomerase apresentou maior atividade em frutos maduros, inferindo que o aumento da atividade pode estar relacionado com a quantidade de sacarose na polpa do fruto já que essa é a fase de maior incremento no teor de açúcares (CORDENUNSI et al., 2001; resultados condizentes com a expressão do gene em questão).

Além das alterações bioquímicas nos teores de amido e sacarose, o processo de maturação também inclui mudanças estruturais, que afetam, por exemplo, a firmeza da polpa, modificando as propriedades estruturais da parede celular (FISCHER e BENNETT, 1991). Essas etapas envolvem a ativação de diferentes enzimas tais como a pectinesterase (*spots* 378, 413), a inibidor da poligalacturonase (*spot* 480), o poligalacturonase e a pectato liase (Arquivo suplementar 2: Tabela S2). Dentre as proteínas citadas, a pectinesterase foi a única que

permaneceu no interatoma (Arquivo suplementar 5: Tabela S5), fato justificado pela alta homologia com *A. thaliana* (MINIC et al., 2009).

A parede celular é composta principalmente por celulose, hemicelulose, pectina e lignina e 10% da sua massa refere-se a proteínas da parede celular, que são responsáveis por diversas funções. A pectinesterase, por exemplo, é responsável por alterações na textura e degradação da parede primária, cujo componente principal é a pectina, que sofre processos de solubilização e despolimerização, contribuindo para o afrouxamento da parede, que é uma resposta à maturação dos frutos (FISCHER e BENNETT, 1991; MINIC et al., 2009).

A enzima pectinesterase foi identificada apenas no estágio 6 (spots 378 e 413) (Figura 9.C2 e Arquivo suplementar 2: Tabela S2), sendo o período de maturação apontado como o de maior atividade para as enzimas de parede celular, e o de amadurecimento como o estágio de início da redução da atividade (KAUR et al., 2014; PALAPOL et al., 2015).

O aumento da atividade nos frutos que estão amadurecendo deve-se a elevação do teor de pectina devido à conversão de proto-pectina insolúvel em pectina solúvel, esta última atuando como um substrato para a pectinesterase (KAUR et al., 2014). A expressão do gene da pectinesterase mostrou-se *up-regulated* no meio da maturação (E4), diminuindo a sua expressão no final, quando o fruto se apresentou completamente maduro (E6) (Figura 10.E2).

Essa enzima é responsável pela hidrólise de grupos éster metílico de pectina, que resulta na desesterificação das substâncias esterificadas, tornando-as vulneráveis à ação da poligalacturonase (PG) (WONG, 1995). Essa por sua vez, tem sua atividade reduzida pela presença do inibidor de poligalacturonase (*spot* 480). De acordo com Samaranayake e Sastry (2016), a firmeza em frutos de tomate diminui à medida que a atividade da PG aumenta. Assim, percebe-se que a presença da proteína inibidora da polygalacturonase exclusiva no E4, auxilia na conservação da firmeza da polpa.

A redução da expressão da pectinesterase durante o amadurecimento reflete a maior participação da enzima durante a maturação, período que ocorre a desmetilação dos polissacarídeos da pectina, à medida que são incorporados a parede celular, o que não minimiza sua importância na desintegração da mesma (VERMA et al., 2015).

Em geral, a maioria das proteínas indentificadas na polpa de ‘Prata-Anã’ possuem funções moleculares relacionadas as atividades de hidrolase, oxidoreductase e ligação de derivados de carboidratos e apresentaram-se *up-regulated* durante o processo de maturação (Figura 11), essa característica está relacioanada com a necessidade do ajuste das atividades fisiológicas e bioquímicas durante o amadurecimento.

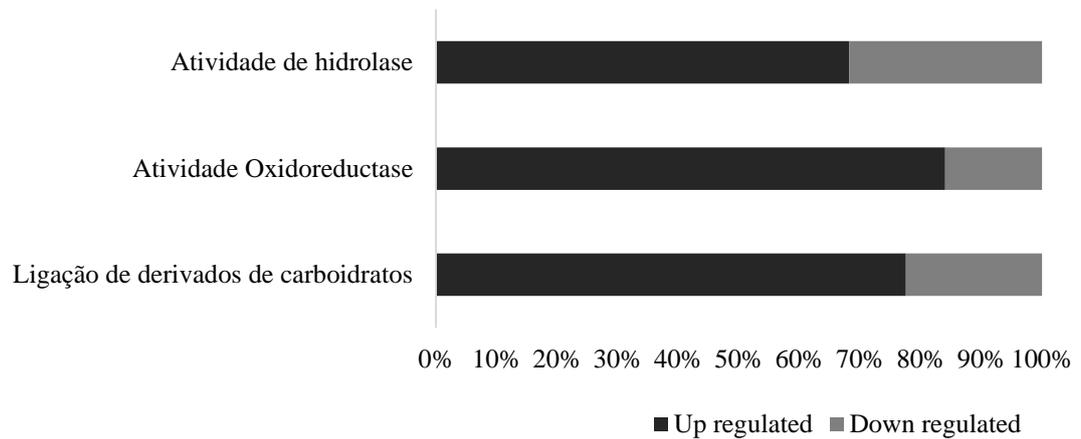


Figura 11. Distribuição das proteínas diferencialmente expressas da cultivar de banana Prata-Anã em resposta ao processo de amadurecimento, de acordo com os níveis de expressão para as funções moleculares de hidrolase, oxidoreductase e Ligação de derivados de carboidratos. Cruz das Almas, 2017.

CONCLUSÕES

Este trabalho relata o primeiro estudo proteômico de maturação com frutos de bananeira da cultivar Prata-Anã. A análise do proteoma mostrou que o número de proteínas envolvidas em várias vias celulares é afetado durante os estádios de maturação, apresentando respostas específicas na presença de proteínas exclusivas.

A primeira rede de interações proteína-proteína de *Musa* spp. baseada nas proteínas ortólogas de *Arabidopsis thaliana*, forma agrupamentos consistentes, onde agregaram-se de acordo com as funções envolvidas no processo de maturação.

A identificação de proteínas-chave na rede de maturação, possibilita o estudo da expressão do gene correspondente, a exemplo da enzima ácido 1-carboxílico-aminociclopropano oxidase (ACCO), que apresentou o mesmo nível de expressão da proteína, tendo portanto, sua expressão validada.

Verificou-se uma possível modificação pós-traducional, observada pela divergência entre os níveis de expressão proteica e gênica da glicose-6-fosfato isomerase.

A proteína dissulfeto isomerase, caracterizada com alta capacidade funcional de comunicação com outras proteínas (gargalo), reflete uso potencial como regulador do amadurecimento. Assim, recomenda-se estudos mais aprofundados que possam auxiliar na caracterização do gene.

A compreensão das etapas do processo de amadurecimento utilizando a análise proteômica, bem como a identificação dos genes responsáveis por esse processo a partir da primeira rede de interações de *Musa* spp., classifica a pesquisa como inédita e inovadora para a área de pós-colheita, podendo auxiliar no desenvolvimento de cultivares com maior vida útil pós-colheita, em especial do subgrupo Prata, onde o principal fator limitante às exportações diz respeito à falta de adaptação para transporte em longas distâncias.

REFERÊNCIAS

- ABD SEROTEC (2014) **Introduction to Western Blotting Your first choice for antibodies.** <http://www.abdserotec.com/westernblotting>. [19 March 2016].
- Adams, DO, Yang, SF** (1979) Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **76**: 170-174.
- Almeida, J, Asís, R, Molineri, VN, Sestari, I, Lira, BS, Carrari, F, ... & Rossi, M** (2015) Fruits from ripening impaired, chlorophyll degraded and jasmonate insensitive tomato mutants have altered tocopherol content and composition. *Phytochemistry*, **111**: 72-83.
- Amorim, EP, Santos-Serejo, JAS, Amorim, VBO, Silva, SOS.** (2016) Melhoramento genético. In: Ferreira, C. F. et al (Org). *O agronegócio da banana*. Brasília, Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 832p.
- Barbosa, MR, Silva, MMDA, Willadino, L, Ulisses, C, & Camara, TR** (2014) Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, **44**: 453-460.
- Bonatto, D; Nakaya, HTI** (2015). Genômica e biologia de sistemas. In: MOREIRA, LM (Org). *Ciências Genômicas: Fundamentos e Aplicações*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 403p.
- Brady, CJ** (1987) Fruit ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **38**: 155-178
- Brohée, S, Van Helden, J** (2006). Evaluation of clustering algorithms for protein-protein interaction networks. *BMC bioinformatics*, **7**: 488.
- Burdon, JN, Dori, S, Lomaniec, E, Marinansky, R, Pesis, E** (1994) The post-harvest ripening of water stressed banana fruits. *Journal of Horticultural Science*, **69**: 799-804.
- Camargo, GA** (2002) Perdas pós-colheita de verduras e frutas frescas. *Anuário da Agricultura Brasileira (AGRIANUAL)*, 41- 42.
- Clark RS, Bayir H, Jenkins LW** (2005). Posttranslational protein modifications. *Crit Care Med*, **33**: 407–409.
- Clendennen, SK, May, GD** (1997) Differential gene expression in ripening banana fruit. *Plant Physiology*, **115**: 463-469.
- Clima-Date.Org** (2017). Clima Cruz das Almas, BA. <https://pt.climate-data.org/location/43358/>. [28 March 2017].
- Chitarra, MIF, Chitarra, AB** (2005). Pós-colheita de Frutos e Hortaliças: Fisiologia e Manuseio, 2. ed. UFLA , Lavras, p. 785.

