



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

GABRIELLE GLAYSSA LOPES DE OLIVEIRA HOLANDA

AVALIAÇÃO DO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DURANTE A
MATURAÇÃO DE FRUTOS DO MELOEIRO DE VARIEDADES
CLIMATÉRICAS E NÃO-CLIMATÉRICAS

FORTALEZA

2023

GABRIELLE GLAYSSA LOPES DE OLIVEIRA HOLANDA

AVALIAÇÃO DO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DURANTE A
MATURAÇÃO DE FRUTOS DO MELOEIRO DE VARIEDADES CLIMATÉRICAS
E NÃO-CLIMATÉRICAS

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação de Bioquímica do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Bioquímica. Área de concentração: Fisiologia vegetal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Raquel Alcântara Miranda

FORTALEZA

2023

GABRIELLE GLAYSSA LOPES DE OLIVEIRA HOLANDA

AVALIAÇÃO DO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DURANTE A MATURAÇÃO
DE FRUTOS DO MELOEIRO DE VARIEDADES CLIMATÉRICAS E NÃO-
CLIMATÉRICAS

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação de Bioquímica do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Bioquímica. Área de concentração: Fisiologia vegetal.

Aprovada em: 20/12/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Raquel Alcântara de Miranda (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Prof. Dr. Ricardo Antonio Ayub
Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

A Deus.

Aos meus pais, com todo meu amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela Sua infinita misericórdia e amor por mim, que me fez forte para finalizar este trabalho mesmo em meio a tantas tribulações. À Nossa Senhora das Graças, pela sua santa e incansável intercessão.

Aos meus pais, Heliomar Alves de Oliveira Junior e Francisca Erivania Lopes de Oliveira, expresso minha profunda gratidão pela dedicação incansável em proporcionar-me a melhor educação. Agradeço pelo amor, zelo, confiança e apoio que sempre demonstraram em todas as minhas decisões. Suas batalhas e sacrifícios não passam despercebidos, e sou grata por ter pais tão dedicados em minha vida.

Ao meu esposo, Iago Holanda Passos, deixo minha gratidão por seu amor constante, cuidado dedicado e apoio inabalável. Agradeço por compreender os momentos de ausência, por confiar em mim e por compartilhar com entusiasmo cada conquista. Sua presença e apoio fazem toda a diferença na minha jornada, e sou grata por ter você ao meu lado.

À minha madrinha, Maria Erineide Lopes de Sousa, por seu incentivo e por demonstrar tanto amor e orgulho por mim.

À minha irmã Giovanna Maria Lopes de Oliveira, por sempre estar disposta a me ajudar quando fosse necessário.

À Universidade Federal do Ceará – UFC, em particular, ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade concedida para a realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de pesquisa durante a período do curso.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa, pela concessão dos frutos para a realização da pesquisa.

À Professora Maria Raquel Alcântara de Miranda, por sua orientação e dedicação, por me ensinar e sempre buscar colaborar para o meu crescimento acadêmico e profissional ao longo deste desafio.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Bioquímica, pelos ensinamentos e auxílios quando necessário.

À Pesquisadora Márcia Régia Souza da Silveira, pela ajuda técnica e pela gentileza em me ensinar.

Ao Professor Humberto Henrique de Carvalho, pelo acesso ao laboratório de Fisiologia Vegetal para a realização de algumas análises.

Ao Professor Eliseu Marlônio Pereira de Lucena, pela amizade, apoio e por sempre estar disposto a me ajudar e a ensinar.

Às minhas queridas amigas e companheiras de laboratório Camila Tomé da Cunha e Luana Lima Guimarães Alencar, minha profunda gratidão por todo apoio, dedicação, pelas risadas compartilhadas nos momentos difíceis e pela amizade construída dentro e fora do laboratório. Vocês são parte essencial deste trabalho e do meu crescimento como pesquisadora. Obrigada de coração por compartilharem essa experiência comigo. Sem vocês, não teria conseguido.

Aos meus amigos de turma Marla Jayssa Côrrea da Silva e Sávio Justino da Silva, pela amizade construída, por tornarem o ambiente mais leve com as conversas de apoio, pela dedicação e preocupação em todos os momentos desta jornada. Foi um prazer imenso dividir esta caminhada com vocês!

À Karolayne Silva de Paula, minha querida aluna de iniciação científica, sem sua ajuda e dedicação não teria conseguido finalizar este trabalho. Obrigada por sempre estar disposta a ajudar!

À Izabella Maria Costa Oliveira, pela prontidão em ajudar e pelos ensinamentos durante a realização da estatística.

Aos meus amigos Grazielle Maciel, Jaírla Bianca, Marina Fontenele, Neyla Laide, Paulo Maia, e Victor Arthur pelas palavras de apoio, por sempre torcerem e por vibrarem cada conquista minha como se lhes fosse suas.

A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho!

*“Cuida das coisas de Deus que Ele
cuidará das suas.”* (Santa Catarina de
Sena).

RESUMO

A espécie *Cucumis melo* L., conhecida popularmente como meloeiro pertence à família Cucurbitaceae e é uma das culturas mais importantes, sendo uma das maiores produções e exportações do Brasil. Essa espécie apresenta genótipos e fenótipos variáveis, com uma ampla diversidade de cultivares. No território brasileiro, as variedades A5 *inodorus* e C1 *cantalupensis* destacam-se como as de maior interesse econômico, apresentando diferenças notáveis, especialmente como no processo do amadurecimento de seus frutos. O objetivo deste estudo foi avaliar o metabolismo de carboidratos durante o processo de amadurecimento de melões climatéricos e não-climatéricos das variedades botânicas *inodorus* e *cantalupensis*. Foram colhidos seis frutos em diferentes estádios de sua maturação, levando em consideração os dias após a polinização (DAP). Os melões A5 *inodorus* foram colhidos aos 24, 26, 28, 30, 32 e 34 DAP, enquanto os melões C1 *cantalupensis* foram colhidos aos 18, 20, 22, 24, 26 e 28 DAP. Os frutos foram submetidos à análise de enzimas do metabolismo de carboidratos, o perfil de açúcares por HPLC, o potencial osmótico e extravasamento de eletrólitos dos tecidos. Os resultados indicam que, nos frutos não-climatéricos da variedade A5 *inodorus*, o acúmulo máximo de sacarose ocorreu aos 34 DAP. As análises de turgidez e integridade celular indicam o comprometimento da parede celular nos estádios finais de maturação, confirmados pela atividade da β -GAL, que revelou alterações na parede celular. A SPS desempenhou papel central no acúmulo de sacarose nesta variedade, o que foi corroborado pela atividade das enzimas SUS, IVN e IVA. Por outro lado, não houve acúmulo de sacarose nos frutos climatéricos da variedade C1 *cantalupensis*, mas foi observada a presença de glicose e frutose. Quanto à turgidez e integridade celular, o comportamento foi comum a frutos climatéricos. A SPS e a SUS aumentaram durante a maturação, sugerindo papel na produção de glicose e frutose. As invertases contribuíram para a perda pós-colheita da sacarose, e a β -GAL evidenciou modificações na parede celular. Em ambas as variedades, as enzimas do metabolismo de carboidratos exerceram influência direta no amadurecimento dos frutos.

Palavras-chave: *Cucumis melo* L; metabolismo de carboidratos; amadurecimento.

ABSTRACT

Cucumis melo L. popularly known as melon tree, belongs to the Cucurbitaceae family and is one of the most important crops, being one of the largest productions and exports in Brazil. This species has variable genotypes and phenotypes, with a wide diversity of cultivars. In Brazilian territory, the A5 Inodorus and C1 Cantalupensis varieties stand out as being of greatest economic interest, presenting notable differences, especially in the ripening process of their fruits. The objective of this study was to evaluate carbohydrate metabolism during the ripening process of climacteric and non-climacteric melons of the A5 Inodorus and C1 Cantalupensis varieties. Six fruits were collected at different stages of their maturation, taking into account the days after pollination (DAP). A5 Inodorus melons were harvested at 24, 26, 28, 30, 32 and 34 DAP, while C1 Cantalupensis melons were harvested at 18, 20, 22, 24, 26 and 28 DAP. The fruits were subjected to analysis of carbohydrate metabolism enzymes, sugar profile by HPLC, osmotic potential and electrolyte leakage from tissues. The results indicated that in non-climacteric fruits of the A5 Inodorus variety, the maximum accumulation of sucrose occurred at 34 DAP. Analyzes related to cell turgidity and integrity indicated the impairment of the cell wall in the final stages of maturation, confirmed by the activity of β -GAL, which revealed changes in the cell wall. The performance of SPS played a central role in the accumulation of sucrose in this variety, and the activity of the enzymes SUS, IVN and IVA corroborated this finding. In the climatic fruits of the C1 Cantalupensis variety, there was no accumulation of sucrose, but the presence of glucose and fructose was observed. The results associated with turgidity and cell integrity indicated common behavior in climatic fruits. SPS and SUS increased during maturation, aiding in the production of glucose and fructose. Invertases developed for post-harvest loss of sucrose, and β -GAL show changes in the cell wall. In both varieties, carbohydrate metabolism enzymes have a direct influence on the maturation process.

Keywords: *Cucumis melo* L.; carbohydrate metabolism.; ripening.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Termohigrômetro (A), flor feminina (B), etiqueta de identificação do fruto (C), fruto em desenvolvimento (D), A5 <i>inodorus</i> (E) e C1 <i>cantalupensis</i> (F), durante o cultivo na casa de vegetação da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE.....	23
Figura 2 -	Desenvolvimento de frutos da variedade A5 <i>inodorus</i> e C1 <i>cantalupensis</i> em diferentes dias após a polinização (DAP).....	24
Figura 3 -	Potencial osmótico da polpa de melões da variedade A5 <i>inodorus</i> (A) e C1 <i>cantalupensis</i> (B) colhidos colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).....	31
Figura 4 -	Extravasamento de eletrólitos de células da polpa de melões da variedade A5 <i>inodorus</i> (A) e C1 <i>cantalupensis</i> (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).....	33
Figura 5 -	Concentração dos açúcares solúveis da polpa de melões da variedade A5 <i>inodorus</i> (A) e C1 <i>cantalupensis</i> (B) colhidos colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).....	35
Figura 6 -	Atividade específica da enzima Sacarose Fosfato Sintase (SPS) da polpa de melões da variedade A5 <i>inodorus</i> (A) e C1 <i>cantalupensis</i> (B) colhidos colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).....	37
Figura 7 -	Atividade específica da enzima Sacarose Sintase (SUS) da polpa de melões da variedade A5 <i>inodorus</i> (A) e C1 <i>cantalupensis</i> (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).....	39
Figura 8 -	Atividade específica das enzimas Invertase Ácida (IVA) da polpa de melões da variedade A5 <i>inodorus</i> (A) e C1 <i>cantalupensis</i> (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).....	41
Figura 9 -	Atividade específica das enzimas Invertase Neutra (IVN) da polpa de melões da variedade A5 <i>inodorus</i> (A) e C1 <i>cantalupensis</i> (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).....	42

Figura 10 -	Atividade específica da enzima β -galactosidase (β -GAL) da polpa de melões da variedade A5 <i>inodorus</i> (A) e C1 <i>cantalupensis</i> (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).....	44
Figura 11-	Metabolismo de açúcares durante o amadurecimento de melões da variedade A5 <i>inodorus</i> e C1 <i>cantalupensis</i>	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	Açúcar redutor
B-GAL	β -galactosidase
DAP	Dias após a polinização
DNS	Ácido dinitrosalicílico
GH35	Glicosídeo hidrolase 35
HPLC	High performance liquid chromatography
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IVA	Invertase ácida
IVN	Invertase neutra
OFR	Oligossacarídeos da família rafinose
SPS	Sacarose fosfato sintase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	Meloeiro: aspectos botânicos e econômicos.....	14
2.2	Variedades <i>cantalupensis</i> e <i>inodorus</i>.....	15
2.3	Fisiologia do amadurecimento.....	16
2.4	Metabolismo de carboidratos.....	18
3	OBJETIVOS.....	21
3.1	Objetivos gerais.....	21
3.2	Objetivos específicos.....	21
4	METODOLOGIA.....	22
4.1	Material vegetal.....	22
4.2	Avaliação do Potencial Osmótico (Ψ_s)	24
4.3	Integridade do tecido: extravasamento de eletrólitos.....	25
4.4	Quantificação de açúcares solúveis.....	25
4.5	Atividade específica de enzimas do metabolismo de carboidratos.....	25
4.5.1	<i>Determinação do conteúdo de proteínas.....</i>	26
4.5.2	<i>Atividade da sintase de sacarose fosfato (SPS).....</i>	25
4.5.3	<i>Atividade da sintase de sacarose (SUS).....</i>	26
4.5.4	<i>Atividade da invertase ácida (IVA).....</i>	27
4.5.5	<i>Atividade da invertase neutra (IVN).....</i>	27
4.6	Atividade da β-galactosidase.....	28
4.7	Análise estatística.....	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
6	CONCLUSÃO.....	45
	REFERÊNCIAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) pertence à família Cucurbitaceae, é originário da África e Ásia e está entre as olerícolas mais importantes economicamente, sendo cultivado em diferentes partes do mundo, seja com clima tropical, subtropical ou temperado (ENDL *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2020).

No Brasil, a produção do melão concentra-se na região Nordeste a qual é responsável por cerca de 95% da produção nacional, destacando-se os estados do Rio Grande do Norte e Ceará, principais produtores e exportadores (ANDRADE *et al.*, 2019; CARVALHO *et al.*, 2020; IBGE, 2023). O meloeiro é uma espécie com ampla variabilidade fenotípica em relação às características dos frutos e possui uma vasta gama de cultivares, dentre as quais as variedades botânicas *inodorus*, *cantalupensis* e *reticulatus* são as de maior interesse econômico no Brasil. Observa-se que estas variedades se diferenciam em diversos aspectos morfológicos, bioquímicos assim como na fisiologia do seu amadurecimento (ANDRADE *et al.*, 2019; MOING *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020).

Estudar os diferentes padrões de amadurecimento é importante uma vez que estão diretamente ligados às características de qualidade e potencial de armazenamento dos frutos (ANDRADE *et al.*, 2019; BIANCHI *et al.*, 2020). O melão possui dois padrões de amadurecimento, nos quais as variedades *inodorus* e *cantalupensis* apresentam distintos comportamentos, com os frutos *inodorus* apresentando um padrão não-climatérico de amadurecimento com pouca ou nenhuma produção de etileno, enquanto os *cantalupensis* apresentam um padrão climatérico com aumento de respiração e produção de etileno no início do amadurecimento (BIANCHI *et al.*, 2020; STROKA *et al.*, 2021).

O processo de amadurecimento dos frutos não climatéricos ainda não é tão conhecido como o amadurecimento climatérico, deixando muitas lacunas no que diz respeito a este padrão (STROKA *et al.*, 2021). Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar o metabolismo de carboidratos durante o amadurecimento de melões com comportamento climatérico e não-climatérico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Meloeiro: aspectos botânicos e econômicos

A família Cucurbitaceae é composta por mais de 900 espécies conhecidas e divididas entres seus gêneros. O gênero *Cucumis* está entre os 10 primeiros mais importantes entre as hortaliças do mundo, sendo também utilizados para fins medicinais e ornamentais (PARIS e SCHAFFER, 2017).

