

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**SELEÇÃO IN VITRO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA
PARA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO**

Alice Lichs Marssaro

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2016**

SELEÇÃO IN VITRO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA PARA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO

Alice Lichs Marssaro

Biotecnologista

Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2013

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador(a): Prof. Dra. Janay Almeida Santos-Serejo
Coorientador: Prof. Dr. Jailson Lopes Cruz

**CRUZ DAS ALMAS – BA,
2016**

FICHA CATALOGRÁFICA

M414 Marssaro, Alice Lichs.

Seleção in vitro de genótipos de bananeira para tolerância ao déficit hídrico / Alice Lichs Marssaro. – Cruz das Almas, BA, 2016.
60 f. il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dra. Janay Almeida Santos-Serejo.
Coorientador: Prof. Prof. Dr. Jailson Lopes Cruz.

Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)-
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016.

1. Banana. 2. Melhoramento vegetal. I. Santos-Serejo, Janay Almeida.
II. Cruz, Jailson Lopes. III. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
IV. Título.

CDD: 634.772

Ficha catalográfica elaborada por Lucidalva R. G. Pinheiro- Bibliotecária CRB51161 –
Embrapa Mandioca e Fruticultura

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**SELEÇÃO IN VITRO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA PARA
TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Alice Lichs Marssaro

Aprovada em: 28 de Julho de 2016

Profa. Dra. Janay Almeida dos Santos-Serejo
Embrapa Mandioca e Fruticultura
(Orientadora)

Profa. Dra. Alone Lima Brito
Universidade Estadual de Feira de Santana
(Examinador externo)

Prof. Dr. Edson Perito Amorim
Embrapa Mandioca e Fruticultura
(Examinador interno)

DEDICATÓRIA

À Deus, à minha família e ao meu amor.

AGRADECIMENTOS

“Se cheguei até aqui foi porque me apoiei no ombro de gigantes” – Isaac Newton

Muitos foram os gigantes que me apoiaram nessa fase, e sem eles a única certeza é que não teria sido possível eu concluir essa etapa.

Primeiramente, agradeço a Deus: a maior fonte de amor e luz.

Agradeço toda orientação de Dra. Janay Santos-Serejo, Dr. Jailson Lopes, Dr. Maurício Coelho e Dr. Carlos Alberto Ledo.

À minha querida família, Antonio, Alda, Angélica e Alisson, ficam meus mais sinceros agradecimentos por terem me incentivado a continuar meu voo, dessa vez ainda mais alto. Vocês são as pessoas mais importantes da minha vida, o melhor que há em mim.

Ao meu amor, Plínio Rocha, agradeço o amor, a amizade, confiança e apoio. Você acreditou em mim e no meu potencial quando eu mesmo já não mais acreditava. Foi Deus quem te escolheu para mim, mas se a escolha fosse minha, eu te escolheria mil vezes mais. Te amo!

Aos amigos, sejam da pós-graduação ou não, agradeço pelas horas de conversas, risadas e apoio. Vocês me lembraram que mesmo em meio a turbulências é possível ser feliz.

Agradeço também aqueles que junto comigo, colocaram a mão na massa a me ajudaram a fazer esse trabalho acontecer: Meire, Lumi, Vanille, Érica, Jair e Andrade.

Por fim, e não menos importante, à cachorrinha mais linda e danada do mundo, a minha Fiore, agradeço por ter sido minha amiga e maior companheira. Obrigada por não ter me deixado faltar amor, carinho e risadas nenhum só dia.

SELEÇÃO IN VITRO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA PARA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO

RESUMO: O déficit hídrico tem sido considerado, em algumas situações, o principal determinante da redução da produtividade de várias culturas, inclusive da bananeira. Existe a previsão de intensificação dos efeitos desse estresse, pelas mudanças climáticas. A busca por genótipos mais eficientes no uso da água e com maior capacidade de ajustamento osmótico, através de programas de melhoramento genético tem sido considerada como uma das estratégias mais eficientes e baratas para enfrentar o problema da seca. Tendo em vista o longo ciclo e alto porte da cultura, o estabelecimento de uma metodologia que simule as condições de déficit hídrico in vitro para genótipos de bananeira permite selecionar precocemente genótipos tolerantes à seca, com economia de tempo, espaço e material vegetal. Nesse trabalho objetivou-se determinar as concentrações adequadas dos indutores de déficit hídrico in vitro polietileno glicol (PEG) e sorbitol, e posterior seleção de genótipos de bananeira com tolerância ao déficit hídrico. Plantas de duas cultivares de bananeira, BRS Tropical e Prata Anã, bem como 12 diploides do programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura foram cultivadas em meio de cultura MS semissólido por 50 dias. Ápices caulinares de plantas cultivadas in vitro foram transferidos para meio MS líquido, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose e 4 mg L⁻¹ de BAP, suplementado 15, 30, 45 e 60 g L⁻¹ de PEG 6000 ou 18,2; 36,4; 54,6 e 72,8 g L⁻¹ de sorbitol. Os mesmos foram mantidos em sala de crescimento e tiveram os meios de cultura renovados a cada 15 dias, com avaliações de altura da planta, massa fresca, número de raízes e número de folhas durante 60 dias. Em relação ao indutor PEG, a concentração mais adequada foi 15 g L⁻¹, e para o indutor sorbitol 36,4 g L⁻¹. Ambos os indutores são promissores na seleção in vitro de plantas de bananeira tolerantes ao estresse hídrico. No entanto, o sorbitol foi considerado mais adequado, por ter afetado menos severamente o crescimento das plantas. Os diploides 042085-02 e 091087-01 foram considerados genótipos promissores, com tolerância a seca e, portanto, devem ser avaliados em campo e com ensaios de proteômica para confirmação da tolerância a seca.

Palavras-chave: Germoplasma; *Musa spp.*; polietileno glicol; sorbitol; tolerância à seca

IN VITRO SELECTION OF BANANA GENOTYPES WITH WATER DEFICIT TOLERANCE

ABSTRACT: Water deficit has been considered, in some situations, the major determinant of reduced productivity of various crops, including banana. There is the prediction of intensification of effects of that stress by climate change. The search for more efficient genotypes in water use and greater osmotic adjustment capacity through breeding programs has been considered one of the most efficient and inexpensive strategies to address the problem of drought. Given the long cycle and high size of culture, the establishment of a methodology that simulates the in vitro drought conditions to banana genotypes allows to select drought tolerant genotypes earlier, saving time, space and plant material. This study aimed to determinate the appropriate concentrations of inductors in vitro hydric deficit, polyethylene glycol (PEG) and sorbitol, and subsequent selection of banana genotypes with tolerance. Plants of two banana cultivars, BRS Tropical e Prata Anã, and 12 diploids of banana genetic breeding program genotypes were cultivated on MS semi-solid culture medium for 50 days. Shoot tips of plants cultivated in vitro were transferred for a MS liquid medium supplemented with 30 g L⁻¹ sucrose, 4 mg L⁻¹ benzylaminopurine and 15, 30, 45 and 60 g L⁻¹ polyethylene glycol (PEG) or 18,2; 36,4; 54,6 and 72,8 g L⁻¹ sorbitol. They were kept in growth room and their culture media were renewed every 15 days, with evaluation of plant height, weight, number of roots and number of leaves until the 60 days. Regarding PEG inducer, the suitable concentration was 15 g L⁻¹, and sorbitol inducer was 36,4 g L⁻¹. Both PEG and sorbitol are promising in vitro simulation of water deficit for selection of banana genotypes that are tolerant to water deficit. However, sorbitol was considered more suitable because it less severely affects plant growth. The diploids 042085-02 and 091087-01 were considered promising genotypes with drought tolerance and therefore they should be evaluated in the field and with proteomic tests for confirmation of drought tolerance.

Keywords: Drought tolerance; Germoplasm; *Musa spp*; sorbitol; polietileno glycol; sorbitol

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO -----	1
Capítulo 1 SIMULAÇÃO DE DÉFICIT HÍDRICO IN VITRO PARA SELEÇÃO DE BANANEIRAS TOLERANTES À SECA-----	15
Capítulo 2 SELEÇÃO IN VITRO DE HÍBRIDOS DIPLOIDES DE BANANEIRA TOLERANTES À SECA -----	38
CONSIDERAÇÕES FINAIS -----	60

INTRODUÇÃO

Mudanças climáticas e o problema da seca

As mudanças climáticas têm sido caracterizadas principalmente por aumentos de temperatura e alteração no modelo de precipitação pluviométrica (NOBRE, 2001). Estudos tem apontado que os efeitos do déficit hídrico ao decorrer dos anos podem ser intensificados pelas mudanças climáticas (CLAEYS et al., 2013), pela crescente escassez de água doce disponível para a irrigação e também pelo esgotamento dos aquíferos (PENNISI, 2008).

O déficit hídrico ocorre quando as raízes não conseguem suprir a parte aérea em relação à demanda de água, reduzindo a transpiração até níveis críticos (NEVES et al., 2013) e pode ser causado pela seca, salinidade ou congelamento (BOYER, 1982). Em especial, entende-se por seca a condição de falta de água na região radicular da planta, o que leva a diminuição do rendimento das culturas (RAVI et al., 2013). A falta de água causa desidratação celular, condição que leva ao estresse osmótico e remove a água do citoplasma para o espaço extracelular (BARTELS; SUNKAR, 2005). A capacidade da planta de manter o transporte de água, mesmo em nível limiar, contra as resistências do sistema solo-planta-atmosfera previne os danos causados pelo déficit hídrico (TARDIEU et al., 2010; BLUM, 2011).

No Brasil, as regiões Nordeste e Centro-oeste são as que apresentam maior histórico de déficit hídrico, sendo a região do Semiárido nordestino considerada a mais vulnerável à mudança de clima, especialmente no ponto de vista social (MARENGO, 2011). O Semiárido espalha-se por 86% do território nordestino e abrange uma população de aproximadamente 23,5 milhões de habitantes, o que equivale a pouco mais de 34% da população do Nordeste e cerca de 12% da do país. Esses números fazem do Semiárido a região seca mais populosa do mundo (MARENGO, 2011) e destacam a importância social e econômica da região.

Nesta região destacam-se os seguintes polos de produção de bananas: Minas Gerais (Janaúba e Jaíba); Bahia (Juazeiro, Ponto Novo, Irecê, Bom Jesus da Lapa, Barreiras, Livramento de Nossa Senhora, Caraíbas, Guanambi, Urandi, e Sebastião Laranjeiras); Pernambuco (Petrolina e Santa Maria da Boa Vista); Rio Grande do Norte (Vale do Açu); Sergipe (Platô de Neópolis); e Ceará (Chapada do Apodi e Baixo Acaraú) (DONATO, 2009).

Em 2015, a cultura da banana apresentou nas regiões Nordeste e Centro-oeste, uma área plantada de 220 mil hectares, com produção de aproximadamente 2,5 milhões de toneladas (IBGE, 2016). No entanto, sabe-se que a irregularidade das chuvas é um obstáculo ao desenvolvimento agrícola da região (KUNZLER, 2011). Tomadas em conjunto, essas informações chamam a atenção para a possibilidade de decréscimo da produtividade da agricultura de subsistência. Ou seja, com a previsão de intensificação do já existente déficit hídrico da região, aumentam-se as dificuldades que os pequenos agricultores vêm enfrentando, havendo consequências sociais, de segurança alimentar, migração e pobreza.

As estratégias existentes para gerenciar e diminuir os efeitos negativos da seca são representadas principalmente pela irrigação das culturas, a fim de evitar que na condição de restrição de água, a demanda evaporativa exceda a capacidade de absorção de água (ROBINSON; GALÁN SAÚCO, 2010). Em relação as bananas mundialmente cultivadas para exportação (Cavendish), estima-se que mais de dois terços das áreas de produção sejam irrigadas (CARR et al., 2009). No Brasil, no período de 1975 a 2004, houve acréscimo de 2,4 milhões de hectares de terras irrigadas (CHRISTOFIDIS, 2008). No mundo, é estimado uma área irrigada de 330 milhões de hectares no ano 2025 (SHIKLOMANOV 2000). No entanto, o uso de irrigação aumenta o custo de produção e é dependente da disponibilidade de recursos, infraestrutura e habilidade no manejo da cultura e do solo (PAZ et al., 2000).

No contexto das mudanças climáticas e conservação dos recursos hídricos e tendo em vista que a irrigação representa cerca de 69% da água consumida no mundo (SAMPAIO, 2010) destaca-se a necessidade por estratégias alternativas. O melhoramento genético das plantas tem sido considerado como uma das estratégias mais eficientes e baratas para enfrentar o problema da seca (UMEZAWA, 2006). O que se busca é a produção de genótipos mais eficientes no uso da água, com maior capacidade de ajustamento osmótico e de controle estomático (DONATO, 2013).

Mecanismo de tolerância à seca

A água é fundamental para o desenvolvimento e sobrevivência da planta. Estima-se que o conteúdo de água na planta seja de 80 a 95% em massa dos tecidos em crescimento, de 85 a 95% em tecidos vegetativos e 35 a 75% em madeira com as células mortas e de 5 a 15% em sementes secas (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A água do solo é absorvida pelas plantas através de suas raízes, sendo então transportada para as células do mesófilo foliar através do xilema (FERREIRA, 1992). Dessa forma, a força motriz do movimento da água na planta se origina nas folhas e está relacionada ao processo fisiológico da transpiração (FSCUS, 1987). Durante a transpiração ocorre uma difusão do vapor de água através de um sistema biológico, a qual obedece a um gradiente de potencial entre a pressão de vapor na folha e a pressão de vapor na atmosfera (TAIZ; ZEIGER, 2009). Em outras palavras, a transpiração corresponde à perda de água em forma de vapor e ocorre sempre que a umidade relativa no interior de uma folhar for maior que a umidade relativa da atmosfera.

A nível celular, o movimento da água é controlado pelo gradiente de potencial de água (FERREIRA, 1992) e este é o principal responsável pela entrada e saída desse solvente universal na planta. O potencial de água representa a diferença entre o potencial químico da água em um sistema qualquer e o potencial químico da água pura sob as mesmas condições padrões de temperatura e de pressão (SUTCLIFFE, 1980). Esse potencial é controlado por três fatores: concentração de solutos do suco celular (potencial osmótico); pressão das paredes (potencial de pressão) e gravidade (potencial gravitacional) (TAIZ; ZEIGER, 2009).

O movimento orientado das partículas de água ocorre das áreas de menor concentração de solutos para as de maior concentração (TAIZ; ZEIGER, 2009). Em condições normais de disponibilidade de água, o citoplasma de uma célula contém uma maior concentração de solutos do que o ambiente e assim a água é absorvida (GERDAY; GLANSORFF, 2007). Já em solos secos, o potencial de água é menor ou igual ao potencial de água da planta, o que interfere na absorção da água, já que as plantas podem absorver água apenas enquanto o seu potencial for menor do que

do solo (TAIZ; ZEIGER, 2009). Verifica-se então a saída de água do citoplasma para o espaço extracelular (BARTELS; SUNKAR, 2005).

A capacidade das plantas em tolerar condições de seca é de fundamental importância para produção agrícola em todo o mundo (UMEZAWA, 2006). A seca causa na planta desidratação e superaquecimento de suas células e tecidos. Dessa forma, entende-se por plantas tolerantes a esse estresse abiótico aquelas que conseguem tolerar não só a desidratação, mas também o calor (RAVI et al., 2013), mantendo seu crescimento, desenvolvimento e reprodução normalizados. Essa tolerância é formada e desenvolvida nos processos de ontogenia, estando assim baseada em toda filogenia da planta e em seus processos evolutivos (HENCKEL, 1964).

O déficit hídrico induz uma série de respostas fisiológicas e bioquímicas nas plantas (SHINOZAKI et al., 2007), tanto a nível celular quanto molecular (NAKASHIMA, 2009). Sabe-se, por exemplo, da acumulação de osmólitos e proteínas especificamente envolvidos na tolerância ao estresse (SHINOZAKI et al., 2003). Além disso, estudos tem apontado para um elevado número de genes e fatores de transcrição relacionados com a capacidade da planta para tolerar e superar condições de seca (BARTELS; SUNKAR, 2005; SHINOZAKI et al., 2007; KIM et al., 2012). As respostas das plantas para as condições de seca são influenciadas pela quantidade de água perdida, da taxa de perda, de quanto tempo a planta esteve sob a condição de estresse (BRAY, 1997) e do genótipo da planta (BARTELS; SUNKAR, 2005). Nas plantas que conseguem sobreviver à condição da falta de água, essas respostas culminam na tolerância ao déficit hídrico.

Os mecanismos para lidar com a deficiência hídrica podem ser divididos em dois: habilidade de “evasão” à seca e de tolerância a tal condição (VERSLUES et al., 2006; LAWLOR, 1970). O primeiro mecanismo consiste em equilibrar a absorção e a perda de água. A absorção de água é melhorada pela acumulação de solutos, que diminuem o potencial osmótico do tecido, e pela maior profundidade das raízes (RAVI et al., 2013; CLAEYS et al., 2013). Acredita-se que o alongamento das raízes seja um mecanismo adaptativo que facilita a absorção de água a partir de camadas mais profundas do solo (BARTELS; SUNKAR, 2005).

Já a perda de água por evaporação é limitada pelo fechamento estomático, diminuição no crescimento da parte aérea e aceleração da senescência foliar (RAVI et al., 2013; CLAEYS et al., 2013). A ideia que se defende é que a estagnação do crescimento seja uma forma de preservar os carboidratos para sustentar o metabolismo, prolongando o fornecimento de energia e, assim dando condições de recuperação após findar-se o estresse (BARTELS; SUNKAR, 2005).

O mecanismo de tolerância ao estresse hídrico consiste na capacidade da planta de desidratar-se parcialmente, permanecendo-se viável e capaz de retomar o crescimento quando se finda o estresse (RAVI et al., 2013). Acredita-se que em situações nas quais o estresse seja tão severo a ponto dos mecanismos de evasão não serem suficientes as plantas tolerantes consigam proteger-se contra danos celulares (CLAEYS et al., 2013). Essa proteção ocorre através da desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e da acumulação de proteínas protetoras, tais como *Embryogenesis Late Abundante* (ELA) e de solutos, tais como *Pro*, que atua tanto como agente osmótico como osmoprotetor (CLAEYS et al., 2013).

Sabe-se que ambos os mecanismos são controlados principalmente pelo ácido abscísico e por proteínas do tipo DREB (*Drought-Responsive Elementbinding*) (NAKASHIMA et al., 2009).

Tolerância à seca em bananeira

A bananeira possui centro de origem no continente asiático (SILVA et al., 2013). Os genótipos de bananeira atualmente em uso para alimentação são em sua maioria frutos de cruzamentos intra e interespecíficos envolvendo *M. acuminata* Colla (genoma A, $2n=2x=22$) e *M. balbisiana* Colla (genoma B, $2n=2x=22$) (SIMMONDS, 1973). Esses híbridos podem apresentar diversas ploidias, verificando-se casos com 20; 22; 33; 44; 55; 77 e 88, podendo encontrar, inclusive, vários tipos de aneuploidias, e apresentam características das duas espécies (SIMMONDS, 1973).

Os estudos desenvolvidos por Cheesman (1948) e Simmonds e Shepherd (1955) levaram à constatação dos seguintes grupos genômicos: diploides (AA, BB e AB), triploides (AAA, AAB e ABB) e tetraploides (AAAA, AAAB, AABB e ABBB), sendo esta a classificação adotada em todo o mundo. Além dos grupos genômicos, foi estabelecido o uso do termo subgrupo, para denominar um conjunto de cultivares provenientes, por meio de mutações, de uma única cultivar original (SHEPHERD et al., 1984), como no caso do grupo AAA, subgrupo Cavendish e grupo AAB, subgrupos Prata e Terra, no Brasil (SILVA et al., 2013).

As cultivares mais importantes no Brasil e seus respectivos representantes são do grupo genômico AAB, com as cultivares Prata Anã, Pacovan, Maçã, Terra e D'Angola, que são utilizadas para o mercado interno, e as do grupo AAA representado pelas cultivares Nanica, Nanicão e Grande Naine, usadas no mercado nacional e para exportação. Em menor escala são plantadas a 'Ouro' (AA), 'Figo Cinza' e 'Figo Vermelho' (ABB). O grupo AAAB representado por híbridos tetraploides tipo Prata (a exemplo das cultivares Pacoven Ken, Garantida, Precisoa, BRS Platina, entre outras) e Maçã (BRS Princesa e BRS Tropical), desenvolvidos mediante melhoramento genético, tem se destacado no cenário nacional principalmente por apresentarem resistência às principais doenças da cultura (SILVA et al., 2016). As cultivares de bananeira que contém o genoma B são mais tolerantes aos estresses abióticos do que aquelas que apresentam em sua constituição somente o genoma A (ROBINSON; SAUCO, 2010; RAVI et al., 2013).

A bananeira apresenta desenvolvimento contínuo, inibindo a emergência de folhas e raízes com o aparecimento da inflorescência. Desta maneira, condições climáticas (luz, temperatura e vento), nutrientes e água são determinantes para o seu desenvolvimento (SOTO BALLESTERO, 2008). Sabe-se que a cultura é bastante sensível à deficiência hídrica (RUKUNDO et al., 2012; VANHOVE et al., 2012). Em algumas situações, esse fator abiótico tem sido considerado o principal determinante da redução da produtividade da cultura (VAN ASTEN et al., 2012). A bananeira é uma planta com elevado e contínuo consumo de água, devido à morfologia e hidratação de seus tecidos (SILVA et al., 2004). A alta demanda hídrica do cultivo varia com o estágio de desenvolvimento, condições atmosféricas e propriedades físico-hídricas do solo (COELHO et al., 2012). A espécie necessita de no mínimo, 25 mm de água por semana, sendo considerado ótimo para a produção a média de 1.900 mm de chuva, distribuídas durante o ano (VANHOVE et al., 2012). Um estudo mostrou que o declínio de 100 mm de chuvas causou perdas de peso máximo de 1,5 a 3,1 kg e de 8 a 10 % da produção total (VAN ASTEN et al., 2012). Em condições naturais de distribuição de chuvas, esta disponibilidade de 1,900 mm raramente ocorre. Em regiões com baixos índices de chuva por ano, ou seja, precipitação média anual inferior a 800 mm, como no semiárido brasileiro, acaba se tornando obrigatória a irrigação para o cultivo comercial de bananeira (ALVES et al., 1999). A maioria dos polos produtores de

bananas no Brasil apresentam déficit hídrico (ALVES et al., 1999, FREITAS et al., 2008).