Cho, EJ, Yuen, CY, Kang, BH, Ondzighi, CA, Staehelin, LA, Christopher, DA (2011). Protein disulfide isomerase-2 of Arabidopsis mediates protein folding and localizes to both the secretory pathway and nucleus, where it interacts with maternal effect embryo arrest factor. *Molecules and cells*, **32**: 459-475.

Cordenunsi, BR, do Nascimento, JRO, Lajolo, FM (2001) Phosphoglucose isomerase from bananas: partial characterization and relation to main changes in carbohydrate composition during ripening. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, **65**: 10, 2174-2180.

Cross, J (1987) Pigments in fruit, 303.

D'Ambrosio, C, Arena, S, Rocco, M, Verrillo, F, Novi, G, Viscosi, V., ... & Scaloni, A (2013) Proteomic analysis of apricot fruit during ripening. *Journal of proteomics*, **78**: 39-57.

De Keersmaecker, SC, Thijs, I, Vanderleyden, J, Marchal, K (2006). Integration of omics data: how well does it work for bacteria?. *Molecular microbiology*, **62**: 1239-1250.

Dominguez-Puigjaner, E, Vendrell, M, Ludevid, MD (1992) Differential protein accumulation in banana fruit during ripening. *Plant physiology*, **98**: 157-162.

Du, L, Song, J, Forney, C, Palmer, LC, Fillmore, S, Zhang, Z (2016). Proteome changes in banana fruit peel tissue in response to ethylene and high-temperature treatments. *Horticulture research*, **3**: 16012.

Edagi, FK, Kluge, RA (2009). Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. *Ciência Rural*, **39**: 585-594.

Espindola, FS, Calábria, LK, de Rezende, AAA, Pereira, BB, Santana, FA, Amaral, I MR, ... & dos Santos, LP (2010). Recursos de bioinformática aplicados às ciências ômicas como genômica, transcriptômica, proteômica, interatômica e metabolômica= Bioinformatic resources applied on the omic sciences as genomic, transcriptomic, proteomic, interatomic and metabolomic. *Bioscience Journal*, **26**: 463-477.

Faostat, FAO (2014). Statistical databases. Food and Agriculture Organization of the United Nations. [29 March 2017].

Fils-Lycaon, B, Julianus, P, Chillet, M, Galas, C, Hubert, O, Rinaldo, D, Mbéguié-A-Mbéguié, D (2011). Acid invertase as a serious candidate to control the balance sucrose versus (glucose+ fructose) of banana fruit during ripening. *Scientia horticulturae*, **129**: 197-206.

Fischer, RL, & Bennett, AB (1991). Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annual review of plant biology*, **42**: 675-703.

Furlan, LR, Ferraz, ALJ, Bortolossi, JC (2007). A genômica funcional no âmbito da produção animal: estado da arte e perspectivas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 331-341.

Gao, Z, Zhang, C, Luo, M, Wu, Y, Duan, S, Li, J, ... & Zhang, C (2016). Proteomic analysis of pear (*Pyrus pyrifolia*) ripening process provides new evidence for the sugar/acid metabolism difference between core and mesocarp. *Proteomics*, **16**: 3025-3041.

Gayathri, T, Nair, AS, Sane, VA (2013). Polygalacturonase (PG) gene expression in *Musa acuminata* cultivars from Kerala. *Food Science and Biotechnology*, **22**: 1655-1660.

Ghasemnezhad, M, Marsh, K, Shilton, R, Babalar, M, Woolf, A (2008). Effect of hot water treatments on chilling injury and heat damage in 'satsuma' mandarins: Antioxidant enzymes and vacuolar ATPase, and pyrophosphatase. *Postharvest Biology and Technology*, **48**: 364-371.

Giovannoni, JJ (2004). Genetic regulation of fruit development and ripening. *The plant cell*, **16**: 170-180.

Guo, X, Xu, J, Cui, X, Chen, H, Qi, H (2017). iTRAQ-based Protein Profiling and Fruit Quality Changes at Different Development Stages of Oriental Melon. *BMC Plant Biology*, **17**: 28.

Gupta, SM, Srivastava, S, Sane, AP, Nath, P. (2006). Differential expression of genes during banana fruit development, ripening and 1-MCP treatment: presence of distinct fruit specific, ethylene induced and ethylene repressed expression. *Postharvest biology and technology*, **42**:16-22.

Holtzapffel, RC, Finnegan, PM, Millar, AH, Badger, MR, Day, DA (2002). Mitochondrial protein expression in tomato fruit during on-vine ripening and cold storage. *Functional Plant Biology*, **29**: 827-834.

Huaping, H, Xiaohui, J, Lunying, W, Junsheng, H (2017). Chitin elicitor receptor kinase 1 (CERK1) is required for the non-host defense response of *Arabidopsis* to *Fusarium oxysporum* f. *Sp. cubense*. *European Journal of Plant Pathology*, **147**: 1-8.

Hu, W, Wang, L, Tie, W, Yan, Y, Ding, Z, Liu, J, ... & Jin, Z (2016). Genome-wide analyses of the bZIP family reveal their involvement in the development, ripening and abiotic stress response in banana. *Scientific Reports*, **6**: 1-15.

Hyodo, H, Ikeda, N, Nagatani, A, Tanaka, K (1983). The increase in alcohol dehydrogenase activity and ethanol content during ripening of banana fruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, **52**: 196-199.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2016). Levantamento Sistemático da Produção Agrícola–LSPA. http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201212.pdf. [30 March 2017].

Jeong, H, Mason, SP, Barabási, AL, Oltvai, ZN (2001). Lethality and centrality in protein networks. *Nature*, **411**(6833), 41-42.

Jia, H, Wang, Y, Sun, M, Li, B, Han, Y, Zhao, Y, ... & Jia, W (2013). Sucrose functions as a signal involved in the regulation of strawberry fruit development and ripening. *New Phytologist*, **198**: 453-465.

Kaur, K, Dhillon, WS, Mahajan, BVC (2014). Changes in pectin methyl esterase activity with different packaging materials and stages of fruit harvesting during cold storage of pear cv. Punjab beauty. *Journal of food science and technology*, **51**: 2867-2871.

Krügel, U, He, H X, Gier, K, Reins, J, Chincinska, I, Grimm, B, ... & Kühn, C (2012). The potato sucrose transporter StSUT1 interacts with a DRM-associated protein disulfide isomerase. *Molecular plant*, **5**: 43-62.

Kurien, BT, Scofield, RH (2003). Protein blotting: a review. *Journal of Immunological Methods*. Amsterdam, **274**: 1-15.

Lichtemberg, LA, Alves, EJ, Vilas Boas, EVB, Pereira, MEC (2016). Colheita, manuseio pós-colheita e conservação dos frutos. In: FERREIRA, C. F. et al (Org). *O agronegócio da banana*. Brasília, Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 832p.

Lin, M, Hu, B, Chen, L, Sun, P, Fan, Y, Wu, P, Chen, X. (2009). Computational identification of potential molecular interactions in Arabidopsis. *Plant physiology*, **151**: 34-46.

Li, T, Zhang, J, Zhu, H, Qu, H, You, S, Duan, X, Jiang, Y (2016). Proteomic Analysis of Differentially Expressed Proteins Involved in Peel Senescence in Harvested Mandarin Fruit. *Frontiers in Plant Science*, **7**: 1-18.

Liu, JH, Zhang, J, Xu, BY, Zhang, JB, Jia, CH, Wang, JS, Jin, Z. Q (2012). Expression analysis of banana MaECH11 during fruit ripening with different treatments. *African Journal of Biotechnology*, **11**:12951-12957.

Long, TA, Brady, SM, Benfey, PN (2008). Systems approaches to identifying gene regulatory networks in plants. *Annual review of cell and developmental biology*, **24**: 81-103.

Maere S, Heymans K, Kuiper M (2005) BINGO: a Cytoscape plugin to assess over representation of gene ontology categories in biological networks. *Bioinformatics*, **21**: 3448-9.

Mahajan, BV, Kaur, T, Gill, MI, Dhaliwal, HS, Ghuman, BS, Chahil, BS (2010). Studies on optimization of ripening techniques for banana. *Journal of food science and technology*, **47**, 315-319.