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma espécie dicotiledônea com um sistema radicular superficial e caule do tipo herbáceo com a ocorrência de nós com gemas que podem formar gavinhas, folhas e novos caules. As folhas têm tamanhos variáveis reniformes, pentalobadas e com margens denteadas com filotaxia alternada do tipo simples (KIRKBRIDE, 1993; MCCREIGHT *et al.*, 1993). Kirkbride (1993) aponta que as flores podem ser encontradas com apenas um órgão sexual (flores imperfeitas) ou hermafroditas (flores perfeitas) em pontos diferentes da planta. As flores femininas desenvolvem-se geralmente isoladas em ramos secundários ou terciários com coloração amarelada e formadas por cinco pétalas.

O melão é um fruto carnoso dividido em exocarpo, mesocarpo e endocarpo, mas que apresenta grande variação em características como tamanho, forma, cor da polpa, textura da casca e sabor. Isto torna esta espécie uma das mais diversas do gênero *Cucumis* e com muitas variedades cultivadas (COSTA, 2017; PARIS e SCHAFFER, 2017; ESTERAS *et al.*, 2018; GÓMEZ-GARCÍA *et al.*, 2020; SILVA *et al.* 2020). Segundo Zhang *et al.* (2016), os estádios de desenvolvimento dos frutos do melão podem ser estabelecidos como: fruto jovem (10 dias após a polinização – DAP, período em que as células epidérmicas ovarianas param de proliferar), em expansão (20 DAP, onde há maior expansão do fruto, contudo, com um teor de açúcar baixo), imaturo (30 DAP, a expansão do fruto cessa e atinge seu volume e firmeza da polpa máximos) e maduro (40 DAP, neste estágio a sacarose atinge seus níveis mais elevados). Contudo, estes estádios podem variar de acordo com a variedade.

A *Cucumis melo* L. é uma das espécies mais importantes e considerada uma das mais diversas do gênero *Cucumis*, sendo uma cultura de grande valor para agroindústria. A origem da espécie está associada à África e Ásia e é cultivada amplamente, do clima temperado ao tropical. Esta espécie é dividida em pelo menos 16 variedades botânicas (PARIS e SCHAFFER, 2017) dos quais *inodorus* e *cantalupensis* se destacam (LEIDA *et al.*, 2015). A grande diversidade de tipos e variedades desta espécie se diferenciam por suas características como a cor da polpa, a textura das cascas, o tamanho, a forma ou por seu padrão de

amadurecimento (ENDL *et al.*, 2018; GUIMARÃES *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020; STROKA *et al.*, 2021).

No ano de 2022, o Brasil ocupou a posição de 10º maior produtor de melão do mundo (FAO, 2023) com cerca de 700 mil toneladas produzidas em uma área de 27,4 mil hectares (IBGE, 2023). A região Nordeste possui cerca de 95% da produção nacional, com destaque para os estados do Rio Grande do Norte e Ceará, principais produtores e exportadores. No período de janeiro a maio de 2023, os melões exportados renderam ao país US\$ 68 milhões e as projeções até 2032/2033, indicam que os maiores aumentos de produção devem ser registrados no cultivo de melão, com um crescimento de 28,7% (MAPA, 2023). Os melões da variedade *inodorus* também conhecidos como amarelo correspondem a 70% dos melões produzidos no país e os 30% restantes são de melões *cantalupensis* também denominados aromáticos ou nobres, que são principalmente exportados (ANDRADE *et al.* 2019; GUIMARÃES *et al.*, 2020).

2.2 Variedades botânicas *cantalupensis* e *inodorus*

Os frutos de *Cucumis melo* L. apresentam uma ampla diversidade morfológica e fisiológica com diferenças no formato, cor, sabor, espessuras e aparência entre as variedades. As diferenças abrangem os processos fisiológicos como o padrão de amadurecimento com variedades com comportamento climatérico com produção de etileno e aumento na respiração, enquanto outras são não climatéricas (Li *et al.* 2006; MOING *et al.*, 2020; BIANCHI *et al.*, 2020).

Há uma classificação amplamente adotada no setor produtivo que organiza os melões em diferentes “tipos” comerciais, com o objetivo de facilitar a comunicação entre os diversos agentes da cadeia do agronegócio. Essa categorização baseia-se em características morfológicas claramente observáveis, o que permite o reconhecimento padronizado dos frutos. No Brasil, os tipos de melão mais frequentemente comercializados pertencem às variedades botânicas *inodorus* (Amarelo, Honeydew e Pele de Sapo), *cantalupensis* (Charentais) e *reticulatus* (Cantaloupe e Gália) (ARAGÃO *et al.*, 2019). As variedades de maior importância econômica são as climatéricas *reticulatus* e *cantalupensis* e a não climatérica, *inodorus* (OLIVEIRA *et al.*, 2017; MOING *et al.*, 2020). Apesar das diferenças morfológicas e do padrão de amadurecimento dentre as variedades, Enld *et al.* (2018) sugerem que estas estão agrupadas dentro do mesmo clado “Asian Agrestis”, que teria sua origem na Índia, sudeste asiático, Ásia central e Extremo Oriente.

Segundo Guerra (2020), Silva *et al.* (2020) e Aragão *et al.* (2019), os frutos da

variedade *inodorus* apresentam forma globular ou ovais com casca fina lisa ou áspera com rugas longitudinais e coloração amarela, branca ou verde-escuro, sendo a polpa espessa com coloração que varia de verde-clara a esbranquiçada sem um aroma característico. O ciclo de vida desta variedade compreende de 60 a 70 dias sem desprendimento do pedúnculo, predominantemente. Os frutos possuem um padrão de amadurecimento não-climatérico e por isso, devem ser colhidos maduros, além disso apresentam um período de amadurecimento mais longo do que outras variedades como a *cantalupensis*, o que lhe confere boas características para armazenamento e conservação.

Na variedade *cantalupensis*, os frutos são ovais ou redondos podendo ter casca recoberta com rendilhamento corticoso, rugoso ou escamoso com uma polpa alaranjada e caracterizada como aromática, além disso, apresenta um padrão de amadurecimento do tipo climatérico o que resulta em baixa resistência ao transporte exigindo o uso de tecnologias de conservação pós-colheita como a refrigeração (GUERRA, 2020; SILVA *et al.*, 2020; BIANCHI *et al.*, 2020). O ciclo de vida desses frutos compreende de 65 a 70 dias e sua maturação é acompanhada do desprendimento do pedúnculo (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Portanto, a colheita e o manuseio de ambas as variedades devem ser cuidadosos para que evitar danos aos frutos. Os frutos devem ser limpos e protegidos do sol até o momento do transporte para o local onde serão embalados e posteriormente selecionados. Os frutos são resfriados rapidamente e armazenados em câmara fria a 10 °C no caso do melão Amarelo, enquanto os melões *cantalupensis* devem ser armazenados na temperatura de 4 a 6 °C (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

2.3 Fisiologia do amadurecimento

O amadurecimento dos frutos é um conjunto de processos que resultam em alterações fisiológicas e morfológicas na coloração, textura, sabor, composição e aroma, tornando-o palatável e é seguido pela senescência (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os frutos são carnosos e classificados como climatéricos e não-climatéricos, de acordo com a capacidade de produzir e responder ao hormônio etileno, durante o processo de amadurecimento. Quando amadurecem, os frutos climatéricos apresentam aumentos concomitantes de respiração e produção de etileno, enquanto os não-climatéricos não apresentam essas características (CHEN *et al.*, 2018; CHERVIN, 2020).

No início do século XX, o hormônio gasoso etileno foi descoberto e desde então, vem sendo observado seu envolvimento em diversos aspectos fisiológicos das plantas como germinação de sementes, desenvolvimento de flores e frutos, amadurecimento e senescência.

Para os frutos climatéricos, o etileno controla reações que levam a mudança da coloração, acúmulo de açúcares, perda de firmeza, produção de ácidos orgânicos, entre outros (CHEIN *et al.*, 2018).

O meloeiro é uma espécie excepcional que apresenta variedades classificadas como climatéricas e não-climatéricas (CHEIN *et al.*, 2018; BIANCHI *et al.*, 2020). Os melões climatéricos como os *cantalupensis* apresentam um pico de respiração seguido da síntese autocatalítica do etileno enquanto, os melões não-climatéricos como *inodorus* possuem uma baixa ou nenhuma síntese de etileno no processo de amadurecimento (SCHEMBERGER *et al.*, 2020; STROKA *et al.*, 2021). Nos estudos de Saladié *et al.* (2015), os frutos *cantalupensis* tiveram um pico de produção de etileno aos 35 dias após a polinização (DAP), no entanto os frutos da variedade *inodorus* apresentaram um nível baixo e constante da produção de etileno. Em geral, a fisiologia de frutos climatéricos é melhor compreendida, contudo, existem muitas lacunas a respeito do amadurecimento dos frutos não-climatéricos (STROKA *et al.*, 2021).

No processo de amadurecimento, os frutos do meloeiro passam por diversas transformações tanto bioquímicas como fisiológicas que influenciam nas suas propriedades organolépticas (SALADIÉ *et al.*, 2015; SCHEMBERGER *et al.*, 2020). Os açúcares possuem um importante papel na qualidade dos frutos, pois influenciam diretamente o sabor, e assim, a qualidade e a aceitação pelo consumidor. Os carboidratos participam de importantes processos do desenvolvimento do vegetal voltados para o fornecimento de energia e acúmulo de carbono (DURÁN-SORIA *et al.*, 2020).

Nos frutos e nas sementes, os carboidratos podem ser acumulados através do transporte de fotoassimilados pelo floema entre os tecidos fonte e dreno (DURÁN-SORIA *et al.*, 2020). Em geral, a concentração de oligossacarídeos é baixa no melão indicando um metabolismo acelerado que necessita de compostos simples e rapidamente disponíveis como a sacarose que é o açúcar predominante e seu acúmulo é considerado um marcador inicial do amadurecimento de alguns genótipos (DAI *et al.*, 2011; SALADIÉ *et al.*, 2015; STROKA *et al.*, 2021). Kaleem *et al.* (2023) apontaram em seu estudo com melões as quantidades de glicose e frutose 10,80 mg/g e 18,48 mg/g, respectivamente, enquanto a sacarose apresentou valores superiores com 124,97 mg/g.

Saladié *et al.* (2015) apresentaram resultados da comparação entre melões climatéricos e não-climatéricos, onde observaram pouca variação ao longo do tempo no conteúdo de glicose e frutose dos frutos entre 5 DAP até a maturidade aos 55 DAP em ambas as variedades, enquanto os níveis baixos de sacarose em frutos jovens que aumentavam de forma significativa a partir de 30 DAP em Amarelo e de 40 DAP em *cantalupensis*, sugerindo

o início do amadurecimento.

2.4 Metabolismo de carboidratos

O acúmulo de sacarose no fruto do melão é determinado pelo metabolismo de carboidratos de cada genótipo e segundo Schemberger *et al.* (2020), há três fontes fundamentais para o acúmulo de sacarose nos frutos: a síntese *de novo* da sacarose, o processo de fotossíntese e o catabolismo dos oligossacarídeos da família da rafinose (OFR).

No melão, assim como outras Cucurbitaceas, os OFR são translocados pelo floema das folhas fotossintetizantes para os frutos em desenvolvimento, onde são hidrolisados pela ação das enzimas α -galactosidases ácida (AAG) e neutra (NAG) produzindo galactose e sacarose. A galactose é então fosforilada pela galactoquinase (GK) formando galactose-1-fosfato (GAL-1P). Posteriormente, a GAL-1P poderá participar da síntese da sacarose, onde será transformada em glicose-1-fosfato (GLC-1P) pela ação da uridina difosfato (UDP)-galactose/glicose pirofosforilase (UGGP), UDP-glicose-4-epimerase (UGE) e da UDP-glicose pirofosforilase (UGP) fornecendo os substratos para a síntese de sacarose pela sacarose-fosfato sintase (SPS) e sacarose-fosfato fosfatase (SPP) (DAI *et al.* 2011; LEIDA *et al.* 2015; SALADIÉ *et al.* 2015; SCHEMBERGER *et al.* 2020).

Yang *et al.* (2019) e Duan *et al.* (2021) indicam a sacarose fosfato sintase (SPS), a invertase (INV) e a sacarose sintase (SUS) como as principais enzimas envolvidas no metabolismo da sacarose. A sacarose fosfato sintase (SPS, EC 2.4.1.14) é considerada a principal enzima responsável pela síntese e possui um papel importante na regulação da assimilação do carbono e na divisão dos fotoassimilados entre o amido e a sacarose. A reação catalisada pela SPS transfere o grupamento glucosil da UDP-glicose para a frutose-6-fosfato, que é desfosforilada pela ação da enzima sacarose-6-fosfato fosfatase (SPP) produzindo sacarose (DUAN *et al.*, 2021). Hubbard *et al.* (1991) mostraram que o acúmulo de sacarose em melões deve-se ao aumento da atividade da SPS, e à queda na atividade de invertase ácida, e este aumento reflete a importância da síntese de sacarose no fruto (BURGUER, SCHAFFER, 2007).

A enzima invertase (IV, β -D-fructo-furanosídeo-frutohidrolase, invertina ou sacarase, EC 3.2.1.26) catalisa a hidrólise da sacarose oriunda de síntese ou translocação formando hexoses de glicose e frutose. Esta enzima possui isoformas ácidas (IVA) e neutras (IVN) com pH ótimo de atividade de acordo com o pH da localização celular onde se encontra como os mais ácidos, vacúolo e parede celular, e neutros mitocôndria e citosol, respectivamente (DAI *et al.*, 2011; STROKA *et al.*, 2021). Segundo Basson *et al.* (2010), a invertase destaca-se

como a enzimas que degradam a sacarose em frutos, causando uma diminuição da doçura e a produção de ácidos orgânicos como o ácido málico que contribuem para a perda na qualidade de sabor (SALADIÉ *et al.*, 2015).

Burguer e Schaffer (2007) estudaram oito genótipos diferentes de *C. melo*: Galia, Noy Yizre'el, Krimka, Persian linhagem 202, linhagem Persian 221, cv. Black Skin, linhagem Faqqous e *C. sativus* cv. Dalila, e observaram que a concentração de sacarose aumentava enquanto a atividade da IVA decaía. Além da redução da atividade da IVA, estudos mostraram que o aumento da expressão gênica da enzima sacarose sintase é crucial para a concentração de sacarose ao longo do processo de amadurecimento (BURGER; SCHAFFER, 2007; DAI *et al.*, 2011; SALADIÉ *et al.*, 2015).

A sacarose sintase (SUS, EC 2.4.1.13) pode estar localizada na mitocôndria, na parede celular ou no vacúolo e catalisa a síntese da sacarose a partir de UDP-glicose e frutose, porém também pode catalisar a reação no sentido inverso clivando a sacarose em frutose e UDP-glicose (DAI *et al.*, 2011; SALADIÉ *et al.*, 2015; DUAN *et al.*, 2021). Braun *et al.* (2014) relataram que esta enzima está associada à síntese de carboidratos poliméricos e à geração de energia durante o desenvolvimento dos frutos e a dispersão de sementes.

