



ADALVAN DANIEL MARTINS

**INDUÇÃO DE ESTRESSES SALINO E HÍDRICO *IN VITRO*
EM BANANEIRA: ABORDAGEM FITOTÉCNICA,
FISIOLÓGICA E BIOTECNOLÓGICA**

LAVRAS-MG

2016

ADALVAN DANIEL MARTINS

**INDUÇÃO DE ESTRESSES SALINO E HÍDRICO *IN VITRO* EM BANANEIRA:
ABORDAGEM FITOTÉCNICA, FISIOLÓGICA E BIOTECNOLÓGICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Moacir Pasqual

Orientador

Profa. Dra. Leila Aparecida Salles Pio

Dr. Lionel Xavier Dupuy

Coorientadores

LAVRAS-MG

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Martins, Adalvan Daniel.

Indução de estresse salino e hídrico *in vitro* em bananeira :
abordagem fitotécnica, fisiológica e biotecnológica / Adalvan
Daniel Martins. - 2016.

139 p. : il.

Orientador(a): Moacir Pasqual.

Coorientador(a): Leila Aparecida Salles Pio, Lionel Xavier

Dupuy

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2016.

Bibliografia.

1. Estresse salino e hídrico. 2. Cultivo *in vitro*. 3. Fisiologia do
Estresse. I. Pasqual, Moacir . II. Pio, Leila Aparecida Salles. III.
Dupuy, Lionel Xavier. IV. Título.

ADALVAN DANIEL MARTINS

**INDUÇÃO DE ESTRESSES SALINO E HÍDRICO *IN VITRO* EM BANANEIRA:
ABORDAGEM FITOTÉCNICA, FISIOLÓGICA E BIOTECNOLÓGICA**

***IN VITRO* INDUCTION OF SALT AND WATER STRESS IN BANANA PLANT:
GROWTH, PHYSIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY APPROACH**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 09 de novembro de 2016.

Dra. Leila Aparecida Salles Pio	UFLA
Dra. Ana Cardoso Clemente Filha Ferreira de Paula	IFMG-BAMBUÍ
Dr. Roberto Alves Braga Junior	UFLA
Dr. Ângelo Albérico Alvarenga	EPAMIG
Dra. Joyce Dória Rodrigues Soares	UFLA

Prof. Dr. Moacir Pasqual
(Orientador)
UFLA

**LAVRAS-MG
2016**

*Aos meus pais Adão e Fátima.
Às minhas irmãs Fabrícia e Patrícia.
Ao meu amado sobrinho Arthur.
A todos os negros e negras, como forma de incentivar a
representatividade de pessoas negras na ciência.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu mentor espiritual, guia e provedor da vida. Agradeço pela Sua misericórdia, compaixão, ensinamentos e por me ajudar a vencer todas as adversidades e obstáculos e me fazer reconhecer a insignificância do ser humano e a importância de me tornar uma pessoa melhor.

À minha família por provarem dia após dia que sempre terei amparo, apoio e amor incondicional. Em especial aos meus pais Fátima e Adão pelo incentivo, compreensão e esforços dedicados a mim. Às minhas irmãs Fabrícia e Patrícia, ao meu cunhado Anderson e ao meu amado sobrinho Arthur pela sincera relação fraterna e de suporte emocional ímpar, além de acreditarem sempre no meu potencial e nos meus sonhos.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Agricultura pela oportunidade de realização do curso de Doutorado em Agronomia/Fitotecnia e sua contribuição para o meu crescimento profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento desse projeto, concessão da bolsa de estudos e pela oportunidade única de realizar estágio no exterior.

Ao Professor Moacir Pasqual pela orientação, presteza na solução de problemas, pela confiança em meu trabalho e por todo o suporte oferecido. À minha coorientadora, Professora Leila Pio, pelo apoio constante durante todo o planejamento, execução e análise dos experimentos, por acreditar em mim e por se tornar também uma amiga.

Agradeço também ao meu coorientador Lionel Dupuy, pela orientação, paciência, amizade, por acreditar em minha capacidade e por todo o conhecimento compartilhado durante o estágio realizado no The James Hutton Institute, Reino Unido.

Agradeço aos membros da banca examinadora, Roberto Braga, Ângelo Alvarenga, Ana Cardoso e Joyce Rodrigues por toda a contribuição que fizeram no meu trabalho e por mostrarem boa vontade e disposição em participar da minha defesa.

Aos técnicos Vantuil e Claret por todo o apoio na condução dos experimentos e por todo o suporte oferecido no laboratório. Além do sentimento de amizade e do bom humor que eles compartilham e que transformam o laboratório num local de trabalho agradável.

Agradeço a todos os amigos e amigas do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais – DAG, pelo companheirismo, pela unidade profissional sempre conectada de

maneira agradável com a relação pessoal, pelas confraternizações e momentos de descontração, meu muito obrigado a todos vocês. Obrigado João, Mirielle, Renata, Filipe, Raíssa, Neilton, Luciana, Gustavo, Felipe, Penoni, Raoni, Erivelton, Rafael, Mylena,

Agradeço ao estagiário Lucas por todo apoio na condução de todos os experimentos, pela ajuda determinante na realização desse trabalho de tese, pela amizade sincera e parceria. Aos amigos Dalíhia, Bárbara, Irton e Flávia que também me ajudaram diretamente na condução dos experimentos, além da amizade sincera compartilhada. À Fran, pelas risadas constantes, pelas brincadeiras, companheirismo e por ser uma amiga com quem posso sempre contar. À Gabi pela grande amizade e por estar sempre disposta a ajudar e por compartilhar de muitos momentos de alegria e diversão.

Meu muito obrigado à Pauly, Ramom, Rafael e Cristiene pelo elo de amizade que criamos, pelo companheirismo, pelos momentos de diversão e por sempre oferecerem o ombro amigo, vocês tornaram essa fase final e estressante do doutorado muito mais leve.

Aos amigos que fiz na Escócia e que serão sempre lembrados por mim. Obrigado Pilar, Elialdo, Peter, Moacir, Nora, Erica e a todos outros amigos que tive contato. Vocês fizeram a minha estadia ser muito mais leve e prazerosa. Vocês me instigaram a tentar a cada dia mais ser um ser humano melhor.

Agradeço à secretária Marli, às funcionárias da limpeza, Arlete e Karine, por todo auxílio, pela amizade e por estarem sempre dispostas a ajudar quando solicitado.

Aos amigos Maristela, Meire, Paola, Thiago (Guanam), Thiago (Paulista), Vanessa e Washington, meu agradecimento pela amizade que mantemos apesar da distância.

Agradeço também à minha avó, tios, tias, primos e primas pela unidade familiar e por todo apoio.

Enfim, agradeço a todos os amigos e amigas que de alguma forma contribuíram, acreditaram e torceram para que eu alcançasse mais essa vitória.

Muito obrigado a todos vocês!

RESUMO

Estresses abióticos estão entre os fatores mais limitantes do crescimento e da produtividade de plantas, sendo a salinidade e o déficit hídrico um dos principais responsáveis por essa limitação. A bananeira está entre as principais culturas produzidas no mundo e é a principal frutífera tropical cultivada no território nacional. O entendimento sobre a fisiologia e bioquímica dessa planta em relação aos mecanismos de tolerância a estresses, a identificação de cultivares tolerantes e a utilização de ferramentas como a cultura de tecidos, trazem grandes benefícios e otimização do cultivo dessa planta. Com isso, objetivou-se com esse trabalho de tese identificar cultivares de bananeira quanto à tolerância ou suscetibilidade ao estresse salino e hídrico induzido *in vitro*, baseado em parâmetros fitotécnicos, fisiológicos e em ferramentas biotecnológicas. Foram conduzidos dois experimentos: o primeiro com a indução de estresse salino *in vitro*, pela adição de 0; 0,1; 0,2 e 0,4 % (p/v) de NaCl no meio de cultura MS, nas cultivares Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória; e o segundo com a indução de estresse hídrico *in vitro* nas cultivares Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken, pela adição de 0; 2,5; 5 e 10 % (p/v) de PEG no meio de cultura MS. Após 36 dias foram avaliadas as características fitotécnicas; fisiológicas [teor relativo de água (TRA); extravasamento de eletrólitos (EE); teor de clorofila e carotenoides; razão CO₂/O₂ e CO₂/MS] e biotecnológicas [expressão da piruvato descarboxilase (somente no experimento com estresse salino); atividade biológica por biospeckle laser; conteúdo de DNA por citometria]. Com a indução do estresse salino, a cultivar Princesa apresentou redução expressiva no crescimento, alterações drásticas nos parâmetros fisiológicos, maior expressão da piruvato descarboxilase, menor atividade biológica e redução no conteúdo de DNA, em resposta ao aumento da salinidade. Por outro lado, a Vitória foi mais tolerante ao estresse, sendo a concentração de 0,1 % de NaCl benéfica para alguns parâmetros. Já as cultivares Thap Maeo e Caipira apresentaram respostas variáveis, ora demonstrando suscetibilidade, ora tolerância, sendo a primeira menos sensível ao estresse que a segunda. Além disso, pela técnica de biospeckle foi possível selecionar a raiz como sendo a melhor indicadora da atividade biológica. A indução do estresse hídrico levou a redução no crescimento e influenciou negativamente os parâmetros fisiológicos em todas as cultivares testadas. Em geral, a cultivar Tropical foi a que apresentou maior limitação no crescimento e nos parâmetros fisiológicos. A Grand Naine foi menos sensível à adição de PEG em relação aos parâmetros de crescimento, como a altura e comprimento de folha, em comparação às demais cultivares. As respostas fisiológicas das cultivares Prata Anã, Grand Naine e Pacovan Ken nas concentrações de 2,5 e 5 % de PEG foram semelhantes para a maioria das variáveis. O crescimento da parte aérea na maior concentração de PEG só foi observado na cultivar Grand Naine. Apenas a cultivar Prata Anã não apresentou redução no conteúdo de DNA com o aumento da concentração de PEG. A atividade biológica medida na raiz se correlacionou com um maior número de variáveis do que na folha. Conclui-se que a cultivar Vitória é a mais tolerante e a Princesa a mais sensível ao estresse salino induzido *in vitro*. A Tropical é a cultivar mais sensível ao estresse hídrico e a Grand Naine é a mais tolerante nessas condições de cultivo.

Palavras-chave: *Musa sp.* Cultivo *in vitro*. Cloreto de sódio. Polietilenoglicol. Biospeckle laser. Fisiologia do estresse.

ABSTRACT

Abiotic stresses are among the most limiting factors of plant growth and productivity, being salinity and water deficit the main factors responsible for this limitation. Banana plant is among the main crops produced in the world and is the main tropical fruit grown in the national territory. Understanding the physiology and biochemistry of this plant in relation to stress tolerance mechanisms, also identification of tolerant cultivars and the use of techniques such as tissue culture, it can bring great benefits and optimization on the growing of this plant. The aim with this work was to identify banana cultivars for tolerance or susceptibility to *in vitro* induced saline and water stress, based on phytotechnical, physiological and biotechnological tools. Two experiments were carried out. On the first one, salinity stress was induced *in vitro* by the addition of 0; 0.1; 0.2 and 0.4% (w / v) NaCl in the MS culture medium, in the Caipira, Princesa, Thap Maeo and Vitória cultivars. On the second experiment the induction of *in vitro* water stress in the cultivars Tropical, Grand Naine, Prata Anã and Pacovan Ken, was generated by the addition of 0; 2.5; 5 and 10% (w / v) PEG in the MS culture medium. After 36 days growth; physiological [relative water content (RWC); Electrolyte leakage (EL); chlorophyll and carotenoids content; CO₂ / O₂ and CO₂ / MS] and biotechnological [expression of pyruvate decarboxylase (saline stress experiment only); Biological activity by biospeckle laser; DNA content by cytometry] traits were evaluated. With the induction of salt stress, the cultivar Princesa showed significant reduction in growth, drastic changes in physiological parameters, higher expression of pyruvate decarboxylase, lower biological activity and reduction in DNA content, in response to increased salinity. On the other hand, Vitória cultivar was more tolerant to stress, and the concentration of 0.1% NaCl was beneficial for some parameters. The cultivars Thap Maeo and Caipira presented variable responses, either demonstrating susceptibility or tolerance, the former being less sensitive to stress than the latter one. In addition, it was possible to select the root as being the best indicator of biological activity on the biospeckle technique. The induction of water stress led to reduced growth and negatively influenced the physiological parameters in all cultivars tested. In general, the cultivar Tropical presented the larger limitation on growth and physiological parameters. Grand Naine was less sensitive to the presence of PEG in relation to growth parameters, such as leaf height and leaf length, when compared to other cultivars. Physiological responses of the cultivars Prata Anã, Grand Naine and Pacovan Ken at concentrations of 2.5 and 5% of PEG were similar for most of the variables. Shoot growth was only observed in the cultivar Grand Naine at the highest concentration of PEG. Only the cultivar Prata Anã showed no reduction in the DNA content with the increase of PEG concentration. The biological activity measured at the root correlated with a greater number of variables than on the leaf. We can conclude that Vitória is the most tolerant cultivar and Princesa is the most sensitive cultivar to salt stress induced *in vitro*. Tropical is the most sensitive cultivar to water stress and Grand Naine is the most tolerant in these growing conditions.

Keywords: *Musa sp.* *In vitro* culture. Sodium chloride. Polyethylene glycol. Biospeckle laser. Stress physiology.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1 – Ilustração do pré-teste realizado para determinação das concentrações de NaCl utilizadas no experimento. Foras testadas as concentrações de 0; 0,25; 0,5; 1 e 2% de NaCl em meio MS.....44
- Figura 2 – Sistema de determinação da atividade biológica pela técnica do Biospeckle laser, demonstração dos componentes.....48
- Figura 3 – Visualização do crescimento de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....50
- Figura 4 – Número de raízes de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....51
- Figura 5 – Comprimento de raiz (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....52
- Figura 6- Diâmetro de raiz (mm) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....52
- Figura 7- Altura de planta (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....53
- Figura 8- Número de folhas de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....54
- Figura 9 – Comprimento de folha (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....55
- Figura 10 – Massa fresca (mg) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....56

Figura 11- Massa seca (mg) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	57
Figura 12- Índice de sensibilidade (%) ao estresse salino para a altura de planta de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl, em relação ao controle.....	58
Figura 13- Índice de sensibilidade (%) ao estresse salino para o comprimento de folha de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl, em relação ao controle.....	59
Figura 14- Teor relativo de água de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	60
Figura 15- Condutividade elétrica livre ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	60
Figura 16 - Condutividade elétrica total ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	60
Figura 17- Extravasamento de eletrólitos (%) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	61
Figura 18- Teor de Clorofila a (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	62
Figura 19 - Teor de Clorofila b (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	62
Figura 20- Razão clorofila a/b de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	63
Figura 21- Teor de Clorofila total (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	63

Figura 22- Teor de carotenoides ($\mu\text{g g}^{-1}$) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	64
Figura 23- Razão CO_2/O_2 de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	65
Figura 24 - Razão CO_2/MS de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	66
Figura 25 – Expressão da enzima piruvato descarboxilase de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0(1); 0,1(2); 0,2(3) e 0,4(4) % p/v de NaCl.	67
Figura 26 Índice AVD de atividade biológica na raiz de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	67
Figura 27 – Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica na raiz de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0 (a); 0,1 (b); 0,2 (c) e 0,4 (d) % p/v de NaCl.....	68
Figura 28 - Índice AVD de atividade biológica no caule de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	69
Figura 29 - Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica no caule de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	70
Figura 30 - Índice AVD de atividade biológica na folha de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	71
Figura 31- Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica na folha de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	71

Figura 32 - Conteúdo de DNA (pg) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.....	73
Figura 33 – Representação gráfica do conteúdo de DNA (pg) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de a) 0 %; b) 0 %; c) 0,1 %; d) 0 %; e) 0 % e f) 0,1 % de NaCl p/v de NaCl. Cada linha representa uma cultivar.....	73

CAPÍTULO 3

Figura 1 – Sistema de determinação da atividade biológica pela técnica do Biospeckle laser, demonstração dos componentes.....	99
Figura 2 - Visualização do crescimento de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	101
Figura 3 - Número de raízes de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	102
Figura 4 - Comprimento de raiz (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	103
Figura 5 - Diâmetro de raiz (mm) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	104
Figura 6 - Altura de planta (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	105
Figura 7 - Número de folhas de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	106
Figura 8 - Comprimento de folha (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	107

Figura 9 - Massa fresca (mg) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	108
Figura 10 - Massa seca (mg) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	109
Figura 11 - Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para comprimento de raiz de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.....	110
Figura 12 - Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para a altura de planta de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.....	110
Figura 13 - Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para o comprimento de folha de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.....	111
Figura 14 - Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para a massa fresca de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.....	111
Figura 15 - Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para a massa seca de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.....	111
Figura 16 – Teor relativo de água (%) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	112
Figura 17 - Condutividade elétrica livre ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	113
Figura 18 - Condutividade elétrica total ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	113
Figura 19 - Extravasamento de eletrólitos (%) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	113

Figura 20 - Teor de Clorofila a (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	116
Figura 21 - Teor de Clorofila b (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	116
Figura 22 – Razão clorofila a/b de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	116
Figura 23 - Teor de Clorofila total (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	116
Figura 24 – Razão CO_2/O_2 de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	117
Figura 25 - Razão CO_2/MS de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	117
Figura 26 - Índice AVD de atividade biológica na raiz de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	119
Figura 27 – Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica na raiz de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0 (coluna a); 2,5 (coluna b); 5 (coluna c) e 10 (coluna d) % p/v de PEG.....	119
Figura 28 - Índice AVD de atividade biológica na folha de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	121
Figura 29 - Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica na folha de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0 (coluna a); 2,5 (coluna b); 5 (coluna c) e 10 (coluna d) % p/v de PEG.....	121

Figura 30 – Conteúdo de DNA (pg) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.....	123
Figura 31 – Representação gráfica do conteúdo de DNA (pg) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0 (coluna a); 2,5 (coluna b); 5 (coluna c) e 10 (coluna d) % p/v de PEG.....	123

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1 - Correlação de Pearson entre a atividade biológica na raiz e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CAROT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (p-valor \leq 0,05), nas cultivares de bananeira avaliadas.....67
- Tabela 2 - Correlação de Pearson entre a atividade biológica no caule e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CAROT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (p-valor \leq 0,05), nas cultivares de bananeira avaliadas.....79
- Tabela 3- Correlação de Pearson entre a atividade biológica na folha e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CAROT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (p-valor \leq 0,05), nas cultivares de bananeira avaliadas.....81

CAPÍTULO 3

- Tabela 1 - Correlação de Pearson entre a atividade biológica na raiz e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (p-valor \leq 0,05), nas cultivares de bananeira avaliadas.....138
- Tabela 2 - Correlação de Pearson entre a atividade biológica na folha e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (p-valor \leq 0,05), nas cultivares de bananeira avaliadas.....140

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 – Introdução Geral	23
1	INTRODUÇÃO	23
2	REFERENCIAL TEÓRICO	26
2.1	História, origem e descrição botânica	26
2.2	Importância Econômica.....	26
2.3	Cultivares	27
2.4	Condições de Cultivo	28
2.5	Micropropagação	28
2.6	Estresses abióticos.....	29
2.6.1	Estresse salino e hídrico em plantas.....	29
2.6.1.1	Efeito do estresse hídrico e salino no crescimento e desenvolvimento plantas ...	30
2.6.1.2	Efeito do estresse hídrico e salino na fotossíntese	30
2.6.1.3	Efeito do estresse hídrico e salino no teor relativo de água	31
2.6.1.4	Efeito do estresse hídrico e salino no extravasamento de eletrólitos.....	31
2.6.2	Indução de estresses <i>in vitro</i> em bananeira	32
3	REFERÊNCIAS	34
	CAPÍTULO 2 – Estresse salino <i>in vitro</i>: abordagem fitotécnica, fisiológica e biotecnológica na avaliação de cultivares de bananeira	39
	RESUMO	39
1	INTRODUÇÃO	39
2	OBJETIVOS.....	41
3	MATERIAIS E MÉTODOS	41
3.1	Material vegetal e condições de cultivo	41
3.2	Efeito do NaCl nas características fitotécnicas.....	42
3.2.1	Análises fitotécnicas.....	42
3.2.2	Índice de sensibilidade à salinidade (IS)	42
3.3	Efeito do NaCl nas características fisiológicas	43
3.3.1	Teor relativo de água (TRA)	43
3.3.2	Extravasamento de eletrólitos (EE)	43
3.3.3	Teor de clorofila e carotenoides	44
3.3.4	Razão CO₂/O₂ e razão CO₂/MS	44
3.4	Efeito do NaCl na atividade enzimática, biológica e no conteúdo de DNA	45
3.4.1	Atividade da Piruvato Descarboxilase	45

3.4.2	Atividade Biológica por biospeckle Laser	45
3.4.3	Conteúdo de DNA	47
3.5	Delineamento estatístico	47
4	RESULTADOS	48
4.1	Efeito do NaCl nas características fitotécnicas.....	49
4.1.1	Número de raízes.....	49
4.1.2	Comprimento de raiz.....	49
4.1.3	Diâmetro de raiz.....	50
4.1.4	Altura de planta.....	51
4.1.5	Número de folhas.....	52
4.1.6	Comprimento de folha	53
4.1.7	Massa fresca	54
4.1.8	Massa seca.....	55
4.1.9	Índice de sensibilidade à salinidade	56
4.2	Efeito do NaCl nas características fisiológicas	58
4.2.1	Teor relativo de água.....	58
4.2.2	Extravasamento de eletrólitos	58
4.2.3	Teor de clorofila <i>a</i> , <i>b</i> , <i>a/b</i> e <i>total</i>	60
4.2.4	Carotenoides.....	63
4.2.5	Razão CO ₂ /O ₂ e CO ₂ /MS.....	63
4.3	Efeito do NaCl na atividade enzimática, biológica e no conteúdo de DNA	65
4.3.1	Piruvato descarboxilase	65
4.3.2	Atividade biológica por Biospeckle Laser	66
4.3.2.1	<i>Atividade biológica na raiz</i>	66
4.3.2.2	<i>Atividade biológica no caule</i>	68
4.3.2.3	<i>Atividade biológica na folha</i>	70
4.3.3	Conteúdo de DNA	72
5	DISCUSSÃO	74
5.1	Efeito do NaCl nas características fitotécnicas.....	74
5.2	Efeito do NaCl nas características fisiológicas	77
5.3	Efeito do NaCl na atividade enzimática, biológica e no conteúdo de DNA	81
6	CONCLUSÕES	84
7	REFERÊNCIAS	85
	CAPÍTULO 3 – Cultivares de bananeira sob estresse hídrico <i>in vitro</i>: abordagem fitotécnica, fisiológica e biotecnológica.....	90

	RESUMO	90
1	INTRODUÇÃO	90
2	OBJETIVOS	92
3	MATERIAIS E MÉTODOS	92
3.1	Material Vegetal e condições de cultivo:	92
3.2	Efeito do PEG nas características fitotécnicas	93
3.2.1	Análises fitotécnicas	93
3.2.2	Índice de sensibilidade ao estresse hídrico (IS)	93
3.3	Efeito do PEG nas características fisiológicas	93
3.3.1	Teor relativo de água (TRA)	93
3.3.2	Extravasamento de eletrólitos (EE)	94
3.3.3	Teor de clorofila <i>a</i>, <i>b</i>, <i>total</i> e razão clorofila <i>a/b</i>	95
3.3.4	Razão CO₂/O₂ e razão CO₂/MS	95
3.4	Efeito do PEG na atividade biológica e no conteúdo de DNA	95
3.4.1	Atividade Biológica por biospeckle Laser	95
3.4.2	Conteúdo de DNA	97
3.5	Delineamento estatístico	97
4	RESULTADOS	98
4.1	Efeito do PEG nas características fitotécnicas	99
4.1.1	Número de raízes	99
4.1.2	Comprimento de raiz	99
4.1.3	Diâmetro de raiz	100
4.1.4	Altura de planta	101
4.1.5	Número de folhas	102
4.1.6	Comprimento de folha	103
4.1.7	Massa fresca	104
4.1.8	Massa seca	105
4.1.9	Índice de sensibilidade ao estresse hídrico	106
4.2	Efeito do PEG nas características fisiológicas	109
4.2.1	Teor relativo de água	109
4.2.2	Extravasamento de eletrólitos	110
4.2.3	Teor de clorofila <i>a</i>, <i>b</i>, <i>a/b</i> e <i>total</i>	111
4.2.4	Razão CO₂/O₂ e CO₂/MS	115
4.3	Efeito do PEG na atividade biológica e no conteúdo de DNA	116
4.3.1	Atividade biológica por Biospeckle laser	116

4.3.1.1	<i>Atividade biológica na raiz</i>	116
4.3.1.2	<i>Atividade biológica na folha</i>	118
4.3.2	Conteúdo de DNA	120
5	DISCUSSÃO	122
5.1	Efeito do PEG nas características fitotécnicas	122
5.2	Efeito do PEG nas características fisiológicas	124
5.3	Efeito do PEG na atividade biológica e no conteúdo de DNA	128
6	CONCLUSÕES	131
7	REFERÊNCIAS	132
	Apêndice 1	136
	Apêndice 2	13239

CAPÍTULO 1 – Introdução Geral

1 INTRODUÇÃO

O atual cenário de mudanças climáticas globais afeta seriamente o agroecossistema alterando variáveis que afetam diretamente a produção de plantas, como temperatura, regime hídrico, seca e alagamento. Essas mudanças além de comprometerem a produtividade devido ao estresse gerado, também contribuem para a redução da qualidade do alimento (RUSTAGI et al., 2016a). Dentre os estresses abióticos em plantas, estresse hídrico, estresse salino e baixas temperaturas são os que causam maior redução na produtividade.

A diminuição da produtividade causada pelas questões climáticas e ambientais, aliada ao aumento do crescimento populacional, evidencia a importância do desenvolvimento de pesquisas visando a redução do efeito desses estresses abióticos nas plantas (OLIVEIRA et al., 2013). Principalmente em culturas de grande importância econômica, a exemplo da bananeira, com consequente superação da perda de produtividade e otimização do sistema produtivo, permitindo o uso mais eficiente dos recursos naturais.

A bananeira (*Musa spp.*) faz parte da alimentação básica de diversas regiões carentes do mundo e é consumida por todas as classes sociais, o que a torna uma cultura muito importante no cenário de segurança alimentar. Além disso, é rica em minerais, especialmente o potássio, vitamina A, C e B6. É a segunda frutífera mais produzida no mundo e a mais cultivada no território nacional dentre as tropicais, abrangendo uma área plantada superior a 523 mil hectares e 480 mil hectares de área colhida, com rendimento médio de 14 mil kg ha⁻¹ em 2012.

Existem cerca de 1000 cultivares de bananeira registradas na literatura (RUSTAGI et al., 2016b) e a quantidade de informações sobre a tolerância dessas cultivares a estresses abióticos ainda é muito aquém do necessário. Ademais, essa cultura é muito sensível a fatores ambientais, como a salinidade e principalmente à limitação de água para a planta (SURESH; MATHUR; BEHERA, 2016). Sendo assim, estudos envolvendo a avaliação da tolerância de cultivares de bananeira a estresses abióticos, são de grande importância para o melhor entendimento da cultura, e para contribuir na indicação de cultivares em regiões com problemas de seca e salinidade.

A água é a base vital das plantas, assim como de todo organismo vivo. Como suas principais funções em plantas podemos destacar: influência na atividade de células e organelas; agente químico em diversas reações bioquímicas, especialmente aquelas relacionadas à assimilação e respiração em plantas; solvente de moléculas complexas; meio de transporte de sais, moléculas orgânicas e nutrientes no interior da planta; além de agir em processos de regulação do crescimento em plantas, por meio da divisão e alongação celular, e na manutenção da planta ereta etc (EHLERS;GROSS, 2016). Com base nisso, é de se esperar que a maioria das respostas das plantas, a estresses que alteram a dinâmica de água, como o estresse salino e hídrico, seja altamente dependente desse fator.

A exposição de plantas ao estresse salino e hídrico altera diversos processos fisiológicos e bioquímicos. Sendo assim, é necessário a avaliação desses processos para entender os mecanismos de tolerância, bem como as respostas das plantas suscetíveis a esses estresses. Além disso, a utilização de ferramentas biotecnológicas, que permitam a avaliação do nível de atividade biológica da planta sob estresse, é de grande interesse para o desenvolvimento de análises alternativas que permitam identificar com maior rapidez e com baixo custo o grau de sensibilidade da planta ao estresse. Nesse contexto, a atividade biológica mensurada pelo biospeckle laser, pode ser tornar uma ferramenta que agregue informações relativas ao comportamento da planta sob estresse. Porém, a correlação dessa técnica com fatores biológicos específicos, bem como a melhor região da planta para mensuração da atividade biológica, ainda é muito incipiente.

O estresse salino causa diversas alterações na fisiologia das plantas, como o aumento da taxa respiratória, a toxicidade iônica, afeta o crescimento e desenvolvimento da planta (LÄUCHLI; GRATTAN, 2007), distribuição e assimilação de nutrientes, compromete a estabilidade da membrana devido à substituição dos íons cálcio por íons sódio (MARSCHNER, 2012) e altera a permeabilidade (GUPTA; HUANG, 2014), reduz a taxa fotossintética (ASHRAF; HARRIS, 2013; CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009) e altera a respiração (JACOBY; TAYLOR; MILLAR, 2011). Além disso, os efeitos da salinidade podem ser observados também a nível celular por meio do estresse osmótico e iônico gerado (AHMAD; AZOOZ; PRASAD, 2013; HASEGAWA et al., 2000).

O estresse hídrico em plantas afeta grandemente o crescimento e a produtividade. Além disso, fatores ligados à fisiologia e bioquímica da planta também são afetados. O déficit de água reduz a integridade da membrana, o conteúdo de pigmentos, altera o ajustamento

osmótico e as relações hídricas, além da atividade fotossintética e das trocas gasosas (ANJUM; XIE; WANG, 2011; BENJAMIN; NIELSEN, 2006; PRABA et al., 2009). Porém, as respostas das plantas são dependentes da intensidade, duração, espécie, cultivar e do estágio de crescimento (HASANUZZAMAN et al., 2012).

O estudo das respostas das plantas sob estresse é dificultado em condições de campo. Sob essas condições, o isolamento e o controle de fatores individuais, bem como a intensidade e duração do estresse é altamente comprometida. Com isso, a indução desses estresses *in vitro* se torna uma alternativa viável e que permite o melhor controle do ambiente, da intensidade e duração do estresse, bem como a possibilidade de trabalhar com um volume maior de plantas num espaço e tempo menor (CLAEYS et al., 2014; MUNNS; TESTER, 2008).

Essa técnica de avaliação de tolerância de plantas a estresses em ambiente *in vitro*, pode facilitar o trabalho do melhorista de plantas, aumentando a possibilidade de selecionar materiais genéticos promissores em um tempo significativamente menor do que em condições de campo. E ainda, o produtor rural pode ser beneficiado pela aquisição de materiais vegetais mais adaptados para suas condições de cultivo.

A tese consta de dois capítulos de dados, o primeiro explorando os efeitos da utilização de diferentes concentrações de NaCl no meio de cultura em diferentes cultivares de bananeira, simulando o estresse salino. O segundo capítulo apresenta formato e objetivos similares ao primeiro, porém com a indução de estresse hídrico *in vitro*, utilizando polietilenoglicol como agente indutor.

Com isso, objetivou-se com esse trabalho de tese identificar cultivares de bananeira quanto à tolerância ou suscetibilidade aos estresses salino e hídrico induzidos *in vitro*, baseado em parâmetros fitotécnicos, fisiológicos e em ferramentas biotecnológicas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 História, origem e descrição botânica

Bananas (plátanos e as bananas consumidas *in natura*) são plantas monocotiledôneas, herbáceas gigantes, comumente com até 3 m de altura, pertencentes à família Musaceae, ordem Zingiberales. Essa família de plantas tem sido associada à história da humanidade desde a antiguidade (ROWE; ROSALES, 1996). As bananeiras foram descritas como “Árvore do Paraíso” pelo alcorão e como sendo a “Árvore do Conhecimento” mencionada no livro de Gênesis, no Velho Testamento. Por esse motivo, a descrição taxonômica antiga dessas plantas era *Musa paradisiaca* L. ou *M. sapientum* L (PAULL; DUARTE, 2011).

O centro de origem é o Sudeste da Ásia, com ocorrência desde a Índia até a Polinésia (SIMMONDS, 1962). A Malásia ou a Indonésia são classificadas como o centro de diversidade, embora uma considerável diversidade também é relatada fora dessa área. De acordo com Wong et al. (2002), as plantas desse gênero estão distribuídas principalmente às margens da floresta tropical úmida.

A maioria das cultivares existentes atualmente são derivadas de duas espécies diploides selvagens, a *Musa acuminata* (genoma A) e a *Musa balbisiana* (genoma B) (OSUJI ET AL., 1997). Sendo que os clones comestíveis são classificados de acordo com a contribuição relativa de cada uma dessas espécies (SIMMONDS; SHEPHERD, 1955). Desses, a maioria são triploides, embora alguns diploides e tetraploides também sejam comestíveis (ARVANITTOYANNIS; MAVROMATIS, 2009).

2.2 Importância Econômica

A banana é uma das mais importantes culturas do mundo, apesar de não ser valorizada como tal. Essa cultura faz parte da alimentação básica de milhões de pessoas, sendo o alimento principal em alguns grupos étnicos na África e em outras áreas que não foram influenciadas pela revolução verde. As bananas são ricas em minerais, especialmente o potássio e vitaminas A, C e B6. São consumidas de forma crua, cozida, assada, frita ou fermentada. Além disso, toda a planta pode ser explorada, apresentando grande quantidade de fibras e propriedades de uso medicinal (RAVI et al., 2013).

A bananeira é cultivada em aproximadamente 10 milhões de ha em todo o mundo, em mais de 130 países, com produção anual de 122,85 milhões de toneladas, distribuídas entre a África (40%), Ásia (30%), América Latina (30%) e Caribe (30%). A Índia é o maior produtor mundial de banana, seguido pela China, Filipinas, Brasil e Equador. De toda a banana produzida no mundo, 87% é advinda de pequenos produtores, enquanto que os 13 % restantes são comercializados internacionalmente (FAOSTAT, 2012; PAULL; DUARTE, 2011; RAVI et al., 2013)

2.3 Cultivares

Existem cerca de mil cultivares de banana relatadas na literatura, que tem sido desenvolvida por meio de cruzamentos intra e interespecíficos dos ancestrais diploides selvagem de *Musa acuminata* e *Musa balbisiana*. A produtividade é a principal característica que os melhoristas levam em consideração na seleção de novas cultivares (RUSTAGI et al., 2016a), seguida da aceitação do consumidor para que a nova cultivar seja lançada. Abaixo, está listada as principais características das cultivares avaliadas nesse trabalho.

Caipira (AAA): trazida da África Ocidental, é altamente resistente à Sigatoka-Negra e à Sigatoka-Amarela, com potencial produtivo de 30 t ha⁻¹ e massa média de cacho de 16,6 kg.

Princesa (AAAB): Híbrido tetraplóide resultante do cruzamento da cultivar Yanganbi n° 2 (AAB) com o diplóide M53 (AA). Variedade do tipo Maçã, resistente à Sigatoka-amarela e tolerante ao mal-do-Panamá. Produtividade em torno de 15 a 20 t ha⁻¹ e massa média de cacho de 17,27 kg.

Thap Maeo (AAB): É resistente à Sigatoka-negra, à Sigatoka-amarela e ao mal-do-Panamá, com potencial produtivo anual de 35 t ha⁻¹ e massa média de cacho de 21,1 kg nessa cultivar.

Vitória (AAAB): híbrido proveniente do cruzamento entre a cv. Pacovan, triplóide (AAB), como parental feminino e com o diplóide (AA) M53, como parental masculino. Rendimento superior à cultivar Prata, que apresenta massa média de cacho de 14 kg e produtividade entre 15 a 30 t. São resistentes à Sigatoka-amarela, à Sigatoka-negra e ao mal-do-Panamá.

Tropical (AAAB): Híbrido do tipo maçã, proveniente do cruzamento entre a cultivar Yangambi n°2 com o diplóide (AA) M53. É resistente à Sigatoka-amarela e tolerante ao mal-do-Panamá, não é resistente à Sigatoka-negra.

Grand Naine (AAA): É resistente ao mal-do-Panamá, entretanto é suscetível à Sigatoka-amarela e negra. Apresenta também uma alta produtividade sob condições ideais de cultivo ou sob irrigação, podendo atingir 50-60 t/ha/ciclo.

Prata Anã (AAB): Cultivar não pertencente ao grupo da Prata, que apresenta frutos muito semelhantes. Os cachos pesam de 14 a 16 Kg em média. É susceptível à Sigatoka-amarela e negra e ao moko, medianamente susceptível ao mal-do-Panamá.