Maia, VM, Salomão, LCC, Siqueira, DL, Puschmann, R, Mota Filho, VJG, CECOM, PR (2008). Tipos e intensidade de danos mecânicos em bananas' prata-anã'ao longo da cadeia de comercialização. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, **30**: 365-370.

Masia, A (1998). Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and with special reference to ethylene. *Physiologia Plantarum*, **104**: 668-672.

Mapa, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento 2016. <http://www.agricultura.gov.br/noticias/valor-bruto-da-producao-de-2016-e-de-r-523-6-bilhoes> [01 April 2017].

Matsuura, FCAU, Costa, JD, Folegatti, MDS (2004). Marketing de banana: preferências do consumidor quanto aos atributos de qualidade dos frutos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **26**: 48-52.

Mendonça, K, Jacomino, AP, Melhem, TX, Kluge, RA (2003). Concentração de etileno e tempo de exposição para desverdecimento de limão “siciliano”. *Brazilian Journal of Food Technology*, **6**:179-183.

Miao, H, Sun, P, Liu, W, Xu, B, Jin, Z (2014). Identification of genes encoding granule-bound starch synthase involved in amylose metabolism in banana fruit. *PloS one*, **9**: 1-9.

Minic, Z, Jamet, E, San-Clemente, H, Pelletier, S, Renou, JP, Rihouey, C, ... & Jouanin, L (2009). Transcriptomic analysis of Arabidopsis developing stems: a close-up on cell wall genes. *BMC Plant Biology*, **9**: 1-17.

Neuhoff, V, Arold, N, Taube, D, Ehrhardt, W (1988). Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250. *Electrophoresis*, **9**: 255-262.

Nogueira, SB, Labate, CA, Gozzo, FC, Pilau, EJ, Lajolo, FM, do Nascimento, JRO (2012). Proteomic analysis of papaya fruit ripening using 2DE-DIGE. *Journal of proteomics*, **75**: 1428-1439.

Oliveira, GA, Pereira, EG, Dias, CV, Souza, TL, Ferretti, GD, Cordeiro, Y., ... & Silva, JL (2012). Moniliophthora perniciosa necrosis-and ethylene-inducing protein 2 (MpNep2) as a metastable dimer in solution: Structural and functional implications. *PloS one*, **7**: 1-14.

Otani, M, Hamada, T, Katayama, K, Kitahara, K, Kim, SH, Takahata, Y, ... & Shimada, T (2007). Inhibition of the gene expression for granule-bound starch synthase I by RNA interference in sweet potato plants. *Plant cell reports*, **26**: 1801-1807.

Palapol, Y, Kunyamee, S, Thongkhum, M, Ketsa, S, Ferguson, IB, van Doorn, WG (2015). Expression of expansin genes in the pulp and the dehiscence zone of ripening durian (*Durio zibethinus*) fruit. *Journal of plant physiology*, **182**: 33-39.

Palma, T, Marangoni, AG, Stanley, DW (1995). Environmental stresses affect tomato microsomal membrane function differently than natural ripening and senescence. *Postharvest Biology and Technology*, **6**: 257-273.

Pirovani, CP, Carvalho, HAS, Machado, RCR, Gomes, DS, Alvim, FC, Pomella, AW. V, ... & Micheli, F (2008). Protein extraction for proteome analysis from cacao leaves and meristems, organs infected by *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of the witches' broom disease. *Electrophoresis*, **29**: 2391-2401.

Ploetz, RC (2015). Fusarium wilt of banana. *Phytopathology*, **105**: 1512-1521.

Podevin, N, Krauss, A, Henry, I, Swennen, R, Remy, S (2012). Selection and validation of reference genes for quantitative RT-PCR expression studies of the non-model crop *Musa*. *Molecular Breeding*, **30**: 1237-1252.

Poloni, JF, Feltes, BC, Silva, FR, Bonatto, D (2014). Biologia de sistemas. In: Verli, H. *Bioinformática da Biologia à flexibilidade Molecular*, 115-146.

Pongprasert, N, Sekozawa, Y, Sugaya, S, Gemma, H (2011). The role and mode of action of UV-C hormesis in reducing cellular oxidative stress and the consequential chilling injury of banana fruit peel. *International Food Research Journal*, **18**: 741-749.

Prasana, V, Prabha, TN., Tharanathan, RN (2007). Fruit ripening phenomena-na overview. *Reviews in Food Science and Nutrition*, **47**: 1-19.

R development Core Team (2014) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.

Ratke, RF, Santos, SC, Pereira, HS, Souza, EDD, Carneiro, MAC (2012). Desenvolvimento e produção de bananeiras Thap Maeo e Prata-Anã com diferentes níveis de adubação nitrogenada e potássica. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **34**: 277-288.

Reid, MS (1995) Ethylene in plant growth, development and senescence. In: Davies, PJ (Ed.) *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*, 486-508.

Rinaldi, MMR, do Carmo, NR, Sales, RN (2010). Conservação pós-colheita de banana nanicão e prata. Embrapa Cerrados.

Resende, ECO (2010) Enzimas antioxidantes em frutos com diferentes padrões de amadurecimento, 81f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical). Campinas.

Ruan, YL, Jin, Y, Yang, YJ, Li, GJ, Boyer, JS (2010). Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant*, **3**: 942-955.

Samaranayake, CP, Sastry, SK (2016). Effects of controlled-frequency moderate electric fields on pectin methylesterase and polygalacturonase activities in tomato homogenate. *Food chemistry*, **199**: 265-272.

Sánchez-López, ÁM, Bahaji, A, De Diego, N, Baslam, M, Li, J, Muñoz, FJ., ... & Novák, O (2016). Plant response to fungal volatiles is triggering by mechanisms independent of plastid phosphoglucose isomerase. *Plant Physiology*, 00945.

Sartori, T, Menegalli, FC (2016). Development and characterization of unripe banana starch films incorporated with solid lipid microparticles containing ascorbic acid. *Food Hydrocolloids*, **55**: 210-219.

Scardoni, G, Petterlini, M., Laudanna, C. (2009). Analyzing biological network parameters with CentiScaPe. *Bioinformatics*, **25**: 2857-2859.

Severo, J, Lima, CSM, Coelho, MT, Rufato, ADR, Rombaldi, CV, Silva, JA (2010). Atividade antioxidante e fitoquímicos em frutos de *physalis* (*Physalis peruviana*, L.) durante o amadurecimento e o armazenamento. *Current Agricultural Science and Technology*, **16**: 1-4.

Shadmani, N, Ahmad, SH, Saari, N, Ding, P, Tajidin, NE (2015). Chilling injury incidence and antioxidant enzyme activities of *Carica papaya* L. 'Frangi' as influenced by postharvest hot water treatment and storage temperature. *Postharvest Biology and Technology*, **99**: 114-119.

- Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al.** (2003) Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* **13**: 2498–504.
- Shevchenko, A, Tomas, H, Havli, J, Olsen, JV, Mann, M** (2006). In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. *Nature protocols*, **1**: 2856-2860.
- Shorrosh, B S, Dixon, RA** (1991). Molecular cloning of a putative plant endomembrane protein resembling vertebrate protein disulfide-isomerase and a phosphatidylinositol-specific phospholipase C. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **88**:10941-10945.
- Silva FAC, Pirovani CP, Menezes SP, Pungartnik C, Santiago AS, Costa MGC.** (2013). Proteomic response of *Moniliophthora perniciosa* exposed to pathogenesis related protein-10 from *Theobroma cacao*. *GMR*, **12**:4855–4868.
- Silva, S de O, Amorim, EP, Santos-Serejo, JÁ, Borges, AL** (2016). Cultivares. In: Ferreira, CF et al (Org). *O agronegócio da banana*. Brasília, Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 832.
- Skakoun, A, Daussant, J** (1975). *Étude immunochimique de quelques oxydoreductases de la banane (var. Poyo) au cours de la maturation*. In *Facteurs et Régulation de la Maturation des Fruits*. Colloq. Int. CNRS, **238**: 281-289.
- Snel, B, Lehmann, G, Bork, P, Huynen, MA** (2000). STRING: a web-server to retrieve and display the repeatedly occurring neighbourhood of a gene. *Nucleic acids research*, **28**: 3442-3444.
- Song, J, Du, L, Li, L, Palmer, LC, Forney, CF, Fillmore, S, ... & Li, X** (2015). Targeted quantitative proteomic investigation employing multiple reaction monitoring on quantitative changes in proteins that regulate volatile biosynthesis of strawberry fruit at different ripening stages. *Journal of proteomics*, **126**: 288-295.
- Spirin, V, Mirny, LA** (2003). Protein complexes and functional modules in molecular networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **100**: 12123-12128.
- Srivastava, MK, Dwivedi, UN** (2000). Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Science*, **158**: 87-96.
- Streb, S, Egli, B, Eicke, S, Zeeman, SC** (2009). The debate on the pathway of starch synthesis: a closer look at low-starch mutants lacking plastidial phosphoglucomutase supports the chloroplast-localized pathway. *Plant Physiology*, **151**:1769-1772.
- Sun, JH, Chen, JY, Kuang, JF, Chen, WX, & Lu, WJ** (2010). Expression of sHSP genes as affected by heat shock and cold acclimation in relation to chilling tolerance in plum fruit. *Postharvest biology and technology*, **55**: 91-96.
- Taira, T, Noriko, TOMA, Marika, ICHI, Takeuchi, M, Ishihara, M** (2005) Tissue distribution, synthesis stage, and ethylene induction of pineapple (*Ananas comosus*) chitinases. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, **69**: 852-854.