Diferentes isoformas de SUS são encontradas e que variam conforme as espécies vegetais. As diferentes funções e padrões de expressão, resultando em uma flexibilidade do metabolismo da sacarose ao longo das etapas de desenvolvimento (KLOTZ *et al.*, 2003; DUAN *et al.*, 2021). Xu *et al.* (2019) e Wang *et al.* (2015) mostraram que *Arabidopsis*, cenoura (*Daucus carota*), soja (*Glycine max*) e tabaco (*Nicotiana tabacum*) possuem seis, oito, doze e quatorze genes para a SUS, respectivamente, enquanto Dai *et al.* (2011) relataram três isoformas (SUS1, SUS2 e SUS3) presentes em melão.

Quanto à expressão dos genes da SUS em melões climatéricos e não climatéricos, os genes *CmSUS1* e *CmSUS2* são respectivamente mais ativos no início da maturação quando a sacarose é clivada em frutose e UDP-glicose, enquanto os genes *CmSUS3* e *CmSUS1* são respectivamente mais ativos no final da maturação quando a UDP-glicose e a frutose são utilizadas para a síntese de sacarose (DAI *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2016; SCHEMBERGER *et al.*, 2020).

A β -galactosidase (β -GAL, EC 3.2.1.23) é uma enzima envolvida com a hidrólise de lactose em monossacáridos de glicose e galactose e é classificada em duas famílias: glicosídeo hidrolase 2 (GH2) e glicosídeo hidrolase 35 (GH35), sendo aproximadamente 70% das β -GAL da família GH35 encontradas em plantas (HUSSAIN *et al.* 2010; YADAV e KAYASTHA, 2020).

As β -galactosidases podem agir sobre polissacarídeos específicos como as β -galactanases que atuam em polímeros pécnicos, e as β -galactosidases que têm como alvo os xiloglicanos. A β -GAL é uma das enzimas envolvidas em processos como o amaciamento durante o amadurecimento dos frutos carnosos que causam a modificação da parede celular, já que estas são compostas por microfibras de celulose unidas por uma rede xiloglicanos. Mohebbi *et al.* (2022) observaram uma diminuição na atividade da β -GAL em maçãs devido à um tratamento pós-colheita com cloreto de cálcio (CaCl₂) associado ao ácido bórico, o que resultou em uma menor degradação da parede celular e retardou o amaciamento desses frutos. Diversos estudos resultados corroboram a hipótese de que a β -GAL atua, em conjunto de outras enzimas hidrolíticas da parede celular, durante o processo de amadurecimento de vários frutos como caqui, tâmaras, tomate, melão, pimentão, cereja e maçã (HUSSAIN *et al.* 2010; RASTEGAR *et al.* 2012; TAIZ *et al.* 2017; BAN *et al.* 2018; GUO *et al.* 2018; LI *et al.* 2020).

Segundo Schemberger *et al.* (2020), o conhecimento sobre a funcionalidade do metabolismo de açúcares assim como a importância desses compostos como indicadores de amadurecimento, são fundamentais para estimular o desenvolvimento de novas abordagens com intuito de melhorar a qualidade comercial de frutos.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- ✓ Investigar o metabolismo de carboidratos durante o amadurecimento de melões climatéricos e não-climatéricos.

3.2 Específicos

- ✓ Verificar o potencial osmótico durante o amadurecimento do melão;
- ✓ Analisar a integridade do tecido por meio de extravasamento de eletrólitos.
- ✓ Medir a atividade das enzimas sacarose sintase (SUS); sacarose fosfato sintase (SPS); β -galactosidase (GAL) e invertase (INV) durante o amadurecimento do melão;
- ✓ Quantificar os açúcares simples por HPLC durante o amadurecimento do melão;

4 METODOLOGIA

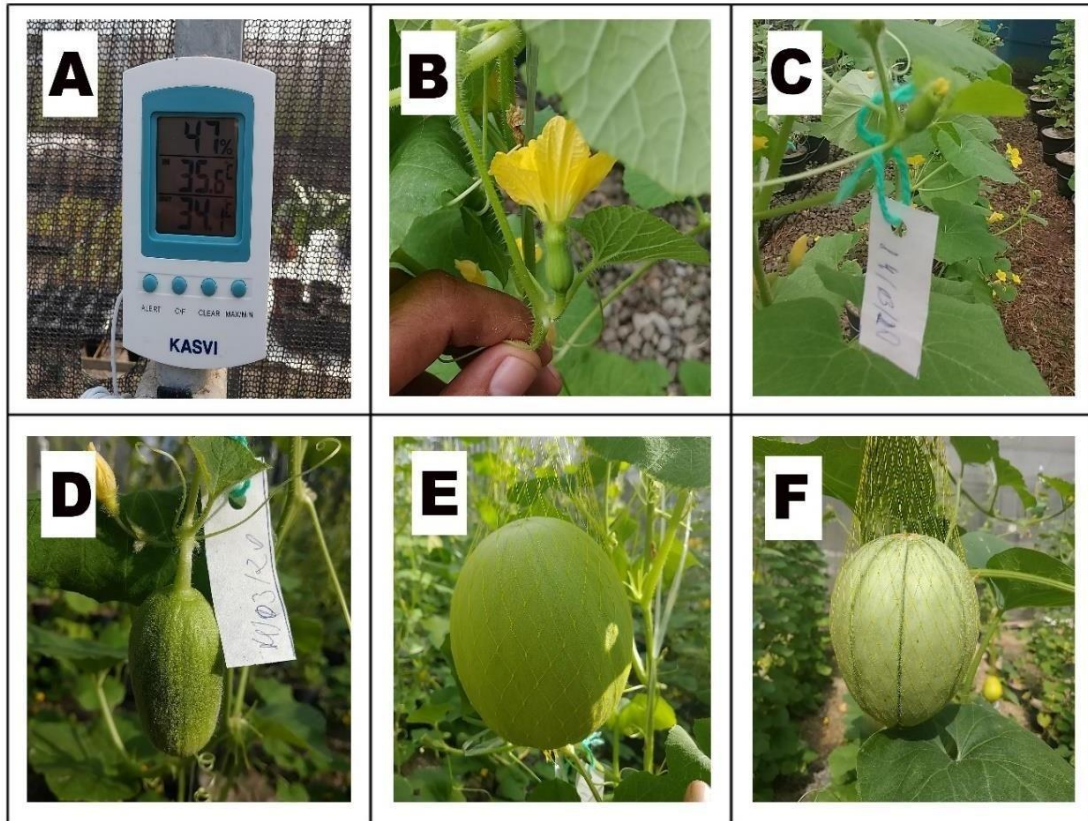
4.1 Material vegetal

As mudas das variedades botânicas de *Cucumis melo* L. *inodorus* do tipo Amarelo, linhagem A5 (não-climatérico) e *cantalupensis* ou Charentais, linhagem C1 (climatérico), foram cultivadas na casa de vegetação da Embrapa Agroindústria Tropical, no município de Fortaleza-CE. As sementes foram postas para germinar em bandejas de polipropileno de 200 células, contendo substrato de fibra de coco e substrato comercial (Turfa) na proporção de 1:1, para o preenchimento das bandejas. Após 11 dias de semeadura, ocorreu o transplântio das plântulas para vasos plásticos de 5 L, nos quais foram cultivados até o final do ciclo produtivo. A variedade *cantalupensis* possui um ciclo mais precoce, por isto, esta foi semeada dez dias após a *inodorus* para que houvesse uma sincronização do período de colheita.

Após o transplântio, as plantas foram transferidas para a casa de vegetação e foram realizados os tratos culturais necessários com as culturas. A irrigação ocorreu duas vezes ao dia, levando em consideração a evapotranspiração. Também foi realizada a nutrição das plantas via fertirrigação de acordo com demanda nutricional de cada fase de desenvolvimento da cultura, como também foram monitoradas a temperatura e a umidade relativa do ar, com um auxílio de um termohigrômetro (KASVI K29-5070H, Brasil) (Figura 1A).

Flores hermafroditas foram polinizadas manualmente e marcadas com uma etiqueta especificando a data da polinização (Figura 1C e 1D). Para a colheita, considerou-se os dias após a polinização (DAP) e seis frutos (cada fruto consistindo em uma repetição), onde, foram colhidos em cada um dos seguintes estádios de desenvolvimento 24, 26, 28, 30, 32 e 34 DAP da variedade *inodorus* e aos 18, 20, 22, 24, 26 e 28 DAP para variedade *cantalupensis*. Após cada colheita, realizada manualmente no início do dia, os frutos foram limpos e após as análises que usavam os tecidos íntegros dos frutos, estes tiveram sua polpa processada em um processador de frutas doméstico e armazenada a -18°C e então, foram submetidas às análises.

Figura 1 - Termohigrômetro (A), flor hermafrodita (B), etiqueta de identificação do fruto (C), fruto em desenvolvimento (D), A5 *inodorus* (E) e C1 *cantalupensis* (F), durante o cultivo na casa de vegetação da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza- CE.



Fonte: Elaborado pelo Luiz Ferreira Coelho Júnior (2020).

Figura 2 - Desenvolvimento de frutos da variedade A5 *inodorus* e C1 *cantalupensis* em diferentes dias após a polinização (DAP).



Fonte: Elaborado pelo Luiz Ferreira Coelho Júnior (2020).

4.2 Avaliação do Potencial Osmótico (Ψ_s)

Para a avaliação do potencial osmótico (Ψ_s), os frutos foram descascados e a polpa processada e centrifugada (centrifuga Sigma® 2-16 KL, Alemanha) a 10.000 xg por 20 minutos. Os sobrenadantes foram avaliados com um osmômetro (VAPRO – Vapor Pressure Osmometer 5600, USA), sendo cada amostra analisada em duplicata e os resultados obtidos foram expressos em Mega Pascal (MPa). Os valores de Ψ_s foram encontrados através da equação de Van't Hoff:

$\pi = - R T C$, onde R é a constante universal dos gases (0,00831 kg MPa mol⁻¹ K⁻¹), T é a temperatura em Kelvin, e C é a concentração do soluto (BAO *et al.*, 2014).

4.3 Integridade do tecido: extravasamento de eletrólitos

O extravasamento de eletrólitos dos tecidos dos frutos foi medido seguindo o protocolo de Huan *et al.* (2017), com adaptações. Cinco discos de tecido fresco com 1 cm de diâmetro e 1 mm de espessura cada, foram removidos e colocados em um recipiente de vidro contendo 20 mL de água destilada, deixados em repouso por 1 hora à temperatura ambiente. Após esse período, a primeira medição da condutividade elétrica da água (CE1) foi medida utilizando um condutivímetro (Micronal, modelo AJX-515, Brasil) e em seguida, os discos foram submetidos à fervura em banho-Maria a 100 °C por 5 minutos, e em seguida a condutividade resultante foi medida (CE2). Os resultados foram expressos como a razão (%) entre os valores obtidos nas medições CE1 e CE2, multiplicada por 100.

4.4 Quantificação de açúcares solúveis

Os açúcares glicose, sacarose e frutose foram quantificados em um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) (Infinity 1260 Agilentum, USA) no Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará. As amostras foram diluídas em água MilliQ, posteriormente, filtradas em membranas de acetato de celulose com 0,45 µm de diâmetro e por fim, analisadas em um sistema de HPLC com detector de IR a 35 °C utilizando água Milli Q com fluxo de 0,5 mL/ min utilizando uma coluna BIORAD HPX-87C à 80 °C. Foram realizadas as curvas de calibração de glicose, sacarose e frutose para a quantificação dos açúcares e os resultados foram expressos em g/L.

4.5 Atividade específica de enzimas do metabolismo de carboidratos

Para obtenção do extrato de determinação da atividade enzimática das enzimas sintase de sacarose fosfato (SPS), sintase de sacarose (SUS), invertase ácida (IVA) e invertase neutra (IVN), utilizou-se a metodologia de Luo *et al.* (2020) com adaptações. Foram macerados 5 g de polpa em almofariz com 5 mL de tampão em pH 7,0 com 100 mM de fosfato de potássio,

1 mM de EDTA em e 5% de polivinilpolipirrolidona (PVPP) em banho de gelo. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 14.000 xg por 30 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi retirado representando o extrato para as análises de atividade enzimática.

4.5.1 Determinação do conteúdo de proteínas

Para o cálculo das atividades específicas das enzimas, o conteúdo proteico foi determinado segundo o método de Bradford (1976) com adaptações, usando albumina sérica bovina como padrão. Adicionou-se 1 mL de polpa à 2 mL de água destilada e agitou-se por 10 segundos em vórtex. Uma alíquota de 100 µL do extrato proteico foi adicionada a 2,5 mL do reagente de Bradford e a mistura foi agitada novamente. As leituras das absorbâncias foram realizadas a 595 nm em leitora de microplaca UV/VIS (Synergyx Mx, Biotek, EUA). Os resultados foram expressos como mg /kg MF.

4.5.2 Atividade da Sintase de Sacarose Fosfato (SPS)

A atividade da sintase de sacarose fosfato (SPS, EC 2.4.1.14) foi determinada segundo Zhu *et al.* (1997), com adaptações. Para a reação, foram adicionados 50 µL de extrato e 50 µL de tampão de reação em pH 7,5 com 200 mM de Tris-HCl, 10 mM de cloreto de magnésio, 2 mM de EDTA, 8 mM de frutose-6-fosfato (Fru-6-P), 40 mM de glicose-6-fosfato (Glu-6-P) e 50 mM de uridina 5'-difosfoglicose (UDP-glicose). A reação foi incubada a 37 °C em banho-Maria por 20 minutos e depois, interrompida em banho-Maria a 100 °C por 3 minutos.

A determinação da concentração de sacarose formada na reação foi realizada como descrito por Van Handel (1968), sendo 100 µL de KOH 30% adicionados a mistura que foi submetida a banho-Maria a 100 °C por 10 minutos. Em seguida, uma alíquota de 10 µL foi retirada e adicionada de 140 µL de água destilada e agitada em vórtex. Após isso, uma alíquota de 50 µL foi retirada, diluída em 950 µL de água destilada, adicionada de 2 mL de reagente Antrona e mantida por 8 minutos em banho-Maria a 100 °C. Após esse período, a solução foi posta em banho de gelo até o resfriamento e depois, a absorbância em 620 nm foi determinada em leitora de microplaca UV/VIS. A concentração de sacarose foi calculada a partir de uma curva padrão obtida com leituras de soluções contendo respectivamente 0,5, 1, 2, 3 e 4 mM de sacarose, sendo o branco, adicionado água em vez de extrato. Uma unidade de atividade enzimática (UAE) foi definida como a quantidade de enzima capaz de formar 1 nmol de açúcar

solúvel total por minuto e os resultados foram expressos como UAE /mg proteína.

4.5.3 Atividade da Sintase de Sacarose (SUS)

A determinação da atividade da sintase de sacarose (SUS, EC 2.4.1.13) realizou-se segundo Zhu *et al.* (1997) com adaptações. Aos 50 µL de extrato foram adicionados 50 µL de tampão em pH 7,5 contendo 200 mM de Tris-HCl, 15 mM de cloreto de magnésio, 25 mM de frutose e 25 mM de UDP-glicose. A reação foi incubada a 37 °C em banho-Maria por 20 minutos e foi interrompida novamente em banho-Maria a 100 °C por 3 minutos. A determinação da sacarose formada foi realizada segundo Van Handel (1968), conforme descrito no item 4.5.2. Uma unidade de atividade enzimática (UAE) foi definida como a quantidade de enzima capaz de formar 1 nmol de açúcar solúvel total por minuto e os resultados foram expressos como UAE/mg proteína.