Pacovan Ken (AAAB): É um híbrido tetraplóide, resultante do cruzamento da cultivar Pacovan com o híbrido diplóide (AA) M53. É resistente à Sigatoka-negra, à Sigatoka-amarela e ao mal-do-Panamá.

2.4 Condições de Cultivo

A bananeira pode ser cultivada em diferentes tipos de solos, desde levemente arenosos à solos argilosos. Solos areno-argilosos são os mais adequados para o cultivo de banana com a textura ideal solo, sendo em torno de 30:10:60 (argila: silte: areia) (ROBINSON; GALÁN SAUCO, 2010; SAÚCO; HORMAZA, 2014). O pH adequado para otimizar a produção deve estar entre 5,8 a 6,5. Os principais cátions são potássio, cálcio, magnésio e fósforo. Sendo o potássio o elemento de maior demanda para essa cultura. A bananeira é muito sensível ao desbalanceamento de cátions (LAHAV, 1995; SOTO, 1995; SAÚCO; HORMAZA, 2014).

Bananeiras são cultivadas nas regiões subtropicais, sendo a temperatura o principal fator limitante para o crescimento dessa cultura, seguido do regime hídrico. Apresenta também alta demanda por água, sendo 25 mm por semana é o mínimo requerido para um crescimento satisfatório (SAÚCO; HORMAZA, 2014).

2.5 Micropropagação

A micropropagação ou propagação *in vitro* é muito eficiente no gênero *Musa*. Essa técnica permite a produção de mudas de alta qualidade, uniformidade e livre de patógenos. Hoje em dia, a maior parte das mudas utilizadas no plantio comercial e de boa parte da produção familiar são advindas da cultura de tecidos (HESLOP-HARRISON; SCHWARZACHER, 2007). Ápices caulinares têm sido amplamente utilizados como

explantes para a produção de mudas (Strosse et al., 2004), mas a obtenção de mudas por meio de suspensões celulares também tem sido desenvolvida (Roux et al., 2001).

2.6 Estresses abióticos

Estresses abióticos são causados por fatores não vivos ou não biológicos, como a luz, água, sal, temperatura, nutriente, hipóxia e agentes físicos. Em bananeira, vários desses estresses ambientais vem causando danos à cultura com o passar dos anos e reduzindo a produtividade. O potencial de redução na produtividade por esses estresses é de até 85 %. Sendo o estresse salino, hídrico e baixas temperaturas os mais impactantes na perda da produtividade (RUSTAGI et al., 2016a; SURESH; MATHUR; BEHERA, 2016).

A tolerância a estresses é dependente da espécie, genótipo e estágio de desenvolvimento da planta. Os mecanismos de resistência são criados no sentido de: evitar (prevenindo a exposição da planta ao estresse); tolerar (permitindo que a planta resista às condições adversas impostas) e aclimação (alterando a fisiologia da planta). A intensidade, duração e frequência com que a planta é exposta ao estresse podem afetar a resposta das plantas na aclimação (SURESH; MATHUR; BEHERA, 2016).

2.6.1 Estresse salino e hídrico em plantas

As mudanças aceleradas nas condições climáticas globais indicam aumento na aridez em certas regiões do mundo, e aliado ao aumento da população, estão levando à super exploração de recurso hídricos para a agricultura e aumentando as restrições no crescimento e na sobrevivência das plantas, conseqüentemente, diminuindo a produtividade (PASSIOURA, 2007; OLIVEIRA et al., 2013). O déficit hídrico pode ser identificado como o estresse abiótico mais comum na limitação do crescimento das culturas numa escala global (ARAUS et al., 2002).

Assim como o estresse hídrico, a salinidade é um dos mais severos fatores abióticos na redução do crescimento e produtividade das plantas. O efeito negativo da salinidade no crescimento de plantas tem sido inicialmente associado ao estresse osmótico causado pela redução do potencial de água no solo, restringindo a absorção de água pelas raízes. O estresse salino também está afetando diversas regiões do mundo, especialmente regiões semiáridas e

em locais onde há excesso de fertilização dos solos (MUNNS; TESTER, 2008; OLIVEIRA et al., 2013).

2.6.1.1 Efeito do estresse hídrico e salino no crescimento e desenvolvimento de plantas

O crescimento de plantas pode ser limitado pelo déficit ou pelo excesso de água. O déficit hídrico ocorre na maioria dos habitats naturais e agrícolas e é causado principalmente por períodos intermitentes sem precipitação. Na presença de estresse hídrico, ocorre desidratação das células vegetais, levando a redução no turgor da célula e do volume celular. Essa resposta está associada à redução do potencial hídrico do apoplasto em relação ao simplasto. A desidratação celular também pode causar a concentração de íons, atingindo níveis tóxicos à célula. O estresse hídrico além de diminuir a pressão de turgor também diminui a extensibilidade da parede celular e limita a produtividade (TAIZ; ZEIGER, 2010).

O crescimento de plantas expostas à salinidade apresenta aspectos similares que os apresentados para o déficit hídrico, exceto pela adição da citotoxicidade iônica resultante do estresse salino. A toxicidade proveniente de altas concentrações de íons Na^+ e Cl^- no citosol é devido a seus efeitos iônicos específicos. Altas concentrações de sal no exterior das células podem resultar em estresse osmótico. Porém, quando no citosol, alguns íons agem de maneira específica, tanto individualmente quanto em combinação com outros íons, afetando toda a planta devido ao transporte desses íons pelo fluxo transpiratório (MUNNS; TESTER, 2008).

O aumento da concentração de íons na região radicular pode levar a redução na absorção de água nessa região, contribuindo para a redução da condutividade da raiz, consequentemente, reduzindo a absorção de água. Se a taxa de transpiração for maior que a absorção de água, é configurado o déficit hídrico, resultando em diminuição na taxa fotossintética e na taxa de crescimento (HASANUZZAMAN; NAHAR; FUJITA, 2013).

2.6.1.2 Efeito do estresse hídrico e salino na fotossíntese

O efeito da limitação hídrica e da salinidade na fotossíntese varia desde a restrição na difusão de CO_2 nos cloroplastos pela limitação da abertura estomática mediada pelo controle hormonal, e o transporte do CO_2 pelo mesófilo, até as alterações fotoquímicas na folha e no metabolismo de carbono. Esses efeitos mudam de acordo com a intensidade e duração do estresse, bem como com a idade da folha, sendo que folhas mais velhas são mais afetadas pela seca e acumulam mais sal (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009; FLEXAS et al., 2006; MUNNS, 2002).

O estresse hídrico afeta mais o fotossistema II do que o fotossistema I do aparato fotossintético. Com isso, eles se tornam desacoplados, resultando em elétrons livres e energizados na folha. Esse desacoplamento leva à fotooxidação da clorofila e perda da capacidade fotossintética (MONNEVEUX; OKONO, 2013). O acúmulo em excesso de íons Na^+ e Cl^- no cloroplasto devido à salinidade, podem interferir na síntese de pigmentos e induzir sua destruição. Essa síntese é dependente do balanço adequado de íons, que por sua vez é comprometido pelo desbalanço na homeostase iônica gerado com o estresse salino, interferindo na atuação de íons-chave na formação de pigmentos, como o ferro que deixa de ser integrado à molécula de protoporfirina na formação da clorofila (SABIR et al., 2012).

2.6.1.3 Efeito do estresse hídrico e salino no teor relativo de água

O teor relativo de água (TRA) é considerado uma medida do status hídrico da planta, refletindo na atividade metabólica dos tecidos e é tido como um dos mais significativos índices de tolerância à desidratação. O TRA em folhas é maior no estágio inicial de seu desenvolvimento e diminui à medida em que a matéria seca é acumulada nas folhas mais velhas e está relacionado à água absorvida pelas raízes bem como à água perdida na transpiração. Plantas expostas ao estresse hídrico e salino apresentam redução substancial no potencial hídrico foliar, no TRA, na taxa de transpiração e aumento concomitante na temperatura da folha, afetando diversos processos na planta (FAROOQ et al., 2009; ROMERO-ARANDA; SORIA; CUARTERO, 2001; SIDDIQUE; HAMID; ISLAM, 2000).

2.6.1.4 Efeito do estresse hídrico e salino no extravasamento de eletrólitos

O extravasamento de eletrólitos é uma característica de resposta ao estresse em células de plantas. É amplamente utilizado como um teste da magnitude da lesão induzida pelo estresse e para medir a tolerância de plantas ao estresse. O extravasamento de eletrólitos ocorre em diferentes espécies, tecidos e tipos celulares e pode ser desencadeado pela maioria dos fatores causadores de estresse em plantas, como a salinidade e o estresse hídrico (DEMIDCHIK et al., 2014). A atuação de íons ligados ao estresse salino, que induzem o estresse osmótico, causam o mau funcionamento da membrana celular através do aumento da permeabilidade e do extravasamento de íons (MAHAJAN; TUTEJA, 2005).

2.6.2 Indução de estresses *in vitro* em bananeira

A cultura de tecidos não é utilizada somente para a multiplicação em massa de bananeiras, essa técnica também tem sido crucial no melhoramento de plantas através da seleção de características desejáveis em plantas *in vitro*. Além disso, a cultura de tecidos é uma técnica confiável, viável e rentável, que tem permitido a avaliação da tolerância de plantas a estresses abióticos, devido à capacidade de manipulação das plantas e do ambiente (RUSTAGI et al., 2016a). Essa técnica tem se mostrado uma ferramenta viável e rentável no desenvolvimento de plantas tolerantes a estresses. Uma vez que é operada em condições limitadas de espaço e de tempo (RAI et al., 2011).

O cultivo *in vitro* de células, tecidos ou órgãos vegetais em um meio contendo um agente seletivo oferece a oportunidade de selecionar e regenerar plantas com características desejáveis. Os agentes seletivos geralmente utilizados *in vitro* para seleção incluem o NaCl (para indução de estresse salino), PEG ou manitol (para indução de estresse hídrico), específicos isolados de fungo, fitotoxinas ou o próprio patógeno (para indução de resistência a doenças) (RAI et al., 2011).

PEG, sacarose, manitol ou sorbitol já foram utilizados em várias pesquisas como agentes indutores de estresse osmótico para seleção *in vitro*. Na maioria dos casos, o PEG tem sido utilizado na simulação de estresse hídrico em plantas. Esse composto reduz o potencial hídrico do meio de cultura sem ser absorvido pela planta devido ao alto peso molecular e sem apresentar problemas com fitotoxicidade (RAI et al., 2011). A adição de NaCl ao meio de cultura expõe a planta ao estresse salino, que é uma combinação de estresses de natureza osmótica. Uma vez que o NaCl diminui o potencial hídrico do meio, além do elevado efeito fitotóxico de íons Na^+ quando na presença de altas concentrações de NaCl (CLAEYS et al., 2014)

O estudo de estresses abióticos *in vitro* é uma alternativa ao complexo ambiente de campo, onde outros fatores podem agir em conjunto, impossibilitando o entendimento e isolamento de respostas fisiológicas e bioquímica inerentes a cada fator estressante. Apesar dessa técnica não ser perfeita e não representar uma condição de campo, ela tem como vantagens o melhor ajuste dos níveis, duração e intensidade do estresse, baixa variabilidade e possibilidade de trabalhar com várias plantas em um pequeno espaço (CLAEYS et al., 2014; MUNNS; TESTER, 2008).

Diversos experimentos envolvendo estresse hídrico e salino em bananeiras já foram desenvolvidos, seja em campo ou por meio da indução do estresse *in vitro*. Os seguintes autores testaram a utilização de PEG no meio de cultura em plantas de bananeira, relacionando o comportamento das plantas ao estresse hídrico: Ebrahim et al. (2004); Said et al. (2015); Bidabadi et al., (2012); Mahmood et al. (2012); Chai et al. (2005); Haq, (2015); Haq et al. (2011).

Experimentos envolvendo a tolerância de cultivares de bananeira ao estresse salino induzido *in vitro* também foram conduzidos. Porém, o número de trabalhos envolvendo esse estresse *in vitro* ainda é muito incipiente: Harb et al. (2005); Haq et al. (2011b). Como agente indutor de salinidade, o NaCl tem sido o mais utilizado no cultivo *in vitro*.

Atualmente, diversos trabalhos estão sendo desenvolvidos por meio de técnicas de transformação de plantas visando a aquisição de tolerância tanto à seca quanto ao estresse hídrico em bananeiras: Negi et al. (2016); Sreedharan et al. (2013); Sreedharan et al. (2015); Rustagi et al. (2015); Shekhawat et al. (2011).

3 REFERÊNCIAS

- AHMAD, P.; AZOOZ, M. M.; PRASAD, M. N. V. **Ecophysiology and responses of plants under salt stress**. p. 1-510, 2013
- ANJUM, S.; XIE, X.; WANG, L. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 9, p. 2026–2032, 2011.
- ARAUS, J. L. et al. Plant breeding and drought in C3 cereals: What should we breed for? **Annals of Botany**, v. 89, n. SPEC. ISS., p. 925–940, 2002.
- ARVANITOYANNIS, I. S.; MAVROMATIS, A. Banana Cultivars, Cultivation Practices, and Physicochemical Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 49, n. 2, p. 113–135, 2009.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments : An overview. **PHOTOSYNTHETICA**, v. 51, n. 2, p. 163–190, 2013.
- BENJAMIN, J. G.; NIELSEN, D. C. Water deficit effects on root distribution of soybean, field pea and chickpea. **Field Crops Research**, v. 97, n. 2–3, p. 248–253, 2006.
- BIDABADI, S. S. et al. In vitro selection and characterization of water stress tolerant lines among ethyl methanesulphonate (EMS) induced variants of banana (*Musa* spp., with AAA genome). **Australian Journal of Crop Science**, v. 6, n. 3, p. 567–575, 2012.
- CHAI, T. T. et al. Water stress-induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. **Biologia Plantarum**, v. 49, n. 1, p. 153–156, 2005.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of botany**, v. 103, n. 4, p. 551–60, 1 fev. 2009.
- CLAEYS, H. et al. What is Stress? Dose-Response Effects in Commonly Used In Vitro Stress Assays. **Plant physiology**, v. 165, n. June, p. 519–527, 2014.
- DEMIDCHIK, V. et al. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 5, p. 1259–70, 11 mar. 2014.
- EBRAHIM, M. K. H.; IBRAHIM, I.A.; EMARA, H. A. In vitro selection of drought- tolerant banana cultivar: effect of polyethylene glycol-induced water deficit, and medium liquification. **Egypt. J. Hort**, v. 29, p. 525–538, 2004.
- EHLERS, W.; GROSS, M. **Water Dynamics in Plant Production**, 2nd Edition. Centre for Agriculture and Biosciences International – CABI, 396 p., 2016.

FAO - **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Management of irrigation induced salt-affected soils. Rome: CISEAU, IPTRID, AGLL and FAO ; 1996. <http://www.fao.org>

FAOSTAT. **FAOSTAT 2012**.

FAROOQ, M. et al. Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. In: LICHTFOUSE, E. et al. (Eds.). . **Sustainable Agriculture**. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 153–188, 2009.

FLEXAS, J. et al. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, n. 3, p. 343–352, 6 fev. 2006.

GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants : Physiological , Biochemical , and Molecular Characterization. **International Journal of Genomics**, v. 2014, p. 1–18, 2014.

HAQ, I. Aseptic Growth Attributes of PEG-Stressed and BBTV-Infected Plants of Banana. **International Journal of Science and Research**, v. 4, n. 6, p. 76–80, 2015.

HAQ, I. U. et al. Characteristics of micro-propagated banana (*Musa spp.*) cultures stressed with NaCl and polyethylene glycol. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 21, p. 4387–4391, 2011a.

HAQ, I. U. et al. Certain growth related attributes of micropropagated banana under different salinity levels. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 3, p. 1655–1658, 2011b.

HARB, E. M. Z.; AHMED, A. H. H.; EL-SHIHY, O. M.; BAYERLY, R. M. S. Effect of gamma irradiation on increasing salinity tolerance of micropropagated banana plants. **Bull. Faculty of Agriculture, Cairo Univ.**, v. 56; p. 55–88, 2005.

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; FUJITA, M. Plant Response to Salt Stress and Role of Exogenous Protectants to Mitigate Salt-Induced Damages. In: AHMAD, P. ET AL. (Ed.). . **Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress**. p. 28–87. 2013.

HASEGAWA, P. M. et al. PLANT CELLULAR AND MOLECULAR RESPONSES TO HIGH SALINITY. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, n. 1, p. 463–499, 2000.

HESLOP-HARRISON, J. S.; SCHWARZACHER, T. Domestication, genomics and the future for banana. **Annals of Botany**, v. 100, n. 5, p. 1073–1084, 2007.

IBGE. Sistema IBGE de recuperação automática (SIDRA) - Censo Agropecuário. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, p. 1–10, 2014.

JACOBY, R. P.; TAYLOR, N. L.; MILLAR, A. H. The role of mitochondrial respiration in salinity tolerance. **Trends in plant science**, v. 16, n. 11, p. 614–23, nov. 2011.

LAHAV, E. Banana nutrition. In: Gowen SR (ed) **Bananas and plantains**. Chapman & Hall, London, p. 258–316, 1995.

LÄUCHLI, A.; GRATTAN, S. R. PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT UNDER SALINITY STRESS. In: JENKS, M. A. ET AL. (Ed.). . **Advances in Molecular Breeding Toward Drought and**. [s.l: s.n.]. p. 1–32, 2007.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold , salinity and drought stresses : An overview. v. 444, p. 139–158, 2005.

MAHMOOD, M. et al. Effect of methyl jasmonate treatments on alleviation of polyethylene glycol -mediated water stress in banana (*Musa acuminata* cv. “Berangan”, AAA) shoot tip cultures. **Plant Growth Regulation**, v. 68, n. 2, p. 161–169, 2012.

MARSCHNER, P. **Marschner’s Mineral Nutrition of Higher Plants**. v. 53, p. 651, 2012.

MONNEVEUX, P.; OKONO, J.-M. R. AND A. **Drought phenotyping in crops: From theory to practice**. p. 1-238, 2013.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. p. 239–250, 2002.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651–681, 2008.

NEGI, S.; TAK, H.; GANAPATHI, T. R. Expression analysis of MusaNAC68 transcription factor and its functional analysis by overexpression in transgenic banana plants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 125, n. 1, p. 59–70, 2016.

OLIVEIRA, A. B. DE et al. Comparison Between the Water and Salt Stress Effects on Plant Growth and Development. In: AKINCI, S. (Ed.). . **Responses of Organisms to Water Stress**. [s.l.] InTech, 2013. p. 67–94.

OSUJI, J. O.; OKOLI, B. E.; VUYLSTEKE, D.; AND ORTIZ, R. Multivariate pattern of quantitative trait variation in triploid banana and plantain cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 71, n. 3–4, p. 197–202, 1997.

PASSIOURA, J. B. The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 2, p. 113–117, 2007.

PAULL, R. E.; DUARTE, O. **Banana and Plantain**. v. 1, p. 185-220, 2011.

PRABA, M. L. et al. Identification of physiological traits underlying cultivar differences in drought tolerance in rice and wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 195, n. 1, p. 30–46, 2009.

RAI, M. K. et al. Developing stress tolerant plants through in vitro selection-An overview of the recent progress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 1, p. 89–98, 2011.

RAVI, I. et al. Phenotyping bananas for drought resistance. **Frontiers in physiology**, v. 4, n.

9, p. 1–15, 7 jan. 2013.

ROBINSON, J.C.; GALÁN SAUCO, V. **Bananas and plantains, 2nd edn. Crop production science in horticulture**. 19. CAB International, Wallingford, 311 p., 2010.

ROMERO-ARANDA, R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. **Plant Science**, v. 160, n. 2, p. 265–272, 2001.

ROUX, N.; DOLEZEL, J.; SWENNEN, R.; ZAPATA-ARIAS, F.J.. Effectiveness of three micropropagation techniques to dissociate cytochimeras in *Musa* spp. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 66, p. 189–197, 2001.

ROWE, P.; ROSALES, F. Bananas and plantains. In: Janick, J. and Moore, J.N. (eds.) **Fruit Breeding. Tree and Tropical Fruits**. JohnWiley & Sons, New York, v. 1, p. 167–211, 1996.
RUSTAGI et al. Enhancing Abiotic Stress Tolerance. In: **Banana: Genomics and Transgenic Approaches for Genetic Improvement**. [s.l: s.n.]. p. 181–196, 2016.

RUSTAGI, A. et al. High Efficiency Transformation of Banana [*Musa acuminata* L. cv. Matti (AA)] for Enhanced Tolerance to Salt and Drought Stress Through Overexpression of a Peanut Salinity-Induced Pathogenesis-Related Class 10 Protein. **Molecular Biotechnology**, v. 57, n. 1, p. 27–35, 2015.

SABIR, F. et al. Salt Stress-induced Responses in Growth and Metabolism in Callus Cultures and Differentiating In Vitro Shoots of Indian Ginseng (*Withania somnifera* Dunal). **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 31, n. 4, p. 537–548, 2012.

SAID, E. M.; MAHMOUD, R. A.; AL-AKSHAR, R.; SAFWAT, G. Drought stress tolerance and enhancement of banana plantlets In Vitro. **Austin J Biotech Bioeng**, v. 2, p. 1040–1046, 2015.

SAÚCO, V. G.; HORMAZA, M. H. AND J. I. Tropical and Subtropical Fruits Victor. In: DIXON, G. R.; ALDOUS, D. E. (Eds.). . **Horticulture: Plants for People and Places, Volume 1: Production Horticulture**. [s.l.] Springer Science, v. 1p. 123–157, 2014.

SHEKHAWAT, U. K. S.; SRINIVAS, L.; GANAPATHI, T. R. MusaDHN - 1 , a novel multiple stress-inducible SK 3 -type dehydrin gene , contributes affirmatively to drought- and salt-stress tolerance in banana. p. 915–932, 2011.

SIDDIQUE, M. R. B.; HAMID, A.; ISLAM, M. S. Drought stress effects on water relations of wheat. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 41, p. 19–444, 2000.

SIMMONDS, N.W.; SHEPHERD, K. Taxonomy and origins of cultivated bananas. **Bot. J. Linn. Soc**, v. 55, p. 302–312, 1995.

SIMMONDS, N.W. **Evolution of the bananas**. London: Longmans, Green & Co, 1962.

SOTO, B.M. **Bananos. Cultivo y Comercialización**. Litografía e Imprenta LIL, San José, 674 p, 1995.

SREEDHARAN, S.; SHEKHAWAT, U. K. S.; GANAPATHI, T. R. Transgenic banana plants overexpressing a native plasma membrane aquaporin *MusaPIP1;2* display high tolerance levels to different abiotic stresses. **Plant Biotechnology Journal**, v. 11, n. 8, p. 942–952, 2013.

SREEDHARAN, S.; SINGH, U. K.; THUMBALLI, S. Constitutive and stress - inducible overexpression of a native aquaporin gene (*MusaPIP2 ; 6*) in transgenic banana plants signals its pivotal role in salt tolerance. **Plant Molecular Biology**, p. 41–52, 2015.

STROSSE, H.; VAN DEN HOUWE, I.; PANIS, B. Banana cell and tissue culture – a review. In: Jain SM, Swennen R, eds. **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations**. Enfield, NH: Science Publishers. v. 1, 2001.

SURESH, K.; MATHUR, R. K.; BEHERA, S. K. Abiotic Stress Tolerance in Banana. In: RAO, N. K. . ET AL. (Ed.). . **Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops**. p. 333–342, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, Fifth Edition. Cell, v. 1, p. 782, 2010.

WONG, C.; KIEW, R.; ARGENT, G.; SET, O.; LEE, S.K.; GAN, Y.Y. Assessment of the validity of the sections in *Musa* (Musaceae) using AFLP. **Annals of Botany**, v. 90, p. 231–238, 2002.

CAPÍTULO 2 – Estresse salino *in vitro*: abordagem fitotécnica, fisiológica e biotecnológica na avaliação de cultivares de bananeira

RESUMO

A salinidade é um dos estresses abióticos mais limitantes do crescimento e da produtividade, e afeta grande parte das áreas de agricultura irrigada. A bananeira está entre as principais culturas produzidas no mundo e é a principal frutífera tropical cultivada no território nacional. O entendimento sobre a fisiologia e bioquímica dessa planta em relação aos mecanismos de tolerância ao estresse salino e a identificação de cultivares tolerantes trazem grandes benefícios para a agricultura. Com isso, objetivou-se com esse trabalho identificar cultivares de bananeira quanto à tolerância ou suscetibilidade ao estresse salino induzido *in vitro*, baseado em parâmetros fitotécnicos, fisiológicos e em ferramentas biotecnológicas. Quatro cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) foram cultivadas em meio de cultura MS acrescido de NaCl (0; 0,1; 0,2 e 0,4 % p/v) para a indução do estresse salino. Após 36 dias foram avaliadas as características fitotécnicas [número de raiz (NR); comprimento de raiz (CR); diâmetro de raiz (DR); altura de Planta (AP); número de folhas (NF); comprimento de folha (CF); massa fresca (MF) e massa seca (MS)]; fisiológicas [teor relativo de água (TRA); extravasamento de eletrólitos (EE); teor de clorofila e carotenoides; razão CO_2/O_2 e CO_2/MS] e biotecnológicas (expressão da piruvato descarboxilase; atividade biológica por biospeckle laser; conteúdo de DNA por citometria). A cultivar Princesa apresentou redução expressiva no crescimento, alterações drásticas nos parâmetros fisiológicos, maior expressão da piruvato descarboxilase, menor atividade biológica e redução no conteúdo de DNA, em resposta ao aumento da salinidade. Por outro lado, a Vitória foi mais tolerante ao estresse, sendo a concentração de 0,1 % de NaCl benéfica para alguns parâmetros. Já as cultivares Thap Maeo e Caipira apresentaram respostas variáveis, ora demonstrando suscetibilidade, ora tolerância, sendo a primeira menos sensível ao estresse que a segunda. Além disso, pela técnica de biospeckle foi possível selecionar a raiz como sendo a melhor indicadora da atividade biológica. Conclui-se que a cultivar Vitória foi a mais tolerante e a Princesa a mais sensível ao estresse salino induzido *in vitro*.

Palavras-chave: *Musa sp.* Salinidade. Cultivo *in vitro*. Fisiologia do estresse. Atividade biológica. Biospeckle laser. Conteúdo de DNA.

1 INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa sp.*) está entre as quatro principais culturas produzidas em países em desenvolvimento, ficando atrás apenas da cultura do arroz, milho e trigo. É a segunda frutífera mais produzida no mundo e a mais cultivada no território nacional dentre as

tropicais, abrangendo uma área plantada superior a 523 mil hectares e 480 mil hectares de área colhida, com rendimento médio de 14 mil kg ha⁻¹ em 2012. Além disso, está presente na dieta alimentar de diversas camadas da população e garante emprego e renda para milhares de brasileiros por produzir o ano inteiro.

A bananicultura ocupa diferentes áreas em todo o mundo, áreas que proporcionam diversos níveis de estresse à planta, como: escassez e/ou irregularidades de chuvas, solos salinos, temperaturas inapropriadas, excesso ou falta de radiação, compactação do solo, vento, baixa umidade relativa, etc. Dentre esses estresses abióticos, a salinidade é um dos mais limitantes de produtividade, devido a sensibilidade da maioria das plantas cultivadas ao aumento da concentração de sal no solo. Problema que afeta mais de 45 milhões de ha em áreas irrigadas em todo o mundo (HASANUZZAMAN; NAHAR; FUJITA, 2013; MUNNS; TESTER, 2008).

O estresse salino causa diversas alterações na fisiologia das plantas, como o aumento da taxa respiratória, a toxicidade iônica, o crescimento e desenvolvimento (LÄUCHLI; GRATTAN, 2007), a distribuição e assimilação de nutrientes, compromete a estabilidade da membrana devido à substituição dos íons cálcio por íons sódio na membrana (MARSCHNER, 2012), altera a permeabilidade da membrana (GUPTA; HUANG, 2014), reduz a taxa fotossintética (ASHRAF; HARRIS, 2013; CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009) e altera a respiração (JACOBY; TAYLOR; MILLAR, 2011). Além disso, os efeitos da salinidade podem ser observados também a nível celular por meio do estresse osmótico e iônico gerado (AHMAD; AZOOZ; PRASAD, 2013; HASEGAWA et al., 2000).

Mundialmente, mais de mil cultivares ou variedades crioulas de bananeiras domesticadas foram documentados (RUSTAGI et al., 2015). Baseado nessa diversidade, é necessário ampliar o conhecimento sobre o comportamento dessas plantas em condições de estresse e classificá-las quanto à tolerância ou suscetibilidade a esses estresses. Além disso, melhorar o entendimento sobre a fisiologia e bioquímica dessas plantas em relação aos mecanismos de tolerância ao estresse, utilizando-se de ferramentas biotecnológicas.

Estudos sobre a tolerância de plantas em condições de campo é mais complexo, moroso e de difícil controle ambiental. Com isso, a indução de estresses *in vitro* tem sido uma alternativa viável na avaliação e seleção de plantas tolerantes a estresses, devido ao maior controle ambiental, otimização de espaço e tempo de trabalho. Além disso, essa técnica pode

agilizar o trabalho do melhorista, por meio da pré-seleção *in vitro* de materiais com características desejáveis, em um menor espaço de tempo. O NaCl tem sido o principal agente indutor de estresse salino utilizado em ensaios *in vitro* (RAI et al., 2011).

2 OBJETIVOS

Objetivou-se com esse trabalho avaliar cultivares de bananeira quanto à tolerância ou suscetibilidade ao estresse salino induzido *in vitro*, baseado em parâmetros fitotécnicos, fisiológicos e em ferramentas biotecnológicas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras.

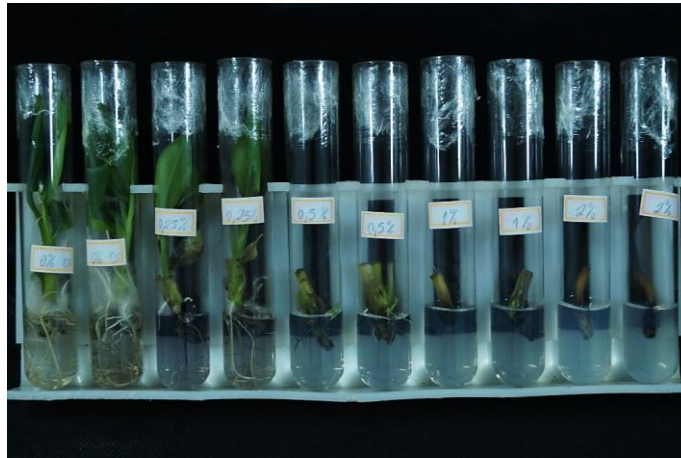
3.1 Material vegetal e condições de cultivo:

Os explantes foram cedidos pela Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA), constituídos de meristemas apicais de bananeiras das cultivares Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória.

Esses materiais foram multiplicados em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 3,75 mg L⁻¹ de benzilaminopurina (BAP), 0,125 mg L⁻¹ de ácido indolacético (AIA), 1,8 g L⁻¹ de phytigel e pH 6, com o objetivo de obter número suficiente de brotações para realizar o experimento.

Explantes com 3 cm de comprimento, advindos do quarto subcultivo das quatro cultivares de plantas pré-multiplicadas, foram inoculados em meio MS acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 1,8 g L⁻¹ de phytigel e pH 6. Para indução do estresse salino, adicionou-se ao meio de cultura 0; 0,1; 0,2 e 0,4% (p/v) de Cloreto de Sódio (NaCl). As concentrações utilizadas foram definidas com base em teste realizado previamente à montagem do experimento, em que foram testadas as concentrações de 0; 0,25; 0,5; 1 e 2 % de NaCl (Figura 1), o que corresponde a 17,11; 34,22 e 68,46 mM de NaCl, respectivamente. Foram utilizadas 70 plantas úteis por tratamento.

Figura 1 – Ilustração do pré-teste realizado para determinação das concentrações de NaCl utilizadas no experimento. Foram testadas as concentrações de 0; 0,25; 0,5; 1 e 2% de NaCl em meio MS.



Fonte: Do autor (2016)

As plantas foram mantidas em sala de crescimento com intensidade luminosa de $36 \mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 36 dias.

O experimento foi dividido em três seções, relacionadas às diferentes áreas de conhecimento: fitotecnia, fisiologia e biotecnologia.

3.2 Efeito do NaCl nas características fitotécnicas

3.2.1 Análises fitotécnicas

Seis plantas de cada tratamento foram avaliadas quanto ao número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR), diâmetro de raiz (DR), medido na região mediana da maior raiz, altura de planta (AP), número de folhas (NF), comprimento de folha (CF), massa fresca (MF) e massa seca (MS).

3.2.2 Índice de sensibilidade à salinidade (IS)

Foi calculado o índice de sensibilidade à salinidade para o comprimento de folhas e para a altura de plantas, utilizando a fórmula apresentada abaixo (Equação 1), proposta por Hamrouni et al. (2008).

$$IS = \frac{(P_s - P_t)}{P_t} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo:

IS = Índice de sensibilidade à salinidade;

Ps = valor dos parâmetros de CF e AP nos tratamentos com adição de NaCl;

Pt = valor dos mesmos parâmetros no tratamento controle.

3.3 Efeito do NaCl nas características fisiológicas

3.3.1 Teor relativo de água (TRA)

Dois discos foliares de 1 cm cada foram retirados das duas folhas mais novas completamente expandidas para avaliação do teor relativo de água (TRA). Esses discos foram pesados para quantificação da massa fresca (MF), em seguida imersos em água deionizada por 24 horas. Após esse período, pesou-se novamente os discos para determinação da massa túrgida (MT). Os mesmos foram submetidos à secagem em estufa com circulação forçada de ar, a 70°C, durante 48 h. Em seguida foram pesados para obtenção da massa seca (MS). Seis repetições, sendo cada planta uma repetição, foram utilizadas para essa avaliação. A determinação do TRA foi calculada seguindo a seguinte fórmula proposta por Barrs e Weatherley (1962) (Equação 2).

$$TRA(\%) = \frac{(MF-MS)}{(MT-MS)} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo:

TRA = Teor relativo de água (%)

MF = Massa fresca (g)

MT = Massa túrgida (g)

MS = Massa seca (g)

3.3.2 Extravasamento de eletrólitos (EE)

Seis discos foliares foram retirados das folhas mais jovens, completamente expandidas e acondicionadas em tubo de ensaio contendo 15 mL de água deionizada, num total de seis

tubos por tratamento. Os tubos foram dispostos em uma mesa agitadora por 24 horas, à temperatura ambiente. Após esse período mediu-se a condutividade elétrica livre (CEL) da solução. Em seguida os tubos foram colocados em banho-maria por 1 h a 100°C e a condutividade elétrica total (CET) da solução foi mensurada. A determinação da taxa de extravasamento de eletrólitos foi calculada com base na seguinte fórmula proposta por Shi et al. (2006) (Equação 3):

$$EE(\%) = \left(\frac{CEL}{CET} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Sendo:

EE = Extravasamento de Eletrólitos (%)

CEL = Condutividade elétrica livre da solução

CET = Condutividade elétrica total da solução

3.3.3 Teor de clorofila e carotenoides

Para essa análise foram utilizados dois discos foliares das duas primeiras folhas mais novas completamente expandidas de cada tratamento. Os discos foram colocados em tubo de ensaio, contendo 5 ml de acetona 80% para extração dos pigmentos. Os tubos foram envoltos por papel alumínio para evitar o contato da amostra com a luz, evitando a degradação da clorofila. Após 24 horas em geladeira a $\pm 4^\circ\text{C}$, foi mensurado a absorvidade das amostras em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 470, 645, 652 e 663 nm de acordo com a metodologia de Scopel, Barbosa e Vieira (2011). Foram feitas duas leituras em cada comprimento de onda para cada amostra, com um total de seis repetições por tratamento. As equações utilizadas no cálculo das clorofilas *a*, *b*, *total* e de carotenoides, foram as propostas por Li, Tang e Xu (2013). Além disso, foi calculada a razão clorofila *a/b*.

3.3.4 Razão CO₂/O₂ e razão CO₂/MS

A atividade respiratória, indiretamente inferida pela razão CO₂/O₂ e a razão CO₂/MS (MS – massa seca), foram calculadas tendo como base as leituras de CO₂ e O₂ aferidas com uso de um respirômetro e da massa seca das plantas. A leitura foi realizada em seis tubos de ensaio por tratamento, pela inserção de uma agulha através do plástico filme que veda os tubos. A agulha é acoplada ao aparelho PBI – Dansensor Checkpoint O₂/CO₂ que funciona em

conjunto com um leitor eletroquímico que absorve em torno de 15 ml da atmosfera do tubo e faz a leitura instantânea em porcentagem da concentração de CO₂ e O₂.