Toledo, TT, Nogueira, SB, Cordenunsi, BR, Gozzo, FC, Pilau, EJ., Lajolo, FM, do Nascimento, JRO (2012). Proteomic analysis of banana fruit reveals proteins that are differentially accumulated during ripening. *Postharvest Biology and Technology*, **70**: 51-58.

Thornton, B, Basu, C (2011). Real-time PCR (qPCR) primer design using free online software. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, **39**: 145-154.

Tucker, GA (1993) Introduction. In: Seymour, GB, Taylor, JE, Tucker, GA. *Biochemistry of fruit ripening*, 2-5.

Verma, C, Singh, RK, Singh, RB, & Mishra, S (2015). Biochemical and In-silico Studies on Pectin Methyltransferase from G9 Variety of *Musa acuminata* for Delayed Ripening. *The open biochemistry journal*, **9**:15-23.

Vogel, C, Marcotte, EM (2012) Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses. *Nature Reviews Genetics*, **13**: 227-232.

Von Loesecke, HW (1950). *Bananas*. 2.ed. New York: Interscience, 189p.

Wang, J, Li, C, Wang, E (2010). Potential and flux landscapes quantify the stability and robustness of budding yeast cell cycle network. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**: 8195-8200.

Watada, AE, Herner, RC, Kader, AA, Romani, RJ, Staby, GL (1984). Terminology for the description of developmental stages of horticultural crops. *HortScience*.

Williams, P. N., Villada, A., Deacon, C., Raab, A., Figuerola, J., Green, A. J., ... & Meharg, A. A. (2007). Greatly enhanced arsenic shoot assimilation in rice leads to elevated grain levels compared to wheat and barley. *Environmental Science & Technology*, **41**: 6854-6859.

Wong, DWS (1995). Pectic enzymes. In: *Food enzymes*. Springer US, 212-236.

Xu, BY, Su, W, Liu, JH, Wang, JB, Jin, ZQ (2007). Differentially expressed cDNAs at the early stage of banana ripening identified by suppression subtractive hybridization and cDNA microarray. *Planta*, **226**: 529-539.

Yang, J, Osman, K, Iqbal, M, Stekel, DJ, Luo, Z, Armstrong, SJ, Franklin, FCH. (2012). Inferring the *Brassica rapa* interactome using protein-protein interaction data from *Arabidopsis thaliana*. *The Brassica Genome*, **3**: 1-15.

Yuan, Y, Zhao, Y, Yang, J, Jiang, Y, Lu, F, Jia, Y, Yang, B (2017). Metabolomic analyses of banana during postharvest senescence by 1 H-high resolution-NMR. *Food Chemistry*, **218**: 406-412.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A identificação da melhor época de plantio para as cultivares do subgrupo Prata na região do Recôncavo da Bahia permite ao produtor o melhor aproveitamento dos recursos naturais, visando aumentar a produtividade e a obtenção de frutos com maior valor de mercado;

O presente projeto é pioneiro em estudos proteômicos associados com a pós-colheita em bananeiras do subgrupo Prata. Além disso, esse é o primeiro trabalho a utilizar a biologia de sistemas para melhorar a compreensão sobre os processos associados com o amadurecimento de frutos em *Musa* spp. o que permitirá em um futuro próximo desenvolver cultivares com melhor perfil pós-colheita, em especial com maior vida útil pós-colheita, favorecendo inclusive a exportação dos frutos da Prata-Anã.

A análise do proteoma e a identificação de genes, a partir da rede de interações de *Musa* spp., classifica a pesquisa como inédita e inovadora para a área de pós-colheita, podendo auxiliar no desenvolvimento de cultivares com maior qualidade pós-colheita, em especial do subgrupo Prata;

Este estudo contribui para o avanço e uso futuro da cisgenia para a espécie visando aumento da qualidade do fruto, bem como o desenvolvimento de marcadores específicos para uso na seleção assistida visando a seleção de genótipos com maiores teores de amido e sacarose.

Arquivo suplementar 1: Tabela S1. Iniciadores utilizados para avaliação da expressão gênica de genes envolvido no amadurecimento da polpa de frutos da cultivar Prata-Anã.

GENES	ABREVIACÕES	SEQUÊNCIAS
1-Aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	Mu 1 - AMICYCOXI	F: 5'-AGATCCTCCGAGATGCTTGCG-3' R: 5'-GCTTTGTTGGCGAACTCGTTGAAC-3'
Cell wall invertase	MaCWI	F: 5'-CCTCAGAGGCAAACACGTTGTTGT-3' R: 5'-CGAATGCTACCTCCACATCCGC-3'
Pectinesterase	MaPECT	F: 5'-CCTCGCTATTGCACAGCCTCAA-3' R: 5'-CGATGAGGGCAAGGAGGAGAAGA-3'
Glucose-6-phosphate isomerase, cytosolic	MaGLUC6PHOS	F: 5'-GCCTTATGCTCAGGCACTTGAGA-3' R: 5'-TGACCATTTGTTCCAGGCTCTCC-3'
Ripening - associated protein	MaRIPENASSOC	F: 5'-GATCGCCAACTTCGCTGCTGTT-3' R: 5'-GGCACAAGCATCTGCTAAGCTTCC-3'
*Beta tubulina	TUBMU	F: 5'-TGTTGCATCCTGGTACTGCT-3' R: 5'-GGCTTTCTTGCACTGGTACAC-3'
*Actina	Act11MU	F: 5'-CCCAAGGCAAACCGAGAGAAG-3' R: 5'-GTGGCTCACACCATCACCAG-3'

* Genes endógenos (PODEVIN et al., 2012).

Arquivo suplementar 2: Tabela S2. Proteínas diferencialmente expressas identificadas nas amostras de polpa de banana da cultivar Prata-Anã nos estádios de maturação 1, 4 e 6. Cruz das Almas, Brasil, 2017.

Spot	Accession	Protein ID	Specie	Theoretical pI/MM (KDa)	Mowse Score	Sequence Coverage	Number of matched peptides
4	gi 695038450	Protein p21-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	7.34/25060	938	51%	44
7	gi 270064283	Abscisic stress ripening	<i>Musa itinerans</i> var.itinerans	6.10/	329	39%	6
9	gi 695075287	Triose phosphate isomerase, cytosolic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.72/16163	150	8%	2
15	gi 695075287	Triose phosphate isomerase, cytosolic	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	5.72/27348	332	18%	6
18	gi 695047943	Stem-specific protein TSJT1-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	5.38/25451	97	4%	1
19	gi 695080349	Salicylic acid-binding protein 2-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	5.19/30581	180	13%	4
21	gi 224121954	Hypothetical protein POPTR_0012s09720g	<i>Populus trichocarpa</i>	8.24/26985	113	10%	2
24	gi 6073860	Beta-1, 3-glucanase	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	8.84/36356	94	10%	2
26	gi 633911992	S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase	<i>Helicos poridium</i> sp. ATCC 50920	5.47/54793	86	2%	1
27	gi 6073860	Beta-1, 3-glucanase	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	8.84/36356	267	16%	6
30	gi 695004884	Thiamine thiazole synthase 2, chloroplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.15/37831	292	17%	4
33	gi 695004811	Isoflavone reductase-like protein	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.10/34070	591	41%	11
35	gi 695035834	Lactoyl glutathione lyase-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	5.14/38335	135	8%	3
37	gi 695004811	Isoflavone reductase-like protein	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.10/34070	743	60%	26

39	gi 695061056	Cysteine synthase-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.48/34047	605	42%	10
44	gi 42491193	Putative amino cyclo propane carboxylate oxidase	<i>Musa</i> AAB Group	5.02/35849	306	21%	8
51	gi 695029484	PREDICTED: Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta-1, mitochondrial	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.87/40010	541	27%	8
58	gi 11133373	Full=Malate dehydrogenase, cytoplasmic	<i>Medicago sativa</i>	6.39/35866	101	9%	3
59	gi 695022626	Malate dehydrogenase	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.00/35814	325	39%	11
61	gi 695072435	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 2, cytosolic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.72/36911	443	26%	9
62	gi 695004811	Isoflavone reductase-like protein	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.10/34070	319	22%	6
63	gi 56069874	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, partial	<i>Musa acuminata</i>	6.22/36089	252	17%	7
64	gi 729344560	Cytochrome P450 94C1-like	<i>Tarenaya hassleriana</i>	8.03/57154	54	1%	1
65	gi 462137	Full=Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	<i>Dianthus caryophyllus</i>	6.46/37105	76	7%	2
66	gi 462137	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 2, cytosolic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.70/3683	220	13%	7
68	gi 695016847	Glutelin type-B 2-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	4.97/38469	476	19%	7
70	gi 695017646	Malate dehydrogenase, mitochondrial-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.59/36519	589	23%	8
74	gi 695022103	Uncharacterized oxido reductase At4g09670	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.09/39701	204	11%	3
76	gi 695039085	Polyphenol oxidase, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.43/64392	200	6%	4
79	gi 695017646	Malate dehydrogenase, mitochondrial-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.59/36519	232	12%	3
83	gi 695012197	Protein DJ-1 homolog D	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.40/42027	170	6%	3