4.5.4 Atividade da Invertase Ácida (IVA)

A análise da enzima invertase ácida solúvel (IVA, EC 3.2.1.26) foi realizada com base na quantificação de açúcar redutor liberado em uma solução devido à ação desta enzima, quando está se encontra em condições ideais de pH, concentração de substrato e temperatura. Essa atividade foi determinada segundo Zhu *et al.* (1997) com modificações, onde inicialmente, 50 µL de extrato foi adicionado a 180 µL de água destilada, gerando uma solução final da qual foi retirada uma alíquota (AR1) para a determinação da concentração de açúcares redutores pelo método de DNS. Posteriormente, 50 µL de extrato foram adicionados 50 µL de tampão de reação em pH 4,5 com 1 M de acetato de sódio mais e 100 µL de uma solução de sacarose a 120 mM. A reação foi incubada a 37 °C em banho-Maria por 20 minutos. Após esse período, a reação foi interrompida com a adição de 30 µL de Tris a 2,5 M em banho-Maria a 100 °C por 3 minutos e então, foi retirada outra alíquota (AR2).

A determinação da concentração de açúcares redutores (AR) foi então realizada pelo método do ácido 3,5 dinitro-salicílico (DNS) segundo Miller (1959). Após a reação ser interrompida, uma alíquota de 100 µL foi adicionada a 1000 µL do reagente DNS, sendo a mistura agitada e depois, mantida em banho-Maria a 100° C por 5 minutos. Após o resfriamento em banho de gelo, completou-se o volume para 10 mL de água destilada e a absorbância foi monitorada 540 nm leitora de microplaca. A subtração dos valores AR2 por AR1 foi utilizada

nos cálculos para determinar a atividade média da invertase ácida solúvel e a concentração de AR foi calculada a partir de uma curva padrão obtida com leituras de soluções contendo respectivamente 0, 200, 400, 600, 800 e 1000 μL de glicose. Como branco, água foi utilizada no lugar do extrato. Uma unidade de atividade enzimática (UAE) foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a formação de 1 nmol de açúcar redutor e os resultados foram expressos como UAE /mg proteína.

4.5.5 Atividade da Invertase Neutra (IVN)

Para a determinação da atividade da enzima invertase neutra (IVN, EC 3.2.1.26), foi utilizado o protocolo descrito por Zhu *et al.* (1997) com alterações. A princípio, 50 μL de extrato foi adicionado a 150 μL de água destilada, gerando uma solução final da qual foi retirada uma alíquota (AR1) para a determinação da concentração de açúcares redutores pelo método de DNS. Após isto, uma nova solução (AR2) foi formada, 50 μL de extrato foram adicionados com 50 μL de tampão de reação em pH 7,5 com acetato de sódio a 1 M e 100 μL de uma solução de sacarose a 120 mM. Então, a mistura foi incubada a 37 °C em banho-Maria por 20 minutos e posteriormente, interrompida em banho-Maria a 100 °C por 3 minutos. A determinação da concentração de açúcares redutores foi realizada pelo método de DNS segundo Miller (1959), conforme descrito no item 4.5.4. Como branco, água foi utilizada no lugar do extrato. Uma unidade de atividade enzimática (UAE) foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a formação de 1 nmol de açúcar redutor e os resultados foram expressos como UAE/mg proteína.

4.6 Atividade da β -galactosidase

A extração e atividade da β -galactosidase (β -gal EC 3.2.1.23) realizou-se segundo os protocolos descritos por Kitagawa *et al.* (1995) e Bayraktar e Onal (2013), respectivamente, com adaptações. Para extração, 5 g de polpa foram homogeneizados em 5 mL de tampão com 0,1 M de acetato de sódio em pH 5,0 com contendo polivinilpirrolidona (PVP) 1%, em seguida, a mistura foi centrifugada a 15.000 xg por 20 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi ressuspensionado com 5 mL de tampão acetato de sódio a 0,02 M em pH 5,0 contendo 5 mM de 2-mercaptoetanol e então, centrifugado a 15.000 xg por 10 minutos a 4 °C. Este processo de ressuspensão do resíduo seguido de centrifugação foi repetido por quatro vezes ao todo. Depois da última centrifugação, o resíduo foi ressuspensionado em 5 mL de tampão acetado

de sódio a 0,02 M em pH 5,0 contendo NaCl a 3 M e deixado sob agitação contínua durante 12 horas a 4 °C no isofrio. Após esse período, a mistura foi centrifugada a 15.000 xg por 30 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi separado e considerado o extrato para determinação da atividade enzimática.

A atividade da β -GAL foi determinada utilizando p-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (PNPG) como substrato. Inicialmente, uma mistura contendo 250 μ L de PNPG a 2 mM, 500 μ L de tampão citrato de sódio a 0,05 M em pH 6,0 e 250 μ L de solução enzimática, onde está foi incubada a 37 °C em banho-Maria durante 30 minutos e depois, a reação foi interrompida pela adição de 100 μ L de carbonato de sódio a 1 M. Uma alíquota de 300 μ L foi utilizada para a leitura da absorbância a 400 nm em leitora de microplacas. Uma unidade de atividade enzimática (UAE) foi definida como a quantidade de atividade da enzima capaz de produzir uma mudança de 0,001 unidade de absorbância por minuto e os resultados foram expressos como UAE /mg proteína.

4.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade, análise de variância (ANOVA), e para comparação das médias, foi utilizado o teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico RStudio. Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

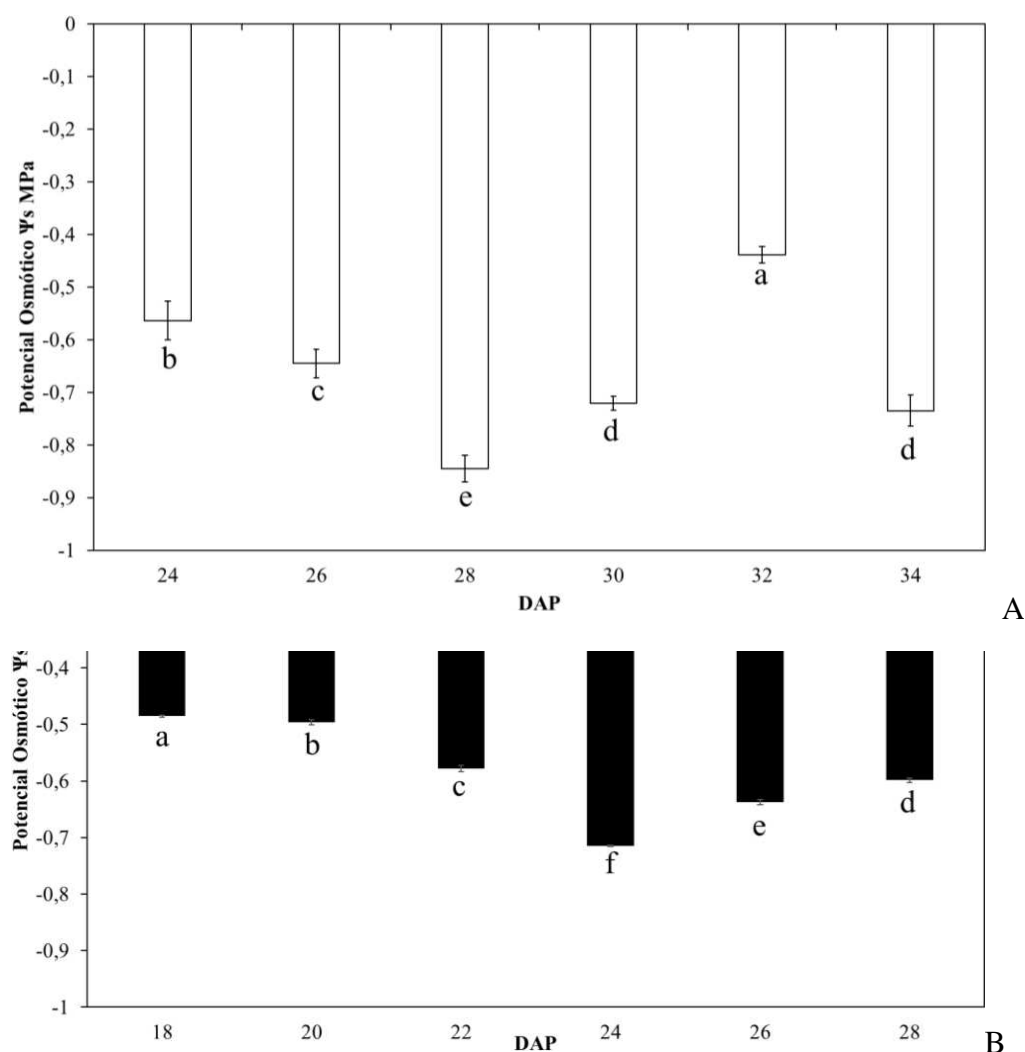
5.1 Variáveis associadas a turgidez e integridade celular

Em relação ao potencial osmótico (Ψ_s), a variedade A5 *inodorus* apresentou uma queda significativa até os 28 DAP quando atingiu o menor Ψ_s de -0,8 MPa em seguida aumentando (Figura 3A). A variedade C1 *cantalupensis* apresentou comportamento semelhante com o menor valor de -0,7 MPa aos 24 DAP (Figura 3B). O menor potencial osmótico representa uma maior concentração de solutos no interior das células do fruto, a redução observada no potencial osmótico durante a maturação representa consequentemente uma redução no potencial hídrico, uma vez que os principais fatores que influenciam o potencial hídrico das plantas são a concentração de solutos (potencial osmótico), gravidade e pressão (TAIZ *et al.* 2017).

O desenvolvimento e o amadurecimento dos frutos envolvem diversos processos fisiológicos que levam ao aumento do conteúdo de solutos nas células. O potencial osmótico representa o efeito da concentração de solutos dissolvidos sobre o potencial hídrico influenciando a turgescência das células e, portanto, pode ser considerado um fator importante e um sinalizador do processo de amadurecimento dos frutos carnosos (TAIZ *et al.* 2017 e TURNER, 2017). LIMA *et al.* (2020) avaliaram o potencial osmótico de melão *cantalupensis* e observaram que estas plantas são afetadas por estresses e respondem acumulando açúcares para diminuir o potencial osmótico, manter a turgescência das células e dar continuidade aos processos fisiológicos.

O estudo de JIA *et al.* (2020) com frutos de *Fragaria x ananassa* Duch., corroborou com os resultados encontrados na presente pesquisa, uma vez que os autores também observaram uma diminuição de aproximadamente -0,3 e -0,4 MPa no potencial de pressão e consequentemente a redução do potencial osmótico durante o desenvolvimento dos frutos, principalmente, em estádios mais avançados de amadurecimento. Bondadaa *et al.* (2017) constataram que um aumento na concentração de sólidos solúveis estava associado ao potencial osmótico mais negativo de -0,6 a -0,7 Mpa em bagas de uvas. Enquanto isso, Tomiyama, Yakushiji e Osawa (2023) relataram que em melancias ainda imaturas já se observa um potencial osmótico mais negativo com uma concentração elevada de solutos como açúcares.

Figura 3 - Potencial osmótico (Ψ_s) da polpa de melões da variedade A5 *inodorus* (A) e C1 *cantalupensis* (B) colhidos colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).

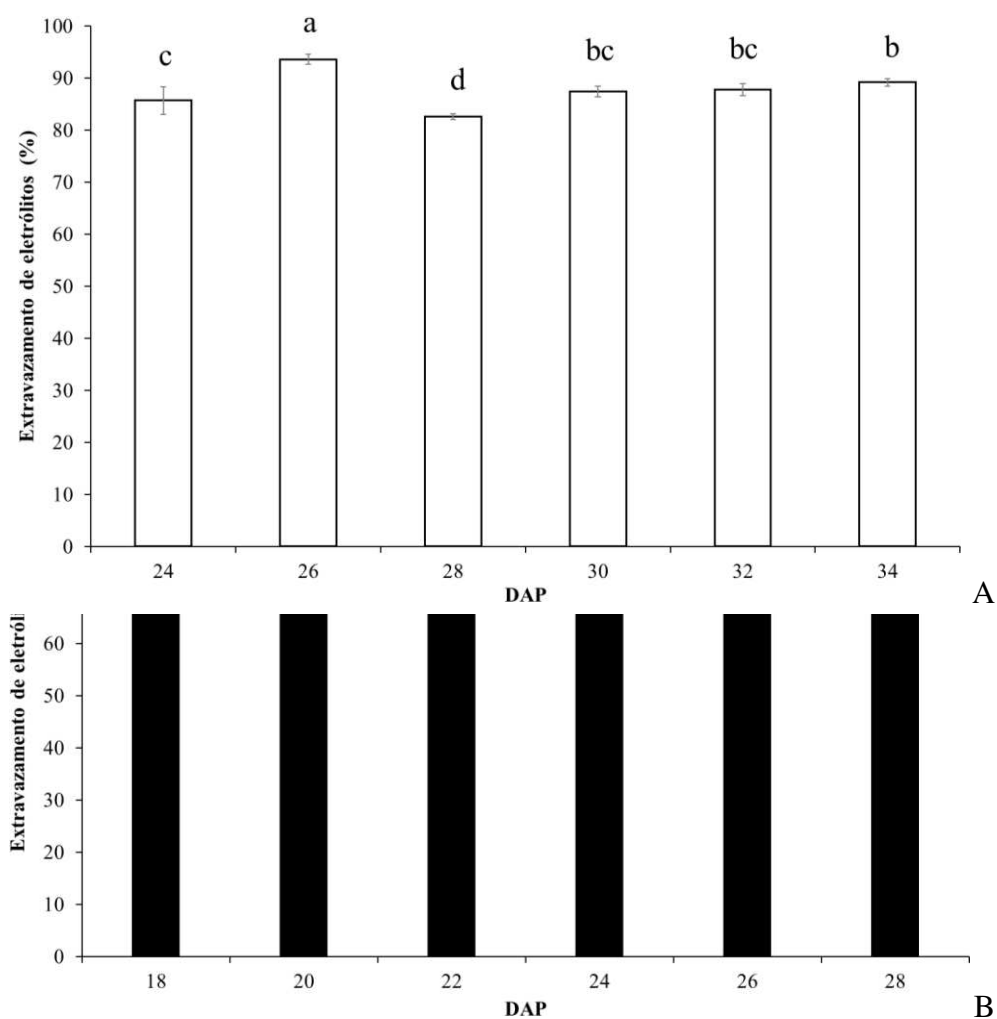


A integridade dos tecidos foi avaliada neste estudo por meio da porcentagem do extravasamento de eletrólitos e, na variedade A5 *inodorus*, o maior extravasamento foi de 93,6% aos 26 DAP (Figura 4A), o qual se manteve mais baixo e constante até o final. Já a variedade C1 *cantalupensis* apresenta uma tendência de aumento até os 28 DAP, quando atingiu 82,3% de extravasamento (Figura 4B).

