

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ANÁLISE PROTEÔMICA DE
BANANEIRAS SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

LORENNALVES MATTOS-MOREIRA

**CRUZ DAS ALMAS
FEVEREIRO DE 2013**

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ANÁLISE PROTEÔMICA DE BANANEIRAS SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

LORENNALVES MATTOS-MOREIRA

Engenheira Agrônoma - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2007
Mestre em Recursos Genéticos Vegetais – Universidade Estadual de Feira de
Santana, 2009

Tese submetida ao Colegiado de Curso do
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo
da Bahia, como requisito parcial para obtenção
do Grau de Doutor em Ciências Agrárias, Área
de Concentração Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

Co-Orientador: Dr. Edson Perito Amorim

Dra. Cláudia Fortes Ferreira

Dr. Carlos Priminho Pirovani

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CRUZ DAS ALMAS – BAHIA- 2013

M444

Mattos-Moreira, Lorena Alves.
Respostas fisiológicas e análise proteômica de bananeiras submetidas à deficiência hídrica / Lorena Alves Mattos Moreira._Cruz das Almas, BA, 2013.
108f.; Il.

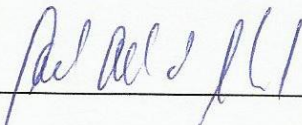
Orientador: Carlos Alberto da Silva Ledo.
Co-orientador: Edson Perito Amorim.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

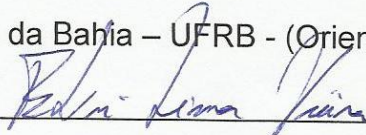
1.Banana - Aspectos fisiológicos. 2.Banana - Melhoramento genético. 3.Deficiência hídrica – Efeito da seca. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Ferreira, Cláudia Fortes. IV.Pirovani, Carlos Priminho. V.Título.

CDD:634.772

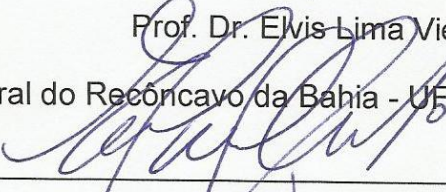
**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA
LORENNALVES MATTOS-MOREIRA**



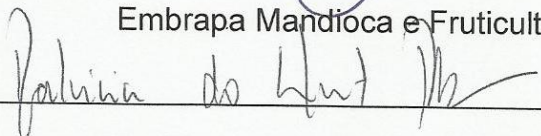
Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB - (Orientador)



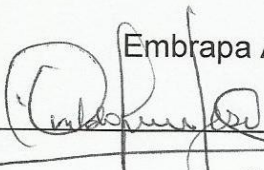
Prof. Dr. Elvis Lima Vieira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB



Dr. Eduardo Augusto Girardi
Embrapa Mandioca e Fruticultura



Dra. Patrícia do Nascimento Bordallo
Embrapa Agroindústria Tropical



Dr. Onildo Nunes de Jesus
Embrapa Mandioca e Fruticultura

Tese homologada pelo Colegiado do Curso de Doutorado em Ciências Agrárias em..... Conferindo o Grau de Doutor em Ciências Agrárias em

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ANÁLISE PROTEÔMICA DE BANANEIRAS
SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

LORENNALVES MATTOS-MOREIRA

**CRUZ DAS ALMAS
FEVEREIRO DE 2013**

*“Mude suas opiniões,
mantenha os seus princípios
troque suas folhas e
mantenha suas raízes.”*

Victor Hugo

*A todos aqueles que acreditam
que o futuro irá melhorar.*

DEDICO

A Deus,

*Que foi um refúgio nas horas
mais decisivas e um conforto
diante da minha ansiedade.*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força, conquistas e presença constante em minha vida. À fé que é o maior impulso para a determinação e obstinação.

Aos meus pais David Mattos de Souza e Zélia Alves Mattos, pelo apoio, compreensão e amor. Por saber que não importa em qual circunstância eu estiver, sempre poderei contar com eles.

Ao meu esposo, Antônio Moreira, por participar diretamente na realização deste trabalho, pelo amor, pela compreensão, companheirismo e por ser fonte da minha serenidade.

Ao meu irmão David Júnior pelo apoio e incentivo e destreza das suas palavras realistas e verdadeiras.

Ao meu orientador Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo, pela compreensão, pelos ensinamentos, oportunidades e bons momentos durante o Doutorado.

Ao Dr. Edson Perito Amorim, pela colaboração participativa, pelos conhecimentos, oportunidades, incentivo, conselhos e amizade, por ser um exemplo de pessoa a ser seguida, fonte inspiradora de competência e sabedoria. Um grande profissional que serve de espelho para muitos.

A Dr^a Cláudia Fortes Ferreira, pela amizade, atenção, disponibilidade em ajudar sempre, pelos ensinamentos e colaboração na elaboração e execução deste trabalho.

Ao Professor Dr. Carlos Priminho da UESC, pela disponibilidade, acompanhamento e colaboração nas análises proteômicas.

Ao Dr. Maurício Coelho.

A amiga Tamyres Amorim pelos momentos de descontração, paciência, conselhos e ajuda na execução dos trabalhos.

Ao doutorando Helder Sampaio que sempre que solicitado esteve presente durante as análises e na execução dos trabalhos.

Obrigada pelas suas ideias que me nortearam nos momentos de dúvidas.

Aos doutorandos, Lauro Lessa e Vânia Oliveira pela ajuda nas análises e amizade.

As Dr^{as} Taliane Soares e Juliana Alves pela amizade, apoio e discussões sempre produtiva.

Ao estagiário de iniciação científica Caio Fernandes.

Aos funcionários e estagiários do laboratório de Práticas Culturais da Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo apoio na implantação do experimento.

Aos estagiários do laboratório de Irrigação e Drenagem da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Aos estagiários do CBG - Centro de Biotecnologia e Genética da UESC, especialmente Edson, Leila, Fabiana, Josie e Bárbara pelo apoio nas análises.

Ao Dr. Samuel Saito e Mcs. Juliano Santana pela atenção e auxílio no espectrômetro de massas.

Aos Funcionários da Pós-graduação da UFRB em especial à Deyse Gonçalves e Regane Cardoso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pelo apoio e oportunidade.

À FAPESB, pela concessão da bolsa de Doutorado.

Enfim, agradeço a todos que me ajudaram direta ou indiretamente no desenvolvimento desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	1
Capítulo 1	
IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA TOLERANTES À DEFICIÊNCIA HÍDRICA	18
Capítulo 2	
RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA SUBMETIDOS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA	44
Capítulo 3	
ANÁLISE PROTEÔMICA DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA CONTRASTANTES PARA RESPOSTA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA	69
CONSIDERAÇÕES FINAIS	108

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ANÁLISE PROTEÔMICA DE BANANEIRAS SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

Autora: Lorena Alves Mattos-Moreira

Orientador: Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

RESUMO: A bananeira é uma das fruteiras mais consumidas em diversas regiões do mundo. No Brasil, a cultura da bananeira ocupa o segundo lugar em volume de frutas produzidas e consumidas e no país a quarta posição em área colhida. A seca é um problema que causa limitação na produtividade dessa cultura e o aquecimento global que vêm ocorrendo será um problema preocupante para as próximas décadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da deficiência hídrica por secamento contínuo do solo em variedades comerciais de bananeira (*Musa* spp). e identificar quais proteínas estão relacionadas à tolerância a seca. O trabalho foi dividido em três experimentos conduzidos em casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em delineamento inteiramente casualizado. No primeiro experimento foram avaliados vinte e seis genótipos comerciais com base nas variáveis fisiológicas (condutância estomática, temperatura da folha e densidade de raiz) e selecionando quatro variedades contrastantes (BRS Tropical, FHIA 23, Prata Anã e YB4247) diante da imposição da deficiência hídrica. No segundo experimento utilizou-se as quatro variedades selecionadas incluindo as variáveis biométricas e pressão de turgescência, confirmando a condição de tolerância. Dois dos genótipos contrastantes o BRS Tropical e Prata Anã foram utilizados no terceiro experimento do estudo proteômico e identificação de proteínas relacionadas à deficiência hídrica. Dentre as proteínas, as que foram encontradas em maior abundância nas raízes das plantas estressadas foram as ATPases e as proteínas de choque térmico; que exercem um papel importante nas respostas à deficiência hídrica.

Palavras-chave: *Musa* spp., tolerância à seca, melhoramento genético.

PHYSIOLOGICAL RESPONSES AND PROTEOMIC ANALYSIS OF BANANA SUBMITTED TO WATER STRESS

Author: Lorena Alves Mattos-Moreira

Adviser: Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

ABSTRACT: Banana is one of the most consumed fruits in several regions of the world. In Brazil, banana plantations ranks second in volume of fruit produced and consumed in the country and fourth in harvested area. Drought is a problem that causes limitation in crop yield and global warming is an issue of concern for the coming decades. The aim of this study was to evaluate the effect of water stress by continuous drying of the soil in commercial banana (*Musa* spp.) varieties and to identify which proteins are related to drought tolerance. The work was divided into three experiments conducted in a greenhouse at Embrapa Cassava and Fruit in a completely randomized design. In the first experiment were evaluating twenty-six commercial genotypes based on physiological variables (stomatal conductance, leaf temperature and density of roots) and selecting four contrasting varieties (BRS Tropical, FHIA 23, Prata Anã and YB4247) before the imposition of water stress. In the second experiment we used the four varieties selected biometric variables including turgor pressure and confirming the condition of tolerance. Two contrasting genotypes BRS Tropical and Prata Anã for the proteomic study and identification of proteins related to water deficit. Among the proteins which were found in greater abundance in roots of stressed plants were ATPase and heat shock proteins, which play an important role in responses to water deficit.

Key words: *Musa* spp., drought tolerance, genetic breeding

Abreviaturas e Símbolos

ACN – Acetonitrila

AMBIC – Bicarbonato de amônio

DTT – Ditioneitol

EDTA – Etilenodiaminatetracetato

IEF – Focalização isoeletrica

M – Molar

MALDI – *Matrix-Assisted Laser Desorption*.

MS – Espectrometria de Massas

mg L⁻¹ – Miligramas por Litro

pI – ponto isoeletrico

PVPP – Polivinilpolipirrolidona

Q-TOF – *Quadruple Time of Flight*

SDS – Dodecil sulfato de sódio

SDS PAGE – Eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS

TCA – Ácido tricloroacético

TDR – Reflectometria do domínio do tempo

TEMED – Tetrametiletilenodiamina

TOF – *Time-of-flight*

µg – Microgramas

µL – Microlitro

µM – Micromolar

2D – Gel em duas dimensões

INTRODUÇÃO

A Bananeira

As bananeiras produtoras de frutos comestíveis pertencem à classe das Monocotiledôneas, ordem citaminales, família *Musaceae*, subfamília *Musoideae*, gênero *Musa* e seções *Eumusa* e *Australimusa* (DANTAS et al., 1999).

As cultivares de bananeira evoluíram, na grande maioria, a partir da espécie *Musa acuminata* Colla ou de hibridações entre essa espécie e *Musa balbisiana* Colla, ambas diploides. As bananeiras com frutos comestíveis pertencentes à seção *Eumusa* possuem 22, 33 ou 44 cromossomos, cujo número básico ($n = 11$) ou genômico é representado pelas letras A (*M. acuminata*) e B (*M. balbisiana*), de modo que as cultivares correspondentes aos números são, respectivamente, diploides (AA, BB e AB), triploides (AAA, AAB e ABB) e tetraploides (AAAA, AAAB, AABB e ABBB) (SIMMONDS e SHEPHERD, 1955). As cultivares triploides são geralmente mais numerosas e importantes economicamente, enquanto que as diploides e tetraploides são encontradas em menor número (SHEPHERD, 1984; SILVA et al., 1999).

Importância socioeconômica da bananicultura

A fruticultura é um dos principais ramos da agricultura que vem contribuindo para o crescimento de países tropicais e subtropicais em todo o mundo. Dentre as fruteiras mais importantes economicamente, a bananeira se destaca como uma das principais. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, em 2011, a banana foi produzida em mais de 130 países, com uma produção mundial de aproximadamente 100 milhões de toneladas (FAO, 2013). No Brasil, a região Nordeste se destaca como a maior produtora, responsável por 37,3% dessa produção, sendo o Estado da Bahia o seu maior produtor (40,2%) e segundo maior em nível nacional (15,3%), perdendo apenas para São Paulo com 18,5%. Em 2011, o Brasil alcançou produtividade média de $14,54 \text{ t ha}^{-1}$ com produção de

aproximadamente 7 milhões de toneladas (IBGE, 2013). Esses números demonstram a importância dessa cultura na geração direta e indireta de empregos, sendo responsável pela renda de milhões de famílias brasileiras e assim exercendo um papel sócio-econômico altamente relevante para a região.

Necessidade hídrica da bananeira

Devido à morfologia e hidratação dos tecidos, o consumo de água pela bananeira é elevado e constante. As maiores produções estão associadas a uma precipitação total anual de 1.900 mm, bem distribuída no decorrer do ano, ou seja, a uma deficiência hídrica anual de 0 mm, que corresponde à ausência de estação seca. A cultura não se desenvolve satisfatoriamente quando a deficiência hídrica anual é superior a 80 mm, em relação ao balanço hídrico, conseqüentemente afetando a produção, a produtividade e a qualidade do produto (BRUNINI, 1984). Para a obtenção de colheitas economicamente rentáveis, considera-se suficiente uma precipitação de 100 a 180 mm mês⁻¹, bem distribuída no ano (ALVES, 1997).

Os problemas atuais enfrentados na cultura da bananeira são vários, que abrangem desde a produtividade e qualidade dos frutos, a questões mais específicas, como resistência a doenças e tolerância ao estresse hídrico (SILVA et al., 2004, CORDEIRO et al., 1997), esse último sendo considerado o problema grave devido às mudanças climáticas nos últimos anos.

A deficiência hídrica causa grandes impactos no crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo levar a grandes perdas e total colapso da cultura (PEARSON et al. 2003, VALLIYODAN et al., 2006, GAZANCHIAN et al., 2007).

Os sistemas de cultivo da bananeira podem ser classificados em dois tipos, o cultivo de sequeiro e o cultivo irrigado. Regiões onde prevalece o cultivo em sequeiro enfrentam diversos problemas, pois a bananeira apresenta alta demanda hídrica. A produtividade das plantas é limitada pela água, e depende não só da quantidade de água disponível, mas também da eficiência de seu uso pelo organismo (SALAMONI, 2008). Van Asten et al. (2011)

estudando a produtividade em bananeira, calcularam uma perda de 65% da produtividade quando a pluviosidade anual foi inferior de 1.100 mm.

A importância da água para o bom desenvolvimento de uma cultura implica na necessidade de aplicá-la em quantidades adequadas, no momento oportuno e com eficiência (MARTINS et al., 2003).

O estudo das necessidades hídricas das culturas é de grande importância, sendo que uma das metodologias utilizadas para sua determinação é a do balanço hídrico. O resultado final obtido com essa técnica é o processo de evapotranspiração, responsável pelo valor das exigências hídricas de uma cultura ao longo do seu ciclo para as condições do local estudado. Os vários processos que envolvem fluxo de água, isto é, infiltração, redistribuição da água no solo, evaporação e absorção pelas plantas, são processos interdependentes, e, na maioria das vezes, ocorrem simultaneamente (REICHARDT, 1985). A taxa de evapotranspiração da bananeira é bastante influenciada pela percentagem de água disponível na zona radicular (MOREIRA, 1997).

Deficiência hídrica da bananeira

Diversos fatores ambientais podem afetar o desempenho das plantas, tais como extremos de temperatura e também a seca. Fatores edáficos, como drenagem deficiente, salinidade, acidez e falta ou excesso de elementos nutritivos também podem prejudicar a cultura da bananeira. Por conceito, segundo Larcher (2000), o estresse é um desvio significativo das condições ótimas para a vida e induz mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, os quais são reversíveis em princípio, mas podem se tornar permanente.

É também considerado um fator externo que exerce uma influência desvantajosa para a planta (TAIZ e ZEIGER, 2004). O estresse de água nas plantas ocorre quando o potencial mátrico do solo permanece bastante baixo por um determinado tempo (ASPINALI e PALEG, 1981). Existem vários parâmetros que expressam o déficit hídrico no solo. Entre eles, o conceito de quantidade total de água armazenada, definido como a quantidade de água

armazenada entre o ponto de murcha permanente e a capacidade de campo (CARLESSO e ZIMMERMANN, 2000).

Bananuka et al. (1999) em observações em nível de campo, demonstraram que o crescimento e desenvolvimento da bananeira em condições de deficiência hídrica exerce pouca influência sobre as frutas e sementes em fase de desenvolvimento. No entanto, alguns estudos envolvendo tipos específicos de *Musa balbisiana*, como 'Le Chang Kut', conseguiram demonstrar existir tolerância à seca pela análise da taxa da concentração e assimilação de CO₂, capacidade de retenção de água na folha e condutância estomática, confirmando sua sensibilidade ao estresse por seca.

A maior parte das variedades de bananeira cultivadas são diploides ou triploides e contêm várias proporções relativas dos genomas de *Musa acuminata* (A genoma) e *Musa balbisiana* (B genoma). Acredita-se que as variedades com uma proporção elevada do genoma B são geralmente mais resistentes ao estresse abiótico (THOMAS et al. 1998). Ravi e Uma (2010) em estudos de bananeiras e plátanos relacionados à adaptação ao estresse, observaram que os tipos selvagens de *M. balbisiana* apresentam tolerância à seca e sugerem que em geral, diversos clones de *M. balbisiana* apresentam alguma tolerância à exposição à deficiência hídrica.

Praticamente todos os aspectos relacionados ao desenvolvimento vegetal, como diminuição da taxa de fotossíntese pela redução da área foliar e outros processos fisiológicos, são afetados pela deficiência hídrica, que por sua vez, interferem diretamente na produção agrícola, além de alterarem o ambiente físico das plantas (FONTANA et al., 1992). Seus efeitos deletérios dependem da sua intensidade, duração, época de ocorrência e da interação com outros fatores que interferem no rendimento das culturas (SANTOS e CARLESSO, 1998; CUNHA e BERGAMASCHI, 1999).

A deficiência de água reduz a turgidez da planta que é o primeiro efeito biofísico do estresse hídrico que leva à diminuição do volume celular, promove o fechamento dos estômatos, retarda o crescimento e reduz a produção (COELHO, 2003).

O estresse causado pela deficiência hídrica tem efeito em diversos processos bioquímicos, fisiológicos e morfológicos nas plantas, que geralmente

umentam a resistência difusiva ao vapor de água mediante o fechamento dos estômatos, reduzindo a transpiração e o suprimento de dióxido de carbono para o processo fotossintético, levando à diminuição do crescimento celular (SHINOZAKI e YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007). As plantas podem iniciar diversas mudanças moleculares, celulares e fisiológicas para responder e se adaptarem a esses estresses, permitindo, assim, sua sobrevivência em tais condições (LARCHER, 2004; NOGUEIRA et al., 1998).

A aclimação de plantas a ambientes adversos, ou situações sob fatores ambientais ótimos, envolve a adaptação a estresses múltiplos, com interações diretas e indiretas. Assim, torna-se de grande importância a identificação e a caracterização de genótipos, bem como estudos sobre a interação e sobreposição de mecanismos, tanto do ponto de vista fisiológico quanto bioquímico e molecular (LARCHER, 2004).

Adaptações e modificações

Ao longo de sua evolução, diversas plantas desenvolveram mecanismos de adaptação, possibilitando a aclimação a ambientes secos, absorvendo água do solo em condições onde outras espécies não conseguiriam e utilizando-a de forma mais eficiente. Dentre esses mecanismos destacam-se:

1. *Fechamento estomático*: quando as raízes das plantas percebem a deficiência hídrica no solo, uma das primeiras respostas é o fechamento estomático, que causa a redução da evapotranspiração. As respostas estomáticas à desidratação foliar podem apresentar ampla variação inter e intraespecífica (TAIZ e ZEIGER, 2004).

2. *Absorção mais eficiente de água*: algumas espécies de plantas desenvolveram um sistema radicular bastante profundo e ou denso, o que possibilita buscar água em regiões mais profundas do solo (LARCHER, 2000); como é o caso de muitas espécies da Caatinga e do Cerrado. Outras, porém, conseguem sintetizar sais em suas raízes, criando potencial osmótico menor, aumentando, assim, a possibilidade de entrada de água.

3. *Aumento da espessura da cutícula*: na maioria das plantas, as células epidérmicas são cobertas por uma camada praticamente impermeável à água,

denominada cutícula (FERRI, 1985). Quando a cutícula é espessa, a perda de água ocorre quase que exclusivamente pelos estômatos. As plantas ao serem submetidas à deficiência hídrica podem tornar a cutícula mais espessa, reduzindo, assim, a perda de água para a atmosfera, o que pode ser reforçado pelo fechamento estomático devido à ação do fitormônio ácido abscísico (ABA).

4. *Redução da área foliar*: com o estresse de seca, o teor de água na planta diminui, resultando em diminuição da pressão de turgor e no aumento subsequente da concentração de solutos nas células; o que dificulta a perda de água por existir um potencial osmótico menor. Esse ajuste osmótico nas células auxilia na manutenção do balanço hídrico na planta (TAIZ e ZEIGER, 2004). As mesmas podem ainda promover a abscisão foliar devido à síntese do fitormônio etileno, reduzindo a sua superfície transpirante.

5. *Reserva de água*: algumas espécies de plantas desenvolveram meios para armazenar água em órgãos como caules, raízes, bulbos e outros, de modo a e utilizá-la quando houver maior demanda na planta e déficit hídrico no solo.

6. *Uso eficiente da água*: plantas com mecanismo fotossintético C4 e MAC (Metabolismo Ácido de Crassuláceas) apresentam melhor controle transpiratório, reduzindo, consideravelmente, a perda de água para a atmosfera.

Existem alguns relatos de que, em condições de campo, cultivares que possuem genoma B, a exemplo de cultivares tetraploides AAAB, apresentam diferentes graus de tolerância às condições de estresse hídrico (EKANAYAKE et al., 1994).

Melhoramento genético

Considerando que o estresse hídrico é afetado por vários fatores, o desenvolvimento de variedades tolerantes, por melhoramento clássico somente, às vezes, não é muito eficiente (RIBAUT et al., 1997, CHAVES et al., 2003, FUJITA et al., 2006, VALLIYODAN et al., 2006), necessitando do auxílio de ferramentas biotecnológicas mais apuradas que possam ser empregadas e assim melhor direcionar as estratégias de melhoramento para a solução do

problema (CUSHMAN et al., 2000). Apenas o conhecimento das metodologias envolvidas na caracterização em nível de genoma e transcriptoma, na maioria das vezes, também não são suficientes, principalmente em se tratando de mudanças fisiológicas, em que apenas o código genético nem sempre é capaz de indicar qual proteína está sendo expressa em que quantidade e em qual forma (ABBOTT, 1999, GYGI et al., 1999, DE VIENNE et al., 1999; BANKS et al., 2000, GRAVES e HAYSTEAD, 2002, YARMUSH et al., 2002, SALEKDEH et al., 2007, TIMPERIO et al., 2008).

A proteômica é uma poderosa ferramenta no melhoramento genético, pois, diferentemente do que ocorre quando são utilizados marcadores fenotípicos ou baseados em DNA, a proteômica fornece informação em nível molecular da variabilidade genética que é efetivamente expressa do genoma (PENNINGTON e DUNN, 2001).

A evolução da proteômica está diretamente associada aos avanços alcançados pelo sequenciamento de genomas e representa um grande passo para a biotecnologia (CÁNOVAS et al., 2004). A identificação de proteínas diferencialmente expressas nos tecidos de bananeira, tolerantes e não tolerantes à seca, quando submetidos ou não à situação de estresse, poderá contribuir para a elucidação deste mecanismo criando possibilidades de avanços para o melhoramento genético.

Proteômica

Proteômica significa as proteínas de um genoma e engloba o conjunto completo de produtos sintetizados pelo genoma e a análise dos produtos gênicos ou pode-se conceituar como o complemento proteico expresso por uma célula em um determinado momento (GRAVES e HAYSTEAD, 2002, KOMATSU, 2006).

A expressão gênica de uma célula é bastante dinâmica, dependendo do estado de desenvolvimento e da presença de ativadores ou inibidores e das condições do meio ambiente, portanto a proteômica torna-se a ferramenta adequada para entender o funcionamento dos genes, porque analisa o produto final do genoma. O proteoma demonstra a expressão funcional do genoma, ou

seja, estado no qual se reflete o funcionamento do sistema em condições fisiológicas específicas (PANDEY e MANN, 2000).

O objetivo da proteômica é estudar o conjunto de proteínas expressas pela célula em um dado momento e sob determinada condição, sendo possível identificar alterações que ocorrem dentro da mesma, no decorrer do processo biológico. A identificação de proteínas na escala proteômica, envolvendo várias proteínas em funções do estado fisiológico das células analisadas, pode responder questões biológicas fundamentais muito mais rapidamente que a análise de proteínas individuais; procedimento realizado até meados dos anos 1990 (LEVY, 2007).

A implementação dos métodos rápidos para a identificação de proteínas e a melhoria técnica da análise descritiva dos padrões de proteínas por eletroforese bidimensional em gel de duas dimensões (2-DE), transformaram a combinação de ambos em uma ferramenta poderosa para a análise funcional; cada vez mais utilizado nos estudos proteicos (ROSSIGNOL et al., 2001). O avanço na tecnologia de sequenciamento de proteínas, por meio da espectrometria de massas, possibilitou o surgimento e desenvolvimento da proteômica propriamente dita (TYERS e MANN, 2003).

A proteômica fornece uma ligação entre proteínas e seus genes codificadores e, portanto, uma ligação entre a fisiologia celular e a genética. É importante salientar o recente sequenciamento do genoma da bananeira, que representa um grande avanço na busca do desvendar do “complexo genético” de *Musa*. Ter acesso ao genoma completo da bananeira é uma chave para a identificação de genes responsáveis por caracteres importantes na cultura, tais como a tolerância ao déficit hídrico. Portanto, o mesmo passa a ser usado como o genoma de referência para obtenção dos *fingerprints* proteicos (FP), dando mais robustez e confiabilidade aos resultados (D’HONT et al., 2012).

O genoma de uma planta possui a capacidade de expressar vários proteomas a depender do seu grau de diferenciação, do tecido ou do estágio de desenvolvimento, onde o mesmo é modificado em função de mudanças bióticas ou abióticas (BLACKSTOCK e WEIR 1999, GRAVES e HAYSTEAD 2002, THIELLEMENT et al., 2002).

De acordo com Pennington e Dunn (2001) a massa e a carga das proteínas são utilizadas em duas etapas (focalização isoeletrica e eletroforese em gel de poliacrilamida) na eletroforese bidimensional para promover a separação de misturas complexas com melhor resolução, resultando em um perfil de distribuição de *spots* formados por proteínas únicas ou misturas simples de proteínas.

A proteômica correlaciona genes específicos de plantas tolerantes e não tolerantes à deficiência hídrica a partir da identificação de proteínas que estão sendo diferencialmente expressas em um dado momento. Esses genes incluem três categorias principais: (a) aqueles que estão envolvidos em sucessivas sinalizações e no controle da transcrição (SHINOZAKI e YAMAGUCHI-SHINOZAKI 1997; MUNNIK et al., 1999; ZHU 2001a), (b) os que estão envolvidos na proteção das membranas e como proteínas de choque térmico (VIERLING 1991; TOMASHOW 1998, 1999, BRAY et al., 2000), (c) e aqueles que estão envolvidos na captação e transporte de água, (MAUREL 1997; TYERMAN et al., 1999; ZIMMERMANN e SENTENAC, 1999).

As plantas melhoradas para a tolerância à seca se baseiam principalmente na ativação de genes que protegem e mantêm componentes da função e estrutura celular. Em contraste com a maioria das características monogênicas de resistência a pragas e herbicidas, as respostas geneticamente complexas em relação a estresses abióticos, são mais difíceis de controlar. As estratégias de melhoramento dependem da transferência de um ou de vários genes que estejam envolvidos na sinalização e vias regulatórias, ou que codifiquem enzimas presentes em vias que conduzem à síntese de estruturas proteicas, como osmólitos e antioxidantes, ou que codifiquem proteínas referentes à tolerância às condições abióticas (WANG et al., 2003).

Um grupo de genes considerados como adaptativo à seca e tem sido identificado em vários trabalhos que avaliam a deficiência hídrica, codificam as proteínas *Lea*. As prováveis funções dos genes *Lea* estão relacionadas com o sequestro de íons, proteção de membranas, maturação de proteínas (chaperonas) e retenção de água (BRAY, 1993; ZHU et al. 2001b).

O grupo das proteínas de choque térmico (*Heat-Shock Proteins* – HSP) é encontrado em plantas submetidas ao déficit hídrico. Essas são designadas

pelos seus pesos moleculares aproximados em kDa (Cooper, 1997). A maior parte das *HSP* provavelmente funcionem como champeronas, que ajudam no correto dobramento ou prevenção da desnaturação das proteínas (ZHU et al, 2001b). Uma maior síntese de *HSP* ajudaria a proteger essas proteínas durante o estresse osmótico que ocorre após a desidratação da célula, uma vez que promovem a desnaturação e agregação de proteínas (ZHU et al. 2001b).

A regulação do potencial osmótico e compartimentação de íons ocorre à custa do gradiente eletroquímico de H^+ e do controle integrado de diferentes ATPases e de outros transportadores associados com membranas celulares (BRAY, 1993). Alguns membros transportadores são proteínas de estrutura semelhantes à tubular que atravessam a membrana celular. Os membros desta família de proteínas, também chamados de *aquaporinas*, formam canais de água específicos para íons ou solutos (BRAY, 1997). A expressão de *aquaporinas* no tonoplasto e da membrana celular tem sido relacionada com a alongação celular (DANIELS et al.,1994; YAMAGUSHI et al., 2002).

OBJETIVOS

1. Estudar e identificar as variedades comerciais de bananeira contrastantes quanto à imposição da deficiência hídrica;
2. Selecionar possíveis genótipos tolerantes à seca para auxiliar os programas de melhoramento genético;
3. Identificar quais as proteínas encontradas nas raízes de bananeira submetidas ao secamento contínuo do solo que estão relacionadas à deficiência hídrica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, A. A post-genomic challenge: learning to read patterns of protein synthesis. **Nature** 402: 715-720. 1999.