3.4 Efeito do NaCl na atividade enzimática, biológica e no conteúdo de DNA

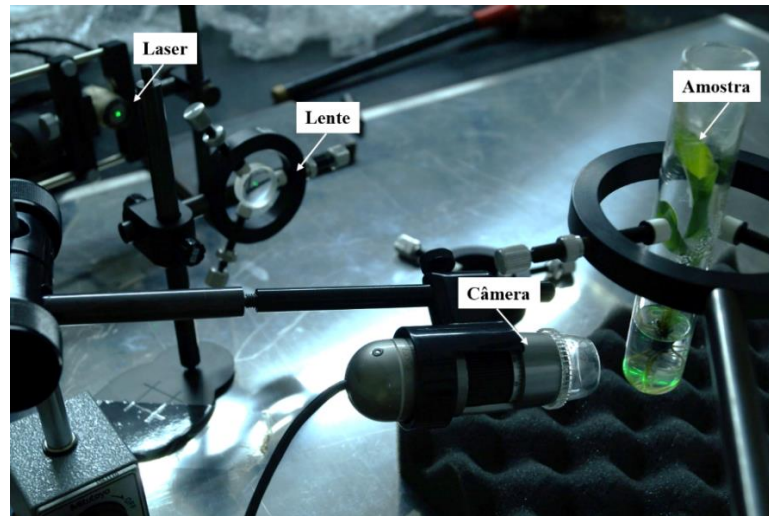
3.4.1 Atividade da Piruvato Descarboxilase

Foi determinada a expressão da enzima piruvato descarboxilase (PD), que atua na rota bioquímica da gliconeogênese. A enzima foi extraída de amostras composta por 5 plantas de cada tratamento, de onde se retirou partes da folha, do caule e da raiz, utilizando-se de almofariz pré-resfriado, com PVPP 200% e 2 mL do meio de extração específico para cada enzima. Para a extração, foi utilizado o tampão Tris HCL 0,2M pH 8,0 + (0,1% de mercaptoetanol), na proporção de 250µL por 100mg de material vegetal. O material foi homogeneizado em vortex e mantido overnight em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm por 30 minutos, a 4°C. A corrida eletroforética foi realizada em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). Foram aplicados 60 µL do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética efetuada a 120 V por 5 horas. Terminada a corrida, o gel foi revelado conforme.

3.4.2 Atividade Biológica por biospeckle Laser

A análise da atividade biológica pela técnica do biospeckle laser foi realizada iluminando-se seis amostras de cada tratamento. As leituras foram feitas na região da raiz, na maior e primeira e mais velha raiz lançada; no caule, região mediana da planta; e na folha, na primeira folha completamente expandida. Luz coerente iluminava a amostra e interagia com o material vegetal, gerando padrões de interferência que foram capturados por um microscópio digital, posicionado na região anterior do tubo, caracterizando uma configuração “back-scattering” (Figura 2). A luz coerente foi proveniente de um laser diodo de cor verde, comprimento de onda de 532 nm e corrente em torno de 66 mA. Uma lente a uma distância de 0,75m da amostra foi utilizada para ampliar o feixe de luz, objetivando iluminar uma região maior da amostra (RIBEIRO et al., 2014). O microscópio portátil digital utilizado foi da marca Dinolite, modelo AM 413zt.

Figura 2 – Sistema de determinação da atividade biológica pela técnica do *Biospeckle* laser, demonstração dos componentes.



Fonte: Do autor (2016)

Para cada amostra foram capturadas 128 imagens em escala de cinza, com resolução de 1.280 x 1.024 pixels e intervalo de 0,08 s entre frames. Essas imagens foram processadas utilizando-se o software MatLab. Os resultados foram expressos de maneira quantitativa pela diferença dos valores absolutos (do inglês, *Absolute Value of the Differences* – AVD) e graficamente por meio de Matriz de Coocorrência (MOC), sendo que quanto mais dispersos os pontos em relação à diagonal principal, maior a atividade biológica. As equações utilizadas para o cálculo da MOC (Equação 4) e do AVD (Equação 5) foram as seguintes:

$$MOC = N_{ij} \quad (\text{Equação 4})$$

$$AVD = \sum\{MOC \times |i - j|\} \quad (\text{Equação 5})$$

Sendo N_{ij} os números de ocorrências de um determinado valor de intensidade do pixel i , que é imediatamente seguido por um valor de intensidade de pixel j sendo i seguido imediatamente por j . MOC é a matriz de coocorrência e i e j são os pixels subsequentes. Além disso, foi realizada uma análise de correlação de Pearson entre a atividade biológica de cada parte da planta e todas as variáveis quantificadas nesse trabalho. A correlação foi considerada válida estatisticamente quando o p valor observado foi menor que 0,05 (Tabela de correlação apresentada no Apêndice 1).

3.4.3 Conteúdo de DNA

Na determinação do conteúdo de DNA, triturou-se 20-30 mg de tecido foliar dos explantes em placa de Petri contendo 1 mL de tampão Marie gelado, para a liberação dos núcleos. A suspensão de núcleos foi aspirada com o auxílio de uma pipeta plástica e filtrada através de uma malha de 50 μm . Com o intuito de corar os núcleos foi adicionado 25 μL de uma solução de 1 mg mL^{-1} de iodeto de propídeo em cada amostra. Dez mil núcleos foram analisados utilizando-se uma escala logarítmica. A leitura foi realizada no citômetro Facscalibur (Becton Dickinson), os histogramas obtidos com o software Cell Quest foram analisados estatisticamente no software WinMDI 2.8.

O cálculo do conteúdo de DNA nuclear (pg) foi estimado pela razão entre as intensidades de fluorescência dos núcleos G1 (núcleos que estão na fase G1 da Interfase) do padrão de referência (*Glycine max*) e dos núcleos G1 da amostra, multiplicando-se esta razão pela quantidade de DNA do padrão de referência (2,5 pg). Foram realizadas duas leituras por amostra, de um total de seis amostras por tratamento, sendo cada amostra uma planta.

3.5 Delineamento estatístico

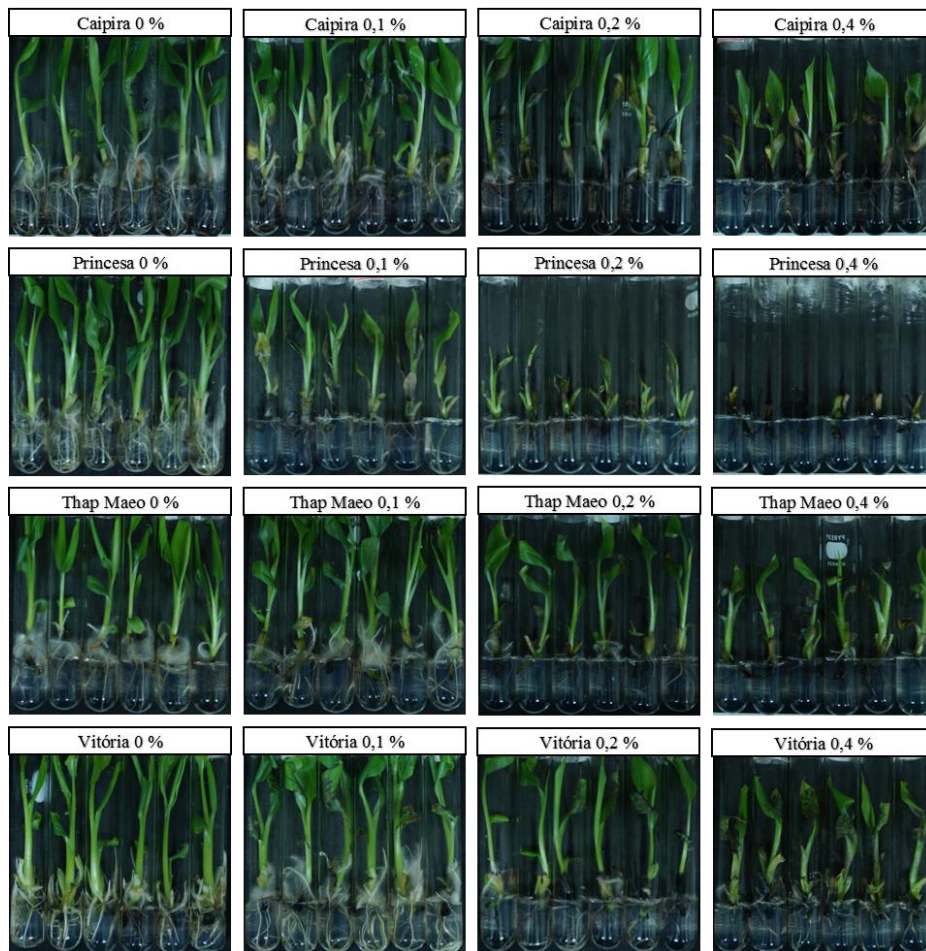
O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4. O primeiro fator referiu-se às cultivares de bananeira utilizadas (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória), já o segundo fator foi relativo às concentrações de NaCl adicionadas ao meio de cultura - 0; 0,1; 0,2 e 0,4 % (p/v).

Os dados foram submetidos à análise de variância, fixando-se o nível de significância da análise em 5 % de probabilidade. Os gráficos foram plotados com base no valor médio de cada tratamento com adição da barra de erros, calculada com base no desvio padrão de cada tratamento. Para as análises em que a mensuração da variável foi impossibilitada pelo não desenvolvimento da planta em resposta ao tratamento, a análise de variância foi avaliada levando-se em consideração a perda de caselas, com dados não balanceados.

4 RESULTADOS

O estresse salino induzido *in vitro* teve efeito considerável nas variáveis fitotécnicas, fisiológicas e biotecnológicas avaliadas. A Figura 3 abaixo permite uma avaliação visual da influência do incremento da concentração de NaCl no crescimento das plantas para cada variedade. É visível a alta sensibilidade da cultivar Princesa em relação às demais.

Figura 3 – Visualização do crescimento de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



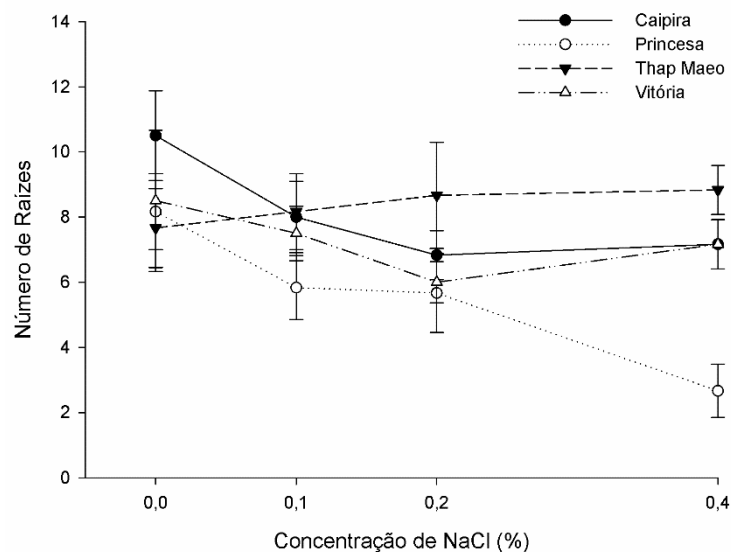
Fonte: Do autor (2016)

4.1 Efeito do NaCl nas características fitotécnicas

4.1.1 Número de raízes

Houve interação entre as cultivares de bananeira e a concentração de NaCl para o número de raízes. A cultivar Thap Maeo teve um comportamento diferenciado das demais cultivares, apresentando maior NR em resposta ao aumento da concentração de sal. Por outro lado, o NR foi reduzido 67% em relação ao controle para a cultivar Princesa, na concentração de 0,4%. Na ‘Caipira’ e ‘Vitória’ houve redução de 32% e 16% no NR quando comparados a maior concentração de sal e o tratamento controle, respectivamente (Figura 4).

Figura 4 – Número de raízes de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



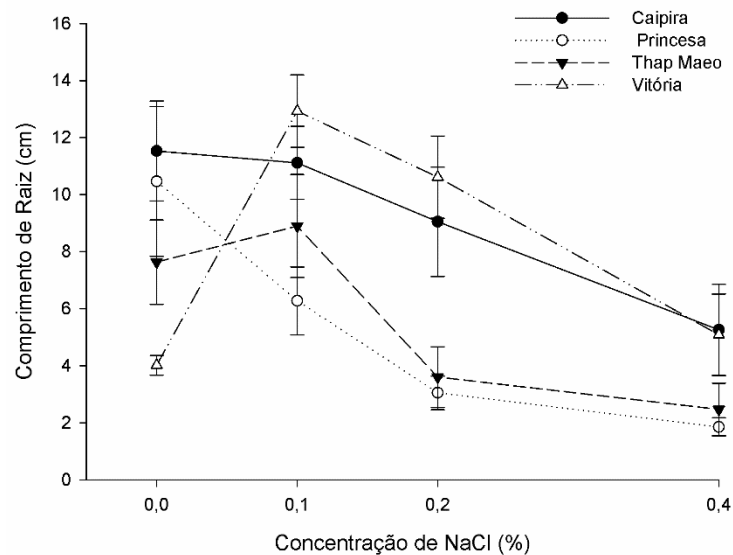
Fonte: Do autor (2016)

4.1.2 Comprimento de raiz

O comprimento de raiz foi influenciado pela interação entre as concentrações de NaCl e as cultivares de bananeira. As cultivares Vitória e Thap Maeo tiveram o CR superior ao controle no tratamento com 0,1 % de NaCl. Para ‘Vitória’, essa superioridade no CR foi estendida às demais concentrações. Nas cultivares Caipira e Princesa, o CR reduziu à medida em que a concentração de NaCl no meio de cultura aumentava. A ‘Princesa’ teve redução de

82% na concentração de 0,4% de NaCl em relação ao controle, seguida das cultivares Thap Maeo e Caipira, que apresentaram redução de 68% e 54%, respectivamente (Figura 5).

Figura 5 – Comprimento de raiz (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

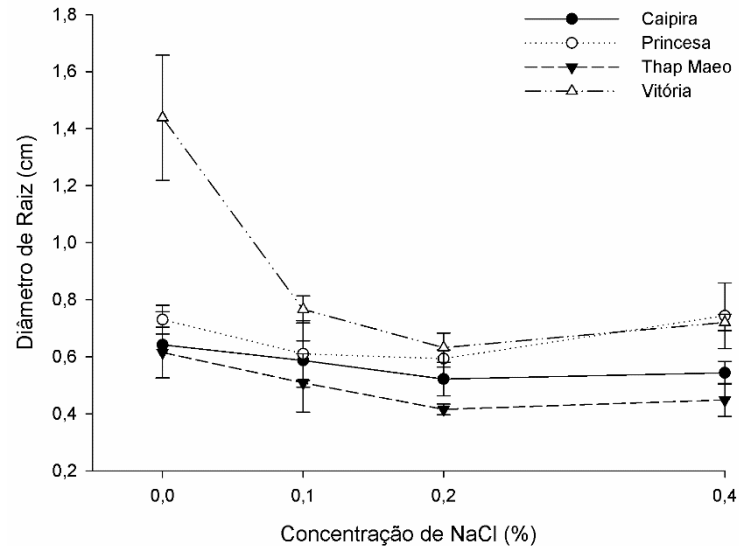


Fonte: Do autor (2016)

4.1.3 Diâmetro de raiz

A interação entre as concentrações de NaCl e as cultivares foi significativa para o diâmetro de raiz. Para todas as cultivares houve redução no DR em resposta ao incremento da intensidade do estresse salino aplicado quando comparados ao tratamento controle. Entretanto, na concentração de 0,4% de NaCl observou-se uma leve ascendência no DR para as cultivares. Decréscimo proeminente no DR foi observado para a cultivar Vitória, com redução de 47% na menor concentração de NaCl em relação ao tratamento controle (Figura 6).

Figura 6 – Diâmetro de raiz (mm) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

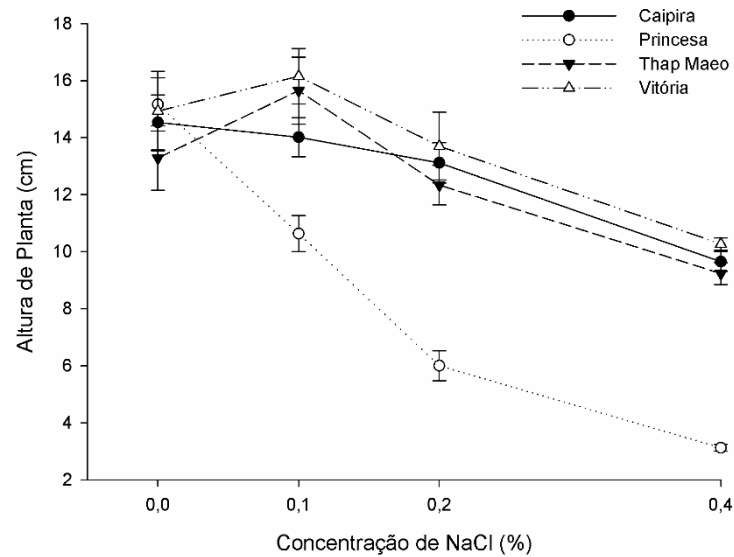


Fonte: Do autor (2016)

4.1.4 Altura de planta

Em geral, o crescimento das plantas foi comprometido pela indução do estresse salino em todas as cultivares, evidenciando a interação entre esses fatores. Porém, a utilização de 0,1% de NaCl no meio de cultivo teve efeito benéfico na altura das plantas para as cultivares Vitória e Thap Maeo. A redução da altura entre o controle e a concentração de 0,4% de NaCl foi em torno de 30 % nas cultivares, com exceção da 'Princesa'. Essa última foi a mais sensível a salinidade, com redução de 30 % na concentração de 0,1 % de NaCl, em relação ao controle. O crescimento em altura foi nulo na maior concentração de sal para essa cultivar (Figura 7).

Figura 7 – Altura de planta (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

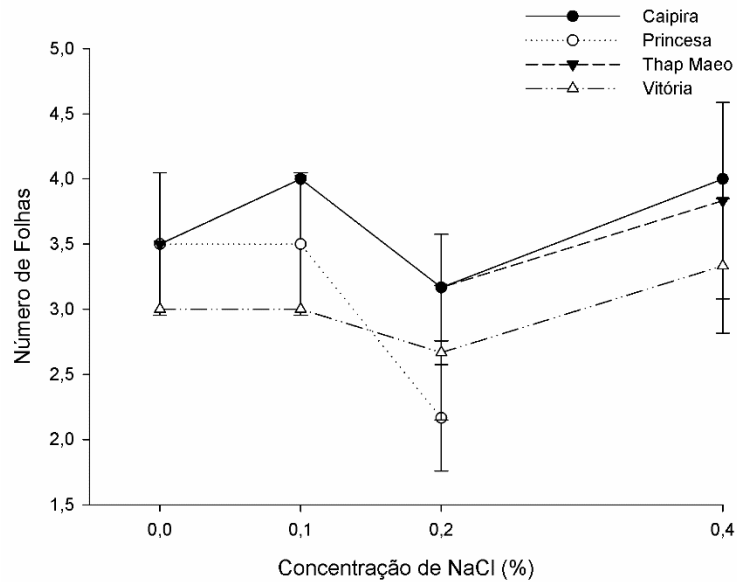


Fonte: Do autor (2016)

4.1.5 Número de folhas

O número de folhas foi influenciado pelo incremento na concentração de NaCl adicionados ao meio de cultura e pelas cultivares de bananeira. Redução acentuada no NF foi observado para a cultivar Princesa na concentração de 0,2%, levando a não emissão de folhas na maior concentração de sal. Para as cultivares Caipira e Thap Maeo houve um leve incremento no número de folhas de 14% e 9%, respectivamente, com o aumento da concentração de NaCl. Não houve diferença significativa no NF para a cultivar Vitória em resposta à adição de NaCl ao meio (Figura 8).

Figura 8 – Número de folhas de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

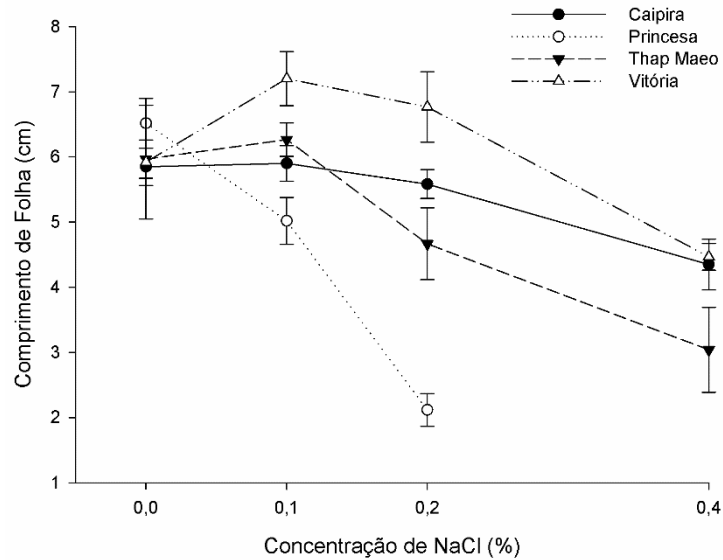


Fonte: Do autor (2016)

4.1.6 Comprimento de folha

O comprimento das folhas foi influenciado pela interação entre as cultivares e as concentrações de NaCl. As cultivares Vitória e Caipira apresentaram redução aproximada de 25% no comprimento da folha na maior concentração de sal em relação ao tratamento controle, enquanto que na cultivar Thap Maeo a redução foi de 46%. A adição de 0,1% de NaCl ao meio de cultura proporcionou maiores CF para as cultivares Vitória e Thap Maeo. Não houve formação de folha na concentração de 0,4% de NaCl para a cultivar Princesa. A redução no CF foi de 68% quando se utilizou 0,2% de sal, comprovando a alta sensibilidade dessa cultivar ao estresse salino (Figura 9).

Figura 9 – Comprimento de folha (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

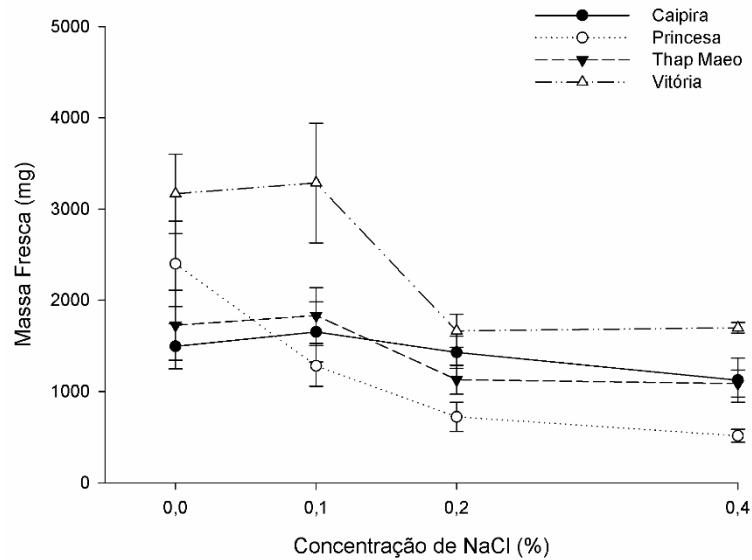


Fonte: Do autor (2016)

4.1.7 Massa fresca

A produção de massa fresca foi influenciada pela interação entre as concentrações de NaCl e as cultivares utilizadas. A redução na massa fresca das plantas só foi evidente nas concentrações superiores a 0,1 % para as cultivares Caipira, Thap Maeo e Vitória. Essas cultivares reduziram a MF em 25%, 37% e 46%, respectivamente, em relação ao tratamento controle. A redução foi mais drástica para a cultivar Princesa, que apresentou queda pronunciada na MF na menor concentração de NaCl. Na concentração de 0,4%, o decréscimo na MF foi de 79% em relação ao tratamento sem indução de estresse salino (Figura 10).

Figura 10 – Massa fresca (mg) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

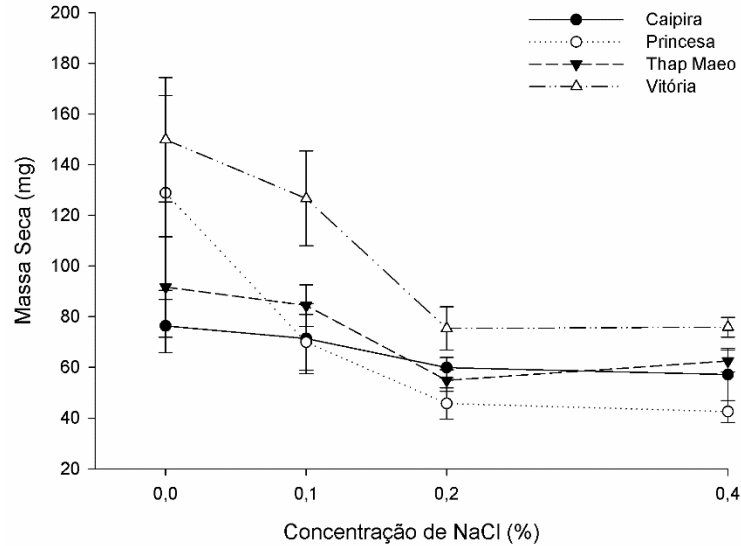


Fonte: Do autor (2016)

4.1.8 Massa seca

A massa seca das plantas foi influenciada pela interação entre as cultivares e as concentrações de NaCl utilizadas. Assim como observado na MF, a MS decresceu com o aumento da concentração de NaCl. A cultivar Princesa foi mais sensível ao estresse salino, com redução de 46% da MS na concentração de 0,1% em relação ao tratamento controle. A redução da MS na maior concentração foi de 67%. As demais cultivares tiveram a MS reduzida em 49%, 32% e 25%, representando as cultivares Vitória, Thap Maeo e Caipira, respectivamente (Figura 11).

Figura 11 – Massa seca (mg) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

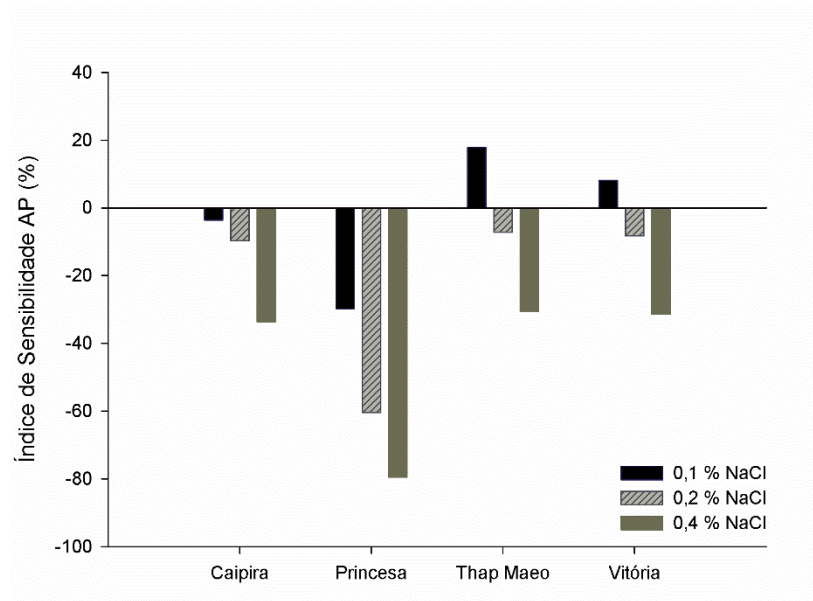


Fonte: Do autor (2016)

4.1.9 Índice de sensibilidade à salinidade

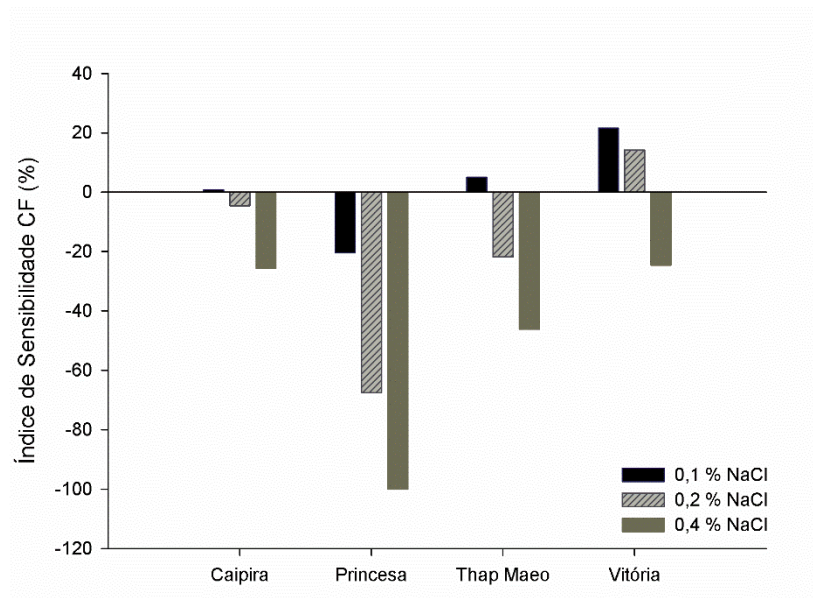
O índice de sensibilidade das cultivares em relação à altura de planta e ao comprimento de folhas, tiveram comportamento semelhantes. Ambos evidenciaram a maior sensibilidade da cultivar Princesa ao estresse salino para essas variáveis. A sensibilidade observada nas cultivares Vitória e Thap Maeo foram similares para a altura de planta (Figura 12). Já em relação ao comprimento de folha, a 'Vitória' foi mais tolerante que as demais cultivares, sendo afetada pelo estresse somente na concentração de 0,4 % de NaCl (Figura 13).

Figura 12 – Índice de sensibilidade (%) ao estresse salino para a altura de planta de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl, em relação ao controle.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 13 – Índice de sensibilidade (%) ao estresse salino para o comprimento de folha de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl, em relação ao controle.



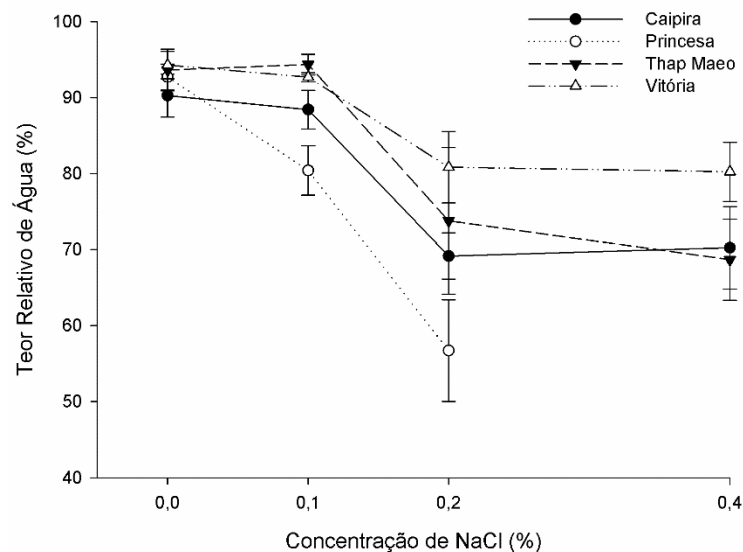
Fonte: Do autor (2016)

4.2 Efeito do NaCl nas características fisiológicas

4.2.1 Teor relativo de água

Houve interação entre a concentração de NaCl e as cultivares de bananeira para o teor relativo de água. Menor diminuição no TRA foi observado para a cultivar Vitória. A redução foi de 16% ao comparar o tratamento com 0,4% de NaCl ao controle. Por outro lado, o TRA para a cultivar Princesa foi altamente sensível ao aumento da concentração de NaCl, reduzindo de 93% para 52% no tratamento com 0,2% de NaCl em relação ao controle. Não foi possível avaliar o TRA para essa cultivar na concentração de 0,4% devido à ausência de folhas nesse tratamento, sinalizando a severidade do estresse gerado. A redução no TRA para a ‘Caipira’ e ‘Thap Maeo’ foram de 22% e 27%, respectivamente (Figura 14).

Figura 14 – Teor relativo de água de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

4.2.2 Extravasamento de eletrólitos

O extravasamento de eletrólitos foi influenciado pela interação entre a concentração de NaCl e cultivares de bananeira. O EE foi crescente em todas as cultivares com o aumento da concentração de NaCl no meio de cultivo. A variação observada no EE para a cultivar Vitória foi mínima, variando de 39,12% na ausência de NaCl para 41,75% na maior concentração de

sal. Já as cultivares Caipira e Thap Maeo apresentaram um aumento respectivo de 61% e 49% no EE. Na cultivar Princesa não foi possível avaliar o EE na concentração de 0,4% devido à não emissão de folhas em resposta ao estresse excessivo. Elevação em 51% no EE foi observada para essa cultivar na concentração de 0,2% de NaCl (Figuras 15, 16 e 17).

Figura 15 – Condutividade elétrica livre ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

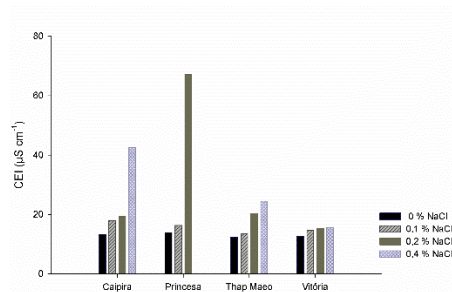


Figura 16 – Condutividade elétrica total ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

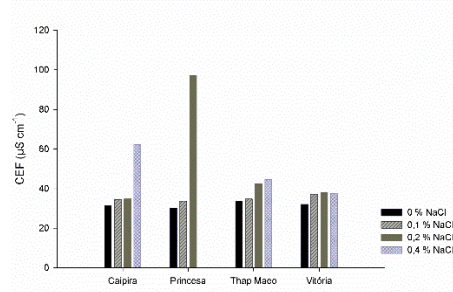
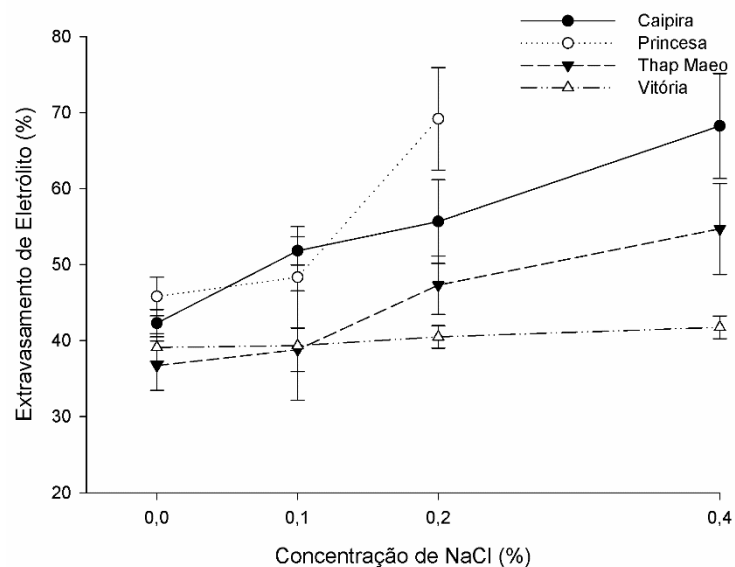


Figura 17 – Extravasamento de eletrólitos (%) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

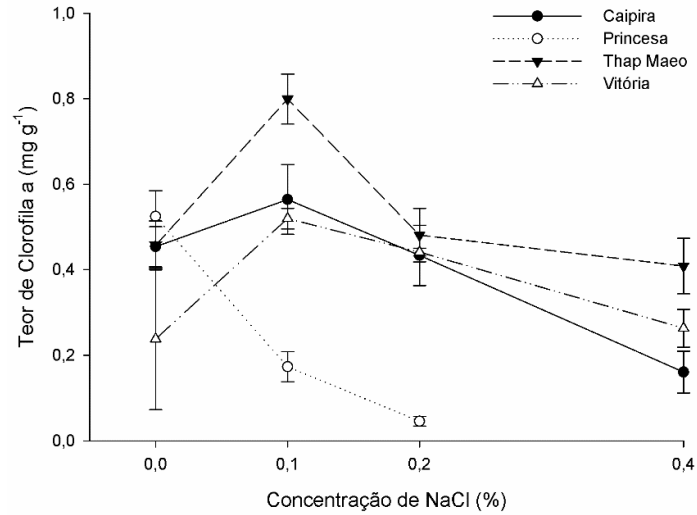
4.2.3 Teor de clorofila *a*, *b*, *a/b* e *total*

Os teores de clorofila *a*, *b*, *total* e a razão clorofila *a/b* foram influenciadas pela interação entre as concentrações de NaCl e as cultivares de bananeira. Maiores teores de clorofila *a* (Figura 18), *b* (Figura 19) e *total* (Figura 21) foram obtidos quando se utilizou 0,1% de NaCl no meio de cultura para as cultivares Caipira, Thap Maeo e Vitória. A cultivar Princesa teve esses teores de clorofila comprometidos pelo aumento da concentração de NaCl no meio de cultivo. Na concentração de 0,2% de NaCl a redução no teor de clorofila *a*, *b* e *total* para essa cultivar foram de 91%, 89 % e 90 %, respectivamente, com ausência de folhas e conseqüente impossibilidade de quantificar essas clorofilas na concentração de 0,4%.

