Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Cultivo hidropônico de bananeiras (*Musa* sp.) submetidas ao estresse salino: aspectos fisiológicos e bioquímicos

Camila Pimentel Martins

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2007

Camila Pimentel Martins
Bacharel em Ciências Biológicas

**Cultivo hidropônico de bananeiras (*Musa* sp.) submetidas ao estresse salino:
aspectos fisiológicos e bioquímicos**

Orientador:
Prof. Dr. **LUIZ ANTONIO GALLO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Martins, Camila Pimentel

Cultivo hidropônico de bananeiras (*Musa* sp.) submetidas ao estresse salino: aspectos fisiológicos e bioquímicos / Camila Pimentel Martins. - - Piracicaba, 2007.
48 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Bananicultura 2. Bioquímica vegetal 3. Fisiologia vegetal 4. Hidroponia 5. Salinidade
I. Título

CDD 634.772

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

**Aos meus pais e familiares,
a quem devo tudo!**

AGRADECIMENTOS

Agradeço muito:

À Universidade de São Paulo e à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pelo espaço e oportunidade;

Ao CNPq pela bolsa concedida;

Ao Laboratório de Genética Bioquímica de Plantas, em especial à Priscila Gratão pela paciência e disponibilidade;

Ao Prof. Dr. Gallo pela acolhida;

Ao Prof. Dr. Ricardo Azevedo pelo espaço e material cedido e pela atenção;

À Profa. Dra. Cristiane Macedo que me introduziu e me formou na vida científica, contribuiu para o meu crescimento pessoal e me incentivou nessa nova etapa;

A todos os professores que colaboraram para a aquisição deste título;

Aos grandes amigos que conheci nesta casa, os quais não esquecerei, e que de alguma forma me fizeram crescer;

Aos meus pais José e Mírian e irmãos Alessandro e Isabella pelo incentivo, apoio, força e por proporcionar somente alegrias em minha vida;

Aos meus parentes que, mesmo distantes, acreditaram em mim;

Ao meu namorado Vinícius, sem o qual este trabalho não sairia, pela simples razão de estar incondicionalmente ao meu lado e existir;

A minha tia Fernanda e minhas queridas primas Aline e Andréa pelo apoio, paciência, atenção e pela calorosa e sempre carinhosa acolhida;

Aos meus tios José Maria e Luciene e minha prima Michelle pelo exemplo de perseverança e por todos os mimos

Muito obrigada a todos!

“O degrau de uma escada não serve simplesmente para que alguém permaneça em cima dele, destina-se a sustentar o pé de um homem pelo tempo suficiente para que ele coloque o outro um pouco mais alto”.

(Thomas Huxley)

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Características botânicas.....	12
1.2 Produção de banana no Brasil.....	12
1.3 Salinização dos solos.....	14
1.4 Solutos osmoticamente compatíveis (Osmólitos).....	16
1.5 Cultivo hidropônico.....	18
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.1 Objetivos específicos.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Cultivo hidropônico.....	18
3.1.1 Material vegetal.....	18
3.1.2 Solução nutritiva e condições ambientais.....	18
3.1.3 Montagem do experimento e tratamentos.....	19
3.2 Avaliação dos aspectos fisiológicos.....	19
3.3 Avaliação dos aspectos bioquímicos.....	19
3.3.1 Dosagem de Proteínas solúveis totais.....	19
3.3.2 Dosagem de Aminoácidos livres totais.....	22
3.3.3 Dosagem de Açúcares solúveis totais.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Avaliação dos aspectos fisiológicos.....	24
4.2 Avaliação dos aspectos bioquímicos.....	32
5 CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS	42

RESUMO

Cultivo hidropônico de bananeiras (*Musa* sp.) submetidas ao estresse salino: aspectos fisiológicos e bioquímicos

