

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

**Influência da infestação da bananeira pelas Sigatocas Negra  
e Amarela na qualidade das bananas: amido e açúcares**

Lorenzo de Amorim Saraiva

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientadora:

Profa. Associada Beatriz Rosana Cordenunsi

São Paulo

2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

**Influência da infestação da bananeira pelas Sigatocas Negra  
e Amarela na qualidade das bananas: amido e açúcares**

Lorenzo de Amorim Saraiva

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientadora:

Profa. Associada Beatriz Rosana Cordenunsi

São Paulo

2010

Lorenzo de Amorim Saraiva

**Influência da infestação da bananeira pelas Sigatocas Negra e  
Amarela na qualidade das bananas: amido e açúcares**

Comissão Julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Associada Beatriz Rosana Cordenunsi  
orientador/presidente

---

1º. examinador

---

2º. examinador

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

## AGRADECIMENTOS

À Florence Castelan, por estar sempre ao meu lado.

À Professora Beatriz Rosana Cordenunsi pela oportunidade dada, por todo o apoio, por toda a disposição e por todos os ensinamentos.

Ao Dr. Marc Chillet pela oportunidade e pela ajuda em meu trabalho.

Ao Professor Ângelo Jacomino da ESALQ, ao técnico Marcos Trevisam e os alunos de IC Keyla e Tiago, por disponibilizarem suas instalações, seu tempo e seus conhecimentos para a realização deste trabalho.

Ao Professor Eduardo Purgatto pela ajuda em minhas dúvidas.

Ao Professor João Roberto O. do Nascimento pela ajuda no trabalho e pela participação na banca de qualificação.

À Dra. Claudinéia Aparecida Soares: seria impossível traduzir aqui a minha gratidão por toda a ajuda, todo o conhecimento passado e todos os conselhos indispensáveis para o meu mestrado.

Ao Dr. João Paulo Fabi pela valiosa participação na banca de qualificação e pela ajuda no trabalho.

Às pessoas que, literalmente, puseram a mão na massa, para contribuir nesta dissertação: Lúcia Justino, Tânia Shiga, Márcia Moraes, Fernanda Peroni, Neuza Hassimotto, Renata Shitakubo e Geovana Sagrado.

À todos que me apoiaram: Aline, Mônica, Edílson e Cléo da secretaria do departamento e Jorge e Elaine da secretaria de pós-graduação.

Aos produtores, sempre solícitos, que cederam as áreas para o estudo: Alan, Sr. Aldo, Sr. Batico, Sr. Dênis, Sr. Zezito

Ao Sindicato dos bananicultores de Miracatu, a Casa da Agricultura de Pedro de Toledo e ao APTA regional de Registro.

Ao Cnpq pelo apoio a minha pesquisa e a FAPESP pelo apoio ao laboratório.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. As Sigatokas .....	2
1.2. O amadurecimento do fruto e a qualidade da banana .....	6
1.3. Amido de banana e as enzimas envolvidas em sua degradação.....	10
<b>2. OBJETIVO</b> .....	15
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	16
3.1. Descrição do Experimento de Campo.....	16
3.1.1. Desenho experimental.....	16
3.1.2. Condução do Experimento de Campo.....	17
3.1.3. Determinação da idade fisiológica e o momento da colheita.....	19
3.2. Análises das amostras .....	19
3.2.1. Preparo das amostras .....	19
3.2.2. Medidas de CO <sub>2</sub> e etileno .....	20
3.2.3. Determinação dos Carboidratos .....	20
3.2.4. Medida de atividade das enzimas $\alpha$ -amilase e $\beta$ -amilase .....	22
3.2.5. Eletroforese em condições não-desnaturantes (PAGE nativo).....	23
3.2.6. Análise estatística.....	24
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	25
4.1. Respiração e produção de etileno.....	25
4.2. Amido e Açúcares Solúveis.....	29
4.3. Atividade das $\alpha$ e $\beta$ amilases no extrato bruto .....	35
4.4. Atividade das Fosforilases am PAGE-nativo.....	40
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	43
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	44

## 1. INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa spp.*) é originária do continente Asiático sendo, atualmente, explorada na maioria dos países tropicais. Seu fruto é amplamente consumido, rico em nutrientes e de perfume característico. Apreciada por pessoas de todas as classes sociais e idades, sua importância é aumentada pelo fato de ser parte da alimentação básica para populações de baixa renda em muitos países. A bananeira é considerada planta de cultivo permanente, de crescimento rápido e que permite colheita o ano todo.

No ano 2008, a área cultivada era de aproximadamente 5 milhões de hectares e a produção perto de 90 milhões de toneladas por ano, em todo o mundo (FAO). Esses valores são aproximações, pois boa parte da banana consumida no mundo é proveniente de pequenos produtores ou mesmo de plantações domésticas. Dados desse mesmo ano colocam o Brasil na quarta posição na produção mundial de banana, produzindo mais de sete milhões de toneladas (FAO). O maior produtor e consumidor é a Índia com mais de 20 milhões de toneladas (FAO, 2008). O Equador é o principal exportador, com mais de 3,5 milhões de toneladas da fruta no ano de 2000 (FAO).

Embora o Brasil esteja entre os maiores produtores mundiais, a exportação de bananas não é o principal destino da produção nacional e os principais países importadores são seus vizinhos, Argentina e Uruguai. Dessa forma, a produção é praticamente toda destinada ao mercado interno na forma de fruta fresca e, em menor proporção, de produtos industrializados.

Dentre os estados brasileiros, São Paulo é o maior produtor de bananas seguido da Bahia e Santa Catarina. Aqui foram colhidas mais de 1,2 milhões toneladas em pouco mais de 56 mil hectares no ano de 2008 (IEA). A produção do estado concentra-se na região

sudeste, no Vale do Ribeira e Litoral. Entre os principais municípios produtores estão: Registro, Cajati, Miracatu, Juquiá, Itariri, Peruíbe e Itanhaém. No Vale do Ribeira, há cerca de 4.000 produtores de banana, grande parte pequenos produtores (IEA, 2009).

Atualmente os produtores de banana enfrentam duas doenças presentes em praticamente todas as áreas produtoras, a Sigatoka Amarela (*Mycosphaerella musicola* Leach ex Mulder) e a Sigatoka Negra (*M. fijiensis* Morelet), com predominância da Negra, que é mais agressiva e desencadeou um aumento da pressão de fungicidas nas áreas. As bananas de mesa que são, de forma geral, as mais exportadas, são muito suscetíveis aos dois patógenos (JONES, 2000).

### **1.1 As Sigatokas**

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

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

Em todo o mundo, as Sigatokas são as doenças mais importantes dessa cultura. Atualmente, muitas áreas anteriormente infestadas pela Sigatoka Amarela apresentam presença predominante da Sigatoka Negra. Isso ocorre devido à maior agressividade



deste patógeno e, conseqüentemente, da necessidade de um controle químico mais regular e eficiente que reduz a presença do fungo da Sigatoka Amarela.

Tendo como agentes causais dois fungos ascomicetos semelhantes, as Sigatokas demandam controle químico com fungicidas. A Sigatoka Negra deve ser controlada rápida e eficientemente, pois pode em pouco tempo necrosar todas as folhas da planta atacada.

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

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

amarelo pálido na parte superior do limbo foliar. Na Sigatoka negra, esses traços são marrons avermelhados e ficam na parte inferior do limbo.

Assim, o principal dano causado por ambas Sigatokas é a perda de tecido fotossinteticamente ativo e o amadurecimento precoce dos frutos. As figuras 1 e 2 mostram plantas fortemente atacadas por Sigatoka Negra e S. Amarela, bem como o efeito do amadurecimento precoce dos frutos de ambas doenças, podendo ocasionalmente ocorrer no campo, antes do ponto de colheita determinado por soma de temperaturas (900 GD, descrito no item 1.2).



**Figura 1.** Plantas fortemente infestadas por Sigatoka Negra (A) e Sigatoka Amarela (B).



**Figura 2.** Frutos amadurecidos na planta antes do momento da colheita (900 GD), em plantas fortemente atacadas por S. Negra (Vale do Ribeira, 2010).

O amadurecimento precoce dos frutos causado pela Sigatoka Amarela já foi reportado antes e será comentado a seguir (item 1.2). Ramsey, Daniells e Anderson (1990) associaram o número de folhas viáveis (com pelo menos 30% do tecido fotossinteticamente ativo) na colheita com o peso dos cachos colhidos. Eles demonstraram que abaixo de cinco folhas viáveis na colheita, situação comum nos bananais do Vale do Ribeira, o peso dos cachos e, conseqüentemente das frutas, foi reduzido significativamente.

Outro importante autor pioneiro nos estudos sobre a Sigatoka Amarela foi Meredith (1970). Este autor mostrou um efeito marcado da doença sobre o processo de amadurecimento da banana, apontando como principal consequência o amadurecimento precoce do fruto. Ele mostra, ainda, que os efeitos da doença são ainda maiores quando a doença se desenvolve próximo ao momento da colheita. Ele também reporta outros efeitos da Sigatoka Amarela na qualidade do fruto, como a descoloração da polpa.

## **1.2. O amadurecimento do fruto e a qualidade da banana**

As bananas sem sementes são chamadas frutos partenocárpicos. O desenvolvimento destes frutos e a formação de sua polpa ocorrem sem que haja o estímulo da polinização. O volume de células da polpa aumenta por divisões celulares no início do desenvolvimento, até a quarta semana após a antese. Em uma segunda fase, o crescimento final do fruto acontece por meio de expansão celular. Nesta fase também se inicia o acúmulo de amido nas células. Este processo ocorre do centro para as bordas das bananas (RAM, RAM e STEWARD, 1962, usando amostras de *M.*

*acuminata* c.v. Pisang lilin). No entanto, as mudanças ocorridas nos frutos da bananeira durante o amadurecimento tornam os frutos atrativos a possíveis dispersores, assim como ocorre em frutos dotados de sementes.

Os frutos são divididos em dois grupos, de acordo com seu comportamento durante o amadurecimento: não-climatéricos e climatéricos. Esta divisão é baseada no padrão de respiração e produção de etileno. Os frutos climatéricos produzem grandes quantidades de etileno e aumentam a taxa de respiração no momento em que se inicia o amadurecimento. Os frutos não-climatéricos não apresentam este comportamento (SEYMOUR, TAYLOR, e TUCKER, 1993). A banana (*M. acuminata* c.v. Williams) é mais sensível ao etileno do que outros frutos como a fruta-do-conde, a manga, o abacate, o pêssego e o tomate (WILLS et al., 2001).

Dessa forma, a banana é um exemplo de fruto climatérico (BURG e BURG, 1965): acumula grandes quantidades de amido enquanto verde e degrada a maior parte deste durante o amadurecimento (nas variedades de mesa), após o climatério, com síntese concomitante de açúcares solúveis. Dependendo da cultivar, os frutos possuem em torno de 25% de amido no estágio  $\frac{3}{4}$  cheio, considerado o diâmetro referência para a colheita comercial (MOTA, CORDENUNSI e LAJOLO, 1997). Ao final do amadurecimento restam, normalmente, teores próximos a 5% de amido; já os teores de açúcares solúveis, com predominância da sacarose, se elevam a valores da ordem de 15% (CORDENUNSI, 2004; CORDENUNSI, SHIGA E LAJOLO, 2008). Portanto, a degradação do amido e a síntese de açúcares são responsáveis pelo adoçamento destes frutos, representando importantes processos fisiológicos e bioquímicos ligados à qualidade dos frutos.