85	gi 695052859	Phosphoglycerate kinase, cytosolic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.47/42465	160	6%	3
89	gi 56069874	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, partial	<i>Musa acuminata</i>	6.22/36089	283	19%	6
91	gi 694999136	Probable LL-diamino pimelate aminotransferase, chloroplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.62/51024	480	26%	11
92	gi 695006086	Alcohol dehydrogenase 1	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.15/41725	1110	47%	21
94	gi 2253219	Actin 2, partial	<i>Podocarpus macrophyllus</i>	5.36/37114	600	44%	10
95	gi 695032178	Elongation factor Tu, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.20/52179	82	5%	3
97	gi 694995139	PREDICTED: actin-2-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.24/41891	711	56%	26
100	gi 694998285	S-adenosyl methionine synthase1	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.62/43741	459	21%	8
112	gi 694996781	Glucose-1-phosphate adenylyl transferase small chloroplastic amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.62/57803	88	5%	2
120	gi 657958821	F-box protein At3g58530-like isoform X2	<i>Malus domestica</i>	6.78/40569	53	2%	1
123	gi 12585489	UTP-glucose-1-phosphate uridylyl transferase;	<i>Musa acuminata</i>	5.48/51501	678	37%	18
124	gi 12585489	UTP-glucose-1-phosphate uridylyl transferase; AltName: Full=UDP-glucose pyrophosphorylase; Short=UDPGP; Short=UGPase	<i>Musa acuminata</i>	5.48/51501	1860	60%	33
125	gi 12585489	UTP-glucose-1-phosphate uridylyl transferase; pyrophosphorylase; Short=UDPGP; Short=UGPase	<i>Musa acuminata</i>	5.48/51501	602	31%	17
128	gi 460382474	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	<i>Solanum lycopersicum</i>	5.94/599339	533	25%	10
130	gi 695029041	Enolase 2	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.67/48255	52	6%	2

131	gi 417744	Full=Adenosylhomocysteinase; Short=AdoHcyase; AltName: Full=S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase	<i>Petroselinum crispum</i>	5.60/53774	99	4%	2
133	gi 780372	Enolase	<i>Oryza sativa</i> Japonica Group	5.42/48299	248	10%	3
135	gi 695060087	ATP synthase subunit beta, mitochondrial-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.84/59536	957	41%	27
139	gi 695055511	Adenosyl homocysteinase	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/53709	365	21%	9
140	gi 2274988	Unnamed protein product, partial	<i>Hordeum vulgare</i> subsp. Vulgare	6.14/12431	59	8%	1
142	gi 695029041	Enolase-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.67/48255	413	39%	19
145	gi 695044838	Leucine amino peptidase 2, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.51/55810	304	10%	4
147	gi 157418810	catalase 2	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	6.75/57325	548	21%	10
149	gi 157418810	Catalase 2	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	6.75/57325	63	5%	3
150	gi 596966074	Granule-bound starch synthase	<i>Musa acuminata</i> var. Zebrina	7.66/67382	1193	38%	20
151	gi 596966000	Granule-bound starch synthase, partial	<i>Musa</i> AAB Group	7.23/67433	169	5%	4
154	gi 695024856	Aldehyde dehydrogenase family 2 member B7, mitochondrial-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.71/59225	136	21%	12
155	gi 157418810	Catalase 2	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	6.75/57325	57	5%	2
157	gi 223452696	Mitochondrial benzaldehyde dehydrogenase	<i>Antirrhinum</i> jus	6.45/58609	65	2%	1
158	gi 695040240	Glucose-6-phosphate isomerase, cytosolic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.84/63085	118	4%	3
162	gi 695007505	4-alpha-glucanotransferase DPE1, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.14/65807	304	13%	6
163	gi 302761766	Hypothetical protein SELMODRAFT_405445	<i>Selaginella moellendorffii</i>	9.30/28974	28	9%	2

165	gi 695051443	Phosphoglucomutase, chloroplatic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.73/68272	206	13%	8
167	gi 695007505	4-alpha-glucano transferase DPE1 chloroplatic/amyloplatic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.14/65807	455	20%	10
168	gi 695058757	Betaine aldehede dehydrogenase 2-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.48/55922	177	3%	3
172	gi 417745	Full=Adenosyl homocysteinase; Short=AdoHcyase; AltName: Full=S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase	<i>Triticum aestivum</i>	5.65/54086	110	4%	2
173	gi 695077956	Rubisco large subunit-binding protein subunit alpha-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.32/60914	1057	31%	16
174	gi 134104	Full=Rubisco large subunit-binding protein subunit beta, chloroplatic; AltName: Full=60 kDa chaperonin subunit beta; AltName: Full=CPN-60 beta; Flags: Precursor	<i>Brassica napus</i>	6.56/62776	100	2%	1
175	gi 695060405	Rubisco large subunit-binding protein subunit beta, chloroplatic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.02/65369	533	17%	10
176	gi 1035958129	Hypothetical protein ACMD2_23678, partial	<i>Ananas comosus</i>	8.59/34588	52	2%	1
178	gi 109892850	RecName: Full=Putative cytochrome c oxidase subunit II PS17, partial	<i>Pinus strobus</i>	9.62/1707	65	100%	2
179	gi 695053389	Phosphoglucomutase, cytoplasmic 2	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.96/63805	53	7%	4
180	gi 672162181	2-hydroxyacyl-CoA lyase-like	<i>Phoenix dactylifera</i>	6.09/62662	68	2%	1
181	gi 130173	RecName: Full=Alpha-1,4 glucanphosphorylase L-1 isozyme, chloroplatic/amyloplatic; AltName: Full=Starch phosphorylase L-1; Flags: Precursor	<i>Solanun tuberosum</i>	5.45/110065	50	1%	1
182	gi 2829893	Phosphoglucomutase	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5.82/63203	70	2%	1
183	gi 695063755	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase1, chloroplatic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.23/65334	354	15%	7

184	gi 4177441	Full=Adenosylhomocysteinase; Short=AdoHcyase; AltName: Full=S-adenosyl-L-homocysteinehydrolase	<i>Petroselinum crispum</i>	5.60/53774	81	2%	1
186	gi 417744	Full=Adenosylhomocysteinase; Short=AdoHcyase; AltName: Full=S-adenosyl-L-homocysteinehydrolase	<i>Petroselinum crispum</i>	5.60/53774	54	2%	1
189	gi 12585296	Full=Phosphoglucomutase, cytoplasmic; Short=PGM; AltName: Full=Glucose phosphomutase	<i>Pisum sativum</i>	5.46/63513	146	4%	2
194	gi 12585296	Full=Phosphoglucomutase, cytoplasmic; Short=PGM; AltName: Full=Glucose phosphomutase	<i>Pisum sativum</i>	5.46/65513	71	2%	1
196	gi 695055511	Adenosyl homocysteinase	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/53709	323	13%	6
198	gi 695004425	Heat shock cognate 70 kDa protein 2-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.22/71514	316	14%	7
200	gi 109892850	Full=Putative cytochrome c oxidase subunit II PS17, partial	<i>Pinus strobus</i>	9.62/1707	56	100%	2
202	gi 695037796	Stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.29/75287	926	23%	16
204	gi 22124	Alcohol dehydrogenase 1	<i>Zea mays</i>	6.43/41631	109	5%	1
205	gi 695020462	Alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/113476	73	2%	2
210	gi 695020462	Alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/113476	1203	26%	21
212	gi 695074384	Elongation factor 1-beta 2-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	4.55/24300	178	23%	5
214	gi 695062166	Putative germin-like protein 2-1	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.67/25232	302	29%	8
216	gi 41818408	Class III acidic chitinase	<i>Musa acuminata</i>	7.59/35732	76	11%	3
217	gi 15705988	Endochitinase, partial	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	7.66/15705	124	15%	2