A salinização dos solos é um dos principais fatores que limita a produtividade mundial. Diversos estudos têm sido realizados para selecionar genótipos mais resistentes. Assim, este trabalho objetivou estudar a fisiologia e a bioquímica das plântulas de bananeira das variedades Maçã e Nanica submetidas ao estresse salino em cultivo hidropônico. 120 plântulas de cada variedade foram fixadas em placas de isopor e colocadas para flutuar sobre 5 litros da solução nutritiva de Hoagland diluída em 10 partes e submetidas aos tratamentos: controle; 25; 50 e 75 mM de NaCl. Mensalmente, durante 60 dias, 60 plântulas de cada variedade tiveram os caracteres fisiológicos altura, número de folhas, comprimento das raízes e taxa de sobrevivência avaliados. Para a avaliação bioquímica, foram calculados os conteúdos de proteínas solúveis totais, aminoácidos livres totais e açúcares solúveis totais nas folhas e nas raízes de 8 plântulas de cada variedade. Os resultados mostraram que o sal induz um efeito prejudicial no crescimento e desenvolvimento das plântulas em todos os caracteres fisiológicos avaliados; que há um incremento no conteúdo dos diversos osmólitos e que a variedade Maçã parece ser mais susceptível aos efeitos prejudiciais do sal.

Palavras-chave: Salinidade; Bananeira; Hidroponia

ABSTRACT

Hydroponics culture of banana plants (*Musa* sp.) submitted to the salt stress: physiological and biochemical aspects

Soil salinity is one of the main factors that limits world productivity. Different studies have been realized to select more resistant genotypes. Therefore, this work objectified to study the physiology and biochemistry of two banana plantlets varieties Maçã and Nanica submitted to salt stress on the hydroponics culture. 120 plantlets of each variety were fixed in styrofoam plates and placed to fluctuate above 5 liters of Hoagland nutritive solution dilute thin in 10 parts and submitted to the following treatments: control; 25; 50 and 75 mM NaCl. Monthly, during 60 days, 60 plantlets of each variety had the physiological characters height; leaves number; roots length and surviving tax evaluated. For biochemistry evaluation, total soluble protein; total free amino acids and total soluble sugars contents were estimated in leaves and roots of 8 plantlets of each variety. The results showed that the salt has a damage effect on the growing and developing of the plantlets in all of the physiological characters evaluated; there is an increase on osmolytes content and the Maçã variety seems to be more susceptible to the damage effect of the salt.

Keywords: Salinity; Banana plants; Hydroponics culture

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Produção brasileira de banana, por região segundo Silva, Tarsitano & Boliani (2005).....	13
Figura 2 -	Brotos de bananeiras das variedades Maçã (representados pela letra M) e Nanica (representados pela letra N) fixados na placa de isopor, dentro da bandeja plástica, contendo 5 litros de solução hidropônica.....	20
Figura 3 -	Condutividade elétrica das soluções salinas utilizadas no cultivo hidropônico das plântulas de bananeira.....	23
Figura 4 -	Altura das plântulas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão.....	25
Figura 5 -	Altura das plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão.....	25
Figura 6 -	Número de folhas das plântulas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão.....	26
Figura 7 -	Número de folhas das plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão.....	26
Figura 8 -	Comprimento das raízes das plântulas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão.....	27
Figura 9 -	Comprimento das raízes das plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão.....	27
Figura 10 -	Taxa de sobrevivência das plântulas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	28
Figura 11 -	Taxa de sobrevivência das plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	29
Figura 12 -	Plântulas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl, respectivamente, da esquerda pra direita, aos 60 dias após a montagem do experimento.....	31