A falta de água é refletida pela redução da coloração verde das folhas. Quando a deficiência se torna grave, todas as folhas caem prematuramente e ocorrem danos ao tecido do pseudocaule. A deficiência hídrica afeta severamente o crescimento e produção da bananeira, pois reduz profundamente a sua capacidade de fotossíntese (RUKUNDO et al., 2012). Sabe-se que as fases infantil e juvenil, fase vegetativa, compreendem o período do ciclo da bananeira mais sensível ao déficit hídrico do solo (DONATO, 2013). No entanto, a carência em água adquire maior gravidade nas fases de diferenciação floral (período floral) e no início da frutificação, pois é o período de maior exigência quantitativa de água (DONATO, 2013). Quando submetida à severa deficiência hídrica a roseta foliar se comprime, dificultando ou até mesmo impedindo o lançamento da inflorescência. Em consequência o cacho pode perder o seu valor comercial (TURNER et al., 1998).

Em estudos realizados com bananeiras submetidas a longos períodos de seca, foi observado drástica redução nos parâmetros de crescimento, bem como nas trocas gasosas (MAHOUACHI, 2009).

Acredita-se que as bananeiras possuem mecanismos de tolerância à seca, pois mantêm seu status hídrico interno durante os períodos secos (TURNER et al., 1998). A ideia que se defende é que sob condição de seca as raízes produzam sinais que fecham os estômatos. Com o fechamento estomático, a pressão de raiz torna-se a força dominante no fornecimento de água para a parte aérea, permitindo que a planta se mantenha altamente hidratada (THOMAS, 1998). Uma particularidade das bananeiras é o fato das folhas permanecerem bastante hidratadas mesmo com solo seco (TURNER et al., 2007). Assim, segundo Thomas (1998), uma diminuição na abertura e/ou condutância estomática irá reduzir a transpiração da folha, mas não diminuir o fluxo de água do solo para a folha. No entanto, com o fechamento estomático ocorre redução na assimilação de carbono e, portanto, comprometimento da produção (VAN ASTEN et al., 2010; TURNER et al., 2007). Além disso, as bananeiras possuem um mecanismo de ajuste osmótico pelo aumento da concentração de minerais e ou solutos orgânicos na folha (MAHOUACHI, 2009). Sabe-se ainda que as bananeiras possuem rápidas respostas fisiológicas ao déficit hídrico do solo, sendo a taxa de surgimento da nova folha, o indicador mais sensível para este parâmetro (TURNER et al., 2007). Algumas cultivares de bananeira possuem mecanismos de regulação térmica, por exemplo, respostas de termo tolerância induzida e proteínas chaperonas, HSPse síntese de ABA (HENRY et al., 2011), identificados também em *M. acuminata* ssp. *burmannicoides* var. *Calcutta 4* (AA) (SANTOS et al., 2005).

Apesar dos mecanismos gerais, estudos tem apontado que genótipos de *Musa* apresentam diferentes formas de lidar com estresse hídrico. De modo geral, as cultivares que apresentam pequena redução das trocas gasosas e de perda de área foliar, bem como maior capacidade de retenção de água nas folhas, apresentam maiores tolerâncias ao estresse hídrico (BANANUKA et al., 1999).

O melhoramento genético da bananeira é dificultado pela esterilidade constatada em alguns diploides e triploides, baixa produção de sementes ou, em alguns casos, a ausência delas em cruzamentos e número variável de ploidias, inclusive aneuploidias, verificadas em progênies obtidas a partir de cruzamentos entre genótipos (SILVA et al., 2005). Normalmente, a produção de banana se baseia em cultivares triploides (AMORIM et al., 2008). Genótipos diploides têm sido bastante utilizados em

programas de melhoramento genético, já que são fontes de alelos de resistência/tolerância a fatores bióticos e abióticos (JENNY et al., 1999).

Os programas de melhoramento de bananeira têm gerado híbridos tetraploides promissores, obtidos a partir do cruzamento entre cultivares triploides e diploides melhorados ou selvagens, que apresentam características agrônômicas de interesse, entre elas: porte reduzido, resistência a pragas e qualidade físico-química dos frutos (SILVA et al., 2005).

No entanto, estudos sobre tolerância à seca em banana, principalmente os de simulação de condições de estresse hídrico *in vitro*, são escassos e ainda em fase inicial de desenvolvimento. Essa característica ainda não tem sido buscada de forma isolada nos programas mundiais de melhoramento genético de bananeira (RAVI et al., 2013). Porém, os recentes problemas advindos das mudanças climáticas chamam a atenção para a necessidade de desenvolver cultivares de banana adaptadas a ambientes com menor quantidade de água disponível.

Simulação *in vitro* de estresse hídrico – Agentes seletivos

Sabe-se que o mecanismo de tolerância a seca não deve ser estudado de forma isolada, mas sim em uma perspectiva de características múltiplas. Assim, em culturas como a bananeira, esses trabalhos são mais complexos pois além da longa duração do ciclo (varia de 12 a 18 meses de acordo com a variedade), a cultura possui de três a quatro períodos críticos de crescimento ao longo desses 12-18 meses (RAVI et al., 2013).

Dessa forma, técnicas de cultura de tecidos como a indução de estresses abióticos *in vitro*, com posterior seleção dos genótipos tolerantes, fornecem subsídios para trabalhos de melhoramento genético visando a geração de cultivares tolerantes às condições adversas.

Estudos *in vitro* podem auxiliar na investigação da ecofisiologia das plantas de forma a simular condições ambientais adversas que podem acontecer no campo. Dentre suas vantagens destaca-se o fato de proporcionar condições de temperatura, luminosidade e do meio de cultura totalmente controladas e homogêneas para a execução dos experimentos, não expondo as plantas à outros tipos de estresse (HASEGAWA, 1983). Além disso, a diminuição de volume de material vegetal, custo e tempo na execução em relação aos experimentos realizados em campo aumentam a viabilidade desses trabalhos realizados em laboratório (CANCADO et al., 2009).

A probabilidade de realizar uma seleção *in vitro* depende da acessibilidade de um sistema de regeneração eficaz associado com um eficiente agente seletivo (JAIN, 2001; PREDIERI, 2001; JAIN, 2002; DITA et al., 2006; PREDIERI E DI VIRGILIO, 2007; RAI et al., 2011).

Os componentes do meio de cultura de tecidos exercem efeitos sobre o crescimento e morfogênese das células, tecidos e órgãos das plantas cultivadas, devido ao seu valor nutritivo e aos potenciais osmóticos que acrescentam ao meio (OTONI, 2003).

A adição de componentes ao meio de cultura, especialmente macronutrientes e fontes de carbono, causam uma diminuição considerável no potencial osmótico do meio (GEORGE, 1993). Quando ocorre a substituição da fonte de carbono no meio de cultura por solutos osmoticamente ativos esses solutos podem agir não somente como fonte de carbono mas também como reguladores osmóticos (OTONI et al., 2003).

O uso de meio de cultura líquido em trabalhos de seleção *in vitro* de genótipos tolerantes ao déficit hídrico é recomendado, pois a adição do agente solidificante, por si só, já causa diminuição no potencial osmótico do meio podendo assim ter efeito no processo de seleção (EBRAHIM et al., 2006; EBRAHIM et al., 2004; EBRAHIM et al., 2000; RUKUNDO et al., 2012).

A escolha do indutor de estresse osmótico requer atenção especial. Ela deve ser feita baseada na espécie estudada, já que pode ocorrer de o soluto ser absorvido e metabolizado pela planta em questão (KARHU, 1997; OTONI et al., 2003), o que não é desejado.

Estudos bem sucedidos de seleção *in vitro* para tolerância à seca tem utilizado polietileno glicol (PEG) e sorbitol como agentes de seleção em várias culturas, como coco, banana, arroz, cana de açúcar, batata, batata-doce, alface e milho (KARUNARATNE et al., 1991; DRAGIISKA et al., 1996; MOHAMED et al., 2000; BISWAS et al., 2002; EBRAHIM et al., 2006; YADAV et al., 2006; GOPAL e IWAMA, 2007; LUAN et al., 2007; RAI et al., 2011; BIDABADI, 2012; RUKUNDO et al., 2012; VAN ASTEN, 2011).

O sorbitol é um poliálcool (álcool de açúcar) produzido pela hidrogenação da glicose. É encontrado na maioria das plantas superiores e em algumas espécies de algas e vegetais (WANG et al., 2003). Dentre suas características destaca-se o fato de ser umectante, bacteriostático, estável, quimicamente inerte, amaciante, agente de texturização, solúvel em água, ácido acético, etanol e metanol, insolúvel em solvente orgânico comum (SILVEIRA et al., 2002). Esse composto não se constitui uma fonte de energia para bananeiras (RUKUNDO et al., 2012) e acredita-se que o seu efeito negativo sobre o crescimento das plantas esteja associado com a sua incapacidade de ser metabolizado pelas células vegetais. É possível que, em concentrações elevadas, o sorbitol cause um estresse osmótico no meio de cultura que exceda a capacidade de ajustamento osmótico da planta, afetando o crescimento das mesmas (GOPAL; IWAMA, 2007).

O polietileno glicol é um polímero composto de unidades repetidas de etileno glicol, que possui vários derivados de pesos moleculares diferentes e que exercem finalidades também distintas. Esse polímero tem sido utilizado com sucesso em trabalhos de pesquisa para simular os efeitos do déficit hídrico nas plantas, por não penetrar nas células, não ser degradado e não causar toxidez (VERSULES et al., 1998, RAI et al., 2011). Devido ao seu alto peso molecular, as moléculas de PEG não conseguem penetrar nos poros da parede celular (CARPITA et al., 1979), o que leva, por movimento osmótico, à retirada da água do meio intracelular para o extracelular. Dessa forma, acredita-se que os polímeros de PEG imitem o solo seco de forma mais precisa do que outros agentes, que por sua vez, sejam penetrantes na parede celular.

O sucesso desses reagentes como indutores do estresse se dá pelo fato de ambos diminuírem o potencial osmótico do meio de cultura e não serem metabolizados pelas plantas. Porém, é preciso atentar-se para a concentração ideal dos indutores para que as mesmas sejam capazes de discriminar os genótipos tolerantes e sensíveis de acordo com parâmetros de crescimento, sem causar danos letais para as plantas. A concentração ideal é aquela na qual nenhuma das variedades tenha parado completamente seu crescimento, mas tenham o reduzido em relação ao seu controle (RUKUNDO et al., 2012). Em adicional, Matheka (2008) considerou como ideal para trabalhos de seleção de genótipos tolerantes a concentração que causou redução em torno de 50% do peso seco do tratamento em relação ao controle.

A redução de crescimento é um importante parâmetro para julgar a tolerância da planta ao estresse (BOUSLAMA e SCHAPAUGH, 1984). Como o crescimento está diretamente relacionado com o peso, a possível perda de peso da planta na condição de estresse é um parâmetro fundamental na discriminação dos genótipos tolerantes (VANHOVE et al., 2012). Outros parâmetros de crescimento, como altura, número de folhas e número de raízes são importantes e ajudam a entender o possível mecanismo de tolerância que a planta desenvolve na condição de estresse (RUKUNDO et al., 2012).

O estabelecimento de uma metodologia eficiente que simule as condições de déficit hídrico in vitro e possibilite discriminar genótipos de bananeira tolerantes e sensíveis à seca é de grande valia dentro dos programas de melhoramento genético da bananeira. Tendo em vista o longo ciclo e alto porte da cultura, com a metodologia in vitro se torna possível selecionar precocemente genótipos tolerantes à seca. Ainda que haja a necessidade de trabalhos posteriores de avaliações em campo e análises moleculares para confirmação da estabilidade genética dos materiais pré-selecionados, a metodologia in vitro permite economia de tempo, espaço e material vegetal.

Dessa forma, nesse trabalho objetivou-se determinar as concentrações adequadas dos indutores de déficit hídrico in vitro polietileno glicol (PEG) e sorbitol para seleção in vitro de genótipos de bananeira para tolerância ao déficit hídrico.

REFERÊNCIAS

ALVES, E.J.; OLIVEIRA, M.A. Práticas culturais. In: ALVES, E. J. (Org.). *A cultura da Banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais*. 2.ed. **Revista Brasília: Embrapa – SPI/ Embrapa-CNPMF**, p. 335 – 352, 1999.

AMORIM, E.P; REIS, R.V; SANTOS-SEREJO, J.A; AMORIM, V.B.O; SILVA, S.O. Variabilidade genética estimada entre diplóides de banana por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1045-1052, 2008.

BANANUKA, J.A.; RUBAIHAYO, P.T.; TENYWA, M.M. Reactions of *Musa* genotypes to drought stress. **African Crop Science Journal**, v. 7, p. 333-339, 1999.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 24, p. 23-58, 2005.

BIDABADI, S.S.; MEON, S.; WAHAB, Z.; SUBRAMANIAM, S.; MAHMOOD, M. In vitro selection and characterization of water stress tolerant lines among ethylmethanesulphonate (EMS) induced variants of banana (*Musa* spp., with AAA genome). **Australian Journal of Crop Science**, v.6, p.567-575, 2012.

BISWAS, J.; CHOWDHURY, B.; BHATTACHARYA, A.; MANDAL, A.B. In vitro screening for increased drought tolerance in rice. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v.38, p.525 – 530, 2002.

BLUM, A. Crop Plant Water Relations, Plant Stress and Plant Production. In: **Plant Breeding for Water-Limited Environments**. New York: Springer, 2011. p.11-45.

BOUSLAMA, M.; SCHAPAUGH, W.T. Stress tolerance in soybeans. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. **Crop Science**, v.24, p.933–937, 1984.

BOYER, J.S. Plant productivity and environment. **Science**, v.218, p.443-448, 1982.

BRAY, E.A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, v.2, p.48-54, 1997.

CANCADO, G.M.A.; RIBEIRO, A.P.; FEITAS, G.F.; PASQUAL, M. Cultivo de plantas in vitro e suas aplicações. **Informe Agropecuário**, v.30, p.64-74, 2009.

CARPITA, N., SABULARSE, D.; MONTEZINOS, D.; DELMER, D.P. Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. **Science**, v.205, p.1144–1147, 1979.

CARR, M.K.V. The water relations and irrigation requirements of banana (*Musa* spp.). **Experimental Agriculture**, v.45, p.333 – 371, 2009.

CHEESMAN, E. E. Classification the bananas. III. Critical notes on species (c) *M. paradisiaca*, *M. sapientum*. **Kew Bulletin**, v.2, p.147-153, 1948.

CHRISTOFIDIS, D. **O futuro da irrigação e a gestão das águas**. Série Irrigação e Água: I. Ministério da Integração Nacional, Secretaria de Infra-Estrutura Hídrica, Departamento de Desenvolvimento Hidroagrícola, 2008.

CLAEYS, H.; INZÉ, D. The Agony of Choice: How Plants Balance Growth and Survival under Water-Limiting Conditions. **Plant Physiology**, v.162, p.1768–1779, 2013.

COELHO, E.F.; DONATO, S.L.R.; OLIVEIRA, P.M.; CRUZ, A.J.S.; Relações hídricas II: evapotranspiração e coeficientes de cultura. In: Coelho, E. F. (ed.). **Irrigação da bananeira**. Brasília, DF: Embrapa, 2012a. 280 p.

DITA, M.A; RISPAIL, N.; PRATS, E.; RUBIALES, D.; SINGH, K.B. Biotechnology approaches to overcome biotic and abiotic stress constraints in legumes. **Euphytica**, v.147, p.1 – 24, 2006.

DONATO, S.L.R.; ARANTES, A.M.; SILVA, S.O.; CORDEIRO, Z.J.M. Comportamento fitotécnico da 'Prata-Anã' e de seus híbridos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.1608-1615, 2009.

DONATO, S.L.R.; COELHO, S.F.; MARQUES, P.R.R.; ARANTES, A.M.; SANTOS, M.R.; OLIVEIRA, P.M. Ecofisiologia e eficiência de uso da água em bananeira. In: Reunião Internacional da Associação para a Cooperação em Pesquisa e Desenvolvimento Integral das Musáceas (Bananas e Plátanos), 20. 2013, Fortaleza, CE.

DRAGIISKA, R.; DJILIANOV, D.; DENCHEV, P.; ATANASSOV, A. In vitro selection for osmotic tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v.22, p.30 – 39, 1996.

EBRAHIM M.K.H, IBRAHIM I.A, EMARA H.A, KOMOR E. Impact of polyethylene glycol – induced water stress on growth and development of shoot tip cultures from different banana (*Musa spp.*) cultivares. **Journal of Applied Horticulture**, v.8, p. 53 – 57, 2006.

EBRAHIM, M.K.H. Comparison, determination and optimizing the conditions required for rhizome and shoot formation, and flowering of in vitro cultured calla explants. **Scientia Horticulturae**, v.101, p.305-313, 2004.

EBRAHIM, M.K.H; IBRAHIM, I. Influence of medium solidification and pH value on in vitro propagation of *Maranta leuconeura* cultivar. Kerchoviana. **Scientia Horticulturae**, v.86, p.211-221, 2000.

FERREIRA, L.G.R. **Fisiologia Vegetal: relações hídricas**. Fortaleza, EUFC, 1992. 138p.

FREITAS, W.S.; RAMOS, M.M.; COSTA, S.L. Demanda de irrigação da cultura da banana na bacia do Rio São Francisco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, p.343–349, 2008.

GERDAY, C.; GLANSDORFF, N. Physiology and Biochemistry of Extremophiles. **American Society for Microbiology**, p.223-256, 2007.

GEORGE, E.F. Plant tissue culture techniques. In: **Plant propagation by tissue culture**. Part 1: The technology, p.3-36, 1993.

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

HASEGAWA, H.I.M. Induction and selection of hydroxy-L-proline-resistant mutants in rice (*Oryza Sativa* L). **Ikushugaku Zasshi**, v.33, p.275-282, 1983.

HENCKEL, P.A. Physiology of plants under drought. **Annual Review of Plant Physiology**, v.15, p.363–386, 1965.

HENRY, I; CARPENTIER, S.C; PAMPUROVA, S; HOYLANDT, A.V; PANIS, B; SWENNEN, R; REMY, S. **Planta**, v.234, p.785-798, 2001

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, v.29, p.1-79, 2016.

JAIN, S.M. Tissue culture – derived variation in crop improvement. **Euphytica**, v.118, p.153 – 166, 2001.

JAIN, S.M. A review of induction of mutations in fruits of tropical and subtropical regions. **Acta Horticulturae**, v.575, p.295-302, 2002.

JENNY, C.F.; CARREEL, F.; TOMEKPE, K.; PERRIER, X.; DUBOIS, C.; HORRY, J.P.; MONTCEL, H.T. Les bananiers. In: HAMON, P.; SEGUIN, M.; PERRIER, X.; GLAZMAN, J.C. (Ed). **Diversité génétique des plantes tropicales**. Montpellier: Cirad, 1999. p.113-139.

KARHU, S.T. Sugar use in relation to shoot induction by sorbitol and cytokinin in apple. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.122, p.476-480, 1997.

KARUNARATNE, S.; SANTHA, S.; KAVOORL, A. An in vitro assay for drought – tolerant coconut germplasm. *Euphytica*, v.53, p.25 – 30, 1991.

KIM, J.S; MIZOI, J; KIDOKORO, S; MARUYAMA, K; NAKAJIMA, J; NAKASHIMA, K; MITSUDA, N; TAKIGUCHI, Y; OHME-TAKAGI, M; KONDOU, Y. Arabidopsis growth-regulating factor7 functions as a transcriptional repressor of abscisic acid- and osmotic stress-responsive genes, including DREB2A. **Plant Cell**, v.24, p.3393–3405, 2012.

KUNZLER, M. Mudanças climáticas no Brasil. **Bread for all**, 2011.

LAWLOR, D.W. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v.64, p.83–108, 1970.

LUAN, Y.S.; ZHANG, J. GAO, X.R. Mutation induced by ethylmethanesulphonate (EMS), *in vitro* screening for salt tolerance and plant regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.88, p.77 – 81, 2007.

MARENGO, J.A.; ALVES, L.M.; BESERRA, E.A.; LACERDA, F.F. Variabilidade e mudanças climáticas no semiárido. In: MEDEIROS, S.S.; GHEY, H.R.G.; GALVÃO, C.O.; PAZ, V.P.S. (Ed.). **Recursos hídricos em regiões áridas e semiáridas**.Campina Grande: Instituto Nacional do Semiárido, 2011, p.383-422.

MATHEKA, J.M; MAGIRI, E.; RASHA, A.O.; MACHUKA, J. in vitro selection and characterization of drought tolerant somaclones of BRS Tropical maize (*zea mays* L.). **Biotechnology**, v.7, p.641-650, 2008.

MOHAMED, M.A.H.; HARRIS, P.J.C.; HENDERSON, J. *In vitro* selection and characterisation of a drought tolerant clone of *Tagetes minuta*, **Plant Science**, v.159, p.213 – 222, 2000.

NAKASHIMA, K; ITO, Y; SINOZAKI, K.Y. Transcriptional Regulatory Networks in Response to Abiotic Stresses in Arabidopsis and Grasses. **Plant Physiology**, v.149, p.88–95, 2009.

NEVES, D.M.; COELHO FILHO, M. A.; BELLETE, B.S.; SILVA, M. F. G. F.; SOUZA, D. T.; SOARES FILHO, W. S; COSTA, M. G. C.; GESTEIRA, A. S. Comparative study of putative 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase and abscisic acid accumulation in the responses of Sunki mandarin and Rangpur lime to water deficit. **Molecular Biology Reports**, publicação eletrônica, DOI: 10.1007/s11033-013-2634-z, 2013.

NOBRE, C.A.; Mudanças climáticas globais: possíveis impactos nos ecossistemas do país. **Parcerias estratégicas**, n.12, 2001.

OTONI, W.C; NETO, V.B.P. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter? **Scientia Horticulturae**, v.97, p.193–202, 2003.

PAZ, V.P.S.; TEODORO, R.E.F.; MENDONÇA, F.C. Recursos hídricos, agricultura irrigada e meio ambiente. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, p.465-473, 2000.

PENNISI, E. The Blue Revolution, Drop by Drop, Gene by Gene Plant genetics: the blue revolution, drop by drop, gene by gene. **Science**, v.320, p.171–173, 2008.