A variação no teor de clorofila *a* e *total* para as cultivares Vitória e Thap Maeo foram pequenas na concentração de 0,4% quando comparadas ao tratamento controle, variando em torno de 10%. Já para a ‘Caipira’ houve redução de 65% e 51 % no teor de clorofila *a* e *total*, respectivamente. Já o teor de clorofila *b* foi menos influenciado com as maiores concentrações de NaCl para todas as cultivares, com exceção da ‘Princesa’. Entretanto, nas concentrações de 0,1 % e 0,2 % essa variação foi maior.

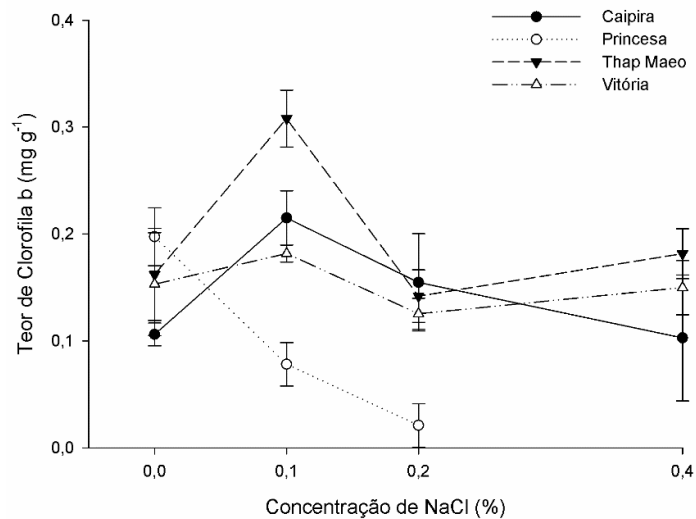
Em relação à razão clorofila *a/b*, com o aumento da concentração de NaCl houve diminuição dessa razão para as cultivares Caipira e Princesa (Figura 20). Já as cultivares Vitória e Thap Maeo apresentaram maior razão nas concentrações de 0,1 % e 0,2 % de NaCl, sendo essa razão maior para a cultivar Vitória.

Figura 18 – Teor de Clorofila *a* (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



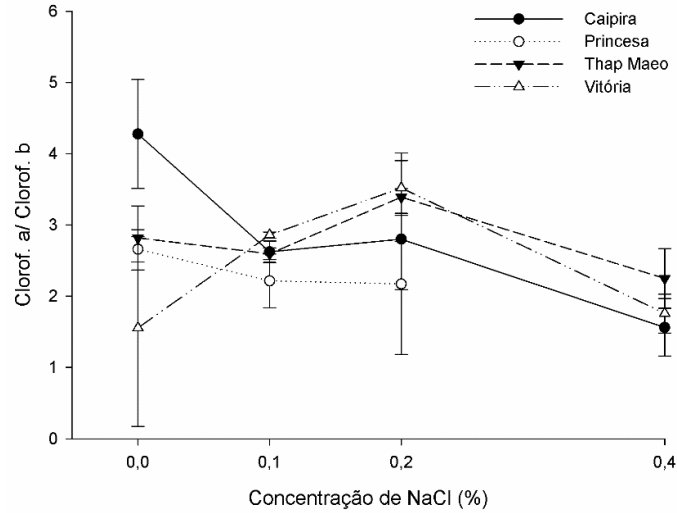
Fonte: Do autor (2016)

Figura 19 – Teor de Clorofila *b* (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



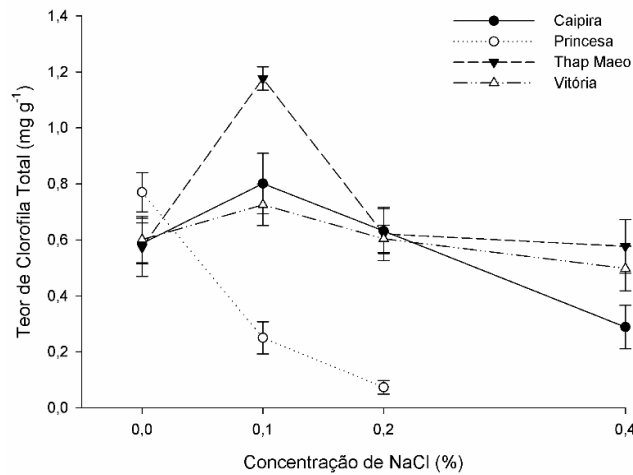
Fonte: Do autor (2016)

Figura 20 – Razão clorofila *a/b* de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 21 – Teor de Clorofila total (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.

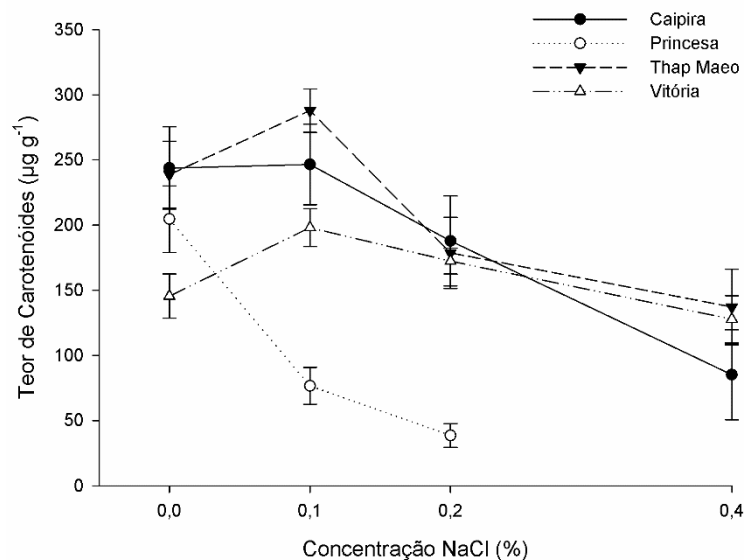


Fonte: Do autor (2016)

4.2.4 Carotenoides

O teor de carotenoides nas folhas de bananeira foi influenciado pela interação entre as cultivares e as concentrações de NaCl. A cultivar Princesa foi a mais afetada pelo aumento da concentração de NaCl no meio de cultivo, com redução de 62 % na menor concentração de sal, em relação ao controle. Já as cultivares Thap Maeo e Vitória tiveram o teor de carotenoides aumentado para essa mesma concentração. A redução observada na ‘Caipira’ e na ‘Thap Maeo’ foram de 65 e 42 %, respectivamente, na maior concentração de NaCl. A cultivar Vitória mostrou-se mais estável para essa variável, não apresentando diferença significativa entre a concentração de 0,4 % e o tratamento controle (Figura 22).

Figura 22 – Teor de carotenoides ($\mu\text{g g}^{-1}$) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



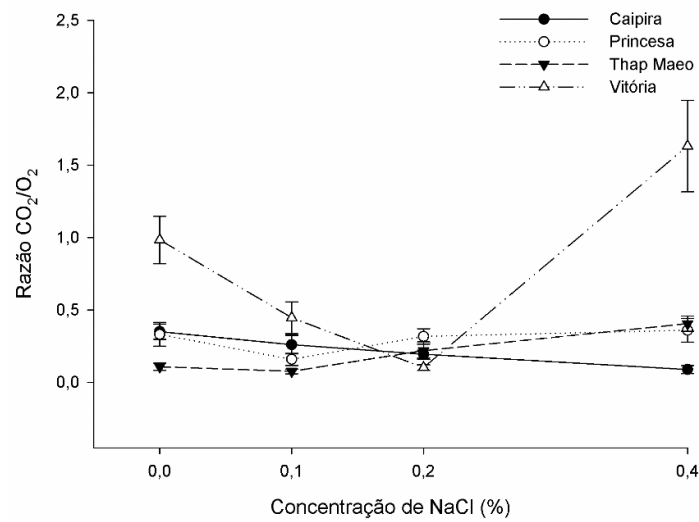
Fonte: Do autor (2016)

4.2.5 Razão CO_2/O_2 e CO_2/MS

A interação entre as concentrações de NaCl e as cultivares de bananeira foi significativa para as razões CO_2/O_2 e CO_2/MS . A cultivar Vitória apresentou um comportamento diferenciado das demais para a razão CO_2/O_2 , com aumento expressivo dessa variável na concentração de 0,4 % de NaCl. Apenas para a cultivar Caipira houve redução da razão CO_2/O_2 com o incremento das concentrações de NaCl (Figura 23).

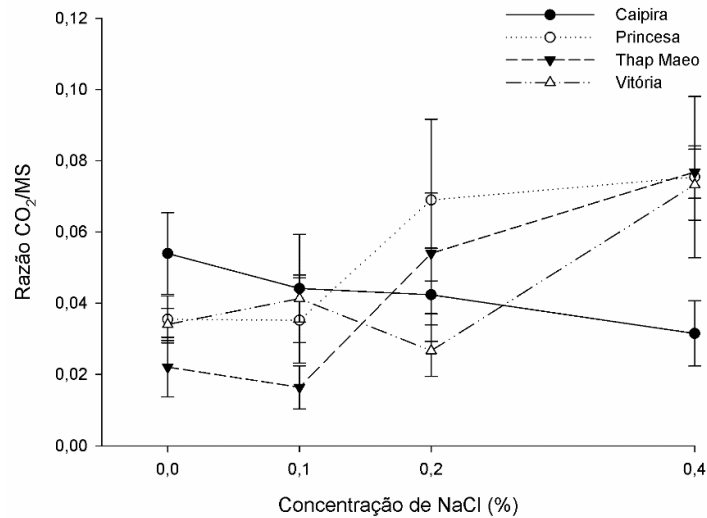
Foi observado aumento na razão CO_2/MS para todas as cultivares em função do aumento da concentração de NaCl no meio de cultura, especialmente a partir da concentração de 0,2 %, exceto para a ‘Caipira’ que teve essa variável reduzida com o incremento da concentração de sal. Nas concentrações de 0,1 % e 0,2 % tem-se maior razão CO_2/MS para a cultivar Princesa, tornando-se similar à Thap Maeo e Vitória na concentração máxima de NaCl (Figura 24).

Figura 23 – Razão CO_2/O_2 de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 24 – Razão CO_2/MS de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



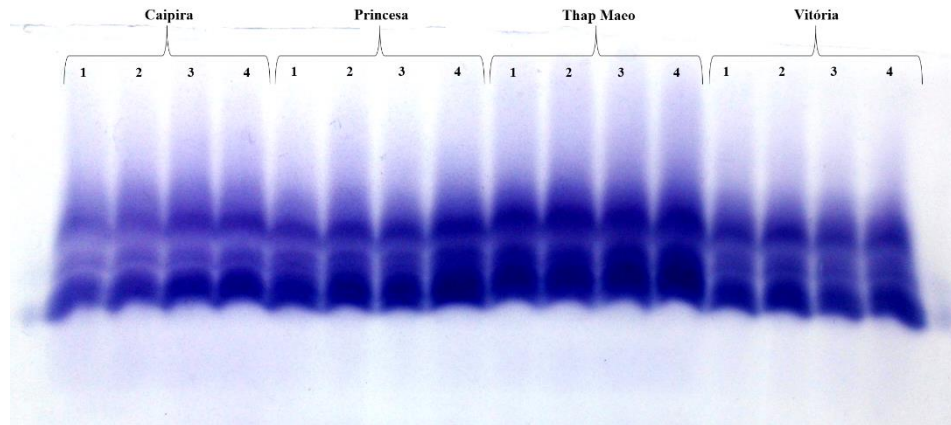
Fonte: Do autor (2016)

4.3 Efeito do NaCl na atividade enzimática, biológica e no conteúdo de DNA

4.3.1 Piruvato descarboxilase

Com base na observação do gel gerado por eletroforese, é possível inferir sobre a expressão da enzima piruvato descarboxilase em resposta ao estresse salino induzido. Nota-se que o nível de expressão da enzima é diferenciado entre as cultivares. Porém, um padrão observado em todas as variedades foi o aumento da expressão da piruvato descarboxilase na maior concentração de NaCl, sendo esse aumento mais expressivo na Princesa quando comparado às demais cultivares (Figura 25).

Figura 25 – Expressão da enzima piruvato descarboxilase de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0(1); 0,1(2); 0,2(3) e 0,4(4) % p/v de NaCl.



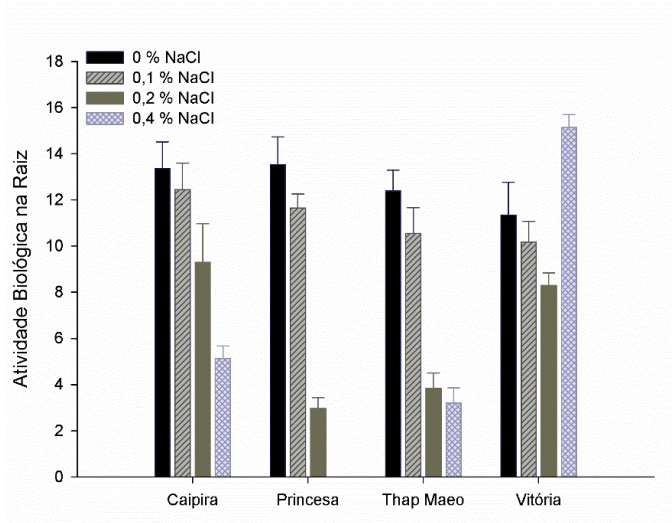
Fonte: Do autor (2016)

4.3.2 Atividade biológica por Biospeckle Laser

4.3.2.1 Atividade biológica na raiz

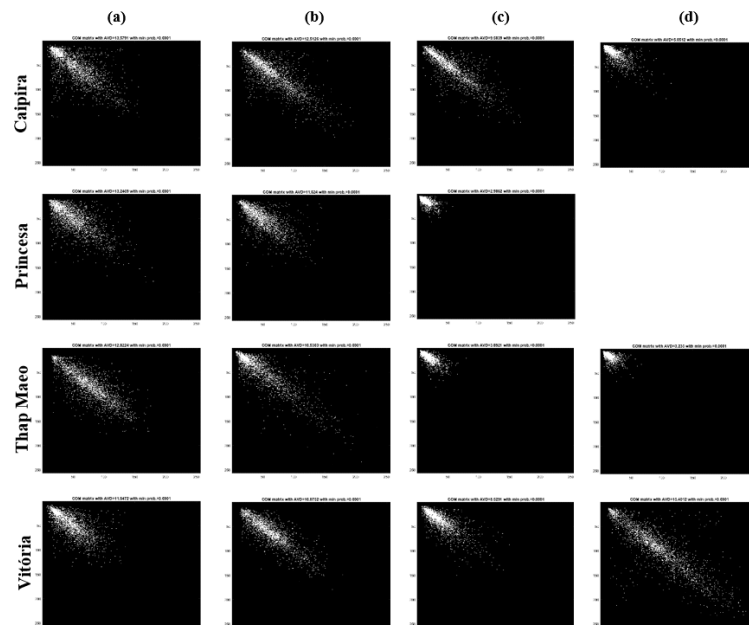
A atividade biológica medida na raiz foi influenciada pela interação entre as cultivares de bananeira e as concentrações de NaCl utilizadas. As cultivares apresentaram um comportamento semelhante, com exceção da Vitória na maior concentração de sal. Houve redução na atividade biológica à medida em que a concentração de NaCl foi aumentada no meio. Enquanto que na ‘Vitória’ essa atividade aumentou expressivamente na maior concentração de sal. A redução mais expressiva foi na ‘Princesa’, na concentração de 0,2 % de NaCl, com redução de 78 % da atividade. Já para a cultivar ‘Vitória’ a redução foi de 27 % na mesma concentração (Figura 26). É possível visualizar pela dinâmica de dispersão dos pontos mostrada na Figura 27, a variação na atividade biológica entre os tratamentos.

Figura 26 – Índice AVD de atividade biológica na raiz de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 27 – Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica na raiz de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0 (a); 0,1 (b); 0,2 (c) e 0,4 (d) % p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

Baseado na Tabela 1, em que mostra as variáveis que apresentaram correlação de Pearson forte ($\geq |0,7|$) com a atividade biológica na raiz, nota-se que a cultivar Princesa foi a que apresentou um maior número de correlações forte, seguida da Thap Maeo, Caipira e por último a Vitória, com correlação forte somente para três variáveis. As variáveis CR, CF, TRA, CAROT e CO₂/MS apresentaram alta correlação para três das cultivares avaliadas.

Tabela 1 – Correlação de Pearson entre a atividade biológica na raiz e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CAROT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (*p*-valor $\leq 0,05$), nas cultivares de bananeira avaliadas.

Atividade Biológica na Raiz (Correlação $\geq 0,7$)			
Caipira	Princesa	Thap Maeo	Vitória
CR	CR	CR	CF*
AP	AP	CF	CO ₂ /O ₂
CF	NF	MF	CO ₂ /MS
TRA	CF	MS	
EE*	MF	TRA	
CLFA	TRA	EE*	
CAROT	CLFA	CAROT	
CO ₂ /O ₂	CLFB	CO ₂ /O ₂ *	
	CLFA/B	CO ₂ /MS*	
	CLFT		
	CAROT		
	CO ₂ /MS*		

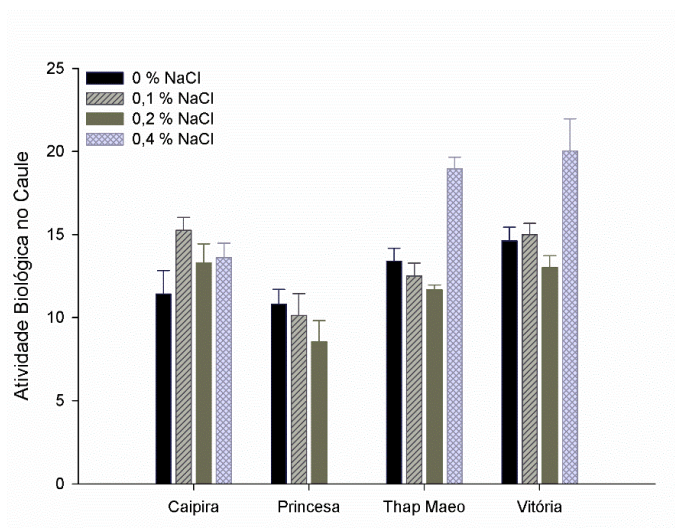
*Correlação negativa

Fonte: Do autor (2016)

4.3.2.2 Atividade biológica no caule

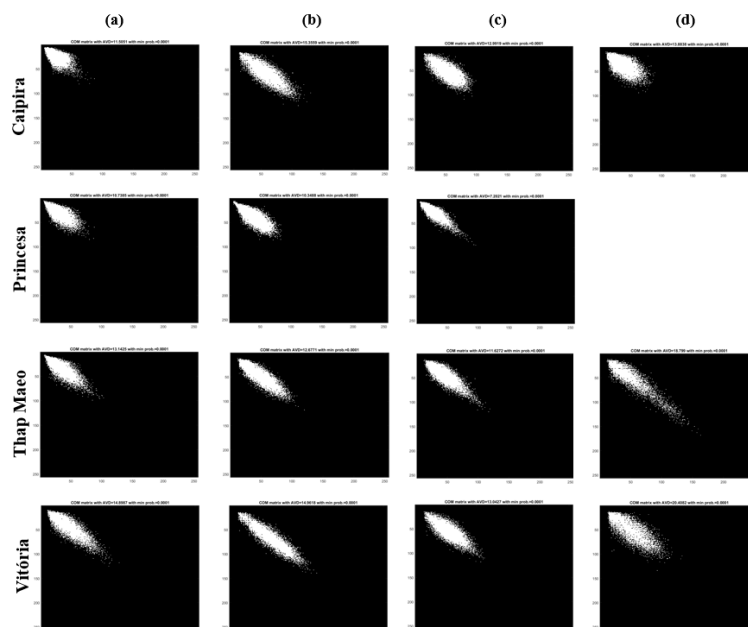
Assim como observado na atividade biológica da raiz, a interação entre as cultivares e a concentração de NaCl foi significativa na atividade biológica do caule. Entretanto, o comportamento da atividade foi diferenciado entre as variedades. Sendo descendente com o aumento da concentração de NaCl para a ‘Princesa’. ‘Thap Maeo’ e ‘Vitória’ apresentaram um grande aumento na atividade biológica na maior concentração de NaCl, atingindo valores 41 % e 37 % superiores ao controle, respectivamente (Figura 28). Já a ‘Caipira’ teve maior atividade biológica na concentração de 0,1 %, sendo 33 % superior ao controle. É possível observar essa diferença na atividade pela MOC na Figura 29.

Figura 28 – Índice AVD de atividade biológica no caule de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 29 – Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica no caule de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

Na Tabela 2 abaixo podem ser visualizadas as variáveis em que a correlação de Pearson foi forte entre a atividade biológica no caule e as características avaliadas. As cultivares Caipira e Princesa não apresentaram correlação forte com nenhuma das variáveis analisadas nesse experimento. ‘Thap Maeo’ e ‘Vitória’ tiveram três e duas, respectivamente, sendo a variável CO₂/O₂ comum para ambas cultivares.

Tabela 2 – Correlação de Pearson entre a atividade biológica no caule e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CAROT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (*p*-valor ≤ 0,05), nas cultivares de bananeira avaliadas.

Atividade Biológica no Caule (Correlação ≥0.7)			
Caipira	Princesa	Thap Maeo	Vitória
		AP*	CO ₂ /O ₂
		CF*	CO ₂ /MS
		CO ₂ /O ₂	

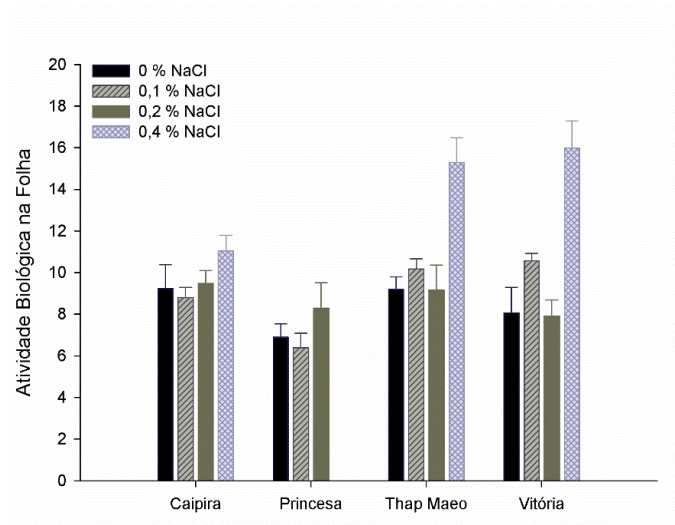
*Correlação negativa

Fonte: Do autor (2016)

4.3.2.3 Atividade biológica na folha

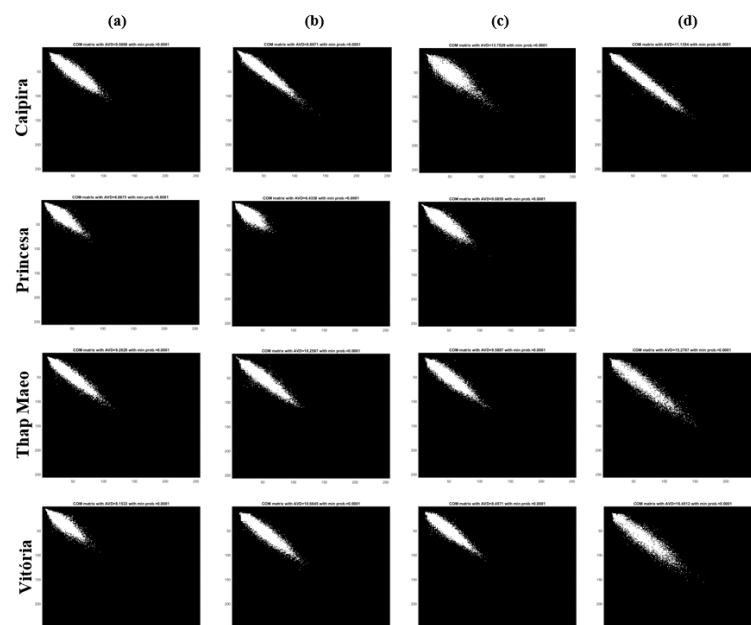
Houve interação significativa entre as cultivares e a concentração de sal adicionado ao meio de cultura para a atividade biológica na folha. De modo geral, a atividade biológica nas folhas teve aumento significativo na maior concentração de NaCl, sendo esse aumento observado na concentração de 0,2 % na cultivar Princesa. Nas cultivares Thap Maeo e Vitória também foi observado um incremento na atividade biológica na concentração de 0,1 % de NaCl em relação ao tratamento controle (Figura 30). Essa variação pode ser observada visualmente pela dispersão dos pontos na MOC abaixo (Figura 31).

Figura 30 – Índice AVD de atividade biológica na folha de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 31 – Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica na folha de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido in vitro, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

A cultivar Princesa não apresentou nenhuma variável em correlação forte com a atividade biológica na folha. A ‘Caipira’ teve três variáveis e as cultivares Thap Maeo e Vitória duas variáveis em alta correlação com a atividade biológica na folha. A AP e a razão CO₂/O₂ apresentaram alta correlação com duas cultivares, sendo a primeira negativa e segunda positiva (Tabela 3).

Tabela 3 – Correlação de Pearson entre a atividade biológica na folha e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CAROT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (*p*-valor ≤ 0,05), nas cultivares de bananeira avaliadas.

Atividade Biológica na Folha (Correlação ≥0.7)			
Caipira	Princesa	Thap Maeo	Vitória
AP*		AP*	CO ₂ /O ₂
CF*		CO ₂ /O ₂	CO ₂ /MS
CLFA*			

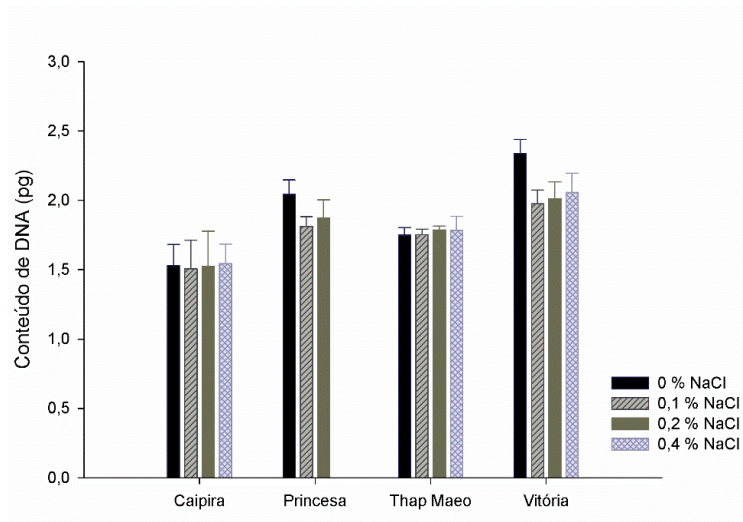
*Correlação negativa

Fonte: Do autor (2016)

4.3.3 Conteúdo de DNA

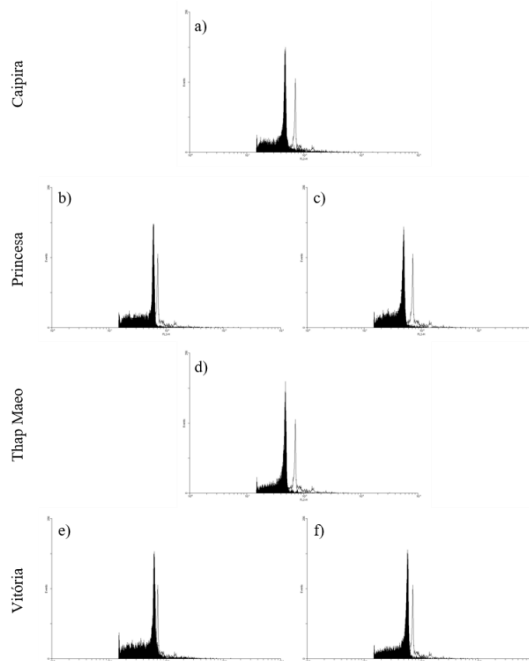
Houve interação significativa entre as concentrações de NaCl e as cultivares de bananeira no conteúdo de DNA. As cultivares Caipira e Thap Maeo não apresentaram diferença no conteúdo de DNA com o incremento de NaCl no meio de cultura. Para as cultivares Princesa e Vitória é possível observar que o conteúdo de DNA diminuiu na presença de sal. Sendo essa redução de 8,3 e 13,9 %, respectivamente, em relação à testemunha na concentração de 0,2 % de (Figuras 32 e 33).

Figura 32 – Conteúdo de DNA (pg) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de 0; 0,1; 0,2 e 0,4% p/v de NaCl.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 33 – Representação gráfica do conteúdo de DNA (pg) de diferentes cultivares de bananeira (Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória) em função do estresse salino induzido *in vitro*, nas concentrações de a) 0 %; b) 0 %; c) 0,1 %; d) 0 %; e) 0 % e f) 0,1 % de NaCl p/v de NaCl. Cada linha representa uma cultivar.



Fonte: Do autor (2016)

5 DISCUSSÃO

5.1 Efeito do NaCl nas características fitotécnicas

A adição de NaCl ao meio de cultura influenciou no crescimento das plantas, de forma diferenciada entre as cultivares. A salinidade pode alterar o crescimento e a fisiologia da planta, principalmente em espécies gliófitas, como é o caso da bananeira. Entretanto, essa interferência pode ser de maior ou menor magnitude dependendo de fatores como a intensidade, o tempo e a dinâmica do contato das plantas com os fatores estressantes (HASANUZZAMAN; NAHAR; FUJITA, 2013; GUPTA; HUANG, 2014;). Além disso, Yadav et al. 2011 afirmam que diferentes espécies e cultivares apresentam diferentes níveis de tolerância ao estresse salino.

O sistema radicular é o primeiro órgão da planta a ter contato com a salinidade do meio, o que faz com que ele tenha um importante papel nos processos de tolerância e resposta ao estresse, levando a alterações na morfofisiologia desse órgão e da planta como um todo. Nesse trabalho, as cultivares apresentaram comportamento diferenciado no que diz respeito ao número, comprimento e diâmetro de raízes. Comportamento que pode estar relacionado aos níveis e mecanismos de tolerância que cada cultivar possui.

A cultivar Princesa apresentou redução expressiva no número e comprimento de raízes com o aumento da concentração de NaCl no meio de cultura, o que permite inferir sobre a maior suscetibilidade dessa cultivar ao estresse. Já na 'Vitória' a variação no número de raízes foi menor e o comprimento de raízes aumentou expressivamente com a adição de sal ao meio, em baixas concentrações. Faiyue et al. (2010) sugerem que o desenvolvimento de sistemas radiculares com relativamente poucas raízes, mas com maior comprimento, pode ser uma das mais eficientes estratégias de exclusão e compartimentalização de sódio no cilindro central da raiz. Houve aumento do número de raízes na cultivar Thap Maeo, porém o comprimento reduziu expressivamente.

O crescimento e alongação das raízes são primariamente consequência da expansão de células produzidas na zona meristemática, localizada na ponta das raízes. Já a inibição do crescimento radicular pode ocorrer tanto pelo efeito tóxico do acúmulo de sal na zona de crescimento das raízes, pela redução da disponibilidade de água utilizada para expansão

celular, quanto pelo efeito negativo da salinidade na fotossíntese e transpiração (REWALD et al., 2013)

O sutil incremento no diâmetro da raiz na concentração de 0,4 % em relação à concentração 0,2 %, pode ser devido ao ajustamento morfológico do sistema radicular, visando dificultar a entrada de íons tóxicos. Pesquisa realizada por Baxter et al. (2009) em plantas de *Arabidopsis thaliana*, afirmam que as estrias de Caspary se tornam mais espessas quando expostas à salinidade, limitando o influxo de íons Na^+ para as camadas mais internas da raiz.

A redução da altura das plantas em todas as cultivares, nas concentrações mais elevadas de NaCl, ocorreu devido a salinidade alterar a absorção de água, nutrientes e a permeabilidade das membranas, o que acarreta mudanças no metabolismo do vegetal, comprometendo a expansão e a divisão das células e, conseqüentemente, o crescimento vegetativo (PRISCO; FILHO, 2010). De modo geral, as cultivares que se mostraram mais tolerantes ao estresse salino, tiveram melhores resultados de crescimento.

Campanelli et al. (2013) observaram redução na altura das plantas de alfafa à medida em que foi aumentada a concentração de NaCl no meio de cultura. Resultados semelhantes foram obtidos por Haq et al. (2011) ao avaliar o efeito da salinidade na micropropagação de bananeira. O aumento na altura das plantas observado para as cultivares Thap Maeo e Vitória na concentração de 0,1 % de NaCl também foi observado por Teh et al. (2015) ao cultivarem arroz *in vitro* nas concentrações de 50 e 100 mM de NaCl. Sugerindo maior tolerância dessas cultivares ao estresse salino para essa variável.

Redução no comprimento e no número de folhas são respostas diretamente ligadas ao estresse salino. Efeito observado na cultivar Princesa, que mostrou-se altamente sensível ao estresse para essas variáveis. Por outro lado, as menores variações no CF e indiferença ao aumento da concentração de NaCl para o NF na ‘Vitória’ destaca sua maior capacidade em tolerar o excesso de sal. Entretanto, mesmo nas cultivares mais tolerantes ao estresse pôde-se observar redução no NF e no CF.

A diminuição no crescimento das plantas em resposta ao estresse salino, seja da parte aérea ou do sistema radicular, são influenciados pelas alterações no sistema osmótico da planta e pelos distúrbios provenientes do excesso de íons absorvidos, especialmente o Na^+ . Com base nesse fator osmótico, a redução no crescimento da folha em plantas sensíveis pode

ocorrer pelo comprometimento da eficiência de carregamento do xilema com íons Ca^{2+} , afetando tanto a divisão quanto a alongação celular (LÄUCHLI; GRATTAN, 2007).

Em relação ao fator iônico, o acúmulo de íons Na^+ na lâmina foliar torna-se tóxico, principalmente para as folhas mais velhas, pois estas perdem a capacidade de diluir a toxicidade dos íons Na^+ por já terem cessado a expansão dos tecidos. Com a redução no metabolismo dessas folhas mais velhas, a fotossíntese é afetada, comprometendo o suprimento de carboidratos requeridos pelas folhas mais jovens, afetando o surgimento de novas folhas e o crescimento da planta (CARILLO et al., 2011; MUNNS; TESTER, 2008).

Kaushal et al. (2013) relataram redução no número de folhas de plantas de limoeiro cultivadas *in vitro* em resposta ao incremento da concentração de NaCl no meio de cultura, corroborando com a redução observada para a cultivar Princesa nesse trabalho. Theerawitaya et al. (2014) testaram cinco concentrações de NaCl na palmeira *Nypa fruticans* e não observaram diferença na área foliar nas três menores concentrações de NaCl (0,8; 8,9 e 16,6 dS m^{-1}), já na concentração de 57,2 dS m^{-1} houve redução de 33 % nessa variável. Por outro lado, Qados (2011) observou aumento no NF e na área foliar de feijoeiro submetido a baixa intensidade de estresse salino.

Parida e Das (2005) ao pesquisarem sobre o efeito da salinidade e a tolerância de plantas ao sal, relataram que o estresse salino geralmente promove redução na biomassa das plantas. Esses autores também demonstraram que determinadas espécies podem ter a biomassa aumentada em concentrações baixas ou moderadas de sal. Ambos os efeitos foram observados nesse experimento, sendo a cultivar Princesa a mais sensível ao aumento da concentração de sal, com maior redução na massa fresca e seca das plantas.

A redução na biomassa das plantas pode ocorrer em consequência da redução no crescimento de outras partes das plantas provocada pela salinidade, como a senescência de folhas mais velhas (INAN, 2004), redução na área foliar e desbalanço nutricional (CHINTALA; MCDONALD; BRYAN, 2012). Nesse experimento houve redução no comprimento das folhas em todas as cultivares na maior intensidade de estresse, além do aparecimento de regiões necrosadas nas folhas mais velhas.

Haq et al. (2011) e Kaushal et al. (2013) avaliando o efeito da utilização de NaCl no cultivo *in vitro* de bananeira e limoeiro, respectivamente, observaram redução da massa seca e fresca com o aumento da concentração do sal. Por outro lado, Murshed et al. (2015),

avaliando a tolerância ao estresse salino de oito genótipos de batata cultivados *in vitro*, observaram comportamento variado entre os genótipos, sendo que alguns deles não apresentaram mudança no acúmulo de massa fresca e seca nas menores concentrações de NaCl, corroborando com os resultados obtidos nessa pesquisa. Teh et al. (2015) relataram maior massa fresca e seca em uma das cultivares de arroz ao adicionar 50 mM de NaCl no meio de cultura.