- ALVES, E. J. **A cultura da banana**: aspectos técnicos, sócioeconômicos e agroindustriais. Brasília: EMBRAPA-SPI; Cruz das Almas: EMBRAPA CNPMF, 585 p., 1997.
- ASPINALL, D.; PALEG, L.G. The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Now York: Academic Press, p. 205241: Proline accumulation: **Physiological Aspects**, 1981.
- BANANUKA, J. A.; RUBIHAYO, P. R.; TENYWA, M. M. Reactions of Musa genotypes to drought stress. **African Crop Science Journal**, v.7, n.4, p.333-339, 1999.
- BANKS, R.E.; DUNN, M.J.; HHOCHSTRASSER, D.F.; SANCHEZ, J-C., BLACKSTOCK, W.; PAPPIN, D.J.; SELBY, P.J. Proteomics: new perspectives, new biomedical opportunities. **The Lancet** 356 (18): 1749-1756. 2000.
- BLACKSTOCK, W.P.; WIER, M.P. Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. **Tibetch** 17: 121-127. 1999.
- BRAY, E.A. Molecular responses to water deficit. **Plant Physiology**. 103: 1035-1040. 1993.
- BRAY, E.A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**. 2: 48-54. 1997.
- BRAY, E.A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W. JONES, R.L. (eds). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville. American Society of Plant Physiologists, cap.22, p1158-1203. 2000.
- BRUNINI, O. Exigências climáticas e aptidão agroclimática da bananicultura. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 1., Jaboticabal, SP. Anais... Jaboticabal: **FCAVJ**, p.99-117, 1984.
- CÁNOVAS, F.M.; GAUDOT, E.D.; RECORBET, G.; JORRIN, J.; MOCK, H. P.; ROSSIGNOL, M. Plant proteome analysis. **Proteomics** v 4, 285–298, 2004.
- CARLESSO, R.; ZIMMERMANN, L.F. Água no solo: parâmetros para dimensionamento de sistemas de irrigação. Santa Maria: **Imprensa Universitária**, 88 p. 2000.

CHAVES, M.M.; MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.S. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology** 30: 239-599, 2003.

COELHO. E.F.; COSTA. E.L. da; TEIXEIRA. A.H. de C.; OLIVEIRA. S.L. de. Irrigação da bananeira. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura. 8p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. **Circular técnica**, 53). 2003.

COOPER, G. M. **The cell: A molecular approach**. ASM Press, Washington, D. C.673p. 1997.

CORDEIRO. Z.J.M. BORGES A.L. Doenças. **A cultura da banana**: aspectos técnicos; socioeconômicos e agroindustriais. Brasília, Embrapa –SPI - Cruz das Almas. Embrapa CNPMF, p 353 a 407, 1997.

CUNHA, G. R.; BERGAMASCHI, H. Efeitos da disponibilidade hídrica sobre o rendimento das culturas. In: BERGAMASCHI, H. (Coord.). **Agrometeorologia aplicada à irrigação**. 2.ed. Porto Alegre: Editora Universidade/UFRGS, cap.6, p.8597. 1999.

CUSHMAN, R.A.; HELGPETH, V.S.; ECHTERNKAMP, S.E.; BRITT, J.H. Evaluation of microscopic and macroscopic follicles in cattle selected for twinning. **Journal of Animal Science, Savoy**, v.78, p.1564-1567, 2000.

D'HONT, A, DENOUD, F., MARC-JEAN. The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. **Nature** 2012. DOI: 10.1038/nature11241. 2012

DANIELS, M.J., MIRKOV, T. E., CHISPEELS, M. J. The plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* contains a mercury-intensive aquaporin that is a homolog of the tonoplast water channel protein TIP. **Plant Physiology**. 106: 1325-1333. 1994.

DANTAS, A.C.V.L.; DANTAS, J.L.L.; ALVES, E.J. Estrutura da Planta. In: ALVES, E.J. **A cultura da Banana**. Brasília: Embrapa-SPI / Cruz das Almas: Embrapa- CNPMF, p. 47-60. 1999.

DE VIENNE, D.; LEONARDI, A.; DAMERVAL, C.; ZIVY, M. Genetics of proteome variation for QTL characterization: application to drought-stress responses in maize. **Journal of Experimental Botany** 50(332): 303-309. 1999.

EKANAYAKE, J.; ORTIZ, R.; VUYLSTEKE, D. R. Influence of Leaf Age, Soil Moisture, VPD and Time of Day on Leaf Conductance of Various Musa Genotypes in a Humid Forest-Moist Savanna Transition Site. Oxford **Journal Life Sciences Annals of Botany** Volume 74, Issue 2Pp. 173-178, 1994.

FAO, **Food and agriculture organization of the United Nations**, Acessado em: 24/01/2013, Disponível em: www.faostat.fao.org/site/340/default.aspx

FERRI, M. G., **Fisiologia Vegetal**. Editora Pedagógica e Universitária, 2ª edição, São Paulo, 362 p. 1985.

FONTANA, D.C.; BERLATO, M.A.; BERGAMASCHI, H. Alterações micrometeorológicas na cultura da soja submetida a diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.5, p.661-669, 1992.

FUJITA, M.; FUJITA, Y.; NOUTOSHI, Y.; TAKAHASHI, F.; NARUSAKA, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current Opinion in Plant Biology*, 9: 436-442, 2006.

GAZANCHIAN, A., HAJHEIDARI, M., SIMA, NK., SALEKDEH, GH. Proteome response of *Elymus elongatum* to severe water stress and recovery. **Journal of Experimental Botany**, doi: 10.1093. 2007.

GRAVES, PR., HAYSTEAD, TAJ. Molecular's biologist's guide to proteomics. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** p. 39-63. 2002.

GYGI, SP., ROCHON, Y., FRANZA, RB., AEBERSOLD, R. Correlation between protein and mRNA abundance in yeast. **Molecular and Cellular Biology** 19(3): 1720-1730. 1999.

IBGE: **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp?t=1&z=t&o=26&u1=1&u2=&u3=1&u4=20>. Acesso em: 02/01/2013.

- KOMATSU, S. A rice protein library: a data-file of rice proteins separated by two-dimensional electrophoresis. **Theoretical and applied genetics**, v.86, p.935, 2006.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**, traduzido por: Prado, C. H. B. A., ed. RiMa, São Carlos, p. 205, 2004.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Tradução: PRADO, C. H. B. A. e Franco. A.C. São Carlos, RiMa, 533p. 2000.
- MARTINS, L. P.; SILVA, S. M.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, E. A. C. Desenvolvimento de frutos de ciriguela (*Spondias purpúrea* L.). **Revista Brasileira. Fruticultura.**, Jaboticabal, v. 25, n.1, p. 11-14, abril, 2003.
- MAUREL, C. Aquaporin and water permeability of plant membrane. Annual Review of **Plant Physiology and Plant Molecular Biology**;48:399-429, 1997.
- MOREIRA, R. S. **Banana: teoria e prática de cultivo**. Campinas: Fundação Cargill, 335 p. 1997.
- MUNNIK, T. et al Hyperosmotic stress stimulates phospholipase D activity and elevates the levels of phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate. *Plant Journal*, v. 20, p.381-388.1999.
- NOGUEIRA, R. J. M. C., SANTOS, R. C. dos, BEZERRA C. N., SANTOS, V. F. dos. Comportamento fisiológico de duas cultivares de amendoim submetidas a diferentes regimes hídricos, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, vol. 33, n.12, p.1963-1969, dez. 1998.
- PANDEY, A.; MANN, M. Proteomics to study genes and genomes. **Nature** 405: 837- 846. 2000.
- PEARSON, K., BAUDER, J. How and when does water stress impact plant growth and development. **Journal of Scientific** 2003.
- PENNINGTON, S.R.; DUNN. M.J. Proteomics: from protein sequence to function. New York: Springer-Verlag e BIOS **Scientific Plubishers**, 1v. 2001.
- RAVI, I.; UMA, S. Clonal. Crops. Cap II.: Phenotyping bananas and plantains for adaptation to drought. **Bananas and plantains** (NRCB, India), 430-447. 2010.

REICHARDT, K. Processos de transferência no sistema solo-planta-atmosfera. Campinas: **Fundação Cargill**, 486p. 1985.

RIBAUT, J.M.; JIANG, C.; GONZALEZDELEON, D.; EDMEADES, G.O.; HOISINGTON, D.A. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize .2. Yield components and marker-assisted selection strategies. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 94, n. 6-7, p. 887-896, 1997.

ROSSIGNOL, M. Analysis of the plant proteome. Current Option in **Biotechnology** 12: 131-134. 2001.

SALAMONI, A. T. Apostila de aulas teóricas de **Fisiologia Vegetal**. Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria. sem. 2, 2008.

SALEKDEH, G. H. and KOMATSU, S. Crop proteomics: Aim at sustainable agriculture of tomorrow. **Proteomics** 7: 2976 - 2996. 2007.

SANTOS, R. F. and CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.3, p.287-294, 1998.

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

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene expression and signal transduction in water-stress response. **Plant Physiology** 115: 327-334, 1997.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 221-227, 2007.

SILVA, J. T. A. da; BORGES, A. L.; MALBURG, J. L. Solos, adubação e nutrição da bananeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.20, n.196, p.21- 36, jan/fev. 1999.

- SILVA, S.O, SANTOS-SEREJO, J.A., CORDEIRO, Z.J.M. Variedades tradicionais. In: Eds. Borges, A. L; Souza, L. S. **O cultivo da bananeira**. Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cruz das Almas, p 45 - 58. 2004.
- SIMMONDS, N.W.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **The Journal of the Linnean Society of London**, London, v.55, p. 302-12, 1955.
- TAIZ, L.; ZEIGUER, E. **Fisiologia Vegetal**, Tradução de: Elaine R. Santarém, [et al.], 3ª ed., Porto Alegre, Artimed, 719 pág. 2004.
- THIELLEMENT, H. et al. Combining proteomic and genetic studies in plants. **Chromatography B Analytical Technologies in Biomedical Life Sciences**, v.782, n.1-2, p.137-149, 2002.
- THOMAS, J.E.; TURNER, D.; EAMUS, D. Independent effects of the environment on the leaf gas exchange of three banana (*Musa* spp.) cultivars of different genomic constitution. **Scient Hort.**; 75:41–57. doi: 10.1016/S0304-4238(98)00114-9, 1998.
- THOMASHOW, M.F. Plant cold acclimation, freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. **Annu. Revist Plant Physiolgy**. Plant Molecular. Biology. 50, 571–599, 1999.
- THOMASHOW, M.F. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. **Plant Physiology** 118: 1– 8, 1998.
- TIMPERIO, A.M., EDIGI, M. G., ZOLLA, L. **Proteomics applied on plant abiotic stresses**: role of heat shock protein (HSP). 2008.
- TYERMAN, S.D.; BOHNERT, H.J.; MAUREL, C.; STEUDLE, E.; SMITH, J.A.C. Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. **Journal Experimental Botany** 50: 1055–1071, 1999.
- TYERS, M.; MANN, M. Genomics to proteomics. **Nature**, v.422, n.6928, p.193-197. 2003. Disponível em: <http://www.nature.com/nature/journal/v422/n6928/full/nature01510.html>. Acesso: 11 jun 2012. doi:10.1038/nature01510.

VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H. T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, New York, US, v. 9, n.2, p. 189-195, 2006.

VAN ASTEN, P. J. A.; FERMONT, A. ;M., AND TAULYA, G. Drought is a major yield loss factor for rainfed East African highland banana. *Agric. Water Manag.* 98, 541–552, 2011.

VIERLING, E. Annu. *Revist Plant Physiololy*. *Plant Molecular. Biology*, 42, 579–620, 1991.

WANG, W.; VINO CUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Plant biotechnology*. Springer-Verlag. *Plant* 218 pp: 1–14, 2003.

YARMUSH, M., JAYARAMAN, A. Advances in proteomic technologies. Annu. *Revist Biomed*. Eng. 4: 349-373. 2002.

ZHU, J.K. Cell signaling under salt, water and cold stresses. *Curr Opin Plant Biology* 4: 401–406, 2001b.

ZHU, J.K. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sciences* 6: 66–71, 2001a.

ZIMMERMANN, S.; SENTENAC, H. Plant ion channels: from molecular structures to physiological functions. *Curr Opin Plant Biology*; 2: 477–82, 1999.

CAPÍTULO I

IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA TOLERANTES À DEFICIÊNCIA HÍDRICA ¹

¹ Nota técnica a ser submetida a revista 'Pesquisa Agropecuária Brasileira'.

IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA TOLERANTES À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

Resumo: O presente trabalho teve como objetivo avaliar variedades 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) a fim de identificar genótipos contrastantes para a tolerância à seca. O estudo foi realizado com 26 genótipos tri e tetraploides com dois tratamentos testemunha (com irrigações diárias) e sob deficiência hídrica (secamento contínuo do substrato), em condições controladas de casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, entre abril e agosto de 2010. Os genótipos foram submetidos à deficiência durante um período de 18 dias consecutivos. A densidade de raízes mostrou que mesmo em condição de deficiência hídrica, alguns genótipos (BRS Tropical, PA9401, JV42135, BRS Princesa, FHIA 23) conseguiram continuar o desenvolvimento das raízes. Com relação à transpiração, houve uma economia de água entre aqueles considerados menos tolerantes à imposição da restrição de água. O genótipo BRS Tropical apresentou maior índice de temperatura da folha. A condutância estomática sugere que, sob intensa falta de água, as plantas de bananeira tendem a fechar os estômatos, independente do genótipo. As variedades consideradas mais tolerantes foram FHIA 23, BRS Princesa, Pacovan, BRS Pacovan Ken e BRS Tropical e as menos tolerantes, YB4203, YB4247, Prata Anã, PA9401 e JV42135.

Palavras-chave: *Musa* spp., tolerância à seca, condutância estomática.

IDENTIFICATION OF BANANA GENOTYPES TOLERANT TO WATER STRESS

Abstract: This study aimed to evaluate commercial varieties of banana before the imposition of water stress by drying the soil using continuous physiological variables (leaf temperature, stomatal conductance, transpiration and root density) in order to identify genotypes contrasting for drought tolerance. The study was conducted with 26 genotypes (triploids and tetraploids) with two treatments (control with daily irrigations) and under drought stress (continuous drying of the substrate), under controlled conditions at Embrapa Cassava and Fruits, Cruz das Almas, BA, between April and August, 2010. The genotypes were subjected to disability during a period of 18 consecutive days. Root density showed that even under water stress condition, some genotypes (BRS Tropical, PA9401, JV42135, BRS Princesa, FHIA 23) were able to continue the development of root density. With respect to perspiration, there was water saving among those considered less tolerant to water restriction enforcement. The BRS Tropical genotype showed a higher rate of leaf temperature. The stomatal conductance suggests that under severe water shortages, banana plants tend to close their stomats regardless of the genotype. The most tolerant varieties were FHIA 23, BRS Princesa, Pacovan, BRS Pacovan Ken and BRS Tropical and the less tolerant, YB4203, YB4247, Prata Anã, PA9401 and JV42135.

Key words: *Musa* spp., drought tolerance, stomatal conductance.

INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* spp.) é cultivada em diversas regiões abrangendo mais de 100 países do mundo. No Brasil, a cultura da bananeira ocupa o segundo lugar em volume de frutas produzidas e consumidas no país e a terceira posição em área colhida (FAO, 2013).

A ocorrência de estresse hídrico por seca ocupa uma posição de destaque dentre os fatores limitantes da produção vegetal. A deficiência hídrica é uma situação comum à produção de muitas culturas, podendo apresentar um impacto negativo substancial no crescimento e desenvolvimento das mesmas, além de afetar as relações hídricas e alterar o metabolismo (GOMES et al., 2005).

As respostas de sobrevivência das plantas a condições de estresse hídrico variam de acordo com a espécie, cultivar, tempo de exposição e fatores edáficos, entre outros. Vários mecanismos podem ajudar a planta a suportar a deficiência de água e os diferentes mecanismos são adaptáveis às variações climáticas, ou seja, as características associadas à tolerância à seca apresentam efeitos duais, positivos em cenários severos e negativos em seca moderada, ou o seu inverso (TARDIEU, 2012). A tolerância à seca pode estar relacionada à precocidade, quando há o desenvolvimento rápido da planta alcançando a fase de produção e evitando o período crítico de seca; ao fechamento estomático e redução foliar evitando perda de água; a proteção celular contra estresse; ao aumento da eficiência fotossintética; a arquitetura radicular e ou enraizamento aumentando a capacidade de explorar, mantendo a transpiração, quando não há limitação quanto às propriedades físicas do solo (BLUN, 2005; TARDIEU, 2012).

Previsões ambientais sinalizam para o aumento do aquecimento global nas próximas décadas e certamente períodos de seca devem certamente acompanhar esse fenômeno (NEPOMUCENO et al. 2001). A identificação de genótipos com características para tolerância à seca é de fundamental importância para enfrentar esses períodos de seca.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da deficiência hídrica em variedades comerciais de bananeira e identificar genótipos com potencial para tolerância à seca.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado no período de abril a agosto de 2010 na casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas – BA (12°40'39" de latitude Sul e 39°06'23" de longitude Oeste, altitude de 226 m). A estrutura dispõe de sistema de resfriamento tipo argila combinado a exaustores de ar, por sua vez ligados a sensores de temperatura instalados no centro do ambiente a uma altura de dois metros, com temperatura de acionamento dos exaustores de 30°C.

Mudas oriundas de cultura *in vitro* destes genótipos foram colocadas em bandejas de isopor contendo substrato comercial e aclimatadas durante um período de 45 dias. Em seguida as plântulas foram colocadas em sacos plásticos pretos com volume útil de 1L e após 15 dias realizou-se uma adubação foliar com 5g de adubo NPK 10-10-10 por kg de solo e as mesmas mantidas em casa de vegetação.

Após 60 dias os vasos foram vedados com papel alumínio para evitar evaporação de água do solo e suspendeu-se a irrigação durante 18 dias. Diariamente foram determinadas a condutância estomática ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a temperatura da folha (°C) em plantas com e sem irrigação, realizadas no período de 13h30min às 15h00min. As medições foram coletadas por amostragem no limbo da terceira folha a partir do topo da planta totalmente expandida conforme recomendação de Silva et al. (1999). Para estas avaliações foi utilizado um porômetro portátil, modelo AP4 (Delta-T Devices, Inc., 1990, UK) previamente calibrado. A curva de calibração é um ajustamento feito pela minimização da variância, entre a resistência do orifício (abscissa) e o tempo decorrido no percurso ("*transit time*") do vapor de água, desde a sua fonte até ao sensor de umidade da câmara de medição. O porômetro é autocompensante em relação à variação de temperatura no seu interior aferindo medidas de temperatura da folha.

Utilizando-se uma balança de precisão, determinou-se a transpiração ($L\ m^{-2}$) das plantas por meio da diferença diária do peso do vaso com a planta. As pesagens ocorreram sempre às 07:00h e 17:00h, sendo a repostada a quantidade de água transpirada apenas para o grupo de plantas irrigadas. Para o cálculo da transpiração das plantas foram utilizadas as diferenças de umidade do solo no início da manhã (θ_i) e final da tarde (θ_f); conhecidos o volume de solo explorado (V_s) e (AF) área foliar total de cada planta (m^2):

$$\frac{(\theta_i - \theta_f)V_s}{AF}$$

(Equação 1)

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado no esquema fatorial 26 x 2, sendo 26 variedades de bananeira. Os tratamentos constaram de plantas submetidas à deficiência hídrica, sendo 78 (26 variedades com 3 repetições) e 52 (26 variedades com 2 repetições) constituindo o tratamento controle com a reposição de água nas plantas suprimindo a transpiração. Os dados foram submetidos ao teste F da análise de variância. As médias das variedades de bananeira foram agrupadas pelo teste de Scott Knott em 5% de significância.

As raízes foram extraídas das plantas no décimo oitavo dia e separadas do substrato por meio de lavagem com água corrente em peneira de malha 0,5 mm, sendo em seguida colocadas em solução de 50% água e 50% álcool para armazenamento em geladeira. Posteriormente as raízes foram postas a secar naturalmente em papel absorvente, e logo em seguida separadas individualmente e distribuídas em folha de transparência, que por sua vez, foram digitalizadas em arquivos TIFF ("*Tagged Image File Format*") comprimidos, usando scanner de resolução 600 dpi, escala de 100% (KASPAR e EWING, 1997; COELHO et al., 1999). Os arquivos digitalizados foram submetidas ao *software Rootedge* (KASPAR e EWING, 1997) para a determinação das características geométricas: área, comprimento e diâmetro das raízes.

Os dados de comprimento de raízes, L_r (cm), permitiram a determinação da densidade de comprimento de raízes, DCR ($cm\ cm^{-3}$), conforme a equação:

$$DCR = \frac{Lr}{Vr} \quad (\text{Equação 2})$$

Em que: DCR – Densidade de comprimento de raízes (cm cm^{-3}); Lr – Comprimento de raízes (cm), e Vr – Volume da amostra (cm^3).

Sistemas de análise de imagens digitalizadas oferecem maior facilidade nos estudos do sistema radicular, com medições mais rápidas e precisas para avaliação das características de raízes, como comprimento, área superficial, diâmetro e tamanho (COSTA et al., 2000; HIMMELBAUER et al., 2002).

Mesmo com avanços no estudo de raízes; tornados possíveis por meio da análise de imagens assistida por computador, a medição do comprimento do sistema radicular ainda é onerosa, principalmente devido à magnitude do comprimento total de raízes que pode ser encontrado em um único sistema radicular ou em um pequeno volume de solo (COSTA et al., 2000).



Figura 1. Imagens da lavagem das raízes. (A) lavagem das raízes em água corrente (B) catação das raízes em peneira (C) armazenamento das raízes em sacos plásticos em solução contendo 50% de água destilada e 50% de álcool.

Para melhor visualização dos resultados, as 26 variedades de bananeira foram divididas em dois grupos de acordo com a área foliar, a saber: $\leq 0,15 \text{ m}^2$ referente ao Grupo 1: Calipso, FHIA 18, JV42135, Maçã, BRS Maravilha, BRS Platina, PA9401, Pacovan, BRS Pacovan Ken, Prata Anã e BRS Tropical e $> 0,15 \text{ m}^2$ referente ao Grupo 2: YB4217, YB4247, YB4203, Bucaneiro, BRS Caipira, Enxerto-33, FHIA 17, FHIA 23, Grande Naine, BRS Garantida, BRS Japira, BRS Preciosa, BRS Princesa, PV7936 e Thap Maeo (Tabela 2).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a densidade de raiz, é possível observar na Figura 2 que para o tratamento de deficiência hídrica, os genótipos que apresentaram maiores índices foram BRS Princesa e YB4247 e dentre os menores valores, Bucaneiro com $0,265 \text{ g dm}^{-3}$, Enxerto-33 com $0,303 \text{ g dm}^{-3}$ e YB4203 com $0,349 \text{ g dm}^{-3}$. Quando submetido à deficiência hídrica, o genótipo BRS Tropical apresentou um ganho na densidade de raiz em comparação com o tratamento irrigado. Isso evidencia que, mesmo em condições de deficiência hídrica, esses genótipos continuaram desenvolvendo suas raízes, podendo-se considerar um mecanismo de aclimatação para continuarem sobrevivendo em condições de restrição de água. O crescimento radicular é um comportamento considerado vantajoso para plantas sujeitas a estresse hídrico, facilitando a retirada de água do solo mesmo depois da sua superfície ter perdido água durante a estação seca. O desenvolvimento do sistema radicular funciona como um mecanismo de resistência à seca (BARROS e BARBOSA, 1995).

Os genótipos que reduziram a densidade das raízes comparadas com suas respectivas testemunhas foram Prata Anã, Maçã, BRS Maravilha, BRS Pacovam Ken, YB4203, Bucaneiro, Enxerto-33, FHIA 17, FHIA 23, Grande Naine, BRS Garantida e BRS Preciosa (Figura 2). Eissenstat (1999) associa a habilidade de extração de água a uma maior densidade de raízes.

Não houve diferença significativa nas análises de variância para a variável transpiração (Tabela 1). Foi possível identificar quais os genótipos de maior interesse quanto aos aspectos relacionados à tolerância à deficiência hídrica (Figura 3). Desta forma, observou-se que dentre as plantas com área foliar igual e menor que $0,15 \text{ m}^2$, os genótipos Pacovan, BRS Pacovan Ken e BRS Tropical apresentaram maior tolerância à deficiência hídrica e com área foliar maior que $0,15 \text{ m}^2$ os genótipos BRS Princesa e FHIA 23 (Figura 3), pois ao longo dos dias de deficiência, esses mantiveram a taxa de transpiração próxima à do tratamento controle. Dentre as menos tolerantes, estão a Prata Anã, PA9401, YB4247 e YB4203.

O genótipo BRS Tropical, mesmo sob deficiência, manteve a transpiração de $0,507 \text{ L m}^{-2}$) na média dos dias de secamento contínuo do solo

(Figura 4). A redução do teor de água no solo promove diminuição na transpiração das plantas (MORILLON e CHRISPEELS, 2001). Por essa razão, verificou-se que todos os genótipos diminuíram a transpiração ao longo do período de deficiência hídrica.

Conforme o somatório da transpiração de todos os períodos de secamento contínuo do substrato, nota-se que o genótipo Prata Anã e o híbrido YB4247 destacaram-se com a maior variação de perda de água do substrato, quando comparado à testemunha.

Diante das evidências gráficas da variação da transpiração ao longo do tempo, as bananeiras do Grupo 2 (Figura 5), apresentaram o secamento do solo de maneira similar; embora os genótipos FHIA 23, FHIA 17 e BRS Princesa mantiveram a perda de água por transpiração com valores próximos aos das suas testemunhas: $0,151 \text{ L m}^{-2}$, $0,153 \text{ L m}^{-2}$ e $0,162 \text{ L m}^{-2}$, respectivamente. Dos genótipos com menor tolerância à condição de imposição do estresse hídrico, os híbridos YB4203 e YB4247 exauriram mais água que os demais.

Os resultados desse estudo demonstram uma tendência de fechamento estomático a partir do décimo primeiro dia de secamento contínuo do substrato (Figura 6). Houve um aumento da condutância no décimo segundo dia para os tratamentos irrigados. Esta variação poder ter ocorrido devido à irradiação solar como um dia nublado. As bananeiras BRS Tropical, Pacovan e BRS Pacovan Ken conseguiram manter o fechamento estomático e a redução da condutância estomática mais estável (Figura 6).

A redução da condutância estomática comparada aos tratamentos controle está correlacionada ao processo de que a abertura estomática só ocorre quando as células guardas se encontram túrgidas e qualquer alteração na hidratação das plantas afetará o movimento dos estômatos. Portanto, se as células-guardas perderem mais água para atmosfera do que as plantas absorverem, isto provocará um decréscimo na turgescência dessas células, resultando no fechamento estomático e conseqüentemente redução da condutância estomática (KERBAUY, 2004).

O fechamento estomático é uma das respostas iniciais das plantas à deficiência no solo, permitindo retenção da água para uma sobrevivência

prolongada em condições de estresse hídrico (FARQUHAR e SHARKEY, 1982). Os dados obtidos na avaliação da condutância estomática (gs) caracterizam a deficiência hídrica a partir do 10º dia de secamento do solo (Figura 6). Rodríguez-Gamir et al. (2010) avaliaram porta-enxertos de citros (*Tangerina Cleopatra mandarin* e *Porcirus trifoliata*) e estes demonstraram que quando submetidos à deficiência hídrica, apresentaram um sistema radicular bastante ativo em resposta à secagem do solo devido aos sinais enviados das raízes para as folhas, induzindo o fechamento estomático e a redução da perda da água por transpiração. Segundo Carlesso (1995), o suprimento de água para plantas é determinado pela habilidade da cultura em utilizar a água armazenada no solo, ou seja, o uso eficiente da água.

Os genótipos do Grupo 2 que apresentaram-se mais tolerantes à deficiência hídrica foram, FHIA 23 e BRS Princesa e os menos tolerantes, YB4247 e YB4203, conforme o comportamento do tratamento sob deficiência e suas respectivas testemunhas (Figura 7).

De acordo com Costa et al. (2006) variações de umidade e temperatura no solo durante o desenvolvimento das plantas podem prejudicar a produtividade e a qualidade das raízes.

Observa-se um mesmo padrão de comportamento ao longo da imposição da deficiência hídrica para os períodos de estresse nos 26 genótipos de bananeira estudados, verificando-se o maior valor da temperatura foliar no genótipo BRS Tropical', indicando menor transpiração.

A diferença de temperatura foliar em plantas sob déficit fundamenta-se no estado hídrico das mesmas, no comportamento estomático e na perda de calor latente por meio da transpiração. Entretanto, todo esse processo varia de espécie para espécie (LUDLW e MUCHOW, 1990).

Grantz e Meinzer (1991) observaram que existe relação entre o saldo de radiação, a transpiração e a condutância estomática de plantas sem restrição de água. Segundo os autores, isto reflete uma resposta dos estômatos à disponibilidade de energia e à demanda evaporativa sobre plantas cultivadas a campo.

CONCLUSÃO

Os genótipos mais tolerantes a deficiência hídrica são FHIA 23 e a BRS Tropical conforme os resultados da transpiração, condutância estomática e densidade de raiz e temperatura, contrastando com a 'Prata Anã' e o 'YB4247', que apresentaram uma menor tolerância à condição de estresse hídrico por secamento contínuo do solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, L.; BARBOSA, D. C. A. Crescimento de *Acacia farnesiana* (L.) Willd em casa de vegetação. *Phyton. Revista Internacional de Botânica Experimental*, Vicent-Lopez – Argentina, Buenos Áries, v.52, n.2, p.179-191, 1995.

BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential—are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research*, 56, 1159–1168, 2005.

CARLESSO, R. Absorção de água pelas plantas: água disponível versus extrável e a produtividade das culturas. *Revista Ciência Rural*, Santa Maria, v.25, n.1, p.183-188, 1995.

COELHO, E.F.; OLIVEIRA, F.C.; VASCONCELOS, L.F.L.; ARAUJO, E.C.E. **Comparação de métodos de obtenção de imagens digitais de raízes**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 28., 1999, Pelotas. Anais... Pelotas: SBEA/UFPEL-FEA, 1999.

COSTA, C.; DWYER, L. M.; HAMILTON, R. I.; NANTAIS, L.; SMITH, D. A sampling method for measurement of large root systems with scanner-based image analysis. *Agronomy Journal*, Madison, v. 92, n. 4, p. 621-627, July/Aug. 2000.

COSTA, G.B., CHAGAS, G.F.B., DA COSTA, W.C., RIBEIRO, J. B.M. **Análise do comportamento da temperatura do ar e temperatura foliar em uma**

região de manguezal na cidade de Bragança-PA. XIV Congresso Brasileiro de Meteorologia. Florianópolis-SC. P. 1-5, 2006.

EISSENSTAT, D. M.; WHALEY, E. L.; VOLDER, A.; WELLS, C. E. Recovery of citrus surface roots following prolonged exposure to dry soil. **Journal of Experimental Botany**, v. 50, n. 341. p 1845-1854, December 1999.

FARQUHAR, G.D.; SHARKEY, T.D. Stomatal conductance and photosynthesis. Annual Review of **Plant Physiology**. Vol.33, pp.317-345. 1982.

FAO, **Food and agriculture organization of the United Nations**, Acessado em: 24/01/2013, Disponível em: [www,faostat,fao,org/site/340/default,aspx](http://www.faostat.fao.org/site/340/default.aspx).