PREDIERI, S. Mutation induction and tissue culture in improving fruits. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.64, p.185-210, 2001.

PREDIERI, S.; DI VIRGILIO, N. (2007). In vitro mutagenesis and mutant multiplication. In: JAIN, S.M.; HAGGMAN, H (eds). **Protocols for micropropagation of woody trees and fruits**. Springer, p.323 – 333.

RAI, M.K.; KALIA, R.K.; SINGH, R.; GANGOLA, M.P.; DHAWAN, A.K. Developing stress tolerant plants through in vitro selection – An overview of the recent progress. **Environmental and Experimental Botany**, v.71, p.89 – 98, 2011.

RAVI, I. Y; UMA, S.; VAGANAN, M.M.; MUSTAFFA, M.M. Phenotyping bananas for drought resistance. *Frontiers in Physiology*. **Plant Physiology**, v.4, p.1-15, 2013.

ROBINSON, J.C.; GALÁN SAÚCO, V. **Bananas and plantains**. 2nd ed. Oxford: CAB International. 311p. (Crop production science in horticulturae series, 19).2010.

RUKUNDO, P; CARPENTIER, S.C; RONY, R. Development of in vitro technique to screen for drought tolerant banana varieties by sorbitol induced osmotic stress. **African Journal of Plant Science**, v.6, p.416-425, 2012.

SAMPAIO, A.H.R.; COELHO, M.A.; COELHO, E.F.; DANIEL, R.; MACHADO, V.V.; CARVALHO, G.C.; SANTANA, E.B. Deficit hídrico e secamento parcial do sistema radicular em pomar de lima ácida. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.45, p.1141-1148, 2010.

SANTOS, C.M.R.; MARTINS, N.F.; HÖRBERG, H.M.; ALMEIDA, E.R.P. de; COELHO, M.C. F.; TOGAWA, R.C.; SILVA, F.R. da; CAETANO, A.R.; MILLER, R.N. G.; SOUZA JÚNIOR, M.T. Analysis of expressed sequence tags from *Musa acuminata* ssp. *burmannicoides*, var. Calcutta 4 (AA) leaves submitted to temperature stresses. **TAG Theoretical and Applied Genetics**, v.110, p.1517-1522, 2005.

SHEPHERD, K. Banana: taxonomia e morfologia. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 1, 1984, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAVJ/UNESP, 1984. p. 50-74.

SHIKLOMANOV, I. A. Appraisal and assessment of world water resources: **Water International**. v. 25, p.11–32, 2000.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. **Plant Biology**, v.6, p.410–417, 2003.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Integrated Approaches to Sustain and Improve Plant Production under Drought Stress Special Issue. **Journal of Experimental Botany**, v.58, p.221–227, 2007.

SILVA, S. de O; AMORIM, E.P; SANTOS-SEREJO, J.A; BORGES, A.L. Cultivares. In: FERREIRA, C.F.; SILVA, S.O.; AMORIM, E.P.; SANTOS-SEREJO, J.A. Ed(s). **O agronegócio da bananeira**. Brasília: 2016. p.137-170.

SILVA, S. de O; AMORIM, E.P; SANTOS-SEREJO, J.A; CORDEIRO, Z.J.M. Variedades. In: BORGES, A.L.; SOUZA, L.S. Ed(s). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: 2004. p.45-57.

SILVA, S. de O; AMORIM, E.P; SANTOS-SEREJO, J.A; FERREIRA, C.F; RODRIGUEZ, M.A.D. Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.919-931, 2013.

SILVA, S. de O; MORAIS, L.S.; SANTOS-SEREJO, J.A. Melhoramento genético de bananeira para resistência a doenças. In: ROMÃO, R.L.; RAMOS, S.R.R. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais no Estado da Bahia**. Feira de Santana: UEFS, 2005. p.49-67.

SILVEIRA, M.M.; JONAS, R. The biotechnological production of sorbitol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.59, p.400-8, 2002.

SIMMONDS, N.W. (1973). **Bananas**. London: Longmans.

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

SOTO BALLESTERO, M. **Bananos: técnicas de producción, poscosecha y comercialización**. 3.ed. San José: Litografía e Imprensa LIL, 2008. 1 CD-ROM.

SUTCLIFFE, J. F. **As plantas e a água**, Epu/Edusp, São Paulo. 1980. 126p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TARDIEU, F.; PARENT, B.; SIMONNEAU T. Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non-hydraulic processes? **Plant, Cell and Environment**, v.33, p.636-647, 2010.

THOMAS, D.S.; TURNER, D.W. Leaf gas exchange of droughted and irrigated banana cv. Williams (Musa spp.) growing in hot, arid conditions. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.73, p.419-429, 1998.

TURNER, D.W.; THOMAS, D. S. Measurement of plant and soil water status and their association with leaf gas exchange in banana (Musa spp): a laticiferous. **Scientia Horticulturae**, v.77, p.177–193, 1998.

TURNER, D.W.; FORTESCUE, J.A.; THOMAS, D.S. Environmental physiology of the bananas (Musa spp.) **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.19, p.463-484, 2007.

UMEZAWA, T. FUJITA, M.; FUJITA, Y. SHINOZAKI, K.Y.; SHINOZAKI, K. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. **Current Opinion in Biotechnology**, v.17, p.113–122, 2006.

VAN ASTEN, P.J.A; FERMONT, A.M; TAULYA, G. Drought is a major yield loss factor for rainfed East African highland banana. **Agricultural Water Management**, v. 98, p.541-552, 2011.

VANHOVE, A.C.; VERMAELEN, W.; PANIS, B.; SWENNEN, R.; CARPENTIER, S.C. 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.1-10, 2012.

VERSULES, P.E.; ERIC, S.O.; ROBERT, E.S. Root Growth and Oxygen Relations at Low Water Potentials. Impact of Oxygen Availability in Polyethylene Glycol Solutions. **Plant Physiology**, v.116, p.1403–1412, 1998.

VERSLUES, P.E, AGARWAL, M. KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J. K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **Plant Journal**, v.45, p.523–539, 2006.

WANG, W.; VINO CUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, v. 218, p.1-14, 2003.

YADAV, P.V.; SUPRASANNA, P.; GOPALRAO, K.U.; ANANT, B.V. Molecular profiling using RAPD technique of salt and drought tolerant regenerants of sugarcane. **Sugar Tech**, v.8, p.63– 68, 2006.

CAPÍTULO 1

SIMULAÇÃO DE DÉFICIT HÍDRICO IN VITRO PARA SELEÇÃO DE BANANEIRAS TOLERANTES À SECA

Pesquisa Agropecuária Brasileira

SIMULAÇÃO DE DÉFICIT HÍDRICO IN VITRO PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA TOLERANTES À SECA

RESUMO: A bananeira é uma planta com elevado e contínuo consumo de água. A deficiência hídrica afeta severamente o crescimento e produção da cultura, e a tendência é que os efeitos desse estresse sejam intensificados devido às mudanças climáticas. Nesse trabalho objetivou-se determinar as melhores concentrações dos indutores de déficit hídrico in vitro polietileno glicol (PEG) e sorbitol, mediante avaliação do crescimento in vitro de duas cultivares de bananeira, BRS Tropical e Prata Anã. Plantas cultivadas em meio de cultura MS semissólido por 50 dias, foram cortadas a uma altura de 3,0 cm, tendo suas folhas retiradas e mantendo três raízes com aproximadamente 1,0 cm de comprimento. Posteriormente, os explantes foram transferidos para meio MS líquido, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose e 4 mg L⁻¹ de BAP, suplementado com 15, 30, 45 e 60 g L⁻¹ de polietileno glicol (PEG) ou 18,2; 36,4; 54,6 e 72,8 g L⁻¹ de sorbitol. Os mesmos foram mantidos em sala de crescimento e tiveram os meios de cultura renovados a cada 15 dias, com avaliações de altura da planta, peso fresco, número de raízes e número de folhas, durante 60 dias. Aos 60 dias foi avaliado também o peso seco e determinada a relação de peso seco dos tratamentos em relação ao controle (Índice de Estabilidade de Rendimento de matéria seca, IERms). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2x5. Em relação ao indutor PEG, as plantas de ambos os genótipos tiveram seu crescimento afetado, apresentando redução de mais de 50% da massa seca em relação ao seu controle (IERms < 0,5) já na menor contração empregada. Com o indutor sorbitol, ocorreu diminuição do IERms à medida que se aumentou a sua concentração no meio de cultura. No entanto, comparando-se os dois indutores, as médias de IERms quando se utilizou o sorbitol foram superiores aquelas obtidas com o PEG, indicando que o PEG afeta mais severamente o crescimento in vitro das plantas. As cultivares BRS Tropical e Prata Anã não apresentam comportamentos contrastantes no cultivo sob estresse hídrico in vitro. Os resultados sugerem que tanto o PEG quanto o sorbitol são promissores na seleção in vitro de plantas de bananeira tolerantes ao estresse hídrico e que a duração de 30 dias de cultivo sob condição in vitro de estresse hídrico, em meio contendo 15 g L⁻¹ de PEG ou 36,4 g L⁻¹ de sorbitol, é o suficiente para simular a condição de estresse e selecionar os genótipos tolerantes.

Palavras-chave: Germoplasma; *Musa spp.*; tolerância à seca

IN VITRO SIMULATION OF WATER DEFICIT FOR SELECTION OF DROUGHT TOLERANT BANANA GENOTYPES

Abstract: The banana tree is a plant with high and continuous water consumption. Water deficiency severely affects the growth and production of the culture and due to climate change, the trend is that the effects of this stress should be stepped up. The objective of this study was to determinate the suitable concentration of in vitro osmotic inducer, polyethylene glycol (PEG) and sorbitol, through the in vitro growth evaluation of two banana cultivars, BRS Tropical and Prata Anã. Plants cultivated on MS semi-solid culture medium for 50 days, well-developed and uniform, were cut to a height of 3.0 cm, having their leaves removed and keeping three roots with approximately 1.0 cm long. After, the explants were transferred for a MS liquid medium supplemented with 30 g L⁻¹ sucrose, 4 mg L⁻¹ benzylaminopurine and 15, 30, 45 and 60 g L⁻¹ polyethylene glycol (PEG) or 18,2; 36,4; 54,6 and 72,8 g L⁻¹ sorbitol. They were kept in growth room and their culture media were renewed every 15 days, with evaluation of plant height, weight, number of roots and number of leaves until the 60 days. The experimental design was completely randomized with a 2x5 factorial scheme. Regarding PEG inducer, plants of both genotypes had their growth affected, showing reduction of more than 50 % of the dry mass compared to its control (IERms < 0.5) already in the lowest concentration employed. With sorbitol inducer occurred a decrease of IERms as it increased its concentration in the culture medium. However, comparing the two inductors, the average of IERms when using sorbitol were higher than those obtained with PEG, indicating that PEG affects most severely the in vitro growth of plants. The cultivars BRS Tropical and Prata Anã do not show contrasting behavior in cultivation under in vitro water stress. The results suggest that both PEG as sorbitol are promising in vitro selection of water stress tolerant banana plants and that the duration of 30 days of cultivation under conditions in vitro water stress in medium containing 15 g L⁻¹ PEG or 36.4 g L⁻¹ of sorbitol, is enough to simulate the stress condition and select tolerant genotypes.

Keywords: Drought tolerance; germoplasm; *Musa spp.*

INTRODUÇÃO

Dentre os fatores limitantes da cultura da bananeira destaca-se o déficit hídrico (RUKUNDO et al., 2012; VANHOVE et. al., 2012). No contexto das mudanças climáticas e conservação dos recursos hídricos e tendo em vista que a irrigação representa cerca de 69% da água consumida no mundo (SAMPAIO, 2010) fica evidente a necessidade por estratégias alternativas para enfrentar o problema da falta de água. A busca por genótipos mais eficientes no uso da água, com maior capacidade de ajustamento osmótico e de controle estomático (DONATO, 2013), através dos programas de melhoramento genético, tem sido considerada como uma das estratégias mais eficientes e econômicas para enfrentar o problema da seca (UMEZAWA, 2006).

Ao avaliar cultivares comerciais de bananeira diante da imposição da deficiência hídrica por secamento contínuo do solo usando variáveis fisiológicas (temperatura da folha, condutância estomática, transpiração e densidade de raízes), Moreira et al. (2013) concluíram que o genótipo BRS Tropical (AAAB) responde melhor as condições de estresse hídrico, em comparação com o genótipo Prata Anã (AAB). Acredita-se que as cultivares de bananeira que apresentam o genoma B em sua constituição sejam mais tolerantes à seca do que aquelas que contêm somente o genoma A (SIMMONDS, 1966; THOMAS et al., 1998; ROBINSON E SAUCO, 2010).

Os trabalhos de seleção de genótipos de bananeira tolerantes à seca realizados em campo são dificultados pelo longo ciclo da cultura e pela necessidade de grandes áreas devido ao alto porte das plantas. Assim, a seleção *in vitro* é vantajosa em relação à convencional por ser mais rápida, necessitar de menor volume de material vegetal, possibilitar rápida multiplicação dos genótipos selecionados (TEISSON, 1989; CANCADO et al., 2009), além de proporcionar condições controladas e sucesso na detecção de diferenças na redução de crescimento (VANHOVE, 2012).

Diversos estudos têm utilizado o polietileno glicol e sorbitol como indutores de estresse hídrico em diversas espécies vegetais, inclusive a bananeira (VANHOVE, 2012; BIDABADI, 2012). O sorbitol é um soluto normalmente não metabolizado pelas plantas e o PEG é um polímero de cadeia longa não permeável (RUKUNDO et al., 2012).

O sucesso desses solutos como indutores do estresse se dá pelo fato de ambos diminuírem o potencial osmótico do meio de cultura e não serem metabolizados pelas plantas. No entanto, é preciso atentar-se para a concentração ideal dos indutores para que as mesmas sejam capazes de discriminar os genótipos tolerantes e sensíveis de acordo com parâmetros de crescimento, sem causar danos letais para as plantas. A concentração ideal é aquela na qual nenhuma das cultivares tenha parado completamente seu crescimento, mas o tenham reduzido em relação ao seu controle (RUKUNDO et al., 2012). A concentração capaz de causar redução em torno de 50% da massa seca do tratamento em relação ao controle tem sido considerada adequada para trabalhos de seleção de genótipos tolerantes (MATHEKA, 2008).

A redução de crescimento é um importante parâmetro para julgar a tolerância da planta ao estresse (BOUSLAMA e SCHAPAUGH, 1984). Como o crescimento está diretamente relacionado com a massa, a possível perda de massa da planta na

condição de estresse é um parâmetro fundamental na discriminação dos genótipos tolerantes (VANHOVE et al., 2012). Outros parâmetros de crescimento, como altura, número de folhas e número de raízes são importantes e ajudam a entender o possível mecanismo de tolerância que a planta desenvolve na condição de estresse (RUKUNDO et al., 2012).

No estudo realizado por Bidabadi et al. (2012) utilizando dois genótipos de banana 'Berangan Intan' (AAA) e 'Berangan' (AAA), foram testadas diferentes concentrações de polietileno glicol 6000 e foi constatado que a mais indicada para simulação de estresse hídrico in vitro de bananeira é de 30 g L⁻¹. Rukundo et al. (2012) investigaram a tolerância ao déficit hídrico de genótipos de bananeira de diferentes grupos genômicos (Banksii AA, *Musa laterita*, Cachaco ABB, Lep Chang Kut BBB, Mbwazirume AAA, Obino l'Ewai AAB-P, Popoulou AAB, Williams AAA), mediante a simulação de condições de déficit hídrico in vitro utilizando o sorbitol como indutor e consideraram a concentração de 0,2 M de sorbitol a mais indicada.

No entanto, não existem estudos relacionados com as cultivares Prata Anã (AAA) e BRS Tropical (AAAB). A Prata-Anã configura entre as variedades mais cultivadas e comercializadas no Brasil, sendo que no semiárido nordestino aproximadamente 95% das áreas estão sendo cultivadas com bananas tipo 'Prata Anã' (DONATO, 2009). Já a BRS Tropical tem sido relatada com certa tendência à ser tolerante à seca (COELHO et al., 2006c.; COELHO et al., 2009). Portanto é importante e necessário o estabelecimento de uma metodologia adequada para estudos de simulação de déficit hídrico in vitro em relação à essas cultivares.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi determinar as concentrações dos indutores de estresse osmótico, polietileno glicol e sorbitol, que melhor simulem as condições de déficit hídrico in vitro e permitam a seleção precoce de genótipos de bananeira tolerantes à seca.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

No experimento foram utilizadas plantas in vitro das cultivares de bananeira BRS Tropical (genoma AAAB, híbrido resultante do cruzamento entre Yangambi N.2 e o diploide M53, gerado pelo programa de melhoramento da Embrapa) e Prata Anã (genoma AAB) fornecidas pela Biofábrica Campo, localizada na Embrapa Mandioca e Fruticultura. A escolha dessas cultivares baseou-se em suas importâncias econômicas e no estudo de Moreira et al. (2013) que indicou tais genótipos como contrastantes, sendo a BRS Tropical tolerante e a Prata Anã sensível à seca.

Antes de iniciar o experimento, plantas dos dois genótipos foram cultivadas in vitro a fim de se selecionar aquelas com o mesmo nível de desenvolvimento. Para tanto utilizou-se meio de cultura semissólido para enraizamento, constituído de sais MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 1,8 g L⁻¹ de Phytigel. O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem por 20 minutos em uma temperatura de 120°C. Após serem inoculadas no meio para enraizamento, as plantas foram mantidas em sala de crescimento por 50 dias na presença de luz (intensidade luminosa de 36 μMol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo 16h luz) e temperatura de 25±2°C.

Tratamentos

O método utilizado para a determinação da melhor concentração do indutor de estresse hídrico in vitro foi baseada nos estudos de Vanhove et al. (2012) e Rukundo et al. (2012).

As plantas mais vigorosas e de crescimento uniforme (mantidas no meio de cultura para enraizamento por 50 dias) foram selecionadas e utilizadas como explantes. Essas foram cortadas a uma altura de 3,0 cm, tiveram suas folhas retiradas e foram mantidas três raízes de aproximadamente 1 cm de comprimento.

Os explantes foram transferidos para meio MS líquido, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose e 4 mg L⁻¹ de BAP, suplementado com diferentes concentrações de polietileno glicol ou sorbitol a fim de simular a condição de estresse hídrico in vitro. Para ambos os indutores, utilizou-se quatro diferentes concentrações: 15, 30, 45 e 60 g L⁻¹ de PEG₆₀₀₀ ou 18,2; 36,4; 54,6 e 72,8 g L⁻¹ de sorbitol. No tratamento controle as plantas foram mantidas em meio MS na ausência de indutores.

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 27 \pm 2°C. Os explantes tiveram os meios de cultura renovados a cada 15 dias.

Os potenciais osmóticos dos meios de cultura contendo PEG e sorbitol foram determinados de acordo com os estudos de Villela et al. (1991) e Rukundo et al. (2012), respectivamente.

Avaliações de crescimento

O experimento teve duração de 60 dias. A cada 15 dias os explantes foram avaliados quanto à altura de plantas, matéria fresca, número de folhas e número de raízes. As avaliações foram realizadas em câmaras de fluxo laminar mantendo-se as condições de assepsia. Ao final dos 60 dias, realizou-se a medida da matéria seca tanto da parte aérea quanto das raízes após secagem em estufa a 70 \pm 2°C por 72 horas.

A identificação de genótipos que minimizam a redução de seu crescimento quando um estresse hídrico é aplicado foi a base para a seleção dos tolerantes e sensíveis à seca (RUKUNDO et al., 2012; VANHOVE et al., 2012). Dessa forma, a discriminação entre os materiais tolerantes e sensíveis foi realizada com base no Índice de Estabilidade do Rendimento de matéria seca (IERms) (BOUSLAMA; SCHAPAUGH, 1984), cuja fórmula é: $\text{IERms} = \text{Re}/\text{Ri}$, onde, Re e Ri são, respectivamente, as matérias secas de cada genótipo cultivado sob estresse e sem estresse. Assim, quanto maior o IERms maior será a tolerância à seca.

O Índice de Estabilidade de matéria Fresca (IERmf) foi calculado de forma semelhante ao Índice de Estabilidade de matéria seca (IERms), utilizando-se no entanto, a massa fresca de cada genótipo cultivado sob estresse e sem estresse.

Delineamento e análise experimental

Realizou-se dois experimentos, sendo um para cada indutor. Cada experimento constou de 5 tratamentos (4 concentrações de polietileno glicol ou 4 de sorbitol e um controle) e 2 genótipos (Prata Anã e BRS Tropical). Cada tratamento constou de 36 repetições. Os dados foram submetidos ao teste F da análise de variância ($p \leq 0,05$). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para análise dos dados relativos às variáveis IERms, altura, número de

folhas e número de raízes foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado no esquema fatorial 5x2. Para a variável matéria fresca (mensurados a cada 15 dias) considerou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas no tempo. As médias dos tempos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2014).

RESULTADOS

Indução de estresse osmótico em bananeiras cultivadas in vitro

A adição do polietileno glicol ou sorbitol alterou o potencial osmótico do meio de cultura (Tabela 1), havendo uma relação entre a concentração dos indutores e o potencial osmótico do meio de cultura, uma vez que este diminuiu à medida que a concentração dos indutores aumentou. Entretanto, a maior concentração de PEG testada (60 g L⁻¹) promoveu potencial osmótico mais elevado que a menor concentração de sorbitol utilizada (18,2 g L⁻¹).

Tabela 1. Potenciais osmóticos os diferentes meios de cultura utilizados suplementados com sorbitol e polietileno glicol (PEG).