O cálculo do índice de sensibilidade das plantas, relativos à altura de planta e ao comprimento de folha, foram importantes para esclarecer o efeito da salinidade e o nível de tolerância das plantas ao estresse. O índice ressaltou a maior sensibilidade da cultivar Princesa ao estresse salino e a maior tolerância das cultivares Thap Maeo e Vitória, com maior destaque para essa última.

O destaque para parâmetros relativos à parte aérea das plantas se deve ao fato de que, geralmente, essa parte é mais sensível ao estresse salino quando comparada ao sistema radicular. Uma vez que, a redução na área foliar e no crescimento aéreo das plantas pode reduzir o uso de água pelas plantas, preservando mais água na solução do solo, evitando o aumento da salinidade (MUNNS; TESTER, 2008).

5.2 Efeito do NaCl nas características fisiológicas

A água é a base vital das plantas, assim como de todo organismo vivo, que atua em processos fundamentais para o crescimento e desenvolvimento de plantas. Nesse trabalho, foi comum para todas as cultivares a redução no teor relativo de água da folha nas maiores concentrações de NaCl, evidenciando a maior sensibilidade da ‘Princesa’ e maior tolerância da ‘Vitória’. Essa redução pode ter influenciado nas outras respostas observadas, em especial a redução no crescimento e comprimento de folha, uma vez que a água está diretamente relacionada à elongação e divisão celular (EHLERS; GOSS, 2016).

O aumento da concentração de sal no substrato em que as raízes estão em contato, pode levar à diminuição do potencial hídrico na folha, conseqüentemente afetando diversos processos na planta (ROMERO-ARANDA; SORIA; CUARTERO, 2001), inclusive a habilidade da planta de absorver água do substrato e manter o turgor da planta. Entretanto, sob baixas ou moderadas concentrações de sal, as plantas têm a capacidade de se ajustar osmoticamente e manter o influxo de água num gradiente adequado.

(HAQ et al., 2011) avaliando parâmetros relativos ao crescimento de determinada cultivar de bananeira, observaram redução no teor relativo de água com o incremento da salinidade no meio de cultivo *in vitro*. Sabir et al. 2012 também relataram diminuição no teor relativo de água em plantas de ginseng cultivadas *in vitro* expostas à salinidade para todas as concentrações testadas. Bijanzadeh et al. (2012) mostraram que ocorre redução no teor relativo de água em duas cultivares de alfafa sob estresse salino, porém somente em concentrações superiores a 75 mM de NaCl. Por outro lado, o cultivo hidropônico de tomate sob estresse salino não influenciou no teor relativo de água da parte aérea (SHIYAB et al., 2013).

O extravasamento de eletrólitos está diretamente relacionado à integridade da membrana das células. A redução dessa integridade pode comprometer o funcionamento da membrana, levando à sua disfunção (CHATTOPADHYAY et al., 2011). A tolerância à salinidade pode ser associada à capacidade das plantas em manter a integridade da membrana plasmática (TALUKDAR, 2011). Com base nisso, podemos inferir sobre a maior tolerância da cultivar Vitória em relação às demais cultivares. Essa apresentou variações mínimas na taxa de extravasamento de eletrólitos com o aumento da concentração de sal. Em contrapartida, a integridade da membrana da ‘Princesa’ foi altamente comprometida pela salinidade, sugerindo alta sensibilidade ao estresse para essa cultivar.

De acordo com Piwowarczyk, et al. (2016) as alterações na integridade e permeabilidade das membranas, em resposta ao estresse salino, podem estar associadas a dois diferentes processos: a peroxidação dos lipídios constituintes de membrana, devido à formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) em resposta ao estresse; e ao balanço iônico da célula, uma vez que altas concentrações de Na⁺ podem levar à substituição de íons Ca²⁺ presentes na membrana, causando mudança em sua permeabilidade levando ao extravasamento de íons K⁺.

Campanelli et al. (2013) observaram aumento no extravasamento de eletrólitos no cultivo *in vitro* de diferentes clones de alfafa com o aumento da concentração de NaCl. Esse aumento também foi observado em raízes e na parte aérea no cultivo *in vitro* de *Lathyrus sativus* sob estresse salino (PIWOWARCZYK; TOKARZ; KAMIŃSKA, 2016). A super-expressão da proteína do amendoim *AhSIPR10* em plantas de bananeira (RUSTAGI et al., 2015) e do gene da aquaporina da bananeira, *MaPIP1;1* em plantas de *Arabidopsis thaliana*

(XU et al., 2014), tiveram como resultado uma menor taxa de extravasamento de eletrólitos e consequente aumento da tolerância à salinidade nas plantas transformadas.

O teor de clorofila nas folhas das plantas está diretamente relacionado à capacidade do vegetal em realizar a fotossíntese. De acordo com Parida e Jha (2013) o comprometimento da fotossíntese pode ocorrer devido a danificação do aparato fotossintético decorrente da redução de pigmentos fotossintéticos nas folhas, o que pode ou não acarretar em uma diminuição no crescimento vegetal. De modo geral, estresses abióticos afetam negativamente o aparato fotossintético das plantas (CHATTOPADHYAY et al., 2011).

As cultivares dessa pesquisa demonstraram um bom nível de tolerância ao estresse no que diz respeito ao teor de clorofila *a*, *b* e *total*. Essas clorofilas não foram negativamente afetadas pelo incremento da concentração de NaCl, em especial para as cultivares Vitória e Thap Maeo. A ‘Caipira’ teve esses teores afetados somente na maior concentração de sal. Por outro lado, a ‘Princesa’ teve a concentração desses pigmentos reduzidas drasticamente. O acúmulo em excesso de íons Na^+ e Cl^- no cloroplasto podem interferir na síntese de pigmentos e induzir sua destruição. Essa síntese é dependente do balanço adequado de íons, que por sua vez é comprometido pelo desbalanço na homeostase iônica gerado com o estresse salino, interferindo na atuação de íons-chave na formação de pigmentos, como o ferro que deixa de ser integrado à molécula de protoporfirina na formação da clorofila (SABIR, 2012).

O aumento observado na concentração desses pigmentos na ‘Vitória’, ‘Thap Maeo’ e ‘Caipira’, principalmente na concentração de 0,1 % de NaCl, pode ser um potencial indicador bioquímico de tolerância ao estresse salino. Porém, essa determinação de indicador de tolerância vai depender da espécie e da cultivar em estudo (ASHRAF; HARRIS, 2013). Apesar do menor teor de clorofila *a* observado na ‘Vitória’ em relação à ‘Thap Maeo’, essa cultivar apresenta maior razão clorofila *a/b* com a adição de sal, o que mostra maior eficiência fotossintética para essa cultivar, igualando-a às de maior conteúdo de pigmentos.

Os carotenoides também são pigmentos de grande relevância no vegetal, eles desempenham um papel importante na fotoproteção da fotossíntese, absorvendo luz em comprimentos de onda mais energéticos e transferindo para as clorofilas (TAIZ; ZEIGER, 2010). Além disso, os carotenoides atuam como um sinalizador em plantas sob estresses abióticos e bióticos, agindo como um forte antioxidante de espécies reativas de oxigênio (ASHRAF; HARRIS, 2013).

Em geral, ocorre redução no teor de carotenoide nas folhas de plantas sob estresse salino (PARIDA; DAS, 2005), corroborando com a resposta observada na cultivar mais sensível nesse trabalho, a Princesa. Porém, também foi verificado o incremento em baixas concentrações de sal na ‘Thap Maeo’ e ‘Vitória’ e manutenção no teor desse pigmento na concentração mais alta de NaCl para essa última cultivar. Kim et al. (2012) afirmaram que o aumento na concentração de carotenoides em cultura de células transgênicas de batata-doce elevaram a tolerância das células à salinidade.

Em acordo com o observado nesse trabalho para a cultivar Princesa, Haq et al. (2011) e Mohamed et al. (2010) verificaram redução nos teores de clorofila *a*, *b* e *total* à medida em que aumentou a salinidade no meio de cultura, em plantas de banana e batata, respectivamente. Esses últimos autores também relataram um aumento no teor de carotenoides quando as plantas foram expostas à baixa concentração de sal (30 mM) e em altas concentrações houve redução desse pigmento. Por outro lado, plantas de *Lathyrus sativus* não apresentaram nenhum efeito na produção de clorofila, carotenoides e uma estável razão clorofila *a/b* com o incremento da salinidade no meio *in vitro* (PIWOWARCZYK; TOKARZ; KAMIŃSKA, 2016). Teh et al. (2015) também observaram aumento na concentração de clorofila em baixas concentrações de sal no cultivo *in vitro* de arroz.

Baseado na razão CO_2/O_2 é possível inferir sobre a taxa respiratória no interior do tubo. O aumento da concentração de CO_2 em detrimento do O_2 pode representar aumento da atividade respiratória e possível restrição da atividade fotossintética. Com o intuito de entender se esse aumento está relacionado à manutenção da atividade da planta ou à deterioração, é importante também avaliar a razão CO_2/MS , permitindo inferir se o crescimento em massa do vegetal continua ocorrendo mesmo em taxas respiratórias elevadas.

A salinidade tem efeito na respiração de plantas, sendo dependente da intensidade, genótipo e duração do estresse. A interação desses fatores, devido sua complexidade, leva à inexistência de um padrão de resposta das plantas à salinidade para a respiração (JACOBY; TAYLOR; MILLAR, 2011). Esses autores, ao discutirem sobre o papel da respiração mitocondrial na tolerância à salinidade, reportaram que a taxa respiratória aumentou em 37 % dos estudos pesquisados, reduziu em 34 % e não sofreu alterações significativas em 29 % desses trabalhos.

No presente estudo, apenas a cultivar Vitória apresentou uma grande variação na respiração, com expressivo aumento na maior concentração de NaCl. Para as demais cultivares as variações foram sutis. O aumento da respiração sob efeito da salinidade é definido como respiração salina, que resulta do aumento do custo energético associado ao aumento da acumulação e toxicidade de íons (AHMAD; AZOOZ; PRASAD, 2013). Esse aumento pode ser benéfico ou não para a planta. A maior produção de ATP provê energia para o crescimento de novos tecidos e para processos de defesa da planta, como o ajustamento osmótico, exclusão de sódio e promoção de tolerância dos tecidos. Por outro lado, altas taxas respiratórias podem limitar a capacidade de crescimento, uma vez que o carbono ao invés de ser alocado para a síntese de novos tecidos, são consumidos pela respiração (JACOBY; TAYLOR; MILLAR, 2011).

5.3 Efeito do NaCl na atividade enzimática, biológica e no conteúdo de DNA

Distúrbios no metabolismo básico das plantas e a atividade de enzimas são afetados em condições de estresse salino. Com isso, suprimento extra de energia é requerido para manter os processos relacionados aos mecanismos de resistência das plantas, como: transporte de íons, síntese de osmólitos e eliminação de EROs. Nesse sentido, a regulação de enzimas como a piruvato descarboxilase pode ser crucial na ativação de vias de produção de energia, tanto em plantas tolerantes quanto em plantas sensíveis ao estresse (DAMARIS et al., 2016). A enzima piruvato descarboxilase é a primeira enzima da rota fermentativa que converte o piruvato advindo da glicólise em acetaldeído, que por sua vez é metabolizado em etanol pela álcool desidrogenase, regenerando NAD^+ para sustentar a glicólise (FANTE et al., 2010).

Ghosh; Xu (2014), citaram que alterações na produção de carboidratos e no metabolismo energético de plantas sob estresse salino podem ocorrer devido ao aumento da concentração de enzimas envolvidas em processos como a glicólise, ciclo de Krebs, cadeia transportadora de elétrons e síntese de ATP. Esses autores citam que a enzima piruvato descarboxilase, dentro do processo da glicólise, foram mais abundantes em raízes de arroz submetidas ao estresse salino. Além disso, Damaris et al. (2016) ao realizarem estudo de proteômica em raízes de cultivares de arroz africano, verificaram a presença de enzimas piruvato descarboxilase no grupo de proteínas sensíveis ao estresse salino, o que justifica o grande aumento da expressão dessa enzima na cultivar mais sensível avaliada nesse trabalho, a Princesa.

A determinação da atividade biológica pela técnica do biospeckle laser é uma ferramenta de grande potencial para utilização em experimentos envolvendo estresse. A exposição de plantas a fatores estressantes tem efeito direto no metabolismo do vegetal, tanto em nível celular quanto em nível sistêmico. A atividade biológica mensurada por essa técnica pode ter relação com uma gama de processos simultâneos, como crescimento e divisão celular ou outros processos celulares, representados pelo movimento de organelas, fluxo citoplasmático ou reações bioquímicas (BRAGA et al., 2009).

É de se esperar que a atividade biológica na raiz, caule e folha sejam diferentes, uma vez que cada um desses órgãos exerce distintas funções na planta. Entretanto, a divergência no comportamento da atividade biológica observado nesse trabalho, para cada órgão da planta, ainda não havia sido reportada e correlacionada matematicamente com características fitotécnicas e fisiológicas. O que trouxe avanços metodológicos relacionados a essa técnica, que serão relevantes na condução de novos experimentos.

O perfil de atividade biológica mensurado na raiz e ilustrado pela MOC reflete bem o comportamento das cultivares em resposta ao incremento da salinidade, ressaltando a maior sensibilidade da Princesa e evidenciando mecanismos de tolerância ao estresse na Vitória. A atividade mensurada na raiz foi a que apresentou forte correlação com um maior número de variáveis. Para Krasuska e Gniazdowska (2015) a raiz é o principal órgão da planta, responsável pela percepção de sinais. Similarmente, Baluška et al. (2010) descreveram o meristema apical da raiz como uma estrutura sensorial que também pode ser chamada de “centro de decisão” da planta, o que justifica a correlação da atividade biológica observada na raiz com os diversos parâmetros avaliados.

A redução na atividade biológica da raiz com o incremento de NaCl demonstra o comprometimento do crescimento da planta, que pode estar associado a fatores previamente mensurados, como danos na membrana e no aparato fotossintético, teor relativo de água e parâmetros de crescimento. Sendo reflexo das alterações celulares e moleculares desencadeadas pelas raízes em resposta ao estresse salino, como exemplos: a alteração no metabolismo energético e carboidratos; mudanças na homeostase iônica e tráfico de membranas; eliminação de EROs; reorganização do citoesqueleto e redistribuição de componentes da parede celular (GHOSH; XU, 2014).

O aumento da atividade biológica na ‘Vitória’, na concentração de 0,4 % de NaCl, não representa maior crescimento de planta, fato comprovado pela análise de correlação. Esse aumento está relacionado aos mecanismos de tolerância ao estresse desenvolvidos pela planta. Aparentemente, um dos parâmetros de maior influência no aumento dessa atividade é a respiração, que apresentou uma elevada taxa na maior concentração de NaCl (Figura 23). Rewald et al. (2013) relatam que o aumento na respiração de manutenção, a fim de manter ativo o transporte de íons e/ou o crescimento em raízes expostas à salinidade, é geralmente consistente com a ocorrência de elevadas taxas de respiração nas raízes, enquanto a taxa de crescimento é reduzida.

A atividade biológica no caule e na folha não apresentaram fortes correlações com a maioria das variáveis avaliadas, sendo o caule ainda menos correlato com as variáveis analisadas que a folha. Porém, é importante ressaltar a correlação da atividade nesses órgãos com variáveis ligadas à respiração das plantas, o que sugere que essa característica apresenta uma forte influência na planta como um todo. Alves et al. (2013) relacionaram a atividade biológica em cenoura com a respiração, considerando-a como o principal processo metabólico, uma vez que a energia produzida pela respiração é utilizada para dar continuidade em processos de síntese necessários para a sobrevivência do vegetal.

Baseado no comportamento da atividade biológica apresentado na raiz e folha, sugere-se a existência de uma complementariedade entre esses órgãos. Com a redução da atividade biológica na raiz, nas maiores concentrações de NaCl, houve aumento da atividade biológica na folha. Nesse sentido, devido ao comprometimento da efetividade do sistema radicular pela salinidade, a folha passou a apresentar maior responsabilidade no suprimento de energia e na ativação de mecanismos de tolerância, justificando a elevação da atividade biológica nesse órgão na maior concentração de sal, principalmente nas cultivares com maiores níveis de tolerância, ‘Vitória’ e ‘Thap Maeo’.

Espécies reativas de oxigênio (ERO) são formadas em plantas sob estresse salino. EROs causam danos oxidativos aos ácidos nucleicos, incluindo a modificação de bases, rupturas das fitas simples e duplas de DNA e altera a metilação da citosina (IMLAY, 2003; WEITZMAN et al., 1994). Baseado nisso, pode-se justificar a redução no conteúdo de DNA observado nas cultivares Caipira e Vitória, em resposta à adição de NaCl ao meio de cultura. Além disso, esse resultado demonstra uma maior instabilidade genética dessas cultivares.

Outros autores também observaram redução no conteúdo de DNA em resposta à salinidade. Degradação do DNA e deformação nuclear em células de cevada expostas a estresse salino severo foi observado em trabalho realizado por Katsuhara e Kawasaki (1996). Deformação nuclear e degradação do DNA foi relatado por Liu et al. (2000) em células meristemáticas da raiz de soja, submetidas à 150 mM de NaCl. A redução no conteúdo de DNA e RNA também foi observada em plantas de cana-de-açúcar sob estresse salino (GOMATHI; VASANTHA, 2006).

6 CONCLUSÕES

A cultivar Princesa é muito sensível ao estresse salino induzido *in vitro*.

A cultivar Vitória é a mais tolerante ao estresse salino dentre as cultivares avaliadas.

As cultivares Thap Maeo e Caipira apresentam comportamento intermediário entre a cultivar tolerante e a cultivar sensível ao estresse salino.

A mensuração da atividade biológica na raiz apresenta uma melhor correlação com as características fitotécnicas e fisiológicas em comparação com a atividade biológica medida na folha e no caule.

O conteúdo de DNA das cultivares Princesa e Vitória é reduzido em condições de estresse salino.

7 REFERÊNCIAS

- AHMAD, P.; AZOOZ, M. M.; PRASAD, M. N. V. **Ecophysiology and responses of plants under salt stress**. v. 1, p. 1-510, 2013.
- ALVES, J. A.; BRAGA, R. A.; VILAS BOAS, E. V. DE B. Identification of respiration rate and water activity change in fresh-cut carrots using biospeckle laser and frequency approach. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 381–386, 2013.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments : An overview. **Photosynthetica**. v. 51, n. 2, p. 163–190, 2013.
- BALUŠKA, F. et al. Root apex transition zone: A signalling-response nexus in the root. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 7, p. 402–408, 2010.
- BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A Re-Examination of the Relative Turgidity Technique for Estimating Water Deficits in Leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 15, n. 3, p. 413–428, 1962.
- BAXTER, I. et al. Root suberin forms an extracellular barrier that affects water relations and mineral nutrition in Arabidopsis. **PLoS Genetics**, v. 5, n. 5, p. 159–165, 2009.
- BIJANZADEH, E. et al. Relationship Between Ion Accumulation and Plant Biomass of Alfalfa Under Salt Stress. **Plant Physiology and Breeding**, v. 1, n. 2, p. 1–10, 2012.
- BRAGA, R. A. et al. Live biospeckle laser imaging of root tissues. **European Biophysics Journal**, v. 38, n. 5, p. 679–686, 2009.
- CAMPANELLI, A. et al. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) clones tolerant to salt stress: in vitro selection. **Central European Journal of Biology**, v. 8, n. 8, p. 765–776, 2013.
- CARILLO, P. et al. Salinity Stress and Salt Tolerance. In: SHANKER, A. (Ed.). . **Abiotic stress in plants-mechanisms and adaptations**. p. 21–38, 2011.
- CHATTOPADHYAY, A. et al. Analysis of the grasspea proteome and identification of stress-responsive proteins upon exposure to high salinity, low temperature, and abscisic acid treatment. **Phytochemistry**, v. 72, n. 10, p. 1293–307, jul. 2011.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of botany**, v. 103, n. 4, p. 551–60, 1 fev. 2009.
- CHINTALA, R.; MCDONALD, L.; BRYAN, W. Effect of salt stress on growth and accumulation of proline and soluble sugars on plantlets of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* used as rootstocks. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, 2012.
- DAMARIS, R. N. et al. A proteomic analysis of salt stress response in seedlings of two African rice cultivars. **Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics**, v. 1864, n. 11, p. 1570–1578, 2016.

EHLERS, W.; GOSS, M. **Water Dynamics in Plant Production**, 2nd Edition. [s.l.] CABI, 2016.

FAIYUE, B. et al. Studies on sodium bypass flow in lateral rootless mutants lrt1 and lrt2 , and crown rootless mutant crl1 of rice (*Oryza sativa* L .). **Plant, Cell and Environment**, v. 33, p. 687–701, 2010.

FANTE, C. A. et al. Respostas fisiológicas em cultivares de soja submetidas ao alagamento em diferentes estádios. **Bragantia**, v. 69, n. 2, p. 253–261, 2010.

GHOSH, D.; XU, J. Abiotic stress responses in plant roots: a proteomics perspective. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 6, 2014.

GOMATHI, R.; VASANTHA, S. Change in nucleic acid content and expression of salt shock proteins in relation to salt tolerance in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 8, p. 124–127, 2006.

GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants : Physiological , Biochemical , and Molecular Characterization. **International Journal of Genomics**, v. 2014, p. 1–18, 2014.

HAMROUNI, L. et al. [In vitro culture: a simple and efficient way for salt-tolerant grapevine genotype selection]. **Comptes rendus biologies**, v. 331, n. 2, p. 152–63, fev. 2008.

HAQ, I. U. et al. Certain growth related attributes of micropropagated banana under different salinity levels. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 3, p. 1655–1658, 2011.

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; FUJITA, M. Plant Response to Salt Stress and Role of Exogenous Protectants to Mitigate Salt-Induced Damages. In: AHMAD, P. ET AL. (Ed.). . **Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress**. p. 28–87, 2013.

HASEGAWA, P. M. et al. PLANT CELLULAR AND MOLECULAR RESPONSES TO HIGH SALINITY. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, n. 1, p. 463–499, 2000.

IBGE. Sistema IBGE de recuperação automática (SIDRA) - Censo Agropecuário. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, p. 1–10, 2014.

IMLAY, J. A. Pathways of oxidative damage. **Annual review of microbiology**, v. 57, p. 395–418, 2003.

INAN, G. ET AL. Salt Cress. A Halophyte and Cryophyte Arabidopsis Relative Model System and Its Applicability to Molecular Genetic Analyses of Growth and Development of Extremophiles transformed by the simple oral. **Plant Physiology**, v. 135, p. 1718–1737, 2004.

JACOBY, R. P.; TAYLOR, N. L.; MILLAR, A. H. The role of mitochondrial respiration in salinity tolerance. **Trends in plant science**, v. 16, n. 11, p. 614–23, nov. 2011.

KARAN, R. et al. Salt stress induced variation in DNA methylation pattern and its influence

on gene expression in contrasting rice genotypes. **PloS one**, v. 7, n. 6, p. e40203, 28 jan. 2012.

KATSUHARA, M.; KAWASAKI, T. Salt Stress Induced Nuclear and DNA Degradation in Meristematic Cells of Barley Roots. **Plant and Cell Physiology**, v. 37, n. 2, p. 169–173, 1 mar. 1996.

KAUSHAL, M.; KUMAR, L.; GILL, M. I. S. Effect of salinity on survival and growth performance of in vitro grown rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush .) **Indian Journal of Biotechnology**, v. 12, n. April, p. 284–286, 2013.

KIM, S. H. et al. Down-regulation of β -carotene hydroxylase increases β -carotene and total carotenoids enhancing salt stress tolerance in transgenic cultured cells of sweetpotato. **Phytochemistry**, v. 74, p. 69–78, fev. 2012.

KRASUSKA, U.; GNIAZDOWSKA, A. ROS--RNS--Phytohormones Network in Root Response Strategy. In: GUPTA, D. K.; PALMA, J. M.; CORPAS, F. J. (Eds.). . **Reactive Oxygen Species and Oxidative Damage in Plants Under Stress**. Cham: Springer International Publishing, p. 321–339, 2015.

LÄUCHLI, A.; GRATAN, S. R. PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT UNDER SALINITY STRESS. In: JENKS, M. A. ET AL. (Ed.). . **Advances in Molecular Breeding Toward Drought and**. p. 1–32, 2007.

LI, H.; TANG, C.; XU, Z. Scientia Horticulturae The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus* L .) plantlet growth and morphogenesis in vitro. **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 117–124, 2013.

LIU, T.; VAN STADEN, J.; CRESS, W. A. Salinity induced nuclear and DNA degradation in meristematic cells of soybean (*Glycine max* (L.)) roots. **Plant Growth Regulation**, v. 30, n. 1, p. 49–54, 2000.

MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. v. 53, n. 9, p. 651, 2012.

MOHAMED, A. A.; MATTER, M. A.; SAKER, M. M. Effect of salt stress on some defense mechanisms of transgenic and wild potato clones (*Solanum tuberosum* L.) grown in vitro. **Nature and Science**, v. 8, n. 12, p. 181–193, 2010.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651–681, 2008.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473–497, jul. 1962.

MURSHED, R. et al. Using Growth Parameters for In-vitro Screening of Potato Varieties Tolerant to Salt Stress. **J. Agr. Sci. Tech**, v. 17, p. 483–494, 2015.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, n. 3, p. 324–349, 2005.

- PARIDA, A. K.; JHA, B. Inductive responses of some organic metabolites for osmotic homeostasis in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings during salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, n. 9, p. 2821–2832, 2013.
- PIWOWARCZYK, B.; TOKARZ, K.; KAMIŃSKA, I. Responses of grass pea seedlings to salinity stress in in vitro culture conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 124, n. 2, p. 227–240, 2016.
- PRISCO, J. T.; FILHO, E. G. **Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas**. [s.l.] InTech, 2010.
- QADOS, A. M. S. A. Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 10, n. 1, p. 7–15, 2011.
- RAI, M. K. et al. Developing stress tolerant plants through in vitro selection-An overview of the recent progress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 1, p. 89–98, 2011.
- REWALD, B. et al. Adaptive Plasticity of Salt-Stressed Root Systems. In: AHMAD, P.; AZOOZ, M. M.; PRASAD, M. N. V (Eds.). **Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress**. New York, NY: Springer New York, p. 169–201, 2013.
- RIBEIRO, K. M. et al. Continuous, high-resolution biospeckle imaging reveals a discrete zone of activity at the root apex that responds to contact with obstacles. **Annals of botany**, v. 113, n. 3, p. 555–63, 1 fev. 2014.
- ROMERO-ARANDA, R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. **Plant Science**, v. 160, n. 2, p. 265–272, 2001.
- RUSTAGI, A. et al. High Efficiency Transformation of Banana [*Musa acuminata* L. cv. Matti (AA)] for Enhanced Tolerance to Salt and Drought Stress Through Overexpression of a Peanut Salinity-Induced Pathogenesis-Related Class 10 Protein. **Molecular Biotechnology**, v. 57, n. 1, p. 27–35, 2015.
- SABIR, F. et al. Salt Stress-induced Responses in Growth and Metabolism in Callus Cultures and Differentiating In Vitro Shoots of Indian Ginseng (*Withania somnifera* Dunal). **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 31, n. 4, p. 537–548, 2012.
- SCOPEL, W.; BARBOSA, J. Z.; VIEIRA, M. L. Extração de pigmentos foliares em plantas de canola. **Unoesc & Ciência - ACET**, v. 2, n. 1, p. 87–94, 2011.
- SHI, Q. et al. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. **Plant Growth Regulation**, v. 48, n. 2, p. 127–135, 2006.
- SHIYAB, S. M. et al. Growth, Nutrient Acquisition, and Physiological Responses of Hydroponic Grown Tomato To. v. 36, n. 4, p. 665–676, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, Fifth Edition. **Cell**, v. 1, p. 782, 2010.

TALUKDAR, D. Isolation and characterization of NaCl-tolerant mutations in two important legumes, *Clitoria ternatea* L. and *Lathyrus sativus* L.: Induced mutagenesis and selection by salt stress. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 16, p. 3619–3628, 2011.

TEH, C. Y. et al. In vitro rice shoot apices as simple model to study the effect of NaCl and the potential of exogenous proline and glutathione in mitigating salinity stress. **Plant Growth Regulation**, v. 75, n. 3, p. 771–781, 2015.

THEERAWITAYA, C.; SAMPHUMPHAUNG, T.; CHA-UM, S. Responses of Nipa palm (*Nypa fruticans*) seedlings, a mangrove species, to salt stress in pot culture. **Flora**, v. 209, n. 10, p. 597–603, 2014.

WEITZMAN, S. A et al. Free radical adducts induce alterations in DNA cytosine methylation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 4, p. 1261–4, 1994.

XU, Y. et al. A banana aquaporin gene, MaPIP1;1, is involved in tolerance to drought and salt stresses. **BMC plant biology**, v. 14, p. 59, 2014.

YADAV, S. et al. Causes of salinity and plant manifestations to salt stress: A review. **Journal of Environmental Biology**, v. 32, n. 5, p. 667–685, 2011.

CAPÍTULO 3 – Cultivares de bananeira sob estresse hídrico *in vitro*: abordagem fitotécnica, fisiológica e biotecnológica.

RESUMO

O estresse hídrico é um dos principais estresses abióticos, que afeta diversas regiões do mundo, reduzindo severamente o crescimento e a produtividade vegetal. A bananeira apresenta grande importância econômica em escala mundial, porém variações na disponibilidade de água afetam expressivamente a produtividade dessa cultura. A seleção de genótipos mais tolerantes a essa condição é de grande importância na otimização do cultivo dessa planta. Sendo assim, teve-se como objetivo nesse trabalho, identificar cultivares de bananeira quanto à tolerância ou suscetibilidade ao estresse hídrico induzido *in vitro*, baseado em parâmetros fitotécnicos, fisiológicos e em ferramentas biotecnológicas. Quatro cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) foram cultivadas em meio de cultura MS acrescido de PEG (0; 2,5; 5 e 10 % p/v) para a indução do estresse hídrico. Após 36 dias foram avaliadas as características fitotécnicas [número de raiz (NR); comprimento de raiz (CR); diâmetro de raiz (DR); altura de Planta (AP); número de folhas (NF); comprimento de folha (CF); massa fresca (MF) e massa seca (MS)]; fisiológicas [teor relativo de água (TRA); extravasamento de eletrólitos (EE); teor de clorofila; razão CO_2/O_2 e CO_2/MS] e biotecnológicas (atividade biológica por biospeckle laser; conteúdo de DNA). A indução do estresse hídrico levou a redução no crescimento e influenciou negativamente os parâmetros fisiológicos em todas as cultivares testadas. Em geral, a cultivar Tropical foi a que apresentou maior limitação no crescimento e nos parâmetros fisiológicos. A Grand Naine foi menos sensível à adição de PEG em relação aos parâmetros de crescimento, como a altura e comprimento de folha, em comparação às demais cultivares. As respostas fisiológicas das cultivares Prata Anã, Grand Naine e Pacovan Ken nas concentrações de 2,5 e 5 % de PEG foram semelhantes para a maioria das variáveis. O crescimento da parte aérea na maior concentração de PEG só foi observado na cultivar Grand Naine. Apenas a cultivar Prata Anã não apresentou redução no conteúdo de DNA com o aumento da concentração de PEG. A atividade biológica medida na raiz se correlacionou com um maior número de variáveis do que na folha. A Tropical é a cultivar mais sensível ao estresse hídrico e a Grand Naine é a mais tolerante nessas condições de cultivo.

Palavras-chave: *Musa sp.* Polietileno glicol. Fisiologia do estresse. Cultivo *in vitro*. Atividade biológica. Biospeckle laser. Conteúdo de DNA.

1 INTRODUÇÃO

A agricultura consome em torno de 71 % da água disponível no mundo (2030WRG, 2009). Além disso, mudanças climáticas, aumento da população mundial e do consumo por indústrias, estão contribuindo para a redução da disponibilidade de água. No panorama da

agricultura, o desenvolvimento de pesquisas visando o uso eficiente da água e o melhoramento de plantas visando tolerância ao estresse hídrico pelas plantas são de grande relevância.

A bananeira (*Musa sp.*) é uma das frutíferas mais cultivadas e consumidas no mundo, sendo o Brasil o quarto maior produtor mundial dessa fruta (RAVI et al., 2013). No entanto, uma das maiores restrições do crescimento e produtividade dessa cultura é a deficiência hídrica (SURENDAR et al., 2013). Nesse contexto, a identificação de genótipos mais tolerantes ao estresse hídrico permite maior eficiência no uso da água, além de aumentar a produtividade da cultura e o entendimento dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos nos mecanismos de tolerância desenvolvidos pelas plantas.

O impacto do estresse hídrico nas plantas vai além da redução no crescimento e na produtividade. O déficit de água reduz a integridade da membrana, o conteúdo de pigmentos, altera o ajustamento osmótico e as relações hídricas, além da atividade fotossintética e das trocas gasosas (ANJUM; XIE; WANG, 2011; BENJAMIN; NIELSEN, 2006; PRABA et al., 2009). Porém, as respostas das plantas é dependente da intensidade, duração, espécie, cultivar e do estágio de crescimento (HASANUZZAMAN et al., 2012).

O estudo de estresses abióticos *in vitro* é uma alternativa ao complexo ambiente de campo, onde outros fatores podem agir em conjunto, impossibilitando o entendimento e isolamento de respostas fisiológicas e bioquímica inerentes a cada fator estressante. Essa técnica tem como vantagens o melhor ajuste dos níveis, duração e intensidade do estresse, baixa variabilidade e possibilidade de trabalhar com várias plantas em um pequeno espaço (CLAEYS et al., 2014; MUNNS; TESTER, 2008).

O estresse hídrico *in vitro* é estimulado pela adição de agentes osmóticos como manitol, sorbitol ou polietileno glicol (PEG) (VERSLUES et al., 2006). Esses compostos reduzem o potencial hídrico do meio, dificultando a extração de água pelas plantas, simulando o que acontece em solos secos. Segundo Rai et al. (2011), o PEG tem sido o componente mais utilizado na indução de estresse hídrico *in vitro*, pois o alto peso molecular dessa substância dificulta sua absorção e não é tóxico às plantas.

2 OBJETIVOS

Avaliar o comportamento de cultivares de bananeira quanto à tolerância ou suscetibilidade ao estresse hídrico induzido *in vitro*, com base em parâmetros fitotécnicos, fisiológicos e em ferramentas biotecnológicas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A montagem e condução do experimento foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos, Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras.

3.1 Material Vegetal e condições de cultivo:

Explantos cedidos pela Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA) foram multiplicados *in vitro* no intuito de obter quantidade suficiente de plantas para a montagem do experimento. Meristemas apicais das cultivares ‘Tropical’, ‘Grand Naine’, ‘Prata Anã’ e ‘Pacovan Ken’ foram definidos como explantes.

Para a multiplicação das plantas utilizou-se o meio MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 3,75 mg L⁻¹ de benzilaminopurina (BAP), 0,125 mg L⁻¹ de ácido indolacético (AIA), 1,8 g L⁻¹ de phytigel e pH 6.

Uma vez obtido o número de plantas suficientes para a realização do experimento, explantes de 3 cm das cultivares citadas foram inoculados em meio MS acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 1,8 g L⁻¹ de phytigel e pH 6. Na indução do estresse hídrico, adicionou-se ao meio de cultura 0; 2,5; 5 e 10 % (p/v) de Polietilenoglicol (PEG).

Após a inoculação as plantas foram mantidas em sala de crescimento com intensidade luminosa de 36 μMol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 ± 2°C. Após 36 dias as plantas foram avaliadas.

O experimento foi dividido em três seções, relacionadas às diferentes áreas de conhecimento: fitotecnia, fisiologia e biotecnologia.

Observação: as variáveis avaliadas nesse capítulo foram idênticas às do capítulo 1, sendo a descrição da metodologia uma cópia do referido capítulo.

3.2 Efeito do PEG nas características fitotécnicas

3.2.1 Análises fitotécnicas

Seis plantas de cada tratamento foram avaliadas quanto ao número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR), diâmetro de raiz (DR), mensurado na região mediana da maior raiz, altura de planta (AP), número de folhas (NF), comprimento de folha (CF), massa fresca (MF) e massa seca (MS).

3.2.2 Índice de sensibilidade ao estresse hídrico (IS)

Foi calculado o índice de sensibilidade ao estresse hídrico para o comprimento de raiz, altura de planta, comprimento de folha, massa fresca e massa seca, utilizando a fórmula (Equação 1) apresentada abaixo, proposta por Hamrouni et al. (2008).

$$IS = \frac{(Ps - Pt)}{Pt} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo:

IS = Índice de sensibilidade ao estresse hídrico;

Ps = valor de cada parâmetro nos tratamentos com adição de PEG;

Pt = valor dos mesmos parâmetros no tratamento controle.