Figura 13 - Plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl, respectivamente, da esquerda pra direita, aos 60 dias após a montagem do experimento.....	31
Figura 14 - Quantidade de proteínas solúveis totais das folhas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	33
Figura 15 - Quantidade de proteínas solúveis totais das raízes de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	33
Figura 16 - Quantidade de proteínas solúveis totais das folhas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	34
Figura 17 - Quantidade de proteínas solúveis totais das raízes de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	34
Figura 18 - Quantidade de aminoácidos livres totais das folhas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	35
Figura 19 - Quantidade de aminoácidos livres totais das raízes de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	35
Figura 20 - Quantidade de aminoácidos livres totais das folhas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	36
Figura 21 - Quantidade de aminoácidos livres totais das raízes de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	36
Figura 22 - Quantidade de açúcares solúveis totais das folhas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	37
Figura 23 - Quantidade de açúcares solúveis totais das raízes de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	37
Figura 24 - Quantidade de açúcares solúveis totais das folhas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do	

	experimento.....	38
Figura 25 -	Quantidade de açúcares solúveis totais das raízes de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento.....	38

1 INTRODUÇÃO

1.1 Características botânicas

A bananeira é uma monocotiledônea originária das regiões tropicais do mundo, cujo gênero é *Musa*, sendo que as espécies de importância econômica são a *Musa acuminata* (A) e a *Musa balbisiana* (B), que apresentam número básico de cromossomos igual a 11. Atualmente a maioria das variedades comerciais existentes no mundo são híbridas destas duas espécies.

As raízes da planta são fasciculadas ou em cabeleira e bastante superficiais.

O caule é subterrâneo, denominado de rizoma, onde estão localizadas a gema apical e as gemas laterais que dão origem aos perfilhos.

O pseudocaule, denominado de tronco, é formado pelo conjunto das bainhas das folhas sobrepostas a partir do rizoma até a roseta, onde as folhas se abrem. As folhas se compõem de pecíolo, nervuras e páginas.

Quando ocorre a diferenciação floral da gema apical, forma-se no rizoma o “palmito”, que cresce no interior do pseudocaule emergindo na roseta. No momento da diferenciação floral já são estabelecidos os números de pencas e de dedos por penca.

A partir do momento que o palmito atinge a roseta e se exterioriza, passa a ser denominado “engajo” e possui flores masculinas e femininas a ele aderidas e protegidas por brácteas.

O cacho é um racimo constituído pelo engajo e também por ráquis, pencas (almofadas e dedos) e botão floral (coração ou mangará).

Os frutos são de desenvolvimento partenocápio, sendo que algumas variedades apresentam poucas sementes viáveis, utilizadas para melhoramento genético.

1.2 Produção de banana no Brasil

A banana (*Musa* spp.), pertencente à família Musaceae, é considerada a fruta mais produzida e a mais consumida no mundo, sendo explorada na maioria dos países tropicais. No Brasil, é cultivada em todos os Estados, desde a faixa litorânea até os

planaltos (DANTAS; SOARES FILHO, 1995). A produção brasileira de banana (Figura 1) está distribuída por todo o território nacional, sendo a região Nordeste a maior produtora (34%), seguida da Região Norte (26%), Sudeste (24%), Sul (10%) e Centro-Oeste (6%) (SILVA; TARSITANO; BOLIANI, 2005).

Figura 1 - Produção brasileira de banana, por região segundo Silva, Tarsitano e Boliani (2005)

A produção brasileira de banana em 2003 foi estimada em 6,5 milhões de toneladas em uma área cultivada de 510 mil ha, sendo os três Estados maiores produtores: São Paulo (1.178,4 mil toneladas), Bahia (764,7 mil toneladas) e Pará (697,8 mil toneladas).

O Brasil, apesar de responder por cerca de 10% da produção mundial, tem uma participação de apenas 0,5% no comércio internacional da fruta (BARROS; PIZZOL, 2001). Essa realidade deve-se, principalmente, ao elevado consumo interno, pois quase toda a produção é destinada ao mercado doméstico para o consumo *in natura*, tendo seu cultivo papel fundamental para a alimentação das famílias de baixa renda, geração de renda e fixação da mão-de-obra na zona rural. A banana constitui elemento

importante na alimentação, não só pelo alto valor nutritivo, mas também pelo baixo custo.