Composição do meio de cultura	Ψs (Mpa)
MS + 30 g L ⁻¹ sacarose + 4 mg L ⁻¹ BAP	-0,3700
MS + 30 g L ⁻¹ sacarose + 4 mg L ⁻¹ BAP + 15 g L ⁻¹ PEG	-0,3794
MS + 30 g L ⁻¹ sacarose + 4 mg L ⁻¹ BAP + 30 g L ⁻¹ PEG	-0,3932
MS + 30 g L ⁻¹ sacarose + 4 mg L ⁻¹ BAP + 45 g L ⁻¹ PEG	-0,4113
MS + 30 g L ⁻¹ sacarose + 4 mg L ⁻¹ BAP + 60 g L ⁻¹ PEG	-0,4337
MS + 30 g L ⁻¹ sacarose + 4 mg L ⁻¹ BAP + 18,2 g L ⁻¹ sorbitol	-0,6300
MS + 30 g L ⁻¹ sacarose + 4 mg L ⁻¹ BAP + 36,4 g L ⁻¹ sorbitol	-0,8500
MS + 30 g L ⁻¹ sacarose + 4 mg L ⁻¹ BAP + 54,6 g L ⁻¹ sorbitol	-1,1700
MS + 30 g L ⁻¹ sacarose + 4 mg L ⁻¹ BAP + 72,8 g L ⁻¹ sorbitol	-1,3200

A avaliação das plantas em termos de crescimento levando-se em conta os parâmetros matéria fresca, altura, número de folhas e número de raízes revelou que as cultivares apresentaram padrões de crescimento distintos quando cultivadas no meio controle, uma vez que trata-se de genótipos diferentes, inclusive em relação às suas ploidias. Portanto, os dados de crescimento bruto nos meios de cultura estressados não são comparáveis. Esses dados foram padronizados em termos de redução devido ao estresse osmótico (RUKUNDO, 2012) seguindo a fórmula: $Y_i = y_i / \mu$, onde Y_i : redução devido ao estresse osmótico para cada amostra de planta, y_i : valor quantitativo do parâmetro de crescimento para cada planta crescida no meio estressado, e μ : média do parâmetro de crescimento para as plantas crescidas no meio controle.

Efeito do polietileno glicol no crescimento in vitro das cultivares de banana BRS Tropical e Prata Anã

Os efeitos do estresse osmótico induzido pelo polietileno glicol (PEG) foram investigados para determinar a concentração do PEG que poderia ser usada para simular a condição de seca no processo de seleção in vitro.

Os valores do Índice de Estabilidade de Rendimento de matéria seca (IERms), utilizando-se como indutor de déficit hídrico o polietileno glicol são apresentados na Figura 1. A análise de variância dos dados indicou que há diferença significativa entre as concentrações testadas, a 1% de probabilidade pelo teste de F.

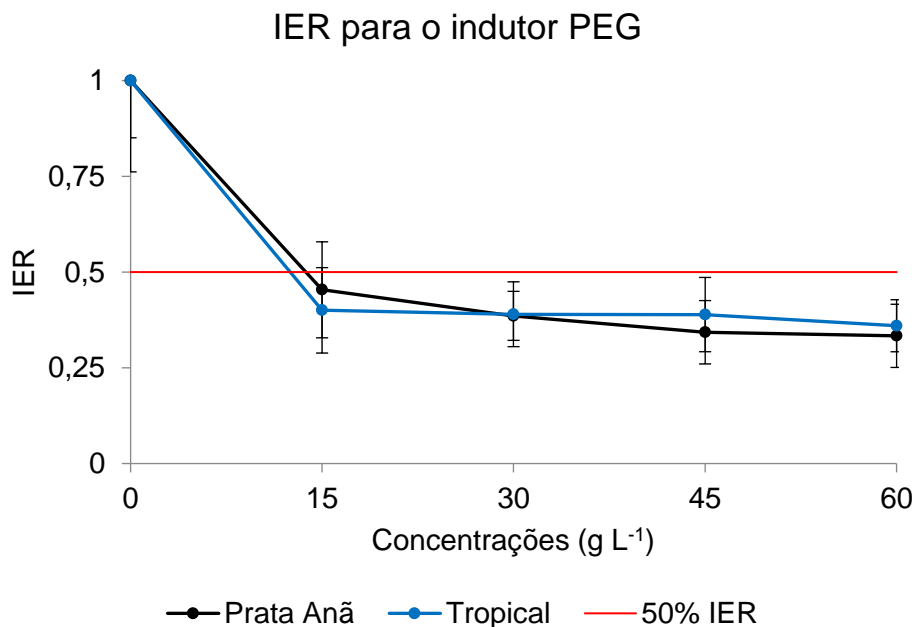


Figura 1. Índice de estabilidade de rendimento de matéria seca (IERms) para as cultivares de banana BRS Tropical e Prata Anã após 60 dias de cultivo in vitro em meio com diferentes concentrações de PEG.

Os dados indicam que as plantas tiveram seu crescimento afetado, apresentando redução de mais de 50% da matéria seca em relação ao controle já na menor concentração empregada (15 g L⁻¹). Comparando-se os dois genótipos, Prata Anã e BRS Tropical, verifica-se que os mesmos apresentaram comportamento semelhante, não havendo diferença estatística significativa entre eles em nenhuma das concentrações utilizadas (Figura 1).

O fato de ambos os genótipos terem reduzido a sua matéria seca em relação ao controle em mais de 50% indica que na condição in vitro, e utilizando-se o PEG como indutor do déficit hídrico, os genótipos apresentaram baixo grau de tolerância ao estresse osmótico. Para ambos os genótipos foi possível discriminar plantas cultivadas nos meios contendo potencial osmótico reduzido pela presença de PEG daquelas cultivadas no meio controle, no entanto, não foi observado comportamento distinto entre os genótipos (Figura 1).

Verificou-se ainda, que não há necessidade de utilizar concentrações mais elevadas do PEG para simular a condição de déficit hídrico in vitro, já que mesmo na concentração mais baixa (15 g L⁻¹) houve redução no crescimento das plantas discriminando-as do controle, e que acima de 30 g L⁻¹ não foi observada diferença entre os tratamentos (Figura 1).

A análise de variância dos dados padronizados dos parâmetros de crescimento altura da planta, número de folhas e número de raízes, utilizando-se o PEG como indutor de estresse osmótico, mostrou que não houve interação significativa entre

os genótipos e os tratamentos. Mesmo assim procedeu-se o desdobramento da interação dos fatores (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros de crescimento in vitro das plantas de bananeira BRS Tropical e Prata Anã com 60 dias de cultivo sob diferentes concentrações de PEG em relação às plantas controle.

Concentração (g L ⁻¹)	Prata Anã	BRS Tropical
Altura da planta (cm)		
15	0,568 Aa	0,525 aA
30	0,510 abA	0,393 bB
45	0,465 bA	0,396 bB
60	0,474 bA	0,339 bB
Número de folhas		
15	0,689 aB	0,802 aA
30	0,563 abA	0,614 bA
45	0,516 bA	0,523 bA
60	0,488 bA	0,496 bA
Número de raízes		
15	0,511 aB	0,624 aA
30	0,493 aB	0,696 aA
45	0,524 aB	0,684 aA
60	0,376 bB	0,609 aA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Em relação a altura, verificou-se que para ambos os genótipos, conforme a concentração do PEG aumentou a altura das plantas diminuiu (Tabela 2 e Figura 2). A cultivar Prata Anã apresentou menor redução nas menores concentrações (15 e 30 g L⁻¹), sendo que não houve diferença significativa entre elas. A partir da concentração 30 g L⁻¹ a cultivar obteve os menores valores, apresentando as maiores reduções, sem haver diferença significativa entre eles. A cultivar BRS Tropical apresentou menor redução na menor concentração utilizada (15 g L⁻¹). A partir da concentração 30 g L⁻¹ a cultivar não apresentou diferença significativa para este parâmetro, tendo nessas concentrações os menores valores. Comparando-se as duas cultivares, a altura da Prata Anã foi superior à da BRS Tropical em todas as concentrações, exceto com 15 g L⁻¹ de PEG (Tabela 2).

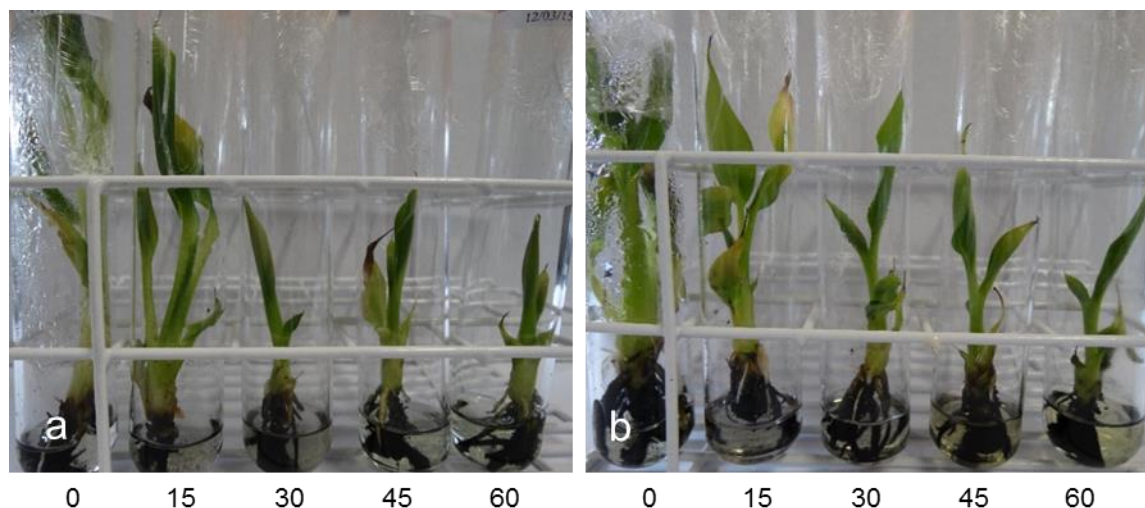


Figura 2. Crescimento in vitro de plantas das cultivares BRS Tropical (a) e Prata Anã (b) após 45 dias nos meios de cultura com 0, 15, 30, 45 e 60 g L⁻¹ de PEG.

Em relação ao número de folhas, verificou-se que para ambos os genótipos, após 30 g L⁻¹ não houve diferença significativa entre os tratamentos. Além disso, não houve diferença significativa entre as cultivares, exceto para a menor concentração utilizada (15 g L⁻¹), na qual a BRS Tropical foi superior (Tabela 2).

Para o número de raízes, verificou-se que, tanto para a cultivar Prata Anã quanto para a BRS Tropical, não houve diferença significativa entre as concentrações utilizadas. Comparando-se as duas cultivares, a BRS Tropical foi mais tolerante que a Prata Anã em todas as concentrações (Tabela 2).

Os valores do Índice de Estabilidade de matéria Fresca (IERmf) das plantas são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Índice de estabilidade de rendimento de matéria fresca (IERmf) para as cultivares de banana BRS Tropical e Prata Anã no decorrer de 15, 30, 45 e 60 dias de cultivo in vitro em meio com diferentes concentrações de PEG.

Concentração (g L ⁻¹)	Prata Anã			
	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
15	0,569 aA	0,426 aB	0,357 aC	0,291 aD
30	0,506 bA	0,376 abB	0,280 bC	0,217 bD
45	0,437 cA	0,329 bB	0,252 bC	0,211 bD
60	0,428 cA	0,323 bB	0,254 bC	0,196 bD
BRS Tropical				
	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
15	0,413 aA	0,366 aB	0,337 aBC	0,303 aC
30	0,417 aA	0,370 aB	0,341 aB	0,261 abC
45	0,413 aA	0,366 aB	0,345 aB	0,301 aC
60	0,392 aA	0,344 aB	0,311 aB	0,233 bC

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No decorrer dos tempos estudados (15, 30, 45 e 60 dias) a relação de matéria fresca dos tratamentos e do controle diminuiu. Isso se deve ao fato de que as plantas controles continuaram o seu crescimento de forma natural, enquanto que as plantas

dos tratamentos foram afetadas pelo estresse aplicado. Além disso, verificou-se que já nas primeiras avaliações (15 e 30 dias) houve redução em 50% ou mais no crescimento as plantas sob estresse em relação às controles (Tabela 3).

Efeito do sorbitol no crescimento in vitro das cultivares de banana BRS Tropical e Prata Anã

Os efeitos do estresse osmótico induzido pelo sorbitol foram investigados para determinar a concentração do sorbitol que poderia ser usada para simular a condição de seca no processo de seleção in vitro.

Os valores do Índice de Estabilidade de Rendimento de matéria seca (IERms), utilizando-se como indutor de déficit hídrico o sorbitol são apresentados na Figura 3. A análise de variância dos dados indicou que há diferença significativa entre as concentrações testadas. As cultivares BRS Tropical e Prata Anã tiveram seu desenvolvimento afetado, apresentando diminuição na relação de matéria seca dos tratamentos em relação ao controle (IERms), conforme aumentou-se as concentrações. No entanto, comparando-se os dois indutores, as médias de IERms utilizando-se o sorbitol foram superiores aquelas obtidas com o PEG (Figura 1).

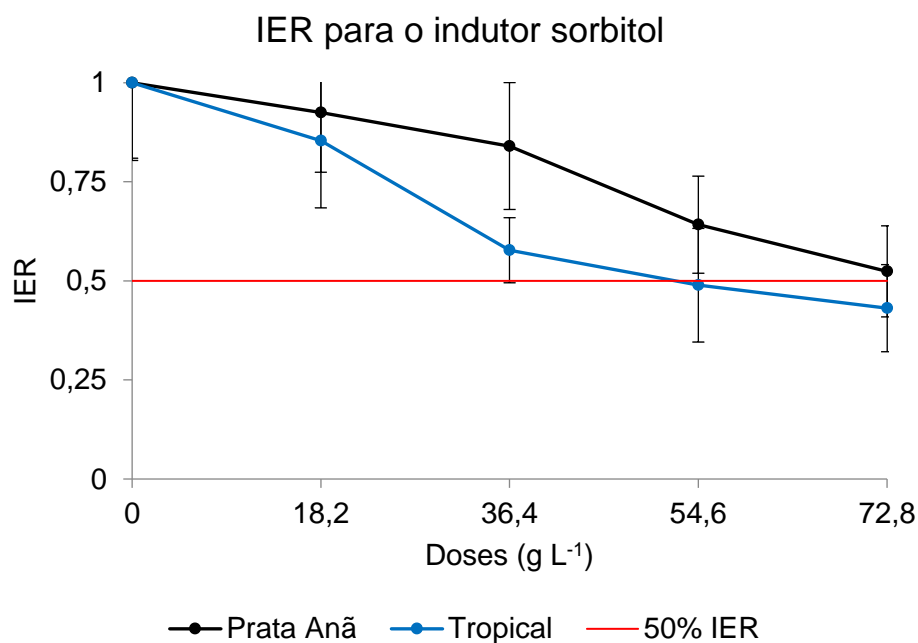


Figura 3. Índice de estabilidade de rendimento de matéria seca (IERms) para as cultivares de banana BRS Tropical e Prata Anã após 60 dias de cultivo in vitro em meio com diferentes concentrações de sorbitol.

Comparando-se os dois genótipos, a Prata Anã apresentou comportamento mais tolerante do que a BRS Tropical, com valores de IERms superiores em todas as concentrações empregadas. Destaca-se que na concentração 36,4 g L⁻¹ de sorbitol os genótipos apresentaram as médias mais discrepantes entre si, com diferença estatística significativa (Figura 3).

O sorbitol foi capaz de discriminar as plantas cultivadas no meio controle das cultivadas nos meios com diferentes potenciais osmóticos, no entanto, apenas na concentração 36,4 g L⁻¹ os genótipos foram discriminados entre si com relação à resposta ao estresse osmótico. Portanto, 36,4 g L⁻¹ de sorbitol foi considerada a

concentração adequada para estudos de seleção in vitro de genótipos de bananeira tolerantes a seca.

A análise de variância dos dados padronizados dos parâmetros de crescimento altura de planta, número de folhas e número de raízes utilizando-se o sorbitol como indutor de estresse osmótico mostrou que, com exceção da variável número de folhas, as demais não apresentaram interação significativa entre genótipo e tratamento. No entanto procedeu-se o desdobramento das interações dos fatores mesmo assim (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros de crescimento das plantas de bananeira Prata Anã e BRS Tropical após 60 dias de cultivo sob diferentes concentrações de sorbitol, em relação às plantas controle.

Concentração (g L ⁻¹)	Prata Anã	BRS Tropical
Altura da planta (cm)		
18,2	0,716 aA	0,561 aB
36,4	0,549 bA	0,383 bB
54,6	0,386 cA	0,313 bB
72,8	0,353 cA	0,346 bB
Número de folhas		
18,2	0,706 aA	0,754 aA
36,4	0,392 bB	0,470 bA
54,6	0,280 cA	0,261 cA
72,8	0,093 dA	0,051 dA
Número de raízes		
18,2	0,756 aA	0,607 aB
36,4	0,447 bA	0,373 bA
54,6	0,404 bA	0,333 bA
72,8	0,375 bA	0,404 bA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Analisando-se os dados do parâmetro altura da planta, verificou-se que para a cultivar Prata Anã, conforme a concentração do sorbitol aumentou a altura das plantas diminuiu. Para a cultivar BRS Tropical, a partir da concentração 36,4 g L⁻¹ não houve diferença significativa com relação a essa característica. A cultivar Prata Anã apresentou menor redução na menor concentração utilizada (18,2 g L⁻¹), sendo seguida pela concentração 36,4 g L⁻¹. A partir da concentração 54,6 g L⁻¹ a cultivar não apresentou diferença significativa para esse parâmetro, tendo nessas concentrações as maiores reduções. A cultivar BRS Tropical apresentou menor redução na menor concentração utilizada (18,2 g L⁻¹). Comparando-se as duas cultivares, a Prata Anã apresentou maior altura de plantas que a BRS Tropical, em todas as concentrações utilizadas (Tabela 4, Figura 4).

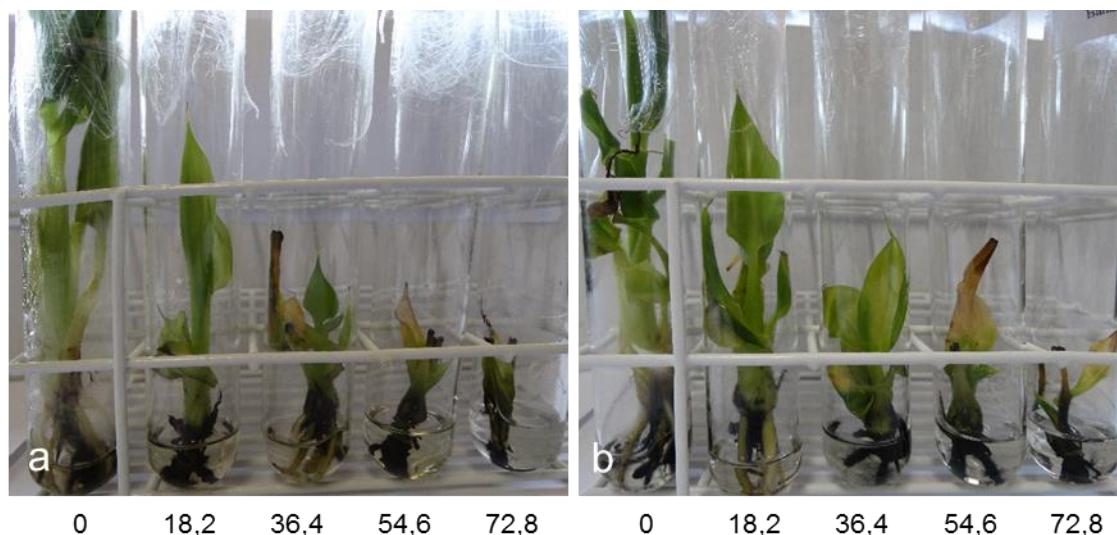


Figura 4. Crescimento in vitro das cultivares de banana BRS Tropical (a) e Prata Anã (b) 60 dias após cultivo em meios contendo 0, 18,2, 36,4, 54,6 e 72,8 g L⁻¹ de sorbitol.

Em relação ao número de folhas, verifica-se que para ambos os genótipos, conforme a concentração do sorbitol aumentou o número de folhas das plantas diminuiu (Tabela 4). Comparando-se as duas cultivares, não houve diferença significativa entre elas, exceto na concentração 36,4 g L⁻¹, na qual a BRS Tropical foi superior.

Para o número de raízes, verificou-se que, tanto para a cultivar Prata Anã, quanto para a BRS Tropical, a partir da concentração 36,4 g L⁻¹ não houve diferença significativa com relação a esta característica. Comparando-se as duas cultivares, não houve diferença significativa entre elas, exceto na concentração 18,2 g L⁻¹, na qual a Prata Anã foi superior a BRS Tropical.

Os valores do Índice de Estabilidade de matéria fresca das plantas (IERmf) são apresentados na Tabela 5. Percebe-se que, independente do tempo analisado, o parâmetro de IERmf diminuiu conforme aumentou-se a concentração do sorbitol no meio de cultura, indicando mais uma vez a relação inversa entre crescimento da planta e o aumento da concentração do indutor de estresse hídrico. No decorrer dos tempos estudados, 15, 30, 45 e 60 dias, a relação de matéria fresca dos tratamentos e do controle diminuiu. Além disso, verificou-se que já nas primeiras avaliações (15 e 30 dias) houve redução em 50% ou mais no crescimento das plantas estressadas em relação às controles.

Tabela 5. Índice de estabilidade de rendimento de matéria fresca (IERmf) para as cultivares de banana Prata Anã e BRS Tropical no decorrer de 15, 30, 45 e 60 dias de cultivo in vitro em meio com diferentes concentrações de sorbitol.

Concentração (g L ⁻¹)	Prata Anã			
	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
18,2	0,495 aA	0,579 aB	0,588 aB	0,613 aB
36,4	0,444 aAB	0,473 bA	0,422 bB	0,374 bC
54,6	0,360 bA	0,376 cA	0,322 cB	0,287 cB
72,8	0,293 cA	0,300 dA	0,230 dB	0,186 dC
	BRS Tropical			
	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
18,2	0,571 aA	0,481 aC	0,529 aB	0,557 aAB
36,4	0,398 bA	0,327 bB	0,332 bB	0,299 bB
54,6	0,392 bA	0,260 cB	0,245 cB	0,206 cC
72,8	0,320 cA	0,223 cB	0,193 cBC	0,183 cC

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dois indutores, polietileno glicol e sorbitol induziram o estresse osmótico nas plantas (tabela 1), causando redução de crescimento de modo a discriminá-las de seus respectivos controles. No entanto, as maiores médias, para os dois genótipos avaliados, foram obtidas utilizando-se o sorbitol. O dado indica que o PEG afetou de forma mais severa o desenvolvimento das plantas, apesar do potencial osmótico causado pelo sorbitol ter sido mais negativo.