A condição de fruto climatérico permite a colheita da banana ainda verde para posterior amadurecimento. Genericamente, a vida pós-colheita da banana pode ser dividida em três fases: fase pré-climatérica ou vida-verde, fase de amadurecimento e fase senescente, durante a qual o metabolismo é fortemente reduzido e a qualidade do fruto decai (JOHN e MARCHAL, 1995). Vida-verde (Green Life) é o espaço de tempo existente entre a colheita e o início do amadurecimento natural do fruto (PEACOCK e BLAKE, 1970), tempo esse que varia entre 5 e 30 dias, para bananas armazenadas a 20 °C. Esta medida é importante, pois representa o período disponível para o transporte e a comercialização dos frutos, já que a banana deve atingir o mercado distribuidor ainda em estágio pré-climatérico.

A qualidade da banana é resultado de diversos fatores desde a produção do fruto no campo até a chegada do fruto ao consumidor. É possível apontar quatro fatores principais como determinantes da qualidade final da banana: ponto de colheita, manejo cultural, cuidados no manuseio do cacho e fatores bióticos. Dentre estes, o ponto de colheita é o mais crítico, pois depende muito de cada produtor e influencia o período de tempo que a banana permanecerá verde.

Em relação ao ponto de colheita, foi demonstrado um cálculo de soma de temperaturas, a uma base de 14 °C, que determina a idade fisiológica do fruto em Graus Dia (GD) (GANRY E MEYER, 1975, para as condições tropicais e cv Grande Naine). Jullien (2000) mostrou uma curva de evolução da soma de temperatura da bananeira em função da vida-verde dos frutos produzidos. Esta autora determinou em 900 GD o ponto de colheita comercial, para a cv Grande Naine, cultivada nas condições tropicais. Este ponto de colheita foi determinado por meio da vida-verde ótima para frutos produzidos na América Central, que buscam alcançar o mercado americano e

européu, através do transporte marítimo, realizado em tempo máximo de 25 dias. No intervalo de 15,6 a 35,6 °C a vida-verde é logaritmicamente relacionada à temperatura e períodos maiores de vida-verde são alcançados nas menores temperaturas, mostrando que a temperatura de armazenamento é determinante na vida-verde da banana (BLAKE e PEACOCK, 1971).

Em um experimento conduzido em Guadalupe (FWI), Chillet *et al* (2009) verificaram uma drástica diminuição da vida-verde de frutos oriundos de plantas com alta infestação de Sigatoka Amarela. Nesta ocasião, os frutos provenientes de plantas saudáveis tiveram, em média, 28 dias de vida-verde, já as plantas com alto grau de infestação tiveram frutos com vida-verde média de 17,3 dias. Contudo a alta infestação das plantas não resultou em diminuição significativa no diâmetro do fruto.

Em conversas com produtores foi verificado que a vida-verde dos frutos produzidos no Vale do Ribeira compreende entre 5 e 15 dias, em condições ambientais não controladas. Nesse contexto, outro panorama bastante aparente é a possível perda de valor comercial dos frutos produzidos em bananais fortemente atacados.

Foi demonstrado que fatores abióticos, como estresse hídrico e encharcamento, afetam fortemente o diâmetro dos frutos produzidos, mas não influenciam a vida-verde dos mesmos, desde que o ponto de colheita seja estabelecido pela idade fisiológica (CHILLET *et al.*, 2006). Isso mostra um efeito indireto deste tipo de estresse. Como a colheita para fins comerciais é realizada por meio da estimativa do diâmetro da fruta, a redução do diâmetro, ocasionada por estresse ambiental, leva à colheita tardia dos frutos, que terão uma vida-verde reduzida.

É possível notar que muitos fatores externos à planta influenciam os processos fisiológicos no amadurecimento das bananas. Muitos destes processos são importantes

para a qualidade dos frutos: a degradação do amido e a síntese de sacarose irão tornar o fruto doce e agradável ao consumo, porém a influência de doenças muito agressivas, como as Sigatokas, nestes processos ainda não foi estudada.

### **1.3 Amido de banana e as enzimas envolvidas em sua degradação**

O amido é composto por dois polímeros de glicose, que se arranjam de forma linear ou ramificada, conhecidos por amilose e amilopectina, respectivamente. As moléculas de glicose destes polímeros estão ligadas de duas formas: na amilose há presença quase exclusiva da ligação  $\alpha$ -1,4; na amilopectina, além de ligações  $\alpha$ -1,4 existem ligações  $\alpha$ -1,6, que são responsáveis pelas ramificações na cadeia. A presença dessas cadeias variáveis no amido demanda a atuação de diferentes enzimas de degradação em diferentes regiões do polímero.

As  $\alpha$ -amilases (E.C 3.2.1.1) e  $\beta$ -amilases (E.C 3.2.1.2) participam da degradação hidrolítica do amido e estão presentes durante todo o amadurecimento dos frutos de banana (BASSINELLO, CORDENUNSI e LAJOLO, 2002; SOARES, 2009; PERONI, 2007). As  $\alpha$ -amilases são conhecidas por serem as responsáveis pelo início do processo de degradação do grânulo de amido (BECK E ZIEGLER, 1989). Dessa forma, sua importância na degradação do amido é notável, inclusive por estar presente em todas as fases de amadurecimento da banana. No entanto, ainda não foi encontrada uma relação da atividade desta enzima com outros eventos do amadurecimento, como a presença e a ausência de hormônios, indicando que esta enzima não é regulada pelo etileno ou o ácido indol acético (AIA) (VIEIRA JUNIOR, 2006). Para atuar sobre o grânulo de amido, é necessário que a enzima seja capaz de ultrapassar a barreira da



membrana do amiloplasto, ou seja, que a enzima possua aparato para transpor esta barreira. No sentido de reforçar a possibilidade de que a  $\alpha$ -amilase da banana é importante na degradação do seu amido, existem indícios de que a enzima possui o peptídeo necessário para entrar no amiloplasto, para iniciar a degradação do amido (VIEIRA JUNIOR, NASCIMENTO e LAJOLO, 2006). Existem indícios também de que sua atividade é regulada negativamente pelo hormônio Ácido Giberélico ( $GA_3$ ) (ROSSETTO et al., 2003). Contudo, embora muitos estudos tenham sido feitos a respeito desta enzima durante o amadurecimento da banana, a função que ela exerce na degradação do amido em açúcares ainda não foi totalmente esclarecida.

A alta atividade da  $\beta$ -amilase coincidente com o período de degradação do amido é um indício de que esta é uma enzima importante na sua degradação durante o amadurecimento da banana (PURGATTO et al., 2001). A  $\beta$ -amilase hidrolisa ligações glicosídicas  $\alpha$ -(1-4) dos polímeros que compõe o amido (amilose e amilopectina), removendo sucessivas unidades de  $\beta$ -maltose dos terminais não-redutores. O aumento de sua atividade/expressão ocorre durante o amadurecimento da banana, concomitante com a degradação do amido e com o aumento de produção de etileno (NASCIMENTO et al., 2006). Quando sua atividade/expressão são reduzidas, com a utilização do 1-metilciclopropeno (1-MCP), por exemplo, a degradação do amido ocorre, porém, mais lentamente (NASCIMENTO et al., 2006). Sabe-se também que a degradação do amido no amadurecimento da banana é retardada pela presença do hormônio ácido indol-3-acético (AIA) possivelmente por este afetar a atividade de hidrolases como a  $\beta$ -amilase (PURGATTO et al., 2001). Estes autores puderam concluir que a  $\beta$ -amilase é apenas uma das enzimas que participam do complexo processo de transformação do amido em

sacarose no amadurecimento dos frutos de banana, mas talvez seja uma das mais importantes.

As amido-fosforilases (E.C 2.4.1.1) atuam tanto no sentido da síntese do amido quanto no sentido da degradação. Estas enzimas podem adicionar ou remover moléculas de glicose-1-fosfato nos polímeros de glicose. Durante a síntese e a degradação do amido na banana, as diferentes formas das amido-fosforilases modulam sua atividade dando indícios da sua importância nestas fases (MOTA et al., 2002).

Foram identificados dois tipos de amido-fosforilases comuns nos vegetais superiores: um deles, a amido-fosforilase 1 (PHO1), é a forma plastidial que, por sua localização, acredita-se estar mais relacionada com a síntese do amido. A PHO1 tem maior afinidade por substratos com cadeias simples e pequenas. A amido-fosforilase 2 (PHO2) é a forma citosólica que tem maior afinidade por substratos de cadeias grandes com alto grau de polimerização (ALBRECHT et al., 2001; SCHUPP e ZIEGLER 2004).

Arêas (1979) identificou a atividade de duas frações diferentes de fosforilases em diferentes compartimentos: uma delas, localizada no amiloplasto, com maior atividade na síntese de amido e queda na atividade durante a degradação do amido; a outra, localizada no citoplasma, com aumento de atividade no início da degradação do amido. Mota et al. (2002) encontraram maior acúmulo da fosforilase 2 em relação a fosforilase 1 durante o amadurecimento.

Como consequência do aumento da expressão gênica as fosforilases apresentam atividade até o momento do pico climatérico. Concomitante ao aumento da produção de etileno existe uma redução da atividade destas enzimas, ou seja, o etileno parece inibir sua atividade. Quando tratados com o antagonista do etileno, o 1-MCP, os frutos apresentam maior atividade desta enzima e maior expressão de seu RNA mensageiro,

o que parece ser um mecanismo compensatório para a degradação do amido quando a  $\beta$ -amilase está sendo inibida (MAINARDI et al., 2006).

A sacarose sintase (SuSy, EC 2.4.1.13) atua reversivelmente tanto na síntese quanto na hidrólise da sacarose, em relação à atividade e expressão dos genes relativos à SuSy. Os maiores níveis de atividade foram obtidos durante o desenvolvimento dos frutos, quando ocorre alta importação de sacarose e síntese de amido. A atividade desta enzima permanece alta quando o fruto alcança máximo diâmetro, porém esta situação muda na ocorrência da colheita e início do amadurecimento do fruto. Nesta ocasião, ocorreu a queda brusca na atividade desta enzima, bem como a redução na expressão dos genes relativos à SuSy (NASCIMENTO, CORDENUNSI e LAJOLO, 2000).

Da mesma forma, a sacarose-fosfato sintase (SPS, EC 2.4.1.14) parece ter papel fundamental ao longo do amadurecimento, devido à estreita relação entre o aumento de sua atividade e o acúmulo de sacarose. Nascimento et al (1997) dividiram a atividade e expressão de SPS em três fases distintas, ao longo do desenvolvimento e amadurecimento do fruto: a primeira, que ocorre nos 70 dias precedentes à colheita e corresponde ao desenvolvimento do fruto, é marcada pelo acúmulo de amido e o início do aumento na atividade da SPS. A segunda fase, que ocorre a partir da colheita até o décimo sexto dia, quando o conteúdo de amido e sacarose é mantido constante, porém, a atividade da SPS aumenta mais rapidamente. Depois disso, ocorre uma queda na atividade SPS caracterizando a terceira fase. Além disso, Nascimento et al (1997) concluíram que o fator limitante na atividade da SPS foi a disponibilidade de substrato, devido aos altos níveis de atividade, durante a segunda fase, acompanhado de

constantes teores de amido e sacarose. Este fato também foi comprovado por Bassinelo et al. (1999).