Dentro das regiões brasileiras que poderiam ser utilizadas para aumento da prática agrícola, o semi-árido merece atenção especial, pois apresenta enorme potencial de exploração agrícola. A alta quantidade de luz incidente que permite produzir alimentos durante todo o ano, e a baixa infestação por pragas e doenças ressaltam as qualidades do semi-árido nordestino como região potencial para o cultivo de produtos agrícolas. Mas a falta de água inviabilizou o uso do semi-árido para a agricultura. A irrigação pode ser a solução para este problema (FIORE, 1997).

Dentro desta perspectiva, as frutas recebem especial destaque, pois garantem alto retorno por área e são culturas que exigem mão-de-obra, o que possibilita a criação de novos empregos na região (FIORE, 1997).

No entanto, problemas tais como a salinização e a escassez hídrica de solos potencialmente agricultáveis têm dificultado a expansão desta cultura em várias áreas.

1.3 Salinização dos solos

A irrigação tem sido amplamente utilizada pelos agricultores em muitas partes do mundo, entretanto, na maioria das vezes, a água utilizada para realizar a irrigação contém altos teores de sais e os terrenos possuem drenagem deficiente, o que ocasiona sérios problemas de salinização dos solos (FASSBEIDER; BORNEMUZA, 1987).

Segundo Flower, Hajibagueri e Clipson (1986), 30 a 50% das áreas irrigadas do nosso planeta são afetadas pela salinidade, sendo que 10 milhões de hectares das terras irrigadas são abandonadas anualmente devido problemas de salinização e/ou sodificação (SZALBOCS, 1986).

A salinidade é um dos maiores estresses abióticos que limitam a produção agrícola em muitas áreas do mundo (LUTTS; MAJERUS; KINET, 1996; GOUIA; GHORBAL; TOURAINE, 1994). Ela afeta 7% das terras do mundo inteiro, o que corresponde a 930 milhões de hectares (SZABOLCS, 1994; baseado em dados da

FAO, 1989). Só no Brasil, aproximadamente nove milhões de hectares são afetados pela presença de sais nos solos.

O excesso de sais de sódio afeta as propriedades físicas e químicas do solo, pois o Na^+ aumenta a espessura da dupla camada iônica difusa, proporcionando a expansão das argilas e, conseqüentemente, reduzindo a porosidade e a permeabilidade do mesmo.

A alta concentração de sais no solo é um fator de estresse para as plantas, pois apresenta atividade osmótica retendo água, além da ação dos íons sobre o protoplasma. A água é osmoticamente retida em uma solução salina, de forma que o aumento da concentração dos sais torna a água cada vez menos disponível para a planta. Um excesso de Na^+ e, sobretudo, um excesso de Cl^- no protoplasma ocasionam distúrbios em relação ao balanço iônico, bem como o efeito específico dos íons sobre as enzimas e membranas (LARCHER, 2000).

O estresse osmótico induzido pelo sal é um dos mais sérios problemas que afeta a produtividade e limita a expansão agrícola em várias áreas do mundo (HIEN *et al.*, 2003).

A tolerância ao sal é a capacidade das plantas de crescer e completar seu ciclo de vida em um substrato que contenha altas concentrações de sal solúvel. Plantas que conseguem sobreviver em altas concentrações de sal na rizosfera e crescer são chamadas halófitas (PARIDA; DAS, 2005).

O efeito prejudicial é observado a nível da planta inteira como a morte ou redução na produtividade. A supressão no crescimento ocorre em todas as plantas, mas seu nível de tolerância e a taxa de redução no crescimento em concentrações letais de sal variam bastante entre as diferentes espécies. Embora a mudança no status de água seja a causa da supressão no crescimento, a contribuição dos processos subseqüentes na inibição da divisão e expansão celular e na aceleração da morte das células ainda não está bem esclarecida (HASEGAWA *et al.*, 2000).

A redução generalizada no crescimento das plantas é conseqüência de respostas fisiológicas e bioquímicas, incluindo modificações no balanço de íons, no potencial hídrico, na nutrição mineral, no fechamento estomático, na eficiência fotossintética e na alocação e utilização de carbono (FLOWER; HAJIBAGUERI;

CLIPSON, 1986; BETHKE; DREW, 1992). Para sobreviver nessas condições, as plantas acumulam componentes osmóticos, tais como: açúcares, álcools, aminoácidos e componentes de amônia.