DISCUSSÃO

A utilização do meio de cultura líquido em detrimento do semissólido evitou uma provável contribuição do agente solidificante na diminuição do potencial osmótico do meio. Além disso, foi possível renovar o meio de cultura e realizar análises de crescimento a cada 15 dias sem causar danos aos explantes. A renovação do meio garantiu que os nutrientes estivessem sempre disponíveis nas concentrações recomendadas. Estudos têm defendido o uso de meio de cultura líquido em trabalhos de seleção in vitro de genótipos tolerantes ao déficit hídrico (EBRAHIM et al., 2006; EBRAHIM et al., 2004; EBRAHIM et al., 2000; RUKUNDO et al., 2012).

A escolha do indutor de estresse osmótico requer atenção especial e deve ser feita baseada na espécie estudada, já que pode ocorrer de o soluto ser absorvido e metabolizado pela planta em questão (KARHU, 1997; OTONI et al., 2003). Estudos bem sucedidos de seleção in vitro para tolerância à seca em bananeiras tem mostrado a utilização do polietileno glicol (PEG) e do sorbitol como agentes de seleção (EBRAHIM, et al., 2006; VANHOVE et al., 2012; BIDABADI, 2012; RUKUNDO et al., 2012; VAN ASTEN, 2011). O sucesso desses reagentes como indutores do estresse se dá pelo fato de ambos diminuírem o potencial osmótico do meio de cultura e não serem metabolizados pelas plantas.

O aumento da concentração do PEG e do sorbitol na solução do meio de cultura causou diminuição no potencial osmótico do meio e efeitos adversos no crescimento das plantas. O resultado está de acordo com diversos estudos de simulação de déficit hídrico in vitro que utilizaram esses indutores (GOPAL E IWAMA, 2007; BIDABADI et al., 2012; RUKUNDO et al., 2012; VANHOVE et al., 2012). Segundo George (1993),

a adição de componentes ao meio de cultura causa uma diminuição considerável no potencial osmótico do meio.

Quando o potencial osmótico do meio é maior que o potencial osmótico do tecido da planta, a água flui livremente do meio para o tecido vegetal. De forma análoga, se o potencial osmótico da planta for maior que o do meio, a planta tende a perder água, pois essa flui da planta para o meio (TAIZ; ZEIGER, 2013). Sabe-se que em solos secos, o potencial de água é menor ou igual ao potencial de água da planta. Dessa forma, tanto o PEG quanto o sorbitol mostraram-se eficientes na simulação in vitro da condição de seca.

A redução do crescimento é um importante parâmetro para julgar a tolerância da planta ao estresse (BOUSLAMA e SCHAPAUGH, 1984). Como o crescimento está diretamente relacionado com a massa, a possível perda de massa da planta na condição de estresse é uma análise fundamental e decisiva na discriminação dos genótipos tolerantes (VANHOVE et al., 2012). A redução da biomassa é consequência da redução da taxa fotossintética e do desvio de energia destinada ao crescimento para a ativação e manutenção de atividade metabólica associada à adaptação à seca como a manutenção da integridade das membranas, síntese de solutos orgânicos para a osmorregulação e/ou proteção de macromoléculas e a regulação do transporte e distribuição iônica em vários órgãos e dentro das células (MUNNS et al., 2002). Em adição, a altura, número de folhas e número de raízes são importantes e ajudam a entender o possível mecanismo de tolerância que a planta desenvolve na condição de estresse (RUKUNDO et al., 2012).

O estresse osmótico causado pelo PEG e sorbitol afetou o crescimento das plantas. A diminuição desses parâmetros em plantas submetidas à condição de estresse tem sido relatada em diversos estudos de tolerância a seca (DEBLONDE; LEDENT, 2001; TOURNEUX et al., 2003; LAHLOU; LEDENT, 2005), inclusive em bananeiras (MAHOUACHI, 2009; EBRAHIM, et al., 2006; VANHOVE et al., 2012; BIDABADI, 2012; RUKUNDO et al., 2012; VAN ASTEN, 2011). No entanto, varios autores sugerem que em condições de seca as plantas tendem a desenvolver um sistema de raízes mais forte e eficiente, sendo esse um forte indicador de tolerância à seca (DONATO, 2012; SANTANA et al., 2012; KULKARNI; PHALKE, 2009). Em nosso estudo, o sistema de raízes dos explantes foi fortemente afetado, assim como os demais parâmetros de crescimento, sugerindo que a hipótese anteriormente citada pode não ser verificada em condições in vitro. Em concordância com nossos resultados, Rukundo et al. (2012) verificaram que mesmo a cultivar Cachaco, que é considerada tolerante ao estresse hídrico, não apresentou sistema de raízes bem desenvolvido.

Ambos os indutores (PEG e sorbitol) foram capazes de induzir o estresse osmótico nas plantas, causando redução de crescimento de modo a discriminá-las de seus respectivos controles. No entanto, as maiores médias, para os dois genótipos avaliados, foram obtidas utilizando-se o sorbitol, indicando que o PEG afetou de forma mais severa o desenvolvimento das plantas. O estudo realizado por Plaut e Federman (1985) indica que o PEG pode conter componentes tóxicos que inibem o crescimento das plantas (PLAUT E FEDERMAN, 1985). No entanto, Lawlor (1970) evidenciou que os efeitos deletérios desse polímero ocorrem somente quando o mesmo penetra no tecido vegetal; por exemplo quando raízes são danificadas. Por outro lado, diversos estudos de simulação de estresse hídrico in vitro tem utilizado com sucesso o PEG como indutor do estresse, inclusive em banana (KARUNARATNE et al., 1991; DRAGIISKA et al., 1996; MOHAMED et al., 2000; BISWAS et al., 2002; EBRAHIM et al., 2006; YADAV et al., 2006; GOPAL e IWAMA, 2007; LUAN et al., 2007; RAI et al.,

2011; BIDABADI, 2012; RUKUNDO et al., 2012; VAN ASTEN, 2011). Portanto, apesar de nossos resultados indicarem que os genótipos de bananeira tiveram seu desenvolvimento afetado de forma mais severa com o uso do PEG em relação ao sorbitol, é preciso maiores investigações e estudos para afirmar que o sorbitol seja superior ao PEG e portanto mais indicado para estudos de simulação de estresse osmótico in vitro.

A definição das concentrações dos indutores a serem utilizadas em estudos de seleção in vitro de genótipos tolerantes é crucial para o sucesso do estudo. Rukundo et al. (2012), consideraram ideal a concentração na qual nenhuma das cultivares testadas tenha parado completamente seu crescimento, mas tenham o reduzido em relação ao seu controle. Já no estudo realizado por Matheka (2008), a concentração que causou redução em torno de 50% da massa seca do tratamento em relação ao controle foi considerada adequada para trabalhos de seleção de genótipos tolerantes. Bidabadi et al. (2012) concluíram que 30 g L⁻¹ de PEG como concentração adequada para seleção e caracterização in vitro de cultivares de banana tolerantes ao estresse hídrico.

Em nosso estudo, em relação ao indutor PEG 6000, na concentração 15 g L⁻¹ ambos os genótipos foram discriminados do controle, conseguiram tolerar o deficit hídrico e mostraram características de crescimento in vitro. Resultado semelhante foi encontrado por Ebrahim (2006) que simulou o estresse hídrico in vitro e avaliou o crescimento de raízes com sucesso utilizando 20 g L⁻¹ de PEG.

Em relação ao indutor sorbitol, nosso estudo considerou a concentração 36,4 g L⁻¹ como a melhor, pois ambos os genótipos foram discriminados do controle, conseguiram tolerar o deficit hídrico e mostraram características de crescimento in vitro. Outros estudos de simulação de estresse hídrico in vitro em bananeiras foram conclusivos quanto à indicação da concentração 36,4 g L⁻¹ de sorbitol como adequada para selecionar cultivares de banana tolerantes à seca sob condição in vitro (RUKUNDO et al., 2012; VANHOVE et al., 2012).

No decorrer dos tempos estudados, 15, 30, 45 e 60 dias, tanto para a cultivar Prata Anã quanto para a BRS Tropical, a relação de matéria fresca das plantas crescidas nos meios estressados das crescidas nos meio controles diminuiu. Isso se deve ao fato de que as plantas controles continuaram o seu desenvolvimento de forma natural, enquanto que as plantas dos tratamentos foram afetadas pelo estresse. Verificou-se ainda que já nas primeiras avaliações (15 e 30 dias) houve redução no crescimento das plantas em torno de 50% ou até mais, indicando que a ação do estresse hídrico na planta foi visível já nas 4 primeiras semanas de cultivo, e que, portanto, esse tempo é o suficiente para a discriminação dos genótipos em tolerantes e sensíveis nas condições de simulação in vitro de estresse hídrico testadas. Estes resultados corroboram com os obtidos por outros autores (BIDABADI et al., 2012; RUKUNDO et al., 2012; VAN ASTEN, 2011).

A cultivar que apresenta menor redução dos parâmetros de crescimento quando submetida às condições de estresse osmótico é sugerida como sendo tolerante. Ao avaliar as cultivares comerciais de bananeira Prata Anã e BRS Tropical, diante da imposição da deficiência hídrica por secamento contínuo do solo usando variáveis fisiológicas (temperatura da folha, condutância estomática, transpiração e densidade de raízes), Moreira et al. (2013) apontaram tais genótipos como contrastantes, sugerindo a cultivar BRS Tropical como tolerante e a Prata Anã sensível à seca. Já LUCENA et al. (2013) observaram que a comparação entre a Prata Anã e BRS Tropical não apresentou diferença contrastante entre os genótipos.

Nossos resultados indicam não haver diferença estatística entre o desenvolvimento dessas cultivares quando submetidas ao estresse hídrico in vitro nas condições testadas.

Segundo DONATO et al. (2015) a identificação da tolerância de genótipos aos fatores de estresses ambientais demanda estudos in vitro e em campo, em diferentes ecossistemas. Sabe-se que estudos de campo revelam os efeitos integrados das condições ambientais sobre a fisiologia das bananeiras. Portanto, correlações entre essas respostas e os fatores climáticos indicam tendências, visto que há influência de fatores não controlados. Já em ambientes com condições controladas verifica-se maior precisão nas associações entre trocas gasosas e fatores climáticos (CABRERA; GÁLAN SAÚCO, 2005). Por outro lado, Vanhove et al. (2012) argumentaram que apesar dos experimentos conduzidos in vitro e em casa de vegetação aumentarem o controle experimental, possuem menor relevância fisiológica comparado à estudos de campo que se aproximam mais das condições agrícolas, o que possibilita maior especificidade no âmbito local, possibilitando construir soluções locais.

Coelho et al. (2009) submeteram a BRS Tropical a reduções dos níveis de irrigação de até 90% sob condições subúmidas de Tabuleiros Costeiros e não observaram diferenças significativas nas produtividades. Estes autores verificaram que a lâmina líquida, ou efetiva, abaixo do normalmente indicado para a Prata Anã, é suficiente para manutenção da produtividade da BRS Tropical em níveis próximos à condição de plena irrigação.

Em outro trabalho realizado em regiões de clima subúmido e semiárido não houve resposta à irrigação da BRS Tropical (COELHO et al., 2006c). Acredita-se que essa cultivar apresente-se como menos responsiva ao aumento da lâmina de irrigação e, conseqüentemente, alto grau de eficiência de uso da água. Esses resultados sugerem que os híbridos com parental Yangambi n° 02 são mais tolerantes ao déficit hídrico do solo (DONATO et al., 2013).

No entanto, analisando-se os estudos relatados que defendem a ideia da cultivar BRS Tropical ser mais tolerante à seca que a Prata Anã, observou-se que a maioria deles levou em conta características de produtividade das cultivares, medidas volumétricas ou termodinâmicas tradicionais e eficiência de uso de água. Enquanto que em nosso estudo, foram avaliadas medidas de crescimento como: altura, massa fresca, massa seca, número de folhas e número de raízes.

Há fortes evidências que a produtividade é afetada pelo fechamento dos estômatos que pode ter uma forte associação com o Déficit de Pressão de Vapor (DPV). Segundo Donato et al. (2012), em condições onde predominam temperaturas supra ótimas para o desenvolvimento da bananeira, e, portanto, valores elevados de DPV, mesmo sem restrição de água no solo, ocorre o fechamento estomático e a produtividade decresce, indicando que o estresse térmico predomina ao estresse hídrico, a exemplo do que ocorre em áreas produtoras de banana irrigada do semiárido brasileiro. Além disso, caráter de produção é bastante influenciado pelo ambiente no primeiro ciclo, e, pelas características vegetativas, principalmente número de folhas na colheita, a partir do segundo ciclo de produção (LESSA et al., 2012).

Em adicional, Turner e Thomas (1998) concluíram que trocas gasosas e taxa de emissão foliar são os métodos mais sensíveis para determinar a resposta de bananeira ao estresse hídrico do que medidas volumétricas ou termodinâmicas tradicionais. Estes autores afirmam que a bananeira é uma planta altamente hidratada, o que dificulta a demonstração de uma associação clara entre o estado hídrico da folha e trocas gasosas.

A Prata Anã e a BRS Tropical são cultivares de potenciais produtivos bem distintos. Quando se comparam cultivares de potenciais produtivos distintos, a Eficiência no uso da água (EUA) vai ser maior para as cultivares de potenciais produtivos maiores, devido ao incremento de produtividade em resposta ao aumento da disponibilidade de água no solo, o que atesta a maior sensibilidade da cultivar ao déficit hídrico. Por outro lado, para as cultivares mais tolerantes ao déficit hídrico do solo, os aumentos das lâminas de irrigação não correspondem a incrementos relevantes de produtividades, caso da BRS Tropical (COELHO et al., 2012).

Ou seja, o que se tem verificado é que a cultivar Prata Anã sob condição de déficit hídrico diminui sua produtividade de forma mais significativa que BRS Tropical e por isso essa cultivar tem sido considerada mais sensível à seca. No entanto, é preciso atentar-se também ao fato de que a BRS Tropical apresenta produtividade baixa mesmo em condições ideais de água no solo. Em outras palavras, há indícios de que ela não priorize sua produtividade, também em função de seu alto porte, e que por isso alteração nos níveis de água no solo não afete esse parâmetro de forma tão severa.

Os indícios de maior tolerância à seca da BRS Tropical em relação à Prata Anã em termos de produtividade precisam ser estudados de forma mais consistente. Em concordância, de acordo com Coelho et al. (2012) as cultivares como Prata Anã e as tetraploides oriundas do melhoramento genético demandam maiores avaliações quanto ao uso de água. De forma semelhante, Donato et al. (2015) também afirmaram a necessidade de mais estudos e avaliações que corroborem com a informação de que a BRS Tropical se apresente mais tolerante à seca que a Prata Anã.

As divergências dos resultados nos trabalhos citados realizados em campo (COELHO et al., 2009; COELHO et al., 2006c; COELHO et al., 2012a; DONATO et al., 2013) e em casa de vegetação (MOREIRA et al., 2013) com o nosso de cultivo in vitro destacam a necessidade de mais estudos e avaliações não somente fisiológicas, mas também moleculares dessas cultivares in vitro. Estudos de simulação de estresse osmótico in vitro são escassos. A ausência de trabalhos que avaliem o comportamento da BRS Tropical e da Prata Anã submetidas a condição de estresse hídrico in vitro dificulta a comparação e discussão de resultados que ajudem a confirmar ou não a informação de que a BRS Tropical é mais tolerante à seca que a Prata Anã.

CONCLUSÕES

- Plantas cultivadas sob estresse hídrico induzido pelo PEG apresentam maior redução de crescimento que aquelas cultivadas em contato com o sorbitol.
- As melhores concentrações para simulação de estresse hídrico in vitro são 15 g L⁻¹ de PEG e 36,4 g L⁻¹ de sorbitol.
- As cultivares BRS Tropical e Prata Anã não apresentam comportamentos contrastantes no cultivo sob estresse hídrico in vitro.
- A duração de 30 dias de cultivo sob condição in vitro de estresse hídrico é o suficiente para simular a condição de estresse e selecionar os genótipos tolerantes.

REFERÊNCIAS

- BIDABADI, S.S.; MEON, S.; WAHAB, Z.; SUBRAMANIAM, S.; MAHMOOD, M. In vitro selection and characterization of water stress tolerant lines among ethylmethanesulphonate (EMS) induced variants of banana (*Musa* spp., with AAA genome). **Australian Journal of Crop Science**, v.6, p.567-575, 2012.
- BISWAS, J.; CHOWDHURY, B.; BHATTACHARYA, A.; MANDAL, A.B. In vitro screening for increased drought tolerance in rice. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v.38, p.525 – 530, 2002.
- BOUSLAMA, M. SCHAPAUGH, W. T. Stress tolerance in soybeans. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. **Crop Science**, v.24, p.933–937, 1984.
- CABRERA, J.C.; GALÁN SAÚCO, V. Evaluation of the banana cultivars Zelig, Grande Naine and Guesa under different environmental conditions in the Canary Islands. **Fruits**, v.60, p.357-369, 2005.
- CANCADO, G.M.A.; RIBEIRO, A.P.; FEITAS, G.F.; PASQUAL, M. Cultivo de plantas in vitro e suas aplicações. **Informe Agropecuário**, v.30, p. 64-74, 2009.
- COELHO, E. F.; PAMPONET, A. J. M.; NASCIMENTO JUNIOR, A. L.; COELHO FILHO, M. A.; SANTANA JUNIOR, E. B. Redução da irrigação e efeito na produtividade de bananeira BRS Tropical nos Tabuleiros Costeiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA. 38.; 2009, Juazeiro (BA) Anais... Petrolina (PE), 2009.
- COELHO, E. F.; DONATO, S. L. R.; OLIVEIRA, P. M.; CRUZ, A. J. S.; Relações hídricas II: evapotranspiração e coeficientes de cultura. In: Coelho, E. F. (ed.). **Irrigação da bananeira**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 280 p.
- COELHO, E. F.; LEDO, C. A. S.; SILVA, S. O. Produtividade da bananeira Prata Anã e Grande Naine no terceiro ciclo sob irrigação por microaspersão em tabuleiros costeiros da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, p.435-438, 2006.
- DEBLONDE, P.M.K. AND LEDENT, J.F. Effects of moderate drought conditions on green leaf number stem height, leaf length and tuber yield of potato cultivares. **European Journal of Agronomy**, v. 14, p.31-41, 2001.
- DONATO, S. L. R.; ARANTES, A. M.; SILVA, S. O.; CORDEIRO, Z. J. M. Comportamento fitotécnico da 'Prata-Anã' e de seus híbridos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, p.1608-1615, 2009.
- DONATO, S. L. R.; COELHO, E. F.; ARANTES, A. M.; COTRIM, C. E.; MARQUES, P. R. R.; Relações hídricas I: considerações fisiológicas e ecológicas. In: Coelho, E. F. (Ed.). **Irrigação da bananeira**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 280 p.

DONATO, S.L.R.; COELHO, S.F.; MARQUES, P.R.R.; ARANTES, A.M.; SANTOS, M.R.; OLIVEIRA, P.M. Ecofisiologia e eficiência de uso da água em bananeira. In: Reunião Internacional da Associação para a Cooperação em Pesquisa e Desenvolvimento Integral das Musáceas (Bananas e Plátanos), 20. 2013, Fortaleza, CE.

DONATO, S. L. R.; ARANTES, A. M.; COELHO, E.F.; RODRIGUES, M. G. V. R. Considerações ecofisiológicas e estratégias de manejo da bananeira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 8.; Anais... Montes Claros (MG), 2015.

DRAGIISKA, R.; DJILIANOV, D.; DENCHEV, P.; ATANASSOV, A. In vitro selection for osmotic tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v.22, p.30-39, 1996.

EBRAHIM M.K.H, IBRAHIM I.A, EMARA H.A, KOMOR E. Impact of polyethylene glycol – induced water stress on growth and development of shoot tip cultures from different banana (*Musa* spp.) cultivares. **Journal of Applied Horticulture**, v.8, p.53-57, 2006.

EBRAHIM, M.K.H. Comparison, determination and optimizing the conditions required for rhizome and shoot formation, and flowering of in vitro cultured calla explants. **Scientia Horticulturae**, v.101, p.305-313, 2004

EBRAHIM, M.K.H; IBRAHIM, I. Influence of medium solidification and pH value on in vitro propagation of *Maranta leuconeura* cultivar. Kerchoviana. **Scientia Horticulturae**, v.86, p.211-221, 2000.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, p.109-112, 2014.

GEORGE, E.F. Plant tissue culture techniques. In: **Plant propagation by tissue culture**. Part 1: The technology, p.3-36, 1993.

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

HASEGAWA, H.I.M. Induction and selection of hydroxy-L-proline-resistant mutants in rice (*Oryza sativa* L.). **Ikushugaku Zasshi**, v.33, p.275-282, 1983.

KARHU, S.T. Sugar use in relation to shoot induction by sorbitol and cytokinin in apple. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.122, p. 476-480, 1997.

KARUNARATNE, S.; SANTHA, S.; KAVOORL, A. An in vitro assay for drought – tolerant coconut germplasm. *Euphytica*, v.53, p.25 – 30, 1991.

KULKARNI, M. AND PHALKE, S. Evaluating variability of root size system and its constitutive traits in hot pepper (*Capsicum annum* L.) under water stress. *Scientia Horticulturae*, v.120, p.159-166, 2009.

LAHLOU, O; LEDENT, J.F. Root mass and depth, stolons and roots formed on stolons in four cultivares of potato under water stress. **European Journal of Agronomy**, v.22, p.159-173, 2005.

LAWLOR, D. W. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v.64, p. 83–108, 1970.

LESSA, L. S.; OLIVEIRA, T. K.; AMORIM, E. P.; ASSIS, G. M. L.; SILVA, S. O. Características vegetativas e seus efeitos sobre a produção de bananeira em três ciclos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.11-1104, 2012.

LUAN, Y.S.; ZHANG, J. GAO, X.R. Mutation induced by ethylmethanesulphonate (EMS), *in vitro* screening for salt tolerance and plant regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.88, p.77 – 81, 2007.

LUCENA, C.C. de. Estratégias de manejo de irrigação de bananeiras baseadas em coeficientes de transpiração e área foliar. 2013. 152f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

MAHOUACHI, J. Changes in nutrient concentrations and leaf gas exchange parameters in banana plantlets under gradual oil moisture depletion. **Scientia Horticulturae**, v.120, p.466-469, 2009.