218	gi 134260548	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	<i>Musa</i> ABB Group	5.25/35964	318	24%	8
219	gi 695030514	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 2, cytosolic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.70/36835	398	22%	10
220	gi 695040428	Protein not umhomolog	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	8.78/47497	189	8%	4
221	gi 695048148	Fructose-bisphosphate aldolase cytoplasmic isozyme-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.62/38970	633	36%	15
222	gi 695031164	Patatin-likeprotein 2	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.02/45758	103	16%	5
231	gi 417745	Full=Adenosyl homocysteinase; Short=AdoHcyase; AltName: Full=S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase	<i>Triticum aestivum</i>	5.65/54086	262	10%	5
232	gi 695055511	Adenosyl homocysteinase	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/53709	401	20%	8
234	gi 695079329	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.09/55547	502	18%	9
235	gi 760440285	Adenosyl homocysteinase	<i>Auxeno chlorella protothecoides</i>	5.68/59230	73	2%	1
236	gi 694997406	Protein disulfide-isomerase-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	4.77/56624	103	4%	2
237	gi 695058757	Betaine aldehyde dehydrogenase 2-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.21/55922	280	10%	4
251	gi 695042093	Mitochondrial outer membrane protein porin 1-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.81/29402	59	4%	1
252	gi 695020462	alpha-1,4 glucanphosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/113476	71	1%	1
253	gi 695029762	Triose phosphate isomerase, cytosolic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.35/27513	584	48%	16
257	gi 1709761	Proteasome subunit alpha type-4; AltName: Full=20S proteasome alpha subunit C	<i>Spinacia oleracea</i>	6.17/27545	72	4%	1
259	gi 266324	Full=Alpha-amylase inhibitor/endochitinase	<i>Coixlacryma-jobi</i>	6.07/14638	75	12%	1

266	gi 695053725	Alcohol dehydrogenase 1-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.43/42443	385	21%	7
270	gi 695060155	DNA-damage-repair/toleration protein DRT102	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	5.05/34970	284	11%	6
277	gi 417745	Adenosyl homocysteinase; Short=AdoHcyase; AltName: S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase	<i>Triticum aestivum</i>	5.65/54086	137	4%	2
294	gi 695039956	Alpha-glucan phosphorylase, H isozyme	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.09/95435	441	10%	8
310	gi 695004811	Isoflavone reductase-like protein	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.10/34070	188	28%	7
315	gi 695046443	Mitochondrial outer membrane protein porin 5	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	9.08/29798	93	20%	7
318	gi 6073860	Beta-1, 3-glucanase	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	8.84/34511	328	20%	5
330	gi 694996781	Glucose-1-phosphate adenylyl transferase small subunit, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.62/57803	183	24%	10
331	gi 695001705	Phosphoglycerate kinase, cytosolic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.29/42524	375	22%	7
333	gi 695001705	Phosphoglycerate kinase, cytosolic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.29/42524	65	8%	3
346	gi 694998241	Uncharacterized protein LOC103987064 (3-hydroxyacyl-[acyl-carrier-protein] dehydratase FabZ)	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	9.69/26125	259	26%	6
351	gi 695012443	PITH domain-containing protein 1	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis		190	13%	2
365	gi 695061132	Probable glutathione S-transferase para	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.77/25833	208	18%	4
367	gi 695020462	Alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	5.95/113476	1067	23%	20
371	gi 399414	Elongation factor 1-alpha; =EF-1-alpha	<i>Triticum aestivum</i>	9.20/49480	205	11%	4
374	gi 695020462	Alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/113476	229	4%	4

376*	gi 695075121	Ferritin-1, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.94/29519	77	6%	2
377*	gi 695003008	Probable 6-phosphogluconolactonase 4, chloroplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.76/36563	132	9%	3
378*	gi 695042921	pectinesterase-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	8.66/61916	261	10%	5
380*	gi 147767778	hypothetical protein VITISV_02858	<i>Vitis vinifera</i>	6.41/40402	67	2%	1
381*	gi 695004811	isoflavonoreductase-likeprotein	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.10/34013	95	6%	2
382*	gi 694998297	ATP synthasesubunit beta, mitochondrial	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.13/59461	810	31%	14
384*	gi 695018401	Luminal-binding protein 2-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.14/73655	283	8%	6
388*	gi 695058554	Isoamylase 3, chloroplastic isoform X1	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.29/90220	266	6%	5
396*	gi 109892850	Full=Putativecytochrome c oxidase subunit II PS17, partial	<i>Pinus strobus</i>	9.62/1707	62	100%	2
397*	gi 695070070	Aconitate hydratase, cytoplasmic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.06/107820	79	3%	4
398*	gi 599625	Aconitase	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5.98/101439	70	2%	2
400*	gi 695070070	Aconitate hydratase, cytoplasmic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.06/107820	229	5%	5
405*	gi 695020462	Alpha-1,4 glucanphosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/113476	548	14%	15
406*	gi 695020462	Alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/113476	85	2%	2
408*	gi 695020462	Alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/113476	409	12%	13
413*	gi 695009149	Pectinesterase-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.15/54608	211	6%	3
414*	gi 27802647	Cell wall invertase	<i>Musa acuminata</i>	8.89/66134	329	15%	10
415*	gi 695022894	Beta-galactosidase 6-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.94/95644	115	3%	3

416*	gi 695012443	PITH domain-containing protein1	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.08/22604	196	13%	2
417*	gi 695050327	Mitochondrial outer membrane protein porin 6	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	8.77/69541	321	21%	4
423*	gi 695070070	Aconitate hydratase, cytoplasmic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.06/107820	138	2%	3
425*	gi 695025076	PREDICTED: heatshock 70 kDaprotein 14-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.29/94825	180	3%	3
426*	gi 695004811	Isoflavone reductase-like protein	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.10/34070	214	13%	4
427*	gi 12585296	Full=Phospho glucomutase, cytoplasmic; Short=PGM; AltName: Full=Glucose phosphor mutase	<i>Pisum sativum</i>	5.46/63513	170	4%	2
430*	gi 672132227	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase, chloroplastic-like	<i>Phoenix dactylifera</i>	7.07/66006	265	9%	6
431*	gi 695005208	Probable succinyl-CoAligase [ADP-forming] subunit alpha, mitochondrial	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	8.67/35817	225	19%	6
432*	gi 242088739	hypotheticalprotein SORBIDRAFT_09g027690	<i>Sorghum bicolor</i>	6.30/36622	85	5%	2
433*	gi 242088739	Ypothetical protein SORBIDRAFT_09g027690	<i>Sorghum bicolor</i>	6.30/36622	56	3%	1
434*	gi 6073860	Beta- glucanase	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	8.84/36356	61	30%	13
435*	gi 695016847	Glutelintype-B 2-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	4.97/38469	207	10%	4
437*	gi 695006086	Alcohol dehydrogenase 1	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.15/41725	222	15%	5
438*	gi 6911142	Putative glycine-rich RNA binding protein 1	<i>Catharanthus roseus</i>	8.75/14268	55	10%	1
439*	gi 6073860	Beta-1, 3-glucananse	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	8.84/36356	101	6%	2
444*	gi 695008806	REF/SRPP-like protein OsI_017815 isoform X1	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.98/24553	587	53%	10
445*	gi 470128467	Proteasome subunit alpha type-3	<i>Fragaria vesca</i> subsp. vesca	5.60/27611	138	8%	3

447*	gi 695010609	Peptidyl-prolylcis-trans isomerase-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	8.83/18575	495	48%	10
448*	gi 695067061	17.3 kDa class II heat shock protein-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.17/17626	55	9%	1
450*	gi 695034594	Eukaryotic translation initiation factor 5A-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.60/17590	142	18%	3
451*	gi 376341422	Small heat shock protein	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	6.15/17746	128	15%	3
452*	gi 695042093	Mitochondrial outer membrane protein porin 1-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.81/29459	206	22%	5
453*	gi 695017860	Biotin carboxylase 2, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	8.01/58552	57	8%	4
458*	gi 695045903	Mitochondrial outer membrane protein porin 1-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.01/29501	223	28%	6
459*	gi 417745	Full=Adenosyl homocysteinase; Short=AdoHcyase	<i>Triticum aestivum</i>	5.65/54086	204	6%	3
461*	gi 417744	Full=Adenosyl homocysteinase; Full=S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase	<i>Petroselinum crispum</i>	5.60/53774	71	2%	1
462*	gi 2829893	Phosphoglucomutase	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5.82/63203	57	2%	1
463*	gi 88191901	Chain A, Resolution Of The Structure Of The Allergenic And Antifungal Banana Fruit Thaumatin-like Protein At 1.7a	<i>Musa acuminata</i>	6.34/22130	91	9%	2
464*	gi 417745	Full=Adenosylhomocysteinase; Short=AdoHcyase; AltName: Full=S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase	<i>Triticum aestivum</i>	5.65/54086	186	6%	3
467**	gi 695021333	Probable mitochondrial-processing peptidase subunit beta	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.00/58345	402	11%	7
473**	gi 695039956	Alpha-glucan phosphorylase, H isozyme	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.09/95435	452	14%	10
475**	gi 695070070	Aconitate hydratase, cytoplasmic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.06/107820	133	2%	3
477**	gi 695062239	Putativeaconitatehydratase, cytoplasmic	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	7.59/110205	203	4%	4