A fim de desvendar os papéis dessas enzimas ao longo do amadurecimento da banana, foram determinados os perfis de atividade dessas enzimas em frutos destacados da planta mãe e comparados com frutos que amadureceram ainda unidos na mesma (CORDENUNSI e LAJOLO, 1995). Eles encontraram grande diferença na velocidade em que estes perfis se desenvolveram, sendo que estes eventos ocorreram com maior lentidão nas plantas amadurecidas na planta-mãe. Além disso, constataram forte influência da colheita na atividade dessas enzimas, provavelmente advinda de hormônios veiculados pela planta-mãe. Mostrando também a influencia da planta mãe sobre o amadurecimento do fruto.

Além de serem muito importantes na cultura da bananeira por causarem danos às plantas e queda na produtividade das áreas, as Sigatokas também causam desarranjos no comportamento pós-colheita dos frutos como já foi visto por outros autores (RAMSEY, DANIELLS e ANDERSON, 1990; CHILLET et al., 2009). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo estudar as mudanças e as diferenças ocorridas no processo de transformação do amido em açúcares durante o amadurecimento dos frutos provenientes de áreas atacadas pelas duas doenças.

## **2. OBJETIVO**

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da Sigatoka Amarela e da Sigatoka Negra na qualidade do fruto da bananeira, tendo como foco o metabolismo amido-açúcares e as principais enzimas envolvidas neste processo.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Neste estudo foram usadas pencas de banana da cultivar nanicão (*Musa acuminata*, triploid AAA, Cavendish cv Nanicão), provenientes de experimento conduzido no campo em três áreas comerciais da região do Vale do Ribeira, nas cidades de Itanhaem, Miracatu, e Registro, no segundo semestre de 2008. As frutas foram colhidas em duas idades fisiológicas diferentes: 700 e 960 graus dia (metodologia descrita em métodos 3.1.3.).

#### **3.1. Descrição do Experimento de Campo**

##### **3.1.1. Desenho experimental**

O experimento foi realizado no período de fevereiro/2008 a novembro/2008, em cinco sítios da região do Vale do Ribeira (SP) nos municípios de Itanhaém, Miracatu, e Registro. Desenhado em três tratamentos e três triplicatas biológicas no campo, este experimento contou com três parcelas de 40 plantas cada uma (Tabela 1).

**Tabela 1.** Distribuição das parcelas e tratamentos do experimento realizado no Vale do Ribeira no período de fevereiro a novembro de 2008.

<i>TRATAMENTO</i>	<i>Região</i>	<i>Número de plantas</i>	<i>Condição da área</i>
Sigatoka Negra	Miracatu	40	Forte ataque
Sigatoka Amarela	Itanhaém	40	Forte e exclusivo ataque
Controle	Registro	40	Muito baixa infestação dos dois patógenos

Em relação ao ataque das doenças, este experimento apresentou três diferentes condições: (1) área fortemente atacada por S. Negra, onde a Amarela já tinha sucumbido; (2) área de forte e exclusivo ataque de S. Amarela; (3) e área controle, com baixa pressão de todos os patógenos. Amostras foliares das áreas de S. Amarela e Negra foram analisadas no laboratório de Fitopatologia do CIRAD em Montpellier, para confirmação da presença dos patógenos e da exclusividade de S. Amarela em sua respectiva área.

A colheita foi realizada na terceira ou quarta penca de cada cacho, em duas diferentes idades fisiológicas (700 e 960<sup>o</sup> dia - metodologia descrita em métodos 4.1.3.).

### **3.1.2. Condução do Experimento de Campo**

Para o cálculo de idade fisiológica é necessária a determinação do “Ponto de Floração da Bananeira” (momento da antese). Este estágio é caracterizado pela presença de flores masculinas e femininas na última penca aberta (Figura 3).

Selecionadas no estágio descrito, as plantas foram marcadas com fita tigrada vermelha e tiveram sua data de floração anotadas. Os cachos foram envolvidos com plásticos azuis de polietileno.



**Figura 3.** Antese da bananeira, estágio conhecido como dedos horizontais. A seta mostra a característica de reconhecimento do estágio: a primeira penca com flores femininas (grandes) e masculinas (pequenas).

Por meio de sondas (Tinytag extra, TGX-3580) instaladas no campo, as temperaturas foram coletadas ao longo do desenvolvimento dos frutos e a soma de temperaturas foi monitorada para o planejamento da colheita. Neste período, foram realizadas adubações bimestrais e medições mensais da severidade da doença para confirmar a diferença na pressão de doença em cada área.



### **3.1.3. Determinação da idade fisiológica e o momento da colheita**

A idade fisiológica dos frutos foi determinada pelo método descrito por Ganry e Meyer (1975). Este método é realizado por meio da soma de temperaturas médias diárias, a uma temperatura basal de 14 °C, desde o momento da floração até o dia da colheita; a idade fisiológica é expressa em graus dia (GD).

Para evidenciar diferenças em dois pontos diferentes quanto à formação do fruto, duas idades fisiológicas foram escolhidas para a colheita: uma precoce a 700 GD e outra tardia a 960 GD.

## **3.2. Análises das amostras**

### **3.2.1. Preparo das amostras**

Após a colheita, 18 pencas por tratamento foram levadas para a cidade de Piracicaba, no Laboratório de Pós-colheita em Produtos Hortícolas da ESALQ, onde foram lavadas e higienizadas por imersão em hipoclorito de sódio a 1%. Após completa secagem, os frutos foram armazenados em câmara com umidade relativa do ar e temperatura controladas em aproximadamente 80% e 20 °C, respectivamente.

Para as análises posteriores foram retiradas amostras dos estádios verde, intermediário e maduro. Estes estádios foram estimados pela cor da casca e pelos teores de etileno e CO<sub>2</sub>. Cada amostra era constituída de pelo menos 4 bananas que eram descascadas e finamente fatiadas em nitrogênio líquido e armazenadas a - 80 °C.

### **3.2.2. Medidas de CO<sub>2</sub> e etileno**

Diariamente, três frutos eram acomodados em frascos de vidro de 1,6 L, fechados e mantidos na câmara a 20 °C por período de tempo controlado. Posteriormente, eram coletadas amostras de 1 mL da mistura de gases contida no interior do vidro, através de um septo de silicone, com auxílio de uma seringa para gases (Hamilton, Gastight 2,5 mL, USA). Estas amostras foram injetadas em um cromatógrafo a gás (ThermoFinnigan Trace 2000 Gas Chromatograph), com injetores a 100 °C, utilizando dois detectores de ionização de chamas (FID) a 250 °C e duas colunas capilares Porapack N (com 4 m para o CO<sub>2</sub> e 1,8 m para o etileno) a 100 °C utilizando o hidrogênio como gás de arraste (40 mL/min.kg, 105 kPa de pressão).

### **3.2.3. Determinação dos Carboidratos.**

#### **Amido**

O amido foi determinado através de dois métodos. Primeiramente, através do método enzimático otimizado para bananas por Arêas e Lajolo (1981). Aproximadamente 0,5 g de amostra triturada em nitrogênio líquido foi homogeneizada em hidróxido de sódio 0,5 M e neutralizada com ácido acético 0,5 M. O homogenato foi transferido para um balão volumétrico (25 mL ou 50 mL) e o volume completado com água destilada. Foi então retirada uma alíquota de 1 mL e o amido precipitado pela adição de 4 mL de etanol absoluto. Após agitação, a solução contendo o amido precipitado foi centrifugada a 12000 g por 15 minutos e descartado o sobrenadante. O precipitado foi lavado por mais duas vezes utilizando etanol 80%. O precipitado foi seco

a temperatura ambiente em capela, adicionado de 1 mL de solução de amiloglicosidase (14 U/mL, pH 4,8) e incubado a 37 °C. Após duas horas de incubação a reação foi parada adicionando-se 100 µL de ácido perclórico 0,6 M. A glicose resultante foi quantificada pelo método glicose/peroxidase/ABTS, segundo Bergmeyer (1974), utilizando glicose como padrão.

Posteriormente, foi realizada a determinação do amido pelo método químico (TREVELYAN e HARRISON, 1952) para verificar a existência de amido resistente à hidrólise enzimática. Para esse método, obteve-se o precipitado da mesma maneira que para o método enzimático. A esse precipitado foi adicionado 10 mL de ácido sulfúrico 0,5 N a 100 °C permanecendo a essa temperatura por uma hora com leve agitação. Após esse período de hidrólise, transferiu-se o hidrolisado para balão volumétrico e o volume foi completado para 10 mL. Então, uma alíquota de 200 µL foi retirada e a adicionada de 1 mL do Reagente de Antrona, após 10 minutos a glicose resultante foi determinada.

### **Açúcares Solúveis**

Os açúcares solúveis foram extraídos de cerca de 1 g de amostra previamente triturada em nitrogênio líquido, com o auxílio de 5 mL de etanol 80%. A mistura foi mantida por 15 min a 80 °C sob agitação mecânica. Em seguida o homogenato foi colocado em centrífuga por 15 min a 12000 g. O sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 25 mL. A extração foi repetida três vezes, os sobrenadantes somados e o volume foi ajustado com etanol 80%. Uma alíquota de 1 ml foi retirada e o etanol foi evaporado em sistema speed vac e o volume foi reconstituído com água deionizada. As análises de frutose, glicose, sacarose e oligossacarídeos (maltose,

maltotriose, maltotetraose, maltopentose, maltohexose e maltoheptaose) foram feitas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC-dionex), utilizando um detector de pulso amperométrico e coluna CarboPac PA1(4x250mm), em corrida isocrática com fluxo de 1mL/min de NaOH (18mM).

#### **3.2.4. Medida de atividade das enzimas $\alpha$ -amilase e $\beta$ -amilase**

As proteínas foram extraídas de amostras de 0,5 g de fruto adicionando-se 2 mL de solução tampão Hepes-KOH 50 mM pH 7,0, contendo cisteína 20 mM neutralizada com NaOH, polivinilpirrolidona 40000 (PVP-40) 1% (m/v) e benzamidina 1 mM e homogeneizando por 1 min em homogeneizador Waring Blendor. O homogenato foi centrifugado a 10000 g por 15 min e o sobrenadante foi dialisado em tampão Hepes-KOH 50mM pH 7,0, contendo cisteína 20 mM neutralizada com NaOH, e Benzamidina 1 mM. O dialisado (extrato bruto) teve o volume medido e foi utilizado para determinar a atividade das enzimas  $\alpha$ -amilases e  $\beta$ -amilases. Todas essas etapas foram realizadas em temperaturas próximas a 4 °C.

Para calcular a atividade específica das enzimas, foi quantificado o teor de proteínas no extrato bruto pelo método de Bradford (1976), utilizando o reagente Protein Assay (Bio-Rad). Este reagente contém Coomassie Blue G-250 que reage com resíduos básicos e aromáticos de aminoácidos, desenvolvendo a coloração azul. As leituras foram feitas a 595 nm. O padrão utilizado foi a Albumina Soro Bovina, e os resultados foram apresentados em mg/h.