GOMES, M.M.A.; LAGOA, A.M.M.A., MACHADO, E.C.; MEDINA, C.L. Abscisic acid and indole-3-acetic acid contents in orange trees infected by *Xylella fastidiosa* and submitted to cycles of water stress. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 39, p. 263-270, 2005.

GRANTZ, D.A.; MEINZER, F.C. Regulation of transpiration in field-grown sugarcane: evaluation of the stomatal response to humidity with the Bowen ratio technique. **Agricultural and Forest Meteorology**. Amsterdam, v.53, p.169-183, 1991.

HIMMELBAUER, M.; LOISKANDL, W.; KASTANEK, F. Estimation of root morphological characteristics using Images analyses systems. In: WCSS, 17, 2002, Thailand. **Proceedings Thailand**: [s.n.], p. 14-21.2002.

KASPAR, T.C.; EWING, R.P. ROOTEDGE: software for measuring root length from desktop scanner images. **Agronomy Journal**, Madison, v. 89, n. 6, p.932-940, 1997.

KERBAUY, B. G. **Fisiologia vegetal**. Ed. Guanabara koogan S.A .RJ. 2004.

LUDLOW, M.M.; MUCHOW, R.C. A critical evaluation of traits for improving crop yields in waterlimited environments. **Advances in agronomy**, SAN DIEGO, V.43, P.107-53, 1990.

MORILLON, R. CHRISPEELS, M.J. The role of ABA and the transpiration stream in the regulation of the osmotic water permeability of leaf cells.

Proceedings of the **National Academy of Sciences** of the USA 98: p.14138–14143, 2001.

NEPOMUCENO, A. L.; NEMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. Pesquisa, nº 23. 2001.

RODRÍGUEZ-GAMIR, J.; PRIMO-MILLO, E.; FORNER, B. J.; FORNERGINER, A. M. Citrus rootstock responses to water stress. **Scientia Horticulture**. Vol. 126, pp. 95-102. 2010.

SILVA, J. T. A. DA; BORGES, A. L.; MALBURG, J. L. SOLOS, ADUBAÇÃO E NUTRIÇÃO DA BANANEIRA. **Informe Agropecuário**, BELO HORIZONTE, V.20, N.196, P.21-36, JAN/FEV. 1999.

TARDIEO, F. Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. **Journal Experimental Botanic**. 63 (1): 25-31, 2012.

Tabela 1. Análise de variância para as variáveis: transpiração; condutância estomática e temperatura da folha de genótipos de bananeira submetidos à deficiência hídrica. Cruz das Almas, BA, 2013.

Fonte de Variação	GL	QM		
		Transpiração	Condutância	Temperatura da folha
Genótipo	25	1128,75 ^{ns}	3247,86 ^{ns}	129,91 ^{**}
Tratamento	1	101757,28*	488,26 ^{ns}	277,79**
Período	17	9222,57*	18847,26 ^{ns}	368,44*
Genótipo x Período	425	4256,69 ^{ns}	151,42 ^{ns}	129,84*
Erro	780	73,08	120,64	130,30
CV %		35,43	52,81	38,16
Média Geral		24,12	343,10	29,45

**Significativo a 1% de probabilidade (P<0,01); *significativo em nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo.

Tabela 2. Divisão dos grupos, grupo genômico (GG) e área foliar (AF) dos 26 genótipos de bananeira submetidos à deficiência hídrica por secamento contínuo do substrato. Cruz das Almas, BA, 2013.

Grupo 1			Grupo 2		
Genótipos	GG	AF	Genótipos	GG	AF
Calipso	AAAA	0,15b	Bucaneiro	AAAA	0,19a
FHIA 18	AAAB	0,15b	BRS Caipira	AAA	0,17a
JV42135	AAAB	0,15b	Enxerto-33	AAB	0,17a
Maçã	AB	0,11b	FHIA 17	AAAB	0,17a
BRS Maravilha	AAAB	0,15b	FHIA 23	AAAA	0,21a
BRS Platina	AABB	0,13b	G. Naine	AAA	0,19a
			BRS		
PA9401	AAAB	0,12b	Garantida	AAAB	0,18a
Pacovan	AAB	0,13b	BRS Japira	AAAB	0,17a
BRS Pacovan				AAB	
Ken	AAAB	0,11b	BRS Preciosa		0,18a
Prata Anã	AAB	0,15b	BRS Princesa	AAAB	0,17a
BRS Tropical	AAAB	0,13b	PV7934	AAAB	0,18a
			Thap Maeo	AAB	0,17a
			YB4203	AAAB	0,19a
			YB4217	AAAB	0,200a
			YB4247	AAAB	0,168a

GG: Grupo genômico.

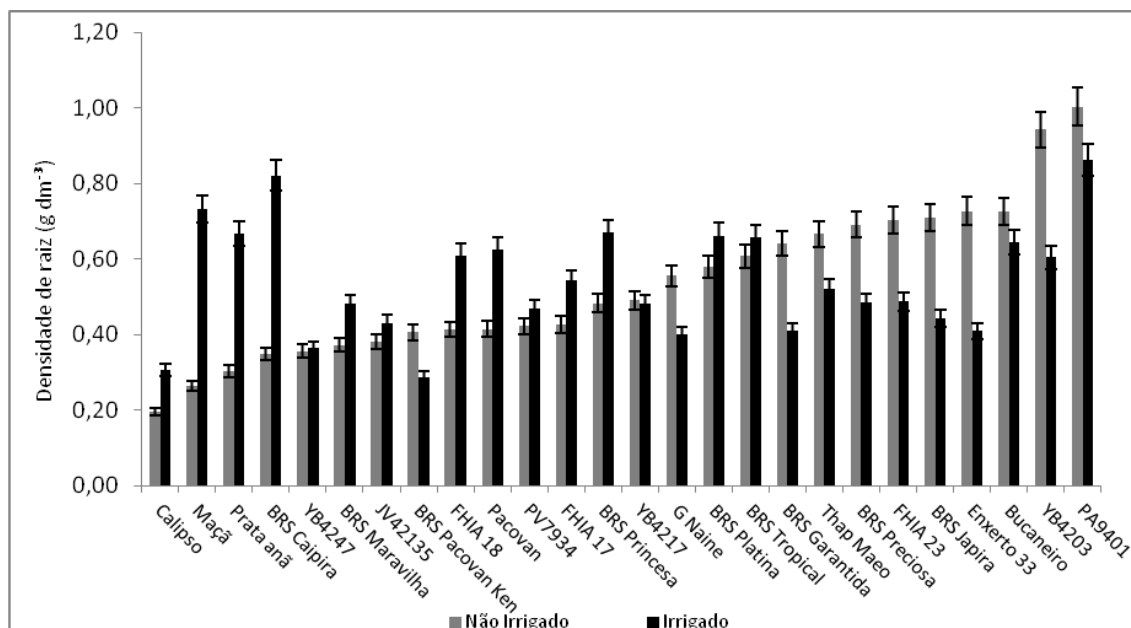


Figura 2. Relação da variação da densidade de raiz dos 26 genótipos de bananeira entre os tratamentos submetidos à deficiência hídrica e o tratamento controle.

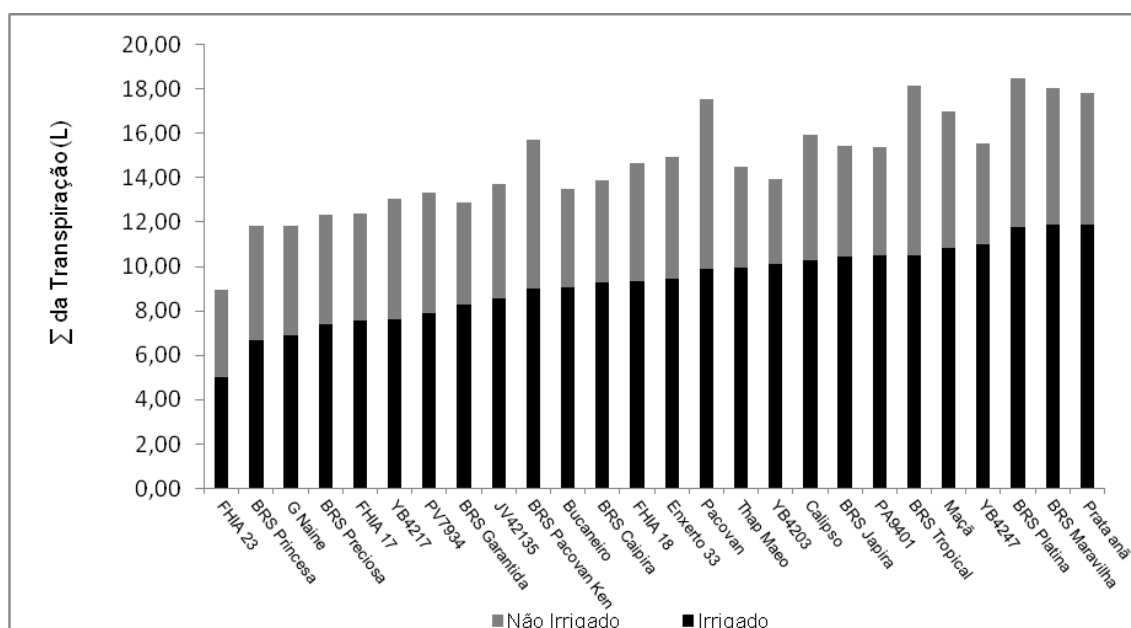


Figura 3. Somatório dos valores da transpiração dos 26 genótipos de bananeira entre os tratamentos submetidos à deficiência hídrica e o tratamento controle

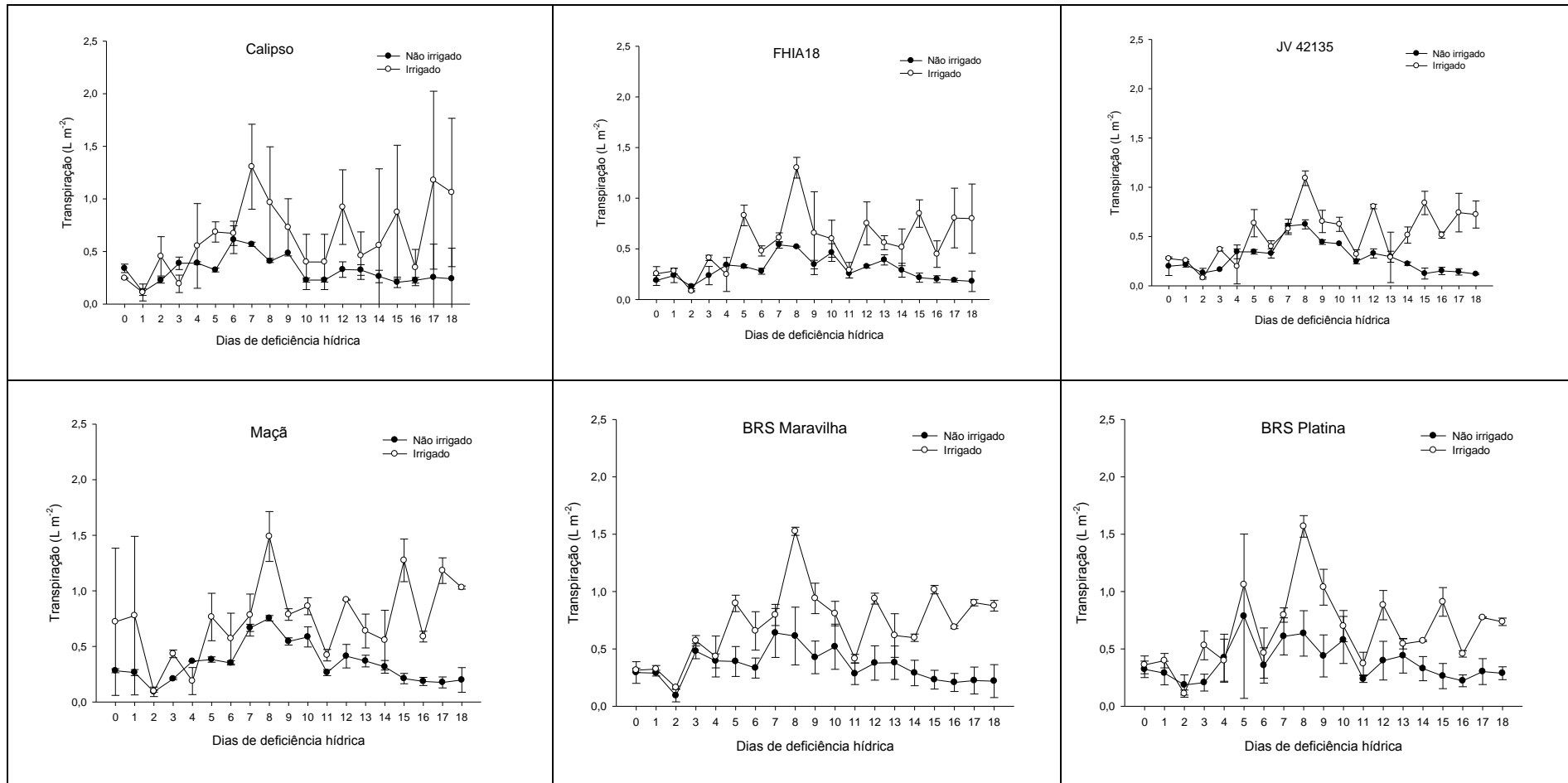
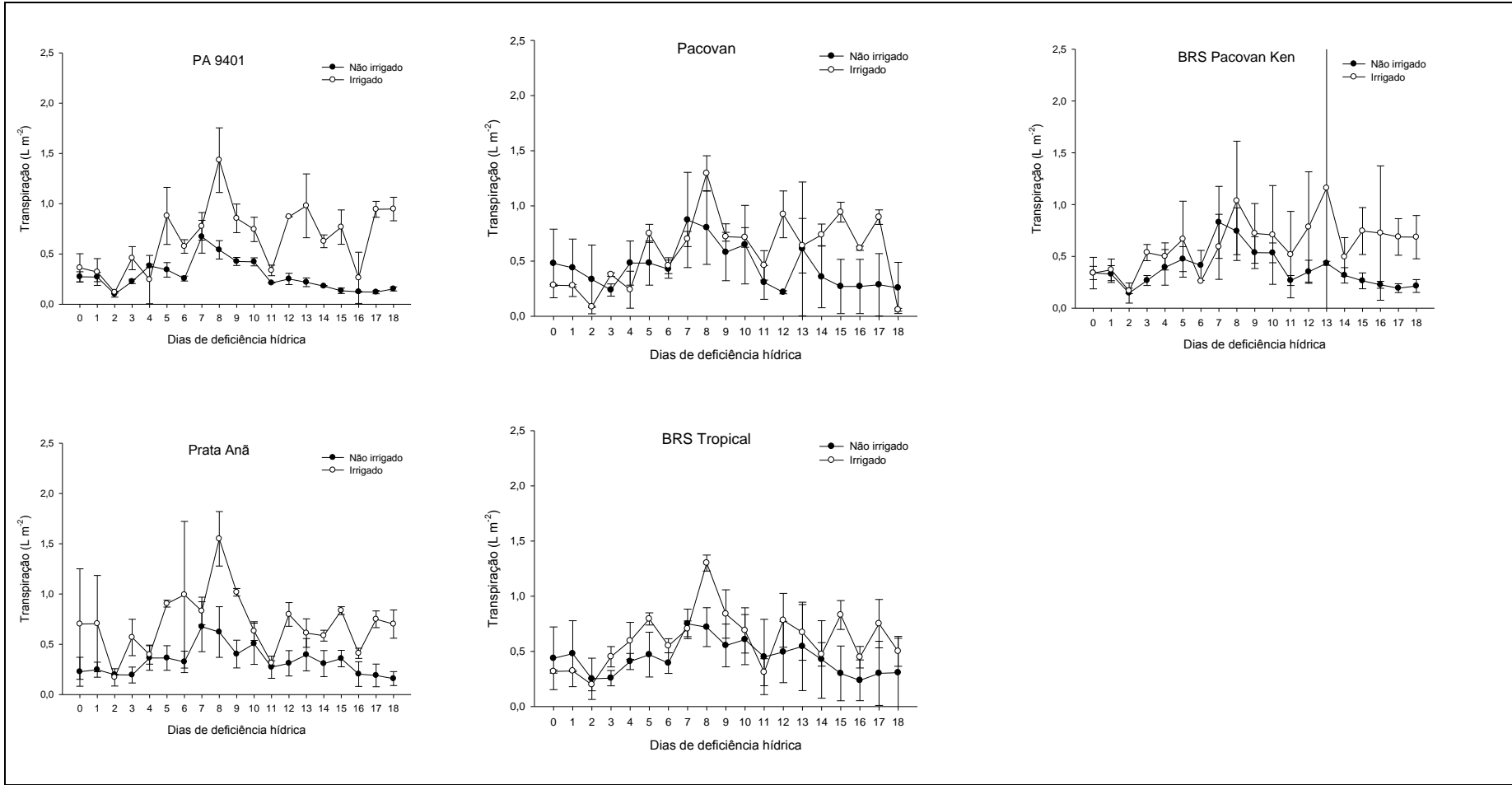


Figura 4. Transpiração ($L m^{-2}$) dos genótipos de bananeira do Grupo 1, nos tratamentos irrigados e não irrigados, submetidos à deficiência hídrica durante os 18 dias de secamento contínuo do substrato.



Continuação da Figura 4

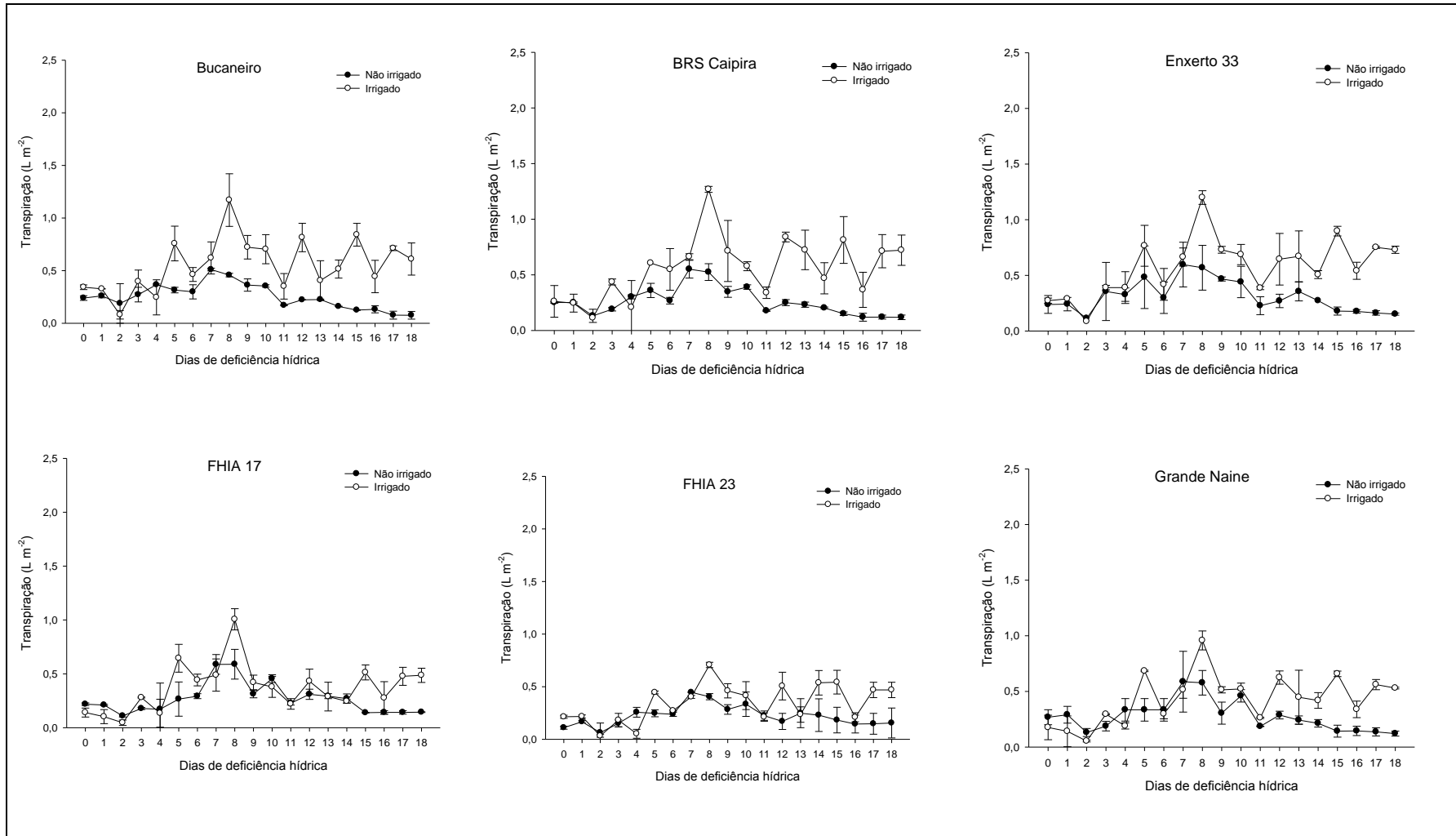
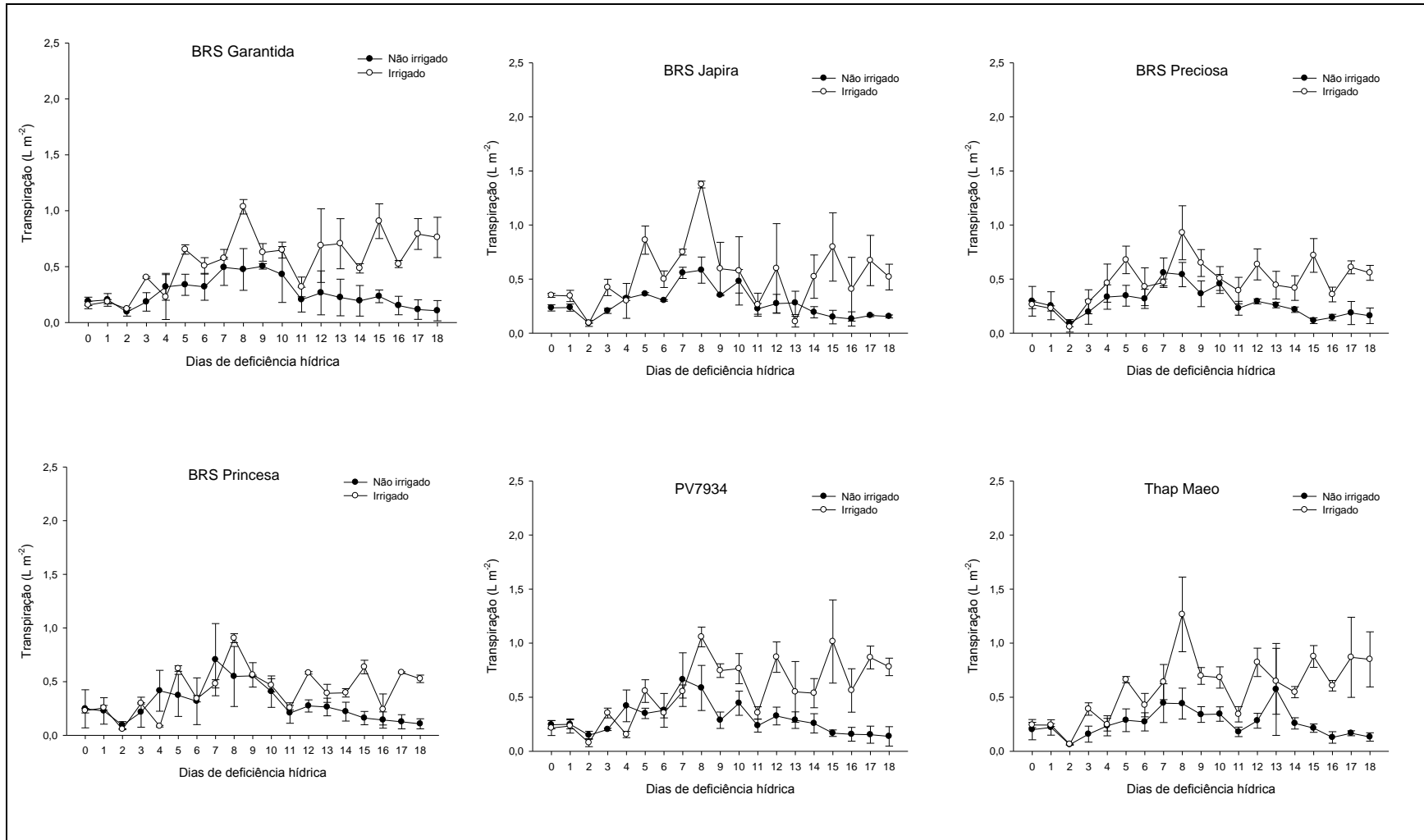
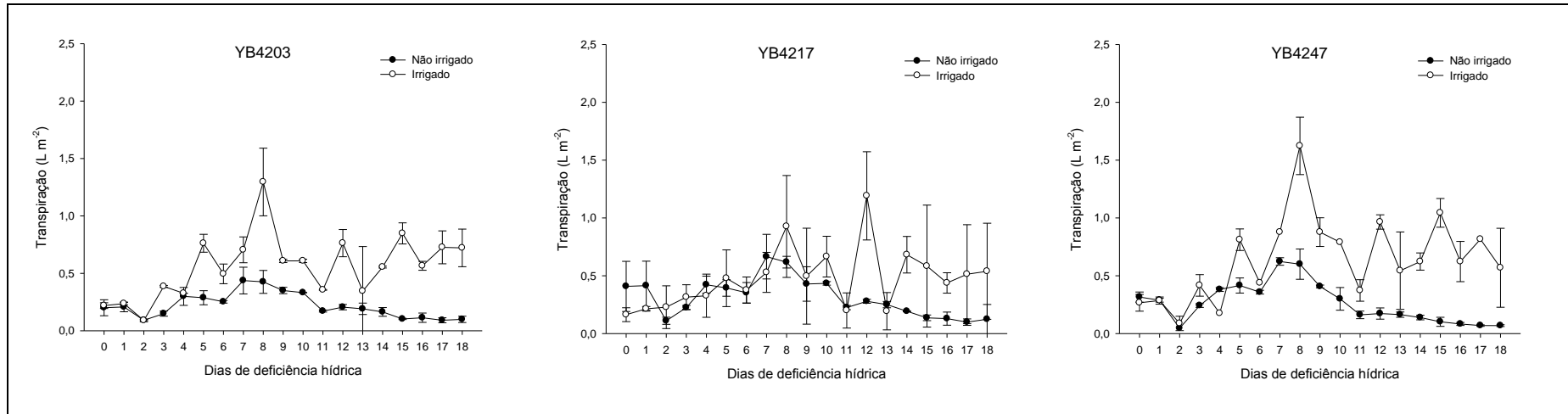


Figura 5. Transpiração ($L\ m^{-2}$) dos genótipos de bananeira do Grupo 2, nos tratamentos irrigados e não irrigados, submetidos à deficiência hídrica durante os 18 dias de secamento contínuo do substrato.



Continuação da Figura 5.



Continuação da Figura 5.