O extravasamento de eletrólitos é utilizado como indicador da integridade das membranas celulares, a qual reflete a capacidade das membranas de resistir aos danos sofridos durante os processos fisiológicos, como reações oxidativas de subprodutos da respiração ou compostos produzidos em condições de desequilíbrio oxidativo, induzidos por estresses ou amadurecimento (TAIZ *et al.* 2017). Estudos prévios mostraram um aumento gradual de extravasamento de eletrólitos com o amadurecimento de melões que pode ser ainda mais acentuado quando os frutos são submetidos a injúrias mecânicas ou processamento mínimo (Wu *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2022).

Corroborando com o maior extravasamento observado aqui ao final do desenvolvimento da variedade C1 *cantalupensis*, Santos *et al.* (2018) observaram que os cachos de bananas, que são frutos climatéricos, colhidos ao final do amadurecimento apresentavam um aumento no extravasamento atingindo 66,5% e esses autores justificaram este resultado pelo processo adiantado de maturação e senescência que os frutos se encontravam.

Figura 4 - Extravasamento de eletrólitos de células da polpa de melões da variedade A5 *inodorus* (A) e C1 *cantalupensis* (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).



5.2 Variáveis do metabolismo de açúcares

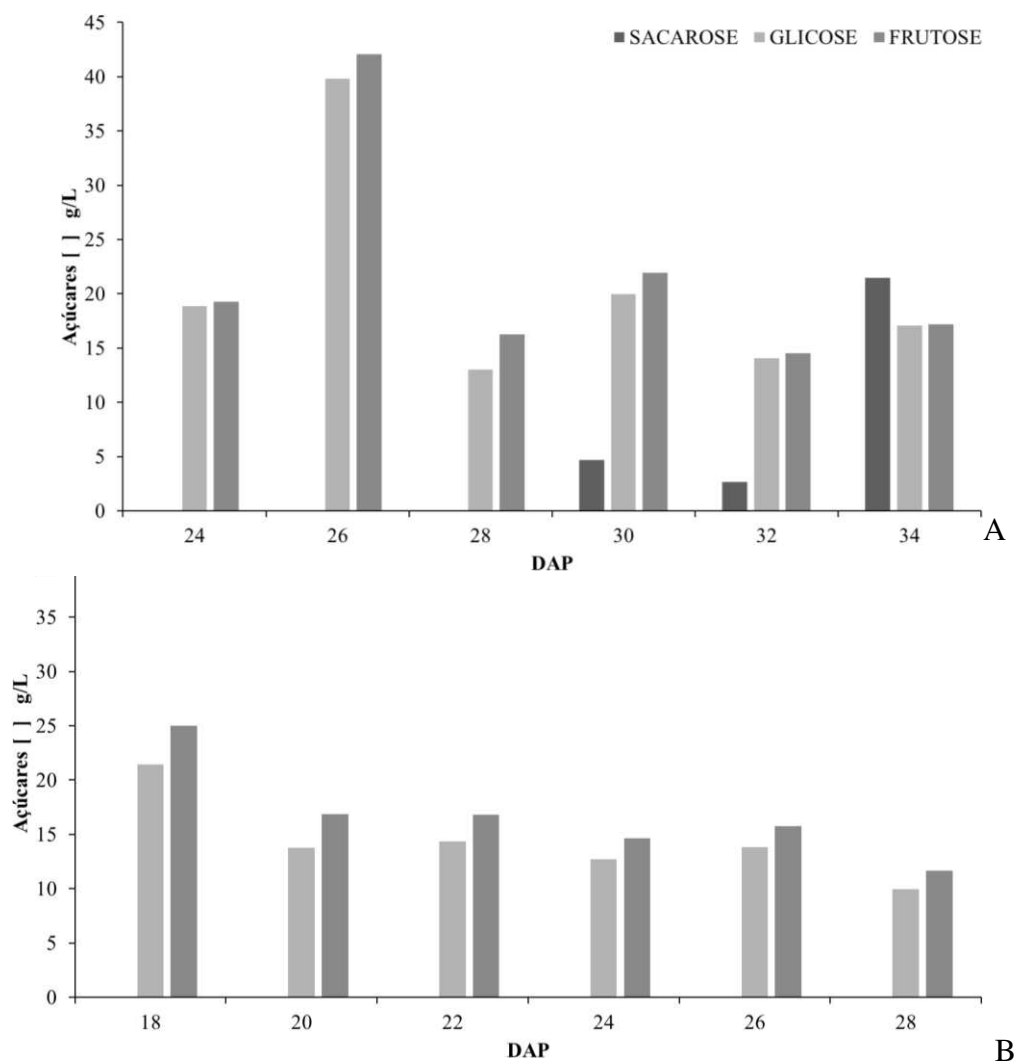
O acúmulo de açúcares está diretamente associado a qualidade pós-colheita e, nos frutos da variedade não climatérica A5 *inodorus*, a maior concentração foi observada aos 26 DAP com 39,8 g/L de glicose e 42,0 g/L de frutose, a partir de então as concentrações foram

mais baixas e constantes (Figura 5A). Aos 30 DAP, o acúmulo de sacarose pode ser observado, atingindo o máximo aos 34 DAP com 21,4 g/L. De forma distinta, na variedade climatérica C1 *cantalupensis*, o conteúdo de glicose e frutose decaiu de forma contínua de 21,4 g/L e 24,9 g/L aos 18 DAP para 9,9 g/L e 11,6 g/L aos 28 DAP, respectivamente, sem a produção de sacarose (Figura 5B).

Os resultados encontrados aqui com melão A5 *inodorus* concordam com o estudo de Chen *et al.* (2023) com melão não-climatérico da cultivar Elizabeth, o qual apresentou uma queda no conteúdo de glicose e frutose, enquanto o de sacarose aumentou dos 15 aos 40 dias após a antese. No entanto, outros estudos, relatam a presença de sacarose em melões climatéricos e afirmam que esta atua juntamente com o hormônio etileno, acelerando o processo de amadurecimento climatérico (SALADIÉ *et al.* 2015; GAO *et al.* 2021). O padrão de acúmulo de sacarose em melão pode sofrer influência da variedade assim como de fatores externos, como o melão da cultivar Yuniang apresentou um padrão inconstante nas concentrações de sacarose, dependendo da temperatura e demais condições de armazenamento (Kaleem *et al.*, 2023).

Estudos anteriores Ozaki *et al.* (2009) relataram que o tratamento de plantas de melão com peróxido de hidrogênio aumentou o teor de frutose, glicose e sacarose, onde os valores iniciais foram de 4,1 mg/g, 4,7 mg/g e 4,9 mg/g e após o tratamento de peróxido de hidrogênio 20 mM 207 mg/g, 256 mg/g e 263 mg/g, apresentando o aumento de 256% para a frutose, 294% para a glicose e 288% para a sacarose em relação às plantas controle não tratadas. Esses valores foram superiores aos encontrados neste estudo, já no relato de Matsumoto *et al.*, (2010), ocorreu o mesmo padrão que nos melões C1 *cantalupensis* desta pesquisa, com glicose (15,0 g/L) e frutose (41,0 g/L) sendo encontradas, mas não sacarose.

Figura 5 - Concentração dos açúcares solúveis da polpa de melões da variedade A5 *inodorus* (A) e C1 *cantalupensis* (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).



A atividade enzimática da sacarose fosfato sintase (SPS) que catalisa a transferência de um grupamento hexosil de uma UDP-glucose para uma D-frutose-6P formando UDP e D-sacarose-6P aumentou durante o amadurecimento de ambas as variedades de modo que, em A5 *inodorus* (Figura 6A), a maior atividade foi observada aos 34 DAP com 5050,7 UAE /mg P, enquanto na variedade C1 *cantalupensis*, a atividade se manteve praticamente constante com um máximo aos 28 DAP com 2023,62 UAE /mg P (Figura 6B).

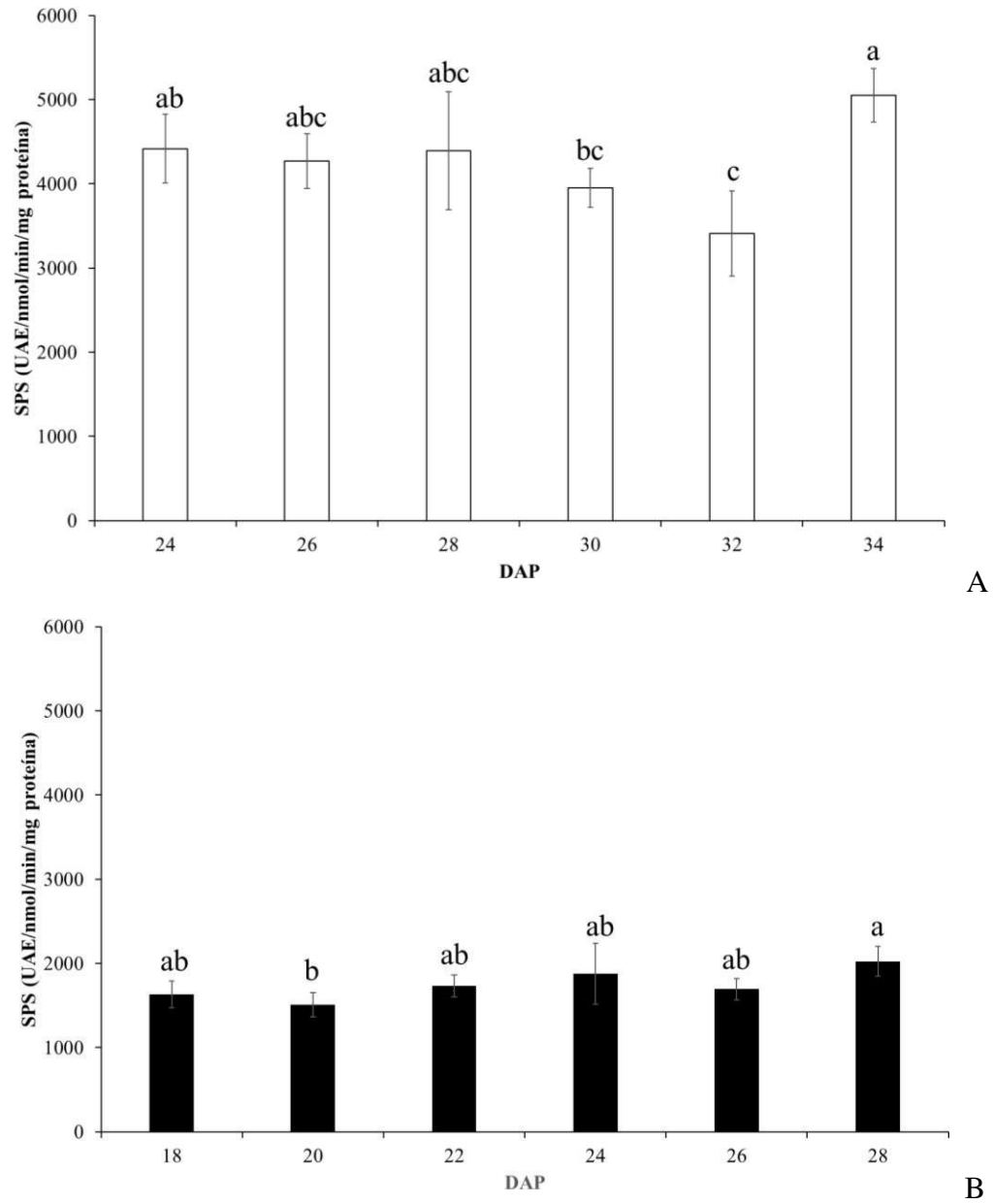
Segundo Matsumoto *et al.*, (2010), a SPS é uma enzima determinante na maturação de melão, quando o aumento em sua atividade está associado ao acúmulo de sacarose. Portanto, a alta atividade observada da SPS pode explicar o acúmulo de sacarose aqui observado no melão A5 *inodorus*, enquanto isso, apesar do aumento significativo na atividade da SPS em C1

cantalupensis, não foi observado o acúmulo de sacarose nessa variedade.

Em melões das cultivares Yujinxiang e Yuxue (YANG *et al.* 2019), a atividade da SPS aumentou até os 25 dias após a antese (DAA) depois decaindo gradativamente e nesses frutos, a sacarose é o principal açúcar solúvel sendo acumulada em níveis superiores aos de glicose e frutose. A atividade da SPS apresentou um aumento de 21 a 28 DAA em melões da cultivar Jingyu (HUANG *et al.* 2017).

GAO *et al.* (2021) afirmaram que o gene *CmSPS1* e seu produto, a enzima SPS são os principais responsáveis pelo acúmulo de sacarose induzido pelo hormônio etileno em melões com padrão de amadurecimento climatérico. Todavia, uma comparação entre frutos climatéricos e não climatéricos aponta para o fato que há uma maior concentração de glicose e frutose do que outros açúcares em frutos com padrão de amadurecimento climatérico (CHATTERJEE, DHAL e PAL, 2021). Isso corrobora com os resultados encontrados aqui para a variedade C1 *cantalupensis*, na qual, apesar do aumento da atividade da SPS, apenas os açúcares glicose e frutose foram detectados.

Figura 6. Atividade específica da enzima Sacarose Fosfato Sintase (SPS) da polpa de melões da variedade A5 *inodorus* (A) e C1 *cantalupensis* (B) colhidos colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).