3.3 Efeito do PEG nas características fisiológicas

3.3.1 Teor relativo de água (TRA)

Dois discos foliares de 1 cm cada foram retirados das duas folhas mais novas completamente expandidas para avaliação do teor relativo de água (TRA), com o cuidado de não retirar discos da região da nervura central das folhas. Esses discos foram pesados para quantificação da massa fresca (MF), em seguida imersos em água deionizada por 24 horas. Após esse período, pesou-se novamente os discos para determinação da massa túrgida (MT). Os discos foram submetidos à secagem em estufa com circulação forçada de ar, a 70°C, durante 48 h. Em seguida foram pesados para obtenção da massa seca (MS). Seis repetições

foram utilizadas para essa avaliação. A determinação do TRA foi calculada seguindo a seguinte fórmula (Equação 2) proposta por Barrs e Weatherley (1962).

$$TRA(\%) = \frac{(MF-MS)}{(MT-MS)} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo:

TRA = Teor relativo de água (%)

MF = Massa fresca (g)

MT = Massa túrgida (g)

MS = Massa seca (g)

3.3.2 Extravasamento de eletrólitos (EE)

Seis discos foliares foram retirados das folhas mais jovens, completamente expandidas e acondicionadas em tubo de ensaio contendo 15 mL de água deionizada, num total de seis tubos por tratamento. Os tubos foram dispostos em uma mesa agitadora por 24 horas, à temperatura ambiente. Após esse período mediu-se a condutividade elétrica livre (CEL) da solução. Em seguida os tubos foram colocados em banho-maria por 1 h a 100°C e a condutividade elétrica total (CET) da solução foi mensurada. A determinação da taxa de extravasamento de eletrólitos foi calculada com base na seguinte fórmula proposta por Shi et al. (2006) (Equação 3):

$$EE(\%) = \left(\frac{CEL}{CET} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Sendo:

EE = Extravasamento de Eletrólitos (%)

CEL = Condutividade elétrica livre da solução

CET = Condutividade elétrica total da solução

3.3.3 Teor de clorofila *a*, *b*, *total* e razão clorofila *a/b*

Para essa análise foram utilizados dois discos foliares das duas primeiras folhas mais novas completamente expandidas de cada tratamento. Os discos foram colocados em tubo de ensaio, contendo 5 ml de acetona 80% para extração dos pigmentos. Os tubos foram envoltos por papel alumínio para evitar o contato da amostra com a luz, evitando a degradação da clorofila. Após 24 horas em geladeira a $\pm 4^{\circ}\text{C}$, foi mensurado a absorvidade das amostras em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 470, 645, 652 e 663 nm de acordo com a metodologia de Scopel, Barbosa e Vieira (2011). Foram feitas duas leituras em cada comprimento de onda para cada amostra, com um total de seis repetições por tratamento. As equações utilizadas no cálculo das clorofilas *a*, *b* e *total*, foram as propostas por Li, Tang e Xu (2013). Além disso, foi calculada a razão clorofila *a/b*.

3.3.4 Razão CO_2/O_2 e razão CO_2/MS

A atividade respiratória, indiretamente inferida pela razão CO_2/O_2 e a razão CO_2/MS (MS – massa seca), foram calculadas tendo como base as leituras de CO_2 e O_2 aferidas com uso de um respirômetro e da massa seca das plantas. A leitura foi realizada em seis tubos de ensaio por tratamento, pela inserção de uma agulha através do plástico filme que veda os tubos. A agulha é acoplada ao aparelho PBI – Dansensor Checkpoint O_2/CO_2 que funciona em conjunto com um leitor eletroquímico que absorve em torno de 15 ml da atmosfera do tubo e faz a leitura instantânea em porcentagem da concentração de CO_2 e O_2 .

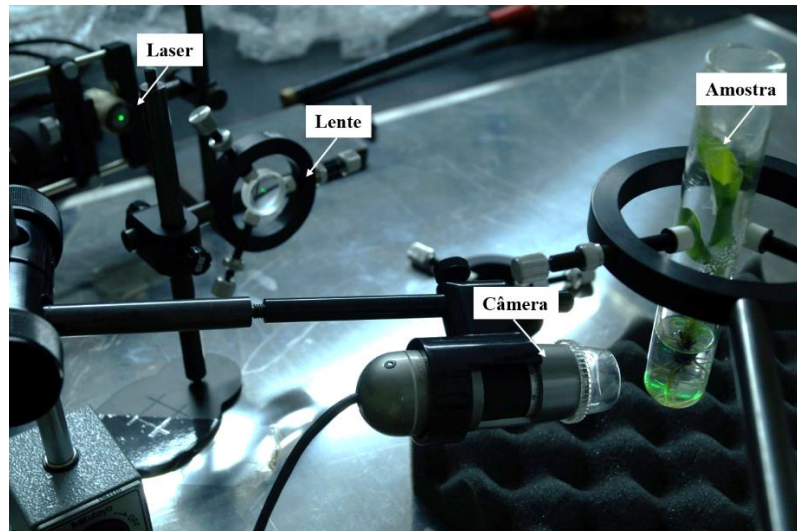
3.4 Efeito do PEG na atividade biológica e no conteúdo de DNA

3.4.1 Atividade Biológica por biospeckle Laser

A análise da atividade biológica pela técnica do biospeckle laser foi realizada iluminando-se seis amostras de cada tratamento. As leituras foram feitas na região da raiz, na maior e primeira raiz lançada; na folha, na primeira folha completamente expandida. Luz coerente iluminava a amostra e interagia com o material vegetal, gerando padrões de interferência que foram capturados por um microscópio digital, posicionado na região anterior do tubo, caracterizando uma configuração “back-scattering” (Figura 1). A luz coerente foi proveniente de um laser diodo de cor verde, comprimento de onda de 532 nm e corrente em

torno de 66 mA. Uma lente a uma distância de 0,75m da amostra foi utilizada para ampliar o feixe de luz, objetivando iluminar uma região maior da amostra (RIBEIRO et al., 2014b). O microscópio portátil digital utilizado foi da marca Dinolite, modelo AM 413zt.

Figura 1 – Sistema de determinação da atividade biológica pela técnica do *Biospeckle* laser, demonstração dos componentes.



Fonte: Do autor (2016)

Para cada amostra foram capturadas 128 imagens em escala de cinza, com resolução de 1.280 x 1.024 pixels e intervalo de 0,08 s entre frames. Essas imagens foram processadas utilizando-se o software MatLab. Os resultados foram expressos de maneira quantitativa pela diferença dos valores absolutos (do inglês, *Absolute Value of the Differences* – AVD) e graficamente através de Matriz de Coocorrência (MOC), sendo que quanto mais dispersos os pontos em relação à diagonal principal, maior a atividade biológica. As equações utilizadas para o cálculo da MOC (Equação 4) e do AVD (Equação 5) foram as seguintes:

$$MOC = N_{ij} \quad (\text{Equação 4})$$

$$AVD = \sum\{MOC \times |i - j|\} \quad (\text{Equação 5})$$

Sendo N_{ij} os números de ocorrências de um determinado valor de intensidade do pixel i , que é imediatamente seguido por um valor de intensidade de pixel j sendo i seguido imediatamente por j . MOC é a matriz de coocorrência e i e j são os pixels subsequentes. Além disso, foi realizada uma análise de correlação de Pearson entre a atividade biológica de cada

parte da planta e todas as variáveis quantificadas nesse trabalho. A correlação foi considerada válida estatisticamente quando o *p valor* observado foi menor que 0,05 (Tabela de correlação apresentada no Apêndice 2).

3.4.2 Conteúdo de DNA

Na determinação do conteúdo de DNA, triturou-se 20-30 mg de tecido foliar dos explantes em placa de Petri contendo 1 mL de tampão Marie gelado, para a liberação dos núcleos. A suspensão de núcleos foi aspirada com o auxílio de uma pipeta plástica e filtrada através de uma malha de 50 μm . Com o intuito de corar os núcleos foi adicionado 25 μL de uma solução de 1 mg mL^{-1} de iodeto de propídeo em cada amostra. Dez mil núcleos foram analisados utilizando-se uma escala logarítmica. A leitura foi realizada no citômetro Facscalibur (Becton Dickinson), os histogramas obtidos com o software Cell Quest foram analisados estatisticamente no software WinMDI 2.8.

O cálculo do conteúdo de DNA nuclear (pg) foi estimado pela razão entre as intensidades de fluorescência dos núcleos G1 (núcleos que estão na fase G1 da Interfase) do padrão de referência (*Glycine max*) e dos núcleos G1 da amostra, multiplicando-se esta razão pela quantidade de DNA do padrão de referência (2,5 pg). Foram realizadas duas leituras por amostra, de um total de seis amostras por tratamento, sendo cada amostra uma planta.

3.5 Delineamento estatístico

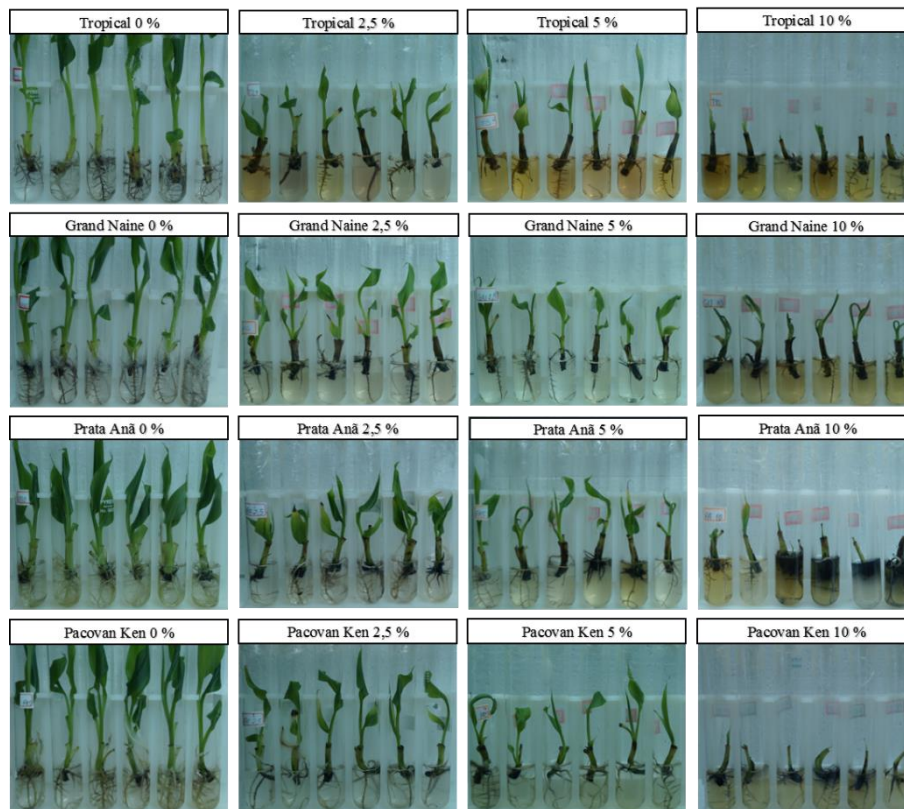
O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4. O primeiro fator referiu-se às cultivares de bananeira utilizadas (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken), já o segundo fator foi relativo às concentrações de PEG adicionadas ao meio de cultura - 0; 2,5; 5 e 10 % (p/v).

Os dados foram submetidos à análise de variância, fixando-se o nível de significância da análise em 5 % de probabilidade. Os gráficos foram plotados com base no valor médio de cada tratamento com adição da barra de erros, calculada com base no desvio padrão de cada tratamento. Para as análises em que a mensuração da variável foi impossibilitada pelo não desenvolvimento da planta em resposta ao tratamento, a análise de variância foi avaliada levando-se em consideração a perda de caselas, com dados não balanceados.

4 RESULTADOS

Visualmente é possível inferir sobre o severo efeito do estresse no crescimento das plantas. A redução foi expressiva até mesmo na menor concentração de PEG, com pequena variação entre as concentrações de 2,5 e 5 % de PEG. Na maior concentração, apenas a cultivar Grand Naine conseguiu desenvolver a parte aérea e emitir folhas. Nas demais, o crescimento da parte aérea foi comprometido, com emissão isolada de folhas, mas que não se expandiram no período avaliado.

Figura 2 – Visualização do crescimento de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



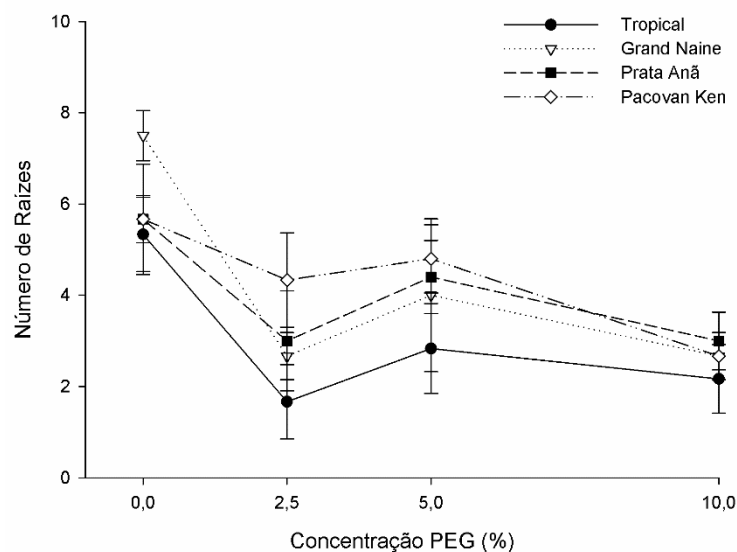
Fonte: Do autor (2016)

4.1 Efeito do PEG nas características fitotécnicas

4.1.1 Número de raízes

O número de raízes foi influenciado pela interação entre as concentrações de PEG e as cultivares. Para todas as cultivares, a utilização de PEG no meio de cultura provocou a diminuição do NR em relação ao tratamento controle. A utilização de 2,5 % de PEG teve maior efeito na redução do NR em comparação à concentração de 5 %. Por outro lado, o tratamento com 10 % de PEG apresentou menor NR em relação ao tratamento com 5 % desse composto. Comparando com o tratamento controle, as reduções observadas na concentração de 10 % de PEG foram da ordem de 47%, 53 %, 59 % e 64 % para as cultivares ‘Prata Anã’, ‘Pacovan Ken’, ‘Tropical’ e ‘Grand Naine’.

Figura 3 – Número de raízes de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



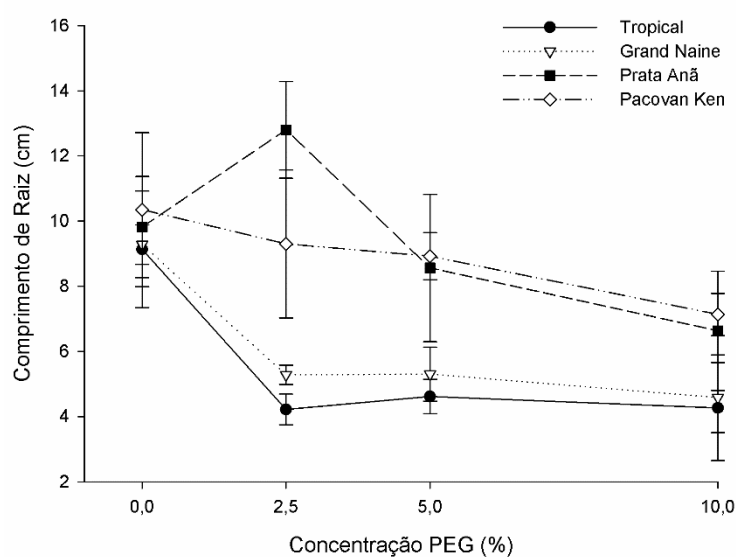
Fonte: Do autor (2016)

4.1.2 Comprimento de raiz

A interação entre as cultivares de bananeira e as concentrações de PEG foi significativa para o comprimento de raiz. Houve redução no CR para todas as cultivares devido a adição de PEG ao meio de cultura, exceto para o tratamento com 2,5 % de PEG na

cultivar ‘Prata Anã’. A redução foi mais acentuada na cultivar ‘Tropical’, decaindo de 9,13 cm no tratamento controle para 4,27 cm na concentração de 10 % de PEG, o equivalente a 53 % menor. A cultivar ‘Grand Naine’ teve comportamento semelhante à anterior, com redução de 50 % no CR. Já para as cultivares ‘Pacovan Ken’ e ‘Prata Anã’, a diminuição no CR foi menor que as demais, sendo 31 % e 32 %, respectivamente.

Figura 4 – Comprimento de raiz (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

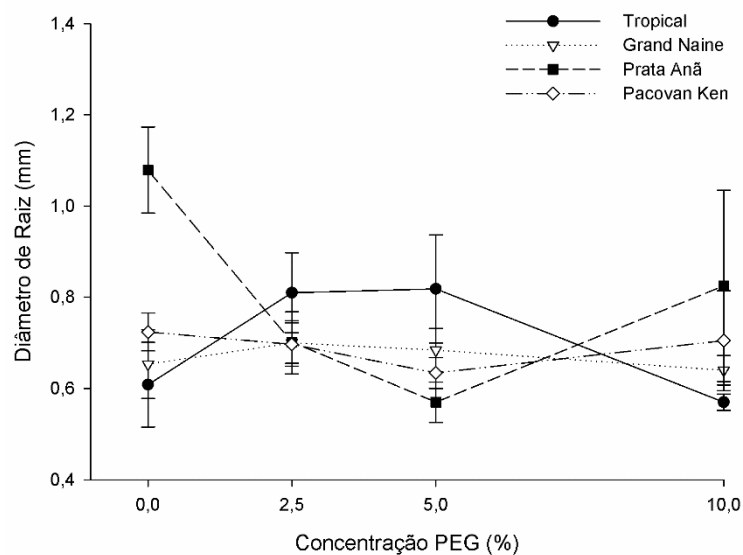


Fonte: Do autor (2016)

4.1.3 Diâmetro de raiz

As concentrações de PEG e as cultivares bananeira utilizadas interagiram significativamente no diâmetro da raiz. Houve um comportamento variável para essa característica em relação às diferentes cultivares. Para a cultivar ‘Tropical’ o DR aumenta nas concentrações de 2,5% e 5% de PEG e diminui no tratamento em que o estresse é mais intenso. O oposto foi observado para a cultivar ‘Prata Anã’. Entretanto, ambas as cultivares tiveram o DR reduzido na presença de PEG. Para as cultivares ‘Grand Naine’ e ‘Pacovan Ken’, a variação no DR é desprezível.

Figura 5 – Diâmetro de raiz (mm) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

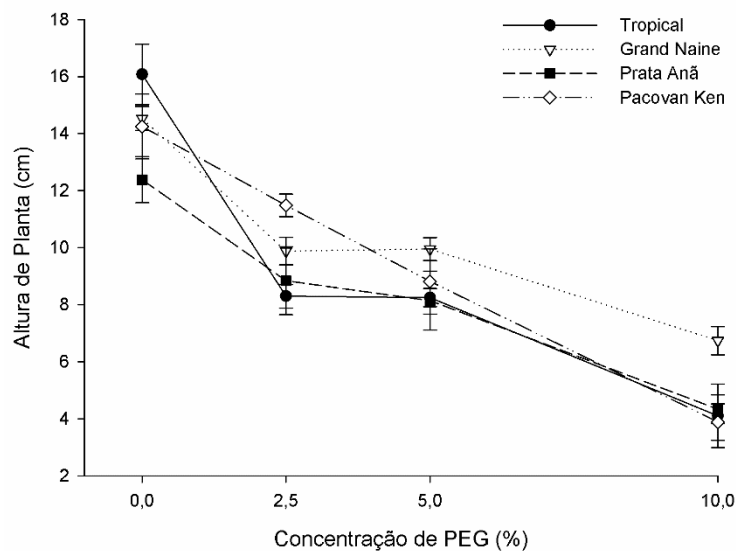


Fonte: Do autor (2016)

4.1.4 Altura de planta

As concentrações de PEG e as cultivares de bananeira apresentaram interação significativa na altura das plantas. Houve redução da AP à medida que se aumentou a concentração de PEG para todas as cultivares. A ‘Grand Naine’ apresentou menor diminuição em altura em relação as demais, alterando de 14,53 cm na ausência de PEG para 6,74 cm na maior concentração desse composto, o que corresponde a 54 % de redução. Já nas demais cultivares as reduções foram de 65 %, 73 % e 75 % para as cultivares ‘Prata Ana’, ‘Pacovan Ken’ e ‘Tropical’.

Figura 6 – Altura de planta (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

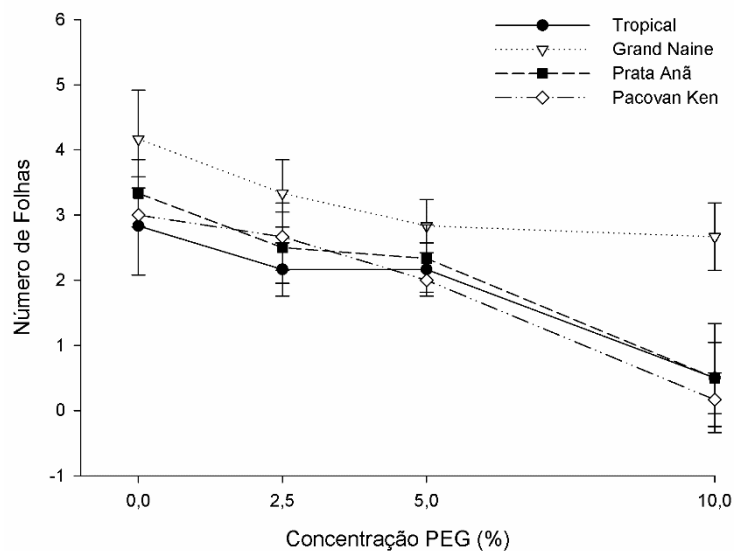


Fonte: Do autor (2016)

4.1.5 Número de folhas

O número de folhas foi influenciado pela interação entre as concentrações de PEG e as cultivares de bananeira. Em geral, o aumento da concentração de PEG resultou em diminuição no número de folhas das plantas. Embora a ‘Grand Naine’ tenha apresentado maior NF na ausência de PEG, a redução em 36 % dessa variável para essa cultivar foi notavelmente menor que nas demais cultivares. Além disso, foi observada uma diferença mínima no NF entre as maiores concentrações de PEG, 5 % e 10 %, o que demonstra uma maior tolerância dessa cultivar ao estresse hídrico. Para as demais cultivares, o NF chegou a próximo de 0, com redução superior a 82 %.

Figura 7 – Número de folhas de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

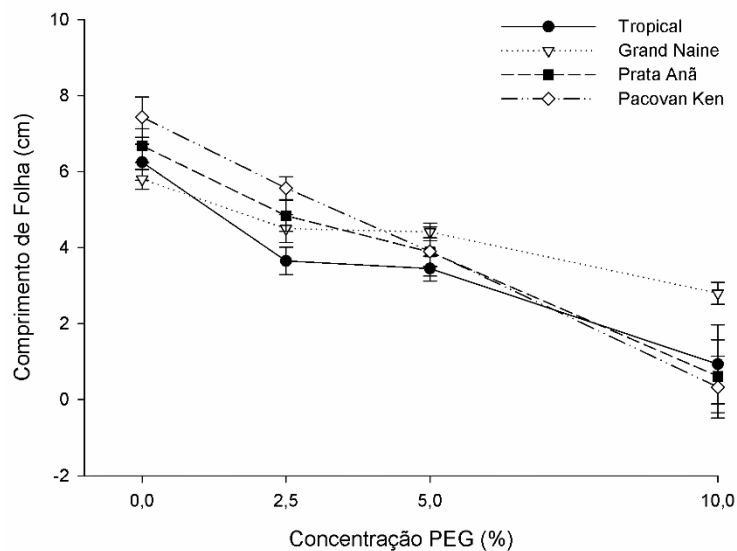


Fonte: Do autor (2016)

4.1.6 Comprimento de folha

Houve interação significativa entre a concentração de PEG adicionado ao meio de cultura e as cultivares de bananeira no comprimento de folha. A redução foi expressiva no CF para todas as cultivares com o aumento da concentração de PEG. Sendo a cultivar ‘Pacovan Ken’ a que apresentou maior diminuição no CF, reduzindo 95 % em relação ao tratamento controle. Por outro lado, a redução em 52 % no CF para a ‘Grand Naine’ foi a menor dentre as cultivares. As cultivares ‘Tropical’ e ‘Prata Anã’ tiveram redução de 85 % e 90 % no CF, respectivamente.

Figura 8 – Comprimento de folha (cm) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

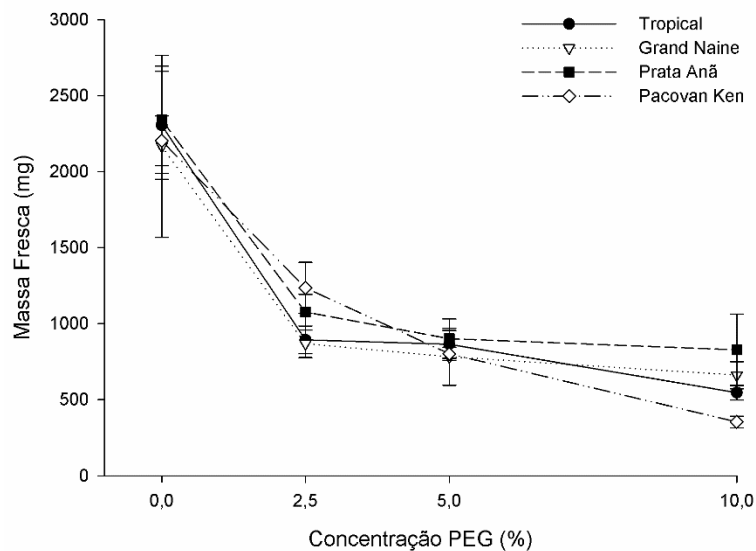


Fonte: Do autor (2016)

4.1.7 Massa fresca

As cultivares de bananeira e as concentrações de PEG interagiram significativamente na massa fresca das plantas. O aumento na concentração de PEG teve como efeito a diminuição expressiva da MF em todas as cultivares. A cultivar ‘Pacovan Ken’ foi a que apresentou maior redução na MF em resposta à utilização de PEG, diminuindo em 84 % a MF na maior concentração de PEG em relação ao tratamento controle. Em ordem decrescente, as cultivares ‘Tropical’, ‘Grand Naine’ e ‘Prata Anã’, apresentaram redução de 76 %, 69 % e 65 % na MF, respectivamente.

Figura 9 – Massa fresca (mg) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

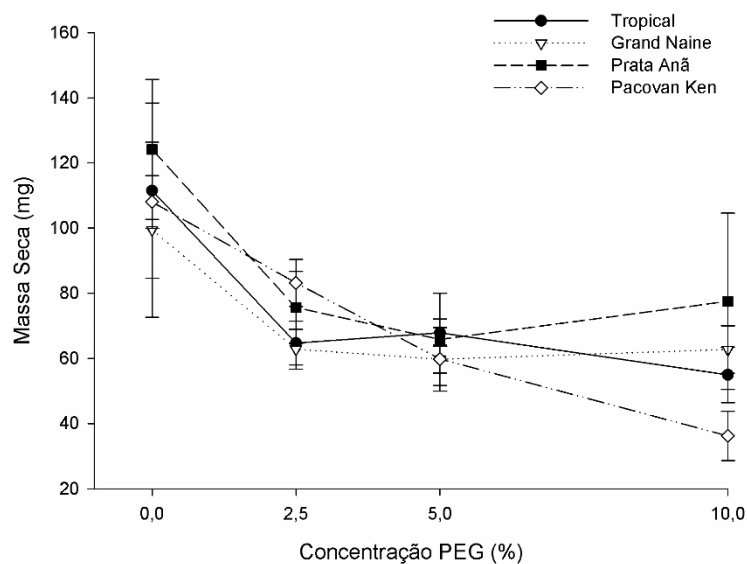


Fonte: Do autor (2016)

4.1.8 Massa seca

Houve interação significativa entre as cultivares e as concentrações de PEG na massa seca das plantas. Assim como observado para a massa fresca, houve redução na massa seca das plantas com o aumento da concentração de PEG para todas as cultivares. As cultivares ‘Pacovan Ken’ e ‘Tropical’ apresentaram maior redução em massa, equivalentes a 66 % e 51 %, respectivamente, tendo como base a concentração de 10 % de PEG em relação ao tratamento controle. Já para as cultivares ‘Grand Naine’ e ‘Prata Anã’, a redução foi de 40 % e 38 %, respectivamente.

Figura 10 – Massa seca (mg) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

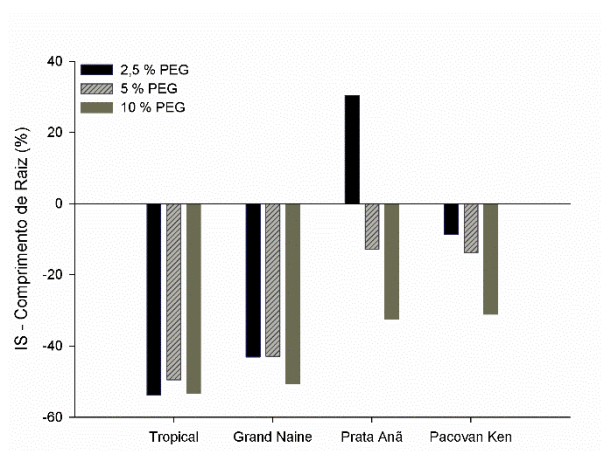


Fonte: Do autor (2016)

4.1.9 Índice de sensibilidade ao estresse hídrico

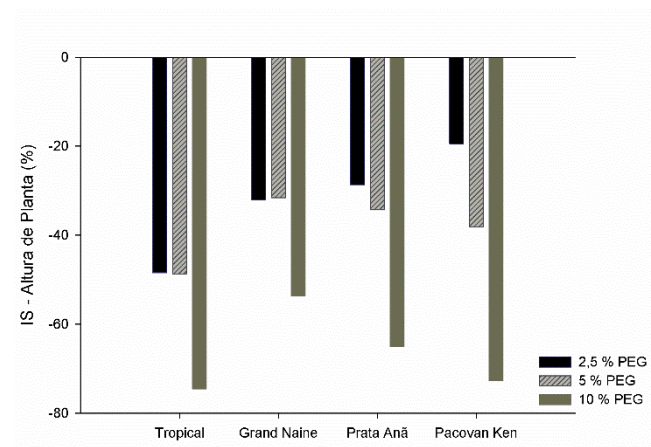
Com base no IS para o comprimento de raiz, a cultivar Prata Anã e a Pacovan Ken foram as menos sensíveis ao incremento da concentração de PEG. Ademais, a concentração de 2,5 % beneficiou o crescimento da raiz. Em relação à altura da planta e ao comprimento de folha, observou-se menor sensibilidade ao estresse hídrico para a cultivar Grand Naine. A sensibilidade das cultivares Grand Naine e Prata Anã ao estresse hídrico foi pouco influenciada pelo incremento da concentração de PEG. Maior sensibilidade para essas variáveis foi observada para a cultivar Pacovan Ken (Figuras 11,12,13,14 e 15).

Figura 11 – Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para comprimento de raiz de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.



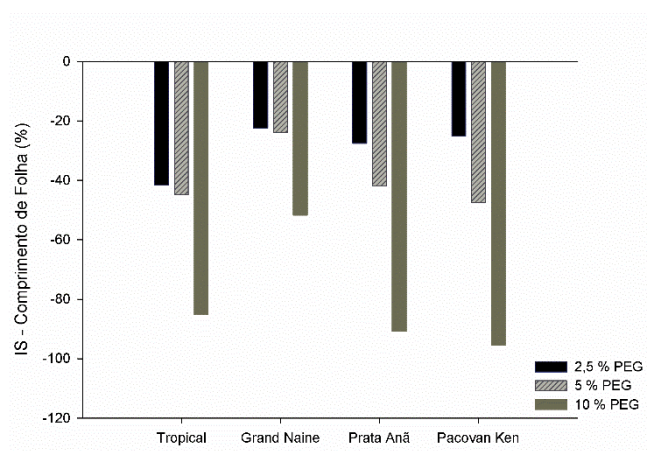
Fonte: Do autor (2016)

Figura 12 – Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para a altura de planta de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.



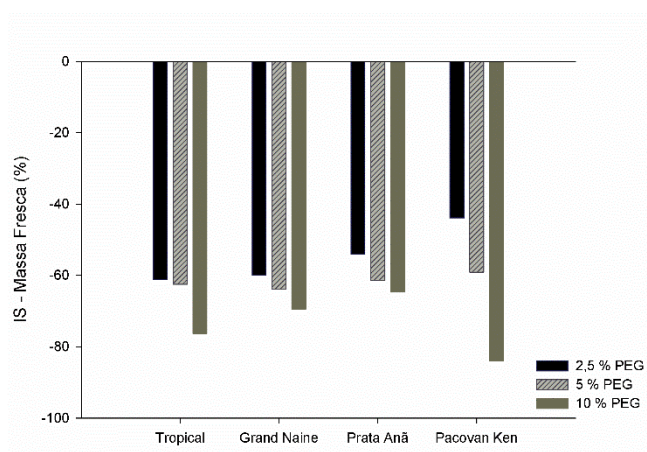
Fonte: Do autor (2016)

Figura 13 – Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para o comprimento de folha de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.



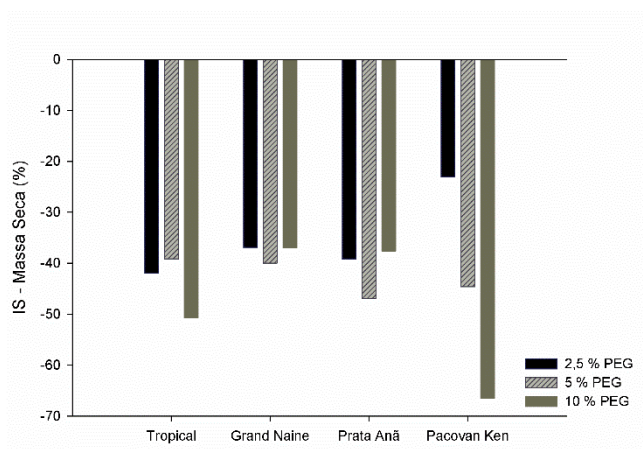
Fonte: Do autor (2016)

Figura 14 – Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para a massa fresca de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 15 – Índice de sensibilidade (%) ao estresse hídrico para a massa seca de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG, em relação ao controle.



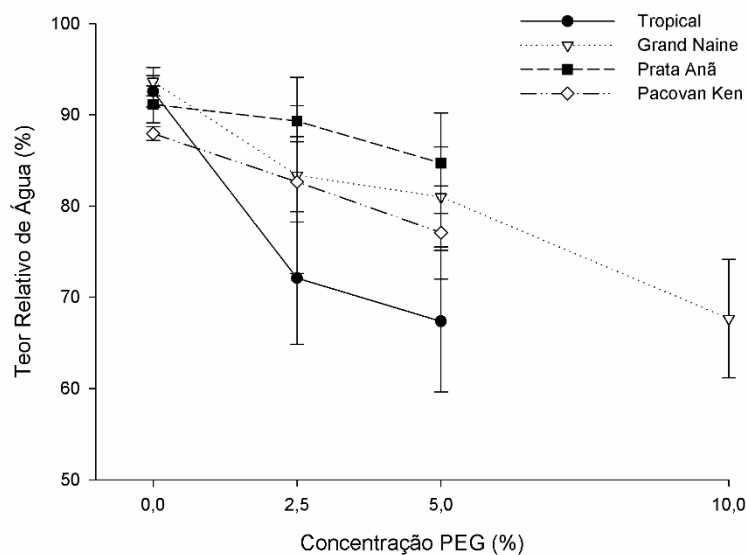
Fonte: Do autor (2016)

4.2 Efeito do PEG nas características fisiológicas

4.2.1 Teor relativo de água

O teor relativo de água teve efeito sobre a interação entre os fatores cultivar e concentração de PEG. O aumento da concentração de PEG no meio de cultura resultou em diminuição do teor relativo de água para todas as cultivares. A cultivar ‘Tropical’ foi a mais sensível ao incremento da concentração de PEG para o TRA, com redução de 27 % na concentração de 5 % de PEG em relação ao tratamento controle. Redução de 13 %, 12 % e 7 % foram observadas nas cultivares ‘Grand Naine’, ‘Pacovan Ken’ e ‘Prata Anã’, respectivamente, para os mesmos tratamentos. Apenas para a cultivar ‘Grand Naine’ foi possível avaliar o TRA na concentração de 10 % de PEG, uma vez que as demais cultivares devido ao estresse gerado não produziram folhas o suficiente para a realização da análise.