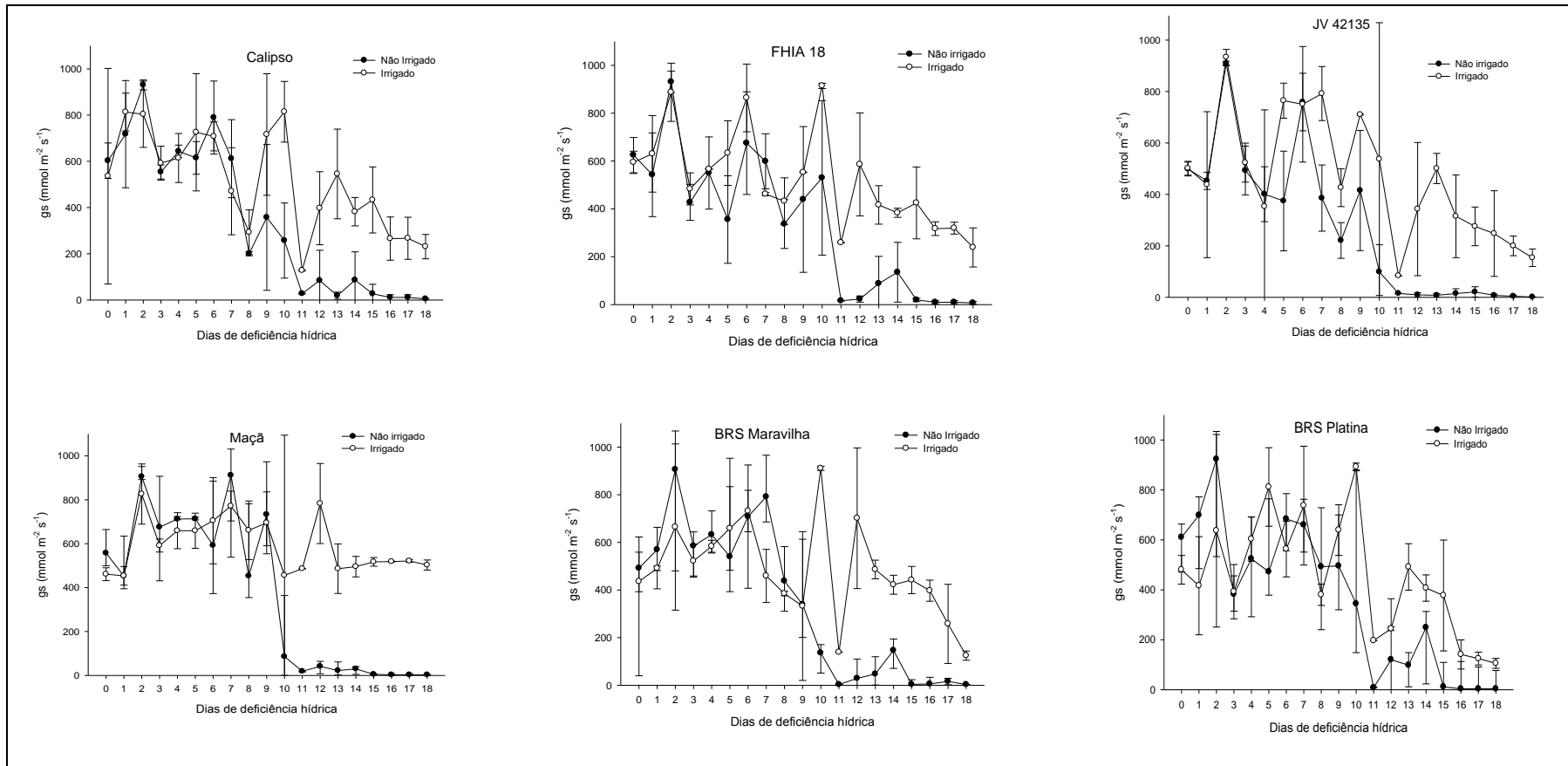
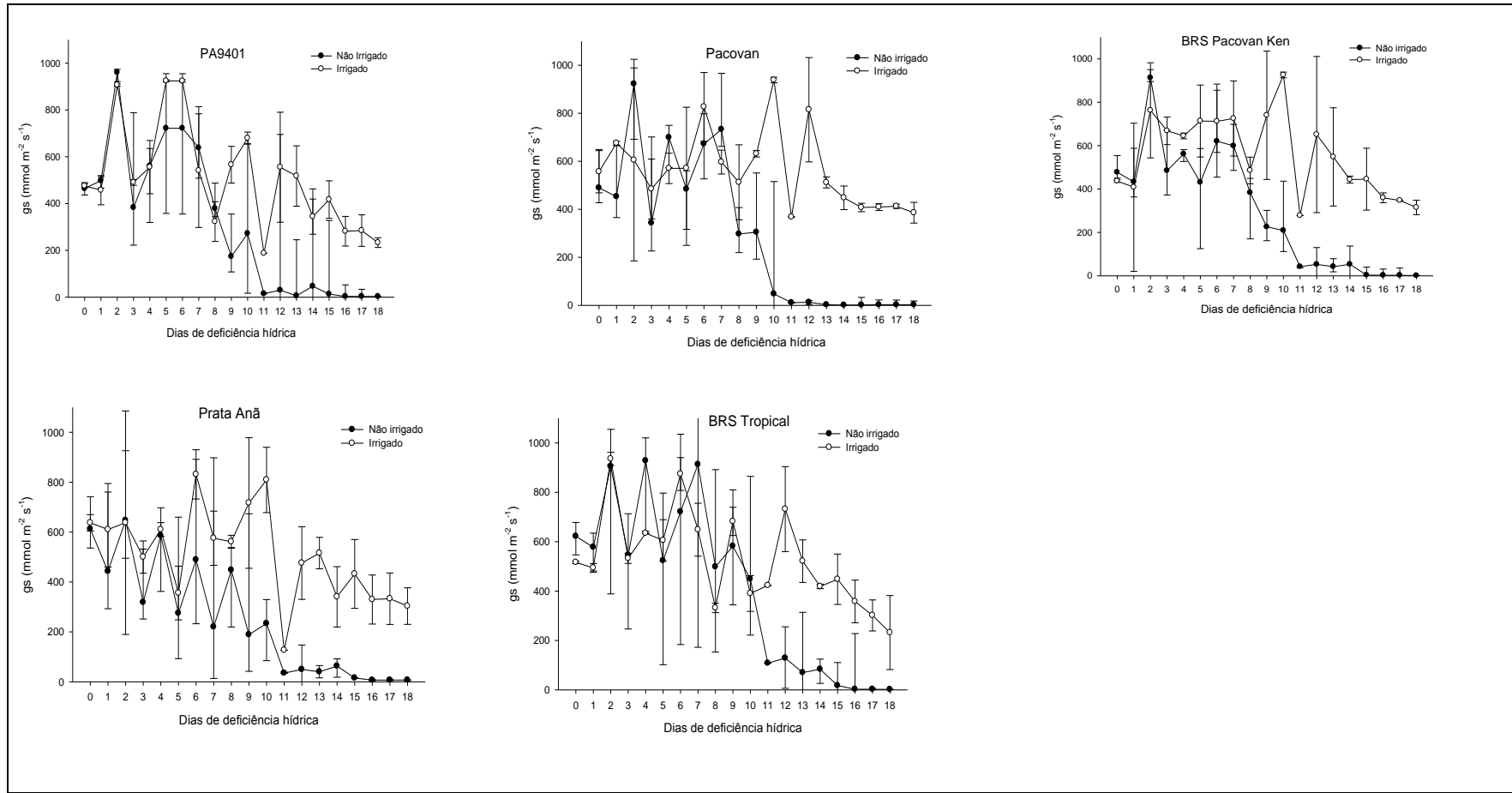


Figura 6. Condutância estomática (gs) das variedades avaliadas do Grupo 1, nos tratamentos irrigados e não irrigados, durante os 18 dias em de secamento contínuo do substrato.



Continuação da Figura 6.

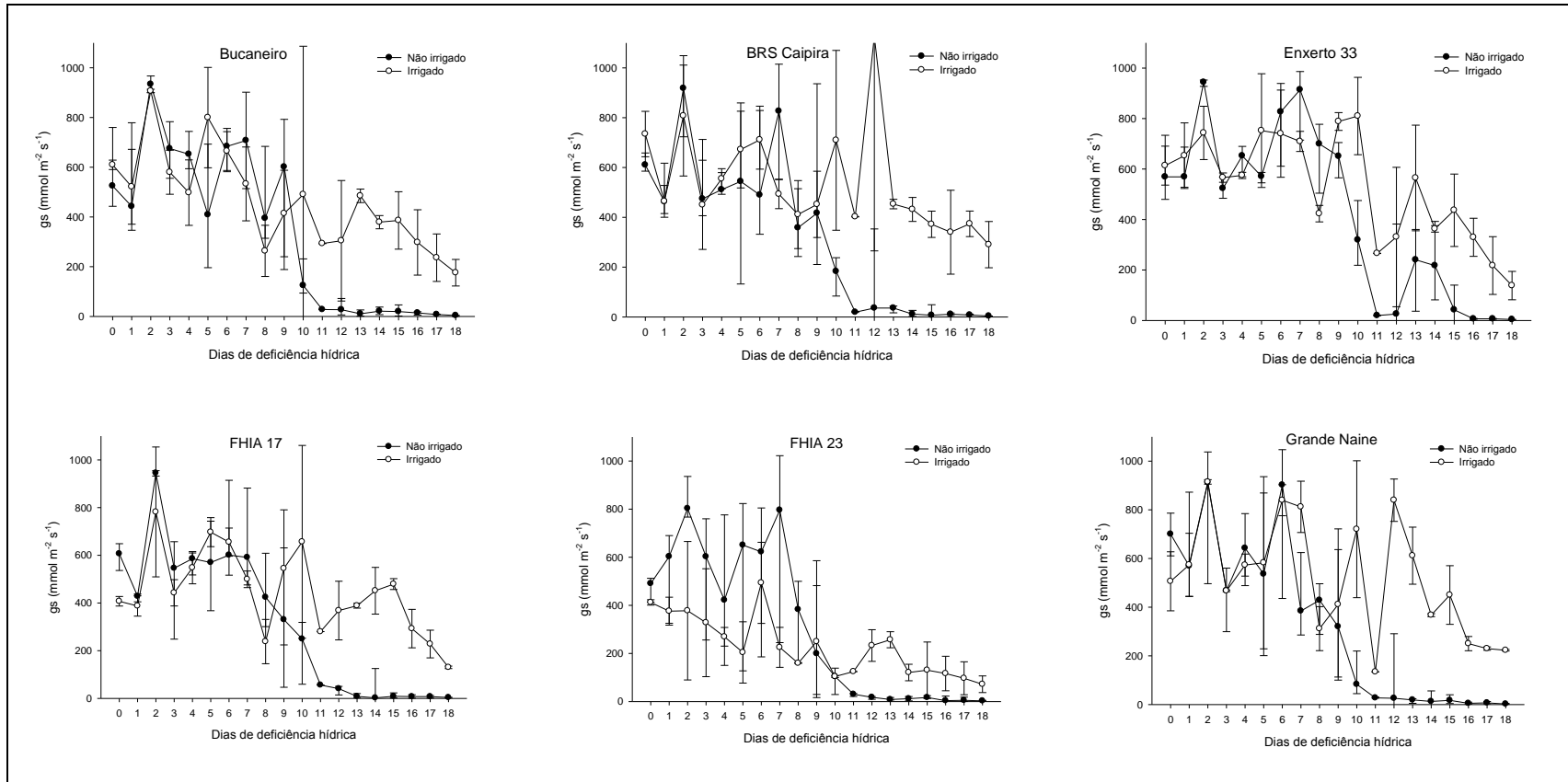
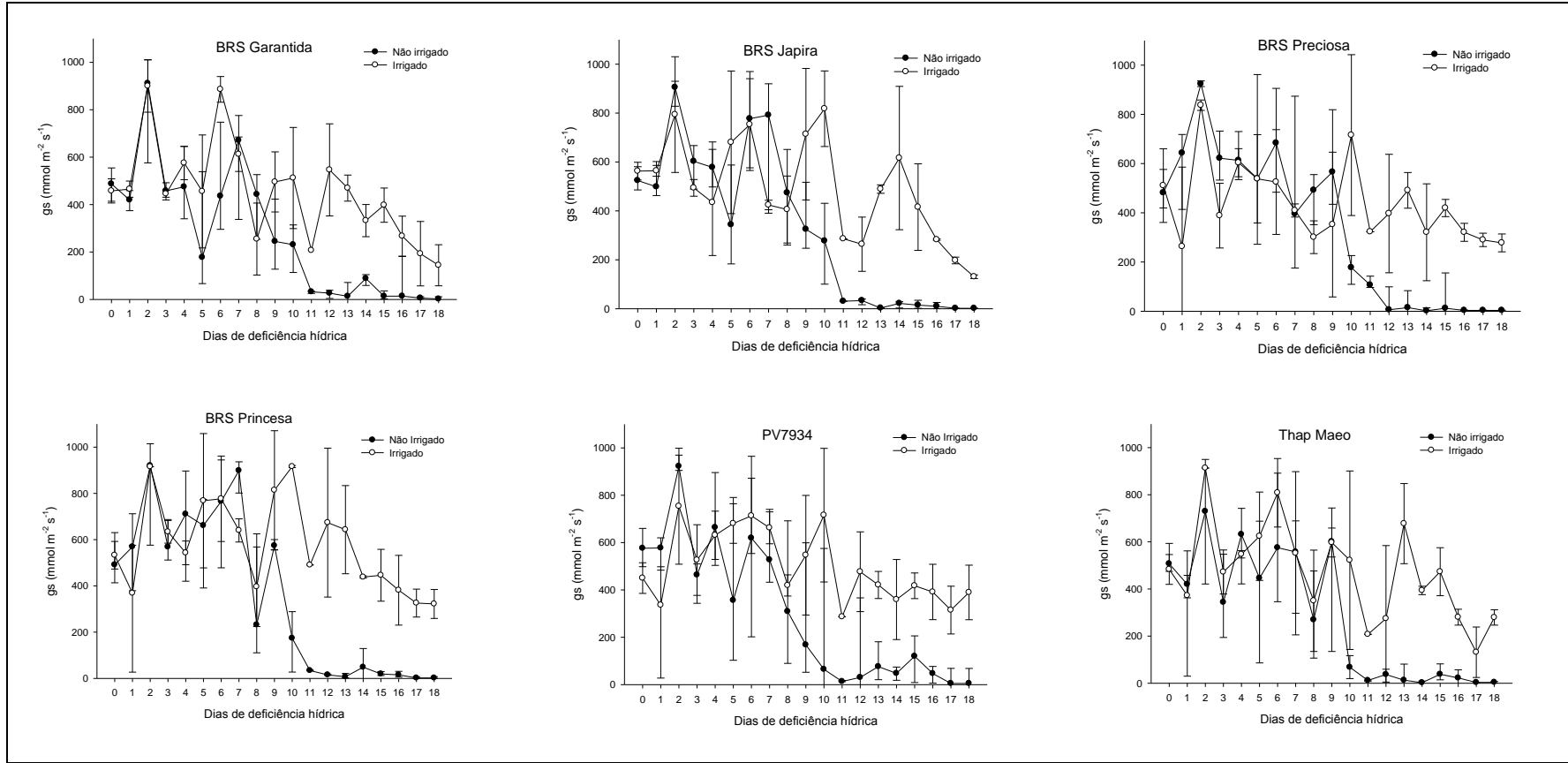
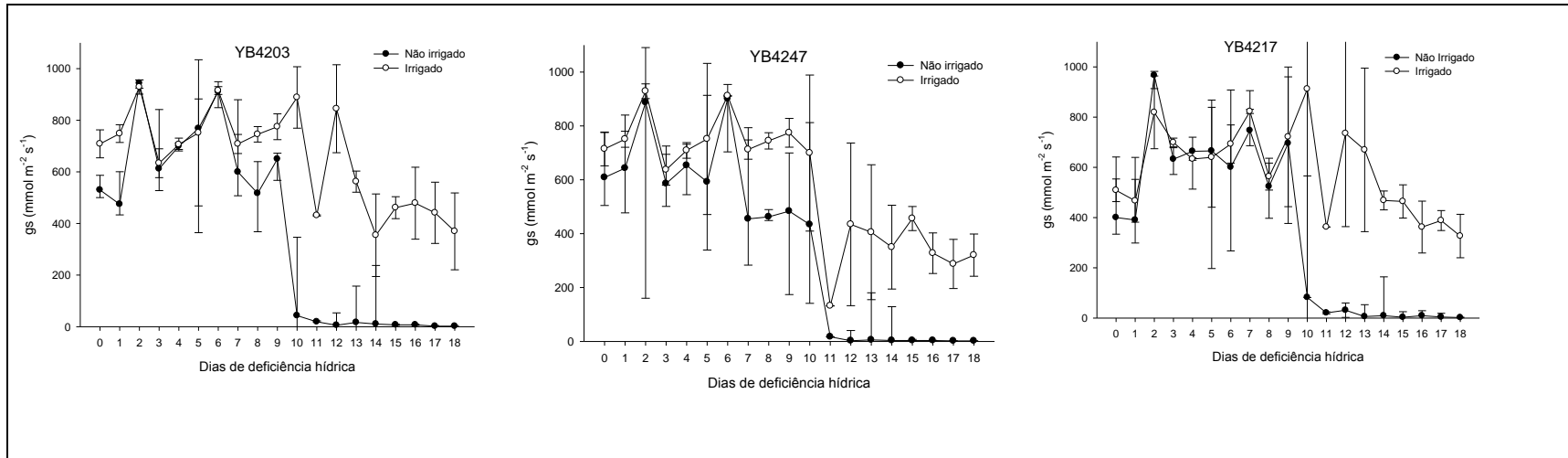


Figura 7. Condutância estomática (gs) das variedades avaliadas do Grupo 2, nos tratamentos irrigados e não irrigados, durante os 18 dias em de secamento contínuo do substrato.



Continuação da Figura 7.



Continuação da Figura 7.

Tabela 3. Temperatura da folha dos 26 genótipos de bananeira avaliados a cada três dias após a imposição da deficiência hídrica por secamento contínuo do substrato. Cruz das Almas, BA, 2013.

Genótipos	Períodos					
	3	6	9	12	15	18
Calipso	28,57a	29,80a	29,30ab	29,32a	30,06a	29,99b
FHIA 18	28,63a	29,65a	29,03ab	29,92a	29,93a	30,25b
JV 42 - 135	28,57a	29,72a	29,20ab	29,93a	29,93a	30,04b
Maçã	28,54a	28,86a	28,98b	29,58a	29,86a	29,79b
BRS Maravilha	28,53a	29,58a	28,93b	29,54a	29,93a	29,79b
BRS Platina	28,60a	29,80a	32,42a	29,80a	29,86a	30,01b
PA9401	28,58a	29,58a	29,55ab	29,60a	30,00a	28,96b
Pacovan	28,59a	29,56a	29,23ab	29,65a	29,96a	29,87b
BRS P. Ken	29,06a	32,88a	29,20ab	29,78a	30,00a	30,01b
Prata Anã	28,63a	29,67a	28,84b	29,73a	29,83a	30,03b
BRS Tropical	28,65a	29,69a	29,00ab	29,89a	29,90a	33,93a
Bucaneiro	28,66a	29,63a	29,28ab	29,86a	30,10a	30,43b
YB4217	28,61a	29,73a	29,18ab	29,58a	30,03a	30,02b
YB4203	28,52a	29,43a	29,13ab	29,58a	30,06a	29,72b
YB4247	28,57a	29,69a	28,90b	29,68a	29,56a	29,81b
BRS Caipira	28,62a	29,73a	29,08ab	29,64a	29,80a	29,73b
Enxerto 33	28,63a	29,68a	29,13ab	29,61a	30,03a	29,46b
FHIA 17	28,66a	29,78a	29,18ab	29,92a	29,90a	30,13b
FHIA 23	28,63a	29,63a	29,29ab	29,84a	29,93a	29,76b
G. Naine	28,61a	29,73a	29,07ab	29,61a	29,86a	30,22b
Garantida	28,60a	29,67a	29,16ab	29,66a	29,86a	30,02b
BRS Japira	28,61a	29,60a	29,23ab	30,17a	32,10a	29,63b
BRS Preciosa	28,55a	29,48a	29,33ab	29,72a	30,26a	29,63b
BRS Princesa	28,63a	29,58a	29,26ab	29,70a	30,10a	29,60b
PV7934	28,57a	29,60a	29,26ab	29,63a	30,06a	30,11b
Thap Maeo	28,53a	29,63a	29,27ab	29,88a	30,01a	29,83b
CV %	37,82	38,16	35,16	37,96	38,00	35,47

Médias seguidas pela letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.

CAPÍTULO II**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA
SUBMETIDOS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA¹**

¹Artigo a ser submetido à revista Journal of Experimental Botany

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA SUBMETIDOS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

RESUMO: A deficiência hídrica é um dos fatores ambientais que limita o desenvolvimento das plantas, afetando em maior ou menor intensidade a produtividade das culturas. Objetivou-se avaliar o desempenho fisiológico de quatro genótipos de bananeira (*Musa spp.*) submetidos à deficiência hídrica. Os genótipos de bananeira: BRS Tropical, FHIA 23, Prata Anã e YB4247, obtidos a partir de propagação *in vitro* foram colocados em bandejas de isopor contendo substrato comercial e aclimatados por 45 dias. Posteriormente foram colocados em vasos com volume útil de 4,5 L em casa de vegetação durante 60 dias irrigados diariamente até o início das avaliações. Para avaliar a umidade do solo, sondas de TDR foram introduzidas verticalmente entre a planta e a parede do vaso. As variáveis analisadas foram: condutância estomática, pressão de turgescência, transpiração e as variáveis biométricas (massa seca, altura e diâmetro do pseudocaule), foram avaliadas periodicamente de três em três dias finalizando o secamento contínuo do solo no décimo oitavo dia. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial com 4 (genótipos) x 2 (Irrigação), com 6 repetições com parcela subdividida no tempo. Os genótipos que apresentam maior tolerância são o BRS Tropical e FHIA 23, com redução da transpiração como forma de aclimatação à condição de deficiência hídrica. Os genótipos Prata Anã e YB4247 reduzem sua condutância estomática e não apresentam um bom desenvolvimento das raízes quando submetidos à deficiência hídrica.

Palavras-chave: *Musa spp.*, tolerância a seca, crescimento, transpiração.

PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF BANANA GENOTYPES SUBJECTED TO WATER STRESS

ABSTRACT: Water stress is an environmental factor that limits plant growth, affecting a greater or lesser extent crop productivity. This study aimed to evaluate the physiological performance of four genotypes of banana (*Musa spp.*) Submitted to water deficit. The banana genotypes: BRS Tropical, FHIA 23, Prata Anã and YB4247 obtained from in vitro propagation were placed in trays containing commercial substrate and acclimated for 45 days. Afterwards they were placed in pots with 4.5 L in a greenhouse and irrigated daily for 60 days until the beginning of the evaluations. To evaluate soil moisture, TDR probes were inserted vertically between the plant and the vessel wall. The variables analyzed were: stomatal conductance, turgor pressure, sweating and biometric variables (dry mass, height and pseudostem diameter) assessed periodically for three days ending the continuous drying of soil on the eighteenth day. The experimental design was completely randomized in a factorial design with 4 (genotypes) x 2 (Irrigation), with 6 replicates with plots in time. Genotypes with higher in tolerance are the BRS Tropical and FHIA 23, with lower transpiration as a way of acclimating to water stress condition. Genotypes Prata Anã and YB4247 reduce their stomatal conductance and do not have good root development when subjected to water stress.

Key-words: *Musa spp.*, drought tolerance, growth, transpiration.

INTRODUÇÃO

Dentre as fruteiras mais importantes economicamente, a bananeira destaca-se como uma das principais. De acordo com a FAO, em 2011 a banana foi produzida em mais de 130 países, com uma produção mundial de aproximadamente 100 milhões de toneladas (FAO, 2013).

Vários problemas são enfrentados pela cultura da bananeira que abrangem desde a produtividade e qualidade dos frutos, a questões mais específicas, como resistência a doenças e tolerância ao estresse hídrico (CORDEIRO et al., 1997, SILVA et al., 2004).

Em função de sua morfologia e da hidratação de seus tecidos, a bananeira apresenta um elevado consumo de água. As maiores produções estão associadas a uma precipitação total anual de 1.900 mm, bem distribuídas no decorrer do ano (ALVES, 1997). Em grande parte das regiões onde a bananeira é cultivada, as precipitações são insuficientes para atenderem às necessidades hídricas, tornando-se necessário o uso de irrigação suplementar como ocorre no semiárido do nordeste brasileiro (MUNNS et al., 2002).

A taxa de evapotranspiração da bananeira é bastante influenciada pela percentagem de água disponível na zona radicular. A depender do tipo de solo e as condições climáticas, o consumo de água pela bananeira pode variar de 3 a 8 mm d⁻¹ (MOREIRA, 1997).

A transpiração das plantas tende a aumentar quando o gradiente de pressão de vapor entre a folha e o ar atmosférico se eleva. Alguns autores verificaram que o aumento do déficit de pressão de vapor, quando a planta se encontra sob estresse hídrico, reduz o fluxo de vapor de água do interior da câmara sub-estomática para a atmosfera, causando uma redução na transpiração (THOMAS et al., 2000).

Embora há informações oferecidas na literatura de forma bem generalizada, poucos registros de estudos são encontrados envolvendo trocas gasosas e relações hídricas em relação à deficiência hídrica em bananeira. Robinson (1996) aponta a alta sensibilidade de bananeiras ao déficit hídrico e o agendamento da irrigação é a melhor estratégia para garantir a produção elevada.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar o desempenho fisiológico de quatro genótipos de bananeira (*Musa* spp.) submetidos à deficiência hídrica.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais Vegetais

Foram utilizados quatro genótipos de bananeira contrastantes quanto às respostas ao estresse hídrico identificados em ensaio preliminar com 26 genótipos tri e tetraploides submetidos ao estresse hídrico em casa de vegetação. Os genótipos foram separados em grupos considerados mais tolerantes à deficiência hídrica (BRS Tropical – AAAB e FHIA 23 – AAAA) e menos tolerantes (Prata Anã – AAB e YB4247 – AAAB).

Condições experimentais

O experimento foi realizado em casa de vegetação no período de janeiro a março de 2012. A duração da deficiência hídrica foi de dezoito dias com secamento contínuo do solo. Realizou-se seis avaliações periódicas a cada três dias onde foram analisados dois regimes hídricos: plantas irrigadas com manutenção da capacidade de campo no solo e plantas submetidas ao secamento contínuo do solo.

Preparo das mudas

Os genótipos de bananeira obtidos a partir de propagação *in vitro* foram colocados em bandejas de isopor contendo substrato comercial e aclimatadas durante um período de 45 dias em telado. Em seguida, foram transplantadas para vasos plásticos com volume útil de 4,5L contendo 50% de substrato comercial e 50% de areia lavada. Após 15 dias realizou-se uma adubação foliar com adubo NPK 10-10-10 por kg de substrato+areia. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com irrigação diária e posteriormente os vasos foram fechados com papel alumínio, ficando apenas a planta exposta à

radiação solar para evitar a evaporação da água do solo mantendo apenas a transpiração dos indivíduos. Após 60 dias, quando as plantas estavam com altura de 30 cm, foram submetidas aos tratamentos irrigado e não irrigado, com duração de 18 dias de secamento contínuo do solo.

Variáveis

Foram analisadas as variáveis biométricas, diâmetro e comprimento do pseudocaule, área foliar e massa seca da raiz e da parte aérea. Para a medida do diâmetro, utilizou-se um paquímetro. O comprimento e área foliar foram mensurados com auxílio de uma fita métrica semanalmente de acordo com a metodologia proposta por Hernandez et al. (1982).

A área foliar total (m^2) dos genótipos de bananeira foi quantificada tomando-se como base o dia inicial do corte da irrigação. A mensuração foi composta de comprimento (C) e largura mediana (L) de todas as folhas de cada planta avaliada, conforme equação $AF = 0,8 \times (C \times L)/10000$, estimada de acordo com Hernandez et al. (1982).

Ao final do experimento (18 dias), as raízes e parte aérea das plantas irrigadas e não irrigadas foram colhidas e separadas para análise de massa fresca e seca. A massa seca foi determinada utilizando-se uma balança analítica efetuando-se a pesagem das partes aéreas e raízes. Posteriormente, foram submetidas à estufa de circulação de ar forçado a $65^\circ C$, durante 24 horas até obtenção de massa constante. Em seguida, a parte aérea e as raízes foram resfriadas a temperatura ambiente e procedeu-se à pesagem em balança analítica.

Para a condutância estomática ($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) foram realizadas seis avaliações periodicamente de três em três dias durante os 18 dias de submissão à deficiência hídrica no período entre 8:00 e 9:00 horas no limbo da terceira folha expandida a partir do topo da planta conforme recomendação de Silva et al. (1999). Um porômetro portátil, modelo AP4 (Delta-T Devices, Inc., 1990, UK) previamente calibrado, foi utilizado nas mensurações.

Existem inúmeros métodos diferentes para se aferir a turgescência em folhas, podendo ser estimada utilizando-se o aparelho Wiltmeter® que é um

tipo de aplanador para medir a firmeza dependente da turgescência celular de folhas e de segmentos planares de órgãos (CALBO et al., 2010).

As avaliações de pressão de turgescência foram realizadas periodicamente com intervalos de três dias sendo mensuradas nos horários da pré-manhã, às 6:00 horas, utilizando-se o Wiltmeter®, com leituras feitas pelo método rápido, como descrito por CALBO et al. (2010). Para a mensuração, o tecido avaliado foi pressionado por uma membrana flexível contra uma placa de aplanação até que o amassamento se igualasse à pressão de turgescência celular e obstruísse a passagem de ar, condição para leitura da pressão no manômetro (Figura 2c).

A calibração das sondas TDR foi feita mediante a coleta da mistura de areia-substrato utilizada no experimento coletada de uma amostra em tubo de PVC. Posteriormente, essa foi levada ao laboratório onde inseriu-se uma tela fina embaixo do tubo a fim de permitir somente a passagem de água. Na sequência, as amostras foram saturadas durante 24 horas e as sondas de TDR inseridas no solo. A partir daí, iniciou-se as leituras de umidade na TDR e do peso do conjunto tubo-sonda-solo-tela em balança analítica com precisão de um decigrama. Inicialmente, as leituras foram feitas em intervalos de 10 minutos e à medida que o solo foi perdendo umidade, os intervalos de tempo foram aumentados. Quando o conjunto tubo-sonda-solo-tela atingiu valores estáveis, as leituras foram encerradas e o conjunto levado à estufa a 105 °C para determinação do peso seco do solo e das umidades gravimétricas correspondentes a cada pesagem. De posse dos dados de umidade lidos na TDR, relacionando-os com os valores de umidade gravimétrica, obteve-se a equação (Equação1).

$$\theta = \left(\frac{P_1 - P_2}{P_2 - P_3} \right) \cdot \rho_b$$

Equação 1

Sendo θ a Umidade volumétrica do solo ($m^3 m^{-3}$); P_1 o peso do conjunto tubo – solo – sonda – tela (Kg); P_2 o peso seco do solo seco do conjunto tubo – solo – sonda – tela; P_3 o peso do tubo, sonda e tela (Kg); ρ_b a densidade do solo ($Kg dm^{-3}$).

A análise do solo foi realizada no Laboratório de Solos da Embrapa

Mandioca e Fruticultura e com base nos dados de umidade e potencial matricial do solo, obteve-se a calibração. O melhor ajuste para a equação de calibração do equipamento utilizado para a leitura de umidade do solo ocorreu com uma equação do tipo polinomial de 2ª ordem (Figura 1).

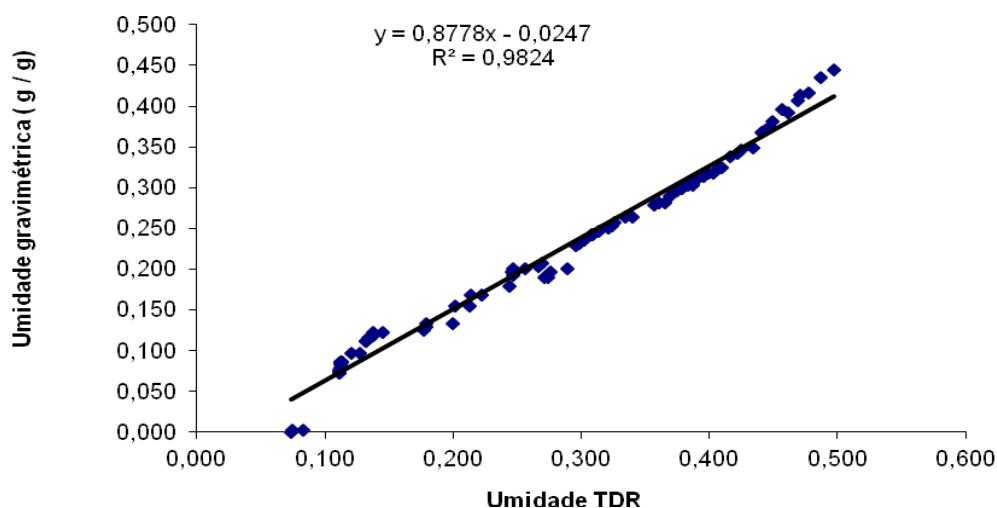


Figura 1. Resultado da calibração entre umidade obtida pela TDR e umidade gravimétrica da mistura areia lavada e substrato utilizado no experimento.

A reposição de água no tratamento irrigado foi estabelecida diariamente conforme a perda de água por transpiração pela diferença de umidade diária do vaso determinada às 17:00 horas, considerando um volume útil de 4,5L.



Figura 2. Plantas de bananeira cultivadas em casa de vegetação (A); medição fisiológica da condutância estomática com auxílio do porômetro realizada em planta de bananeira (B); medição fisiológica de pressão turgor com auxílio do Wiltmeter® (C).

A taxa de transpiração foi avaliada com base na umidade do solo e área foliar, a partir do cálculo da transpiração das plantas ($L\ m^2\ folha\ dia^{-1}$) utilizando as diferenças de umidade do solo no início da manhã (θ_i) e no final da tarde (θ_f), conhecendo-se o volume de solo explorado (V_s) e a área foliar total da planta (m^2): $(\theta_i - \theta_f)V_s/AF$. A avaliação da umidade do solo em cada vaso foi monitorada por meio de sondas TDR (*Time Domain Reflectometer*) reflectometria no domínio do tempo, calibradas previamente no Laboratório de Física do Solo da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Figura 2), usando o mesmo substrato preenchendo tubos de PVC. As sondas utilizadas foram confeccionadas no Laboratório de Irrigação e Drenagem da Embrapa Mandioca e Fruticultura conforme Coelho et al. (2005), utilizando-se três hastes metálicas paralelas de 3 mm de diâmetro e 10,0 cm de comprimento, uma camada de 2,5 cm de resina cristal e 1,5 m de cabo. As sondas foram introduzidas na vertical entre a planta e a parede do vaso (distanciando-se 3 cm da parede do vaso) de maneira uniforme para todos os vasos.