479**	gi 695020462	Alpha- glucan phosphorylase 1 chloroplastic amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/113476	95	9%	9
480**	gi 695058001	Polygalacturonase-inhibiting protein	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.02/36398	57	3%	1
482**	gi 695006086	Alcohol dehydrogenase 1	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.15/41725	565	31%	12
483**	gi 695017860	Biotin carboxylase 2, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	8.01/58552	85	2%	1
486**	gi 695068869	Formate—tetrahydrofolate ligase	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.87/68189	51	4%	2
488**	gi 2586151	Ripening-associated protein, partial (Ascorbate peroxidase 3 (APX1-3))	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	7.89/19745	64	7%	1
489**	gi 27802647	Cell wall invertase	<i>Musa acuminata</i>	8.89/66134	112	4%	2
491**	gi 157418810	Catalase 2	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	6.75/57325	315	11%	6
492**	gi 695037747	GDSL esterase/lipase At3g26430-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	7.56/46019	120	5%	2
493**	gi 695022626	Malate dehydrogenase	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.00/35814	313	17%	5
498***	gi 695074406	Glutathione s-transferase 3-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	5.44/23556	73	8%	1
499***	gi 695077434	Glutathione S-transferase T1-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.06/26155	68	6%	1
504***	gi 41818408	Class III acidic chitinase	<i>Musa acuminata</i>	7.59/35732	145	15%	5
506***	gi 2586137	Ripening-associated protein (acidic endochitinase-like)	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	6.54/13275	79	9%	1
512***	gi 695004811	Isoflavone reductase-like protein	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.10/34070	109	14%	4
519***	gi 22094840	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	<i>Solanum tuberosum</i>	6.34/36795	158	12%	4
521***	gi 56069874	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, partial	<i>Musa acuminata</i>	6.22/36089	233	9%	3

523***	gi 56069874	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	<i>Musa acuminata</i>	6.22/36089	233	19%	6
528***	gi 226493810	Actin-2	<i>Zea mays</i>	5.31/41881	348	35%	9
529***	gi 695007636	Um characterized protein LOC103976773	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.40/47912	274	13%	5
531***	gi 15241945	GDP-mannose 3,5-epimerase	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5.85/43130	73	3%	1
536***	gi 417745	Full=Adenosylhomocysteinase; Short=AdoHcyase; AltName: Full=S-adenosyl-L-homocysteinehydrolase	<i>Triticum aestivum</i>	5.65/54086	198	8%	4
537***	gi 11762130	AT4g13930	<i>Arabidopsis thaliana</i>	7.12/52220	136	4%	2
539***	gi 695044838	Leucine amino peptidase 2, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	5.51/55810	62	3%	1
540***	gi 157418810	Catalase 2	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	6.75/573225	171	10%	5
541***	gi 232029	Full=Elongationfactor 1-alpha; Short=EF-1-alpha	<i>Daucuscarota</i>	9.24/49613	89	4%	2
542***	gi 157418810	Catalase 2	<i>Musa acuminata</i> AAA Group	6.75/57325	210	6%	3
543***	gi 695060405	Rubisco large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.02/695060	471	22%	12
544***	gi 695007505	4-alpha-glucanotransferase DPE1, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.14/65807	54	2%	1
547***	gi 695063755	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase1, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.23/65334	215	6%	4
549***	gi 2829893	Phosphoglucomutase	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5.82/63203	79	2%	1
550***	gi 695063755	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase1, chloroplastic-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.23/65334	159	6%	4
551***	gi 123601	Full=Heatshock 70 kDaprotein	<i>Glycinemax</i>	5.37/71291	138	8%	4
552***	gi 168030657	Predicted Protein	<i>Physcomitrella patens</i>	5.14/71216	71	8%	4
558***	gi 695039956	Alpha-glucanphosphorylase, H isozyme	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	6.09/95435	170	3%	3

563***	gi 109892850	Full=Putative cytochrome c oxidase subunit II PS17, partial	<i>Pinus strobus</i>	9.62/1707	65	100%	2
566***	gi 695020462	PREDICTED: alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	<i>Musa acuminata</i> subsp. Malaccensis	5.95/113476	94	2%	2
570***	gi 41818408	Class III acidicchitinase	<i>Musa acuminata</i>	7.59/35732	144	9%	5
577***	gi 22094840	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	<i>Solanum tuberosum</i>	6.34/36795	160	12%	4
584***	gi 694994690	40S ribosomal protein S17-like	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	9.93/16522	135	8%	3
585***	gi 41818408	Class III acidicchitinase	<i>Musa acuminata</i>	7.59/35732	213	16%	6
586***	gi 695004811	Isoflavone reductase-like protein	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.10/34070	69	11%	3
587***	gi 695055511	Adenosylhomocysteinase	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	5.95/53709	386	28%	11
589***	gi 695039956	Alpha-glucan phosphorylase, H isozyme	<i>Musa acuminata</i> subsp. malaccensis	6.09/95435	208	6%	4
594***	gi 533474	2-phospho-D-glycerate hydrolase	<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>	5.62/48651	72	7%	2
595***	gi 232029	Full=Elongationfactor 1-alpha; Short=EF-1-alpha	<i>Daucuscarota</i>	9.24/49613	56	6%	3

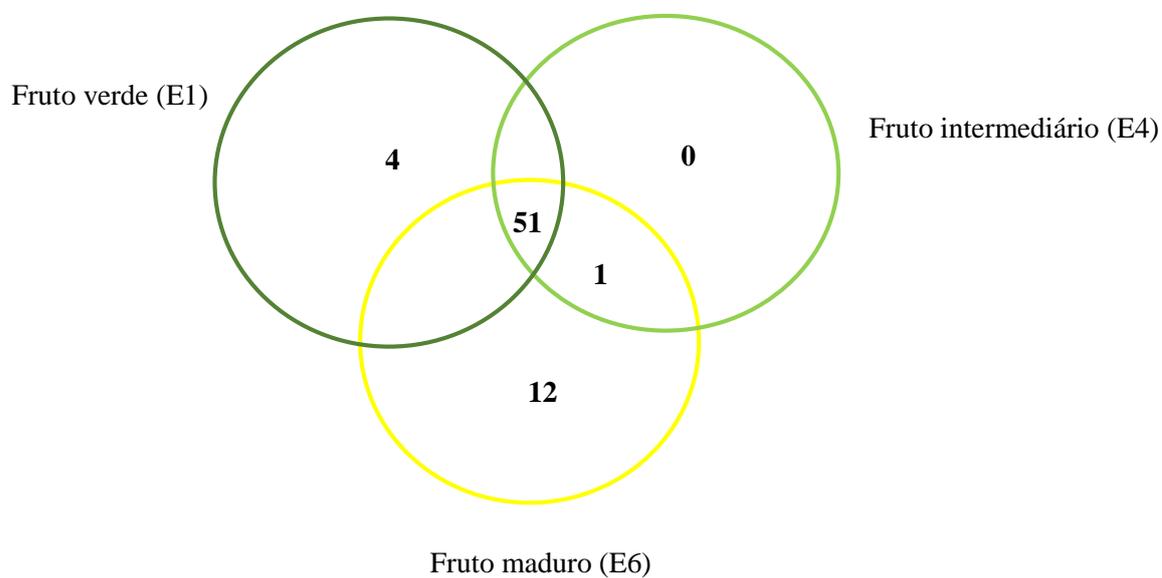
The peptides were sequenced through ms/ms

Score corresponding to the coverage value, as calculated by Mascot

*Exclusive Spots of Pulp samples from Stage 6

** Spots exclusive of Pulp samples from Stage 4

*** Spots exclusive of Pulp samples from Stage 1



Arquivo suplementar 4: Figura S4. Diagrama de Venn ilustrando o número total de proteínas homólogas de *A. thaliana* relacionadas ao processo de maturação em *Musa* spp. O número do círculo verde corresponde às proteínas exclusivas da rede do E1 (fruto verde), interseção do círculo verde claro com amarelo, representa a proteína exclusiva entre os estádios intermediário (E4) e maduro (E6), número no círculo amarelo, corresponde as proteínas exclusivas do fruto maduro (E6) e a interseção entre os três círculos, equivale as proteínas diferencialmente expressas entre os três estádios de maturação. Cruz das Almas, 2017.

Arquivo suplementar 5: Tabela S5. Classificação das proteínas de *Musa* spp. homólogas a *A. thaliana*, quanto a análise interatômica. Cruz das Almas, 2017.