Figura 16 – Teor relativo de água (%) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

4.2.2 Extravasamento de eletrólitos

A interação entre as cultivares de bananeira e as concentrações de PEG foram significativas na taxa de extravasamento de eletrólitos. A taxa de extravasamento de eletrólitos aumentou em todas as cultivares com a adição de PEG. Entretanto, as cultivares ‘Grand Naine’ e ‘Pacovan Ken’ foram pouco sensíveis ao aumento da concentração de PEG no meio de cultura para essa variável. Já a cultivar ‘Tropical’ apresentou sensibilidade elevada ao PEG, com taxas de EE 104 % maior na concentração de 5 % de PEG em relação ao tratamento controle. Apenas para a cultivar ‘Grand Naine’ foi possível avaliar o EE na concentração de 10 % de PEG, devido ao efeito do tratamento nas demais cultivares, resultando na ausência de folhas suficientes para análise.

Figura 17 – Condutividade elétrica livre ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

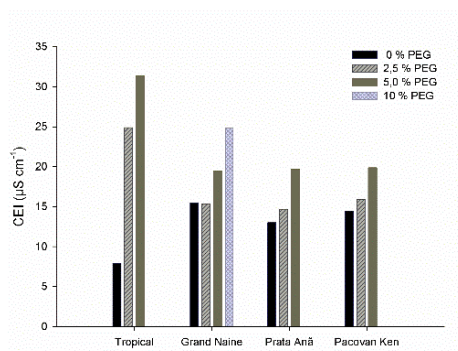


Figura 18 – Condutividade elétrica total ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

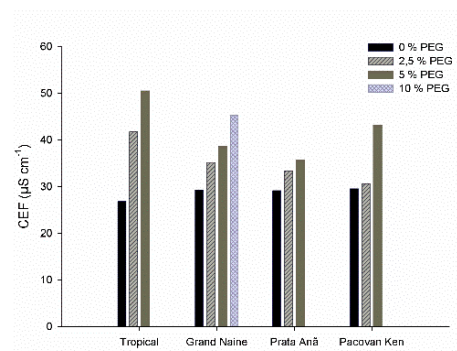
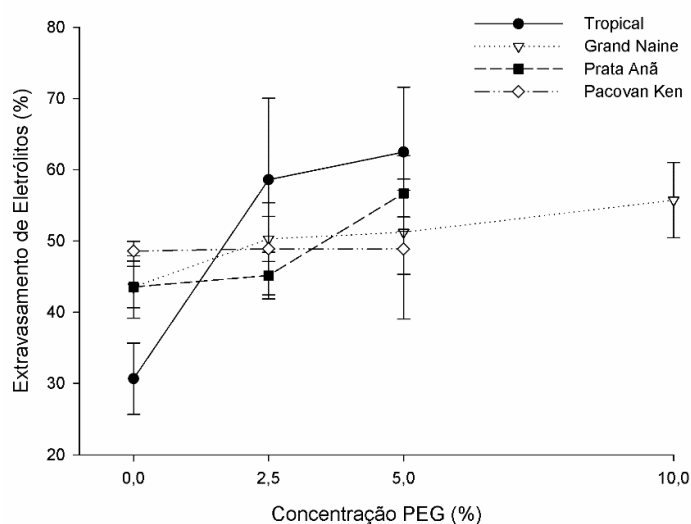


Figura 19 – Extravasamento de eletrólitos (%) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

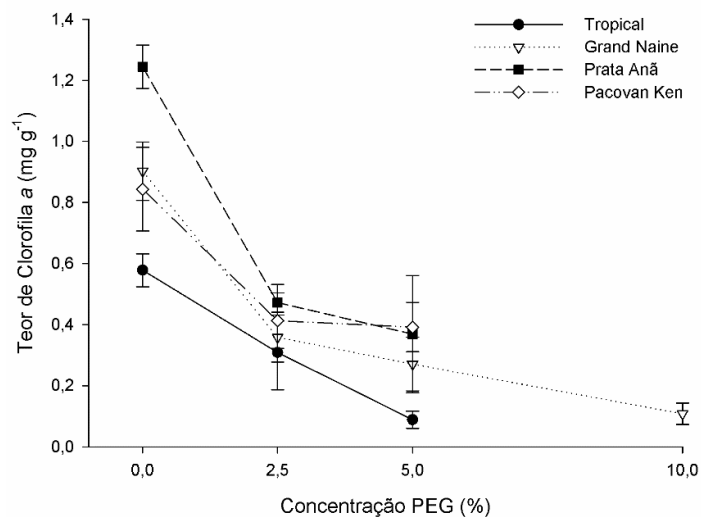
4.2.3 Teor de clorofila *a*, *b*, *a/b* e *total*

Os teores de clorofila *a*, *b*, *total* e a razão clorofila *a/b* foram influenciados pela interação entre a concentração de PEG e as cultivares de bananeira. As cultivares apresentaram teores diferenciados no tratamento controle, sendo crescente na seguinte ordem: ‘Tropical’, ‘Pacovan Ken’, ‘Grand Naine’ e ‘Prata Anã’. Houve redução nos teores de clorofila *a* (Figura 20), *b* (Figura 21) e *total* (Figura 23) em resposta ao aumento da concentração de PEG no meio de cultura para todas as cultivares. Apenas a cultivar ‘Grand Naine’ foi capaz de produzir quantidade de folhas suficientes para realizar essas análises na concentração de 10 % de PEG, o que demonstra a maior tolerância dessa planta ao estresse induzido.

As cultivares ‘Prata Anã’ e ‘Grand Naine’ apresentaram comportamento semelhante em relação aos teores de clorofila *a* e *total*. Reduzindo 70 % o teor de clorofila *a* e 72 % o teor de clorofila *total*, na concentração de 5 % de PEG em relação ao controle. Para a clorofila *b*, a redução foi de 64 % e 69 %, respectivamente. A cultivar ‘Tropical’ apresentou maior redução nos teores de clorofila *a* e *total* em relação às demais, valores equivalentes à 85 % e 77 %, respectivamente. Já a diminuição na clorofila *b* foi de 52 %. A cultivar ‘Pacovan Ken’ apresentou menores diminuições no conteúdo das clorofilas *a*, *b* e *total*, reduzindo respectivamente, 53 %, 26 % e 47 %.

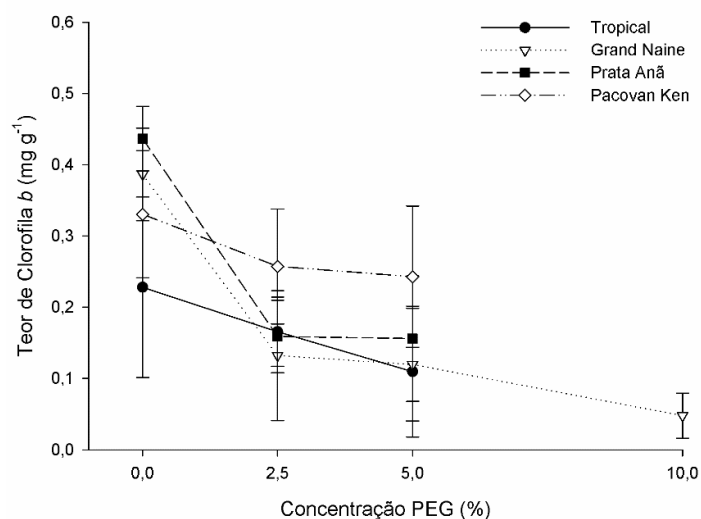
Em relação à razão clorofila *a/b*, a cultivar ‘Grand Naine’ sobressaiu em relação às demais, na presença de PEG. O que sugere que essa cultivar apresentava maior proporção de clorofila *a* em seus tecidos do que de clorofila *b*, quando comparada às demais. Em ordem decrescente para essa variável tivemos as cultivares ‘Prata Anã’, ‘Pacovan Ken’ e ‘Tropical’.

Figura 20 – Teor de Clorofila a (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



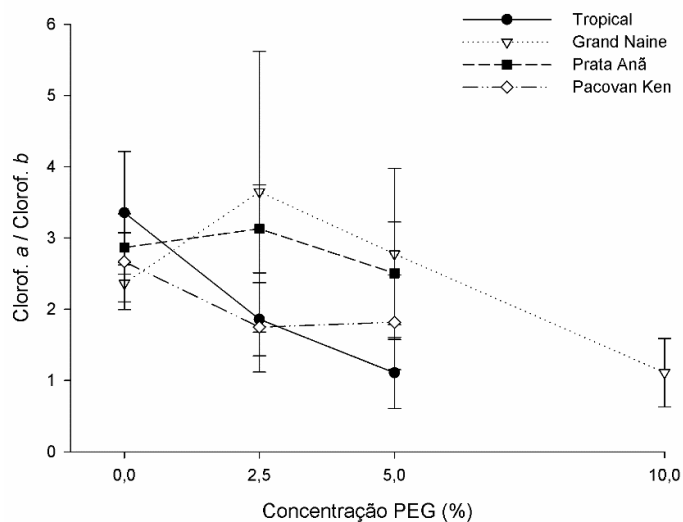
Fonte: Do autor (2016)

Figura 21 – Teor de Clorofila b (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



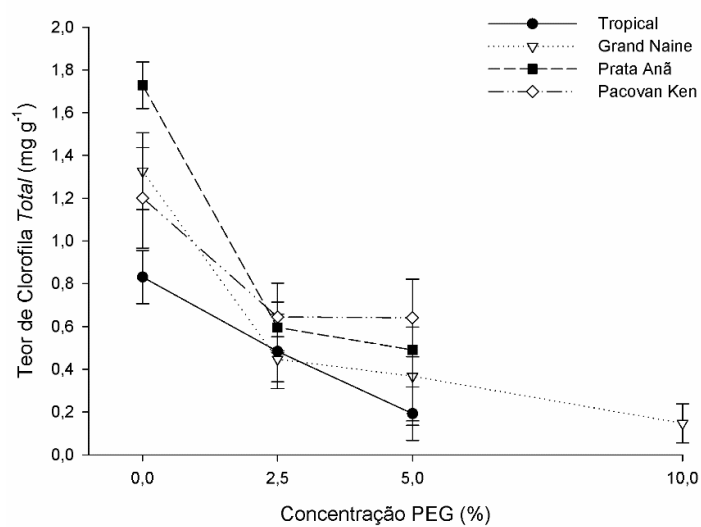
Fonte: Do autor (2016)

Figura 22 – Razão clorofila a/b de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 23 – Teor de Clorofila total (mg g^{-1}) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.

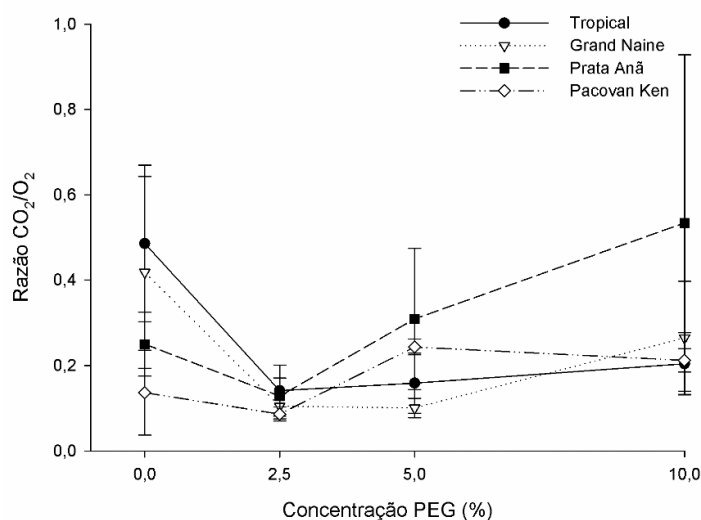


Fonte: Do autor (2016)

4.2.4 Razão CO_2/O_2 e CO_2/MS

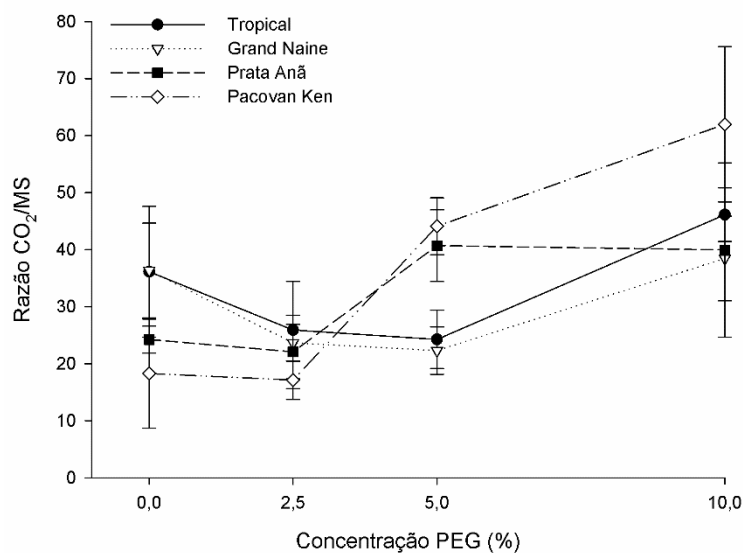
Houve interação significativa entre as concentrações de PEG e as cultivares de bananeira para a razão CO_2/O_2 e CO_2/MS . A razão CO_2/O_2 é maior para todas as cultivares na ausência de PEG (Figura 24). Essa razão diminui com a adição desse composto, sendo crescente com o aumento da concentração e ultrapassando o valor obtido na ausência de PEG para as cultivares ‘Prata Anã’ e ‘Pacovan Ken’, com maior expressividade para aquela cultivar. As cultivares ‘Tropical’ e ‘Grand Naine’ apresentaram maior razão CO_2/MS na ausência de PEG em relação às demais cultivares (Figura x.b). A razão CO_2/MS tendeu ao aumento na concentração de 10 % de PEG para todas as cultivares, sendo mais expressiva na ‘Prata Anã’.

Figura 24 – Razão CO_2/O_2 de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 25 – Razão CO₂/MS de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

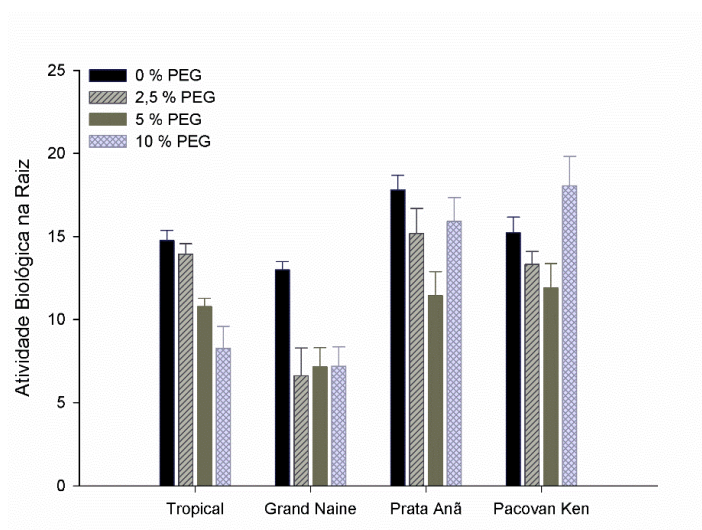
4.3 Efeito do PEG na atividade biológica e no conteúdo de DNA

4.3.1 Atividade biológica por Biospeckle laser

4.3.1.1 Atividade biológica na raiz

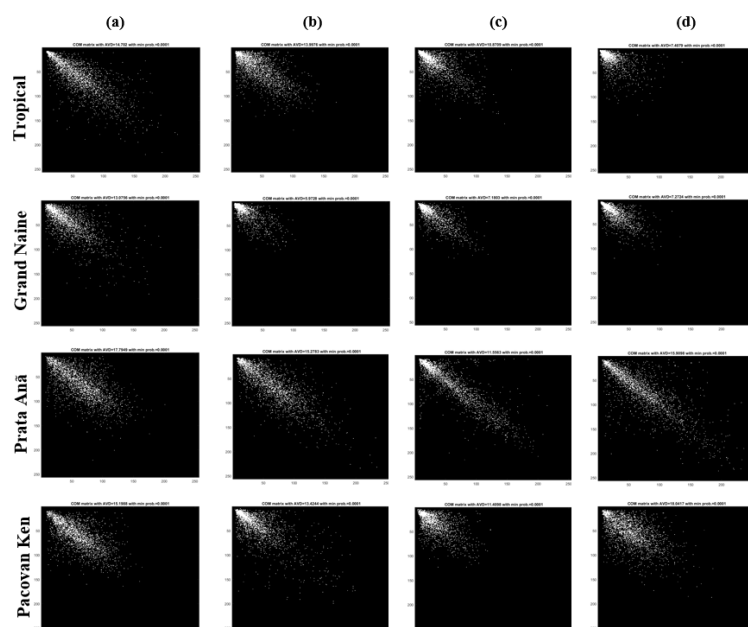
A interação entre as cultivares de bananeira e as concentrações de PEG foram significativas para a atividade biológica na raiz. Houve redução da atividade biológica na raiz para todas as cultivares nas concentrações de 2,5 e 5 % de PEG. Entretanto, essa atividade aumentou na concentração máxima de PEG para as cultivares Prata Anã e Pacovan Ken. A MOC permite identificar essa diferença na atividade biológica entre as cultivares. Sendo que quanto maior a dispersão dos pontos, maior a atividade biológica.

Figura 26 – Índice AVD de atividade biológica na raiz de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 27 – Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica na raiz de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0 (coluna a); 2,5 (coluna b); 5 (coluna c) e 10 (coluna d) % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

Baseado na Tabela 1, em que mostra as variáveis que apresentaram correlação de Pearson forte ($\geq |0,7|$) com a atividade biológica na raiz, menor número de correlações foram observadas para a cultivar Pacovan Ken, enquanto que as cultivares Tropical e Grand Naine apresentaram maior número de variáveis fortemente correlacionadas com a atividade biológica na raiz.

Tabela 1 - Correlação de Pearson entre a atividade biológica na raiz e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (p-valor $\leq 0,05$), nas cultivares de bananeira avaliadas.

Atividade Biológica na Raiz (Correlação $\geq 0,7$)			
Tropical	Grand Naine	Prata Anã	Pacovan Ken
TRA	NR	TRA	TRA
NF	CR	EE*	
CF	AP	DR	
AP	MF	CLFA	
CLFA	MS	CLFT	
CLFT	CLFA		
CLFA/B	CLFB		
DNA	CLFT		

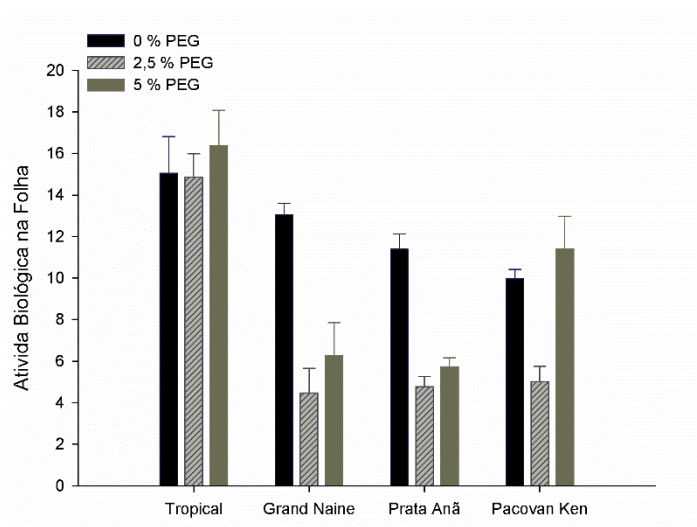
*Correlação negativa

Fonte: Do autor (2016)

4.3.1.2 Atividade biológica na folha

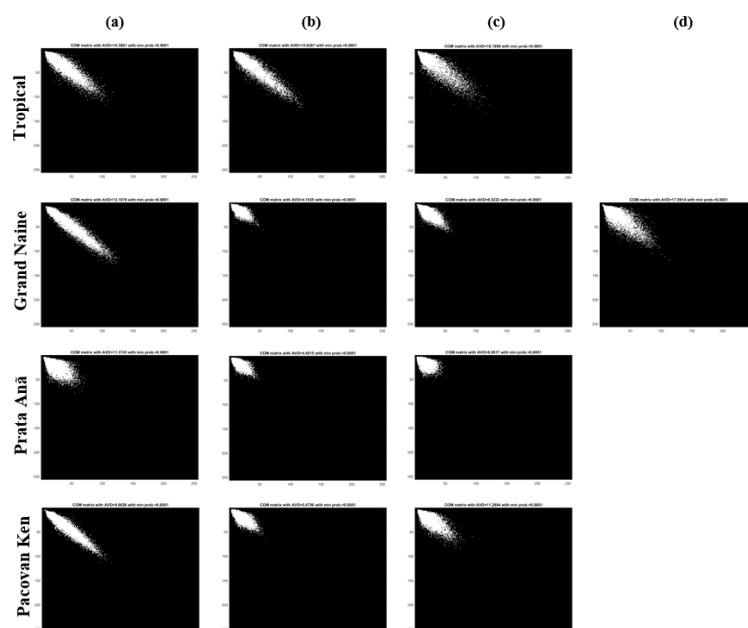
A atividade biológica da folha foi significativamente influenciada pela interação entre as cultivares e as concentrações de PEG. Com exceção da cultivar Tropical, houve uma redução da atividade biológica para as cultivares na concentração de 2,5 % de PEG. Essa atividade aumentou à partir da concentração de 5 %, atingindo altos valores na maior concentração, com valor máximo observado para a Grand Naine. Com base na MOC ilustrada abaixo, é possível visualizar a diferença dessa atividade observando a dispersão dos pontos.

Figura 28 – Índice AVD de atividade biológica na folha de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 29 – Matriz de Coocorrência (MOC) da atividade biológica na folha de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0 (coluna a); 2,5 (coluna b); 5 (coluna c) e 10 (coluna d) % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

Na Tabela 2 abaixo podem ser visualizadas as variáveis em que a correlação de Pearson foi forte entre a atividade biológica na folha e as características avaliadas. Poucas correlações de forte intensidade foram obtidas. Apenas a cultivar Prata Anã apresentou maior número de variáveis correlacionadas. A atividade biológica na folha das cultivares Tropical e Pacovan Ken não se correlacionaram com nenhuma das variáveis avaliadas.

Tabela 2 – Correlação de Pearson entre a atividade biológica na folha e as variáveis NR, CR, DR, AP, NF, CF, MF, MS, TRA, EE, CLFA, CLFB, CLFA/B, CLFT, CO₂/O₂, CO₂/MS, BPR, BPC, BPF (p-valor $\leq 0,05$), nas cultivares de bananeira avaliadas.

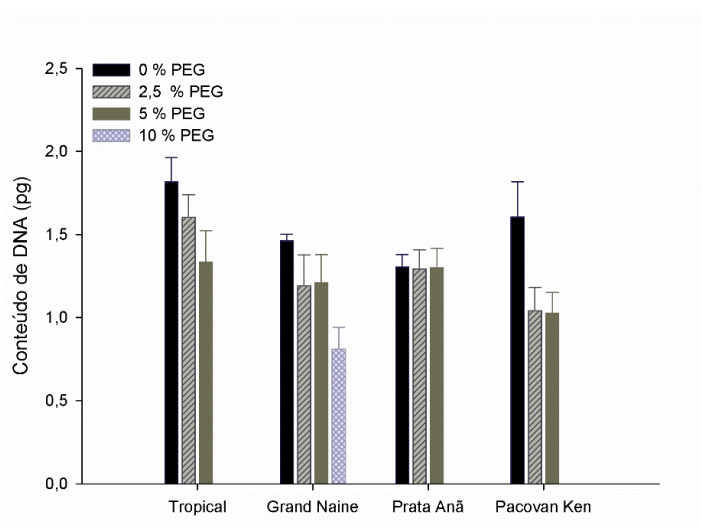
Atividade Biológica na Folha (Correlação $\geq 0,7$)			
Tropical	Grand Naine	Prata Anã	Pacovan Ken
	CO ₂ /MS	CF	
		AP	
		DR	
		MF	
		MS	
		CLFA	
		CLFB	
		CLFT	

Fonte: Do autor (2016)

4.3.2 Conteúdo de DNA

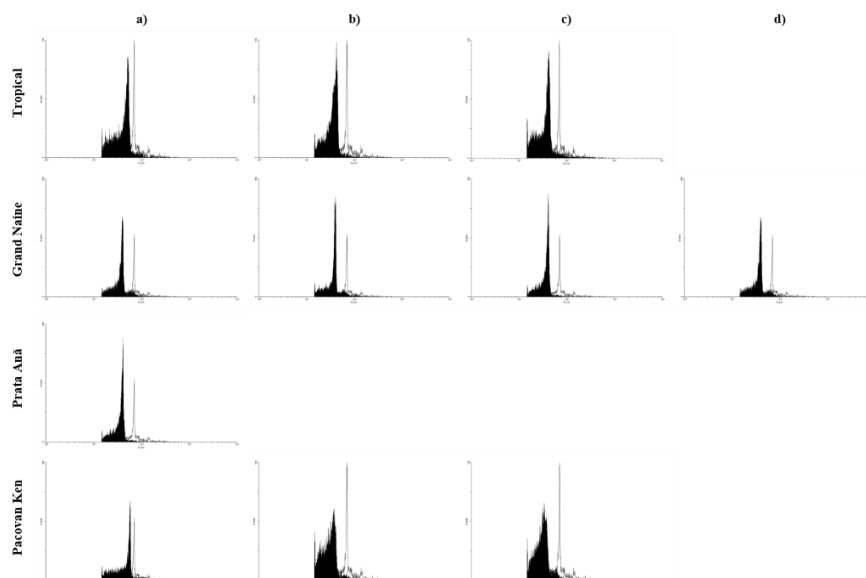
Houve interação significativa para o conteúdo de DNA entre as concentrações de PEG e as cultivares de bananeira. Apenas a cultivar Prata Anã não apresentou redução no conteúdo de DNA com o incremento da concentração de PEG no meio de cultura. A redução mais expressiva foi observada para a cultivar Pacovan Ken entre o tratamento controle e a concentração de 2,5 % de PEG. Na Tropical o decréscimo do conteúdo de DNA foi inversamente proporcional ao incremento da concentração de PEG. Já para a Grand Naine, não houve diferença no conteúdo de DNA entre as concentrações de 2,5 e 5 % de PEG.

Figura 30 – Conteúdo de DNA (pg) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0; 2,5; 5 e 10 % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

Figura 31 – Representação gráfica do conteúdo de DNA (pg) de diferentes cultivares de bananeira (Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken) em função do estresse hídrico induzido in vitro, nas concentrações de 0 (coluna a); 2,5 (coluna b); 5 (coluna c) e 10 (coluna d) % p/v de PEG.



Fonte: Do autor (2016)

5 DISCUSSÃO

5.1 Efeito do PEG nas características fitotécnicas

A redução da disponibilidade de água para as plantas é um dos principais fatores limitantes de produtividade. A ocorrência desse estresse em plantas está a cada dia maior, devido as mudanças climáticas e conseqüente irregularidade e escassez de água em diversas regiões do mundo. Esse estresse afeta diretamente o crescimento de plantas, bem como sua morfologia e fisiologia. Entretanto, as respostas das plantas ao estresse são altamente dependentes da intensidade e duração do estresse, bem como da espécie, cultivar e estágio de desenvolvimento da planta (JALEEL et al., 2009).

A avaliação da tolerância de plantas a estresse hídrico em ensaios *in vitro* utilizando PEG, tem sido reportada com sucesso na literatura, com boa reprodutibilidade dos resultados obtidos *in vitro* no campo (GOPAL; IWAMA; JITSUYAMA, 2008; VERMA et al., 2013). Nesse experimento, as cultivares de bananeira estudadas apresentaram diferentes respostas ao incremento da concentração de PEG no meio de cultura, apresentando diferentes níveis de tolerância ao estresse hídrico. Porém, a redução no crescimento das plantas foi comum para todas as cultivares, independente da concentração de PEG utilizada.

O sistema radicular apresenta grande importância na avaliação da tolerância de plantas ao estresse hídrico, pois é o principal órgão responsável pela absorção de água nas plantas. Além disso, a raiz é o primeiro sinalizador da limitação de água para a parte aérea (SKIRYCZ; INZÉ, 2010). O número e comprimento de raízes foram afetados pela adição de PEG ao meio de cultura. A redução foi mais expressiva entre o controle e a concentração de 2,5 % de PEG, com pequenas variações nas concentrações superiores, sendo os menores valores observados para a ‘Tropical’. Também foi notável o incremento no comprimento da raiz na ‘Prata Anã’ nessa mesma concentração, além de considerável redução no diâmetro da raiz dessa cultivar.

Feng et al. (2016) explicam que o crescimento de um órgão, em nível celular, é dependente da extensibilidade da parede celular, da diferença de potencial osmótico entre o interior e o exterior da célula e da condutância para a passagem de água proveniente do ambiente. Em situações de estresse hídrico, esses fatores são comprometidos, limitando o crescimento. Por outro lado, esses mesmos autores citam que em situações de estresse hídrico

moderado, as raízes podem ativar mudanças nos mecanismos regulatórios de crescimento e permitir a expansão das células, mesmo com a redução da disponibilidade de água. Além disso, a redução no diâmetro das raízes permite que esse tecido adquira um menor potencial osmótico, devido à menor deposição de soluto.

Cui et al. (2016) observaram redução no número de raízes de videiras cultivadas *in vitro* com o incremento das concentrações de PEG. Para o comprimento de raiz, a redução só foi observada na maior concentração de PEG (4 %). Gopal e Iwama (2007) relataram comportamento diferenciado para o comprimento e diâmetro de raiz com o aumento da concentração de PEG no meio de cultura em genótipos de batata sob estresse hídrico *in vitro*. Porém, a redução no comprimento foi comum para todos os genótipos em relação ao controle.

Sob efeito da adição de PEG ao meio de cultura, as cultivares avaliadas nesse trabalho apresentaram redução considerável no crescimento em altura, no comprimento de folhas e no acúmulo de massa fresca e seca. Sendo a cultivar Tropical a mais sensível para a maioria dessas variáveis, na menor concentração de PEG. Já a Grand Naine apresentou menor sensibilidade e variação entre as concentrações de PEG utilizadas para a maioria dessas variáveis.

Plantas sob estresse tendem a criar mecanismos de regulação balanceando crescimento e sobrevivência. Entretanto, o crescimento da parte aérea, especialmente folhas, é mais sensível que o crescimento de raízes sob a mesma intensidade de redução do potencial hídrico (BLUM, 2011). Isso se deve à necessidade de redução da perda de água por transpiração pelas folhas. Ademais, o transporte de água para a parte aérea torna-se limitado em condições de déficit hídrico, comprometendo a divisão, turgor e expansão celular, reduzindo o aporte de nutrientes e afetando processos fisiológicos e bioquímicos (CLAEYS; INZÉ, 2013; FENG et al., 2016; HASANUZZAMAN et al., 2012).

Corroborando com resultados obtidos nesse trabalho, Haq et al. (2011) e Haq (2015) verificaram redução do crescimento e da massa fresca e seca de bananeira cultivar Basrai, cultivada *in vitro* na presença de 5 % de PEG no meio de cultura. Sob condições de campo, Oliveira; Filho; Coelho (2013) observaram menor altura de plantas, número de folhas e área foliar em bananeira Grand Naine sob limitada lâmina de irrigação. Divergindo do observado nessa pesquisa, a variação da lâmina de irrigação no campo não influenciou nas características vegetativas das cultivares Grand Naine e Prata Comum (SILVA et al., 2004).

Foi possível observar que as variáveis relacionadas ao crescimento, como a altura de planta e comprimento de folha, foram mais sensíveis às variações na concentração de PEG do que o acúmulo de massa seca e fresca. Cultivares como a Prata Anã e Tropical, que tiveram decréscimo expressivo na altura, número e comprimento de folhas, não apresentaram redução proporcional na massa seca e fresca. O crescimento de plantas é mais sensível à limitação de água do que a fotossíntese. Como consequência, carboidratos frequentemente são acumulados em plantas sob estresse, mostrando que a redução no crescimento não é consequência do déficit de carbono. Pelo contrário, o crescimento tende a ser desacoplado da disponibilidade de carbono sob condições limitantes de água (CLAEYS; INZÉ, 2013; MULLER et al., 2011).

As respostas observadas em relação às características fitotécnicas foram variáveis entre as cultivares, o que dificulta a indicação de uma cultivar mais tolerante ao estresse hídrico. O índice de sensibilidade ao estresse permitiu distinguir melhor a suscetibilidade de cada cultivar. Baseado nesses resultados, pode-se dizer que a Grand Naine foi a mais tolerante ao estresse hídrico induzido *in vitro*, em relação ao crescimento das plantas. Mostrando menor sensibilidade à redução no crescimento em altura e no comprimento de folhas, além de ser a única cultivar que manteve o número de folhas, implicando em maior área foliar. Já a Tropical foi a mais sensível ao estresse hídrico na menor concentração de PEG.

5.2 Efeito do PEG nas características fisiológicas

Plantas sob estresse hídrico exibem uma gama de alterações em seu metabolismo, tanto de cunho morfológico quanto fisiológico e bioquímico. O desenvolvimento de mecanismos de tolerância à limitação de água, é consequência de diversos parâmetros fisiológicos, como o teor relativo de água na folha, o extravasamento de eletrólitos, o conteúdo de clorofila e carotenoides e a respiração, etc.

A estimativa do status de água em plantas sob estresse hídrico pode ser obtida pela mensuração do teor relativo de água. Essa medida reflete a atividade metabólica nos tecidos, além de ser o principal índice relacionado à tolerância a desidratação (FAROOQ et al., 2009). O ajustamento osmótico, definido como a dinâmica de acumulação de solutos na célula, também está diretamente relacionado ao teor relativo de água na planta, interferindo no turgor e hidratação das células (BLUM, 2011).

Em situações de déficit hídrico, ocorre redução no teor relativo de água. Porém, essa redução é dependente da interação entre a severidade e a duração do estresse, além da espécie vegetal (YANG; WANG; MIAO, 2010). Essa redução foi observada nesse experimento para todas as cultivares, com maior diminuição no status de água registrado para a cultivar Tropical. Maior teor relativo de água nas demais cultivares, pode ser classificado como um mecanismo de tolerância. Visto que, melhor ajustamento osmótico, maior absorção de água pelas raízes e menores taxas de transpiração com o fechamento dos estômatos, estão diretamente relacionados a um maior status de água na planta (ANJUM; XIE; WANG, 2011; FAROOQ et al., 2009).

Bidabadi et al. (2012) relataram aumento no teor relativo de água na seleção de linhagens de bananeiras tolerantes ao estresse hídrico, expostas a 3 % de PEG no cultivo *in vitro*. Esse aumento também foi observado por Tak et al. (2016) ao superexpressar o gene *MusaNAC042* em plantas transgênicas de bananeira, com o intuito de aumentar a tolerância ao estresse hídrico e salino. Haq (2015) observaram diminuição dessa variável em plantas de bananeira Basrai sob 5 % de PEG no cultivo *in vitro*. Determinadas linhagens de *Arabidopsis thaliana* expostas ao estresse hídrico induzido por PEG em solução nutritiva, não apresentaram diferença no teor relativo de água na concentração de 3 %, já nas concentrações de 6 e 9 % de PEG houve redução dessa variável para todas as linhagens em relação ao controle.

A membrana celular é um dos primeiros alvos de diversos tipos de estresses em plantas. Geralmente, a manutenção da integridade e estabilidade da membrana representa um dos principais componentes de tolerância ao estresse hídrico em plantas (BAJJI; KINET; LUTTS, 2002). O grau de deterioração da membrana foi estimado pelo extravasamento de eletrólitos, mostrando elevada perda de integridade da membrana para a cultivar ‘Tropical’ com o aumento da concentração. As cultivares Grand Naine e Pacovan Ken foram as mais tolerantes ao extravasamento de eletrólitos em resposta ao aumento da concentração de PEG.

A manutenção dos íons no interior das membranas contribui para um melhor ajustamento osmótico das células, reduzindo o potencial hídrico e, conseqüentemente, facilitando a absorção e o direcionamento de água para o interior da célula, o que beneficia os processos de divisão e expansão celular (CLAEYS; INZÉ, 2013; FENG et al., 2016). Além disso, Demidchik et al. (2014) relatam que altas taxas de extravasamento de eletrólitos estão sempre associadas à produção de espécies reativas de oxigênio, frequentemente associadas à

morte celular programada. Esse mesmo autor descreve que em condições moderadas de estresse, o extravasamento de íons, em especial o K^+ , leva à diminuição de reações anabólicas, estimulando o catabolismo, com consequente gasto de energia.

Cui et al. (2016) observaram aumento da taxa de extravasamento de eletrólitos em videiras cultivadas *in vitro*, sob estresse hídrico induzido por PEG, nas concentrações de 2 e 4 %. Cultura de células de cana-de-açúcar, expostas ao estresse hídrico *in vitro*, apresentaram 61 % de aumento para essa variável, quando cultivadas na presença de 20 % de PEG (PATADE; BHARGAVA; SUPRASANNA, 2012). No melhoramento genético, a superexpressão da aquaporina (*MaPIP1;1*) encontrada na bananeira em plantas de *Arabidopsis thaliana*, promoveu a redução no extravasamento de eletrólitos (XU et al., 2014). Chai et al. (2005) relataram redução na estabilidade da membrana de folhas de bananeira ‘Berangan’ e ‘Mas’ com o aumento do tempo de contato da planta com o estresse hídrico induzido por 40 % de PEG.