MATHEKA, J.M; MAGIRI, E.; RASHA, A.O.; MACHUKA, J. *in vitro* selection and characterization of drought tolerant somaclones of BRS Tropical maize (*zea mays* L.). **Biotechnology**, v.7, p.641-650, 2008.

MOHAMED, M.A.H.; HARRIS, P.J.C.; HENDERSON, J. *In vitro* selection and characterisation of a drought tolerant clone of *Tagetes minuta*, **Plant Science**, v.159, p.213 – 222, 2000.

MOREIRA-MATTOS, L.A. Respostas fisiológicas e análise proteômica de bananeiras submetidas à deficiência hídrica. 2013. 108 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2013.

MURASHIGE T, SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473–497, 1962.

MUNNS, R.; HUSAIN, S.; RIVELLI, A.R.; HARE, R.A. Progress in plant nutrition. **Dordrecht: Kluwer Academic**, p.188, 2002.

OTONI, W.C.; NETO, V.B.P. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter? **Scientia Horticulturae**, v.97, p.193–202, 2003.

PLAUT, Z.; FEDERMAN, E. A simple procedure to overcome polyethelene glycol toxicity on whole plants. **Plant Physiology**, v.79, p.559-61, 1985.

RAI, M.K.; KALIA, R.K.; SINGH, R.; GANGOLA, M.P.; DHAWAN, A.K. Developing stress tolerant plants through in vitro selection – An overview of the recent progress. **Environmental and Experimental Botany**, v.71, p.89 – 98, 2011.

ROBINSON, J. C., GALÁN SAÚCO, V. **Bananas and plantains**. 2nd ed. Oxford: CAB International. 311p. (Crop production science in horticulturae series, 19). 2010.

RUKUNDO, P; CARPENTIER, S.C; RONY, R. Development of in vitro technique to screen for drought tolerant banana varieties by sorbitol induced osmotic stress. **African Journal of Plant Science**, v.6, p.416-425, 2012.

SAMPAIO, A.H.R.; COELHO, M.A.; COELHO, E.F.; DANIEL, R.; MACHADO, V.V.; CARVALHO, G.C.; SANTANA, E.B. Deficit hídrico e secamento parcial do sistema radicular em pomar de lima ácida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.1141-1148, 2010.

SANTANA, J.A.V. do; COELHO, E.F.; FARIA, M.A. de; SILVA, E.L da; DONATO, S.L.R. Distribuição de raízes de bananeira no solo irrigado por diferentes sistemas de irrigação em condições semiáridas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.124-133, 2012.

SIMMONDS, N. W. (1966). **Bananas**. London: Longmans.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TEISSON, C. (1989). Culture *in vitro* et amélioration des plantes vivrières tropicales. In: Saint-Pierre, C-A., Demarly, Y. (Eds). Amélioration et protection des plantes vivrières tropicales. Cirad: Paris. AUPELF-UREE, John Libbey Eurotext, p. 51-54.

THOMAS, D. S.; TURNER, D. W. Leaf gas exchange of droughted and irrigated banana cv. Williams (Musa spp.) growing in hot, arid conditions. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.73, p.419-429, 1998.

TOURNEUX, C.; DEVAUX, A.; CAMACHO, M.R.; MAMANI, P.; LEDENT, J.F. Effects of water shortage on six potato genotypes in the highlands of Bolivia (I): morphological parameters, growth and yield. **Agronomie**. v.23, p.169–179, 2003.

TURNER, D.W.; THOMAS, D. S. Measurement of plant and soil water status and their association with leaf gas exchange in banana (Musa spp): a laticiferous. **Scientia Horticulturae**, v.77, p.177–193, 1998.

UMEZAWA, T. FUJITA, M.; FUJITA, Y. SHINOZAKI, K.Y.; SHINOZAKI, K. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. **Current Opinion in Biotechnology**, v.17, p.113–122, 2006.

VAN ASTEN, P.J.A; FERMONT, A.M; TAULYA, G. Drought is a major yield loss factor for rainfed East African highland banana. **Agricultural Water Management**, v.98, p.541-552, 2011.

VANHOVE, A.C.; VERMAELEN, W.; PANIS, B.; SWENNEN, R.; CARPENTIER, S.C. 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.1-10, 2012.

VILLELA, F. A; DONI, L; SEQUERA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.1957-1968, 1991.

YADAV, P.V.; SUPRASANNA, P.; GOPALRAO, K.U.; ANANT, B.V. Molecular profiling using RAPD technique of salt and drought tolerant regenerants of sugarcane. **Sugar Tech**, v.8, p.63– 68, 2006.

CAPÍTULO 2

SELEÇÃO IN VITRO DE HÍBRIDOS DIPLOIDES DE BANANEIRA TOLERANTES AO DÉFICIT HÍDRICO

Pesquisa Agropecuária Brasileira

SELEÇÃO IN VITRO DE HÍBRIDOS DIPLOIDES DE BANANEIRA COM TOLERANCIA AO DÉFICIT HÍDRICO

RESUMO: Dentre os problemas atuais enfrentados na cultura da bananeira, o déficit hídrico tem ganhado destaque. Esse fator abiótico tem sido considerado, em algumas situações, o principal determinante da redução da produtividade de várias culturas, inclusive da bananeira e existe a previsão de intensificação dos efeitos desse estresse em decorrência de mudanças climáticas. Nesse trabalho objetivou-se avaliar 12 diploides do programa de melhoramento genético da bananeira e duas cultivares comerciais de banana cultivados em condição de estresse hídrico in vitro e selecionar os mais tolerantes. Plantas desses 14 genótipos de bananeira foram cultivadas em meio de cultura MS semissólido por 50 dias. Ápices caulinares de plantas cultivadas in vitro foram transferidos para meio MS líquido, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose e 4 mg/L de BAP, suplementado 15, 30, 45 e 60 g L⁻¹ de PEG 6000 ou 18,2; 36,4; 54,6 e 72,8 g L⁻¹ de sorbitol. Os mesmos foram mantidos em sala de crescimento e tiveram os meios de cultura renovados a cada 15 dias, com avaliações de altura da planta, peso, número de raízes e número de folhas, até aos 60 dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 14 x 5. Os dados foram submetidos ao teste F da análise de variância, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey e as médias dos genótipos foram agrupados pelo teste de Scott-Knott ambos a 5% de probabilidade. Para a variável massa fresca (mensurados a cada 15 dias) considerou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas no tempo. Os resultados sugerem que os diploides 042085-02, 091087-01 são tolerantes e os 091094-04 e SH3263 são sensíveis ao déficit hídrico in vitro.

Palavras-chave: Germoplasma; micropropagação; *Musa spp.*; tolerância à seca; screening

IN VITRO SELECTION OF OF DIPLOID HYBRIDS OF BANANA GENOTYPES WITH WATER DEFICIT TOLERANCE

ABSTRACT: Among the current problems faced by the culture of banana, the water deficit has gained prominence. This abiotic factor has been considered in some situations the major determinant of reduced productivity of various crops, including banana, and there is the forecast intensification of the effects of that stress due to climate change. In this study, the objective was to evaluate 12 diploids of banana genetic breeding program and two cultivars of banana cultivated in water stress condition in vitro and select the most tolerant. Plants of these 14 genotypes were cultivated on MS semi-solid culture medium for 50 days. Shoot tips of plants cultivated in vitro were transferred for a MS liquid medium supplemented with 30 g L⁻¹ sucrose, 4 mg/L benzylaminopurine and 15, 30, 45 and 60 g L⁻¹ polyethylene glycol (PEG) or 18,2; 36,4; 54,6 and 72,8 g L⁻¹ sorbitol. They were kept in growth room and their culture media were renewed every 15 days, with evaluation of plant height, weight, number of roots and number of leaves until the 60 days. The experimental design was completely randomized with a 14x5 factorial scheme. Data were submitted to F test of analysis of variance, treatments averages were compared by Tukey test and genotypes averages were grouped by Scott-Knott test, both with 5% probability. For the variable fresh weight, it was considered a completely randomized design in split plot scheme in time. The results suggest the diploids 042085-02, 091087-01 are tolerant and 091094-04 e SH3263 are sensitive for in vitro water deficit.

Keywords: Drought tolerance; germoplasm; micropropagation; *Musa spp.*; screening

INTRODUÇÃO

A banana é a segunda fruta mais consumida no planeta, com 11,4 kg/hab/ano, perdendo apenas para a laranja, com 12,2 kg/hab/ano (FAO, 2015). Segundo as estatísticas do IBGE, em 2015, o Brasil produziu 6.949.316 toneladas, em uma área plantada de aproximadamente 523.976 de hectares (IBGE, 2016). Apesar de sua importância socioeconômica, a cultura da bananeira enfrenta fatores limitantes à sua expansão. Dentre os problemas, o déficit hídrico tem sido considerado o mais grave devido as mudanças climáticas nos últimos tempos.

No Brasil, as regiões Nordeste e Centro-oeste são as que apresentam maior histórico de déficit hídrico, sendo a região do Semiárido nordestino considerada a região seca mais populosa do mundo e mais vulnerável à mudança de clima, especialmente no ponto de vista social (MARENGO, 2011). Em 2015, a cultura da banana apresentou nas regiões Nordeste e Centro-oeste, uma área plantada de 220 mil hectares, com produção de aproximadamente 2,5 milhões de toneladas (IBGE, 2016). O melhoramento genético de plantas tem sido considerado uma das estratégias mais eficientes e econômicas para enfrentar e gerenciar o problema da seca (UMEZAWA, 2006), uma vez que a irrigação representa cerca de 69% da água consumida no mundo e que existe toda uma preocupação com a conservação dos recursos hídricos (SAMPAIO, 2010).

No processo de seleção de genótipos com bom desempenho sob déficit hídrico, a variabilidade entre eles é a principal motivação para os programas de melhoramento genético (NEVES et al., 2013). De modo geral, o que se busca são cultivares que apresentam pequena redução das trocas gasosas e de perda de área foliar, bem como maior capacidade de retenção de água nas folhas (BANANUKA et al., 1999). As cultivares de bananeira que contém o genoma B (cultivares AAB ou ABB) são mais tolerantes aos estresses abióticos do que aquelas que apresentam em sua constituição somente o genoma A (SIMMONDS, 1966; THOMAS et al., 1998; ROBINSON E SAUCO, 2010).

Em bananeiras, a seleção convencional de genótipos resistentes ao déficit hídrico é dificultada pelo longo ciclo da cultura e pela necessidade de grandes áreas para o plantio (RAVI et al., 2013). Para contornar este problema métodos alternativos têm sido desenvolvidos de forma a simular condições de estresse hídrico in vitro utilizando indutores que reduzem o potencial osmótico do meio de cultura, reduzindo assim o tempo de avaliação e seleção de genótipos promissores.

O primeiro screening da biodiversidade do gênero *Musa* para variedades tolerantes ao déficit hídrico concluiu que o modelo de crescimento in vitro é útil para o rastreio de genótipos tolerantes à esse estresse (Vanhove et al., 2012). Em estudo utilizando o polietileno glicol 6000 como indutor de estresse hídrico, Bidabadi et al. (2012) mostraram que a seleção in vitro de bananeira poderia fornecer um método para distinguir as cultivares de acordo com suas respostas morfológicas e fisiológicas ao estresse hídrico. O uso do sorbitol como indutor de déficit hídrico revelou que os parâmetros de crescimento são relevantes para a identificação de cultivares tolerantes sob condições in vitro (RUKUNDO et al., 2012). Dessa forma, a indução de estresses abióticos in vitro de materiais do banco de germoplasma, com posterior seleção dos

genótipos tolerantes são vantajosas para trabalhos de melhoramento genético que visam a geração de cultivares tolerantes às condições adversas.

Apesar da produção de banana estar baseada em cultivares triploides, os genótipos diploides são importantes, uma vez que são fontes de alelos de resistência/tolerância a fatores bióticos e abióticos (JENNY et al., 1999). O programa de melhoramento genético de banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical conta com 31 diploides melhorados (DM), com resistência genética às principais pragas, incluindo as sigatokas amarela e negra e o mal-do Panamá, além de outras características agrônômicas desejáveis, tais como: porte reduzido e alta produtividade (SILVA et al., 2013). Um importante estudo realizado por AMORIM et al. (2008) mostrou que a variabilidade genética disponível no programa de melhoramento genético de banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura é suficiente para o melhoramento genético da cultura. No entanto, não há estudos que relacionem esses DMs com a resistência à seca.

Dessa forma, a avaliação desses diploides melhorados de bananeiras quanto à tolerância à seca permitirá a identificação de parentais a serem utilizados em cruzamentos, possibilitando o desenvolvimento de materiais tolerantes às condições de solos com déficit hídrico.

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar 12 diploides melhorados de bananeira gerados pelo programa de melhoramento genético da bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura e selecionar *in vitro* os mais tolerantes ao déficit hídrico.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

No experimento foram utilizadas plantas micropropagadas das cultivares BRS Tropical (genoma AAAB) e Prata Anã (genoma AAB), 11 diploides melhorados (AA) gerados pelo programa de melhoramento da bananeira desenvolvido na Embrapa Mandioca e Fruticultura e o híbrido diploide (AA) SH3263, desenvolvido pelo programa de melhoramento genético de banana da *Fundação Hondurenha de Investigação Agrícola* (FHIA) (Tabela 1). Utilizou-se essas cultivares pelo fato de a Prata Anã ser a mais cultivada e comercializada no Brasil e não haver informações sobre a sua resposta ao déficit hídrico. Já a cultivar BRS Tropical tem sido apontada em alguns estudos com tendência a ser tolerante a esse estresse. No estudo realizado por Moreira et al. (2013), as cultivares Prata Anã e BRS Tropical foram apontadas como contrastantes, sendo a BRS Tropical tolerante e a Prata Anã sensível à seca.

Tabela 1: Descrição dos diploides melhorados de bananeira utilizados no estudo

Diploide melhorado	Genealogia (parental feminino x parental masculino)
003037-02	Calcutta 4 x Galeo
013004-04	Malaccensis x Madang
042023-06	M53 [(<i>Musa acuminata malaccensis</i> 'Kedah' x <i>Musa acuminata banksii</i> 'Samoa') x (AAc 'Paka' x <i>Musa acuminata banksii</i> 'Samoa')] x Cultivar sem nome N° 2
042052-03	M53 x Kumburgh
042079-13	M53 x 028003-01 (Tuugia x Calcutta 4)
042085-02	M53 x 015003-01 (Madu x Calcutta 4)
086079-10	003037-02 (Calcutta 4 x Galeo) x 028003 (Tuugia x Calcutta 4)
089087-01	013018-01 (Malaccensis x Sinwobogi) x 003038-01 (Calcutta 4 x Heva)
091087-01	001016-01 (Borneo x Guyod) x 003038-01 (Calcutta 4 x Heva)
091087-02	001016-01 (Borneo x Guyod) x 003038-01 (Calcutta 4 x Heva)
091094-04	001016-01 (Borneo x Guyod) x SH3263
SH3263	SH3217 {SH2095 [(Sinwobogi x Tjau Lagada) x <i>malaccensis</i> selvagem x Guyod] x SH2766} x SH3142 (Pisang Jari Buaya)

Antes de iniciar o experimento, as plantas foram uniformizadas mediante cultivo em meio de cultura semissólido para enraizamento, constituído de sais MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 1,8 g L⁻¹ de Phytigel. O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem por 20 minutos em uma temperatura de 120°C. As plantas foram mantidas em sala de crescimento por 50 dias na presença de luz (fotoperíodo 16h luz) e temperatura de 25±2°C.

Simulação de estresse hídrico in vitro

O método utilizado para a seleção in vitro dos genótipos de bananeira tolerantes à seca foi baseada nos estudos de Vanhove et al. (2012) e Rukundo et al. (2012). A fim de simular a condição de estresse hídrico in vitro utilizou-se dois indutores desse estresse: polietileno glicol 6000 (PEG 6000) e sorbitol.

As plantas in vitro bem desenvolvidas e uniformes foram utilizadas como explantes. Essas foram cortadas a uma altura de 3,0 cm, tiveram suas folhas retiradas e três raízes de aproximadamente 1 cm de comprimento mantidas

Os explantes foram transferidos para meio MS líquido, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose e 4 mg L⁻¹ de BAP, suplementado com diferentes concentrações de polietileno glicol ou sorbitol a fim de simular a condição de estresse hídrico in vitro. Baseando-se nos resultados do experimento do capítulo 1, determinaram-se duas concentrações de cada indutor como sendo as mais adequadas para a identificação de genótipos de bananeira tolerantes ao déficit hídrico: 15 g L⁻¹ e 30 g L⁻¹ de PEG₆₀₀₀ e sorbitol a 18,2 g L⁻¹ e 36,4 g L⁻¹. No tratamento controle as plantas foram mantidas em meio MS na ausência de indutores.

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 27 ± 2°C. Os explantes tiveram os meios de cultura renovados a cada 15 dias.

Avaliações de crescimento

O experimento teve duração de 60 dias. A cada 15 dias foram avaliados os parâmetros altura de plantas, massa fresca, número de folhas e número de raízes. As avaliações foram realizadas em câmaras de fluxo laminar mantendo-se as condições de assepsia.

Ao final dos 60 dias, realizou-se a medida de peso seco tanto da parte aérea quanto das raízes após secagem em estufa a $70 \pm 2^\circ\text{C}$ por 72 horas.

A identificação de genótipos que minimizam a redução de seu crescimento quando um estresse hídrico é aplicado foi a base para a seleção dos tolerantes e sensíveis à seca (PLACID et al., 2012; VANHOVE et al., 2012).

Dessa forma, a discriminação entre os materiais tolerantes e sensíveis foi realizada com base no Índice de Estabilidade do Rendimento de matéria seca (IERms) (BOUSLAMA; SCHAPAUGH, 1984), cuja fórmula é $\text{IERms} = \text{Re}/\text{Ri}$. Onde, Re e Ri são, respectivamente, a matéria seca de cada genótipo cultivado sob estresse e sem estresse. Assim, quanto maior o IERms maior será a tolerância à seca.

O Índice de Estabilidade de matéria Fresca (IERmf) foi calculado de forma semelhante ao Índice de Estabilidade de matéria seca (IERms), utilizando-se no entanto, a massa fresca de cada genótipo cultivado sob estresse e sem estresse.

Delineamento e análise experimental

O experimento constou de um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x14, 5 tratamentos (2 concentrações de polietileno glicol, 2 concentrações de sorbitol e um controle sem indutor de estresse osmótico) e 14 genótipos (Prata Anã, BRS Tropical e 12 diploides). Cada tratamento constou de 25 repetições. Os dados foram submetidos ao teste F da análise de variância, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey e as médias dos genótipos foram agrupados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para a variável massa fresca (mensurada a cada 15 dias) considerou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas no tempo. As médias dos tempos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2014).

RESULTADOS

A avaliação das plantas em termos de crescimento levando-se em conta os parâmetros matéria fresca, altura, número de folhas e número de raízes revelou que as cultivares apresentaram padrões de crescimento distintos quando cultivadas no meio controle, uma vez que trata-se de genótipos diferentes, inclusive em relação às suas ploidias. Portanto, os dados de crescimento bruto nos meios de cultura com indutores de estresse osmótico não são comparáveis. Esses dados foram transformados em termos de redução devido ao estresse osmótico seguindo a fórmula: $Y_i = y_i / \mu$, onde Y_i : redução devido ao estresse osmótico para cada amostra de planta, y_i : valor quantitativo do parâmetro de crescimento para cada planta crescida no meio estressado, e μ : média do parâmetro de crescimento para as plantas crescidas no meio controle.

Efeito do polietileno glicol no crescimento in vitro de genótipos de bananeira

Os efeitos do estresse osmótico induzido pelas concentrações de 15 e 30 g L⁻¹ de polietileno glicol foram investigados para discriminar os 14 genótipos de bananeira avaliados e selecionar os mais tolerantes à seca in vitro.

Os valores do índice de estabilidade de rendimento de matéria seca (IERms), utilizando-se como indutor de déficit hídrico o polietileno glicol são apresentados na Tabela 2. A análise de variância dos dados indicou que há diferença significativa entre as concentrações testadas, a 1% de probabilidade pelo teste de F. De modo geral, é possível perceber que o PEG discriminou os genótipos, causando diminuição no rendimento de estabilidade de matéria seca. Ou seja, as concentrações de PEG utilizadas levaram à uma diminuição no peso seco das plantas sob estresse osmótico em relação às plantas controles (cultivadas em meio não contendo indutor de estresse osmótico).

Tabela 2. Índice de estabilidade de rendimento de matéria seca de 14 genótipos de bananeira em função das diferentes concentrações de PEG.

Genótipos	15 g L ⁻¹	30 g L ⁻¹
003037-02	0,471 cA	0,436 aA
013004-04	0,393 cA	0,340 bA
042023-06	0,591 bA	0,466 aA
042052-03	0,413 cA	0,363 bA
042079-13	0,588 bA	0,557 aA
042085-02	0,792 aA	0,532 aB
086079-10	0,566 bA	0,545 aA
089087-01	0,509 cA	0,508 aA
091087-01	0,686 aA	0,595 aA
091087-02	0,426 cA	0,387 bA
091094-04	0,618 bA	0,326 bB
SH3263	0,313 cA	0,320 bA
Prata Anã	0,430 cA	0,391 bA
BRS Tropical	0,328 cA	0,242 bA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O indutor PEG na concentração de 15 g L⁻¹ discriminou os diploides em três grupos. Os diploides 042085-02 e 091087-01 apresentaram as maiores médias de IERms. Os diploides 003037-02, 013004-04, 042052-03, 089087-01, 091087-02, SH3263 e as cultivares Prata Anã e BRS Tropical apresentaram as médias mais baixas, com destaque para 013004-04, SH3263 e para a cultivar BRS Tropical.

Para a concentração de 30 g L⁻¹, o indutor PEG discriminou os diploides em apenas dois grupos. Os diploides 003037-02, 042023-06, 042079-13, 042085-02, 086079-10, 089087-01 e 091087-01 apresentaram as maiores médias, com destaque para 042079-13, 042085-02 e 091087-01. Já cultivar BRS Tropical e Prata Anã, bem

como os diploides 013004-04, 042052-03, 091087-02, 091094-04 e SH3263 apresentaram as maiores reduções de matéria. Destaca-se que em ambas as concentrações utilizadas, os diploides 042085-02 e 091087-01 estiveram entre os mais promissores. Já o diploide SH3263 e a cultivar BRS Tropical estiveram entre os genótipos de médias mais baixas. O fato é um indicativo de maior tolerância ao déficit hídrico in vitro dos primeiros em relação aos demais.