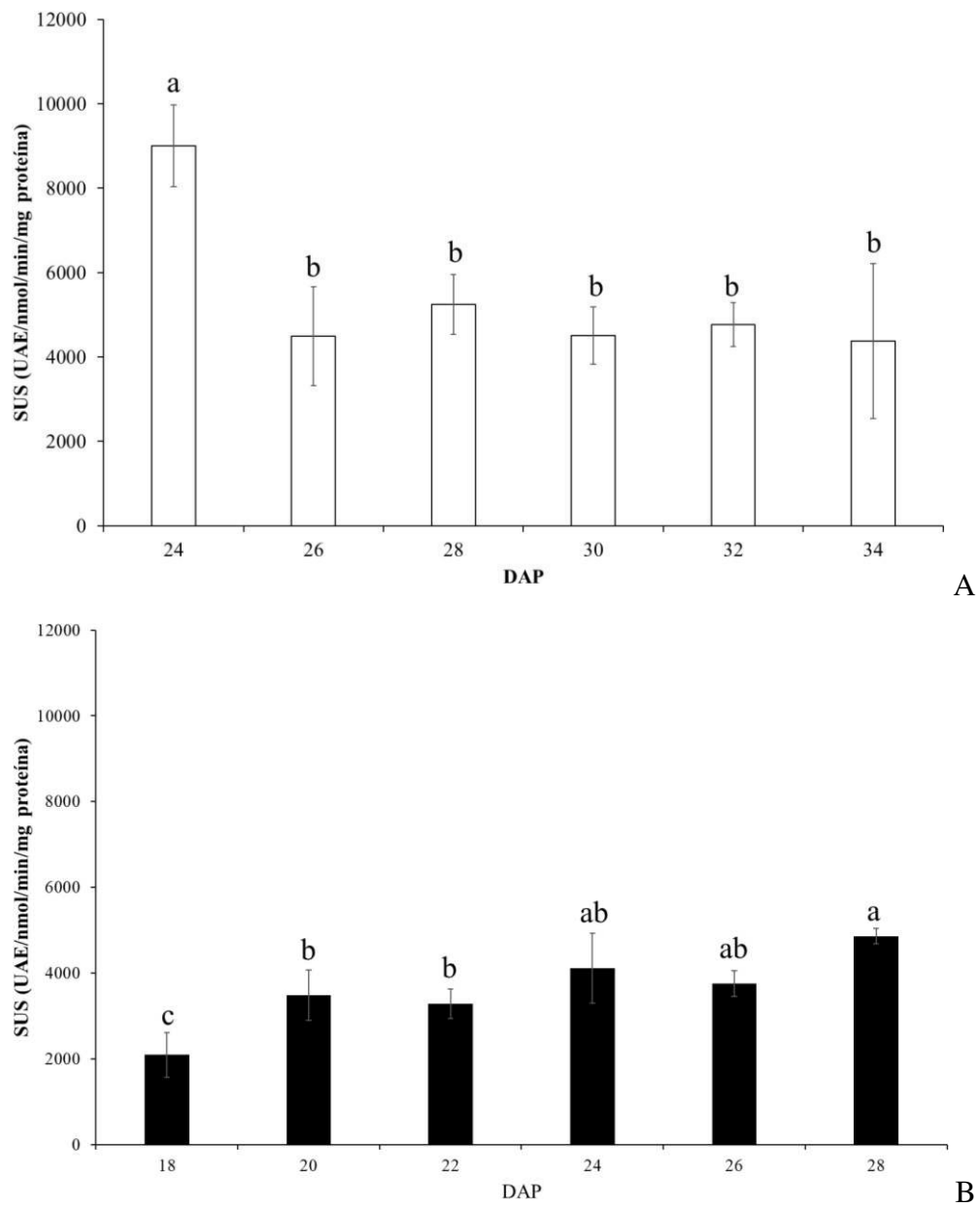


A atividade da enzima sacarose sintase (SUS) é associada à síntese e clivagem da sacarose e nos frutos da variedade A5 *inodorus* (Figura 7A), foi máxima aos 24 DAP com 9004,0 UAE /mg P, decaindo e se mantendo constante a partir de então. Enquanto nos frutos da variedade C1 *cantalupensis*, a atividade da SUS aumentou de forma gradativa e significativa até os 28 DAP para 4862,6 UAE /mg P (Figura 7B).

A SUS é uma enzima que catalisa uma reação reversível de síntese ou clivagem entre a sacarose e UDP-glicose e frutose. Portanto, essa queda na atividade da SUS indica que a SPS é a principal responsável pela produção de sacarose nos melões A5 *inodorus*, enquanto nos frutos C1 *cantalupensis*, o aumento na atividade da SUS não está associada a produção de sacarose, mas provavelmente de glicose e frutose.

Em melões das cultivares Yuxue e Yujinxiang, a atividade de clivagem da SUS aumentou até os 10 DAA e em seguida, diminuiu em ambas as cultivares, sendo esse comportamento de queda considerado comum em cucurbitáceas (YANG *et al.* 2019). Em melões das cultivares Faqqous e Black Skin, a atividade da SUS se mantém baixa ao longo do desenvolvimento enquanto em *Cucumis sativus* L., a atividade de SUS é alta nos estádios iniciais de amadurecimento e depois é reduzida (Burguer e Schaffer, 2007). Em frutos de outras espécies com padrão de amadurecimento não climatéricos, há relatos de aumento da atividade da SUS como morango (LUO *et al.* 2020) e abacaxi (ZHANG *et al.* 2019).

Figura 7 - Atividade específica da enzima Sacarose Sintase (SUS) da polpa de melões da variedade A5 *inodorus* (A) e C1 *cantalupensis* (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).



A enzima invertase é responsável pela hidrólise da sacarose em glicose e frutose e pode apresentar isoformas de acordo com o pH do compartimento celular onde ocorre a atividade, como a invertase neutra em espaços intracelulares e a invertase ácida nos vacúolos e parede celular.

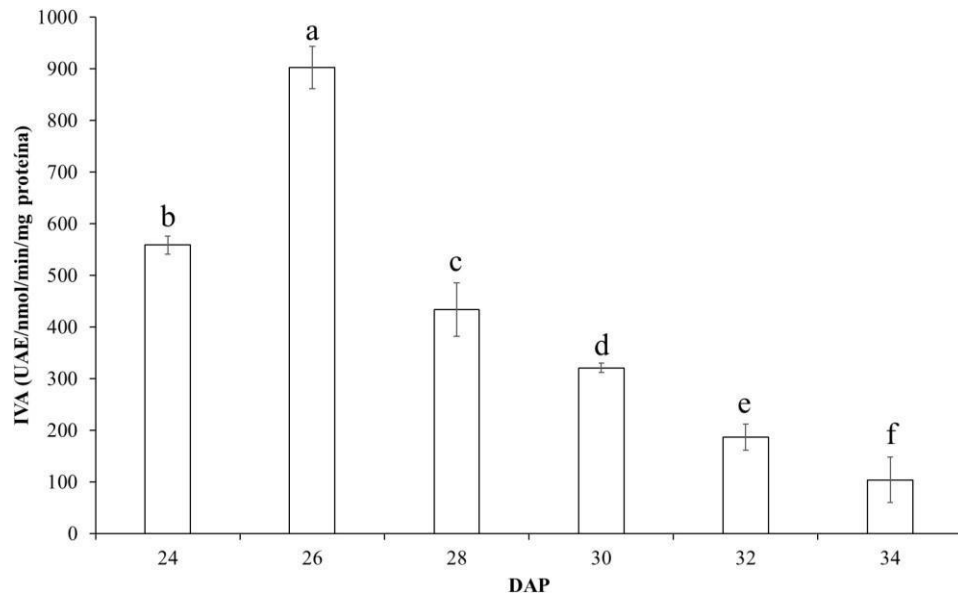
A atividade da invertase ácida (IVA) na variedade A5 *inodorus* apresenta um pico aos 26 DAP com 902,2 UAE /mg P e depois, reduziu até os 34 DAP quando atinge 103,6 UAE /mg P (Figura 8A). De forma contrária, a atividade da IVA aumentou na variedade C1 *cantalupensis* até os 24 DAP com 481,9 UAE /mg P (Figura 8B), seguida por uma redução aos 26 DAP e novo aumento aos 28 DAP.

A atividade da enzima invertase neutra (IVN) é responsável pela clivagem de sacarose em espaços intracelulares como citosol e mitocôndria e na variedade A5 *inodorus*, seu máximo foi alcançado aos 24 DAP com 357,8 UAE /mg P, porém valores estatisticamente semelhantes foram observados até os 30 DAP, quando começou a decair até os 34 DAP com 79,7 UAE /mg P (Figura 9A). Em contrapartida, na variedade C1 *cantalupensis* (Figura 9B), a atividade da IVN aumentou até atingir um pico aos 24 DAP com 321,4 UAE /mg P. descendo em seguida.

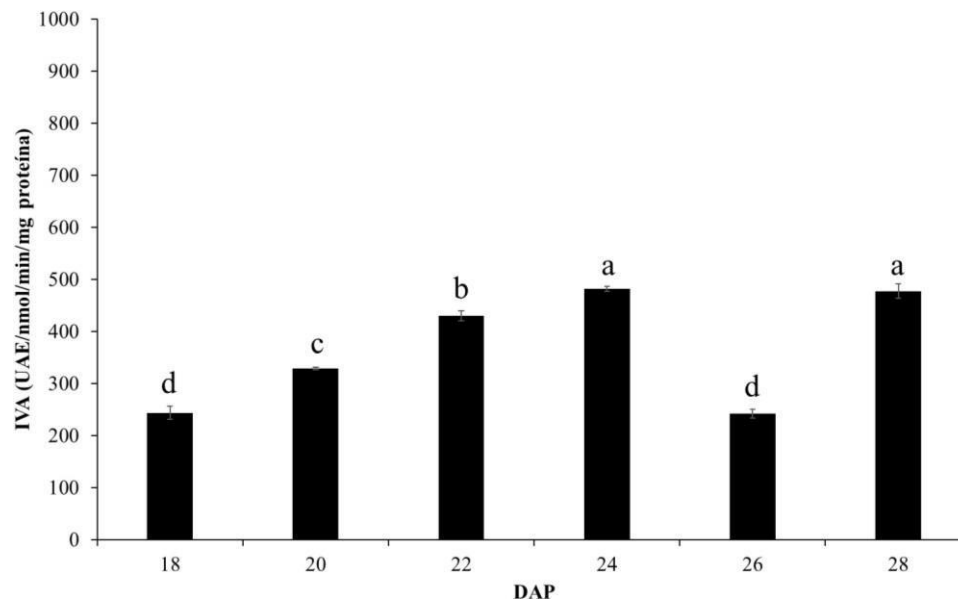
Os resultados observados para a variedade A5 *inodorus* (Figura 9A), a elevada atividade de IVN no início da maturação indica a hidrólise da sacarose em frutose e glicose para que haja produção de energia para o desenvolvimento do fruto, mas no final da maturação aos 34 DAP, as atividades da IVA e IVN estariam em declínio enquanto a atividade SPS aumenta resultando em aumento no conteúdo de sacarose. Estudos com melões publicados por Schemberger *et al.* (2020), Zhang e Li (2005), e Matsumoto *et al.*, (2010) corroboram com os resultados encontrados para a variedade A5 *inodorus* na presente pesquisa. Em uma pesquisa com abacaxi, um fruto não-climatérico, a atividade da IVN aumentou de 20 a 40 DAA e posteriormente, diminuiu até os 100 DAA (ZHANG *et al.* 2019), comportamento semelhante ao que ocorreu com os frutos da variedade A5 *inodorus*.

Em frutos climatéricos de melão, a IVA pode justificar as perdas pós-colheita no conteúdo de sacarose pois quando este dissacarídeo é hidrolisado pela atividade das invertases, ocorre a produção de ácidos orgânicos que contribuem para a diminuição no dulçor do fruto (Saladié *et al.*, 2015). o que poderia explicar a ausência de sacarose nos frutos da variedade C1 *cantalupensis*.

Figura 8 - Atividade específica das enzimas Invertase Ácida (IVA) da polpa de melões da variedade A5 *inodorus* (A) e C1 *cantalupensis* (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).

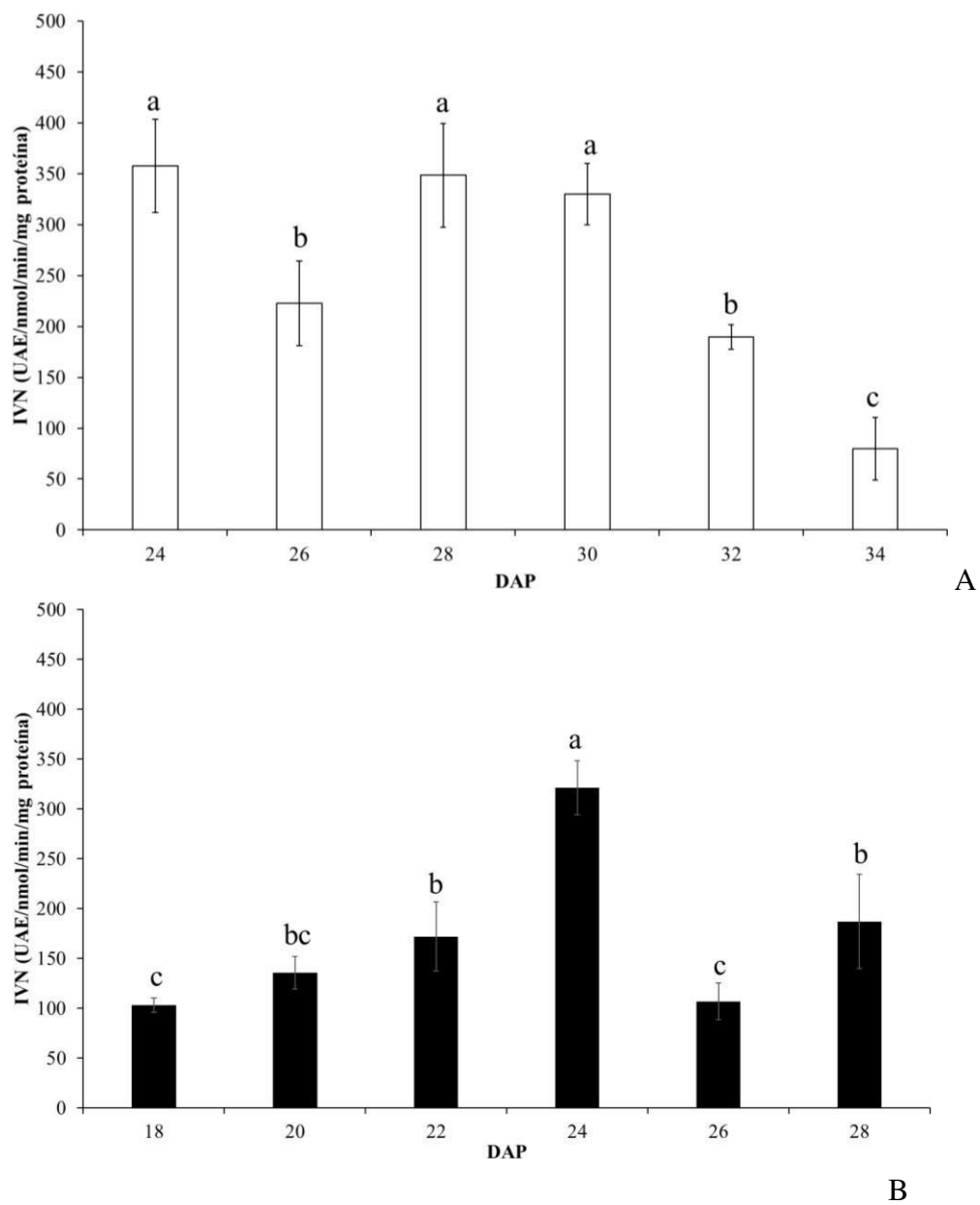


A



B

Figura 9 - Atividade específica das enzimas Invertase Neutra (IVN) da polpa de melões da variedade A5 *inodorus* (A) e C1 *cantalupensis* (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP).