Clorofilas são os principais pigmentos fotossintéticos encontrados em plantas, o que as torna um bom indicador da capacidade fotossintética. A fotossíntese, juntamente com o crescimento celular, está entre os primeiros processos a serem afetados pelo déficit de água na planta. Como consequência pode ocorrer o decréscimo da disponibilidade de CO_2 , devido à limitação da difusão através dos estômatos e mesófilo, ou alterações no metabolismo fotossintético ou até mesmo a geração de estresses oxidativos (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009).

Todas as cultivares apresentaram redução no teor de clorofila *a*, *b* e *total* na presença de PEG em relação ao controle. Entretanto, a redução foi mais acentuada entre o controle e a concentração de 2,5 %. A pequena variação observada entre os tratamentos na presença de PEG pode justificar a sutil variação no acúmulo de massa pelas cultivares, corroborando com o explicado anteriormente sobre a menor sensibilidade das plantas à fotossíntese e acúmulo de carbono, em detrimento ao crescimento vegetal (CLAEYS; INZÉ, 2013; MULLER et al., 2011).

A redução no teor de clorofila *a*, em consequência ao estresse hídrico, pode ter ocorrido pela produção de enzimas peroxidativas, que degradam essa clorofila na membrana dos tilacóides. Já para a clorofila *b*, a redução se deve a restrição de água a nível de substrato, resultando em desordens no cloroplasto e modificando a relação entre proteínas e lipídios

envolvidas no complexo de formação de pigmentos. O comprometimento da produção desses pigmentos podem afetar a produção de biomassa (GANDUL-ROJAS; ROCA; MÍNGUEZ-MOSQUERA, 2004; LOBATO et al., 2013; PARIDA; DAS; DAS, 2002; PARIDA et al., 2007). O aumento da razão clorofila *a/b* em relação ao tratamento controle, observado nas cultivares Grand Naine e Prata Anã, pode representar um mecanismo de regulação metabólica de clorofila, beneficiando essas cultivares (GUO et al., 2013)

Corroborando com a redução no conteúdo de pigmentos fotossintéticos observados nesse trabalho, houve redução no teor de clorofila *a* e *b* em bananeira ‘Basrai’ sob estresse hídrico induzido *in vitro*, na presença de 5 % de PEG (HAQ, 2015). Karimi et al. (2013), avaliando genótipos de amendoeira ao estresse hídrico, induzido pela adição de 3,5 e 7 % de PEG ao meio de cultura, observou redução no teor desses pigmentos para todos os genótipos. Na busca por mecanismos de tolerância a estresses, a superexpressão do fator de transcrição *MusaNAC68* em plantas de bananeira, elevaram o teor de clorofila nas plantas (NEGI; TAK; GANAPATHI, 2016).

A escassez de água para as plantas limita o crescimento e produtividade, principalmente devido à redução no estoque de carbono, que por sua vez, é dependente do balanço entre a fotossíntese e a respiração (FLEXAS et al., 2006). O carbono liberado pela folha (não proveniente da fotorrespiração) é chamado de respiração mitocondrial. Em estudo de proteômica realizado por Skirycz et al. (2011) em folhas de *Arabidopsis thaliana* sob estresse osmótico, foi constatado que a expressão de proteínas ligadas a processos como a glicólise e a respiração mitocondrial são ativados, em detrimento da fotossíntese. Com isso, as plantas utilizam o excesso de poder redutor gerado e açúcares na produção de energia para o crescimento.

Nesse trabalho, pequena alteração na atividade respiratória foi observada para as cultivares Grand Naine e Tropical até a concentração de 5 % de PEG. Por outro lado, a Prata Anã e a Pacovan Ken apresentaram elevação na respiração a partir da concentração de 2,5 % de PEG. Uma tendência no aumento da respiração foi observada para todas as cultivares na maior concentração de PEG. Pode ser observado uma taxa respiratória sutilmente menor para a cultivar Grand Naine. Isso pode ter ocorrido devido à maior eficiência fotossintética dessa planta sob essas condições de estresse hídrico, comprovado pela maior razão clorofila *a/b*, além de maior superfície fotossintética, com maior número de folhas e comprimento foliar.

Alguns estudos relatam o aumento da respiração foliar sob condições severas de estresse hídrico (GHASHGHAIE et al., 2001), já outros autores reportaram redução da atividade respiratória (FLEXAS et al., 2006). Essas variações ocorrem no intuito de atingir a homeostase na planta. Vanhove et al. (2012) ao realizar uma seleção de cultivares de bananeira tolerantes à seca, pela indução *in vitro* desse estresse e por meio de análise de proteômica, relataram que sob condições estressantes, proteínas ligadas à respiração são ativadas com a finalidade de manter a homeostase, demonstrando a importância dessa variável na tolerância ao estresse.

Foi notável a interferência do PEG nas características fisiológicas das cultivares avaliadas. Todo o sistema fisiológico foi alterado na tentativa de tolerar o déficit hídrico. A cultivar Tropical foi a que apresentou maior sensibilidade ao estresse hídrico, em relação às variáveis fisiológicas avaliadas.

5.3 Efeito do PEG na atividade biológica e no conteúdo de DNA

Em condições de estresse, todo o metabolismo vegetal é alterado visando a contenção desse estresse, seja pela ativação ou desativação de processos fisiológicos e bioquímicos. Nesse sentido, a atividade biológica do vegetal é modificada. A técnica do biospeckle laser permite a avaliação quantitativa e qualitativa das mudanças ocorridas no vegetal. A atividade mensurada por essa técnica pode estar relacionada a diferentes processos, a exemplo do crescimento e divisão celular, de outros processos celulares como o movimento de organelas, o fluxo citoplasmático ou até mesmo em reações bioquímicas, onde ocorre alterações em níveis energéticos na planta (BRAGA et al., 2009).

A atividade biológica mensurada na raiz apresentou um comportamento diferenciado do registrado nas folhas. Além disso, a atividade na raiz teve forte correlação com um maior número de variáveis e cultivares, quando comparada com a atividade biológica na folha. As raízes apresentam crescimento indeterminado, padrão definido de divisão celular no sentido longitudinal, de alongação e diferenciação. Além disso, é o principal órgão da planta responsável pela percepção de sinais (GREGORY, 2007; KRASUSKA; GNIAZDOWSKA, 2015; RIBEIRO et al., 2014a).

O comportamento dos dados foi semelhante entre as cultivares, tanto na raiz quanto na folha, exceto para a Tropical. A atividade biológica reduziu nas concentrações de 2,5 e 5 % de PEG e aumentou na de 10 % para a raiz. Na folha, o aumento começa a ocorrer na

concentração de 5 %. Tal resposta pode ser explicada pela dinâmica entre o crescimento, sobrevivência e o desenvolvimento de mecanismos de tolerância.

Plantas sob condições limitadas de água utilizam de dois mecanismos para lidar com o estresse: ‘evitar’ ou ‘tolerar’ o estresse. O mecanismo de evitar o estresse tem como objetivo balancear a absorção e a perda de água. Com isso, são reduzidos o potencial osmótico pelo acúmulo de solutos e a transpiração pelo fechamento dos estômatos. Nesse sentido, ocorre restrição do crescimento da planta, principalmente da parte aérea (CLAEYS; INZÉ, 2013; LAWLOR, 2013). Tal resposta implicará em menor gasto de energia e consequente redução da atividade biológica. Isso pode explicar a redução observada na atividade biológica nas menores concentrações de PEG.

Por outro lado, o mecanismo de tolerar o estresse tem como objetivo proteger o vegetal de danos celulares, momento em que o estresse se torna muito severo e os mecanismos no sentido de evitar o estresse já não são mais suficientes. Esses mecanismos incluem a eliminação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e o acúmulo de proteínas ligadas à defesa da planta, como LEA proteínas, e de solutos como a prolina com função osmoprotetora (CLAEYS; INZÉ, 2013). Para a ativação de todos esses mecanismos, a planta precisa despender mais energia e ativar o metabolismo, justificando a maior atividade biológica na maior concentração de PEG.

É possível que a não observação da diminuição brusca da atividade biológica na cultivar Tropical, entre o tratamento controle e concentração de 2,5 % de PEG, tenha ocorrido devido a essa concentração ter sido elevada o suficiente para ativar os mecanismos de tolerância ao estresse, demonstrando maior sensibilidade dessa cultivar ao estresse hídrico. A manutenção da baixa atividade biológica na raiz da cultivar Grand Naine na concentração de 10 % de PEG, sugere que essa cultivar ainda não atingiu um nível de estresse salino tão severo a ponto de ativar os mecanismos de tolerar o estresse.

A desidratação celular pode induzir o estresse oxidativo em plantas, promovendo a degradação e deformação nuclear (REWALD et al., 2013). Esse estresse oxidativo levam à formação de EROs, que em concentrações elevadas podem causar danos irreversíveis às plantas, através da oxidação de múltiplos componentes celular, como a peroxidação de lipídeos, degradação de proteínas, fragmentação de DNA e em casos extremos, a morte celular (ANJUM; XIE; WANG, 2011; CRUZ DE CARVALHO, 2008).

A cultivar Prata Anã foi a única que apresentou alta estabilidade genética, não sofrendo alteração no conteúdo de DNA. Já a Pacovan Ken foi a mais sensível à redução do conteúdo de DNA. Artlip et al. (1995) verificaram redução no conteúdo de DNA nuclear em plantas de milho sob estresse hídrico. Diminuição no conteúdo de DNA também foi observada por Aldesuquy et al. (2014) em plantas de trigo sensíveis e tolerantes ao estresse hídrico quando expostas ao déficit hídrico.

Apesar da diferença significativa entre os tratamentos para o conteúdo de DNA, é importante ser cauteloso ao afirmar sobre essa redução como sendo exclusiva ao estresse hídrico imposto. Para Doležel e Bartoš (2005) o efeito de compostos citosólicos, a exemplo dos fenólicos, na quantificação de DNA, tem sido subestimada, levando a mensurações potencialmente errôneas. Bennett et al. (2008) citam a presença de antocianinas como uma potencial fonte de erro na estimativa do conteúdo de DNA, uma vez que essas afetam a coloração do DNA devido sua interação com o iodeto de propídeo. Segundo Chalker-scott (1999), antocianinas tendem a acumular em plantas sob condições de estresse.

As ferramentas biotecnológicas utilizadas nessa pesquisa permitiram maior compreensão do comportamento das cultivares em relação à estabilidade genética e à atividade biológica. Entretanto, a discriminação da tolerância ao estresse hídrico por essas técnicas é pouco eficiente.

6 CONCLUSÕES

A cultivar Tropical é mais sensível ao estresse hídrico induzido *in vitro*.

A cultivar Grand Naine é mais tolerante ao estresse hídrico que as cultivares Prata Anã e Pacovan Ken, em concentrações elevadas de PEG. Em menores concentrações, essas cultivares apresentam níveis semelhantes de tolerância ao déficit hídrico.

A mensuração da atividade biológica na raiz apresenta maior representatividade dos parâmetros de crescimento e fisiológicos, sendo a região mais indicada para leitura sob condições de estresse hídrico.

O conteúdo de DNA das cultivares Tropical, Grand Naine e Pacovan Ken é reduzido sob condições de estresse hídrico.

A cultivar Prata Anã mostra aumento de crescimento radicular em condições de estresse hídrico moderado associado a uma estabilidade genética em todos os níveis de estresse.

7 REFERÊNCIAS

- ALDESUQUY, H. S.; IBRAHEEM, F. I.; GAHNEM, H. E. Comparative Morpho-Biochemical Responses of Wheat Cultivars Sensitive and Tolerant to Water Stress. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 10, n. 2, p. 168–189, 2014.
- ANJUM, S.; XIE, X.; WANG, L. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 9, p. 2026–2032, 2011.
- ARTLIP, T. S.; MADISON, J. T.; SETTER, T. L. Water deficit in developing endosperm of maize : cell division and nuclear DNA endoreduplication. **Plant, Cell and Environment**, v. 18, p. 1034–1040, 1995.
- BAJJI, M.; KINET, J. M.; LUTTS, S. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. **Plant Growth Regulation**, v. 36, n. 1, p. 61–70, 2002.
- BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A Re-Examination of the Relative Turgidity Technique for Estimating Water Deficits in Leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 15, n. 3, p. 413–428, 1962.
- BENJAMIN, J. G.; NIELSEN, D. C. Water deficit effects on root distribution of soybean, field pea and chickpea. **Field Crops Research**, v. 97, n. 2–3, p. 248–253, 2006.
- BENNETT, M. D.; PRICE, H. J.; JOHNSTON, J. S. Anthocyanin inhibits propidium iodide DNA fluorescence in *Euphorbia pulcherrima*: Implications for genome size variation and flow cytometry. **Annals of Botany**, v. 101, n. 6, p. 777–790, 2008.
- BIDABADI, S. S. et al. In vitro selection and characterization of water stress tolerant lines among ethyl methanesulphonate (EMS) induced variants of banana (*Musa* spp., with AAA genome). **Australian Journal of Crop Science**, v. 6, n. 3, p. 567–575, 2012.
- BLUM, A. **Plant Breeding for Water-Limited Environment**. p. 216, 2011.
- BRAGA, R. A. et al. Live biospeckle laser imaging of root tissues. **European Biophysics Journal**, v. 38, n. 5, p. 679–686, 2009.
- CHAI, T. T. et al. Water stress-induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. **Biologia Plantarum**, v. 49, n. 1, p. 153–156, 2005.
- CHALKER-SCOTT, L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. **Photochemistry and Photobiology**, v. 70, n. 1, p. 1–9, 1999.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of botany**, v. 103, n. 4, p. 551–60, 1 fev. 2009.

CLAEYS, H. et al. What is Stress? Dose-Response Effects in Commonly Used In Vitro Stress Assays. **Plant physiology**, v. 165, n. June, p. 519–527, 2014.

CLAEYS, H.; INZÉ, D. The agony of choice: How plants balance growth and survival under water-limiting conditions. **Plant Physiology**, v. 162, n. 4, p. 1768–1779, 2013.

CRUZ DE CARVALHO, M. H. Drought stress and reactive oxygen species: Production, scavenging and signaling. **Plant signaling & behavior**, v. 3, n. 3, p. 156–65, 2008.

CUI, Z.-H. et al. Responses of In vitro-Grown Plantlets (*Vitis vinifera*) to Grapevine leafroll-Associated Virus-3 and PEG-Induced Drought Stress. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 1–14, 2016.

DEMIDCHIK, V. et al. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 5, p. 1259–70, 11 mar. 2014.

DOLEŽEL, J.; BARTOŠ, J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 99–110, 2005.

FAROOQ, M. et al. Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. In: LICHTFOUSE, E. et al. (Eds.). . **Sustainable Agriculture**. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 153–188, 2009.

FENG, W. et al. Growing Out of Stress: The Role of Cell- and Organ-Scale Growth Control in Plant Water-Stress Responses. **The Plant Cell**, v. 28, n. 8, p. 1769–1782, 2016.

FLEXAS, J. et al. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, p. 343–352, 2006.

GANDUL-ROJAS, B.; ROCA, M.; MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I. Chlorophyll and carotenoid degradation mediated by thylakoid-associated peroxidative activity in olives (*Olea europaea*) cv. hojiblanca. **Journal of plant physiology**, v. 161, n. 5, p. 499–507, maio 2004.

GHASHGHAIE, J. et al. ¹³C of CO₂ respired in the dark in relation to ¹³C of leaf metabolites: Comparison between *Nicotiana sylvestris* and *Helianthus annuus* under drought. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, n. 5, p. 505–515, 2001.

GOPAL, J.; IWAMA, K. In vitro screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol. **Plant Cell Reports**, v. 26, n. 5, p. 693–700, 2007.

GOPAL, J.; IWAMA, K.; JITSUYAMA, Y. Effect of water stress mediated through agar on in vitro growth of potato. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v. 44, n. 3, p. 221–228, 2008.

GREGORY, P. J. **Plant Roots: Growth, Activity and Interaction with Soils**. p. 1-318, 2007.

HAMROUNI, L. et al. [In vitro culture: a simple and efficient way for salt-tolerant grapevine genotype selection]. **Comptes rendus biologiques**, v. 331, n. 2, p. 152–63, 2008.

HAQ, I. Aseptic Growth Attributes of PEG-Stressed and BBTV-Infected Plants of Banana. **International Journal of Science and Research**, v. 4, n. 6, p. 76–80, 2015.

HAQ, I. U. et al. Characteristics of micro-propagated banana (*Musa spp.*) cultures stressed with NaCl and polyethylene glycol. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 21, p. 4387–4391, 2011.

HASANUZZAMAN, M. et al. Plant Response and Tolerance to Abiotic Oxidative Stress: Antioxidant Defense Is a Key Factor. In: VENKATESWARLU, B. et al. (Eds.). . **Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies**. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 261–315, 2012.

JALEEL, C. et al. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **Int. J. Agric.**, v. 11, n. 1, p. 100–105, 2009.

KARIMI, S.; YADOLLAHI, A.; ARZANI, K. Responses of Almond Genotypes to Osmotic Stress Induced In Vitro. **Journal of Nuts**, v. 4, n. 4, p. 1–7, 2013.

KRASUSKA, U.; GNIAZDOWSKA, A. ROS--RNS--Phytohormones Network in Root Response Strategy. In: GUPTA, D. K.; PALMA, J. M.; CORPAS, F. J. (Eds.). . **Reactive Oxygen Species and Oxidative Damage in Plants Under Stress**. Cham: Springer International Publishing, p. 321–339, 2015.

LAWLOR, D. W. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. **Journal of experimental botany**, v. 64, n. 1, p. 83–108, 1 jan. 2013.

LI, H.; TANG, C.; XU, Z. Scientia Horticulturae The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus L.*) plantlet growth and morphogenesis in vitro. **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 117–124, 2013.

LOBATO, A. K. DA S. et al. Silicon: A Benefic Element to Improve Tolerance in Plants Exposed to Water Deficiency. In: **RESPONSES OF ORGANISMS TO WATER Edited by Şener Akıncı**. [s.l.] InTech, p. 95–113, 2013.

MULLER, B. et al. Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 6, p. 1715–1729, 2011.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651–681, 2008.

NEGI, S.; TAK, H.; GANAPATHI, T. R. Expression analysis of MusaNAC68 transcription factor and its functional analysis by overexpression in transgenic banana plants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 125, n. 1, p. 59–70, 2016.

OLIVEIRA, J. M.; FILHO, M. A. C.; COELHO, E. F. Crescimento da bananeira Grande Naine submetida a diferentes lâminas de irrigação em tabuleiro costeiro Growth of banana Grande Naine under different irrigation levels in Coastal Plain. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1038–1046, 2013.

PARIDA, A.; DAS, A. B.; DAS, P. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. **Journal of Plant Biology**, v. 45, n. 1, p. 28–36, 2002.

PARIDA, A. K. et al. Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. **Plant Biotechnology Reports**, v. 1, n. 1, p. 37–48, 2007.

PATADE, V. Y.; BHARGAVA, S.; SUPRASANNA, P. Effects of NaCl and iso-osmotic PEG stress on growth, osmolytes accumulation and antioxidant defense in cultured sugarcane cells. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 108, n. 2, p. 279–286, 2012.

PRABA, M. L. et al. Identification of physiological traits underlying cultivar differences in drought tolerance in rice and wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 195, n. 1, p. 30–46, 2009.

R. GUO, W. P. HAO, D. Z. GONG, X. L. ZHONG, F. X. G. Effects of Water Stress on Germination and Growth of Wheat, Photosynthetic Efficiency and Accumulation of Metabolites. **Soil processes and current trends in quality assessment**, 2013.

RAI, M. K. et al. Developing stress tolerant plants through in vitro selection-An overview of the recent progress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 1, p. 89–98, 2011.

RAVI, I. et al. Phenotyping bananas for drought resistance. **Frontiers in physiology**, v. 4, n. 9, p. 1–15, 7 jan. 2013.

REWALD, B. et al. Adaptive Plasticity of Salt-Stressed Root Systems. In: AHMAD, P.; AZOOZ, M. M.; PRASAD, M. N. V (Eds.). . **Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress**. New York, NY: Springer New York, 2013. p. 169–201.

RIBEIRO, K. M. et al. Continuous, high-resolution biospeckle imaging reveals a discrete zone of activity at the root apex that responds to contact with obstacles. **Annals of Botany**, v. 113, n. 3, p. 555–563, 2014a.

RIBEIRO, K. M. et al. Continuous, high-resolution biospeckle imaging reveals a discrete zone of activity at the root apex that responds to contact with obstacles. **Annals of botany**, v. 113, n. 3, p. 555–63, 1 fev. 2014b.

RUSTAGI et al. Enhancing Abiotic Stress Tolerance. In: **Banana: Genomics and Transgenic Approaches for Genetic Improvement**. p. 181–196, 2016.

SCOPEL, W.; BARBOSA, J. Z.; VIEIRA, M. L. Extração de pigmentos foliares em plantas de canola. **Unoesc & Ciência - ACET**, v. 2, n. 1, p. 87–94, 2011.

- SHI, Q. et al. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. **Plant Growth Regulation**, v. 48, n. 2, p. 127–135, 2006.
- SILVA, L. B. et al. Comportamento vegetativo de cultivares de banana sob diferentes lâminas de irrigação. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 34, n. 2, p. 93–98, 2004.
- SKIRY CZ, A. et al. A Reciprocal ¹⁵N-Labeling Proteomic Analysis of Expanding Arabidopsis Leaves Subjected to Osmotic Stress Indicates Importance of Mitochondria in Preserving Plastid Functions. **Journal of Proteome**, v. 10, p. 1018–1029, 25 jan. 2011.
- SKIRY CZ, A.; INZÉ, D. More from less: plant growth under limited water. **Current opinion in biotechnology**, v. 21, n. 2, p. 197–203, abr. 2010.
- SURENDAR, K. K. et al. **Water Stress in Banana- A Review**. v. 2, n. May, p. 1–18, 2013.
- VANHOVE, A.-C. et al. Screening the banana biodiversity for drought tolerance: can an in vitro growth model and proteomics be used as a tool to discover tolerant varieties and understand homeostasis. **Frontiers in plant science**, v. 3, p. 176, 2 jan. 2012.
- VERMA, D. et al. In vitro selection and field responses of somaclonal variant plants of rice cv PR113 for drought tolerance. **Plant signaling & behavior**, v. 8, n. 4, p. 54–56, 2013.
- VERSLUES, P. E. et al. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **Plant Journal**, v. 45, n. 4, p. 523–539, 2006.
- XU, Y. et al. A banana aquaporin gene, MaPIP1;1, is involved in tolerance to drought and salt stresses. **BMC plant biology**, v. 14, p. 59, 2014.
- YANG, F.; WANG, Y.; MIAO, L. F. Comparative physiological and proteomic responses to drought stress in two poplar species originating from different altitudes. **Physiologia Plantarum**, v. 139, n. 4, p. 388–400, 2010.

Apêndice 1 - Tabela de correlação entre a atividade biológica mensurada nas diferentes partes da planta e as demais variáveis avaliadas para as variedades Caipira, Princesa, Thap Maeo e Vitória.

	Caipira				Princesa			
	BspR	BspC	BspF	BspP	BspR	BspC	BspF	BspP
NaCl	-0,937	0,253	0,679	-0,624	-0,925	-0,645	0,501	-0,921
<i>p valor</i>	<i>1.678E-08</i>	<i>0,233</i>	<i>0,000262</i>	<i>0,00111</i>	<i>0,0000000404</i>	<i>0,00387</i>	<i>0,0341</i>	<i>0,0000000569</i>
NR	0,529	-0,401	-0,261	0,259	0,499	0,199	-0,00813	0,514
<i>p valor</i>	<i>0,00788</i>	<i>0,0521</i>	<i>0,217</i>	<i>0,221</i>	<i>0,0352</i>	<i>0,429</i>	<i>0,974</i>	<i>0,0292</i>
CR	0,836	0,0172	-0,500	0,722	0,746	0,509	-0,499	0,719
<i>p valor</i>	<i>0,000000357</i>	<i>0,936</i>	<i>0,0129</i>	<i>0,0000679</i>	<i>0,000374</i>	<i>0,0311</i>	<i>0,0350</i>	<i>0,000772</i>
DR	0,375	-0,471	-0,310	0,0431	0,503	0,275	-0,0969	0,519
<i>p valor</i>	<i>0,0710</i>	<i>0,0202</i>	<i>0,141</i>	<i>0,841</i>	<i>0,0334</i>	<i>0,270</i>	<i>0,702</i>	<i>0,0273</i>
AP	0,867	-0,123	-0,780	0,584	0,912	0,655	-0,477	0,918
<i>p valor</i>	<i>0,0000000434</i>	<i>0,568</i>	<i>0,00000709</i>	<i>0,00273</i>	<i>0,000000142</i>	<i>0,00316</i>	<i>0,0453</i>	<i>0,0000000817</i>
NF	-0,173	0,201	0,240	0,00521	0,796	0,640	-0,676	0,762
<i>p valor</i>	<i>0,419</i>	<i>0,347</i>	<i>0,258</i>	<i>0,981</i>	<i>0,0000788</i>	<i>0,00425</i>	<i>0,00208</i>	<i>0,000241</i>
CF	0,855	-0,0922	-0,753	0,597	0,960	0,652	-0,583	0,937
<i>p valor</i>	<i>0,000000104</i>	<i>0,668</i>	<i>0,0000220</i>	<i>0,00208</i>	<i>0,00000000290</i>	<i>0,00339</i>	<i>0,0111</i>	<i>0,00000000973</i>
MF	0,529	0,191	-0,489	0,491	0,769	0,506	-0,365	0,770
<i>p valor</i>	<i>0,00792</i>	<i>0,371</i>	<i>0,0153</i>	<i>0,0149</i>	<i>0,000189</i>	<i>0,0323</i>	<i>0,136</i>	<i>0,000188</i>
MS	0,563	-0,167	-0,313	0,400	0,688	0,440	-0,405	0,667
<i>p valor</i>	<i>0,00419</i>	<i>0,436</i>	<i>0,136</i>	<i>0,0525</i>	<i>0,00158</i>	<i>0,0675</i>	<i>0,0953</i>	<i>0,00248</i>
TRA	0,777	-0,174	-0,493	0,562	0,891	0,575	-0,391	0,895
<i>p valor</i>	<i>0,00000785</i>	<i>0,417</i>	<i>0,0145</i>	<i>0,00427</i>	<i>0,000000724</i>	<i>0,0126</i>	<i>0,109</i>	<i>0,000000530</i>
EE	-0,800	0,356	0,639	-0,440	-0,389	-0,335	0,652	-0,306
<i>p valor</i>	<i>0,00000274</i>	<i>0,0881</i>	<i>0,000775</i>	<i>0,0316</i>	<i>0,111</i>	<i>0,175</i>	<i>0,00338</i>	<i>0,217</i>
CLFA	0,763	0,0808	-0,736	0,596	0,791	0,628	-0,321	0,834
<i>p valor</i>	<i>0,0000146</i>	<i>0,707</i>	<i>0,0000408</i>	<i>0,00213</i>	<i>0,0000935</i>	<i>0,00524</i>	<i>0,194</i>	<i>0,0000171</i>
CLFB	0,293	0,436	-0,393	0,403	0,808	0,620	-0,339	0,844

<i>p valor</i>	0,165	0,0330	0,0576	0,0508	0,0000491	0,00604	0,169	0,0000107
CLFA/B	0,632	-0,554	-0,512	0,202	0,751	0,313	-0,462	0,676
<i>p valor</i>	0,000925	0,00495	0,0106	0,345	0,000329	0,206	0,0538	0,00206
CLFT	0,697	0,132	-0,687	0,570	0,783	0,623	-0,328	0,824
<i>p valor</i>	0,000155	0,538	0,000210	0,00365	0,000121	0,00575	0,184	0,0000264
CAROT	0,830	-0,0624	-0,691	0,607	0,768	0,628	-0,271	0,824
<i>p valor</i>	0,000000541	0,772	0,000188	0,00166	0,000197	0,00524	0,276	0,0000259
CO2/O2	0,809	-0,334	-0,608	0,471	-0,283	-0,0198	0,308	-0,197
<i>p valor</i>	0,00000171	0,111	0,00162	0,0200	0,255	0,938	0,214	0,433
CO2/MS	0,414	-0,140	-0,240	0,282	-0,735	-0,431	0,404	-0,708
<i>p valor</i>	0,0445	0,515	0,258	0,182	0,000513	0,0740	0,0966	0,00101

	Thap Maeo				Vitória			
	BspR	BspC	BspF	BspP	BspR	BspC	BspF	BspP
NaCl	-0,882	0,739	0,821	0,143	0,554	0,686	0,793	0,728
<i>p valor</i>	0,0000000120	0,0000365	0,000000879	0,506	0,00497	0,000216	0,00000374	0,0000544
NR	-0,397	0,0845	0,203	-0,166	0,0630	0,175	-0,0639	0,0532
<i>p valor</i>	0,0548	0,695	0,341	0,437	0,770	0,414	0,767	0,805
CR	0,834	-0,496	-0,544	0,104	-0,601	-0,424	-0,228	-0,426
<i>p valor</i>	0,000000414	0,0137	0,00599	0,627	0,00189	0,0388	0,284	0,0380
DR	0,620	-0,159	-0,343	0,230	0,141	-0,153	-0,319	-0,136
<i>p valor</i>	0,00124	0,458	0,100	0,279	0,511	0,477	0,129	0,525
AP	0,681	-0,750	-0,710	-0,254	-0,613	-0,660	-0,649	-0,680
<i>p valor</i>	0,000253	0,0000243	0,000103	0,231	0,00145	0,000444	0,000596	0,000256
NF	0,135	0,257	0,358	0,447	0,556	0,580	0,452	0,555
<i>p valor</i>	0,529	0,225	0,0863	0,0286	0,00479	0,00299	0,0265	0,00488
CF	0,820	-0,702	-0,676	-0,0945	-0,780	-0,687	-0,612	-0,727

<i>p valor</i>	0,000000913	0,000133	0,000285	0,661	0,00000688	0,000208	0,00147	0,0000570
MF	0,733	-0,396	-0,489	0,109	-0,161	-0,227	-0,353	-0,270
<i>p valor</i>	0,0000470	0,0555	0,0153	0,613	0,453	0,286	0,0908	0,201
MS	0,721	-0,273	-0,338	0,250	-0,106	-0,226	-0,413	-0,278
<i>p valor</i>	0,0000705	0,197	0,106	0,239	0,621	0,287	0,0448	0,189
TRA	0,877	-0,366	-0,436	0,271	-0,168	-0,274	-0,364	-0,293
<i>p valor</i>	0,0000000194	0,0787	0,0331	0,200	0,433	0,195	0,0801	0,164
EE	-0,781	0,573	0,627	0,0260	0,161	0,0539	0,129	0,121
<i>p valor</i>	0,00000659	0,00343	0,00105	0,904	0,453	0,802	0,547	0,572
CLFA	0,417	-0,461	-0,311	-0,0903	-0,540	-0,425	-0,286	-0,431
<i>p valor</i>	0,0425	0,0234	0,139	0,675	0,00643	0,0383	0,175	0,0357
CLFB	0,364	-0,142	-0,0110	0,208	0,0969	0,174	0,0879	0,125
<i>p valor</i>	0,0802	0,507	0,959	0,329	0,652	0,417	0,683	0,561
CLFA/B	-0,0201	-0,545	-0,547	-0,619	-0,586	-0,539	-0,377	-0,520
<i>p valor</i>	0,926	0,00588	0,00563	0,00125	0,00264	0,00658	0,0694	0,00918
CLFT	0,365	-0,352	-0,181	-0,000841	-0,491	-0,489	-0,350	-0,462
<i>p valor</i>	0,0790	0,0921	0,398	0,997	0,0149	0,0153	0,0937	0,0230
CAROT	0,777	-0,591	-0,553	-0,00125	-0,653	-0,529	-0,389	-0,543
<i>p valor</i>	0,00000812	0,00237	0,00506	0,995	0,000536	0,00785	0,0601	0,00610
CO2/O2	-0,806	0,763	0,732	0,171	0,918	0,845	0,733	0,873
<i>p valor</i>	0,00000197	0,0000146	0,0000472	0,424	0,000000000255	0,000000207	0,0000454	0,0000000261
CO2/MS	-0,846	0,629	0,612	-0,00200	0,857	0,841	0,923	0,929
<i>p valor</i>	0,000000193	0,000986	0,00150	0,993	0,0000000922	0,000000271	0,000000000141	5.894E-08

Apêndice 2 - Tabela de correlação entre a atividade biológica mensurada nas diferentes partes da planta e as demais variáveis avaliadas para as variedades Tropical, Grand Naine, Prata Anã e Pacovan Ken.

	Tropical		Grand Naine		Prata Anã		Pacovan Ken	
	AVD-R	AVD-F	AVD-R	AVD-F	AVD-R	AVD-F	AVD-R	AVD-F
PEG	-0,939	0,340	-0,583	0,461	-0,250	-0,779	0,454	0,204
<i>p</i> -valor ≤0.05	1.17E-08	0,167	0,00280	0,0235	0,239	0,000140	0,0260	0,416
TRA	0,751	-0,21	0,580	-0,316	0,720	0,498	0,812	-
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,000327	0,383	0,00296	0,133	0,000746	0,0355	0,00004	0,358
ELET	-0,627	0,267	-0,687	0,0955	-0,848	-0,426	0,194	-
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,00535	0,284	0,000211	0,657	0,000008	0,0782	0,440	0,083
NF	0,733	-0,47	0,560	-	0,0500	0,641	-0,561	-
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,0000468	0,045	0,00440	0,000976	0,816	0,00414	0,00433	0,314
NR	0,409	-0,21	0,808	0,215	0,0328	0,611	-0,504	0,238
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,0473	0,388	0,0000017	0,313	0,879	0,00703	0,0119	0,342
CR	0,513	-0,21	0,818	0,125	0,139	-0,284	-0,226	0,143
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,0103	0,389	0,0000010	0,560	0,516	0,253	0,289	0,572
CF	0,831	-0,25	0,652	-0,352	0,176	0,819	-0,430	-
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,0000004	0,391	0,000553	0,0918	0,410	0,0000327	0,0360	0,187
AP	0,791	-0,19	0,778	-0,151	0,238	0,835	-0,416	-
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,0000042	0,437	0,0000076	0,483	0,263	0,0000163	0,0432	0,161
DC	0,574	-0,44	0,606	0,0111	0,541	0,810	-0,627	-
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,00334	0,066	0,00168	0,959	0,00629	0,0000460	0,00104	0,245
DR	0,211	0,019	-0,269	-0,369	0,739	0,889	0,228	-
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,323	0,939	0,204	0,0760	0,000037	0,0000007	0,284	0,233
MF	0,674	-0,29	0,838	0,204	0,586	0,904	-0,212	0,032
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,000305	0,238	0,0000003	0,340	0,00261	0,0000002	0,320	0,898
MS	0,547	-0,31	0,725	0,294	0,654	0,822	-0,344	-
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,00563	0,202	0,0000624	0,164	0,000532	0,0000291	0,0994	0,194
CLFA	0,832	-0,33	0,833	0,0305	0,758	0,912	0,683	0,234

<i>p</i> -valor ≤0.05	0,000018 4	0,179	0,000000 4	0,888	0,00026 7	0,000000 1	0,00179	0,349
CLFB	0,389	0,015	0,842	0,0732	0,655	0,871	0,240	0,116
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,111	0,951	0,000000 2	0,734	0,00316	0,000002 5	0,338	0,646
CLFT	0,766	-0,24	0,843	0,0814	0,714	0,907	0,617	0,236
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,000208	0,334	0,000000 2	0,705	0,00088 3	0,000000 2	0,00639	0,346
CLFAB	0,744	-0,48	-0,141	-0,592	0,399	-0,0108	0,512	0,185
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,000399	0,042	0,510	0,00233	0,101	0,966	0,0298	0,462
CO2O2	0,425	0,130	0,645	0,555	0,0226	0,214	0,213	0,590
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,0385	0,606	0,000674	0,00486	0,917	0,395	0,318	0,009
CO2MS	-0,303	0,298	0,403	0,739	-0,441	-0,221	0,482	0,649
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,150	0,230	0,0512	0,00003	0,0310	0,379	0,0171	0,003
DNA	0,768	-0,19	0,629	-0,347	-0,155	0,00334	0,636	0,186
<i>p</i> -valor ≤0.05	0,000196	0,439	0,000995	0,0969	0,540	0,990	0,00455	0,460
AVD-R		-0,35		0,336		0,657		- 0,059
<i>p</i> -valor ≤0.05		0,155		0,108		0,00304		0,815