Os resultados padronizados dos parâmetros de crescimento altura, número de folhas e número de raízes utilizando-se o polietileno glicol como indutor de estresse osmótico, são apresentados na Tabela 3. A análise de variância dos dados mostrou que não houve interação significativa entre os genótipos e os tratamentos. No entanto, procedeu-se o desdobramento da interação dos fatores mesmo assim.

Tabela 3. Crescimento in vitro de 14 genótipos de bananeira sob diferentes concentrações de PEG.

Genótipos	Altura		Número de folhas		Número de raízes	
	15 g L ⁻¹	30 g L ⁻¹	15 g L ⁻¹	30 g L ⁻¹	15 g L ⁻¹	30 g L ⁻¹
003037-02	0,348 dA	0,347 bA	0,629 cA	0,667 bA	0,764 bA	0,536 cB
013004-04	0,429 dA	0,382 bA	0,595 cA	0,334 dB	0,622 cA	0,643 bA
042023-06	0,710 aA	0,602 aB	0,761 bA	0,565 cB	0,761 bA	0,641 bA
042052-03	0,632 bA	0,614 aA	0,803 bA	0,530 cA	0,346 eA	0,261 dA
042079-13	0,553 cA	0,441 bB	0,603 cA	0,574 cA	0,505 dA	0,725 bB
042085-02	0,424 dB	0,596 aA	0,457 dA	0,297 dB	0,556 dA	0,503 cA
086079-10	0,525 cA	0,533 aA	0,680 cA	0,636 bA	0,321 eA	0,410 cA
089087-01	0,600 bA	0,559 aA	1,096 aA	1,024 aA	0,798 bA	0,749 bA
091087-01	0,725 aA	0,661 aA	0,836 bA	0,796 bA	0,967 aA	0,975 aA
091087-02	0,504 cA	0,452 bA	0,670 cA	0,752 bA	0,420 dA	0,563 bA
091094-04	0,746 aA	0,413 bB	0,657 cA	0,271 dB	0,253 eA	0,231 dA
SH3263	0,475 cA	0,435 bA	0,811 bA	0,708 bA	0,244 eA	0,334 dA
Prata Anã	0,604 bA	0,514 aA	0,548 dA	0,452 cA	0,495 dA	0,495 cA
BRS Tropical	0,416 dA	0,396 bA	0,570 dA	0,393 dB	0,585 cA	0,600 bA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Todos os parâmetros de crescimento analisados tiveram redução considerada nas plantas submetidas ao estresse osmótico em relação às controles. Observou-se que, de modo geral, conforme a concentração do PEG aumentou o crescimento das plantas de todos os genótipos diminuiu (Tabela 3).

Em relação a altura, verificou-se que na concentração 15 g L⁻¹ os diploides 042023-06, 091087-01 e 091094-04 foram os que apresentaram menor redução com relação às plantas controles. As maiores reduções foram observadas nos diploides 003037-02, 013004-04, 042085-02 e na cultivar BRS Tropical. Para a concentração 30 g L⁻¹, os diploides 042023-06, 042052-03, 042085-02, 086079-10, 089087-01, 091087-01 e a variedade Prata Anã se destacaram por apresentarem as menores reduções de altura. Já os diploides 003037-02, 013004-04, 042079-13, 091087-02, 091094-04 e a cultivar BRS Tropical apresentaram as maiores reduções. Destaca-se que em ambas as concentrações os diploides 042023-06 e 091087-01 foram os mais tolerantes, enquanto que a cultivar BRS Tropical e os diploides 003037-02 e 013004-04 foram os mais sensíveis.

Em relação ao número de folhas, verificou-se que na concentração 15 g L⁻¹ os diploides 042023-06, 042052-03, 091087-01 e SH3263 foram os que apresentaram menor redução do parâmetro que os compara com as plantas controles, com destaque para o diploide 091087-01 que apresentou a maior média. As maiores reduções foram obtidas pelo diploide 042085-02 e pelas cultivares BRS Tropical e Prata Anã. Para a concentração 30 g L⁻¹, os diploides 003037-02, 086079-10, 091087-01, 091087-02 e SH3263 apresentaram as menores reduções, sendo o 091087-01 o de maior média. Já os diploides 013004-04, 042085-02, 091094-04 e a cultivar BRS Tropical apresentaram os menores valores. Destaca-se que em ambas as concentrações os diploides 091087-01 e SH3263 apresentaram os maiores valores, enquanto que a cultivar BRS Tropical e o diploide 042085-02 apresentaram os menores.

Para o parâmetro número de raízes, verificou-se que na concentração 15 g L⁻¹ o diploide 091087-01 foi o que apresentou menor redução do parâmetro. As maiores reduções foram obtidas pelos diploides 042052-03, 086079-10, 091094-04 e SH3263. Para a concentração 30 g L⁻¹, novamente o diploide 091087-01 se destacou por apresentar a menor redução. Já os diploides 042052-03, 091094-04 e SH3263 apresentaram os menores valores. Destaca-se que em ambas as concentrações o diploide 091087-01 apresentou os maiores valores do parâmetro em questão enquanto que os diploides 042052-03, 091094-04 e SH3263 apresentaram os menores valores.

Destaca-se que para o três parâmetros e em todas as concentrações avaliadas, o diploide 091087-01 mostrou-se mais tolerante ao deficit hídrico in vitro causado pelo PEG que os demais.

Os valores da massa fresca das plantas sob estresse osmótico em relação à massa fresca das plantas controles (Índice de Estabilidade do Rendimento de matéria fresca, IERmf) são apresentados da Tabela 4. Percebe-se que, independente do tempo de exposição ao indutor de estresse osmótico e para todos os genótipos, o parâmetro de IERmf diminuiu conforme aumentou-se a concentração do PEG no meio de cultura. Além disso, no decorrer dos tempos estudados, 15, 30, 45 e 60 dias a relação de massa fresca dos tratamentos e do controle diminuiu. Isso se deve ao fato de que as plantas controles continuaram o seu desenvolvimento de forma natural, enquanto que as plantas dos tratamentos foram afetadas pela estresse aplicado.

Analisando-se os dados, verificou-se que na concentração 15 g L⁻¹ os diploides 042023-06, 042079-13 e 091087-01 apresentaram as menores reduções de massa fresca, dando destaque para o diploide 091087-01. As maiores reduções foram obtidas pelos diploides 042052-03 e pelas cultivares Prata Anã e BRS Tropical. Para a concentração 30 g L⁻¹, os diploides 042085-02, 089087-01, 091087-01 e SH3263 se destacaram como os de menor redução de peso fresco, sendo novamente o 091087-01 o mais promissor. Já os diploides 091094-04 e 091087-02 e a cultivar BRS Tropical apresentaram os menores valores. Destaca-se que em ambas as concentrações o diploide 091087-01 apresentou os maiores valores, enquanto que o diploide 013004-04 e a cultivar BRS Tropical apresentaram as menores médias. O fato pode ser um indicativo de que o primeiro tende a ser mais tolerante ao deficit hídrico in vitro que os demais.

Tabela 4. Índice de estabilidade de peso fresco de 14 genótipos de bananeira no decorrer dos dias em função de diferentes concentrações de PEG no meio de cultura.

Genótipos	15 g L ⁻¹				30 g L ⁻¹			
	15	30	45	60	15	30	45	60
003037-02	0,600 bA	0,375 bB	0,313 bB	0,308 bB	0,387 aA	0,305 bB	0,279 bB	0,270 bB
013004-04	0,549 bA	0,443 aB	0,331 bC	0,209 cD	0,426 aA	0,346 aB	0,281 bAB	0,229 cC
042023-06	0,613 bA	0,442 aB	0,399 aB	0,390 aB	0,458 aA	0,369 aB	0,321 aBC	0,290 bC
042052-03	0,384 dA	0,312 cAB	0,312 bAB	0,277 bB	0,457 aA	0,381 aB	0,352 aBC	0,306 bC
042079-13	0,596 bA	0,517 aB	0,417 aC	0,378 aC	0,358 bA	0,335 aA	0,333 aA	0,292 bA
042085-02	0,600 bA	0,497 aB	0,433 aB	0,268 bC	0,485 aA	0,343 aBC	0,286 bC	0,404 aB
086079-10	0,448 cA	0,306 cB	0,320 bB	0,283 bB	0,442 aA	0,357 aAB	0,333 aB	0,284 bB
089087-01	0,432 cA	0,386 bAB	0,394 aAB	0,346 aB	0,453 aA	0,404 aAB	0,376 aB	0,348 aB
091087-01	0,723 aA	0,483 aB	0,429 aB	0,452 aB	0,517 aA	0,404 aB	0,372 aB	0,412 aB
091087-02	0,444 cA	0,324 cB	0,277 bB	0,261 bB	0,407 aA	0,272 bB	0,223 cB	0,200 cB
091094-04	0,469 cA	0,392 bB	0,385 aB	0,389 aB	0,344 bA	0,261 bB	0,220 cB	0,196 cB
SH3263	0,495 cA	0,302 cB	0,319 bB	0,289 bB	0,425 aA	0,345 aB	0,342 aB	0,366 aAB
Prata Anã	0,462 cA	0,324 cB	0,286 bBC	0,226 cC	0,422 aA	0,282 bB	0,255 bB	0,255 bB
BRS Tropical	0,291 eA	0,209 dB	0,220 bAB	0,177 cB	0,253 cA	0,171 cB	0,158 cB	0,136 cB

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Efeito do sorbitol no crescimento in vitro de genótipos de bananeira

Os efeitos do estresse osmótico induzido pelas concentrações de 18,4 g L⁻¹ e 36,8 g L⁻¹ de sorbitol foram investigados para discriminar os 14 genótipos de bananeira avaliados nesse estudos e selecionar os de maior tolerância a seca in vitro.

Os valores do índice de estabilidade de rendimento de matéria seca (IERms), utilizando-se como indutor de déficit hídrico o sorbitol são apresentados na Tabela 5. A análise de variância dos dados indicou que há diferença significativa entre as concentrações testadas, a 1% de probabilidade pelo teste de F. De modo geral, foi possível perceber que o sorbitol discriminou os genótipos, causando diminuição no rendimento de estabilidade de matéria seca.

Tabela 5. Índice de estabilidade de rendimento de matéria seca de 14 genótipos de bananeira em função das diferentes concentrações de sorbitol.

Genótipos	18,2 g L ⁻¹	36,4 g L ⁻¹
003037-02	0,690 bA	0,630 aB
013004-04	0,776 bA	0,567 bB
042023-06	0,812 bA	0,720 aB
042052-03	0,636 bA	0,521 bA
042079-13	0,931 aA	0,792 aA
042085-02	0,969 aA	0,633 aB
086079-10	0,858 aA	0,687 aB
089087-01	0,701 bB	0,563 bB
091087-01	0,920 aA	0,772 aB
091087-02	0,768 bA	0,524 bB
091094-04	0,737 bA	0,364 cB
SH3263	0,695 bA	0,381 cB
Prata Anã	0,955 aA	0,674 aB
BRS Tropical	0,738 bA	0,659 aB

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na concentração 18,2 g L⁻¹ o sorbitol foi capaz de discriminar os diploides em dois grupos. A maiores médias de IERms foram obtidas pelos diploides 042079-13, 042085-02, 086079-10, 091087-01 e pela cultivar Prata Anã. Os menores valores foram obtidos pelos diploides 003037-02, 013004-04, 042023-06, 042052-03, 089087-01, 091087-02, 091094-04, SH3263 e pela cultivar BRS Tropical. Na concentração 36,4 g L⁻¹ houve discriminação dos diploides de três grupos, sendo os 003037-02, 042023-06, 042079-13, 042085-02, 086079-10, e 091087-01 e as cultivares Prata Anã e BRS Tropical os que apresentaram as maiores médias. Os diploides 091094-04 e SH3263 apresentaram os menores valores de IERms.

Em ambas as concentrações, os diploides 042079-13, 042085-02, 086079-10, 091087-01 e a cultivar Prata Anã estiveram entre os de maiores médias de IERms, enquanto os diploides 091094-04 e SH3263 estiveram entre os de médias mais baixas. O fato é um indicativo de maior tolerância ao déficit hídrico in vitro induzido pelo sorbitol dos primeiros para com o segundo.

Os resultados padronizados dos parâmetros de crescimento altura, número de folhas e número de raízes utilizando-se o sorbitol como indutor de estresse osmótico, são apresentados na Tabela 6. A análise de variância dos dados mostrou que não houve interação significativa entre os genótipos e os tratamentos. No entanto, procedeu-se o desdobramento da interação dos fatores mesmo assim.

Tabela 6. Crescimento de 14 genótipos de bananeira sob diferentes concentrações de sorbitol.

Genótipos	Altura		Número de folhas		Número de raízes	
	18,2 g L ⁻¹	36,4 g L ⁻¹	18,2 g L ⁻¹	36,4 g L ⁻¹	18,2 g L ⁻¹	36,4 g L ⁻¹
003037-02	0,529 cA	0,293 eB	0,603 cA	0,477 bB	0,521 cA	0,420 bA
013004-04	0,625 cA	0,302 eB	0,678 cA	0,274 cB	0,685 bA	0,475 bB
042023-06	0,871 aA	0,977 aA	0,718 bA	0,674 aA	0,687 bA	0,620 aA
042052-03	0,767 bA	0,349 eB	0,926 aA	0,525 bB	0,363 dA	0,296 cA
042079-13	0,562 cA	0,343 eB	0,751 bA	0,280 cB	0,733 bA	0,361 cB
042085-02	0,947 aA	0,543 cB	0,811 aA	0,405 cB	0,229 dA	0,261 cA
086079-10	0,773 bA	0,408 dB	0,619 cA	0,440 bB	0,437 cA	0,401 bA
089087-01	0,721 cA	0,519 cB	0,791 bA	0,377 cB	0,588 bA	0,350 cB
091087-01	0,881 aA	0,537 cB	0,844 aA	0,567 aB	0,965 aA	0,429 bB
09108702	0,632 cA	0,313 eB	0,632 cA	0,259 cB	0,488 cA	0,380 cA
091094-04	0,644 cA	0,263 eB	0,494 cA	0,294 cB	0,441 cA	0,241 cB
SH3263	0,725 cA	0,304 eB	0,714 bA	0,342 cB	0,338 dA	0,244 cA
Prata Anã	0,679 cA	0,674 bA	0,619 cA	0,452 bB	0,689 bA	0,554 aA
BRS Tropical	0,577 cA	0,435 dB	0,716 bA	0,497 bB	0,580 bA	0,294 cB

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Todos os parâmetros de crescimento analisados tiveram redução considerada nas plantas sob estresse osmótico em relação às controles. Observou-se que, de modo geral, conforme a concentração do sorbitol aumentou o crescimento das plantas de todos os genótipos diminuiu.

Em relação a altura, verificou-se que na concentração 18,2 g L⁻¹ os diploides 042023-06, 042085-02 e 091087-01 foram os que apresentaram menor redução do parâmetro. As maiores reduções foram obtidas pelos diploides 003037-02, 013004-04, 042079-13, 089087-01, 091087-02, 091094-04, SH3263 e pelas cultivares Prata Anã e BRS Tropical. Para a concentração 36,4 g L⁻¹, o diploide 042023-06 se destacou por apresentar a menor redução do parâmetro. Já os diploides 003037-02, 013004-04, 042052-03, 042079-13, 091087-02, 091094-04 e SH3263 apresentaram as maiores reduções. Destaca-se que em ambas as concentrações os diploide 042023-06 apresentou o melhor resultado, enquanto que os diploides 003037-02, 013004-04, 042079-13, 091087-02, 091094-04 e SH3263 estiveram entre os mais afetados.

Em relação ao número de folhas, verificou-se que na concentração 18,2 g L⁻¹ os diploides 042052-03, 042085-02 e 091087-01 foram os que apresentaram menor redução do parâmetro. As maiores reduções foram obtidas pelos diploides 003037-02, 013004-04, 086079-10, 091087-02, 091094-04 e pela cultivar Prata Anã. Para a concentração 36,4 g L⁻¹, os diploides 042023-06 e 091087-01 se destacaram por apresentarem as menores reduções do parâmetro. Já os diploides 013004-04, 042079-13, 042085-02, 089087-01, 091087-02, 091094-04 e SH3263 apresentaram as maiores reduções. Em ambas as concentrações o diploide 091087-01 esteve entre os mais tolerantes.

Para o parâmetro número de raízes, verificou-se que na concentração 18,2 g L⁻¹ o diploide 091087-01 apresentou-se como mais tolerante. As maiores reduções foram obtidas pelos diploides 042052-03, 042085-02 e SH3263. Para a concentração 36,4 g L⁻¹, os diploides 042023-06 e a cultivar Prata Anã se destacaram por apresentarem as menores reduções do parâmetro. Já os diploides 042052-03, 042079-13, 042085-02, 089087-01, 091087-02, 091094-04, SH3263 e a cultivar BRS Tropical apresentaram os menores valores. Em ambas as concentrações os diploides 042023-06, 091087-01 e a cultivar Prata Anã estiveram entre os mais tolerantes, enquanto que os diploides 042052-03, 042085-02 e SH3263 entre os mais sensíveis.

Destaca-se que os diploides 091087-01, 042085-02 e 042079-13 estiveram entre os melhores para a maioria dos parâmetros e concentrações avaliadas, com ênfase para o 091087-01 que apresentou as maiores médias. Enquanto que os diploides 091094-04, SH3263 e 003037-02 apresentaram as menores. O fato pode ser um indicativo de que os primeiros genótipos sejam mais tolerantes ao déficit hídrico *in vitro* que os demais.

Os valores da matéria fresca das plantas estressadas em relação à massa fresca das plantas controles (IERmf) são apresentados da Tabela 7. Percebe-se que, independente do tempo analisado e para todos os genótipos, o parâmetro de IERmf diminuiu conforme aumentou-se a concentração do sorbitol no meio de cultura. Além disso, no decorrer dos tempos estudados, 15, 30, 45 e 60 dias a relação da massa fresca dos tratamentos e do controle diminuiu. Isso se deve ao fato de que as plantas controles continuaram o seu desenvolvimento de forma natural, enquanto que as plantas dos tratamentos foram afetadas pelo estresse osmótico.

Analisando-se os dados, verificou-se que na concentração 18,2 g L⁻¹ os diploides 042023-06, 086079-10, 042085-02, 091087-01, SH3263 e a cultivar Prata Anã apresentaram as menores reduções de massa fresca. As maiores reduções foram obtidas pelos diploides 003037-02, 091087-02 e pela cultivar BRS Tropical. Para a concentração 36,4 g L⁻¹, os diploide 042023-06 e 091087-01 se destacaram como os de menor redução de peso fresco. Já os diploides 042085-02, 086079-10, 091094-04 e 091087-02 apresentaram as maiores reduções. Em ambas as concentrações os diploides 042023-06 e 091087-01 apresentaram as menores reduções, enquanto que o diploide 091087-02 se destacou como o de maior redução.

Tabela 7. Índice de estabilidade de peso fresco de 14 genótipos de bananeira no decorrer dos dias em função de diferentes concentrações de sorbitol.

Genótipos	18,2 g L ⁻¹				36,4 g L ⁻¹			
	15	30	45	60	15	30	45	60
003037-02	0,598 aA	0,405 bB	0,438 bB	0,423 cB	0,523 bA	0,343 bB	0,324 cB	0,317 aB
013004-04	0,537 bA	0,519 aA	0,489 aA	0,462 cA	0,478 cA	0,392 bAB	0,331 cBC	0,281 bC
042023-06	0,605 aA	0,581 aA	0,548 aA	0,548 bA	0,719 aA	0,697 aA	0,655 aA	0,337 aB
042052-03	0,636 aA	0,449 bB	0,532 aB	0,484 cB	0,403 cA	0,319 cAB	0,290 cB	0,283 bB
042079-13	0,427 bA	0,514 aA	0,505 aA	0,528 bA	0,370 cA	0,417 bA	0,388 bA	0,320 aA
042085-02	0,664 aA	0,590 aA	0,590 aA	0,555 bA	0,439 cA	0,360 bAB	0,329 cBC	0,276 bC
086079-10	0,683 aA	0,554 aB	0,573 aB	0,518 bB	0,384 cA	0,359 bAB	0,336 cAB	0,282 bB
089087-01	0,527 bA	0,519 aA	0,509 aA	0,459 cA	0,416 cA	0,384 bAB	0,364 bAB	0,311 aB
091087-01	0,600 aA	0,503 aA	0,518 aA	0,563 bA	0,536 bA	0,427 bB	0,393 bB	0,390 aB
091087-02	0,474 bA	0,418 bA	0,430 bA	0,412 cA	0,432 cA	0,311 cB	0,247 cBC	0,213 cC
091094-04	0,519 bAB	0,551 aAB	0,501 aA	0,447 cB	0,346 cA	0,239 cBC	0,324 cAB	0,181 cC
SH3263	0,566 bBC	0,526 aC	0,648 aAB	0,707 aA	0,399 cA	0,364 bAB	0,352 cAB	0,298 bB
Prata Anã	0,634 aA	0,553 aA	0,527 aA	0,560 bA	0,433 cA	0,330 cB	0,434 bA	0,406 aAB
BRS Tropical	0,548 bA	0,422 bB	0,388 bB	0,407 cB	0,384 cAB	0,291 cB	0,422 bA	0,348 aA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A comparação entre os dois indutores de estresse osmótico utilizados em relação ao índice de estabilidade de rendimento de matéria seca é apresentada na Tabela 8.

Tabela 8. Comparação entre PEG e sorbitol em relação ao IERms.

Genótipos	PEG	Sorbitol
003037-02	0,453 cB	0,663 bA
013004-04	0,367 cB	0,672 bA
042023-06	0,528 bB	0,757 aA
042052-03	0,388 cB	0,584 cA
042079-13	0,572 bB	0,847 aA
042085-02	0,656 aA	0,717 aA
086079-10	0,557 bB	0,760 aA
089087-01	0,508 bB	0,632 bA
091087-01	0,647 aB	0,827 aA
091087-02	0,407 cB	0,634 bA
091094-04	0,485 bA	0,534 cA
SH3263	0,316 dB	0,524 cA
Prata Anã	0,410 cB	0,756 aA
BRS Tropical	0,285 dB	0,689 bA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Ambos indutores discriminaram os genótipos e causaram diminuição no rendimento de estabilidade matéria seca. No entanto, o sorbitol apresentou médias superiores para todos os genótipos.