A atividade das  $\alpha$ -amilases foi estimada segundo a metodologia descrita por McCleary e Sheehan (1987). Foram incubados 20  $\mu$ L do extrato bruto com 20  $\mu$ L do

reagente Ceralpha (Megazyme) por uma hora, a 30 °C. Este reagente contém uma mistura de  $\alpha$ -glicosidase com  $p$ -nitrofenil-maltopentaosídeo bloqueado na extremidade redutora (PNPG7), que o torna específico para  $\alpha$ -amilases, pois impede a ação de  $\beta$ -amilases e fosforilases. A reação foi interrompida com 160  $\mu$ L de trizma-base 1% (pH>10). O  $p$ -nitrofenol liberado desenvolve a coloração amarela em pH alcalino, que é lida a 410 nm. A atividade foi estimada com base em uma curva-padrão de  $p$ -nitrofenol.

A estimativa da atividade da  $\beta$ -amilase foi feita segundo o método descrito por McCleary e Codd (1989). Para isso foi utilizado o reagente Betamyl (Megazyme) que contém  $p$ -nitrofenil-maltopentaosídeo (PNPG5), que é específico para as  $\beta$ -amilases. As condições de ensaio, leitura e quantificação foram as mesmas utilizadas para as  $\alpha$ -amilases.

### **3.2.5. Eletroforese em condições não-desnaturantes (PAGE nativo)**

A ocorrência de duas formas de fosforilases na polpa da banana foi verificada através da diferença de afinidade dessas formas por polissacarídeos ramificados. Para isso realizaram-se eletroforeses em géis de poliacrilamida (6%) contendo glicogênio de ostra (0,4%). O tampão de corrida foi Tris 25 mM, pH 8,3, glicina 192 mM (HAMES E RICKWOOD, 1990). Após as eletroforeses os géis foram lavados durante 15 minutos com 40 ml de tampão citrato-NaOH 100 mM pH 6,0. Após essa primeira lavagem os géis foram incubados neste mesmo tampão acrescido de 0,05% de amido solúvel de batata e glicose-1-fosfato 20 mM, por uma hora. Foi feita então uma segunda lavagem

em tampão citrato-NaOH 100 mM pH 6,0. Para visualização das bandas, os géis foram corados com solução aquosa de iodeto ( $I_2$  13 mM e KI 40 mM).

A comparação entre as bandas visualizadas nos géis foi feita por densitometria, utilizando o programa Quantity One Image Analysis 4.6.3 (BioRad).

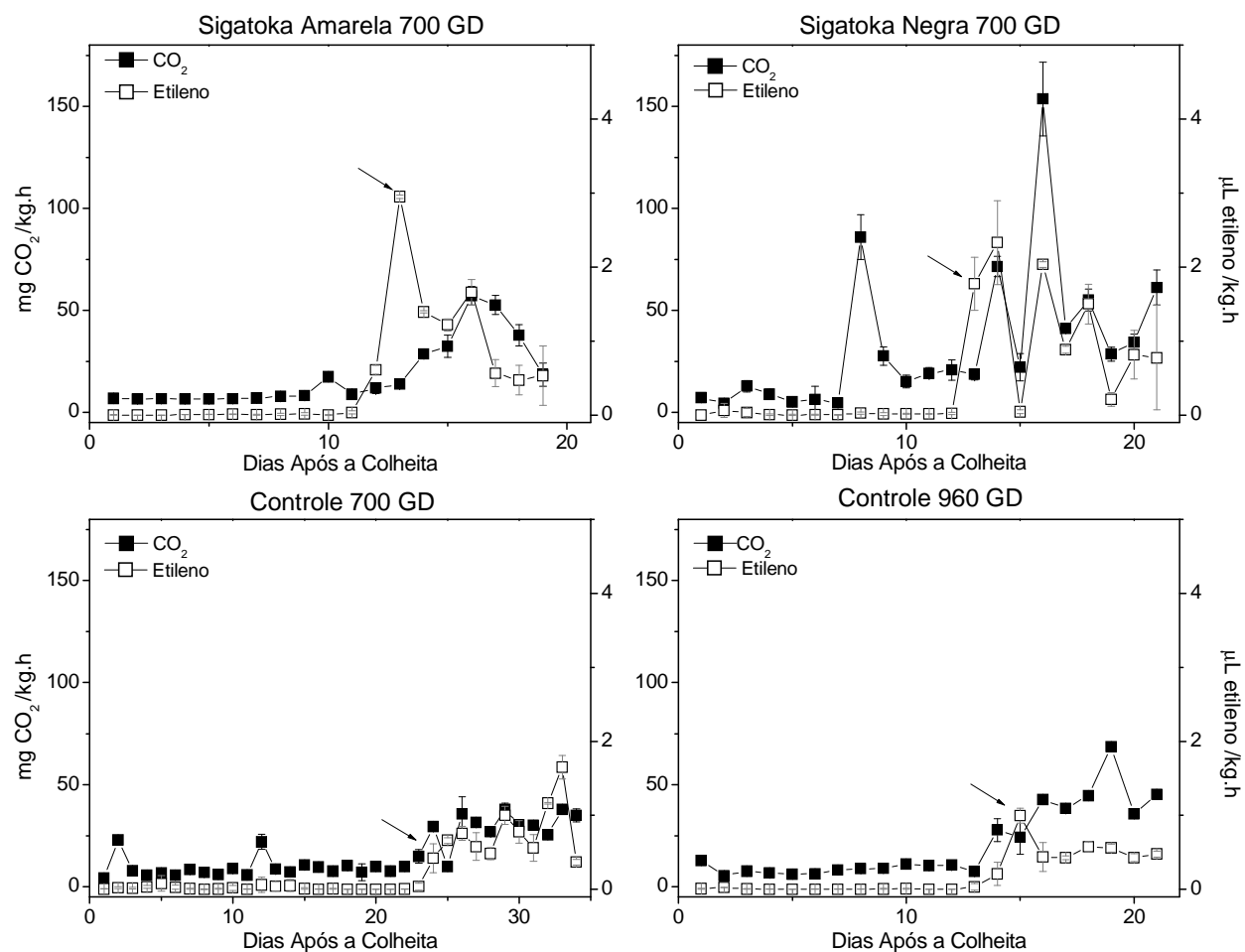
### **3.2.6. Análise estatística**

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa estatístico OriginPro 8. A comparação entre médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram submetidos a testes de normalidade que indicaram a não necessidade de transformação.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Respiração e produção de etileno.**

Com base no início do aumento na produção de etileno e gás carbônico (Figura 4), o amadurecimento dos frutos teve seu início adiantado nos frutos vindos das áreas infestadas por qualquer uma das doenças. Os frutos das plantas infestadas com S. Negra e S. Amarela, considerados, em teoria, mais jovens fisiologicamente (700 GD), apresentaram uma vida-verde semelhante aos frutos da Área Controle a 960 GD e menor do que os frutos desta mesma área com 700 GD. Foi considerada vida-verde o período entre a colheita e o dia em que as medidas de etileno passaram a aumentar. Também é nítido o desordenamento da produção de CO<sub>2</sub> e etileno dos frutos de plantas infestadas pela S. Negra (Figura 4), além de terem tido a produção de CO<sub>2</sub> mais alta (Figura 4 e Tabela 2). Os menores valores, para os picos de produção de CO<sub>2</sub>, foram os produzidos pelas frutas controle-700. Valores próximos, porém mais altos, ocorreram para os frutos da área da S. Amarela-700 e Controle-960, sendo estatisticamente iguais.



**Figura 4.** Perfis de respiração (CO<sub>2</sub>) e etileno para frutos provenientes das áreas com Sigatoka Amarela e com Sigatoka Negra, na idade de 700 Graus Dia (GD) e respiração e etileno para frutos da área controle nas idades de 700 e 960 GD, durante o amadurecimento. Os símbolos representam a média das análises diárias e as barras representam o desvio padrão (n=3). As setas indicam o fim da vida-verde, momento em que inicia o aumento da produção de etileno.



**Tabela 2.** Produções máximas de CO<sub>2</sub> (mg/Kg.h) e etileno (µl/Kg.h) para os quatro tratamentos. Cada valor representa a média de três análises ± desvio padrão. As letras **a**, **b** e **c** indicam as diferenças significativas (0,05) segundo o Teste de Tukey.

<i>TRATAMENTOS</i>	<i>Gás Carbônico</i>	<i>Etileno</i>
Sigatoka Amarela 700 GD	57,16 ± 4,51 <b>b</b>	2,95 ± 0,02 <b>a</b>
Sigatoka Negra 700 GD	153,58 ± 17,98 <b>a</b>	2,33 ± 0,57 <b>a</b>
Controle 700 GD	37,90 ± 2,94 <b>c</b>	1,00 ± 0,12 <b>b</b>
Controle 960 GD	61,71 ± 7,58 <b>b</b>	1,00 ± 0,10 <b>b</b>

Os valores máximos de produção de etileno foram semelhantes entre as amostras das frutas controle (700 e 960 GD) e semelhantes entre as amostras das frutas atacadas pelas Sigatokas, mas diferentes entre grupos (controle e Sigatokas) (Tabela 2). Estatisticamente, somente existiram diferenças entre os valores encontrados para os frutos de plantas com alta infestação por qualquer uma das doenças e os valores dos dois grupos Controle, sendo que os menores valores encontrados foram os das Amostras Controle.

A ação do etileno pode estar relacionada a diferentes processos do crescimento e desenvolvimento das plantas. Além de estar intimamente ligado ao amadurecimento de frutos, este hormônio também está relacionado com a resposta ao estresse. As causas do estresse podem ser fatores abióticos como calor ou danos mecânicos, bem como, fatores bióticos como ataque de insetos ou doenças (ABELES, MORGAN e SALTVEIT, 1992). Dessa forma, a produção

mais intensa de etileno nos frutos atacados pelas Sigatokas poderia ser atribuída ao estresse causado por essas doenças.

Os resultados obtidos de respiração e produção de etileno para as amostras da área controle com idade fisiológica de 960 GD foram próximos aos obtidos anteriormente em nosso laboratório. Os estudos conduzidos por Peroni (2007) para a cv. Nanicão mostraram uma respiração máxima próxima a 80 mgCO<sub>2</sub>/kg.h e uma produção máxima de etileno próxima a 1,0 µLC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/kg.h. Porém, Soares (2009) obteve resultados diferentes: a respiração máxima encontrada foi próxima a 183,5 mgCO<sub>2</sub>/kg.h e a máxima produção de etileno foi próxima a 4,0 µLC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/kg.h. Estes resultados produzem um questionamento sobre a possibilidade das amostras estudadas, no trabalho citado, também serem provenientes de uma área com alta infestação de Sigatoka Negra, já que os resultados obtidos no presente trabalho para amostra com esta infestação foram os mais próximos aos encontrados por Soares (2009). Nos dois casos a comparação não é fácil, pois não se sabe a idade fisiológica exata dos frutos nem o nível de infestação das plantas pelas duas doenças.