Delineamento experimental

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado no esquema fatorial 4 x 2, quatro genótipos e duas condições hídricas. As avaliações foram realizadas periodicamente de três em três dias até completar os 18 dias de secamento contínuo do solo. Os dados foram submetidos ao teste F da análise de variância considerando o modelo estatístico do delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas no tempo. As médias dos genótipos e irrigação foram comparadas utilizando o teste de Tukey em 5% de significância. Para as médias dos períodos de avaliação, ajustaram-se modelos de regressão polinomial. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

Os dados foram submetidos à análise multivariada de variáveis canônicas. Utilizou-se, também, o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa dos caracteres para a avaliação da diversidade genética. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o aplicativo genético computacional Genes (CRUZ, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferenças significativas das variáveis fisiológicas (Tabela 1). As interações e os seus consequentes desdobramentos constam ao longo das discussões das Tabelas.

A resposta mais proeminente das plantas à deficiência hídrica, segundo McCree e Fernández (1989) e Taiz e Zeiger (1991), consiste no decréscimo da produção da área foliar, do fechamento dos estômatos e da aceleração da senescência das folhas. Quando as plantas são expostas a situações de deficiência hídrica, exibem frequentemente respostas fisiológicas que resultam de modo indireto na conservação da água no solo, como se estivessem economizando para períodos posteriores.

Efeito da deficiência hídrica na taxa de transpiração de genótipos de bananeira

A extração da água do solo consiste basicamente de dois componentes, evaporação pela superfície do solo e extração pelas raízes via transpiração. A taxa de transpiração foi influenciada pela restrição de água ao longo do período de estresse hídrico, evidenciado pelo genótipo Prata Anã sob deficiência (Figura 3); que mostrou uma diminuição significativa quando comparado com o mesmo genótipo no tratamento irrigado. Resultados semelhantes foram encontrados por Inamullah (2005) investigando o efeito da restrição de água em cultivares de *Gossypium hirsutum* L., onde houve redução da transpiração no genótipo sob deficiência, comparando o irrigado com o controle.

Dentre os genótipos menos tolerantes à perda de água por transpiração, destaca-se a Prata Anã e o YB4247, com a maior transpiração dos tratamentos submetidos ao estresse hídrico $0,0178 \text{ L m}^{-2}$ e $0,0160 \text{ L m}^{-2}$, respectivamente, enquanto BRS Tropical e FHIA 23 apresentaram os menores índices de transpiração $0,0078 \text{ L m}^{-2}$ e $0,0060 \text{ L m}^{-2}$, respectivamente (Figura 3).

O genótipo Prata Anã obteve a maior taxa de transpiração comparando à variação de mais de 50% da planta irrigada para a planta não irrigada (Figura 3). Esse é um indicativo de que essas plantas menos tolerantes quando

submetidas à condição de deficiência hídrica, não conseguem reduzir a perda de água por transpiração.

A severidade da deficiência hídrica está intimamente relacionada à taxa de progressão do déficit sendo que, quanto mais rápida, menor a habilidade da planta em se aclimatar à seca (DAMATTA e RAMALHO, 2006). Sendo assim, os resultados podem indicar que nas plantas em que a deficiência hídrica progrediu mais lentamente, pode ter ocorrido aclimatação à condição de deficiência como mostra o genótipo BRS Tropical. Portanto, os efeitos deletérios da seca podem ter sido minimizados.

As bananeiras levaram tempos iguais para atingirem a umidade mínima do sistema substrato+areia, sugerindo taxas de transpiração e capacidade de extração de água do solo similar (Figura 4).

A transpiração desses materiais está relacionada com a capacidade da planta em controlar o fechamento estomático e reter mais água evitando perdas excessivas. Pode-se compreender que o fechamento parcial dos estômatos em bananeira, em resposta ao aumento da deficiência hídrica, seja uma aclimatação para evitar sucessivas perdas de água por transpiração.

Em condição de casa de vegetação, o híbrido FHIA 23 apresenta eficiente mecanismo de rápida desidratação, pois diante da imposição da deficiência, o mesmo reduz drasticamente a transpiração apresentando um comportamento diferente dos outros genótipos.

Efeito da deficiência hídrica na condutância estomática de variedades de bananeira

A variável condutância estomática (Tabela 1) não diferenciou significativamente os genótipos, tanto para os irrigados, quanto para os não irrigados. Mesmo com todos os genótipos de bananeira entrando em períodos de estresse quase que simultaneamente, alguns apresentaram capacidade de manter o desenvolvimento ao longo do secamento do solo.

A bananeira é uma hidrófita, requer grandes quantidades de água para seu normal desenvolvimento, sendo então, muito suscetível à seca. O fechamento estomático ocorre quando o limbo sofre deficiência hídrica e a

transpiração diminui. Porém, como este fechamento estomático é parcial, a defesa da planta é incompleta (SOTO-BALLESTERO, 1992).

Conforme a Figura 5 observa-se redução da condutância estomática ao longo dos períodos. Houve diferenças significativas entre os genótipos a partir do primeiro período avaliado, ou seja, no terceiro dia de secamento contínuo do solo, no qual se destaca o híbrido FHIA 23 que respondeu rapidamente a falta d'água, provocando maior fechamento estomático.

A condutância estomática foi reduzida nos genótipos Prata Anã e FHIA 23, uma vez que essa é uma estratégia utilizada pelas plantas para diminuir a perda de água para o meio ambiente.

De maneira geral, ocorreu fechamento ao longo dos períodos nos quatro genótipos submetidos ao estresse hídrico por secamento contínuo do solo (Figura 5). Resultados obtidos por Gomes et al. (2003) mostraram a redução da condutância estomática observada em laranjeira 'Pera' (*C. sinensis*) enxertadas em limoeiro 'Cravo'. A condutância estomática está relacionada com a água disponível no solo, pois à medida que essa disponibilidade é reduzida, isso faz com que a planta diminua a sua condutância (Figura 5).

A amplitude de variação da condutância estomática é elevada no sexto dia de deficiência hídrica. Isso se deve à umidade relativa do ambiente estar mais elevada quando comparada com os períodos anteriores (Tabela 2), além do fato da observação ter sido conduzida em um dia nublado, considerando que diversos fatores podem influenciar a condutância, como, por exemplo, a irradiação solar.

Observou-se que a condutância estomática diminuiu de forma gradativa durante todo o período de deficiência hídrica. Uma possível explicação seria que as plantas de bananeira precisam manter sua turgescência natural, fechando, portanto, os estômatos e assim evitando perda excessiva de água.

Efeito do estresse hídrico na pressão de turgescência em folhas de variedades de bananeira

De acordo com a análise de variância na Tabela 3, observou-se que houve significância para a variável turgescência. As interações duplas e os

seus consequentes desdobramentos, encontram-se ao longo das discussões das Tabelas.

De acordo com a Tabela 5, verifica-se que o genótipo Prata Anã, sob deficiência hídrica, apresentou o maior valor de pressão de turgescência, (301,54 kPa) diferenciando-se dos outros genótipos. A cultivar BRS Tropical - AAAB apresentou maior tolerância à deficiência hídrica quando comparada aos outros genótipos avaliados. Essa cultivar foi desenvolvida pela Embrapa a partir do cruzamento entre o diploide M53 (AA) e a cultivar Yangambi nº2 - AAB. Variedades que possuem em sua composição o genoma B, provavelmente são mais resistentes à seca (SIMMONDS, 1966; THOMAS et al., 1998; ROBINSON e SAUCO, 2010).

Conforme a Figura 6, a BRS Tropical apresenta um comportamento constante devido à condição de deficiência hídrica, o que não ocorreu com a FHIA 23, que reduziu bruscamente a turgescência. Essa condição deve-se a características intrínsecas a esse genótipo, que respondeu rapidamente à falta de água no solo.

A perda de turgescência e maior fechamento dos estômatos, revela que os genótipos Prata Anã e YB4247 não toleram a deficiência hídrica. Esse fato é explicado por Turner (1997), que a tolerância da planta durante o déficit hídrico parece ser um importante mecanismo de resistência para manter o processo produtivo em condições de baixa disponibilidade de água às plantas.

Efeito do estresse hídrico para as variáveis biométricas

Comparando a matéria seca da parte aérea das plantas com suspensão total da irrigação com seus controles, verificou-se redução de 25%; 24%; 32% e 26%, para os genótipos: BRS Tropical, FHIA 23, Prata Anã e YB4247, respectivamente, ao final do período experimental (Figura 7).

Houve uma redução da massa seca da parte aérea em todos os genótipos quando submetidos à deficiência hídrica. Araújo e Ferreira (1997), trabalhando com amendoim submetido ao déficit hídrico em diferentes estádios de desenvolvimento, observaram uma expressiva redução na matéria seca da parte aérea em todos os tratamentos.

Oliveira (2000), estudando o crescimento de mudas de gravioleira sob deficiência hídrica, observou maior produção de matéria seca na raiz (8,44 g planta⁻¹) em plantas de gravioleira sob 75%. No entanto, Santiago (2000), avaliando o crescimento de plantas jovens de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth), verificou que a deficiência hídrica provocou redução tanto na matéria seca das folhas, quanto na matéria seca do caule. Em bananeira o valor foi menor, pois se trata de uma cultura que possui 80% de água na sua constituição, com folhas espessas e um pseudocaule suculento.

A deficiência hídrica provocou uma redução expressiva na produção de massa seca da raiz. O nível de redução foi de 43%; 33%; 51% e 45% para os genótipos BRS Tropical, FHIA 23, Prata Anã e YB4247, respectivamente, em comparação ao tratamento controle (irrigado) (Figura 8). A massa seca da raiz do genótipo Prata Anã pode ser explicada, pois este material apresentou uma perda de umidade e transpirou bastante, provavelmente ele contém uma quantidade maior de folhas.

Algumas plantas ao longo do período de estresse hídrico conseguem desenvolver bem suas raízes, pois as mesmas tendem a buscar água no solo. Para outras, seu crescimento é inibido como forma de manter o desenvolvimento já alcançado; minimizando as perdas pela falta de água (Tabela 6).

Martins et al. (2008), trabalhando com mudas de eucalipto, verificaram que o crescimento e o desenvolvimento de mudas de eucalipto foram afetados pela deficiência hídrica, sendo o crescimento em altura e o diâmetro do caule as variáveis mais afetadas pela ação do estresse hídrico. Para os genótipos de bananeira estudados, também houve diferença significativa quanto as variáveis altura; diâmetro do pseudocaule e área foliar.

Características da planta, como identidade do órgão ou tecido, estágio de desenvolvimento e genótipo, influenciam diretamente na resposta ao estresse hídrico.

Variáveis de maior importância

A análise de correlação canônica é um procedimento estatístico

multivariado que permite o exame da estrutura de relações existentes entre dois grupos ou conjuntos de variáveis (X e Y) (ABREU e VETTER, 1978). A Figura 9 representa a análise de variáveis canônicas considerando a média e todos os períodos avaliados. Observa-se que as duas primeiras variáveis canônicas explicaram 86,49% de toda a variância total disponível. Para a variável canônica 1, o gráfico de dispersão evidencia a distinção dos tratamentos que foram irrigados dos que não foram irrigados. Considerando a variável canônica 2, observa-se comportamento diferenciado do Prata Anã dos demais, nos tratamentos irrigado e não irrigado. O genótipo Prata Anã possui uma característica interessante, pois dentre todas, é o que apresenta menor tolerância à deficiência hídrica.

As variáveis que mais contribuíram para explicar as diferenças entre os tratamentos irrigados dos não irrigados foi condutância estomática (42,71%) e a pressão de turgescência (38,39%) (Tabela 7).

CONCLUSÃO

A condutância estomática e a pressão de turgescência do solo são bons indicadores de deficiência hídrica em bananeira, revelando que a umidade do solo das plantas menos tolerantes à deficiência hídrica apresenta comportamento diferente das plantas tolerantes.

Os genótipos que apresentam maior tolerância são o BRS Tropical e FHIA 23, este que possui resposta e excessiva perda de água no solo diante da imposição da deficiência hídrica, reduzindo rapidamente a condutância estomática e a pressão de turgescência.

Os genótipos Prata Anã e YB4247 reduzem sua condutância estomática e não apresentam um bom desenvolvimento das raízes quando submetidos à deficiência hídrica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. A.; VETTER, D. A análise de relações entre conjuntos de variáveis na matriz geográfica: correlação canônica. In: FAISSOL, S. **Tendências atuais na geografia urbano/regional: teorização e quantificação**. Rio de Janeiro: IBGE, p. 133-144. 1978.

ALVES, E. J. **A cultura da banana**: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: EMBRAPA-SPI; Cruz das Almas: EMBRAPA CNPMF. 585 p. 1997.

CALBO, A. G.; FERREIRA, M. D.; PESSOA, J. D. C. A. Leaf lamina compression method for estimating turgor pressure. **Science Horticulture**, v. 45, n. 3, p. 418-423, 2010.

COELHO, E. F. ; VELLAME, L. M. ; COELHO FILHO, M. A. Sonda de TDR para estimativa da umidade e condutividade elétrica do solo, com uso de multiplexadores. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 9, n. 4. p. 475-480, 2005.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, MG: UFV, 442p. 1997.

DAMATTA, F.M., RAMALHO, J.D.C, Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brasilian Journal Pant Physiology**. 18, p 55-81. 2006.

FAO, **Food and agriculture organization of the United Nations**, Acessado em: 24/01/2013, Disponível em: www.faostat.fao.org/site/340/default.aspx.

FERREIRA, D.F. Sistema de análise estatística para dados balanceados (**SISVAR**). Lavras: Universidade Federal de Lavras/DEX. 2000.

GOMES, M.M.A.; LAGÔA, A.M.M.A.;MACHADO, E.C. ;MEDINA, C.L. Abscisic acid and indole-3-acetic acid contents in orange trees infected by *Xylella fastidiosa* and submitted to cycles of water stress. **Plant Growth Regulation**, v.39, p. 263–270, 2003.

HERNANDEZ, A.J.M.; MASCARELL, J.; DUARTE, S.; SOCORRO, A.R. Na

and Cl content in banana plants of the Canaria Islands. Internantional Banana Nutrition Newsletter. **Stroville**. v.5. p.13-14, 1982.

INAMULLAH, ISODA A. Adaptive responses of soybean and cotton to water stress, **Plant Production Science**, 8: 16–26, 2005.

MARTINS, F. B.; STRECK, N. A.; SILVA, J. C.; MORAIS, W. W.; SUSIN, F.; NAVROSKI, M. C.; VIVIAN, M. A. Deficiência hídrica no solo e seu efeito sobre transpiração, crescimento e desenvolvimento de mudas de duas espécies de eucalipto. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, 32: 1297-1306, 2008.

McCREE, K.J.; FERNÁNDEZ, C.J. Simulation model for studyng physiological water stress responses of whole plants. **Crop Science**, Madison, v.29, p.353-360, 1989.

MOREIRA, R. S. Banana: teoria e prática de cultivo. Campinas: **Fundação Cargil**, 335 p. 1997.

MUNNS, R.; HUSAIN, S. RIVELLI, A. R.; RICHARD, A. J.; CONDON, A. G.; MEGAN, P. L.; EVANS, S. L.; SCHACHTMAN, D. P.; HARE, R.A. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. **Plant and Soil**, v.247, p. 93-105, 2002.

OLIVEIRA, D.V. **Aspectos de crescimento da gravioleira (*Annona muricata* L.) sob estresse hídrico**. 200. 60f. Dissertação (Mestrado em Botânica)- Universidade Rural de Pernambuco. Recife, 2000.

RAVI, I.; UMA, S. Clonal.Crops. Cap II.:Phenotyping bananas and plantains for adaptation to drought. **Bananas and plantains** (NRCB, India), 430-447. 2010.

ROBINSON, J.C. Bananas and Plantains. CAB International, Wallingford. 1996.

ROBINSON, J. C.; SAUCO, V. G. **Bananas and Platanos**, 2nd. Edn. Wallingford\Oxon, UK: Cabi Publishing. 2010.

SANTIAGO, A.M.P. **Aspectos do crescimento do sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth) em função da disponibilidade de água no solo**. 200. 63f. Dissertação (Mestrado em Botânica) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2000.

SILVA, S. O.; ALVES, E. J. Melhoramento genético e novos cultivares de

banana. **Informe Agropecuário**, Belo horizonte, v. 20, n. 196, p. 91-96, jan./fev. 1999.

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

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. The Indian, **Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v.41, n.1, p.237-245, 1981.

SOTO BALLESTERO, M. Bananos: cultivo y comercialización. 2. ed. San José, Costa, Rica: **Litografía e Imprenta Lil**, 674 p. 1992.

TAIZ, L.; ZEIGER. **Plant Physiology**. California: The Benjamin/ Cummings Publishing Company, Inc., **Redwood City**, 1991.

THOMAS, D. S.; EAMUS, D.; SHANAHAN, S. Influence of season, drought and xylem ABA on stomatal responses to leaf-to-air vapour pressure difference of trees of the Australian wet-dry tropics. **Australian Journal of Botany**, 48: 143-151, 2000.

THOMAS, D. S.; TURNER, D.; EAMUS, D. Independent effects of the environment on the leaf gas exchange of three banana (*Musa* spp.) cultivars of different genomic constitution. **Scientia Horticulture**. V.75. 41-57.1998.

TURNER, N.C. Further progress in crop water relations. **Advances in Agronomy**. 58, 293-338, 1997.

VENDRUSCOLO E.C.G., SCHUSTER I., PILEGGI M., SCAPIM C.A., MOLINARI H.B.C., MARUR C.J., VIEIRA L.G.E.: Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. **Journal of Plant Physiology**, 164: p. 1367–1373. 2007.

Tabela 1. Resumo da análise de variância fonte de variação e média geral para as variáveis: transpiração ($L\ m^{-2}$) e condutância estomática ($mmol\ m^{-1}\ s^{-2}$) de quatro genótipos de bananeira submetidos ao secamento contínuo em recipientes. Cruz das Almas, BA, 2013.

Fonte de Variação	GL	QM	
		Transpiração	Condutância
Genótipo	3	135,43*	38260,94 ^{ns}
Tratamento	1	896,76**	15847694,65**
Genótipo X Tratamento	3	41,88**	91636,99 ^{ns}
Erro A	40	394,32	59742,32
Período	5	13,97**	2302650,63**
Tratamento X Período	5	89,73**	1597940,30**
Erro B	200	232,15	78067,40
CV %		39,75	79,89
Média Geral		2,71	343,10

**Significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$); *significativo em nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo.

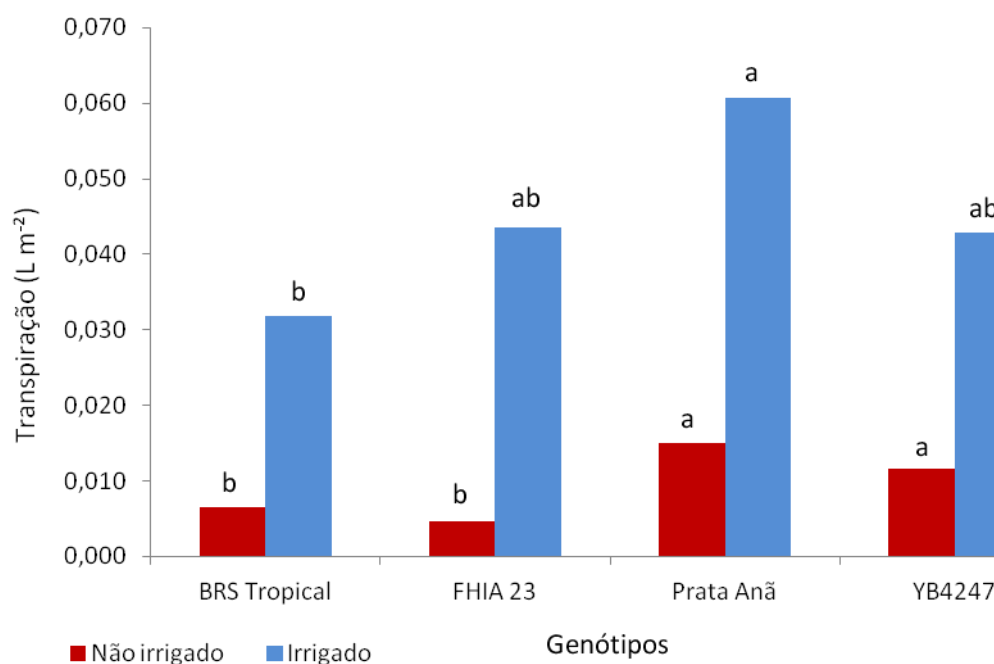


Figura 3. Gráfico representativo para variável transpiração total nos tratamentos irrigado e não irrigado dos quatro genótipos submetidos ao déficit hídrico durante período de secamento contínuo do solo.

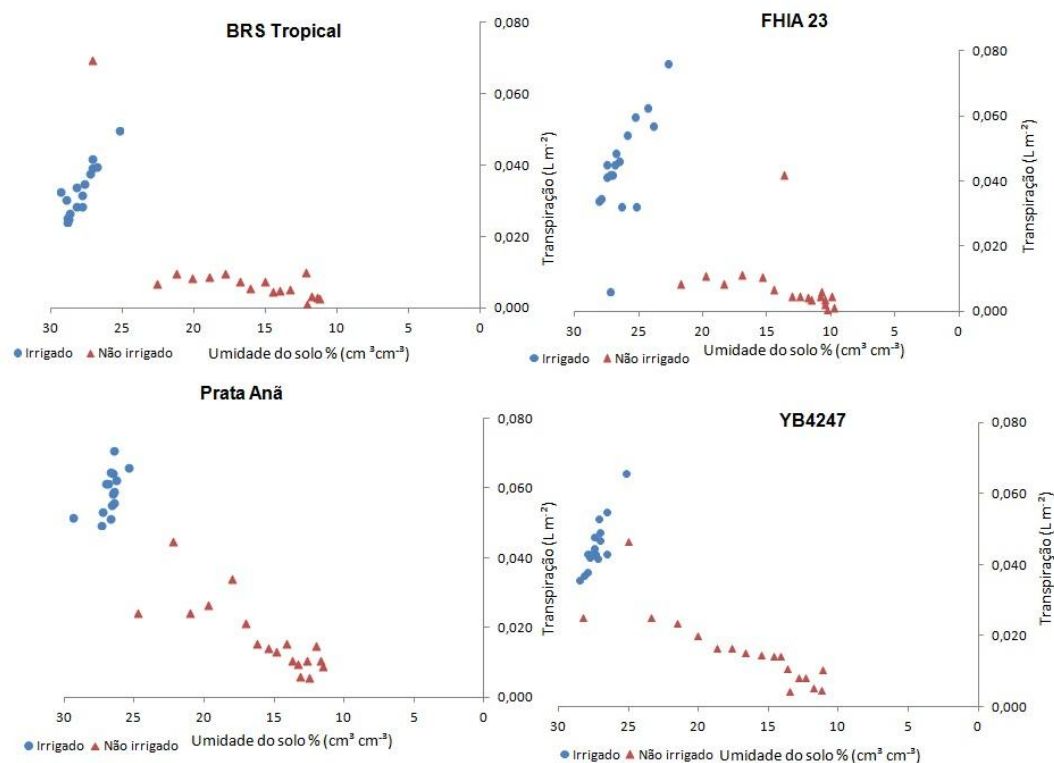


Figura 4. Relação entre umidade do solo e transpiração dos genótipos BRS Tropical, FHIA 23, Prata Anã e YB4247 ao longo de 18 dias de secamento contínuo. Cada ponto corresponde à média de seis plantas em cada período de avaliação.

Tabela 2. Dados da temperatura e umidade relativa dentro da casa de vegetação para os dias de avaliação da deficiência hídrica de quatro genótipos de bananeira. Cruz das Almas, BA, 2013.

Dias de avaliação	T ^o Max	T ^o Min	UR
3 ^o	30,8	28,9	45%
6 ^o	30,9	28,8	45%
9 ^o	32,0	29,7	45%
12 ^o	33,6	31,0	45%
15 ^o	32,2	30,7	45%
18 ^o	31,4	28,4	55%

Tabela 3. Resumo da análise de variância fonte de variação e média geral para a variável pressão de turgescência (kPa) de quatro genótipos de bananeira submetidos a secamento contínuo em recipientes. Cruz das Almas, BA, 2013.

Fonte de Variação	GL	QM
		Turgescência
Genótipo	3	29251,45**
Tratamento	1	200670,49**
Genótipo X Tratamento	3	40,00 ^{ns}
Erro A	40	130841,23
Período	5	3719,54**
Genótipo X Período	15	24132,15**
Tratamento X Período	5	142302,56**
Erro B	200	200,00
CV %		6,67
Média Geral		317,09

**Significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$); *significativo em nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo.

Tabela 4. Médias da condutância estomática ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) entre os tratamentos: irrigado e não irrigado ao longo do tempo diante da imposição sob deficiência hídrica em genótipos de bananeira. Cruz das Almas, BA, 2013.

Tratamento	Períodos					
	1	2	3	4	5	6
Irrigado	319,87a	645,87a	333,37a	320,87a	323,12a	303,91c
Não Irrigado	228,75b	18,74ab	42,08ab	7,97b	42,00ab	14,90ab
CV (%)	79,89					

Médias em cada coluna seguida de letras iguais não diferem entre si em nível de 0,05% pelo teste de Tukey.

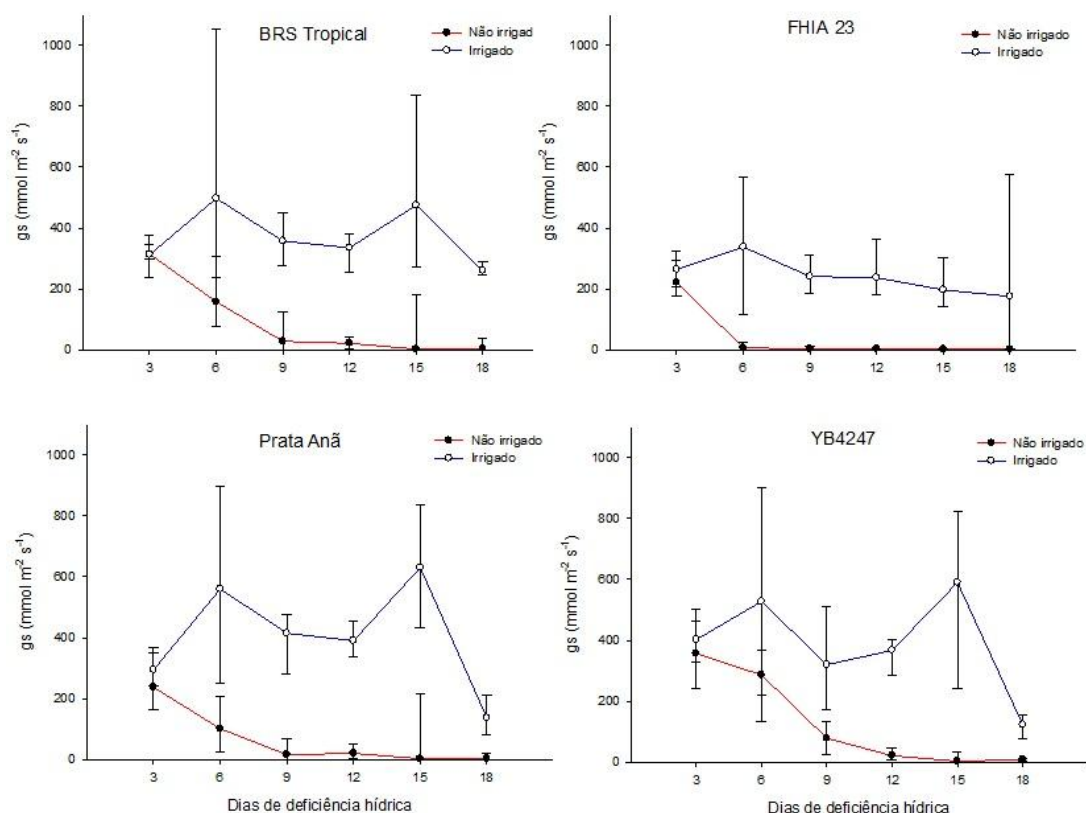


Figura 5. Condutância estomática (gs) dos quatro genótipos (BRS Tropical; FHIA 23; Prata Anã; YB4247) ao longo do período de deficiência hídrica.

Tabela 5. Médias da Pressão de Turgescência entre os tratamentos: irrigado e não irrigado dos quatro genótipos de bananeira (BRS Tropical; FHIA 23; Prata Anã; YB4247) sob deficiência hídrica. Cruz das Almas, BA, 2013.

Genótipos	Pressão de Turgescência (kPa)	
	Não Irrigado	Irigado
BRS Tropical	291,68abB	337,47bA
FHIA 23	286,89bB	339,06bA
Prata Anã	301,54aB	366,15aA
YB2447	282,67bB	331,28bA
CV (%)	6,67	

Médias seguidas pelo menos uma letra em comum, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

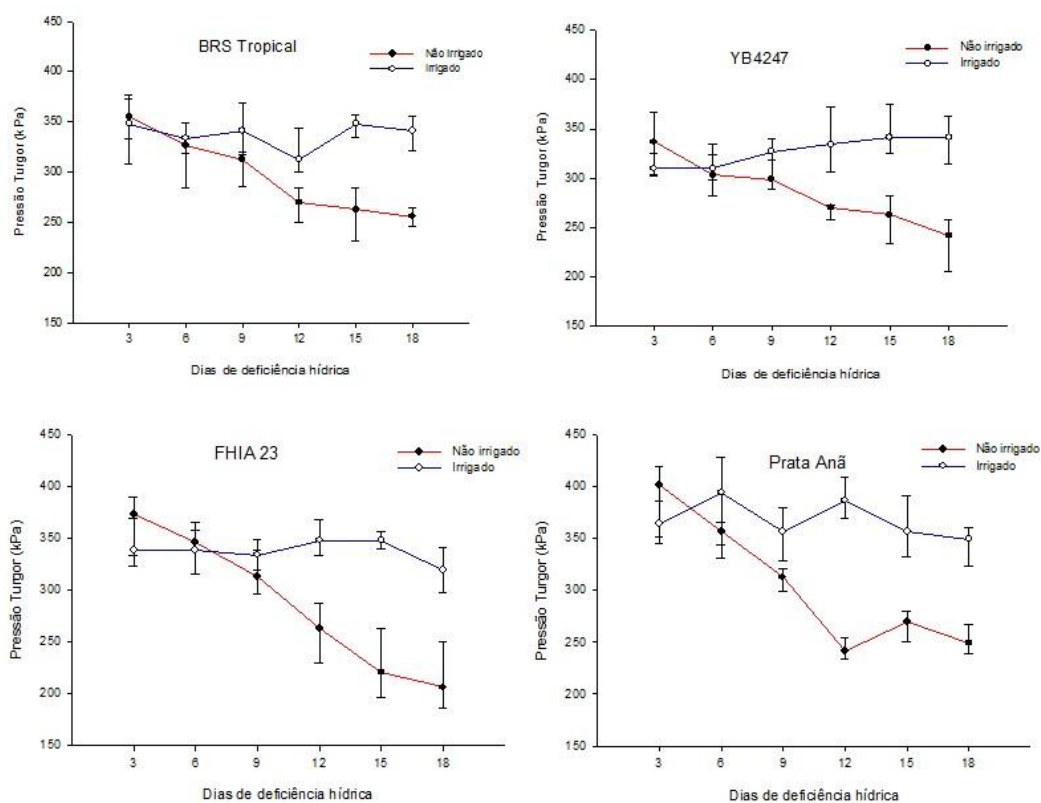


Figura 6. Variação da pressão de turgescência (kPa) dos quatro genótipos de bananeira (BRS Tropical; FHIA 23; Prata Anã; YB4247) avaliados durante o secamento contínuo do solo.