1.4 Solutos osmoticamente compatíveis (Osmólitos)

Para que os componentes protoplasmáticos (proteínas e biomembranas) possam tolerar o estresse salino, as plantas exibem respostas moleculares complexas através da produção de proteínas de estresse e de solutos citoplasmáticos osmoticamente compatíveis, assim chamados devido não interferirem no metabolismo da planta (KUZNETSOV; SHEVYAKOVA, 1997).

Para acomodar o balanço iônico nos vacúolos o citoplasma acumula componentes de baixo peso molecular chamados solutos compatíveis devido eles não interferirem com as reações bioquímicas normais (YANCEY et al., 1982; FORD, 1984; ASHIHARA et al., 1997; HASEGAWA et al., 2000; ZHIFANG; LOESCHER, 2003); além disso, eles recompõem a água nas reações bioquímicas. O acúmulo proporcional para a troca de osmolaridade dentro de limites espécie-específicos, a proteção de estruturas e o suporte do balanço osmótico são funções aceitas dos osmólitos (HASEGAWA et al., 2000). Estes solutos compatíveis incluem principalmente prolina (KHATKAR; KUHAD, 2000; SINGH et al., 2000), glicina betaína (GB) (RHODES; HANSON, 1993; KHAN; UNGAR; SHOWALTER, 2000; WANG; NIL, 2000), açúcares (KEREPESI; GALIBA, 2000; BOHNERT; JENSEN, 1996; PILON-SMITS et al., 1995), e polióis (FORD, 1984; POPP; LARTHER; WEIGEL, 1985; ORTHEN; POPP; SMIRNOFF, 1994; BOHNERT; NELSON; JENSEN, 1995).

O acúmulo de prolina é uma das modificações mais freqüentemente reportadas induzidas pelo déficit hídrico e pelo estresse salino em plantas, e considera-se estar envolvida nos mecanismos de resistência ao estresse (LUTTS; MAJERUS; KINET, 1999). Entretanto, um vasto número de dados indicando uma correlação positiva entre acúmulo de prolina e adaptação aos estresses salino e hídrico não são corroborados por outros estudos (HARE; CRESS; VAN STADEN, 1999). Na verdade, o papel efetivo do acúmulo de prolina na tolerância ao sal é bastante controverso (YEO, 1998). O

estresse salino pode induzir um aumento na atividade da ornitina- δ -aminotransferase – OAT (ROOSENS et al., 1998, LUTTS; MAJERUS; KINET, 1999), a qual representa uma via alternativa para a produção de prolina através de ornitina.

Carboidratos, como os açúcares (glicose, frutose, sacarose, frutanas) e o amido, são acumulados sob estresse salino. Suas principais funções são osmoproteção, ajustamento osmótico, armazenamento de carbono e eliminação de radicais. Uma diminuição no conteúdo de amido e um aumento nos açúcares redutores e não redutores tem sido reportada (PARIDA; DAS; DAS, 2002).

Os polióis compõem uma porcentagem considerável de todo o CO_2 assimilado e pode desempenhar várias funções: como solutos compatíveis, como chaperonas de baixo peso molecular e como eliminadores de radicais de oxigênio induzidos pelo estresse (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; BOHNERT; NELSON; JENSEN, 1995). Funcionam, basicamente, de duas maneiras, as quais são dificilmente separadas: ajuste osmótico e osmoproteção. No ajuste osmótico, eles agem como osmólitos facilitando a retenção de água no citoplasma e permitindo seqüestro de sódio para o vacúolo ou apoplasto. Estes osmólitos protegem as estruturas celulares interagindo com membranas, complexos protéicos ou enzimas (osmoproteção).