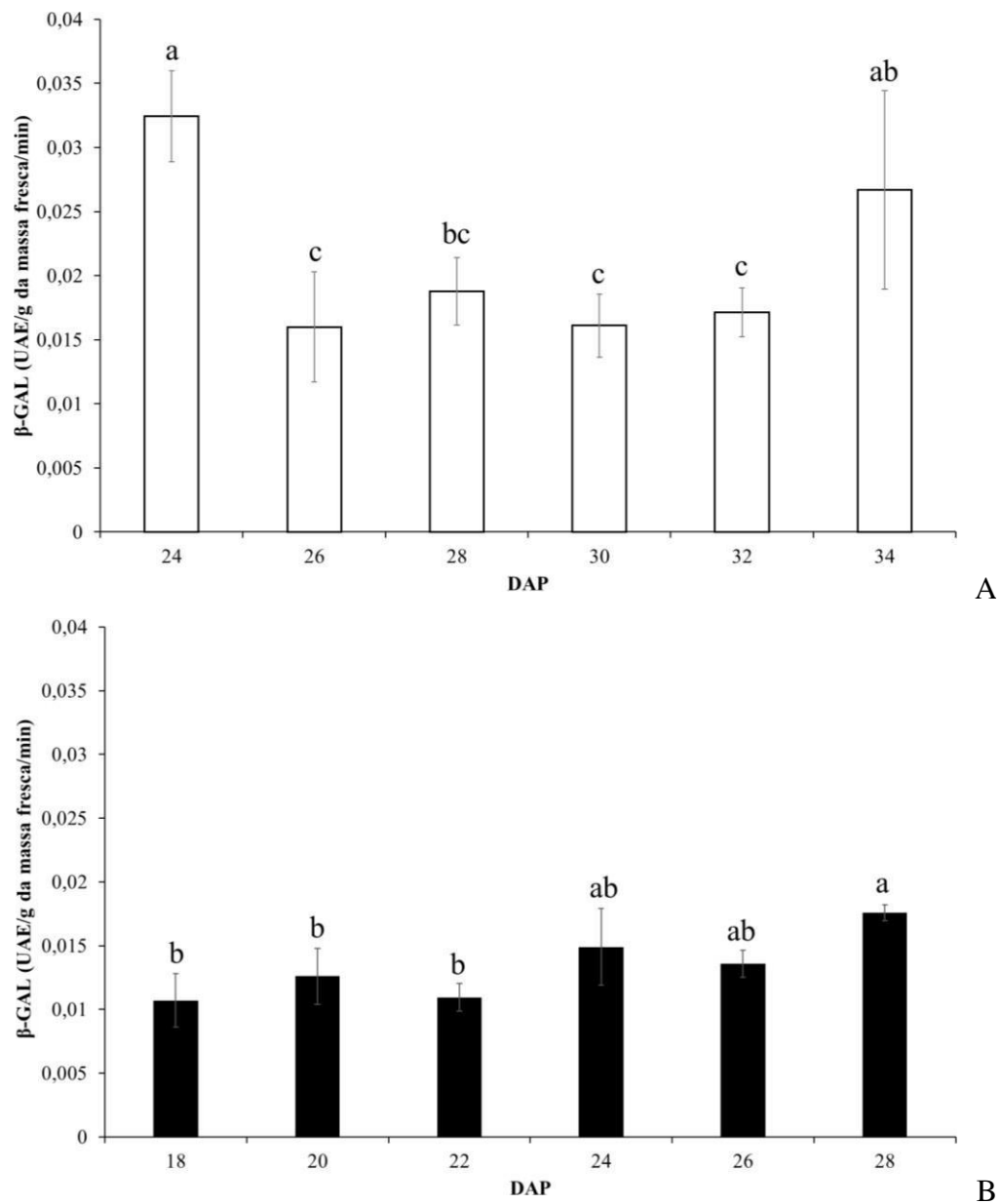
A β -galactosidade (β -Gal) é uma enzima que hidrolisa a lactose em glicose e galactose, desempenhando um papel importante no metabolismo de açúcares durante o processo de amadurecimento por catalizar uma reação que causa alterações na parede celular. A atividade da enzima β -galactosidase foi inicialmente alta em melões A5 *inodorus* com 0,032 UAE /mg P aos 24 DAP e depois decaiu, voltando novamente a aumentar aos 34 DAP para 0,027 UAE /mg P (Figura 10A). Para os frutos da variedade C1 *cantalupensis*, a atividade aumentou lentamente até atingir um pico aos 28 DAP com 0,018 UAE /mg P (Figura 10B).

Nos melões da variedade A5 *inodorus*, o aumento a atividade da β -Gal aos 34 DAP indica que as paredes celulares sofreram modificações nos estádios finais da maturação, levando ao amaciamento. Essa observação corrobora os resultados de Franca (2019), que demonstrou que os frutos A5 apresentaram a menor firmeza (15 N), aos 34 DAP. Em pimenta, a atividade da β -Gal aumentou significativamente ao longo do amadurecimento, atingindo um pico com uma atividade sete vezes maior e resultando no amaciamento devido às modificações na parede celular (TAN *et al.* 2012).

Comportamento diferente ocorre na variedade C1 *cantalupensis*, com crescente atividade da β -Gal ao longo do processo de amadurecimento, o que também pode significar que a parede celular dos frutos desta variedade sofreram modificações com o avanço dos níveis da atividade enzimática. A firmeza foi menor aos 22 DAP (28 N) e se manteve baixa após esse período (FRANCA, 2019). Isto pode ser explicado pelo fato que geralmente a atividade desta enzima aumenta com o processo de amadurecimento dos frutos.

Zhou *et al.* (2022), observaram que em frutos do mamoeiro, a β -Gal tem uma tendência de crescimento durante os dias de armazenamento pós-colheita, corroborando, com os achados na pesquisa atual. Gerardi *et al.* (2012) relataram um aumento da atividade da β -Gal até o estágio maduro de cerejas e destacaram que a β -Gal foi a principal enzima responsável pelas alterações da parede celular durante o amadurecimento destes frutos, validando os resultados encontrados aqui.

Figura 10 - Atividade específica da enzima β -galactosidase (β -GAL) da polpa de melões da variedade A5 *inodorus* (A) e C1 *cantalupensis* (B) colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP)



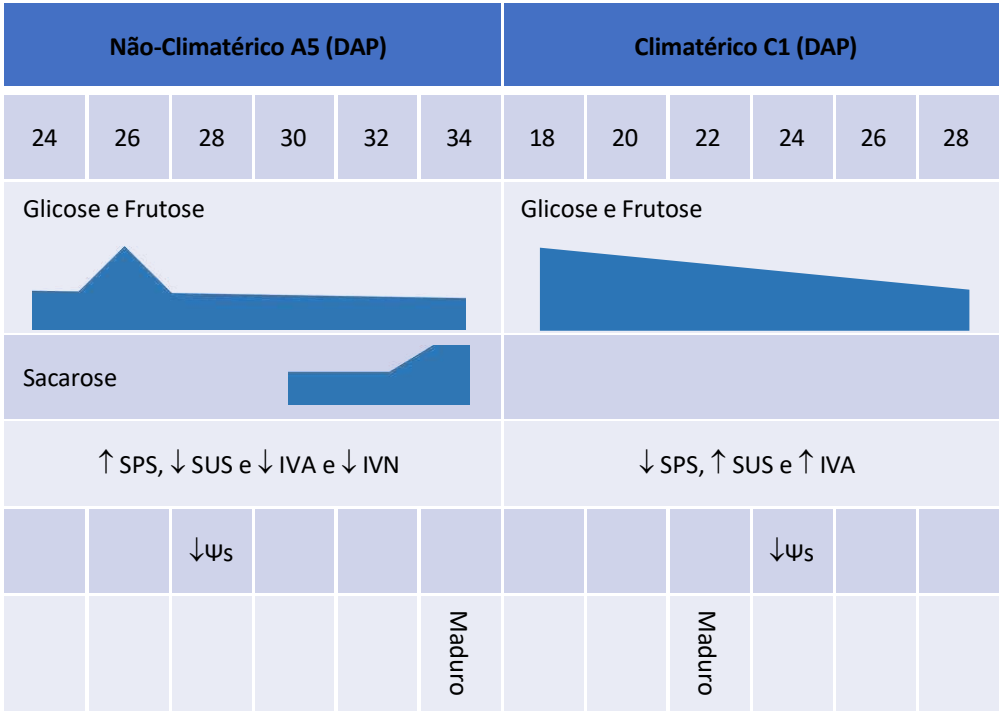
6 CONCLUSÃO

Nos frutos não-climatéricos da variedade A5 *inodorus*, constatou-se que o maior acúmulo de sacarose ocorreu aos 34 DAP, não estando aparentemente associado ao Ψ_s que foi menor aos 28 DAP ou ao extravasamento de eletrólitos que foi máximo ao 26 DAP. Os resultados indicam que as enzimas SUS, INVA e INVN estão associadas ao maior acúmulo de glicose e frutose no início da maturação enquanto a enzima SPS é a principal responsável pelo acúmulo de sacarose com o amadurecimento, que se completa aos 34 DAP. Enquanto isso, a enzima β -GAL provavelmente está associada às modificações da parede celular durante o amadurecimento.

Os frutos climatéricos da variedade C1 *cantalupensis* não apresentaram acúmulo de sacarose e exibiram níveis decrescentes de glicose e frutose, que aparentemente não estavam associados ao Ψ_s que atingiu seu ponto mais negativo aos 24 DAP ou ao extravasamento de eletrólitos que se manteve constante após os 24 DAP, indicativos que o amadurecimento ocorreu após os 22 DAP. A não detecção de sacarose pode ser associada a baixa e constante atividade de síntese da SPS e aos níveis altos de atividade hidrolítica da SUS, INVA e INVB que contribuíram para o acúmulo de glicose e frutose. Nesses frutos, a enzima β -GAL também deve estar associada às modificações da parede celular durante o amadurecimento.

Os resultados evidenciaram que as enzimas que participam do metabolismo de carboidratos, influenciam diretamente o processo de maturação tanto nos frutos não-climatéricos da variedade A5 *inodorus* quanto nos frutos climatéricos da variedade C1 *cantalupensis* ocorre (Figura 11).

Figura 11- Metabolismo de açúcares durante o amadurecimento de melões da variedade *A5 inodorus* e *C1 cantalupensis*.



REFERÊNCIAS

- ANDRADE, I. S.; MELO, C. A. F. de; NUNES, G. H. de S.; HOLANDA, I. S. A.; GRANGEIRO, L. C.; CORRÊA, R. X. Morphoagronomic genetic diversity of brazilian melon accessions based on fruit traits. **Scientia Horticulturae**, v. 243, p. 514–523, 2019.
- ARAGÃO, F. A. S.; CELIN, E. F.; SILVA, J. C. V.; NUNES, G. H. S.; QUEIRÓZ, M. A. Melhoramento genético e biotecnologia no meloeiro. *In*: GUIMARÃES, M. A.; ARAGÃO, F. A. S. (Org.). **Produção de melão**. Viçosa: Editora UFV, p. 63-82, 2019.
- BAN, Q.; HAN, Y.; HE, Y.; JIN, M.; HAN, S.; SUO, J.; RAO, J. Functional characterization of persimmon β -galactosidase gene DkGAL1 in tomato reveals cell wall modification related to fruit ripening and radicle elongation. **Plant Science**, v. 274, p. 109-120, 2018.
- BAO, A. K.; WANG, Y. W.; XI, J. J.; LIU, C.; ZHANG, J. L.; WANG, S. M. Co-expression of xerophyte *Zygophyllum xanthoxylum* ZxNHX and ZxVP1-1 enhances salt and drought tolerance in transgenic *Lotus corniculatus* by increasing cations accumulation. **Functional Plant Biology**, v. 41, p. 203-214, 2014.
- BASSON, C.E.; GROENEWALD, J-H.; KOSSMANN, J.; CRONJÉ, C.; BAUER, R. Sugar and acid-related quality attributes and enzyme activities in strawberry fruits: invertase is the main sucrose hydrolyzing enzyme. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 1156-1162, 2010.
- BAYRAKTAR, H.; ÖNAL, S. Concentration and purification of α -galactosidase from watermelon (*Citrullus vulgaris*) by three phase partitioning. **Separation And Purification Technology**, v. 118, p. 835-841, 2013.
- BIANCHI, T.; GUERREIRO, L.; WEESEPOEL, Y.; ARGYRIS, J.; KOOT, A.; RATACÓS- CUBARSÍ, M.; GARCIA-MAS, J.; VAN RUTH, S.; HORTÓS, M. Linking sensory and proton transfer reaction–mass spectrometry analyses for the assessment of melon fruit (*Cucumis melo* L.) quality traits. **European Food Research and Technology**, v. 246, n. 7, p. 1439-1457, 2020.
- BONDADA, B.; HARBERTSON, E.; SHRESTHA, P. M.; KELLER, M. Temporal Extension of ripening beyond its physiological limits imposes physical and osmotic challenges perturbing metabolism in grape (*Vitis vinifera* L.) berries. **Scientia Horticulturae**, v. 219, p. 135-143, 2017.
- BRAUN, D. M.; WANG, L.; RUAN, Y.-L. Understanding and manipulating sucrose phloem loading, unloading, metabolism, and signaling to enhance crop yield and food security. **Journal Of Experimental Botany**, v. 65, n. 7, p. 1713-1735, 2014.
- BURGER, Y.; SCHAFFER, A. A. The contribution of sucrose metabolism enzymes to sucrose accumulation in *Cucumis melo*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 132, n. 5, p. 704–712, 2007.
- CARVALHO, C.; KIST, B. B.; BELING, R. R. **Anuário Brasileiro de Horti&Fruti 2020**. Santa Cruz do Sul. Editora Gazeta Santa Cruz, p. 96, 2019.
- CHATTERJEE, A.; DHAL, S.; PAL, H. Insight into the regulatory network of miRNA to

unravel the ripening physiology of climacteric and non-climacteric fruits. **Plant Gene**, v. 28, p. 1-20, 2021.

CHEN, H.; CHENG, J.; HUANG, Y.; KONG, Q.; BIE, Z. Comparative analysis of sugar, acid, and volatile compounds in CPPU-treated and honeybee-pollinated melon fruits during different developmental stages. **Food Chemistry**, v. 401, p. 134072, 2023.

CHEN, Y.; GRIMPLET, J.; DAVID, K.; CASTELLARIN, S. D.; TEROL, J.; WONG, D. C.J.; LUO, Z.; SCHAFFER, R.; CELTON, J.; TALON, M. Ethylene receptors and related proteins in climacteric and non-climacteric fruits. **Plant Science**, v. 276, p. 63-72, 2018.

CHERVIN, C. Should Starch Metabolism Be a Key Point of the Climacteric vs. Non-climacteric Fruit Definition? **Frontiers In Plant Science**, v. 11, p. 1-4, 2020.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, B. F. **Tecnologia e Qualidade Pós-colheita de Frutas e Hortaliças**. Lavras: UFLA, 783 p, 2005.

COSTA, N. D. **A cultura do melão**. 3. Ed. Brasília: Embrapa, 2017. 202 p.

DAI, N.; COHEN, S.; PORTNOY, V.; TZURI, G.; HAREL-BEJA, R.; POMPAN-LOTAN, M.; CARMI, N.; ZHANG, G.; DIBER, A.; POLLOCK, S. Metabolism of soluble sugars in developing melon fruit: a global transcriptional view of the metabolic transition to sucrose accumulation. **Plant Molecular Biology**, v. 76, n. 1-2, p. 1-18, 2011.

DUAN, Yaoke; YANG, Lan; ZHU, Haijia; ZHOU, Jie; SUN, Hao; GONG, Haijun. Structure and Expression Analysis of Sucrose Phosphate Synthase, Sucrose Synthase and Invertase Gene Families in *Solanum lycopersicum*. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 4698. 2021.

DURÁN-SORIA, S.; POTT, D. M.; OSORIO, S.; VALLARINO, J. G. Sugar Signaling During Fruit Ripening. **Frontiers In Plant Science**, v. 11, p. 1-18. 2020.