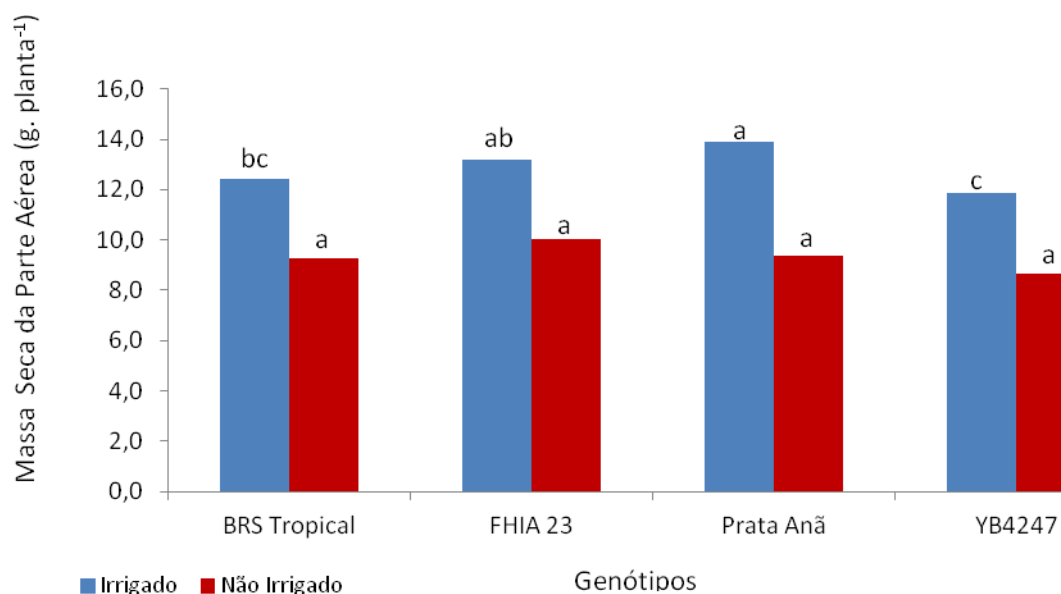


Figura 7. Massa seca da parte aérea entre os quatro genótipos de bananeira (BRS Tropical; FHIA 23; Prata Anã; YB4247) estudados na condição de irrigado e não irrigado.

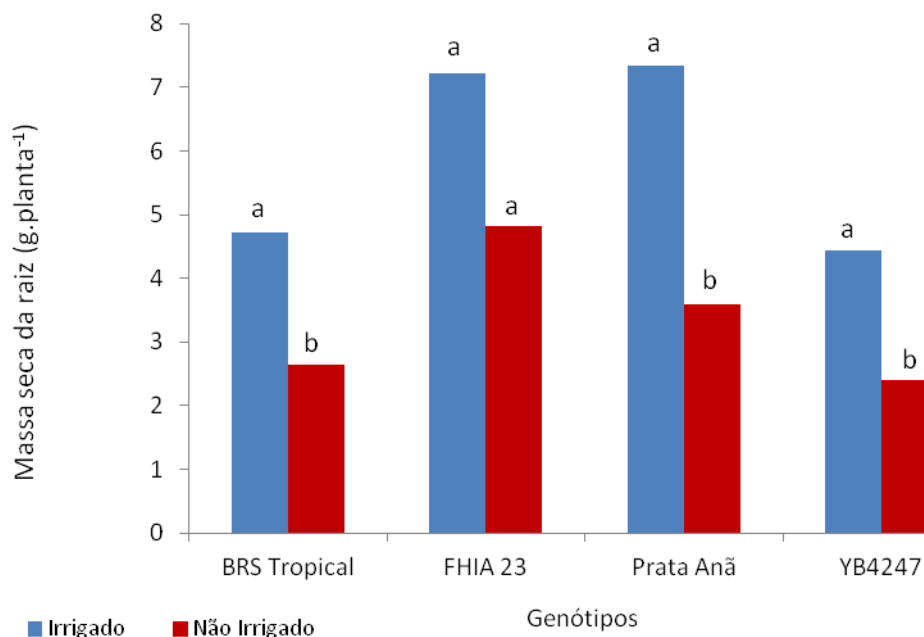


Figura 8. Massa seca da raiz dos quatro genótipos de bananeira (BRS Tropical; FHIA 23; Prata Anã; YB4247) estudados na condição de irrigado e não irrigado.

Tabela 6. Variáveis Biométricas: altura da planta (ALT), diâmetro do pseudocaule (DIAM) e área foliar (AF) com valores médios dos quatro genótipos de bananeira submetidos à deficiência hídrica em casa de vegetação. Cruz das Almas, BA, 2013.

Genótipos	ALT (cm)	DIAM (mm)	AF (m ²)
BRS Tropical	24,42a	2,14ab	0,05b
FHIA 23	23,17a	2,28a	0,09a
Prata Anã	15,96b	1,96b	0,06b
YB4247	22,38a	1,92b	0,08a
CV(%)	43,44	12,97	69,39

*Letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

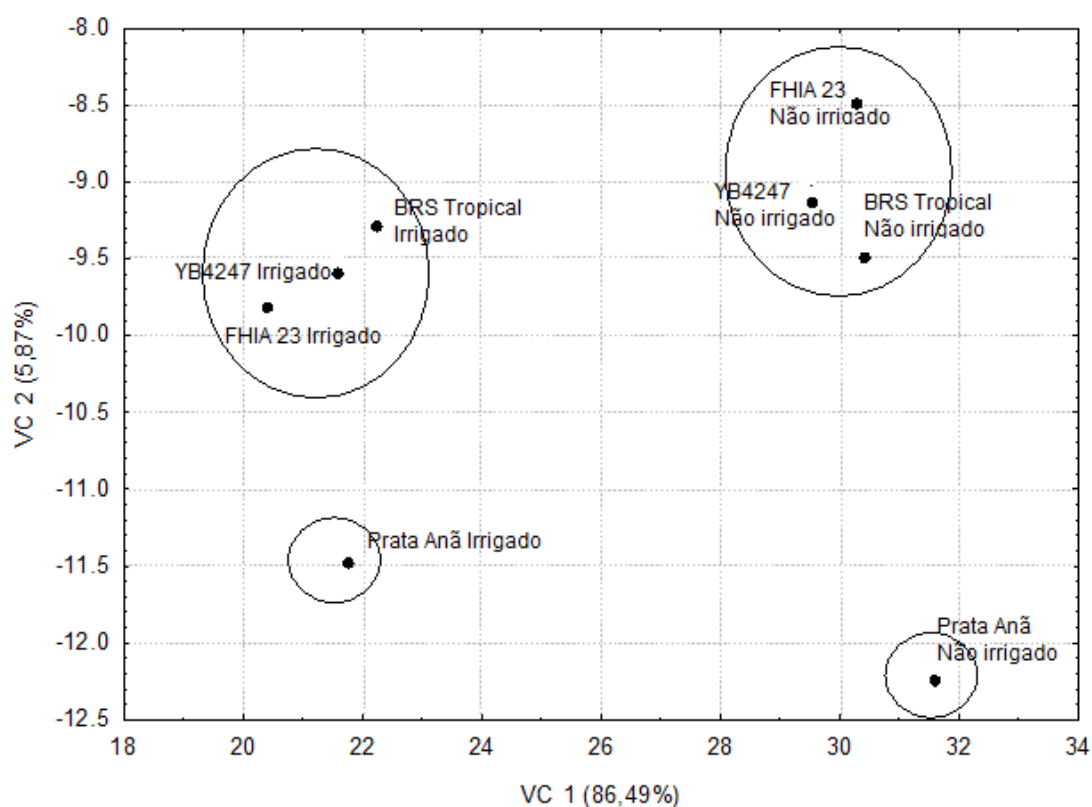


Figura 9. Dispersão referente às duas primeiras variáveis canônicas com dois grupos formados dos genótipos de banana na condição irrigado e não irrigado, considerando a média dos períodos.

Tabela 7. Contribuição relativa das variáveis utilizadas no estudo de deficiência hídrica dos quatro genótipos de banana, segundo critério de SINGH (1981). Cruz das Almas, BA, 2013.

Variáveis	S,j	S,j (%)
MSPA	134.05	8.62
MSR	17.05	1.10
Transpiração	21.31	1.37
Pressão de Turgescência	597.06	38.39
Condutância Estomática	664.28	42.71
Altura da planta	88.55	5.69
Diâmetro do pseudocaule	33.14	2.13

Legenda: MSPA: massa seca da parte aérea e MSR: Massa seca da raiz.

CAPÍTULO III**ANÁLISE PROTEÔMICA DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA
CONTRASTANTES PARA RESPOSTA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

ANÁLISE PROTEÔMICA DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA CONTRASTANTES PARA RESPOSTA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

RESUMO: A bananeira é uma cultura importante nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Em condições adversas, como a seca, pode ocorrer decréscimo na produtividade. O estabelecimento de estratégias para obtenção de cultivares tolerantes à deficiência hídrica depende da compreensão das respostas biológicas em nível genético, molecular e bioquímico. A análise do proteoma é uma poderosa ferramenta na caracterização funcional da resposta a estresse em plantas. O objetivo deste estudo foi identificar por meio da análise proteômica, proteínas relacionadas à tolerância à deficiência hídrica presentes em dois genótipos de bananeira contrastantes. Foi estabelecida uma análise proteômica com os genótipos: BRS Tropical e Prata Anã, tolerante e menos tolerante à deficiência hídrica, respectivamente. As proteínas foram extraídas de raízes de bananeiras mantidas em casa de vegetação e os regimes hídricos constituíram-se dos seguintes tratamentos: controle irrigado e de imposição da deficiência hídrica. O padrão de expressão proteica diferencial foi estabelecido por eletroforese bidimensional. As imagens dos géis foram analisadas e os *spots* diferenciados tripsinizados e analisados em nano UPLC Q-Tof Micro (Waters). No genótipo tolerante, BRS Tropical, foi encontrado um total de 23 proteínas diferencialmente expressas sob deficiência hídrica, com proteínas envolvidas no metabolismo, defesa e transporte. No genótipo menos tolerante, Prata Anã, 16 proteínas foram diferencialmente expressas sob condição de déficit hídrico. As proteínas foram classificadas de acordo com a função e vias biossintéticas conhecidas, onde a dismutase Cu / Zn e proton ATPase apresentaram-se em maior quantidade no genótipo tolerante. Foram identificadas proteínas que sinalizam resposta ao estresse hídrico, principalmente na função biológica de crescimento e desenvolvimento de células das plantas.

Palavras-chave: *Musa* spp., tolerância à seca, expressão de genes.

PROTEOMIC ANALYSIS OF CONTRASTING BANANA GENOTYPES IN RESPONSE TO WATER DEFICIT

ABSTRACT: Banana is an important crop in tropical and subtropical regions of the world. Under adverse conditions, such as drought, decrease in yield may occur. Establishing strategies for cultivars tolerant to water stress depends on the understanding of biological responses at the genetic, molecular and biochemical levels. Proteome analysis is a powerful tool for characterizing the functional stress response in plants. The aim of this study was to identify by means of proteomics, proteins related to drought tolerance in two genotypes under water deficit. A proteomic analysis was established using the BRS Tropical and Prata Anã genotypes, tolerant and less tolerant to water stress, respectively. Proteins were extracted from roots of banana plants kept in a greenhouse and water regimes consisted of the following treatments: control irrigated and imposition of water stress. The pattern of differential protein expression was established by two-dimensional electrophoresis. Images of the gels were analyzed and the differential spots were treated with trypsinase and analyzed by Q-ToF nanoUPLC Micro (Waters). In the tolerant genotype, BRS Tropical, a total of 23 differentially expressed proteins were found for the condition of water deficit, with proteins involved in metabolism, defense and transport. For the less tolerant genotype, Prata Anã, 16 proteins were differentially expressed under water stress conditions. The proteins were classified according to function and biosynthetic known pathways where dismutase Cu / Zn and proton ATPase were present in greater quantities in the tolerant genotype. Proteins involved in signaling response to water stress, especially in biological function of growth and development of plant cells, were identified.

Key-words: *Musa* spp., drought tolerance, gene expression.

INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas que vem ocorrendo ultimamente é o que mais afeta os padrões de distribuição da precipitação e isso possivelmente poderá resultar em intensos períodos de seca (SANTOS et al., 2010), que por sua vez podem aumentar ainda mais o impacto do estresse da seca na produção de banana.

Tendo em vista que a seca é um estresse abiótico de extrema importância em várias regiões do Brasil e do mundo, muitas pesquisas têm sido conduzidas para verificar o comportamento de plantas sob condições limitantes de disponibilidade de água do solo, simulando, dentro de certos limites, situações de deficiência hídrica que podem ser evidenciadas em campo (CHAVES et al., 2009).

Aproximadamente 70% da água potável disponível no mundo é utilizada na agricultura e 40% dos alimentos são produzidos em solos irrigados. Nas décadas recentes, as bases moleculares e fisiológicas das respostas vegetais à seca têm sido o foco principal de pesquisas intensas (YORDANOV et al., 2000; GRIFFITHS e PARRY, 2002; TYERMANN et al., 2002; LUU e MAUREL, 2005; JONES, 2007).

A bananeira se destaca dentre as fruteiras mais importantes economicamente. De acordo com a FAO, em 2011 a banana foi produzida em mais de 130 países, com uma produção mundial de aproximadamente 100 milhões de toneladas (FAO, 2013).

A bananeira é considerada uma cultura importante nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. É muito sensível à seca e o seu crescimento e produtividade são negativamente afetados pela falta de água. Diante da seca, as raízes sinalizam para a parte aérea que existe pouca água disponível no solo. Desta forma, há estímulos para que ocorra o fechamento dos estômatos, permitindo que a bananeira permaneça hidratada (TURNER et al., 1986).

Em estudos comparativos relacionando bananeiras a tolerância à seca, Thomas et al., (1998) e Robinson (1996) a partir de observações de campo, sugerem que o genoma B confere maior tolerância à seca em comparação ao genoma A.

As plantas exibem uma grande variedade de respostas aos estresses bióticos e abióticos e adaptação a condições ambientais desfavoráveis (incluindo a seca). Essas respostas fisiológicas estimulam os cientistas a compreender, estudar e buscar estratégias bioquímicas e moleculares para solucionar os problemas relacionados à deficiência hídrica (SHINOZAKI e YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007; BARTELS, 2005).

As estratégias que as plantas usam para lidar com a seca normalmente envolvem vários mecanismos de tolerância ao estresse, que variam de acordo com o genótipo (CHAVES et al., 2002). As respostas das plantas à deficiência hídrica dependem inteiramente da extensão e da sua taxa de perda de água, além da duração e intensidade com que ela ocorre.

A deficiência hídrica induz respostas bioquímicas por meio de uma série de processos que inclui mecanismos de sensibilidade ao estresse hídrico ou estresse osmótico, modulação dos sinais de estresse para sinais celulares, transdução dos sinais celulares para o núcleo, controle transcricional dos genes induzidos pelo estresse e função de cooperação dos genes induzidos pelo estresse, permitindo a tolerância ao déficit hídrico (SHINOZAKI e YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 1997; BRAY, 2009).

Além das funções de proteção, muitos genes envolvidos têm revelado uma complexa rede de respostas que exige desde a percepção e reconhecimento do sinal de estresse até à ativação dos genes de resposta final (SHINOZAKI e YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2000; SEKI et al., 2007; KACPERSKA, 2004).

A principal dificuldade é a obtenção de germoplasma com tolerância à seca para serem utilizados em programas de melhoramento genético, principalmente devido à falta de estudos relacionados a esta questão. Segundo Chaves e Oliveira, (2004) a identificação de genes com potencial em conferir características de maior tolerância à deficiência hídrica é de fundamental importância para a manutenção da produtividade agrícola em condições climáticas desfavoráveis.

O desenvolvimento ou seleção de bananeiras com genes ligados à capacidade de tolerar a deficiência hídrica é fundamental, pois não somente reduziria o uso excessivo de água em determinadas regiões, mas também

seria de grande utilidade em regiões semiáridas (NUCCIO et al., 1999; WANG et al., 2003).

Estudos de proteômica relacionados a respostas à seca em plantas estão em sua etapa inicial com a promessa para melhorar respostas ao estresse hídrico em cultivo de plantas (ROY et al., 2011). Em um ensaio utilizando bananeira *in vitro* induzida a estresse osmótico, Vanhove et al., (2012) observaram que a proteômica é uma abordagem bem sucedida para se obter uma visão sobre a homeostase (regulação do ambiente interno para manter uma condição estável). A análise do proteoma claramente mostra que há um novo equilíbrio nas plantas estressadas e que a respiração, o metabolismo e várias reações envolvidas na homeostase desempenham um papel importante para os mecanismos de tolerância à seca.

Por esta razão, o presente estudo teve o objetivo de identificar quais proteínas estão relacionadas à condição de deficiência hídrica em dois genótipos de bananeira.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

Os genótipos de bananeira BRS tropical (tolerante à deficiência hídrica) e Prata Anã (menos tolerante à deficiência hídrica) foram selecionados para estudo de proteômica. Os genótipos foram selecionados com base no ensaio prévio capítulo I e II. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente ao acaso, com 12 plantas por genótipo, sendo seis plantas para o tratamento controle e seis para o tratamento de deficiência hídrica.

As plântulas cultivadas *in vitro* foram colocadas em bandejas com substrato comercial e aclimatadas durante um período de 45 dias em telado. As mudas foram plantadas em vasos com capacidade de 4,5 L contendo 50% de areia lavada e 50% de substrato comercial e mantidas em casa de vegetação com umidade e temperaturas do ar controladas (70 à 80% e 28,4 à 33,6 °C). Após 15 dias foi realizada uma adubação foliar com 5 g de adubo NPK 10-10-10 por kg de solo.

Após 60 dias, nos vasos de 4,5 L, as plantas foram submetidas aos tratamentos: irrigado e não irrigado durante 18 dias de secamento contínuo do solo. A deficiência hídrica ocorreu de forma progressiva em função do esgotamento da água remanescente no solo. A umidade do solo foi monitorada por meio da sonda TDR (reflectometria no domínio do tempo).

As plantas controles foram mantidas em regime de irrigação com o solo permanentemente próximo à capacidade de campo. No tratamento sob deficiência hídrica, as plantas foram submetidas à suspensão completa da irrigação por um período de 18 dias. Os vasos foram fechados com papel alumínio, ficando apenas a planta exposta à radiação solar para evitar a evaporação da água do solo e manter apenas a transpiração foliar.

As raízes das seis plantas do tratamento irrigado e seis do não irrigado foram coletadas em conjunto (*pool*), armazenadas a - 80 °C e posteriormente liofilizadas. A coleta das raízes das plantas não irrigadas foi realizada quando valores de umidade do solo atingiram 0,10-0,12 cm³cm⁻³ no décimo oitavo dia.

Extração e quantificação de proteínas

As raízes coletadas das plantas nas condições de deficiência hídrica severa (umidade do solo 0,10-0,12 cm³cm⁻³) e para as plantas controle (umidade no solo foi de 0,30-0,29 cm³cm⁻³) foram encaminhadas ao Laboratório de Proteômica da UESC (Universidade Estadual de Santa Cruz), Ilhéus, Bahia, Brasil, para estudo proteico. Aproximadamente três gramas de raízes foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido na presença de PVPP a 0,07 g por g de tecido e as proteínas extraídas conforme o método de extração fenólica (PIROVANI et al., 2008).

O macerado foi ressuspendido em 3 mL de acetona contendo 0,07 % de 2-mercaptoetanol, agitado em vórtex por 30s e centrifugado a 10.000xg por 3 minutos a 4°C. Repetiu-se a lavagem do precipitado com acetona gelada. Em seguida, transferiu-se o precipitado para um almofariz e as amostras deixadas para secar ao ar por cerca de 20 minutos. Posteriormente, lavou-se o pó em TCA 10% em acetona, contendo 0,07 % de 2-mercapto etanol, por 3-4 vezes (até perder a coloração) e lavou-se novamente com TCA 10% em água. As

amostras foram lavadas com acetona 80%. Em cada lavagem o precipitado foi completamente ressuscitado por vortex e sonicação (4 pulsos de 10s cada, amplitude de 70%, com 50s de intervalo) em processador ultrassônico (GEX 130, 130W). Em seguida as mesmas foram centrifugadas e o precipitado seco ao ar em temperatura ambiente e estocado a - 80 °C.

Ressuspendeu-se 3 g do pó seco em 2,4 mL de fenol (tamponado com Tris, pH 8,0) e 2,4 mL de tampão SDS denso (sacarose 30%, SDS 2%, Tris 0,1 M pH 8,0 e 2-mercaptoetanol a 5%). A mistura foi agitada por vortex durante 30 segundos, onde as fases foram separadas por centrifugação a 10.000 g por 3 minutos. Posteriormente o sobrenadante foi transferido para outro tubo onde adicionou-se 5X do conteúdo dessa fase com metanol gelado contendo 0,1 M de Acetato de Amônio. Em seguida a amostra foi homogeneizada e armazenada a - 20 °C por 30 minutos.

Para recuperar as proteínas precipitadas, as amostras foram centrifugadas a 10.000 g por 5 minutos e lavadas com acetato de amônio em metanol gelado 2X e com acetona 80% gelada 2X. Em seguida o precipitado final foi seco à temperatura ambiente e as amostras estocadas a - 20 °C até o uso.

Os precipitados foram ressuscitados no tampão de reidratação 2DE (CHAPS 2%, tiourea 2 M, ureia 7 M, azul de bromofenol 0,002%). A fração proteica foi estocada a - 20 °C até o uso. O espectrofotômetro de microplaca *VersaMax* (Molecular Devices) foi usado para quantificar as proteínas totais (480 nm). Três repetições para cada amostra foram quantificadas usando o 2-D Quanti Kit (GE Healthcare), conforme as recomendações do fabricante, utilizando BSA (Albumina do Soro Bovino) como padrão.

Eletroforese em 2D-PAGE

Proteínas radiculares de dois genótipos submetidos ao déficit hídrico e seus respectivos tratamentos testemunha foram separados por eletroforese bidimensional em gel 2-D.

Os géis dos dois tratamentos de bananeira (irrigado e não irrigado) foram preparados em triplicatas. Para a eletroforese bidimensional (2-DE), a

primeira dimensão foi realizada em sistema Ettan IPGphor II(GE Healthcare). As amostras de proteínas radiculares contendo 350 µg junto com 250 µL de tampão de reidratação 2-DE (CHAPS 2%, tiourea 2M, ureia 7M, azul de bromofenol 0,002%), foram aplicadas em tiras *Immobiline DryStrip* de 13 cm (pH 3-10NL, GE Healthcare) por 12h. A focalização isoelétrica (IEF) foi realizada por aproximadamente 5 h, nas seguintes condições: 1h sob 500 Vh, gradiente de 1.000 Vh por 1h, gradiente de 8000 Vh por 2:30 h sob 8000 Vh e finalizando com 8000 Vh por 55 min. Após a IEF, as tiras foram armazenadas a -80°C até a análise da segunda dimensão.

A separação da segunda dimensão em SDS-PAGE (12,5%), foi realizada no sistema Ruby SE600 (Ge Healthcare) com 80 V e 50 mA por gel. Previamente a essa etapa, os *strips* foram incubados durante 15 minutos em tampão de equilíbrio (7,5 mM de Tris-HCl pH 8,8, glicerol 29,3%, ureia 6M, SDS 2%, azul de bromofenol 0,002%, H₂O ultra-pura) com DTT (Dithiothreitol) 1% p/v e mais 15 min em tampão de equilíbrio com iodoacetamida 2,5% p/v. Os *strips*, então, foram transferidos para géis SDS-PAGE verticais (12,5%). Os *spots* proteicos foram visualizados com corante Azul de Coomassie Brilhante (NEUHOFF et al., 1988). Para isso, após a eletroforese, os géis de poliacrilamida foram incubados com tampão de fixação (etanol 40 % e ácido acético 10 %) por 1 hora. Em seguida, esse tampão foi substituído por corante azul de coomassie coloidal (sulfato de amônio 8 %, ácido fosfórico 0.8 %, azul de coomassie G-250 0.08% e metanol 20%) onde permaneceram corados por 5 dias. Após essa etapa, o corante foi retirado do recipiente para a adição de água destilada, onde os géis foram mantidos sob suave agitação até a remoção do corante impregnado nos géis.

Obtenção e análise de imagens

Os géis de poliacrilamida bidimensionais devidamente corados, foram digitalizados com resolução 300 dpi com auxílio do programa LabScan 6.0 (GE Healthcare) no ImageScanner 3 (GE Healthcare). Para as análises das imagens, foi adotado o *software ImageMaster 2D Platinum 7.0.6* (GE

Healthcare); por oferecer uma solução flexível para visualização, exploração e análise dos dados em géis bidimensionais.

Os géis foram obtidos em triplicata para cada tratamento e cada genótipo estudado e analisado para a detecção dos *spots*. Após essa detecção, foram realizadas correções com adição, remoção e arranjo manual dos *spots*, com as correções devidamente efetuadas. Procedeu-se às análises das classes realizando a correspondência (*matching*) entre os *spots* das réplicas de um mesmo tratamento e uma correspondência entre os *spots* que fossem comuns para os dois tipos de tratamento (irrigado e não irrigado) que forneceu a diferença estatística entre os tratamentos experimentais propriamente ditos.

As variações na expressão das proteínas entre os géis foram medidas pela intensidade do *spot* tanto entre a réplica quanto entre os tratamentos. O *software* oferece testes estatísticos e no caso deste estudo, foi utilizado a ANOVA para analisar as diferenças de expressão da proteína (*spots*) entre as classes de géis, com o objetivo de obter informações relativas às alterações de expressão de proteína dos dados coletados.

Digestão das proteínas

As proteínas separadas por eletroforese 2D e marcadas como *spots* no gel de referência, foram submetidas à digestão com tripsina conforme descrito por MOURA et al. (2006) e ROCHA et al. (2009). Os *spots* selecionados foram cortados individualmente de três géis em pedaços de aproximadamente 1 mm, colocados em microtubos e armazenados em ultrafreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, foram completamente descorados com 200 μL de solução contendo acetonitrila 50%/bicarbonato de amônio (50% a 25 mM, pH 8,0), sendo o sobrenadante descartado e os fragmentos de gel desidratados em 100 μL de acetonitrila 100 % por 5 minutos e secos a vácuo no Concentrator 5301 (Eppendorf) por 10 minutos. Foram adicionados 4 μL de tripsina Gold (Promega) 25 ng/ μL , mantidos a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10 minutos para absorção da solução nos fragmentos de gel. Posteriormente foi adicionado NH_4HCO_3 até cobrir os fragmentos e deixados a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 16 horas para ação da tripsina.

O sobrenadante foi coletado e transferido para um novo tubo. Os peptídeos foram recuperados dos fragmentos de gel mediante duas eluições com 50 μL de acetonitrila a 50% contendo ácido fórmico 0,1 %, sendo agitados por 15 minutos no vórtex em cada lavagem. Os volumes obtidos foram reunidos e concentrados a vácuo até atingirem o volume de 10-15 μL .

Análise de espectrometria de massas

Os peptídeos foram resolvidos por cromatografia de fase-reversa no nanoAcquity UPLC (WATERS) em duas colunas C18, sendo a primeira uma coluna “*trapping*” de 5 μm , 180 μm x 20 mm e a segunda de 1,7 μm 100 μm x 100 mm, sob um fluxo de 0,6 μL em uma corrida de 50 minutos, onde foram coletados 4 μL de cada amostra. Os peptídeos foram separados de acordo com um gradiente de acetonitrila, sendo 1 % até 1 minuto, de 1 % a 50 % em 40 minutos, de 50 % a 85 % em 5 minutos, mantendo-se nessa concentração por mais 2 minutos, voltando à concentração de 1 % em um minuto e permanecendo nessa condição por 2 minutos, totalizando 50 minutos de corrida. Os peptídeos separados foram ionizados em um capilar sob voltagem de 3000 V (Micromass Q-TOFmicro), fragmentados no modo positivo com seleção da intensidade relativa mínima de 10 *counts*, sendo analisados os 3 íons mais intensos por cada varredura de 1 segundo, com energia de colisão variando entre 20 e 95 V de acordo com a relação massa/carga (m/z) dos peptídeos.

Pesquisa nos bancos de dados

Os espectros foram analisados com o programa ProteinLynx Global Server 4.2 (WATERS), sendo comparados com o banco de dados do SWISSPROT banco de dados genômico de banana DATAMusa. Para a comparação com o banco do NCBI, a ferramenta MASCOT MS/MS Ion Search (www.matrixscience.com) foi utilizada, configurados para digestão trípica, com 1 sítio de clivagem perdida, cisteínas modificadas por carboxamidometilação e as possíveis modificações, como oxidação de metionina com tolerância de erro

de 30 ppm e tolerância para erro de massa igual a 0,3 Da. De acordo com a probabilidade de análise do MASCOT, apenas os “hits” significativos ($p < 0.05$) foram aceitos. Após a proteína ter sido identificada, sua ontologia e função biológica foram verificadas no software Uniprot (www.uniprot.org) e BLAST2Go (www.blast2go.com).

RESULTADOS

As análises do proteoma diferencial foram feitas em raízes retiradas de dois genótipos de bananeira, Prata Anã (menos tolerante à deficiência hídrica) e BRS Tropical (tolerante à deficiência hídrica), estudados previamente com base na caracterização fisiológica.

As amostras de proteínas totais extraídas foram separadas na primeira dimensão por ponto isoelétrico em gradiente de pH linear (pH 3-10), e posteriormente por peso molecular na segunda dimensão por eletroforese em condições desnaturantes.