As medidas foram feitas desde a colheita até o início da senescência, momento em que os frutos se tornaram impróprios para o consumo. No caso dos frutos Controle, os picos nas produções dos dois gases não foram tão claros, pois houve um pequeno aumento na produção que depois seguiu sem grandes variações. Os picos de produção ocorridos nos últimos dias não foram considerados como picos climatéricos e sim o primeiro aumento nas taxas de

produção para esses gases, principalmente o etileno, que é um indicador do início do amadurecimento.

#### **4.2. Amido e Açúcares Solúveis**

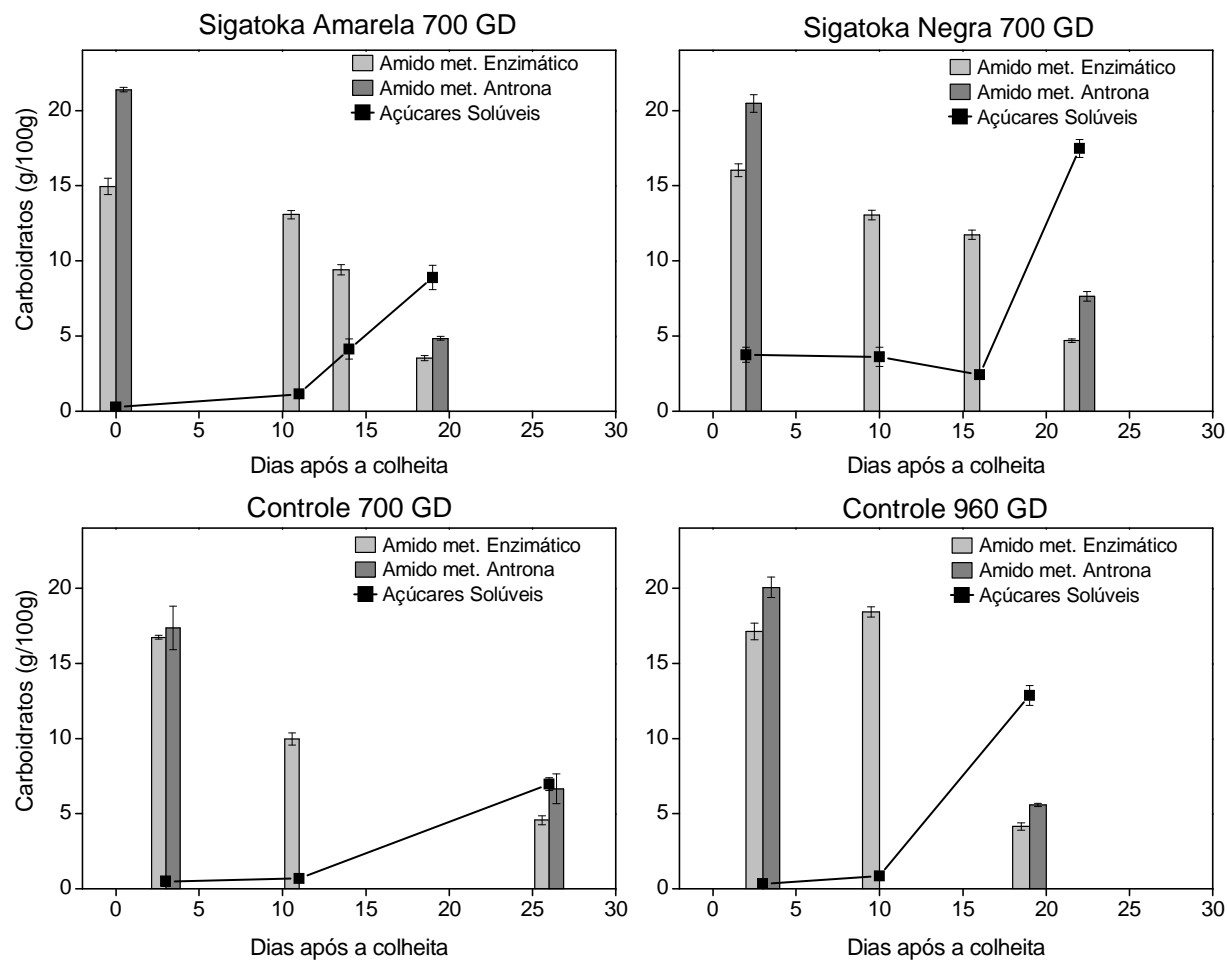
O teor de amido acumulado durante o crescimento da banana foi estatisticamente igual para três os tratamentos (~20%), apenas os frutos da amostra Controle-700 tiveram um nível menor de amido (~18%) (Figura 5). Embora esta diferença (~2%) possa ser creditada à variação natural de teor entre amostras e da própria metodologia de análise, pode também ser devido à precoce idade fisiológica das bananas da amostra controle-700. Pensando assim, estes frutos estariam ainda acumulando amido quando foram colhidas, o que explicaria o teor de amido mais baixo do que nas outras. Porém, as amostras infestadas, principalmente pela Sigatoka Negra, com 700 GD acumularam mais amido do que as amostras com a mesma idade do controle. A razão desta diferença não é clara. Um encurtamento do ciclo de formação do cacho e das bananas provocado pelas doenças poderia ser uma explicação, já que existem evidências de que as doenças podem resultar em frutos senescentes antes da colheita e em vida-verde menor que os frutos de plantas não atacadas pelas Sigatokas (MOREIRA, 1999, CHILLET et al., 2009).

A diferença entre os resultados de amido das análises feitas usando hidrólise enzimática e hidrólise química sugere que houve a formação de amidos mais resistentes a hidrólise enzimática em três dos quatro tratamentos: S.

Amarela 700 GD, S. Negra 700 GD e Controle 960 GD. Para os frutos das plantas infestadas, a diferença entre os valores médios da análise enzimática e da análise química do amido inicial foi de 6,4 e 4,4 g/100g respectivamente para S. Amarela e S. Negra. Para os frutos da área controle com idade fisiológica de 960 GD a diferença entre a média dos resultados das análises foi de 2,9 g/100g, menor do que a encontrada para as plantas atacadas. Nos frutos Controle 700 GD não houve a formação de amido resistente, como já era esperado. Porém, este fato também pode sugerir a precocidade dessas amostras (Figura 5).

Exceto pelas cultivares plantains Terra e Figo (SOARES, 2009), não é usual encontrar amido resistente nas condições da quantificação do amido. Assim, de alguma maneira, as plantas infestadas pelas Sigatocas parecem produzir amido com características que tornam os grânulos mais resistentes à degradação pelas enzimas usadas na quantificação.

O amido restante ao final do amadurecimento foi semelhante entre as amostras, com amplitude dos valores médios de apenas 2,8 g/100g, o que sugere que o aparato enzimático de degradação do amido foi eficiente mesmo nos frutos provenientes de plantas infestadas que apresentaram maior quantidade do amido resistente a hidrólise enzimática no início do amadurecimento.

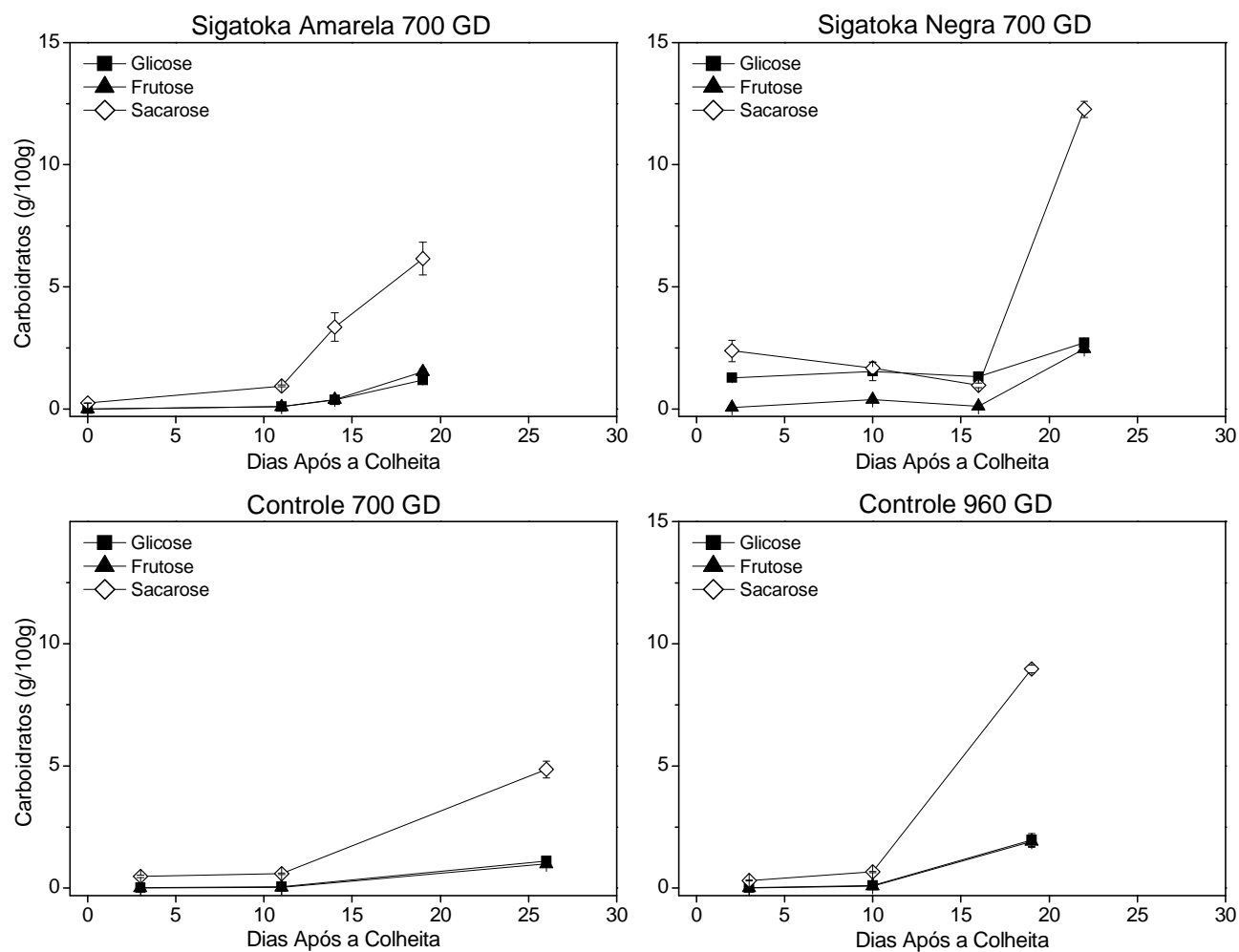


**Figura 5.** Perfis de degradação de amido e acúmulo de açúcares solúveis para os frutos de plantas infestadas com Sigatoka Amarela e com Sigatoka Negra na idade fisiológica de 700 GD e dos frutos do Controle a 700 e 960 GD durante o amadurecimento. Símbolos e colunas representam a média das determinações e as barras o desvio padrão (n=3). O amido foi quantificado pelo método enzimático e pelo método químico do reagente de Antrona.

Os teores de açúcares solúveis acumulados, como resultados da degradação do amido, foram diferentes entre as amostras. Os teores finais (Figura 5) foram muito semelhantes entre as amostras controle-700 e S. Amarela-700 (~7 a 8%), enquanto o teor das amostras controle-960 foi semelhante aos já verificados anteriormente (~12%) (NASCIMENTO et al., 2006), ressaltando que os resultados da S. Negra-700 foram muito altos (~17%). A sacarose foi o açúcar solúvel predominante em todas as amostras (Figura 6), como já visto antes por Arêas (1979); Cordenunsi e Lajolo (1995) e Soares (2009).