Os diploides 042085-02, 091087-01, SH3263 e 091094-04 merecem atenção especial. Os dois primeiros apresentaram os melhores rendimentos para ambos os indutores, enquanto que os dois últimos apresentaram os rendimentos mais baixos.

Através da figura 1, foi possível verificar o comportamento de tais genótipos.

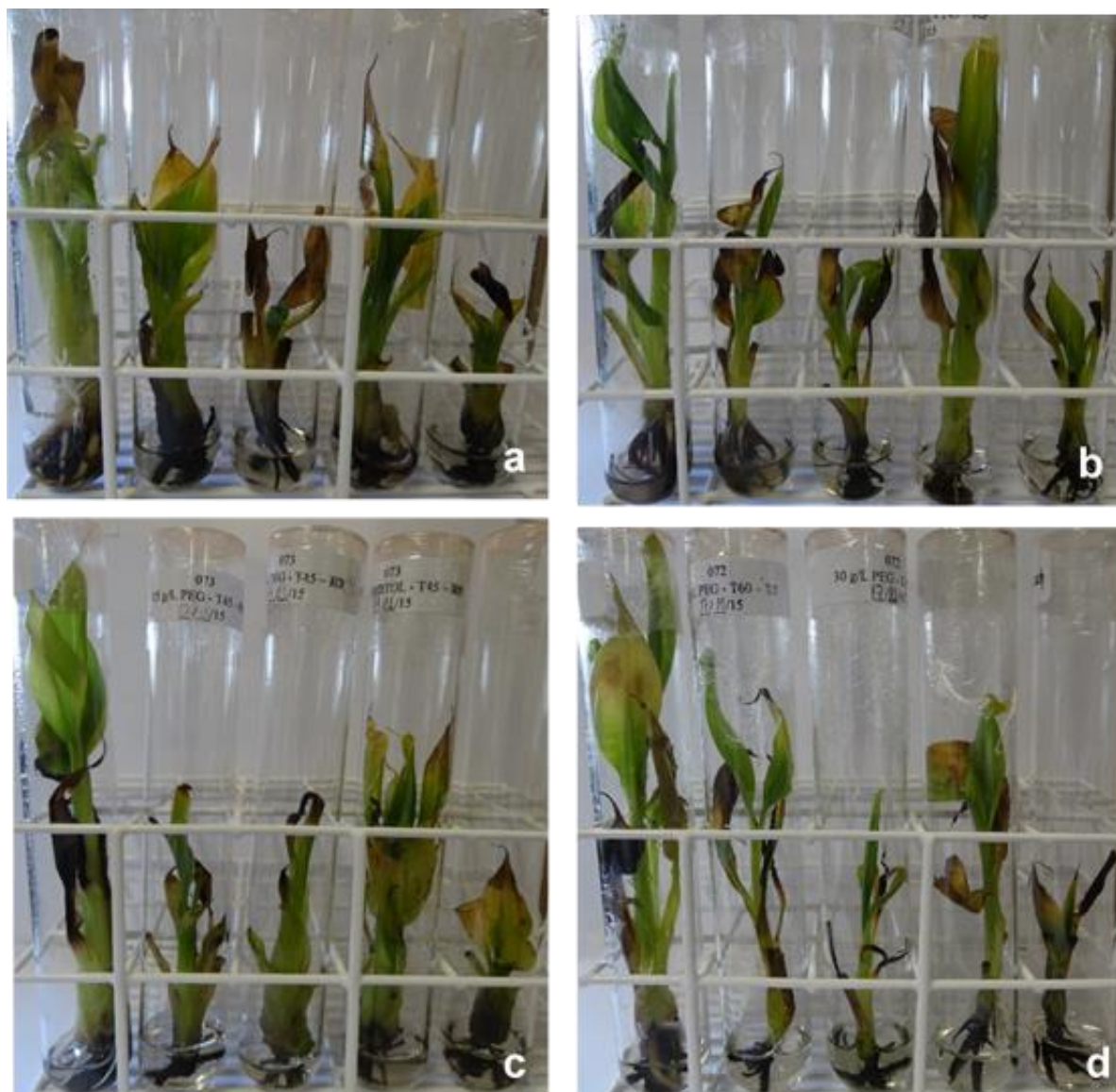


Figura 1. Crescimento in vitro de híbridos diploides de banana em meio de cultura sem indutor de estresse osmótico e contendo 15 e 30 g L⁻¹ de PEG e 18,2, 36,4 g L⁻¹ de sorbitol. a) 042085-02; b) 091087-01; c) SH3263; d) 091094-04.

DISCUSSÃO

A utilização do meio de cultura líquido permitiu a renovação do meio, garantindo que os nutrientes estivessem sempre disponíveis nas concentrações recomendadas e evitou que o agente solidificante contibuisse para a diminuição do potencial osmótico do meio. Estudos têm defendido o uso de meio de cultura líquido em trabalhos de seleção in vitro de genótipos tolerantes ao déficit hídrico (EBRAHIM et al., 2006; EBRAHIM et al., 2000; RUKUNDO et al., 2012).

A redução do crescimento é um importante parâmetro para julgar a tolerância da planta ao estresse (BOUSLAMA e SCHAPPAUGH, 1984). Como o crescimento está diretamente relacionado com a massa, a possível perda de massa da planta na condição de estresse é uma análise fundamental e decisiva na discriminação dos genótipos tolerantes (VANHOVE et al., 2012). A altura, número de folhas e número de

raízes são importantes e ajudam a entender o possível mecanismo de tolerância que a planta desenvolve na condição de estresse (RUKUNDO et al., 2012).

O estresse osmótico causado pelo PEG e sorbitol afetou o crescimento das plantas, havendo diminuição nos parâmetros de crescimento altura, peso seco, peso fresco, número de folhas e número de raízes. A diminuição desses parâmetros em plantas submetidas à condição de estresse tem sido relatada em diversos estudos de tolerância a seca (DEBLONDE e LEDENT, 2001; TOURNEUX et al., 2003; LAHLOU e LEDENT, 2005), inclusive em bananeiras (MAHOUACHI, 2009; EBRAHIM, et al., 2006; VANHOVE et al., 2012; BIDABADI, 2012; RUKUNDO et al., 2012; VAN ASTEN, 2011).

Ambos os indutores (PEG e sorbitol) foram capazes induzir o estresse osmótico nas plantas, causando redução de crescimento de modo a discriminá-las de seus respectivos controles. No entanto, as maiores médias foram obtidas utilizando-se o sorbitol. O observado indica que o PEG foi mais agressivo para as plantas. De fato, alguns estudos indicam que o PEG pode conter componentes tóxicos que inibem o crescimento das plantas (PLAUT E FEDERMAN, 1985). No entanto, o estudo realizado por Lawlor, 1970, evidenciou que os efeitos deletérios desse polímero ocorrem somente quando o mesmo penetra no tecido vegetal; por exemplo quando raízes são danificadas.

Os diploides 042085-02 e 091087-01 apresentaram os maiores rendimentos de matéria seca. Estes híbridos são resultantes do cruzamento entre M53 x 015003-01 (Madu x Calcutta 4) e do cruzamento 001016-01 (Borneo x Guyod) x 003038-01 (Calcutta 4 x Heva), respectivamente. Por outro lado, os diploides SH3263 e 091094-04 apresentaram os rendimentos mais baixos.

Observou-se que o diploide Calcutta 4 faz parte da genealogia dos dois genótipos de melhores rendimentos estudados. Enquanto que o híbrido SH3263 por si só foi o genótipo de menor rendimento, e faz parte da genealogia do outro de menor rendimento. De forma interessante, o híbrido 001016-01 (Borneo x Guyod) faz parte da genealogia de um genótipo de melhor rendimento e de outro de pior. Tomadas em conjunto essas informações levam a hipótese de que o diploide Calcutta 4 esteja relacionado com o comportamento de maior tolerância à seca, e o híbrido SH3263 de menor tolerância a este estresse.

Ao estimar a divergência genética entre 38 diploides de bananeira utilizados pelo programa de melhoramento de banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Amorim et al. (2008) constataram que o diploide Calcutta aparece em 70% das genealogias. Esse diploide é amplamente utilizado em vários programas de melhoramento de banana como fonte de alelos para resistência à sigatoka-negra, causada por *Mycosphaerella fijiensis* (PILLAY et al., 2001). Diversos estudos que envolvem tolerância ao estresse salino têm utilizado esse diploide e apresentado resultados divergentes. Segundo os estudos de Gomes et al. (2002) e Gomes et al. (2004) o genótipo Calcutta apresentou comportamento sensível ao estresse salino. Por outro lado, no estudo conduzido por Junior (2012) a produção relativa da biomassa seca da parte aérea do genótipo Calcutta foi próximo a 70%, caracterizando este genótipo como tolerante e promissor para ser integrado a programas de melhoramento (JUNIOR, 2012).

Vale destacar que apesar dos diploides 091087-01 e 091087-02 serem irmãos completos apresentaram comportamento oposto com relação à tolerância ao estresse hídrico, sendo o primeiro o mais tolerante. Isto sugere a ocorrência de segregação de genes responsáveis por conferir tolerância a este estresse biótico.

A importância de se utilizar diploides nos programas de melhoramento genético está no fato de que a grande maioria das características agrônômicas de interesse (ex.: partenocarpia, número de pencas, frutos compridos, cachos bem formados e resistência a doenças) encontra-se dispersa em um grande número de diploides selvagens. Os diploides selvagens do grupo genômico AA como *Musa acuminata* ssp. burmannica, *M. acuminata* ssp. burmannicoides, *M. acuminata* ssp. malaccensis e *M. acuminata* ssp. zebrina, têm sido amplamente utilizados em programas de melhoramento genético como doadores de genes para tolerância à estresses bióticos, no entanto, são considerados altamente sensíveis à seca (RAVI et al., 2013, ROBINSON; SAUCO, 2010). Sabe-se, no entanto, que a presença do genoma B (*Musa balbisiana*) confere maior tolerância à seca em bananas do que o genoma A (*Musa acuminata*) (RAVI et al., 2013, ROBINSON; SAUCO, 2010, THOMAS et al. 1998).

Silva et al. (2013) destacaram a importância do desenvolvimento de diploides melhorados visando a obtenção de parentais masculinos com elevado número de frutos, porte baixo, resistentes às sigatokas amarela e negra, mal-do-panamá e nematoides. O programa de melhoramento genético de bananeira da Embrapa utiliza 39 diploides melhorados (DM) como parentais masculinos, visando ao desenvolvimento de híbridos triploides e tetraploides. Nessa coleção, existem diploides de primeira geração (hibridação entre dois diploides selvagens) e de segunda geração (hibridação entre diploides melhorados). Esses DMs são resistentes à Sigatoka-amarela e ao mal-do-Panamá. Muitos mostram-se também resistentes à Sigatoka-negra e a nematoides.

Por fim, é importante destacar que a identificação da tolerância de genótipos aos fatores de estresses ambientais demanda estudos in vitro e em campo, em diferentes ecossistemas (DONATO et al., 2015). Sabe-se que estudos de campo revelam os efeitos integrados das condições ambientais sobre a fisiologia das bananeiras. Portanto, correlações entre essas respostas e os fatores climáticos indicam tendências, visto que há influência de fatores não controlados. Já em ambientes com condições controladas verifica-se maior precisão nas associações entre trocas gasosas e fatores climáticos (CABRERA e GÁLAN SAÚCO, 2005). Por outro lado, Vanhove et al. (2012) argumentaram que apesar dos experimentos conduzidos in vitro e em casa de vegetação aumentarem o controle experimental, possuem menor relevância fisiológica comparado à estudos de campo, uma vez que estes se aproximam mais das condições agrícolas, o que possibilita maior especificidade no âmbito local, possibilitando construir soluções locais.

CONCLUSÕES

- Plantas cultivadas sob estresse osmótico induzido pelo PEG tem maior redução de crescimento que aquelas cultivadas em contato com o sorbitol.
- Os diploides 042085-02 e 091087-01 são os mais tolerantes ao déficit hídrico in vitro dentre os genótipos avaliados nesse estudo.
- Os diploides SH3263 e 091094-04 são os mais sensíveis ao déficit hídrico in vitro dentre os genótipos avaliados nesse estudo.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, E.P.; REIS, R.V.; SANTOS-SEREJO, J.A.; AMORIM, V.B.O.; SILVA, S.O. Variabilidade genética estimada entre diplóides de banana por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1045-1052, 2008.
- BANANUKA, J. A.; RUBAIHAYO, P.T.; TENYWA, M.M. Reactions of *Musa* genotypes do drought stress. **African Crop Science Journal**, v.7, p.333-339, 1999.
- BIDABADI, S.S.; MEON, S.; WAHAB, Z.; SUBRAMANIAM, S.; MAHMOOD, M. In vitro selection and characterization of water stress tolerant lines among ethylmethanesulphonate (EMS) induced variants of banana (*Musa* spp., with AAA genome). **Australian Journal of Crop Science**, v. 6, p.567-575, 2012.
- BOUSLAMA M, SCHAPPAUGH WT. Stress tolerance in soybeans. I. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. **Crop Science**, v.24, p.933–937, 1984.
- CABRERA, J.C.; GALÁN SAÚCO, V. Evaluation of the banana cultivars Zelig, Grande Naine and Gruesa under different environmental conditions in the Canary Islands. **Fruits**, v. 60, p.357-369, 2005.
- DEBLONDE, P.M.K; LEDENT, J.F. Effects of moderate drought conditions on green leaf number stem height, leaf length and tuber yield of potato cultivars. **European Journal of Agronomy**, v.14, p.31-41, 2001.
- DONATO, S. L. R.; ARANTES, A. M.; COELHO, E.F.; RODRIGUES, M. G. V. R. Considerações ecofisiológicas e estratégias de manejo da bananeira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 8.; Anais... Montes Claros (MG), 2015.
- EBRAHIM M.K.H, IBRAHIM I.A, EMARA H.A, KOMOR E. Impact of polyethylene glycol – induced water stress on growth and development of shoot tip cultures from different banana (*Musa* spp.) cultivars. **Journal of Applied Horticulture**, v.8, p.53 – 57, 2006.
- EBRAHIM, M.K.H; IBRAHIM, I. Influence of medium solidification and pH value on in vitro propagation of *Maranta leuconeura* cultivar. Kerchoviana. **Scientia Horticulturae**, v.86, p.211-221, 2000.
- FAO. **Banana market review 2013-2014**: Rome, Italy, 2015, 8p.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, p.109-112, 2014.
- GOMES, E.W.F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; CAMARA, T.R.; SILVA, S.O. Genotypes of banana (*Musa* spp.) under saline stress: tolerance and sensitivity. **InfoMusa**, v.11, p.13-18, 2002.

GOMES, E.W.F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; SILVA, S.O; CAMARA, T.R; MEUNIER, M.J. Diplóides (AA) de bananeira submetidos ao estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.525-531, 2004.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, v.29, p.1-79, 2016.

JENNY, C.F.; CARREEL, F.; TOMEKPE, K.; PERRIER, X.; DUBOIS, C.; HORRY, J.P.; MONTCEL, H.T. Les bananiers.In: HAMON, P.; SEGUIN, M.; PERRIER, X.; GLAZMAN, J.C. (Ed). **Divesité génétique des plantes tropicales**, p.113-139, 1999.

JUNIOR, G. S. S.; MORAIS, M. B.; CAMARAS, T.R.; WILADINO, L. Crescimento de genótipos diplóides de bananeira submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.16, p.1145–1151, 2012.

LAHLOU, O; LEDENT, J.F. Root mass and depth, stolons and roots formed on stolons in four cultivares of potato under water stress. **European Journal of Agronomy**, v. 22, p.159-173, 2005.

LAWLOR, D. W. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v.64, p. 83–108, 1970.

MAHOUACHI, J. Changes in nutrient concentrations and leaf gas exchange parameters in banana plantlets under gradual soil moisture depletion. **Scientia Horticulturae**, v. 120, p. 460-466, 2009.

MOREIRA-MATTOS, L.A. Respostas fisiológicas e análise proteômica de bananeiras submetidas à deficiência hídrica. 2013. 108 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2013.

MURASHIGE, T; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473–497, 1962.

NEVES, D.M.; COELHO FILHO, M. A.; BELLETE, B.S.; SILVA, M. F. G. F.; SOUZA, D. T.; SOARES FILHO, W. S; COSTA, M. G. C.; GESTEIRA, A. S. Comparative study of putative 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase and abscisic acid accumulation in the responses of Sunki mandarin and Rangpur lime to water deficit. **Molecular Biology Reports**, v.40, p.5339–5349, 2013.

PLAUT, Z.; FEDERMAN, E. A simple procedure to overcome polyethelene glycol toxicity on whole plants. **Plant Physiology**, v.79, p.559-61, 1985.

PILLAY, M.; OGUNDIWIN, E.; NWAKANMA, D.C.; UDE, G.; TENKOUANO, A. Analysis of genetic diversity and relationships in East African banana germoplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, v.102, p.965-970, 2001.

RAVI, I. Y; UMA, S.; VAGANAN, M.M.; MUSTAFFA, M.M. Phenotyping bananas for drought resistance. *Frontiers in Physiology*. **Plant Physiology**, v.4, p.1-15, 2013.

ROBINSON, J. C., GALÁN SAÚCO, V. **Bananas and plantains**. 2nd ed. Oxford: CAB International. 311p. (Crop production science in horticulturae series, 19). 2010.

RUKUNDO, P; CARPENTIER, S.C; RONY, R. Development of in vitro technique to screen for drought tolerant banana varieties by sorbitol induced osmotic stress. **African Journal of Plant Science**, v.6, p.416-425, 2012.

SAMPAIO, A.H.R.; COELHO, M.A.; COELHO, E.F.; DANIEL, R.; MACHADO, V.V.; CARVALHO, G.C.; SANTANA, E.B. Deficit hídrico e secamento parcial do sistema radicular em pomar de lima ácida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.1141-1148, 2010.

SILVA, S. de O; AMORIM, E.P; SANTOS-SEREJO, J.A; FERREIRA, C.F; RODRIGUEZ, M.A.D. Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.919-931, Setembro, 2013.

SILVA, S. de O; MORAIS, L.S.; SANTOS-SEREJO, J.A. Melhoramento genético de bananeira para resistência a doenças. In: ROMÃO, R.L.; RAMOS, S.R.R. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais no Estado da Bahia**. Feira de Santana: UEFS, 2005. p.49-67.

SIMMONDS, N. W. (1966). **Bananas**. London: Longmans.

TOURNEUX, C. DEVAUX A, CAMACHO MR, MAMANI P, LEDENT JF. Effects of water shortage on six potato genotypes in the highlands of Bolivia (I): morphological parameters, growth and yield. **Agronomie**. v. 23, p.169–179, 2003.

THOMAS, D. S.; TURNER, D. W. Leaf gas exchange of droughted and irrigated banana cv. Williams (*Musa* spp.) growing in hot, arid conditions. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.73, p.419-429, 1998.

VAN ASTEN, P.J.A; FERMONT, A.M; TAULYA, G. Drought is a major yield loss factor for rainfed East African highland banana. **Agricultural Water Management**, v. 98, p. 541-552, 2011.

VANHOVE, A.C.; VERMAELEN, W.; PANIS, B.; SWENNEN, R.; CARPENTIER, S.C. 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.1-10, 2012.

UMEZAWA, T. FUJITA, M.; FUJITA, Y. SHINOZAKI, K.Y.; SHINOZAKI, K. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. **Current Opinion in Biotechnology**, v.17, p.113–122, 2006.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em bananeiras, a seleção convencional de genótipos resistentes ao déficit hídrico é dificultada pelo longo ciclo da cultura e pela necessidade de grandes áreas para o plantio. Para contornar este problema métodos alternativos têm sido desenvolvidos de forma a simular condições de estresse hídrico in vitro utilizando indutores que reduzem o potencial osmótico do meio de cultura, reduzindo assim o tempo de avaliação e seleção de genótipos promissores.

O modelo de crescimento in vitro, utilizando-se as concentrações de 15 g L⁻¹ de PEG e 36,4 g L⁻¹ M de sorbitol se mostrou útil para a identificação de genótipos tolerantes ao déficit hídrico, sendo um método para distinguir as cultivares de acordo com suas respostas morfológicas e fisiológicas ao estresse hídrico. Dessa forma, a indução de estresses abióticos in vitro de materiais do banco de germoplasma, com posterior seleção dos genótipos tolerantes são vantajosas para trabalhos de melhoramento genético que visam a geração de cultivares tolerantes às condições adversas.

Vale ressaltar que estudos sobre tolerância à seca em banana, principalmente os de simulação de condições de estresse hídrico em plantas cultivadas in vitro, são escassos e ainda em fase inicial de desenvolvimento e também por isso trabalhos que envolvam esses aspectos, são fundamentais para o melhoramento genético da espécie. Esse trabalho avaliou 12 diploides gerados pelo programa de melhoramento genético de bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura, no entanto o programa conta com um total de 31 diploides melhorados (DM). Com a metodologia de seleção in vitro de genótipos de bananeira para tolerância a seca definida a partir dos nossos resultados, as avaliações e seleções seguintes serão facilitadas e desenvolvidas com menor espaço de tempo e volume de trabalho. A avaliação desses diploides melhorados de bananeiras quanto à tolerância à seca é de suma importância pois permitirá a identificação de parentais a serem utilizados em cruzamentos, possibilitando o desenvolvimento de materiais tolerantes às condições de solos com déficit hídrico.

É importante destacar que a identificação da tolerância de genótipos aos fatores de estresses ambientais demanda estudos in vitro e em campo, em diferentes ecossistemas. Sabe-se que estudos de campo revelam os efeitos integrados das condições ambientais sobre a fisiologia das bananeiras. Portanto, é necessário realizar avaliações fisiológicas em campo dos genótipos pré-selecionados in vitro, a fim de confirmar a tolerância e ajudar em entender o mecanismo desenvolvido pela planta. Além disso, análises adicionais de biologia molecular, em especial de proteômica, são necessárias para ajudar a elucidar e caracterizar o conjunto de proteínas expressas nas plantas cultivadas sob estresse hídrico, oferecendo informação em nível molecular da variabilidade genética que é efetivamente expressa no genoma de uma possível planta tolerante previamente selecionada.