Os mapas 2D revelaram que os *spots* de proteínas resolvidas nos géis foram bem distribuídas entre 14,4 kDa e 97kDa e foram ao longo da faixa de pH 3-10 (Figuras 1 e 2). No geral, as separações 2D de extratos de bananeira foram comparáveis para a análise diferencial. Um total de 144 pontos foram detectados no gel do BRS Tropical e 59 pontos para o genótipo Prata Anã. De acordo com a análise no *Image Master 7.0*, os *spots* foram distribuídos uniformemente no BRS Tropical, com 75% dos pontos distribuídos em pH 7-8 e 25% em pH 3-6. No genótipo Prata Anã, 79% das manchas eram distribuídas em pH 6-8 e 21%, em pH 3-6. (Figura 1 e 2).

De acordo com as análises realizadas foi possível identificar 41 proteínas comuns entre plantas irrigadas e não irrigadas do genótipo tolerante BRS Tropical e foi possível encontrar proteínas exclusivas para a condição de deficiência hídrica (não irrigada) e para o controle (irrigada), em número de 26 e 34, respectivamente. No genótipo menos tolerante, Prata Anã, onde 12 pontos foram exclusivos para as plantas controle e 16 para as estressadas, 21 pontos também foram comuns aos tratamentos. Caruso et al., (2009)

estudando estresse em trigo encontraram 36 *spots* de proteínas que mostraram uma mudança significativa reprodutível entre amostras controle e estressadas.

Embora tenham sido encontrados 144 e 59 *spots* com base no *software Image Master Platinum*, 101 e 49 *spots* validados tiveram a identidade das proteínas identificadas a partir de análise por espectrometria de massas para o genótipo BRS Tropical e Prata Anã, respectivamente.

A identificação da proteína para cada um dos pontos, o peso molecular, ponto isoelétrico do espectro pesquisados nas bases de dados SWISSPROT; CIRAD e UniProt *Musa*, a anotação da quantificação pelo programa, estão resumidos nas Tabelas 1 e 2. A maioria das proteínas expressas diferencialmente, 45,2%, foram agrupadas na resposta ao estresse e os demais agrupamentos encontram-se na Figura 4.

DISCUSSÃO

Nesse estudo foi realizada a análise proteômica de dois genótipos, BRS Tropical e Prata Anã, contrastantes quanto à tolerância à seca, em condições controle e sob déficit hídrico. As análises de perfis de proteínas em géis 2-D dos dois genótipos mostraram que várias proteínas estão envolvidas na resposta ao estresse hídrico (Figura 1 e 2).

Foram consideradas apenas as proteínas que obtiveram um número igual ou superior a três peptídeos. Dessas proteínas, os *spots* 53 e 92 estão relacionados com metabolismo e energia, respectivamente. A proteína que apresentou o maior número de peptídeos foi uma enolase GSMUA Achr5P18810 001, com 32 peptídeos (*spot* 15) (Tabela1).

Considerando que o genótipo tolerante no presente estudo BRS Tropical é um tetraploide AAAB e o genótipo menos tolerante Prata Anã triploide AAB, com 44 e 33 cromossomos respectivamente, possivelmente a quantidade de *spots* encontrados no tetraploide foi superior ao encontrado no genótipo triploide devido ao número cromossômico. Além disso, o híbrido tetraploide envolve os genitores Yanganbi nº2 (AAB) e o genitor masculino M53 (AA), o que pode atribuir com maior variabilidade das proteínas encontradas.

As proteínas de armazenamento e de choque térmico (spots 27, 64, 65, 106, 129) foram identificadas tanto em plantas estressadas quanto em plantas irrigadas, embora um grande número de peptídios do spot 129 foram encontrados para as plantas não irrigadas (Tabela 1). O HS 70 (shock cognate 70 kDa protein) da família de proteínas de choque térmico, é uma classe de proteínas relacionadas com o estresse (VIERLING, 1991). A família de HS70 é uma família evolutivamente conservada de 70 kDa e são proteínas relacionadas com a função molecular de chaperonas (ANDERSON, 1994; ELLIS, 1991), e presume-se que desempenham um papel no enrolamento de proteínas e transporte (GIORINI, 1991). A proteína de 70 kDa poderia ser a HSP70 ou a BiP, que funcionaria como chaperona em condições desfavoráveis (KUMAR et al., 2004; KANG et al., 2005).

A proteína BiP é um exemplo de proteína que transitoriamente se interage com uma vasta variedade de proteínas celulares. Como chaperona, a proteína BiP pertencente à família das HSP70, de choque térmico e tem sido descrita como uma importante mediadora de translocação, dobramento e transporte de proteínas secretoras sintetizadas dentro do retículo endoplasmático (VITALE, 2009). As chaperonas moleculares do retículo endoplasmático são expressas, constitutivamente, em baixos níveis e em todas as células, porém, podem ser induzidas pelo acúmulo de proteínas mal dobradas no lúmen de retículo. Sob condições de estresse, a superexpressão de chaperonas é essencial para a sobrevivência celular, por auxiliar o correto enovelamento de proteínas no retículo endoplasmático e prevenir a agregação proteica (LEAL-COSTA et al., 2008).

A proteína BiP foi monitorada por análise de *immunoblotting*, o que tornou possível assegurar que as plantas transgênicas de soja *Glycine max* (L.) estavam superexpressando a BiP, onde esta superexpressão está relacionada a uma série de fatores relacionados a estresses abióticos (ARAGÃO et al., 2000). Além da sua função de chaperona, em soja, a BiP se exhibe como um regulador biológico distinto podendo funcionar sob estresse osmótico. A proteína Bip sinaliza as flutuações desempenhando um papel na detecção de tensões e promoção de respostas adaptativas (REIS et al., 2011).

CARPENTIER et al., (2007), na caracterização do proteoma de meristema de banana, revelaram que as proteínas de choque térmico (HSPs) estão presentes sob condições de controle, ocorridas devido a variações posicionais, pois com o estresse, o estado de fosforilação de algumas proteínas podem sofrer alterações. Esses resultados corroboram com o nosso resultado, pois também foram encontradas proteínas de choque térmico (*spot 27*) em plantas irrigadas (controle) do genótipo BRS Tropical.

As proteínas do grupo de transcrição da estrutura celular e do grupo com funções pouco claras, como um fator de alongamento e suposta tradução (*spots 100, 124*), estão presentes quando as plantas foram submetidas ao estresse hídrico (Tabela 1).

A horcolin identificada como um membro do subgrupo da manose específica jacalina, está relacionada com lectinas em espécies monocotiledôneas (VAN DAMME et al., 2004a). As lectinas de banana são os primeiros exemplos documentados de jacalina abundantemente presentes na polpa de frutos maduros e aparentemente ausentes nos outros tecidos (PEUMANS, et al., 2000). A proteína horcolin (*spot 25 e 30*) foi encontrada em raízes de bananeira no presente estudo (Tabela 1). A lectina de arroz foi detectada em raízes de plantas submetidas à seca, sal e estresse por calor, tratados com ácido jasmônico e ácido abscísico (GARCIA et al., 1998; De SOUZA et al., 2003).

Van Damme et al., (2004b) introduziu um sistema para classificação de diferentes lectinas com base em suas características de ligação de açúcar. Eles classificaram lectinas como induzível ou clássica, onde lectinas clássicas não estão envolvidas especificamente no hidrato de carbono, apenas em interações dentro das células da planta em si. No entanto, as lectinas são expressas e induzidas por estímulos endógenos ou exógenos, por exemplo, por fatores de estresse abiótico / biótico ou hormônios de plantas e podem estar envolvidas na regulação celular e sinalização (VAN DAMME et al., 2004c).

A proteína horcolin (*spot 25 e 30*) expressa no tratamento irrigado do genótipo tolerante ao estresse está envolvida no sinal de tensão, percepção e transferência (GRUNVALD et al., 2007).

Parte da transdução de sinais em resposta ao estresse abiótico e biótico, como diferentes taxas no acúmulo de ABA e fechamento de estômatos, passa pela rota metabólica (SHINOZAKI e YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 1997). Confirmações experimentais para associação da *zinc-finger* ao estresse abiótico foram verificadas em plantas de *Arabidopsis* com diferentes respostas na dormência das sementes mediada por ABA, onde foram observadas diferentes taxas de expressão de proteínas da família zinc-finger (HE e GAN, 2004). Em genótipos mutantes de arroz para a produção de ABA, submetidos ao estresse por desidratação, também foi verificada alteração nas taxas de síntese de genes da família zinc-finger, incluindo um gene de PHD zinc-finger (Oh et al., 2005). No *spot* 16 do genótipo Prata Anã foi identificada esta proteína e devido ao seu envolvimento na transdução de sinais da rota metabólica do ABA, pode ser considerada como um importante marcador para o estudo em genótipos de bananeira com tolerância à seca.

Foram detectadas cinco proteínas comuns entre o genótipo sensível e tolerante Prata Anã e BRS Tropical, sob deficiência hídrica, a proton ATPase (*spot* 72 e 42), a methyltransferase (*spot* 110 e 19), dismutase Cu / Zn (*spot* 60 e 03), class I heat shock protein (*spot* 106 e 04) e Desidrogenase (*spot* 32 e 32) (Tabela 3).

Proton ATPase subunidade B e C, foram encontradas no presente estudo no genótipo tolerante à seca (Tabela 3). As proteínas vacuolares ATPases, são grandes complexos compostos por 7-10 diferentes subunidades. Elas desempenham um papel central no crescimento e desenvolvimento de células das plantas (SZE et al., 1992). O próton formado pelas ATPases vacuolares proporcionam a principal força motriz para muitos processos celulares como osmorregulação, transdução de sinal, e reações metabólicas (SZE et al., 1992). Em condições de estresse, a planta precisa de diversos osmorreguladores que se acumulam no interior da célula. A sobrevivência da célula depende da manutenção ou ajustamento da atividade da ATPase vacuolar (DIETZ et al., 2001).

No genótipo Prata Anã foi observado que o maior número de peptídeos encontrados foi da proteína Proton ATPase subunit B (*spot* 42), encontrada com maior intensidade no genótipo menos tolerante à deficiência hídrica do

que no tolerante (Tabela 3). Esta enzima catalisa a formação de bissulfetos e isomerização, e comporta-se como uma chaperona, provavelmente estando relacionada aos efeitos de tolerância à seca (LOW et al., 1996; NARASIMHAN et al., 1991). Vários estudos têm avaliado o papel das ATPases nas plantas permitindo lidar com estresse abiótico, onde por exemplo, o estresse hídrico levou a um aumento da atividade de ATPase de trigo (GONG et al., 2003).

Um fator que poderia contribuir para a alta expressão de proteínas ligadas à síntese de ATP estaria relacionado com a aclimatação das plantas diante do déficit de água, pois se acredita que na presença de vários tipos de estresse como o luminoso, hídrico e a altas ou baixas temperaturas, esta seja regulada por um mecanismo comum por meio dos metabólitos (JIAO et al., 2004).

A proteína ATP synthase subunit alpha (*spot 51*) encontrada nas raízes das plantas não irrigadas (controle) no genótipo Prata Anã foi identificada também por Carpentier et al., (2005) em estudos de preparação de extratos de proteína de tecidos de bananeira por diferentes métodos para gel bidimensional em análise de eletroforese.

A-metiltransferase foi encontrada tanto no genótipo BRS Tropical quanto no genótipo Prata Anã; ambos no tratamento controle. Esta proteína possui o comportamento diferencial, em destaque, um papel para a AXR2 e/ou AXR1 na regulação da sua abundância durante a adaptação à seca (SEKI et al., 2007).

A expressão da proteína induzida por [Cu / Zn] (*spot 60*), que reage prontamente a tensões diversas, obteve-se nível de transcrição apenas no genótipo tolerante ao estresse hídrico. Gupta et al. (1993) estudando os efeitos do aumento da resistência ao estresse oxidativo em plantas transgênicas, observou que a dismutase Cu / Zn é um componente crítico do sistema ativo de remoção de oxigênio de cloroplastos de plantas e indicam que a modificação da expressão da superóxido dismutase Cu / Zn em plantas transgênicas podem melhorar a tolerância ao estresse de plantas.

A expressão da desidrogenase citosólica 3 (*spot 32*) ocorreu também em plantas não irrigadas. Essa proteína faz parte da via da glicólise em plantas (Tabela 1 e 2).

A Desidrogenase é uma enzima importante no metabolismo celular que catalisa a conversão de oxaloacetato e malato (MUSRATI et al., 1998). Sua atividade aumenta sob estresse hídrico, para lidar com a procura de energia pela planta (GUICHERD et al., 1997).

Devido ao papel central das enzimas envolvidas no metabolismo do carbono e de transdução de energia (*spots* 1 e 38) no genótipo Prata Anã, sua abundância sob estresse hídrico presumivelmente reflete a necessidade de padrões de fluxo de carbono em resposta à fotossíntese reduzida e aumentada para o ajuste osmótico em tecido radicular (FAROOQ et al., 2009).

Um fragmento da subunidade da Rubisco (*spot* 35) (Figura 1) foi encontrado em plantas não irrigadas do genótipo BRS Tropical. Albuquerque (2009), no estudo relacionando à protease purificada, com a degradação da rubisco, obteve alguns resultados inesperados, como a detecção da rubisco nas raízes de pinheiro manso. O motivo da presença de rubisco nas raízes é desconhecido. Contudo, existem estudos que a degradação da rubisco pode ocorrer fora dos cloroplastos, o que é sustentado por diversos autores (PRINS et al., 2008; WADA et al., 2009; ISHIDA et al., 2008).

A função da rubisco nas raízes é desconhecida, no entanto, experimentos com “microarrays” realizados por Maruyama-Nakashita et al., (2003) mostram que existe uma diminuição da expressão do transcrito de RbcS nas raízes de *A. thaliana* em resposta a uma ausência de enxofre, prenunciando que a rubisco pode ser expressa nas raízes porque executa uma função vantajosa para a planta. De fato, ela já havia sido detectada em raízes de *A. thaliana*, arroz e trigo (KOLLER et al., 2002; MOONEY et al., 2006; SONG et al., 2007).

A liase (*spot* 94), localizada na mitocôndria, exerce o papel descrito principalmente em sementes oleosas, onde a quebra de ácidos graxos gera acetil-CoA. A Acetil-CoA é então utilizada no ciclo do glioxalato, que gera outros intermediários que servem como uma fonte de nutrientes primários, antes da produção de açúcares da fotossíntese. No entanto, o papel da liase em tecido radicular na condição de estresse, significa que a liase vai em direção à respiração e não para a quebra de ácidos graxos (MOLLER, 2001). A glicina parece ser um determinante crítico da tolerância ao estresse hídrico.

Seu acúmulo é induzido sob condições de deficiência hídrica e essa concentração está correlacionada com o nível da tolerância (RHODES e HANSON, 1993). O glioxalato é o substrato para a síntese de glicina; aminoácido que pode se acumular, assim como prolina e betaína, em resposta ao déficit hídrico.

A proteína GSMUA Achr5P18810 001 (*spot* 15) encontrada apenas no tratamento controle do genótipo BRS Tropical, foi identificada como a enzima enolase, que participa em processos metabólicos durante a fase da respiração glicolítica. A regulação da enolase foi inicialmente relatada em estudos do sistema radicular de raízes de arroz em resposta ao estresse salino (YAN et al., 2005).

As alterações da proteína dentro da categoria de metabolismo e as alterações no conteúdo de aminoácidos exercem efeitos posteriores à síntese de proteínas e de resposta ao estresse, tais como o ajuste osmótico. A modificação das enzimas pode afetar a elasticidade da parede da célula, regulando assim a turgescência celular (BOHNERT e JENSEN, 1996). Algumas proteínas foram encontradas com função metabólica relacionada à transdução de energia, metabolismo de carboidratos e fotossíntese das plantas não irrigada e irrigadas, identificadas com seus respectivos *spots* (Tabela 2).

Dentre as proteínas diferencialmente expressas identificadas, no genótipo Prata Anã, encontra-se o Glutathione S transferase, (*spot* 23), que participa da produção do ácido gama-aminobutírico; um aminoácido não-proteico. A função desse ácido em plantas não é totalmente elucidada, mas sua expressão foi relatada em distintas condições ambientais, tais como hipoxia, congelamento, choque por calor, germinação, estresse hídrico e ausência de luminosidade (MATSUYAMA et al., 2009).

O acúmulo de peroxidase citosólica em plantas está associado a estresses tanto bióticos como abióticos (PNUELI et al., 2003). Nesse trabalho foi possível verificar que no genótipo 'Prata Anã' esta proteína foi encontrada em plantas não irrigadas (*spot* 18).

O papel biológico do WrbA (*spot* 13) em Prata Anã permanece incerto e parece exercer função de melhorar a estabilidade dos complexos de DNA trpR. Conforme alguns bancos de dados de sequências, identificou-se a WrbA como

membro fundador de uma proteína da família flavodoxina e em muitas vezes referida como a proteína de ligação *trpR*. Embora o efeito sobre a ligação *WrbA-trpR* do DNA é incerto, e a sua função biológica permanece obscura. A transcrição da *WrbA* é controlada pela tensão de resposta do gene *RPOs*, que é um regulador de tensão e conservação que desempenha um papel fundamental na sobrevivência em condições de estresse (LACOUR e LANDINI, 2004), indicando que *WrbA* é expressa não apenas na fase estacionária, mas também sob uma variedade de condições de estresse (YANG et al., 1993).

O estudo do proteoma de arroz demonstrou que na presença de estresse, ocorre superexpressão da proteína frutoquinase (YAN et al., 2005). No presente estudo no genótipo não tolerante Prata Anã, foi observado a presença desta proteína que é encontrada em plantas e bactérias. Essa proteína está envolvida no metabolismo do amido e da glicose e é responsável por catalisar a fosforilação da fructose, formando a fructose-6-phosphato (PLOMION et al., 2000).

As proteínas induzidas em condições de restrição de água podem estar envolvidas na regulação da expressão de outras proteínas ou apresentarem função direta na tolerância ao estresse hídrico. Essas proteínas ativadas estão ligadas a uma resposta adaptativa à condição de deficiência hídrica, promovendo uma sinalização, tolerância da célula à desidratação, funções de proteção no citoplasma, alterações no potencial osmótico celular para aumentar a absorção de água, controle do acúmulo de íons e metabolização de compostos gerados pelo estresse (BRAY, 2000, 1997; NEPOMUCENO et al., 2000).

A caracterização de proteínas diferencialmente expressas agrupadas por uma visão geral da distribuição das proteínas identificadas nesse estudo dentro das diferentes categorias de processos biológicos encontra-se na Figura 6. A maioria das proteínas expressas diferencialmente foi agrupada na resposta ao estresse com funções de choque térmico e regulação durante a adaptação à seca.

CONCLUSÕES

As proteínas identificadas neste estudo estão envolvidas principalmente em resposta ao estresse, metabolismo e crescimento e desenvolvimento.

A comparação entre os genótipos de bananeira tolerantes e não tolerantes à deficiência hídrica apresentaram cinco *spots* comuns entre eles.

Mesmo sob a restrição de água entre o genótipo tolerante e o menos tolerante, sugerem que a ATPase e as proteínas de choque térmico, exercem um papel importante na caracterização de plantas para a tolerância a seca de bananeira.,

Os genótipos BRS Tropical e Prata Anã no tratamento não irrigado apresentaram diversas proteínas na resposta ao estresse que podem estar relacionadas a associações do sistema fisiológico das plantas. Esses resultados podem ser usados como parâmetros proteicos em futuros estudos de tolerância à seca em genótipos de bananeira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, J. A. C. **Caracterização da subtilisina relacionada com a degradação da ribulose bisfosfato carboxilase de plantas**. TESE-doutorado Instituto Superior de Agronomia. Doutorado em Engenharia Agrônômica, Lisboa. 2009.

ANDERSON, J.V organização estrutural de espinafre gene cognato retículo endoplasmático-70-kDa de choque térmico e expressão de 70-kDa choque térmico genes durante aclimação ao frio. **Physiol Plant**.104:1359-1370. 1994.

ARAGÃO, F.J.L.; SAROKIN, L.; VIANNA, G.R.; RECH, E.L. Selection of transgenic meristematic cells utilizing a herbicidal molecule results in the recovery of fertile transgenic soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) plants at high frequency. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 101, p. 1-6, 2000.

BARTELS, D: Desiccation tolerance studied in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. **Integrative and Comparative Biology** 45(5): 696-701, 2005.

BOHNERT, H.J.; JENSEN, R.G. **Estratégias para a tolerância**. Engenharia estresse hídrico em plantas. *Tendências em Biotecnologia*. 14:89-97, 1996.

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci*, 2; 48-54, 2009.

BRAY, E. A., *Trends Plant Scienc.*, 2, 48–54, 1997.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: Gruissem W, Buchannan B, Jones R, eds. Responses to abiotic stresses. Rockville, MD: American Society of **Plant Physiologists**, 1158–1249, 2000.

CARPENTIER, S. C.; WITTERS, E.; LAUKENS, K.; DECKERS, P.; SWENNEN, R.; PANIS, B. Preparation of protein extracts from recalcitrant plant tissues: An evaluation of different methods for two-dimensional gel electrophoresis analysis. **Proteomics**. 5, 2497–2507, 2005.

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

CARUSO, G.; CAVALIERE, C.; FOGLIA, P.; GUBBIOTTI, R.; SAMPERI, R.; LAGANA, A. Analysis of drought responsive proteins in wheat (*Triticum durum*) by 2D-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry. **Plant Scienc** 177:570–576, 2009.

CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M. M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**. 407: 2365-2384, 2004.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**. Vol. 103, pp. 551-560. 2009.

CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSORIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. **Annals of Botanic** 89:907–916, 2002.

- De SOUZA, G. A.; FERREIRA, B.S.; DIAS, J. M.; QUEIROZ, K.S.; BRANCO. A. T. Bressan Smith RE, Oliveira JG, Garcia AB Accumulation of SALT protein in rice plants as a response to environmental stresses. **Plant Science** 164:623–628, 2003.
- ELLIS, R.J. Chaperones moleculares. Annu. **Revista Biochem.** 60:321-347. 1991.
- FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S.M. A Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomic Sustain Dev** 29:185–212, 2009.
- FAO, **Food and agriculture organization of the United Nations**, Acessado em: 24/01/2013, Disponível em: [www,faostat,fao,org/site/340/default,aspx](http://www.faostat.fao.org/site/340/default.aspx)
- GARCIA, A. B.; ENGLER, J. D.; CLAES, B.; VILLARROEL, R.; VAN MONTAGU M, GERATS, T.; CAPLAN, A. The expression of the salt-responsive gene salT from rice is regulated by hormonal and developmental cues. **Plant Physiol** 207:172–180, 1998.
- GIORINI, S. Caracterização de proteínas de HSP-70 cognatos de trigo. **Theoretical and Applied Genetics**. 82:615-620. 1991.
- GONG, H.; CHEN, K.; CHEN, G.; WANG, S.; ZHANG, C. Drought stress stimulates p-nitrophenyl phosphate hydrolysis rate of the plasma membrane H⁺-ATPase from wheat leaves. **Plant Growth Regul** 40:139–145, 2003.
- GRIFFITHS, H. e PARRY, M. A. J. Plant responses to water stress. **Annals of Botany**. V. 89, p. 801-802. 2002.
- GRUNWALD, I.; HEINIG, I.; THOLE, H.H.; NEUMANN, D.; KAHMANN, U.; KLOPPSTECH, K.; GAU, A.E. Purification and characterisation of a jacalin-related, coleoptile specific lectin from *Hordeum vulgare*. **Plant Physiol** 226:225–234, 2007.
- GUICHERD, P.; PELTIER, J.P.; GOUT, E.; BLIGNY, R.; MARIGO, G. Osmotic adjustment in *Fraxinus excelsior* L. malate and mannitol accumulation in leaves under drought conditions. **Trees** 11:155–161, 1997.

GUPTA, A. S.; HEINEN, J. L.; HOLADAY, A. S.; BURKE, J. J.; ALLEN, R. D. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase. **Proc Natl Acad Science U S A**. February 15; 90(4): 1629–1633, 1993.

HE, Y.; GAN, S. A novel zinc-finger protein with a prolinerich domain mediates ABA-regulated seed dormancy in Arabidopsis. **Plant Molecular Biology**, v.54, n.1, p.1-9, 2004.

ISHIDA, H.; YOSHIMOTO, K.; IZUMI, M.; REISEN, D.; YANO, Y.; MAKINO, A.; OHSUMI, Y., HANSON, M. R. E MAE, T. "Mobilization of rubisco and stroma-localized fluorescent proteins of chloroplasts to the vacuole by an ATG gene-dependent autophagic process." **Plant Physiol** 148: 142-55, 2008.

JIAO, S.; HILAIRE, E.; GUIKEMA, J. A. Identification and differential accumulation of isoforms of the CFI 1- β subunit under high light stress in Brassica rapa. **Plant Physiolog and Biochemistry** 42: 883-890, 2004.

JONES, H. G. Monitoring plant and soil water status: established and novel revisited and their relevance to studies of drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**. V. 58, n.2, p. 119-130, 2007.

KACPERSKA, A. Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity? **Physiol Plant** 122: 159-168, 2004.

KANG, H. M.; PARK, K. W.; SALTVEIT, M. E Chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus*) seedling radicles is affected by radicle length, seedling vigour and induced osmotic and heat-shock proteins. **Physiologia Plant**, v. 124, n. 2, p. 485-492, 2005.

KOLLER, A., WASHBURN, M. P., LANGE, B. M., ANDON, N. L., DECIU, C., HAYNES, P. A., HAYS, L., SCHIELTZ, D., ULASZEK, R., WEI, J., WOLTERS, D. e YATES, J. R., 3rd. "Proteomic survey of metabolic pathways in rice." **Proc Natl Acad Sci U S A** 99: 11969-74, 2002.

KUMAR, V.; MILLS, D. J.; ANDERSON, J. D.; MATTOO, A. K. An alternative agriculture system is defined by a distinct expression profile of select gene transcripts and proteins. **PNAS**, v. 111, n. 29, p. 10535-10540, 2004.

LACOUR, S.; LANDINI, P. σ^S -dependente a expressão do gene no início da fase estacionária em *Escherichia coli*: Função de σ^S -dependentes genes e identificação de seqüências de seus promotores. **Journal Bacteriol.** 186 7186-7195. 2004.

LEAL-COSTA M.V, ARAGÃO, F.J.L. TAVARES, E.S. Anatomia foliar de plantas transgênicas e não transgênicas de *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae) **Revista Biociências**, 2008.

LOW, R.; ROCKEL, B.; KIRSCH, M.; RATAJCZAK, R.; HORTENSTEINER, S.; MARTINOIA, E.; LIITTGE, U.; RAUSCH, T. Early salt stress effects on the differential expression of vacuolar H⁺-ATPase genes in roots and leaves of *Mesembryanthemum crystallinum*. **Plant Physiol** 110:259–265, 1996.

LUU, D. T.; MAUREL, C. Aquaporis in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. **Plant, Cell and Environment**, v. 28. P. 85-96, 2005.

MARUYAMA-NAKASHITA, A., INOUE, E., WATANABE-TAKAHASHI, A., YAMAYA, T. e TAKAHASHI, H. "Transcriptome profiling of sulfur-responsive genes in *Arabidopsis* reveals global effects of sulfur nutrition on multiple metabolic pathways." **Plant Physiol** 132: 597-605, 2003.

MATSUYAMA, S.; TERAOKA, R.; MORI, H.; TOMIYAMA, T. Inverse correlation between amyloid precursor protein and synaptic plasticity in transgenic mice. **Neuroreport** 18:1083–1087, 2009.

MOLLER, I. M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. **Annu. Rev. Plant Physiol. Molecular Plant. Biology** 52,561-591, 2001.

MOONEY, B. P., MIERNYK, J. A., GREENLIEF, C. M. e THELEN, J. J. "Using quantitative proteomics of *Arabidopsis* roots and leaves to predict metabolic activity ". **Physiol Plant.** 128: 237-250, 2006.

MOURA, A. A.; KOC, H.; CHAPMAN, D. A.; KILLIAN GJ. Identification of accessory sex gland fluid proteins as related to fertility indexes of dairy bulls: a proteomic approach. **Journal of Andrology**, Schaumburg, v.27, p.201–211, 2006.

MUSRATI, R.A.; KOLLAROVA, M.; MERNIK, N.; MIKULASOVA, D. Malate dehydrogenase: distribution, function and properties. *Gen Physiol Biophys* 17:193–210, 1998.

NARASIMHAN, M.L.; BINZEL, M.L.; PEREZ-PRAT, E.; CHEN, Z.; NELSON, D.E.; SINGH, N.K.; BRESSAN, R.A.; HASEGAWA, P.M. NaCl regulation of tonoplast ATPase 70 kilodalton subunit mRNA in tobacco cells. *Plant Physiol* 97:562–568, 1991.

NEPOMUCENO, A. L.; STEWART, J. M.; OOSTERHUIS, D. M.; TURLEY, R.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R.B. Isolation of a cotton NADP(H) oxidase homologue induced by drought stress. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35: 1407-1416, 2000.

NEUHOFF V, AROLD N, D TAUBE, EHRHARDT W Improved coloração das proteínas em géis de poliacrilamida incluindo geles de focagem isoeléctrica, com fundo claro a sensibilidade nanograma usando Coomassie Brilliant Blue G-250 e R-250. *Eletroforese* 9:255-262, 1988.

NUCCIO, M. L.; RHOLES, D.; McNEIL, S. D.; HANSON, A.D. Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance. *Curr Opin Plant Biology* 2: 128-134, 1999.

PEUMANS, W. J.; ZHANG, W.; BARRE, A.; HOULES ASTOUL, C.; BALINT-KURTI, P.J.; ROVIRA, P.; ROUGE, P.; MAY, G. D.; VAN LEUVEN, F.; TRUVA-BACHI, P, VAN DAMME, E. J. Fruit-specific lectins from banana and plantain. *Plant* 211:546–554, 2000.

PIROVANI, C.P.; CARVALHO, H.A.; MACHADO, R.C.; GOMES, D.S.I. Protein extraction for proteome analysis from cacao leaves and meristems, organs infected by *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of the witches broom disease. *Electrophoresis* 29: 2391-2401. 2008.

PLOMION, C.; PIONNEAU, C.; BRACH, J.; COSTA, P.; BAILLEERS, H. Compression Wood-Responsive Proteins in Developing Xylem of Maritime Pine (*Pinus pinastes* Ait.) *Plant Physiology*, Lancaster, v. 123, p. 959-969, 2000.

PNUELI, L.; LIANG, H.; ROZENBERG, M.; MITTLER, R. Supressão de crescimento, alterações nas respostas estomática, e aumentada a indução de

proteínas de choque térmico em ascorbato peroxidase citosólica (Apx1) deficientes em plantas de *Arabidopsis*. **Usina**, Apr; 34 (2):187-203. 2003.

PRINS, A., VAN HEERDEN, P. D., OLMOS, E., KUNERT, K. J. e FOYER, C. H. "Cysteine proteinases regulate chloroplast protein content and composition in tobacco leaves: a model for dynamic interactions with ribulose-1,5- isphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) vesicular bodies." **Journal of Experimental Botany**. 59: 1935-50. 2008.