Os teores de glicose e frutose foram semelhantes entre si mantendo uma proporção próxima a 1:1 em três dos quatro tratamentos: S. Amarela-700, Controle-700 e Controle-960. Porém, nos frutos afetados pela S. Negra não existiu essa relação de igualdade nas quantidades de glicose e frutose, quando comparado com os outros tratamentos (figura 6). Nos frutos de plantas infestadas pela Sigatoka Negra com 700 GD a proporção glicose/frutose variou durante o amadurecimento, no entanto a proporção final foi de 1:1.

Estes resultados sugerem que um dos monossacarídeos está sendo utilizado em via metabólica que não é utilizada pelos frutos saudáveis, pelo menos não na intensidade que foi observada nos frutos de plantas atacadas pela Sigatoka Negra. Como a taxa respiratória destes frutos foi bem mais alta, é possível sugerir que os monossacarídeos estão sendo consumidos neste processo.



**Figura 6.** Teores de açúcares solúveis: glicose, frutose e sacarose; durante o amadurecimento dos frutos de plantas infestadas com Sigatoka Amarela e com Sigatoka Negra na idade fisiológica de 700 GD e frutos do Controle a 700 e 960 GD. Os símbolos representam a média das análises e as barras representam o desvio padrão (n=3).

**Tabela 2.** Teores de maltose e oligossacarídeos ao final do amadurecimento para os quatro tratamentos.

<i>TRATAMENTOS</i>	<i>Maltose</i>	<i>Oligossacarídeos</i>
Sigatoka Amarela 700 GD	1,63 ± 0,38	2,44 ± 0,40
Sigatoka Negra 700 GD	0,10 ± 0,03	0,22 ± 0,05
Controle 700 GD	0,08 ± 0,03	0,73 ± 0,10
Controle 960 GD	0,05 ± 0,03	0,14 ± 0,06

O amido inicial na polpa dos frutos é degradado para a síntese açúcares solúveis. Por isso, é esperado que o resultado da soma dos teores finais de amido e dos açúcares solúveis seja próximo ao teor inicial de amido. No entanto, a soma dos teores de glicose, frutose, sacarose e amido no final do amadurecimento foi menor que o teor de amido inicial no tratamento S. Amarela-700.

Esta diferença (~8%) poderia ser em virtude da existência de oligossacarídeos na polpa desses frutos no final do amadurecimento. A tabela 2 mostra, para o final do amadurecimento, os teores de oligossacarídeos e maltose separadamente. Os oligossacarídeos são: maltose, maltotriose, maltotetraose, maltopentose, maltohexose e maltoheptaose. Foi possível constatar que a amostra S. Amarela-700 realmente apresentou um teor de oligossacarídeos maior do que as outras amostras. Porém, o teor de oligossacarídeos no final do amadurecimento foi menor do que a diferença, entre os carboidratos, citada acima. Esta diferença restante pode ser fruto da



presença de fragmentos solúveis, porém compostos de cadeias maiores do que os oligossacarídeos identificados nas análises.

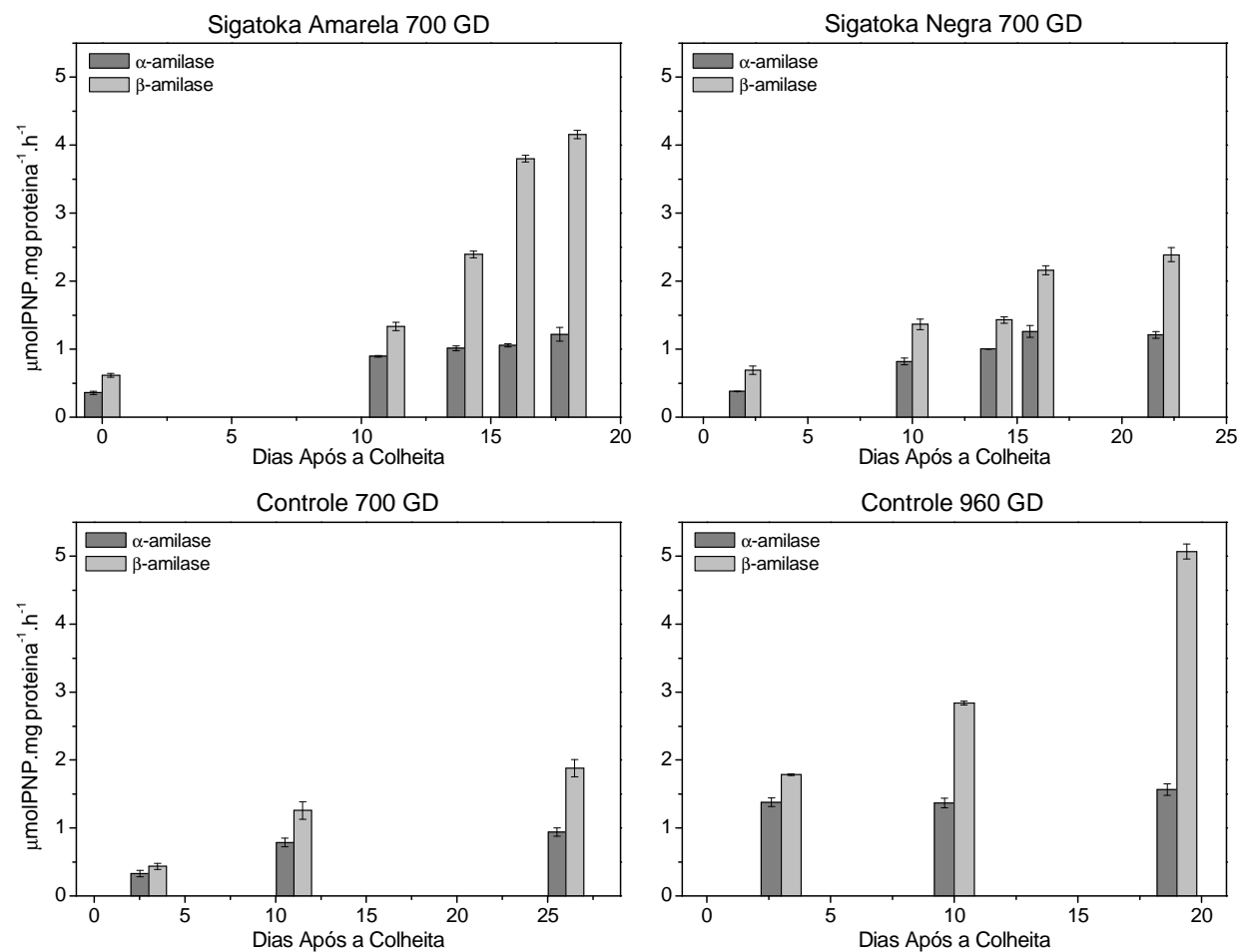
Os tratamentos apresentaram diferenças no conteúdo de carboidratos, para que essas diferenças pudessem ser entendidas melhor foram realizados ensaios para medir a atividade de algumas enzimas relacionadas ao metabolismo amido-açúcares.

#### **4.3. Atividade das $\alpha$ e $\beta$ amilases no extrato bruto**

A atividade da  $\alpha$ -amilase foi da ordem de 0,4 a 2  $\mu\text{molPNP/mg proteína.h}$ , durante o amadurecimento, em todas as amostras (Figura 7). Embora, pelos baixos valores pareça sem variação, em alguns casos dobrou de atividade (exemplo, controle-700 e S. Negra-700) durante este período. Nos frutos controle-960 a atividade praticamente não variou (de 1,37 para 1,56  $\mu\text{molPNP/mg proteína.h}$ ). Com a exceção do controle-960, nas amostras dos outros três tratamentos, a atividade da  $\alpha$ -amilase teve um aumento nítido da amostra recém colhida para as amostras maduras (de 0,3 para 1,4 - 4,6 x maior). O tratamento que teve a menor atividade de  $\alpha$ -amilase foi o controle-700.

Apesar de ser conhecida por ser a única enzima capaz de iniciar a degradação do grânulo de amido intacto, é difícil determinar a importância da  $\alpha$ -amilase no amadurecimento da banana, justamente por não produzir somente um produto de degradação e por ter seus produtos de degradação como substrato para as outras enzimas do aparato de degradação do amido. Para que se possa afirmar que esta enzima é importante em todo o processo de

degradação do amido seria preciso observar um aumento na atividade da enzima ao mesmo tempo em que há uma redução na quantidade de amido. Isto não acontece: o maior aumento na atividade da enzima é nos primeiros dias, já a maior redução na quantidade de amido é nos últimos dias (Figuras 5 e 7). Porém, a atividade da  $\alpha$ -amilase tende a ser constante, o que evidencia a importância dela em todo o período. Portanto, é possível que enquanto há amido é preciso que haja atividade da  $\alpha$ -amilase para iniciar a degradação, e que essa atividade irregular também é suficiente para gerar substrato para as outras enzimas continuarem a degradação do amido.



**Figura 7.** Atividade das  $\alpha$ -amilases e  $\beta$ -amilases em extrato bruto da polpa dos frutos de plantas infestadas com Sigatoka Amarela e com Sigatoka Negra na idade fisiológica de 700 GD e dos frutos do Controle com 700 e 960 GD durante o amadurecimento.

A atividade da  $\beta$ -amilase apresentou grande variação durante o amadurecimento em todos os tratamentos. O tratamento que teve a maior atividade de  $\beta$ -amilase foi o controle-960. Nesse tratamento a atividade da enzima foi alta no estágio verde, com valor médio de 1,8  $\mu\text{molPNP}/\text{mg}$  proteína.h., e terminou o amadurecimento com atividade em 5,0  $\mu\text{molPNP}/\text{mg}$  proteína.h (aumento de cerca de 3x), o maior valor entre tratamentos. Os valores mais baixos foram encontrados nas amostras controle-700. A atividade da  $\beta$ -amilase era de 0,3  $\mu\text{molPNP}/\text{mg}$  proteína.h na banana recém colhida e aumentou até 1,9 (aumento de 6x). As amostras de plantas infestadas pelas duas doenças tiveram perfis de atividade hidrolítica diferentes entre si no caso da  $\beta$ -amilase: os valores iniciais foram 0,6 e 0,7  $\mu\text{molPNP}/\text{mg}$  proteína.h para as Sigatokas Amarela e Negra respectivamente; nos dias 10 e 11, das amostras de S. Amarela e S. Negra respectivamente, os valores ainda eram próximos: 1,3 e 1,4  $\mu\text{molPNP}/\text{mg}$  proteína.h. Porém, no final do amadurecimento os valores tiveram grande diferença: 4,2  $\mu\text{molPNP}/\text{mg}$  proteína.h para S. Amarela e 2,4  $\mu\text{molPNP}/\text{mg}$  proteína.h para S. Negra.

A  $\beta$ -amilase está presente no amadurecimento da banana e sua importância já foi evidenciada (PURGATTO et al., 2001), porém, também já foi estudada a participação de outras enzimas quando a  $\beta$ -amilase tem sua atividade inibida (NASCIMENTO et al., 2006). O que se concluiu é que apesar da atividade da  $\beta$ -amilase aumentar conforme o amido é degradado, quando essa atividade é baixa e constante, a degradação do amido também ocorre.