Além disso, após um longo período de exposição ao sal o excesso de íons pode interagir com as proteínas modificando a estrutura tridimensional ou sua solubilidade. Um dos processos que pode ser afetado pela presença dos íons Na^+ e Cl^- é a assimilação do Nitrato (NO_3^-) e a atividade da enzima Nitrato redutase, a qual cataliza a redução do NO_3^- em NO_2^- . A atividade desta enzima é o passo limitante na conversão de NO_3^- em aminoácidos (LEA, 1997).

Ajustamento osmótico, proteção de macromoléculas celulares, armazenamento de nitrogênio, manutenção do pH da célula, detoxificação das células e eliminação de radicais livres são funções propostas para os componentes nitrogenados sob condições de estresse salino. O conteúdo de glicina betaína aumenta devido o estresse salino em várias plantas (KHAN et al., 1998, 1999, 2000; SANEOKA et al., 1999; MUTHUKUMARASAMY; GUPTA; PANNERSELVAM, 2000; WANG; NIL, 2000).

Desta forma, o estudo de cultivares que possuam características que permitam uma maior tolerância à salinidade para cruzamentos ou transformação gênica em

culturas de bananeiras pode resultar em uma nova opção agrícola para áreas em que o teor excessivo de sais no solo seja um fator limitante. A redução na propagação da salinização e o aumento da tolerância ao sal nas culturas são resultados de importância global (MUNNS, 2002).

1.5 Cultivo hidropônico

A hidroponia pode constituir-se numa importante ferramenta para este tipo de estudo devido proporcionar uma distribuição homogênea tanto dos nutrientes como dos próprios fatores abióticos de estresse estudados, sem a formação de gradientes que possam vir a ser formados quando as plantas são cultivadas em substrato arenoso.

Os sistemas hidropônicos são muito utilizados em países com problemas de escassez hídrica (Israel), inverno rigoroso (Holanda, USA e França), limitações de área (Japão), dentre outros (MARTINEZ, 1999).

Esta técnica apresenta inúmeras vantagens, tais como: utilização de baixos volumes de água, além disso, a água é reutilizada; reduz riscos de adversidades climáticas; as plantas são de melhor qualidade; o crescimento é mais rápido e constante, etc (STAFF, 1997).

Assim como os genótipos obtidos por técnicas de melhoramento convencional, as plantas cultivadas *in vitro* devem ser avaliadas em condições *ex vitro* para se conhecer o comportamento em relação à salinidade e determinar o efeito destas condições em caracteres importantes para a cultura.

No Brasil, embora várias instituições tenham criado grupos de pesquisas para se estudar os efeitos da salinidade dos solos na produtividade das culturas, ainda são poucos significativos os resultados alcançados quando se considera a magnitude dos problemas. Um dos motivos da pouca significância dos resultados obtidos se deve à complexidade do problema, dependendo a solução não somente de conhecimentos agrônômicos, mas, também, de conhecimentos de biologia, engenharia, fisiologia, bioquímica, ambiental, genética e economia, dentre outras disciplinas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar um estudo fisiológico e bioquímico das respostas induzidas pelo estresse salino (NaCl) em duas variedades de bananeiras (Maçã e Nanica) em cultivo hidropônico para possibilitar uma posterior realização de seleção de genótipos mais tolerantes.

2.2 Objetivos específicos

1. Determinar as concentrações salinas adequadas para a realização do estudo através de uma curva de crescimento de bananeiras submetidas a diferentes doses;
2. Avaliar os aspectos fisiológicos de crescimento das plantas;
3. Avaliar os aspectos bioquímicos relacionados à resposta ao estresse salino das plantas de bananeira através da dosagem de biomoléculas; e
4. Tentar compreender os mecanismos bioquímicos relacionados à tolerância ao estresse salino nessas variedades.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Cultivo hidropônico

3.1.1 Material vegetal

O material vegetal utilizado para o cultivo hidropônico foram 240 plântulas de bananeira das variedades Maçã e Nanica provenientes do cultivo *in vitro*.