ENDL, J.; ACHIGAN-DAKO, E. G.; PANDEY, A. K.; MONFORTE, A. J.; PICO, B.; SCHAEFER, H. Repeated domestication of melon (*Cucumis melo*) in Africa and Asia and a new close relative from India. **American Journal Of Botany**, v. 105, n. 10, p. 1662-1671, 2018.

ESFERAS, C., RAMBLA, J., SÁNCHEZ, G., LÓPEZ-GRESA, P., GONZÁLEZ-MAS, M., FERNANDÉZ-TRUJILLO, J., BELLÉS, J., GRANELL, A., PICÓ, M. Fruit flesh volatile and carotenoid profile analysis within the *Cucumis melo* L. species reveals unexploited variability for future genetic breeding. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, p. 3915–3922, 2018.

FAO. **FAOSTAT**: Production quantities of melons by country. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Acesso em: 20 nov. 2023.

FRANCA, R.X. **Fisiologia do amadurecimento de variedades climatéricas e não-climatéricas do melão (*Cucumis melo* L.)**. Dissertação de mestrado apresentada no Programa de Pós-graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará. 2019.

GAO, G.; DUAN, X.; JIANG, H.; YANG, F.; QI, H. CmMYB113 regulates ethylene-dependent sucrose accumulation in postharvest climacteric melon fruit. **Postharvest Biology And Technology**, v. 181, p. 111682, 2021.

GERARDI, C.; BLANDO, F.; SANTINO, A. Purification and chemical characterization of a cell wall-associated β -galactosidase from mature sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit. **Plant Physiology And Biochemistry**, v. 61, p. 123-130, 2012.

GÓMEZ-GARCÍA, R.; CAMPOS, D. A.; AGUILAR, C. N.; MADUREIRA, A. R.; PINTADO, M. Valorization of melon fruit (*Cucumis melo* L.) by-products: phytochemical and biofunctional properties with emphasis on recent trends and advances. **Trends In Food Science & Technology**, v. 99, p. 507-519, 2020.

GUERRA, Amilton G. **Melão**. Clube de Autores (managed), 2020.

GUIMARÃES, B. R.; ARAÚJO, A. R. R.; GALVÃO, J. R.; PACHECO, M. J. B.; SOUZA, F. J. L.; CARDOSO, A. T. A.; ALMEIDA, G. V. Caracterização e produção dos frutos de meloeiro (*Cucumis melo* L.) influenciados por adubação. **Revista Ibero- Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 1, p. 289-299. 2020.

GUO, S.; SONG, J.; ZHANG, B.; JIANG, H.; MA, R.; YU, M. Genome-wide identification and expression analysis of beta-galactosidase family members during fruit softening of peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. **Postharvest Biology And Technology**, v. 136, p. 111-123, 2018.

HUAN, C.; HAN, S.; JIANG, L.; AN, X.; YU, M.; XU, Y.; MA, R.; YU, Z. Postharvest hot air and hot water treatments affect the antioxidant system in peach fruit during refrigerated storage. **Postharvest Biology And Technology**, v. 126, p. 1-14, 2017.

HUANG, Y.; LI, W.; ZHAO, L.; SHEN, T.; SUN, J.; CHEN, H.; KONG, Q.; NAWAZ, M. A.; BIE, Z. Melon fruit sugar and amino acid contents are affected by fruit setting method under protected cultivation. **Scientia Horticulturae**, v. 214, p. 288-294, 2017.

HUBBARD, N.L.; PHARR, D. M.; HUBER, S.C. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruits of various species. **Physiologia Plantarum**, v. 82, n. 2, p. 191-196. 1991.

HUSAIN, Q. β Galactosidases and their potential applications: a review. **Critical Reviews In Biotechnology**, v. 30, n. 1, p. 41-62, 2010.

IBGE. **Produção de Melão**. 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/melao/br>. Acesso em: 20 nov. 2023.

JIA, K.; ZHANG, Q.; XING, Y.; YAN, J.; LIU, L.; NIE, K. A Development-Associated Decrease in Osmotic Potential Contributes to Fruit Ripening Initiation in Strawberry (*Fragaria ananassa*). **Frontiers In Plant Science**, v. 11, p. 1-14, 2020.

KALEEM, M. M.; NAWAZ, M. A.; ALAM, S. M.; DING, X.; CHENG, J.; BIE, Z. Rootstock-scion interaction mediated impact on fruit quality attributes of thick-skinned melon during

storage under different temperature regimes. **Scientia Horticulturae**, v. 312, p. 1-13, 2023.

KIRKBRIDE, J. J. H. **Biosystematics monograph of the genus *Cucumis*** (Cucurbitaceae): botanical identification of cucumbers and melons. North Carolina: Parkway, 1993. 159p.

KITAGAWA, Y.; KANAYAMA, Y.; YAMAKI, S. Isolation of β -galactosidase fractions from Japanese pear: activity against native cell wall polysaccharides. **Physiologia Plantarum**, v.93, n.3, p. 545-550, 1995.

KLOTZ, K.L.; FINGER, F.L.; SHELVER, W.L. Characterization of two sucrose synthase isoforms in sugarbeet root. **Plant Physiology And Biochemistry**, v. 41, n. 2, p. 107-115, 2003.

LEIDA, C.; MOSER, C.; ESTERAS, C.; SULPICE, R.; LUNN, J.; LANGEN, F.; MONFORTE, A. J.; PICÓ, B. Variability of candidate genes, genetic structure and association with sugar accumulation and climacteric behavior in a broad germplasm collection of melon (*Cucumis melo* L.). **BMC Genetics**, Valencia, v. 16, n. 1, p. 1- 17. 2015.

LI, Y.; DUAN, N.; WU, X.; YANG, S.; TIAN, H.; SUN, B. Novel fluorescent probe for the ratiometric detection of β -galactosidase and its application in fruit. **Food Chemistry**, v. 328, p. 127112,. 2020.

LI, Z.; YAO, L.; YANG, Y.; LI, A. Transgenic approach to improve quality traits of melon fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 3, p. 268-277, 2006.

LIMA, R. E.M.; FARIAS, L. F. de L.; FERREIRA, J. F.; SUAREZ, D. L.; BEZERRA, M. A. Translocation of photoassimilates in melon vines and fruits under salinity using ^{13}C isotope. **Scientia Horticulturae**, v. 274, p. 1-11. 2020.

LUO, J.; PENG, F.; ZHANG, S.; XIAO, Y.; ZHANG, Y. The protein kinase FaSnRK1 α regulates sucrose accumulation in strawberry fruits. **Plant Physiology And Biochemistry**, v. 151, p. 369-377. 2020.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2022/23 a 2032/33** Projeções de Longo Prazo. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/producao-de-graos-brasileira-devera-chegar-a-390-milhoes-de-toneladas-nos-proximos-dez-anos/ProjeesdoAgronegcio20232033.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2023.

MATSUMOTO, J.; GOTO, H.; KANO, Y.; KIKUCHI, A.; UEDA, H.; NAKATSUBO, Y. Effects of Nighttime Heating on Cell Size, Acid Invertase Activity, Sucrose Phosphate Synthase Activity, and Sugar Content of Melon Fruit. **Journal Of The American Society For Horticultural Science**, v. 135, n. 6, p. 501-505. 2010.

MCCREIGHT, J. D.; NERSON, H.; GRUMET, R. Melon, *Cucumis melo* L. In: KALLOS, G.; BERGH, B.O. (Ed.). **Genetic improvement of vegetable crops**. New York: Pergamon, 1993.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, p. 426-428, 1959.

MOHEBBI, S.; BABALAR, M.; ZAMANI, Z.; ASKARI, M. A. Influence of early season boron spraying and postharvest calcium dip treatment on cell-wall degrading enzymes and fruit firmness in 'Starking Delicious' apple during storage. **Scientia Horticulturae**, v. 259, p. 108822. 2020.

MOING, A.; ALLWOOD, J. W.; AHARONI, A.; BAKER, J.; BEALE, M. H.; BEN-DOR, S.; BIAIS, B.; BRIGANTE, F.; BURGER, Y.; DEBORDE, C. Comparative Metabolomics and Molecular Phylogenetics of Melon (*Cucumis melo*, Cucurbitaceae) Biodiversity. **Metabolites**, v. 10, n. 3, p. 121, 2020.

OLIVEIRA, F. I. C.; NUNES, A.; SILVA, F.; SILVA, G.; DE ARAGAO, F. A. S. A cultura do melão. In: Alice. **Embrapa Agroindústria Tropical-Capítulo em Livro Científico**, 2017.

OZAKI, K.; UCHIDA, A.; TAKABE, T.; SHINAGAWA, F.; TANAKA, Y.; TAKABE, T.; HAYASHI, T.; HATTORI, T.; RAI, A. K.; TAKABE, T. Enrichment of sugar content in melon fruits by hydrogen peroxide treatment. **Journal Of Plant Physiology**, v. 166, n. 6, p. 569-578. 2009.

PARIS, H.S.; SCHAFFER, A.A. Cucurbitaceae Melons, Squash, Cucumber. **Encyclopedia Of Applied Plant Sciences**, p.209-217, 2017.

RASTEGAR, S.; RAHEMI, M.; BAGHIZADEH, A.; GHOLAMI, M. Enzyme activity and biochemical changes of three date palm cultivars with different softening pattern during ripening. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1279-1286, 2012.

SALADIÉ, M.; CAÑIZARES, J.; PHILLIPS, M. A.; RODRIGUEZ- CONCEPCION, M.; LARRIGAUDIÈRE, C.; GIBON, Y.; STITT, M.; LUNN, J. E.; GARCIA-MAS, J. Comparative transcriptional profiling analysis of developing melon (*Cucumis melo* L.) fruit from climacteric and non-climacteric varieties. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 1-20, 2015.

SANTOS, T. C.; AGUIAR, F. S.; RODRIGUES, M. L. M.; MIZOBUTSI, G. P.; PINHEIRO, J. M. S. Quality of bananas harvested at different development stages and subjected to cold storage. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 48, n. 2, p. 90-97, 2018.

SCHEMBERGER, M.O.; STROKA, M. A.; REIS, L.; LOS, K. K. S.; ARAUJO, G. A. T.; SFEIR, M. Z. T.; GALVÃO, C.W.; ETTO, R. M.; BAPTISTÃO, A. R. G.; AYUB, R. A. Transcriptome profiling of non-climacteric 'yellow' melon during ripening: insights on sugar metabolism. **BMC Genomics**, v. 21, n. 1, p. 1-20, 30. 2020.

SILVA, M. A.; ALBUQUERQUE, T. G.; ALVES, R. C.; OLIVEIRA, M. B. P.P.; COSTA, H. S. Melon (*Cucumis melo* L.) by-products: potential food ingredients for novel functional foods? **Trends In Food Science & Technology**, v. 98, p. 181-189, 2020.

STROKA, M. A.; SCHEMBERGER, M. O.; AYUB, R. A. Sugar Metabolism in Climacteric and Non-Climacteric Melon. **Annual Plant Reviews Online**, p. 243-262, 2021.

TAIZ, L. ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**.

6. ed. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2017. 858 p.

TAN, C. K.; ALI, Z. M.; ZAINAL, Z. Changes in ethylene production, carbohydrase activity and antioxidant status in pepper fruits during ripening. **Scientia Horticulturae**, v. 142, p. 23- 31, 2012.

TOMIYAMA, S.; YAKUSHIJI, H.; OSAWA, M.; YANAGIDA, K.; SATO, N.; MATSUMOTO, Y.; IKEDA, T. Active Sugar Accumulation and Water Status of Watermelon Fruit Grown under Different Nutrient Concentrations in Hydroponic Culture. **Hortscience**, v. 58, n. 5, p. 488-494, 2023.

TURNER, N. C. Turgor maintenance by osmotic adjustment, an adaptive mechanism for coping with plant water deficits. **Plant, Cell & Environment**, v. 40, n. 1, p. 1-3, 2017.

VAN HANDEL, E. Direct Microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, Florida, v. 22, p. 280-283, 1968.

WANG, Z.; WEI, P.; WU, M.; XU, Y.; LI, F.; LUO, Z.; ZHANG, J.; CHEN, A.; XIE, X.; CAO, P. Analysis of the sucrose synthase gene family in tobacco: structure, phylogeny, and expression patterns. **Planta**, v. 242, n. 1, p. 153-166, 19. 2015.

WU, Z.; SHI, Z.; YANG, X.; XIE, C.; XU, J.; YU, Z. Comparative metabolomics profiling reveals the molecular information of whole and fresh-cut melon fruit (cv. Xizhoumi-17) during storage. **Scientia Horticulturae**, v. 296, p. 1-12, 2022.

WU, Z.; TU, M.; YANG, X.; XU, J.; YU, Z. Effect of cutting on the reactive oxygen species accumulation and energy change in postharvest melon fruit during storage. **Scientia Horticulturae**, v. 257, p. 108752, 2019.

XU, X.; YANG, Y.; LIU, C.; SUN, Y.; ZHANG, T.; HOU, M.; HUANG, S.; YUAN, H. The evolutionary history of the sucrose synthase gene family in higher plants. **BMC Plant Biology**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 1-14, 2019.

YADAV, A.; KAYASTHA, A. M. Lens culinaris β -galactosidase (*Lsbgal*): insights into its purification, biochemical characterization and trisaccharide synthesis. **Bioorganic Chemistry**, v. 95, p. 103543, 2020.

YANG, L.; CHEN, J.; SUN, X.; LI, J.; CHEN, N. Inhibition of sucrose and galactosyl-sucrose oligosaccharide metabolism in leaves and fruits of melon (*Cucumis melo* L.) under low light stress. **Scientia Horticulturae**, v. 244, p. 343- 351, 2019.

ZHANG, H.; WANG, H.; YI, H.; ZHAI, W.; WANG, G.; FU, Q. Transcriptome profiling of *Cucumis melo* fruit development and ripening. **Horticulture Research**, v. 3, n. 1, p. 1-10, 27. 2016.

ZHANG, M. A comparison of sugar-accumulating patterns and relative compositions in developing fruits of two oriental melon varieties as determined by HPLC. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 785-790, 2005.

ZHANG, X.M.; LIU, S.H.; DU, L.Q.; YAO, Y.L.; WU, J.Y. Activities, transcript levels, and

subcellular localizations of sucrose phosphate synthase, sucrose synthase, and neutral invertase and change in sucrose content during fruit development in pineapple (*Ananas comosus*). **The Journal Of Horticultural Science And Biotechnology**, v. 94, n. 5, p. 573-579, 22. 2019.

ZHOU, Y.; HU, L.; CHEN, Y.; LIAO, L.; LI, R.; WANG, H.; MO, Y.; LIN, L.; LIU, K. The combined effect of ascorbic acid and chitosan coating on postharvest quality and cell wall metabolism of papaya fruits. **LWT**, v. 171, p. 1-11, 2022.

ZHU, Y. J; KOMOR, E.; MOORE, P. H. Sucrose Accumulation in the Sugarcane Stem is Regulated by the Difference between the Activities of Soluble Acid Invertase and Sucrose Phosphate Synthase. **Plant Physiology**, v. 115, p. 609-616, 1997.