REIS, P. A. A.; ROSADO, G. L.; SILVA, L. A.C.; OLIVEIRA, L. C.; OLIVEIRA, L. B.; COSTA , M. D.L.; ALVIM, F. C. and FONTES, E. P.B. The Binding Protein BiP Attenuates Stress-Induced Cell Death in Soybean via Modulation of the N-Rich Protein-Mediated Signaling Pathway. **Plant Physiol**. Vol. 157, 2011.

RHODES, D.; HANSON, A. D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. Annual Review in **Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 44, p. 357-384, 1993.

ROBINSON, J. C: **Bananas and plantains**. Volume 5. Wallingford, U.K: CAB International; 1996.

ROCHA, S. L. G. et al. Crotalid Snake Venom Sub-proteomes Unraveled by the Antiophidic Protein DM43. **Journal of Proteome Research**, v.8, p.2351–2360, 2009.

ROY, A.; RUSHTON, P.J.; ROHILA, J.S. The potential of proteomics technologies for crop improvement under drought conditions. Crit Rev in **Plant Science** 30:471–490, 2011.

SANTOS, G.O; HERNANDEZ, F.B.T.; ROSSETTI, J.C. Balanço hídrico como ferramenta ao planejamento agropecuário para a região de Marinópolis, noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada** v.4, nº. 3, p.142–149, 2010.

SEKI, M.; UMEZAWA, T.; URANO, K.; SHINOZAKI, K. Permissões e Reguladoras redes metabólicas em resposta ao estresse de seca. **Plant Science Center (PSC)**, Instituto Riken de Yokohama, Japão. V. 10, 3, 296-302, 2007.

SHINOZAKI, K., YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Curr Opin Plant Biology* 3: 217-223, 2000.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiol.* 115,p.: 327–334. 1997.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of Experimental Botany.* 58(2):221-227, 2007.

SONG, X., NI, Z., YAO, Y., XIE, C., LI, Z., WU, H., ZHANG, Y. e SUN, Q. "Wheat (*Triticum aestivum* L.) root proteome and differentially expressed root proteins between hybrid and parents. *Proteomics* 7: 3538-57, 2007.

SZE, H.; WARD, J.M.; LAI, S. Vacuolar H⁺-translocating ATPases from plants: structure, function, and isoforms. *Journal Bioenerg Biomembr* 24:371–381, 1992.

THOMAS, D.S.; TURNER, D.; EAMUS, D. Independent effects of the environment on the leaf gas exchange of three banana (*Musa* sp.) cultivars of different genomic constitution. *Scientia Horticulturae*, 75(1-2):41-57, 1998.

TURNER, N.C. Adaptation to water deficits: A changing perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 13:175-190. 1986.

TYERMANN, S. D.; NIEMIETZ, C. M.; BRAMLEY, H. Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant, Cell and Environment*, v. 25, p. 173-194. 2002.

VAN DAMME, E. J. M.; BARRE, A.; ROUGE, P.; PEUMANS, W. J. Potato lectin: an updated model of a unique chimeric plant protein. *Journal Plant* 37:34–45, 2004b.

VAN DAMME, E. J. M.; BARRE, A.; ROUGE, P.; PEUMANS, W. J. Cytoplasmic/nuclear plant lectins: a new story. *Trends Plant Scientia* 9:484–489, 2004c.

VAN DAMME, E. J. M.; LANNON, N., FOURQUART, E.; PEUMANS, W. The identification of inducible cytoplasmic/nuclear carbohydrate-binding proteins

urges to develop novel concepts about the role of plant lectins. **Journal Glycocon** 20:449–460, 2004a.

VANHOVE, A.C.; VERMAELEN, W. PANIS, B. SWENNEN, R. CARPENTIER, S. 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. V3. **Plant Science**. 2012.

VIERLING, E. Os papéis de choque térmico-proteínas em plantas. Annu. Rev. **Plant Physiol. Molecular Plant. Biology**. 42:579-620. 1991.

VITALE, A. Calreticulins are all the same. Proceedings of the National Academy of **Sciences**, 106, 32, 13151-13152. 2009.

WADA, S., ISHIDA, H., IZUMI, M., YOSHIMOTO, K., OHSUMI, Y., MAE, T. e MAKINO, A. "Autophagy plays a role in chloroplast degradation during senescence in individually darkened leaves. **Plant Physiology** 149: 885-93, 2009.

WANG, W.; VINOCCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Plant Physiology** Vol. 218, pp. 1–14. 2003.

YAN, S.; TANG, Z.; SU, W. Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in rice root. **Proteomics**, 5 (1): 235-244, 2005.

YANG, W., NI, L., e Somerville, RL Uma proteína de fase estacionária, de *Escherichia coli* , que afeta o modo de associação entre a proteína do repressor e operador Trp-rolamento DNA. **Proc. Natl. Acad. Sciences**. 90 5796-5800. 1993.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. **Photosynthetica**, v. 38, n 1, p. 171-186. 2000.

ANEXOS

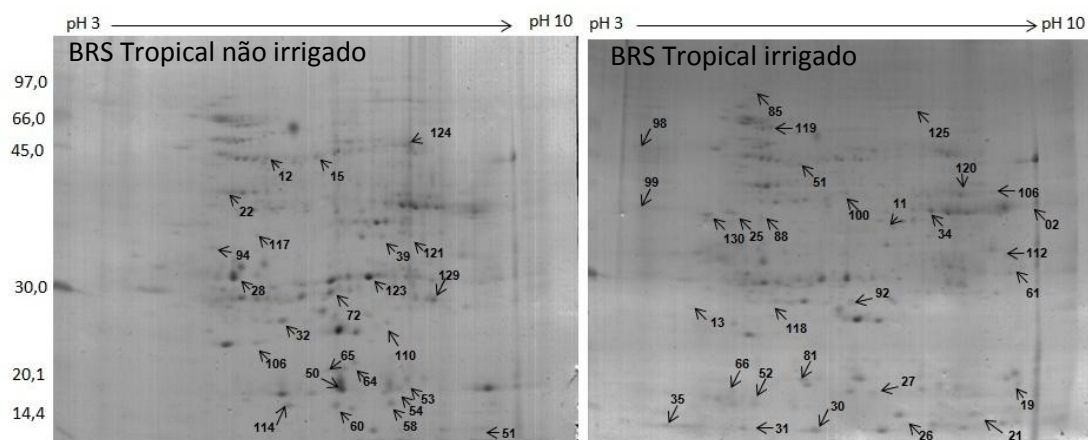


Figura 1. Perfil de proteínas em gel 2-D do genótipo BRS Tropical, tolerante à deficiência hídrica. São identificados como planta irrigada e não irrigada. Os géis foram corados com Azul de Coomassie Coloidal. Massas moleculares do padrão em kDa são indicados à esquerda das imagens para a direita e as setas com os respectivos números identificam os *spots*.

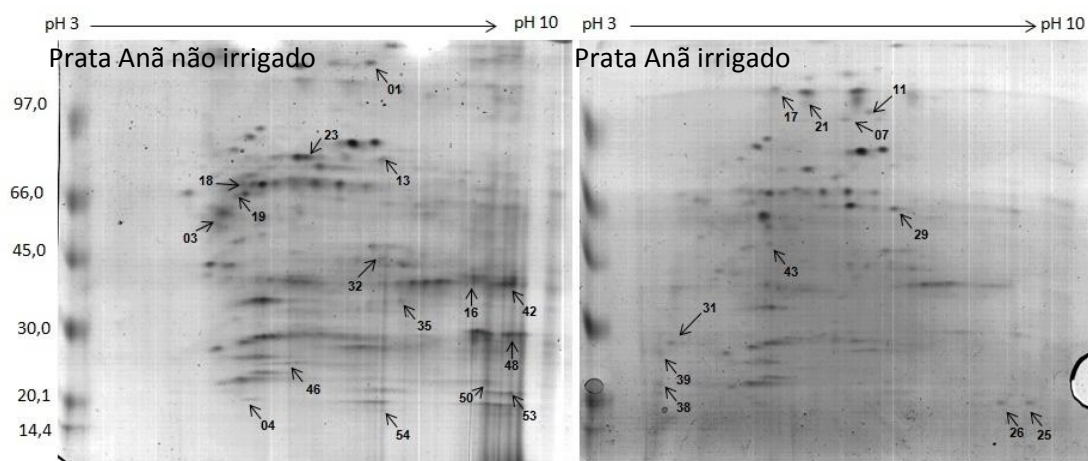


Figura 2. Perfil de proteínas em gel 2-D do genótipo Prata Anã, menos tolerante à deficiência hídrica. São identificados como planta irrigada e não irrigada. Os géis foram corados com Azul de Coomassie Coloidal. Massas moleculares do padrão em kDa são indicados à esquerda das imagens para a direita e as setas com os respectivos números identificam os *spots*.

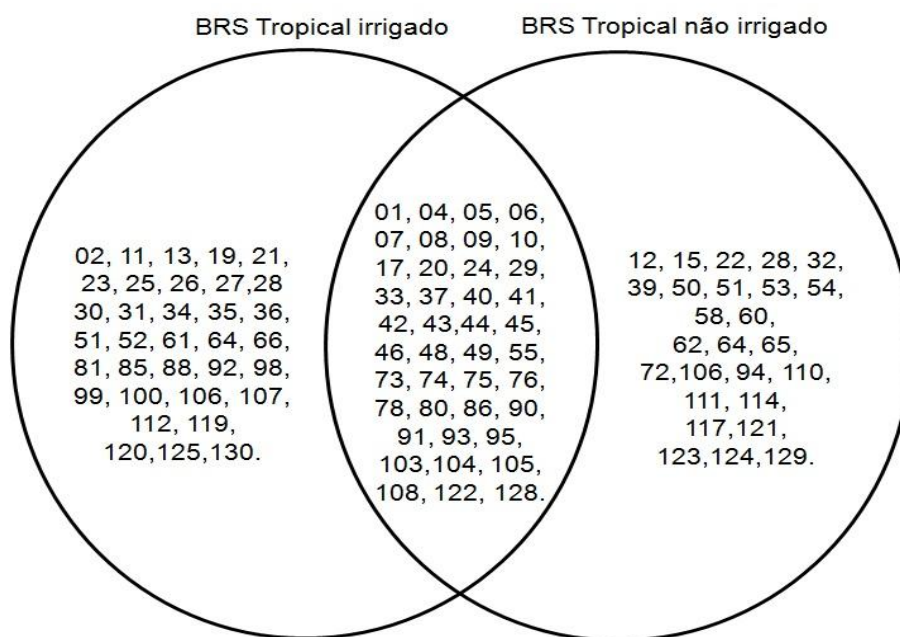


Figura 3. Diagrama de Venn com *spots* de proteínas comuns (intercessão) e exclusivas do tratamento irrigado e não irrigado do genótipo BRS Tropical analisados nos padrões de 2-DE.

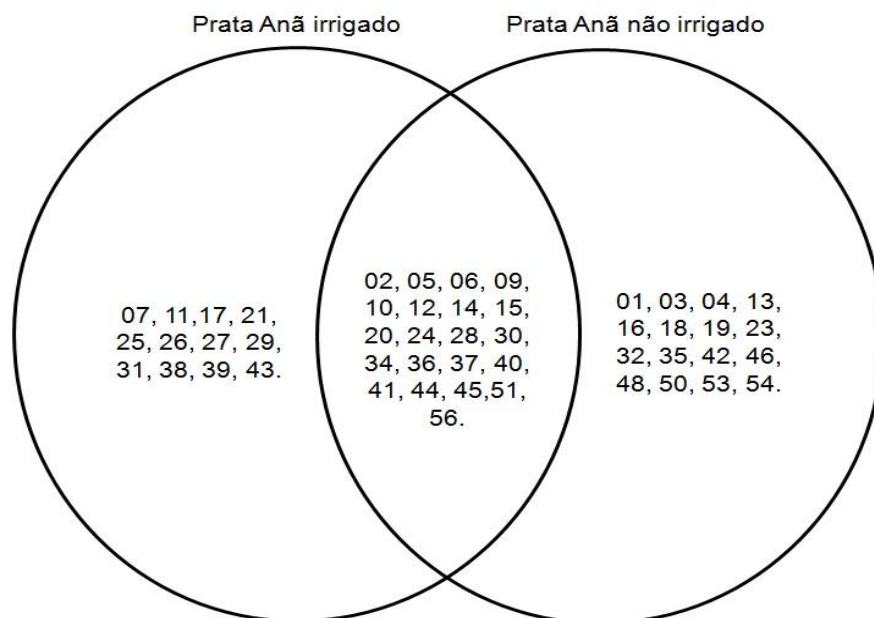


Figura 4. Diagrama de Venn com *spots* de proteínas comuns (intercessão) e exclusivas do tratamento irrigado e não irrigado do genótipo Prata Anã analisados nos padrões de 2-DE.

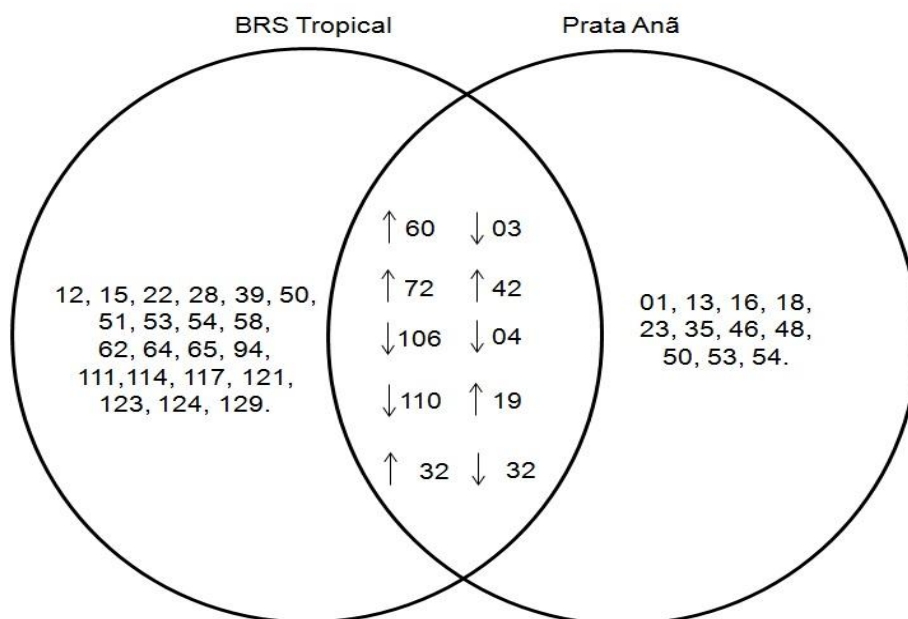


Figura 5. Diagrama de Venn descreve proteínas alteradas que se sobrepunham entre os tratamentos sem irrigação dos genótipos Prata Anã e BRS Tropical quanto a tolerância à seca, ↑ representando aumento na intensidade do *spot* e ↓ redução da intensidade do *spot* comparando entre os genótipos.

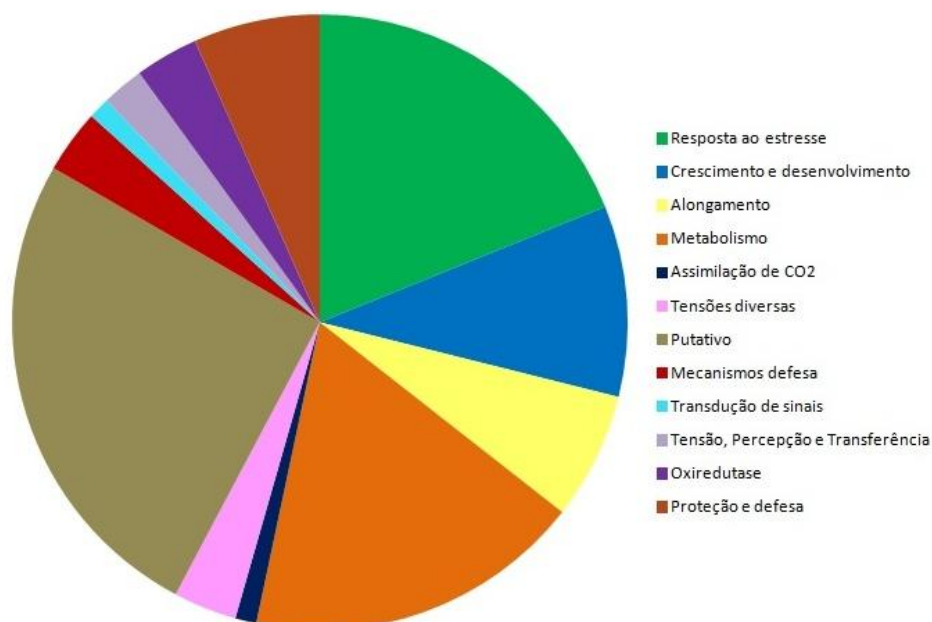


Figura 6. Diagrama do agrupamento das funções biológicas das proteínas identificadas nas raízes de bananeira expressas em condição de deficiência hídrica.

Tabela 1. Identificação das proteínas diferencialmente expressas do genótipo BRS Tropical para a condição de irrigado e não irrigado, função biológica, ponto isoelétrico, massa molecular, score, cobertura e nº de peptídeos.

Spot	Identificação das proteínas	Função biológica	pI	Massa (kDa)	score	Cobertura (%)	Pep
Plantas não irrigadas							
12	UTP-glucose _uridylyltransferase	Funções de Proteção defesa	5,45	51,3	105	64	24
15	GSMUA Achr5P18810 001 Enolase	Respiração	5,56	47,9	105	70	32
22	GSMUA Achr1P05990 001_ Actin-2	Funções de Proteção defesa	5,08	41,0	105	58	22
28	Glutamine synthetase nodule isozyme	Metabolismo do nitrogênio	5,65	38,9	105	56	10
32	Malate dehydrogenase cytoplasmic	Oxidoreductase	5,97	35,4	105	56	18
39	Isoflavone _reductase homolog	Metabolismo do nitrogênio	6,1	34,1	100	44	8
50	Protein Hypothetica	Putative	7,75	18	105	48	10
51	kDa chaperonin	Mecanismo de defesa	8,62	10,5	105	74	4
53	GSMUA_Achr8P15010_001_ Nucleoside	Metabolismo	9,05	16,5	105	55	12
54	protein At5g10860 mitochondrial	Putative	8,59	20,8	105	74	17
58	class I heat shock protein	Resposta ao estresse	6,17	17,5	105	31	5
60	dismutase Cu / Zn	Tensões diversas	5,42	15,2	105	48	4
62	class I heat shock protein	Resposta ao estresse	5,72	17,8	105	74	11
64	22 7 kDa class IV heat shock protein	Resposta ao estresse	6,53	21,5	100	64	13
65	heat shock protein	Resposta ao estresse	5,98	22,5	105	33	5
72	proton ATPase subunit B2	Crescimento e desenvolvimento	4,86	54,3	94	45	16
94	lyase	Funções de Proteção defesa	4,96	38,1	105	47	18
106	class I heat shock protein	Resposta ao estresse	6,53	17,8	99	24	5

Continuação da Tabela 1.

Spot	Identificação das proteínas	Função biológica	pl	Massa (kDa)	score	Cobertura(%)	Pep
Plantas não irrigadas							
110	O methyltransferase	Resposta ao estresse	5,04	27,6	105	79	21
111	factor 1 delta	Alongamento	4,59	35,1	105	25	5
114	repeat containing protein At3g59040	Putative	8,35	12,2	105	69	6
117	protein	Putative	1,03	24,5	46	56	3
121	Peroxidase 5	Catalisa reações de oxidação	6,18	34,3	105	49	11
123	Methenyltetrahydrofolate synthase domain containing protein	Putative	9,89	31,2	95	17	3
124	factor 1 alpha	Alongamento	9,33	45,4	93	59	8
129	shock cognate 70 kDa protein	Resposta ao estresse	4,89	70,8	105	33	23
Plantas irrigadas (controle)							
2	Peroxidase 12	Catalisa reações de oxidação	8,00	35,1	100	57	17
11	Isoflavone reductase homolog	Putative	6,10	34,0	105	51	14
13	Dehydrogenase_malate Cytoplasmic	Oxidoreductase	5,09	35,4	105	43	14
19	expressed protein	Putative	5,12	17,9	97	72	3
21	Putative candidate 5	Putative	4,63	10,6	105	69	6
25	Horcolin	Tensão percepção e transferência	7,73	14,6	105	48	8
26	diphosphate kinase 1	Metabolismo do carboidrato	6,37	16,2	105	39	6
27	class II heat shock protein	Resposta ao estresse	6,17	17,5	105	52	11
30	Horcolin	Tensão percepção e transferência	7,73	14,6	101	48	6
31	protein putative expressed	Putative	8,74	37,1	98	43	4
34	expressed protein	Putative	9,06	35,5	71	58	3
35	RuBisCO protein subunit alpha chloroplastic	Assimilação de CO ₂	4,79	13,4	105	53	7

Continuação da **Tabela 1.**

<i>Spot</i>	Identificação das proteínas	Função biológica	pI	Massa (kDa)	score	Cobertura(%)	Pep
Plantas irrigadas (controle)							
51	ATP synthase subunit alpha mitochondrial	Crescimento e desenvolvimento	5,77	59,3	101	15	4
52	GSMUA Achr10P22170 001 _Peroxisredoxin-2C	Catalisa reações de oxidação	4,97	13,3	100	42	3
61	GSMUA Achr2P16160 001	Funções de Proteção defesa	5,16	41,6	98	59	20
66	synthase UDP forming 2	Putative	6,10	29,5	105	63	12
81	Protein Hypothetical	Putative	1,09	16,9	60	56	3
85	GSMUA Achr8P17490 001	Putative	6,63	42,6	99	27	11
88	Catalase isozyme A	Funções de Proteção defesa	6,41	57,0	105	21	10
92	Intracellular ribonuclease LX	Energia- Fotossíntese	5,65	26,9	105	62	3
98	dehydrogenase mitochondrial	Reações metabólicas	8,22	42,1	105	38	11
99	protein porin of 36 kDa	Processos envolvendo proteína mitocondrial	8,62	32,6	105	50	10
100	subunit beta type 4	Alongamento	7,65	28,3	105	44	11
106	dehydrogenase	Reações metabólicas	5,60	44,4	104	97	3
112	Polyphenol oxidase A1	Reações metabólicas	6,76	52,1	100	21	4
119	Aspartate aminotransferase cytoplasmic	Proteção e defesa	8,47	45,9	105	43	21
120	protease regulatory subunit S10B homolog B	Crescimento e desenvolvimento	8,65	44,7	104	32	14
125	Peroxidase 12	Putative	6,47	30,9	105	55	7
130	GSMUA Achr8P32950 001	Putative	4,41	34,9	105	53	6

Número relacionado ao do *spot*; Identificação da proteína; função biológica; pI: ponto isoelétrico; Massa (Kda); *score*; Cobertura (%) e quantidade de peptídeos.

Tabela 2. Identificação das proteínas diferencialmente expressas do genótipo Prata Anã para a condição de irrigado e não irrigado. Cruz das Almas, BA, 2013.

<i>Spot</i>	Identificação das proteínas	Processo biológico	pI	Massa (kDa)	score	Cobertura (%)	Pep
Plantas não irrigadas							
1	diphosphate kinase	Metabolismo do carboidrato	6,37	16,2	105	39	7
3	dismutase Cu / Zn	Tensões diversas	5,42	32,2	105	63	7
4	class I heat shock protein	Resposta ao estresse	5,72	17,8	93	50	9
13	wrbA	Putative	6,52	21,6	105	53	15
16	Zinc Finger	Transdução de sinais	7,93	17,5	105	62	8
18	peroxidase cytosolic	Catalisa reações de oxidação	5,17	27,3	105	77	19
19	O methyltransferase	Resposta ao estresse	5,04	27,6	105	63	14
23	glutathione S transferase	Resposta ao estresse	5,64	23,8	105	37	5
32	Malate dehydrogenase mitochondrial	Oxidoreductase	7,81	36,2	105	57	16
35	dehydrogenase cytosolic 3	Reações metabólicas	8,72	46,0	105	46	14
42	proton ATPase subunit B2	Resposta ao estresse	4,91	54,4	104	61	25
46	CPN60 2 mitochondrial_ Chaperonin	Mecanismos de defesa	5,59	61,1	105	33	16
48	putative expressed	Putative	8,70	75,3	105	49	4
50	protein 1 Pathogenesis	Mecanismos de proteção e defesa	4,64	17,1	105	50	6
53	expressed protein 12	Putative	8,00	35,1	100	86	9
54	subunit alpha type 5	Alongamento	4,56	26,0	105	64	15
Plantas irrigadas (controle)							
7	S transferase 3_ Glutathione	Resposta ao estresse	5,89	22,5	105	68	6
11	expressed protein	Putative	4,63	13,5	105	42	3
17	mitochondrial protein anon 60Da_ putative expressed	Putative	5,70	85,4	105	95	3
21	Ribonuclease 3	Putative	6,26	31,8	100	36	3
25	carboxylase 1	Reações metabólicas	6,87	64,7	48	10	3

Continuação Tabela 2.

<i>Spot</i>	Identificação das proteínas	Processo biológico	pI	Massa (kDa)	score	Cobertura(%)	Pep
Plantas irrigadas (controle)							
26	Protein expressed	Putative	6,56	97,2	105	89	4
27	proton ATPase subunit C	Crescimento e desenvolvimento	5,90	29,2	105	33	3
29	protein At3g02650 mitochondrial	Putative	4,99	67,0	67	10	4
31	disulfide isomerase	Processos metabólicos	4,58	56,3	105	20	6
38	diphosphate kinase B	Metabolismo do carboidrato	7,77	15,5	105	36	6
39	GSMUA Achr6P12500 001_ Fructokinase-2	Metabolismo da glicose	4,44	22,6	95	53	5
43	protein putative expressed	Putative	7,94	26,6	105	80	3

Número relacionado ao do *spot*; Identificação da proteína; processo biológico; pI: ponto isoelétrico; Massa (Kda); *score*; Cobertura (%) e quantidade de peptídeos.

Tabela 3. Identificação das proteínas diferencialmente expressas entre os genótipos não irrigados BRS Tropical e Prata Anã. Cruz das Almas, BA, 2013.

<i>Spot</i>	Identificação das proteínas	pI	Massa (kDa)	score	Cobertura (%)	Intensidade	Pep
Tropical							
12	UTP-glucose_uridylyltransferase	5,45	51,3	105	64	0,122	24
15	GSMUA Achr5P18810_001 Enolase	5,56	47,9	105	70	0,040	32
22	GSMUA Achr1P05990_001_Actin-2	5,08	41,0	105	58	0,042	22
28	Glutamine synthetase nodule isozyme	5,65	38,9	105	56	0,04	10
32	Malate dehydrogenase cytoplasmic	5,97	35,4	105	56	0,059	18
39	Isoflavone_reductase homolog	6,10	34,1	100	44	0,193	8
50	Protein Hypothetica	7,75	18,0	105	48	0,167	10
51	kDa chaperonin	8,62	10,5	105	74	0,183	4
53	GSMUA_Achr8P15010_001_ Nucleoside	9,05	16,5	105	55	0,027	12
54	protein At5g10860 mitochondrial	8,59	20,8	105	74	0,031	17
60	dismutase Cu / Zn	5,42	15,2	105	48	0,05	4
64	class IV heat shock protein	6,53	21,5	100	64	0,039	13
65	heat shock protein	5,98	22,5	105	33	0,033	5
72	proton ATPase subunit B2	4,86	54,3	94	45	0,057	16
94	lyase	4,96	38,1	105	47	0,021	18
106	class I heat shock protein	6,53	17,8	99	24	0,034	5
110	O methyltransferase	5,04	27,6	105	79	0,036	21
111	factor 1 delta	4,59	35,1	105	25	0,051	5
114	repeat containing protein At3g59040	8,35	12,2	105	69	0,131	6
117	Protein	1,03	24,5	46	56	0,011	3
121	Peroxidase 5	6,18	34,3	105	49	0,057	11
123	Methenyltetrahydrofolate synthase domain containing protein	9,89	31,2	95	17	0,035	3
124	factor 1 alpha	9,33	45,4	93	59	0,01	8

Continuação da Tabela 3.

<i>Spot</i>	Identificação das proteínas	pI	Massa (kDa)	score	Cobertura (%)	Intensidade	Pep
Tropical							
129	shock cognate 70 kDa protein	4,89	70,8	105	33	0,093	23
Prata Anã							
1	diphosphate kinase	6,37	16,2	105	39	0,055	7
3	dismutase Cu / Zn	5,42	32,2	105	63	0,033	7
4	class I heat shock protein	5,72	17,8	93	50	0,044	9
13	wrbA	6,52	21,6	105	53	0,036	15
16	Zinc Finger	7,93	17,5	105	62	0,025	8
18	peroxidase cytosolic	5,17	27,3	105	77	0,049	19
19	O methyltransferase	5,04	27,6	105	63	0,038	14
23	glutathione S transferase	5,64	23,8	105	37	0,030	5
32	Malate dehydrogenase cytoplasmic	7,81	36,2	105	57	0,045	16
35	dehydrogenase cytosolic 3	8,72	46,0	105	46	0,057	14
42	proton ATPase subunit B2	4,91	54,4	104	61	0,039	25
46	CPN60 2 mitochondrial_ Chaperonin	5,59	61,1	105	33	0,047	16
48	putative expressed protein 1	8,70	75,3	105	49	0,067	4
50	Pathogenesis	4,64	17,1	105	50	0,084	6
53	expressed protein 12	8,00	35,1	100	86	0,036	9
54	subunit alpha type 5	4,56	26,0	105	64	0,028	15

Número relacionado ao do *spot*; Identificação da proteína; pI: ponto isoelétrico; Massa (Kda); *score*; Cobertura (%); Intensidade do *spot* e quantidade de peptídeos

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos de genótipos de bananeira para a eficiência do uso de água quanto a tolerância e suscetibilidade ao déficit hídrico são importantes para inserção em programas de melhoramento genético.

A bananeira 'BRS Tropical' e 'FHIA 23' toleram a deficiência hídrica, diferentemente dos genótipos 'Prata Anã' e 'YB4247'.

A condutância estomática e a pressão de turgescência do solo são bons indicativos de deficiência hídrica em bananeira, revelando que a umidade solo das plantas menos tolerantes à deficiência hídrica apresenta comportamento diferente das plantas tolerantes.

Este estudo enfatiza o papel de proteínas envolvidas durante o estresse hídrico, permitindo a identificação de candidatos potenciais de tolerância à deficiência hídrica na bananeira. A utilização de técnicas de análise proteômica, bem como de seus avanços, permitem amplas possibilidades para a investigação de proteínas envolvidas durante o estresse hídrico.

Esses resultados podem ser usados como parâmetros proteicos futuros em estudos de tolerância à seca de genótipos de bananeira.