Prova disto são os resultados encontrados neste trabalho: as amostras têm atividades hidrolíticas diferentes, porém o teor de amido restante foi semelhante em todas elas (Figura 5). E também, apesar de a amostra Controle-960 ter a maior atividade de  $\beta$ -amilase o conteúdo final de açúcares solúveis nestas amostras não é o maior (Figura 6). A amostra S. Negra-700 acumulou a maior quantidade de açúcares solúveis, mesmo apresentando metade da atividade da  $\beta$ -amilase em relação ao Controle-960. Podem haver hormônios influenciando este comportamento.

O perfil de produção de etileno e de atividade da  $\beta$ -amilase das amostras S. Amarela-700 e Controle-960 são parecidos e, apesar dos valores serem diferentes, existe a semelhança no formato dos perfis: nos dois perfis de produção de etileno é possível diferenciar claramente um pico de produção do gás. Isto não ocorre com os outros dois tratamentos (S. Negra-700 e Controle-700) que tiveram os perfis de etileno com vários picos e uma desorganização clara. As atividades da  $\beta$ -amilase nas amostras S. Amarela-700 e Controle-960 também são semelhantes já que ambas apresentam valores mais altos do que os valores encontrados nos outros dois tratamentos.

Portanto, outras vias enzimáticas devem ter sido utilizadas na degradação do amido das amostras Controle-700, para que estas chegassem a um teor final de açúcares próximo ao das amostras S. Amarela-700. Da mesma forma, nos frutos do tratamento S. Negra-700, nos quais o teor final de açúcares foi o mais alto entre as amostras, a via predominante de degradação do amido também deve ter sido diferente. Finalmente, a comparação entre os frutos utilizados

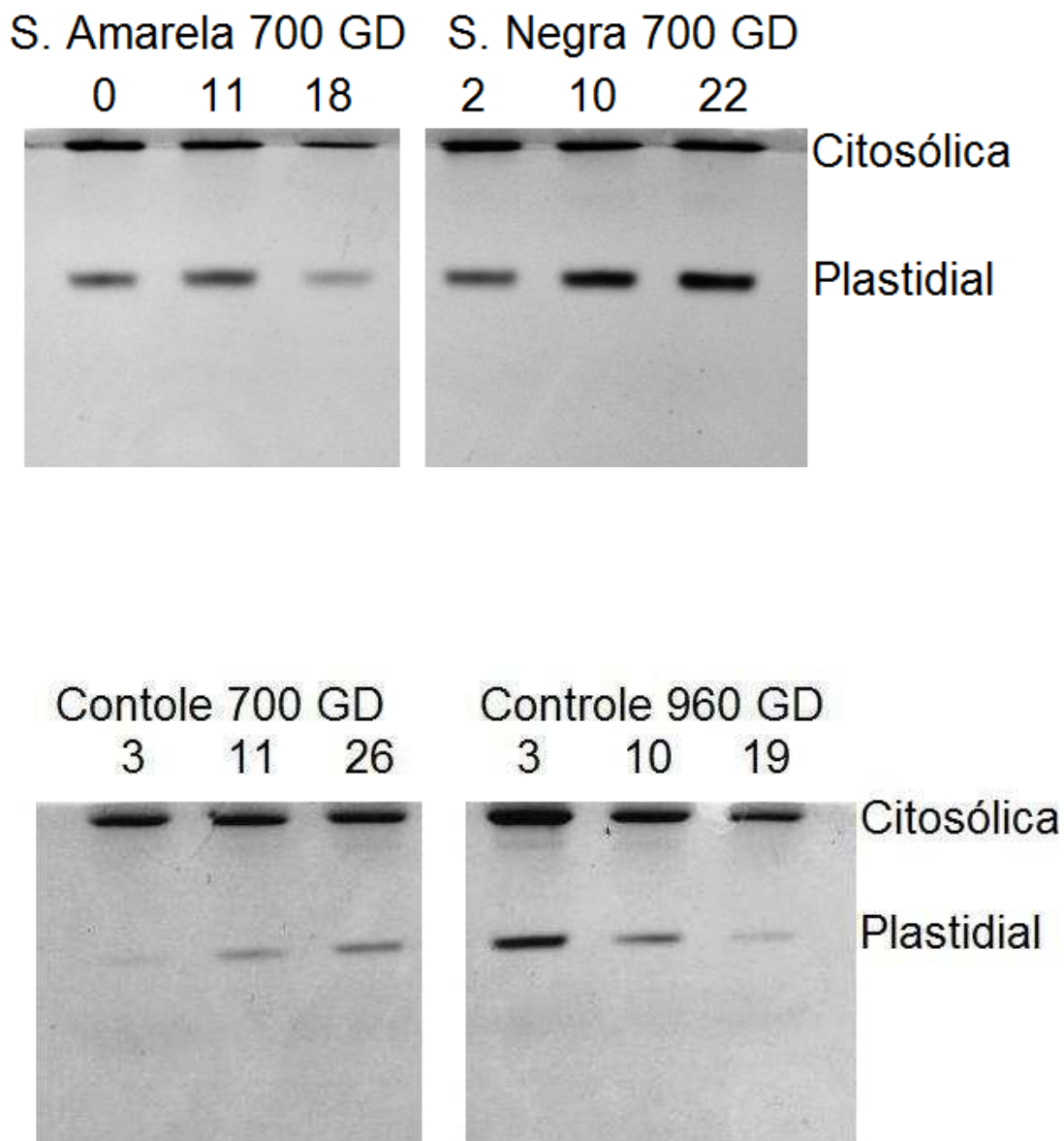
nesse trabalho confirma que a  $\beta$ -amilase pode ser a principal via de degradação do amido em alguns casos, porém, não em todos.

#### **4.4. Atividade das amido-fosforilases no sentido de síntese de amido**

A atividade das amido-fosforilases foi determinada em gel de poliacrilamida contendo glicogênio como substrato (Figura 8). Esta metodologia permite a visualização de duas isoformas dessa enzima: a PHO1 que é a forma plastidial e a PHO2 que é a forma citosólica. A atividade foi determinada em três momentos diferentes para cada tratamento.

A análise densitométrica dos géis não permitiu identificar variação na atividade da isoforma citosólica. Isto deve ter acontecido porque esta enzima tem muito afinidade pelo substrato imobilizado no gel e se localiza em região muito próxima a divisa entre o gel de empilhamento e o gel de corrida. Foi possível notar, que a atividade desta isoforma é maior e mais constante do que a atividade da forma plastidial.

Na isoforma plastidial foi possível identificar a variação da atividade e também diferentes comportamentos entre os tratamentos. Os tratamentos S. Negra-700 e Controle-700 apresentaram aumento ao longo do amadurecimento na atividade da isoforma plastidial, evidenciando que esta isoforma deve ser importante no processo de degradação do amido nestes tratamentos. Já os tratamentos S. Amarela-700 e Controle-960 apresentaram queda na atividade ao longo do amadurecimento.



**Figura 8.** Atividade das amido-fosforilases em gel de poliacrilamida (6%) contendo glicogênio (0,4%). Os números são os dias após a colheita de cada amostra. As amostras utilizadas foram: Sigatoka Amarela com 700 Graus Dia (GD), Sigatoka Negra 700 GD, Controle 700 GD e Controle 960 GD.

Foi observado por Soares (2009) e por Mainardi (2007) que a atividade da isoforma plastidial da amido-fosforilase aumenta levemente durante o amadurecimento da banana, mas isso é mais evidente em amostras submetidas a tratamento com 1-MCP, onde a síntese do etileno foi inibida, não sendo o caso das amostras-controle.

Mainardi (2007) também observou que a atividade das amido-fosforilases parece estar relacionada com a atividade da  $\beta$ -amilase: quando a atividade da  $\beta$ -amilase é reduzida por algum motivo a atividade das amido-fosforilases aumenta, servindo como um mecanismo compensatório para a falta da outra enzima. Nas amostras nas quais a atividade da  $\beta$ -amilase foi mais baixa (S. Amarela-700 e Controle-700), a atividade da isoforma plastidial aumentou ao longo do amadurecimento. Esta isoforma está mais relacionada à degradação do amido. O comportamento oposto foi verificado nas amostras nas quais a atividade da  $\beta$ -amilase foi mais alta (S. Negra-700 e Controle 960). Nestas amostras, a atividade da isoforma plastidial diminuiu ao longo do amadurecimento.



## 5. CONCLUSÕES

As Sigatokas causaram desordens fisiológicas diferentes na pós-colheita da banana, mas ambas as doenças causaram mudanças nos padrões de respiração e produção de etileno, vida-verde, e no acúmulo e degradação do amido. Exceto pela vida-verde, que foi igualmente afetada por ambas as doenças, os outros fatores foram mais severamente afetados pela Sigatoka Negra, enquanto os frutos oriundos de plantas infectadas pela Sigatoka Amarela foram muito semelhantes aos frutos-controle.

Tanto o acúmulo quanto a degradação do amido e enzimas, principalmente a  $\beta$ -amilase e a isoforma plastidial das amido-fosforilases, envolvidas no processo de degradação foram afetados pela Sigatoka Negra.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

ABELES, F. B.; MORGAN, P. W.; SALTVEIT, M.E. Ethylene in plant biology. London: Academic Press, 2<sup>a</sup> ed., 414p., 1992.

ALBRECHT T.; KOCH, A.; LODE, A.; GREVE, B.; SCHNEIDER-MERGENER, J.; STEUP, M. Plastidic (Pho1-type) phosphorylase isoforms in potato (*Solanum tuberosum* L.) plants: expression analyses and immunochemical characterization. *Planta*. v. 213, p. 602-13, 2001.

ARÊAS, J.A.G. Transformação do amido na Banana Nanica (*Musa acuminata*): estudo sobre a fosforilase e a fosfatase. Dissertação de Mestrado (FCF/USP), 1979.

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

BASSINELLO, P.Z.; CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M. Amylolytic activity in fruits: comparison of different substrates and methods using banana as model. *J. Agric. Food Chem.* v.9, n.50, p.5781-6, 2002.

BASSINELLO, P. Z.; FIORAVANTE, J. R. O.; NASCIMENTO, J. R. O. do; CORDENUNSI, B. R. Distribuição da sacarose-fosfato sintase e sacarose sintase em bananas durante o amadurecimento. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 19, n. 1, p. 102-106, 1999.

BECK, E.; ZIEGLER, P. Biosynthesis and degradations of starch in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* v.40, p.95-117, 1989.

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

BLAKE, J.R.; PEACOCK, B.C. Effect of temperature on the preclimacteric life of bananas. *Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences*, v. 28, p. 243–248, 1971.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* v.72, p.248-254, 1976.

BURG, S.P.; BURG, E.A. Relationship Between Ethylene Production and Ripening in Bananas. *Bot. Gaz.* v.126, n.3, p.200-204, 1965.

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

CHILLET, M.; HUBERT, O.; RIVES, M. J.; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, L. Effects of the Physiological Age of Bananas on Their Susceptibility to Wound Anthracnose Due to *Colletotrichum musae*. *Fruits*, v. 90, n. 9, p. 1181-1185, 2006.