Identificação em <i>Musa</i>	Spot	Identificação em <i>A. thaliana</i>	Identidade	e-value	Código na rede	C/H-Hub/B-Gargalo/ HB-Hub Gargalo	Número do cluster	Nome da proteína
gi 695075287	9	AT3G55440.1	81.50	3.00E-141	comuns	C	6	Triose phosphate isomerase, cytosolic
gi 695047943	18	AT5G19140.1	69.53	6.00E-114	comuns	C	1	Stem-specific protein TSJT1-like
gi 695004884	30	AT5G54770.1	75.28	0.0	comuns	B	2	Thiamine thiazole synthase 2, chloroplastic
gi 42491193	44	AT1G05010.1	70.06	2.00E-145	comuns	B	3	Putative aminocyclo propane carboxylate oxidase
gi 695029484	51	AT5G50850.1	83.01	0.0	comuns	C	6	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta-1, mitochondrial
gi 11133373	58	AT1G04410.1	89.76	0.0	comuns	B	6	Malatedehydrogenase, cytoplasmic
gi 695017646	70	AT1G53240.1	84.76	7.00E-172	comuns	B	6	Malate dehydrogenase, mitochondrial-like
gi 694999136	91	AT4G33680.1	75.00	0.0	comuns	B	1	Probable LL-di aminopimelate aminotransferase, chloroplastic
gi 695032178	95	AT4G20360.1	82.33	0.0	comuns	C	1	Elongation factor Tu, chloroplastic-like
gi 694996781	112	AT5G48300.1	82.35	0.0	comuns	B	6	Glucose-1-phosphate adenylyl transferase small chloroplastic amyloplastic
gi 12585489	123	AT5G17310.2	84.12	0.0	comuns	B	6	Full=UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase; AltName: Full=UDP-glucose pyrophosphorylase; Short=UDPGP; Short=UGPase
gi 596966000	151	AT1G32900.1	62.91	0.0	comuns	C	1	Granule-boundstarchsynthase, partial
gi 695024856	154	AT1G23800.1	79.26	0.0	comuns	B	6	aldehyde dehydrogenase family 2 member B7, mitochondrial-like
gi 695040240	158	AT5G42740.1	83.48	0.0	comuns	HB	6	Glucose-6-phosphate isomerase, cytosolic

gi 695051443	165	AT5G51820.1	83.90	0.0	comuns	B	6	Phosphoglucomutase, chloroplastic
gi 695077956	173	AT2G28000.1	82.69	0.0	comuns	C	1	Rubisco large subunit-binding protein subunit alpha-like
gi 672162181	180	AT5G17380.1	76.33	0.0	comuns	C	1	2-hydroxyacyl-CoA lyase-like
gi 695037796	202	AT5G49910.1	82.66	0.0	comuns	C	1	Stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic-like
gi 695074384	212	AT5G19510.1	72.32	1.00E-79	comuns	C	4	Elongation factor 1-beta 2-like
gi 15705988	217	AT3G12500.1	76.65	3.00E-132	comuns	C	1	Endochitinase, partial
gi 695048148	221	AT2G36460.1	86.59	0.0	comuns	C	1	Fructose-bisphosphate aldolase cytoplasmic isozyme-like
gi 695031164	222	AT2G26560.1	58.95	4.00E-158	comuns	C		Patatin-likeprotein 2
gi 695079329	234	ATMG01190.1	87.84	0.0	comuns	C	2	ATP synthasesubunit alpha, mitochondrial
gi 760440285	235	AT3G23810.1	78.86	0.0	comuns	C	1	Adenosyl homocysteinase
gi 694997406	236	AT1G21750.1	64.90	0.0	comuns	B	1	Protein disulfide-isomerase-like
gi 1709761	257	AT3G22110.1	90.80	4.00E-174	comuns	H	1	Proteasome subunit alpha type-4; AltName: Full=20S proteasome alpha subunit C; AltName: Full=20S proteasome subunit alpha-3; AltName: Full=Proteasome 27 kDasubunit
gi 266324	259	AT3G54420.1	43.56	8.00E-32	comuns	C		Full=Alpha-amylase inhibitor/endochitinase
gi 694998241	346	AT2G22230.1	78.33	1.00E-102	comuns	B	3	Uncharacterized protein LOC103987064
gi 695061132	365	AT1G78380.1	63.08	2.00E-84	comuns	C	6	Probable glutathione S-transferase
gi 695075121	376	AT2G40300.1	72.82	5.00E-111	E6	B	7	Ferritin-1, chloroplastic-like
gi 695003008	377	AT5G24400.1	66.40	2.00E-113	E6	B	6	Probable 6-phosphoglucono lactonase 4, chloroplastic
gi 695042921	378	AT3G14310.1	58.61	0.0	E6	B	6	Pectinesterase-like
gi 694998297	382	AT5G08680.1	89.98	0.0	comuns	C	2	ATP synthasesubunit beta, mitochondrial
gi 695018401	384	AT5G28540.1	90.42	0.0	E6	B	8	Luminal-binding protein 2-like
gi 695058554	388	AT4G09020.1	70.81	0.0	E6	C	6	Isoamylase 3, chloroplastic isoform X1
gi 599625	398	AT4G35830.1	98.33	0.0	E6	C	6	Aconitase

gi 695009149	413	AT3G43270.1	55.48	1.00E-172	E6	C	6	Pectinesterase-like
gi 695050327	417	AT5G57490.1	59.42	5.00E-113	comuns	C	5	Mitochondrial outer membrane protein porin 6
gi 695025076	425	AT1G79920.1	74.19	0.0	E6	C	1	Heatshock 70 kDaprotein 14-like
gi 695005208	431	AT5G23250.1	83.78	2.00E-180	E6	C	6	Probable succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha, mitochondrial
gi 242088739	433	AT1G48630.1	70.33	6.00E-169	E6	B	1	Hypothetical protein SORBIDRAFT_09g027690
gi 470128467	445	AT2G27020.1	85.09	3.00E-153	comuns	H	1	Proteasome subunit alpha type-3
gi 695010609	447	AT2G16600.1	80.59	2.00E-93	E6	C	4	Peptidyl-prolylcis-transisomerase-like
gi 695034594	450	AT1G13950.1	86.79	5.00E-100	E6	B	2	Eukaryotic translation initiation factor 5A-like
gi 695042093	452	AT3G01280.1	63.50	1.00E-112	comuns	B	5	Mitochondrial outer membrane protein porin 1-like
gi 695070070	475	AT2G05710.1	85.14	0.0	E4E6	C	6	Aconitate hydratase, cytoplasmic-like
gi 695006086	482	AT1G77120.1	83.24	0.0	comuns	C	6	Alcohol dehydrogenase 1
gi 695068869	486	AT1G50480.1	85.47	0.0	comuns	C	6	Formate—tetrahydrofolateligase
gi 695022626	493	AT5G43330.1	90.36	0.0	comuns	C	6	Malate dehydrogenase
gi 695074406	498	AT2G47730.1	53.43	3.00E-73	E1	B	6	Glutathione s-transferase 3-like
gi 695077434	499	AT5G41210.1	64.57	5.00E-107	E1	B	6	Glutathione S-transferase T1-like
gi 41818408	504	AT5G24090.1	55.23	7.00E-103	comuns	C		Class III acidic chitinase
gi 22094840	519	AT1G13440.1	92.50	0.0	comuns	B	1	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
gi 226493810	528	AT5G09810.1	97.61	0.0	comuns	C	1	Actin-2
gi 695007636	529	AT5G13420.1	75.51	0.0	comuns	C	6	Uncharacterized protein LOC103976773
gi 15241945	531	AT5G28840.1	100.00	0.0	E1	B	1	GDP-mannose 3,5-epimerase
gi 417745	536	AT4G13940.1	92.37	0.0	comuns	B	6	Full=Adenosylhomocysteinase; Short=AdoHcyase; AltName: Full=S-adenosyl-L-homocysteinehydrolase
gi 11762130	537	AT4G13930.1	99.58	0.0	comuns	C	6	AT4g13930
gi 157418810	540	AT4G35090.1	74.19	0.0	comuns	C	1	catalase 2

gi 695007505	544	AT5G64860.1	68.23	0.0	comuns	C	6	4-alpha-glucanotransferase DPE1, chloroplastic/amyloplastic
gi 695063755	547	AT4G34200.1	81.77	0.0	comuns	C	6	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase1, chloroplastic-like
gi 2829893	549	AT1G23190.1	99.83	0.0	comuns	B	6	Phosphoglucomutase
gi 123601	551	AT1G16030.1	87.02	0.0	comuns	B	1	Full=Heatshock 70 kDaprotein
gi 168030657	552	AT5G02500.1	90.17	0.0	comuns	HB	1	Predictedprotein (3 hydroxyacyl dehydratase)
gi 695039956	558	AT3G46970.1	80.76	0.0	comuns	B	6	Alpha-glucanphosphorylase, H isozyme
gi 695020462	566	AT3G29320.1	74.73	0.0	comuns	B	6	PREDICTED: alpha-1,4 glucanphosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic
gi 694994690	584	AT3G10610.1	79.02	5.00E-77	E1	H	4	40Sribosomalprotein S17-like
gi 533474	594	AT2G36530.1	88.06	0.0	comuns	C	6	2-phospho-D-glycerate hydrolase
gi 41818408	504	AT5G24090.1	55.23	7.00E-103	comuns	C		Class III acidic chitinase