CORDENUNSI, B. R. Aspectos químicos, bioquímicos e ultraestruturais do grânulo de amido durante o amadurecimento da banana. Tese de Livre-Docência, FCF/USP, São Paulo, 2004.

CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M. Starch breakdown during banana ripening – Sucrose synthase and sucrose-phosphate synthase. *J. Agr. Food Chem.*, Washington, v. 43, n. 2, p. 347-351, 1995.

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

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

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

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

HAMES, B.D.; RICKWOOD, D. Gel electrophoresis of proteins: a practical approach / edited by. Oxford; New York: IRL Press at Oxford University Press, 1990.

JOHN, P.; MARCHAL, J. Ripening and biochemistry of the fruit, in *Bananas and plantains*, ed by Gowen S, Chapman & Hall, London, p. 434–467, 1995.

JONES D.R. Diseases of banana, abaca and enset. *CAB International*, Wallingford, UK, 544p., 2000.

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

MAINARDI, J.A.; PURGATTO E.; VIEIRA-JUNIOR, A.; BASTOS, W. A.;  
CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O. DO; LAJOLO, F. M. Effects of  
Ethylene and 1-Methylcyclopropene (1-MCP) on Gene Expression and Activity  
Profile of  $\alpha$ -1,4-Glucan-phosphorylase during Banana Ripening. *J. Agric. Food  
Chem.* v. 54, p. 7294-7299, 2006.

MAINARDI, J. A. O efeito do 1-metilciclopropeno sobre o metabolismo de  
carboidratos de bananas (*Musa acuminata* AAA cv. Nanicão). Tese de Doutorado  
(FCF/USP), 2007.

McCLEARY, B. V.; CODD R. Measurement of  $\beta$ -Amylase in Cereal Flours and  
Commercial Enzyme Preparations. *Journal of Cereal Science.* v. 9, p. 17-33,  
1989.

McCLEARY., B. V.; SHEEHAN., H. Measurement of cereal  $\alpha$ -amilase: a new  
assay procedure. *Journal of Cereal Science*, v.6, p.237-251, 1987.

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

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

MOTA, R.V.; CORDENUNSI, B.R.; NASCIMENTO, J.R.O.; PURGATTO, E.; ROSSETO, M.R.M.; LAJOLO, F.M. Activity and expression of banana starch phosphorylases during fruit development and ripening. *Planta*, v.216, n.2, p.325-333, 2002.

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

NASCIMENTO, J. R. O.; CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M.; ALCOCER, M. J. C. Banana sucrose-phosphate synthase gene expression during fruit ripening. *Planta*, v. 203, p. 283–288, 1997.

NASCIMENTO, J. R. O.; CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M. Sucrose synthase activity and expression during development and ripening in bananas. v.156, p. 605-611, 2000.

NASCIMENTO, J.R.O.; VIEIRA-JUNIOR, A.; BASSINELLO, P.Z.;  
CORDENUNSI, B.R.; MAINARDI, J.A.; PURGATTO, E.; LAJOLO, F.M. Beta-  
amylase expression and starch degradation during banana ripening. *Postharvest  
Biol. Technol.* v.40, p. 41-47, 2006.

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

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

PERONI, F.H.G., Estrutura do grânulo de amido de banana e sua relação com  
as enzimas que atuam no metabolismo amido-sacarose. Tese de Doutorado  
(FCF/USP), 2007.

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

PURGATTO, E.; LAJOLO, F.M.; NASCIMENTO, J.R.O.; CORDENUNSI, B. R.  
The onset of starch degradation during banana ripening is concomitant to



changes in the content of free and conjugated forms of indole-3-acetic acid.

*Journal of Plant Physiology*, v. 159, n. 10, p. 1105-1111, 2002.

RAM, H.Y.M.; RAM, M.; STEWARD, F.C. Growth and development of the banana plant. 3A. The origin of the inflorescence and the development of the flowers. B. The structure and development of the fruit. *Annals of Botany*, London, v.26, n.104, p.657-673, 1962.

RAMSEY, M.D.; DANIELLS, J.W.; ANDERSON, V. J. Effects of sigatoka leaf spot (*Mycosphaerella musicola* Leach) on fruit yield, field ripening and greenlife of bananas in North Queensland. *Scientia Horticulturae*, v. 41, p. 305–313, 1990.

ROSSETTO, M.R.M.; PURGATTO, E.; NASCIMENTO, J.R.O.; LAJOLO, F.M.; CORDENUNSI, B.R. Effects of gibberellic acid on sucrose accumulation and sucrose biosynthesizing enzymes activity during banana ripening. *Plant Growth Regul.* v.41, n.3, p.207-214, 2003.

SCHUPP, N.; ZIEGLER, P., The relation of starch phosphorylases to starch metabolism in wheat, *Plant and Cell Physiology*, v. 45(10), p. 1471-1484, 2004.

SEYMOUR, G.; TAYLOR, J.; TUCKER, G. *Biochemistry of Fruit Ripening*. London: Chapman & Hall, 454p., 1993.

SOARES, C. A., Avaliação comparativa de características estruturais do amido e enzimas relacionadas a sua degradação em cultivares de banana com padrão distinto do modelo representado pela cultivar nanicão. Tese de Doutorado (FCF/USP), 2009.

TREVELYAN, W. E.; HARRISON, J. S. Fractionation and microdetermination of cell carbohydrates. *Biochemical Journal*, v. 50, p. 298-302, 1952.

VIEIRA JUNIOR, A., Alfa e beta-amilase no metabolismo do amido durante o amadurecimento da banana: clonagem, expressão e caracterização molecular. Tese de Doutorado (FCF/USP), 2006.

VIEIRA JUNIOR, A.; NASCIMENTO, J.R.O.; LAJOLO, B. R. Molecular Cloning and Characterization of an  $\alpha$ -Amylase Occuring in the Pulp of Ripening Bananas and Its Expression in *Pichia pastoris*. *J. Agric. Food Chem*, v. 54, n. 21, p. 8222–8228, 2006.

WILLS, R. B. H., WARTON, M. A., MUSSA, D. M. D. N., CHEW, L. P. Ripening of climacteric fruits initiated at low ethylene levels. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v. 41, n.1, p. 89 – 92, 2001

Site oficial da FAO (*Food and Agriculture Organization of United Nations*): [www.fao.org.br](http://www.fao.org.br)

Site oficial do Instituto de Economia Agrícola: [www.iea.sp.gov.br](http://www.iea.sp.gov.br)

SARAIVA, L. A. **Influência da infestação da bananeira pelas Sigatokas Negra e Amarela na qualidade das bananas: amido e açúcares.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 53p. 2010.

A banana é um fruto consumido no mundo todo, sendo que o Brasil é o quarto maior produtor. A degradação do amido e a síntese de sacarose são responsáveis pelo adoçamento do fruto e, portanto, pela qualidade do mesmo. Os produtores de banana do Vale do Ribeira enfrentam dificuldade de produzir frutos de qualidade, principalmente devido a Sigatoka Negra e a Sigatoka Amarela que são as duas principais doenças da cultura bananeira. Estas duas doenças causam necroses nas folhas diminuindo a área fotossinteticamente ativa da planta podendo diminuir o peso dos cachos, das pencas e até dos frutos. Além disso, as Sigatokas também causam alterações no metabolismo pós-colheita do fruto acelerando seu amadurecimento. No intuito de aprofundar os conhecimentos sobre as alterações causadas pelas Sigatokas nos frutos, estudos foram realizados visando o metabolismo amido-açúcares por se tratar de um processo metabólico importante para a qualidade dos frutos. Para isso, foi conduzido, em 2008, um experimento no Vale do Ribeira aonde três áreas foram marcadas: uma com a presença exclusiva da S. Amarela, outra com predominância da S. Negra e outra área com controle eficiente das doenças. Nestas áreas foi acompanhado o nível de infestação das plantas através do índice de severidade que é uma estimativa visual da doença. Também foram marcadas plantas no momento da antese para que sua idade fisiológica pudesse ser estimada. Pencas foram colhidas em duas idades fisiológicas diferentes: 700 Graus Dia (GD) e 960 GD. Os frutos dessas pencas tiveram suas respiração e produção de etileno medidas diariamente até a senescência. Também foram congeladas amostras ao longo do amadurecimento que, posteriormente foram analisadas quanto aos teores de amido, açúcares solúveis, oligossacarídeos e atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -amilase utilizando os reagentes Ceralpha e Betamyl (Megazyme) e amido-fosforilases visualizadas em P.A.G.E-nativo. As Sigatokas causaram desordens fisiológicas diferentes na pós-colheita da banana, mas ambas as doenças causaram mudanças nos padrões de

respiração e produção de etileno, vida-verde, e no acúmulo e degradação do amido. Exceto pela vida-verde, que foi igualmente afetada por ambas as doenças, os outros fatores foram mais severamente afetados pela Sigatoka Negra, enquanto os frutos oriundos de plantas infectadas pela Sigatoka Amarela foram muito semelhantes aos frutos-controle. Tanto o acúmulo quanto a degradação do amido e enzimas, principalmente a  $\beta$ -amilase e a isoforma plastidial das amido-fosforilases, envolvidas no processo de degradação foram afetados pela Sigatoka Negra.

Palavras-chave: Sigatoka Negra. Sigatoka Amarela. Metabolismo pós-colheita.

## ABSTRACT

Banana is one of the most consumed fruits in the world and Brazil is the fourth largest producer of bananas in the world. The degradation of starch and sucrose synthesis are responsible for the sweetening and the quality of fruits. Banana producers in the Vale do Ribeira, southeastern state of Sao Paulo, have difficulty to achieve fruits with high quality, mainly due to Black Leaf Streak Disease and Sigatoka Disease, which are the two main disease problems of banana production. These two diseases cause necrosis in the leaves, reducing the photosynthetic active area of the plant and can also decrease the weight of bunches and fruits. Moreover, both diseases also cause alterations in post-harvest ripening of fruits. In order to better understand the changes caused by these diseases in the fruit ripening, studies were conducted on the starch-to-sugar metabolism, because of its importance for fruit quality. The experiment was conducted in 2008, in the Vale do Ribeira, where we selected three plots: one with the exclusive presence of S. Disease, another one with predominance of Black Leaf Streak disease and another area with an effective disease control. Disease infestation rate were determined by monitoring Severity Index, which is a visual estimate of the disease. To determine the physiological age of fruit, banana plants were marked at the flowering time and the mean temperature were measured daily. The fruits were harvested in two different physiological ages: 700 degree-days (GD) and 960 GD. The samples were also frozen during ripening. In these samples were analyzed the contents of starch, soluble sugars and oligosaccharides; and measured the activities of  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase and starch-phosphorylases. Leaf spot diseases caused different physiological disorders in post-harvest banana, but both diseases caused changes in patterns of respiration, ethylene production, green-life, accumulation and degradation of starch. Except for the green-life, which was similarly affected by both diseases, other factors were more severely affected by the Black Leaf Streak disease while the fruits of plants infected by the Sigatoka disease were very similar to control fruit. Both the accumulation and degradation of starch and enzymes, particularly of isoform  $\beta$ -amylase and the plastidial starch phosphorylase, involved in the

degradation process were affected by Black Leaf Streak disease.

**Keywords:** Sigatoka disease. Post-harvest Metabolism

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)