3.1.2 Solução nutritiva e condições ambientais

As plântulas foram fixadas em placas de isopor e colocadas dentro de bandejas plásticas para flutuar sobre 5 litros da solução nutritiva de Hoagland diluída em dez partes, durante 30 dias, para a aclimação e emissão de novas raízes (Figura 2). O pH da solução era ajustado para 5,7-5,8 e a temperatura na casa de vegetação do Laboratório de Cultura de Tecidos era, em média, 35°C. Quinzenalmente a solução hidropônica era renovada e a aeração era realizada através de bomba para aquarofilia.

Figura 2 - Brotos de bananeiras das variedades Maçã (representados pela letra M) e Nanica (representados pela letra N) fixados na placa de isopor, dentro da bandeja plástica, contendo 5 litros de solução hidropônica

3.1.3 Montagem do experimento e tratamentos

Após o período de aclimação e emissão de novas raízes (30 dias), as plântulas foram distribuídas em quatro diferentes tratamentos, sendo eles: controle; 25 mM de NaCl; 50 mM de NaCl e 75 mM de NaCl, onde cada tratamento era composto por 5 bandejas, cada uma contendo 12 plântulas, sendo 6 plântulas de cada uma das variedades (Maçã e Nanica), conforme figura acima.

3.2 Avaliação dos aspectos fisiológicos

Mensalmente, durante 60 dias após o período inicial de aclimação (30 dias), 15 plântulas de cada tratamento e de cada variedade foram avaliadas nos seguintes caracteres: altura da plântula; número de folhas e comprimento das raízes. Além disso, calculava-se, também, a taxa de sobrevivência.

3.3 Avaliação dos aspectos bioquímicos

Mensalmente, durante os 60 dias de experimentação, 2 plântulas de cada tratamento e de cada variedade foram coletadas e suas folhas e raízes foram maceradas e congeladas, separadamente, em Nitrogênio Líquido (-60°C) e armazenadas em freezer a -80°C para conservar a integridade das biomoléculas. As dosagens das biomoléculas foram realizadas no Laboratório de Genética Bioquímica de Plantas.

3.3.1 Dosagem de Proteínas solúveis totais

Para avaliar a quantidade de proteínas solúveis totais, 500 mg do material vegetal macerado e congelado foram homogeneizados em 1,5 mL de tampão fosfato pH 7,5 acrescido de 0,372 g.L⁻¹ de EDTA e 0,462 g.L⁻¹ de DTT (Ditiotreitol). Para evitar oxidação do material, também era adicionado PVPP (Polivinil Pirrolidona). Em seguida, os tubos contendo o material foram centrifugados a 10.000 rpm durante 30 minutos a

4°C. O sobrenadante foi coletado e colocado no freezer a -80°C. O ensaio colorimétrico aplicado foi o preconizado por Bradford (1976).

3.3.2 Dosagem de Aminoácidos livres totais

Para avaliar a quantidade de aminoácidos livres totais, 50 mg do material vegetal macerado e congelado foram homogeneizados em 5 mL de água deionizada e colocados em banho-maria durante 30 minutos a aproximadamente 100°C. Logo após, o material foi centrifugado a 10.000 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante foi coletado para a realização das análises. O ensaio colorimétrico utilizado foi o preconizado pela metodologia de People, Faizah e Rerkasen (1989); Yemm e Cocking (1995) e Herridge (1984).

3.3.3 Dosagem de Açúcares solúveis totais

Para avaliar a quantidade de açúcares solúveis totais, 50 mg do material vegetal macerado e congelado foram homogeneizados em 5 mL de água deionizada e colocados em banho-maria durante 30 minutos a aproximadamente 100°C. Logo após, o material foi centrifugado a 10.000 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante foi coletado para a realização das análises. O ensaio colorimétrico utilizado foi o preconizado pela metodologia de Dubois (1956).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os processos de crescimento são particularmente sensíveis ao efeito dos sais e da pressão osmótica, de forma que a taxa de crescimento e a produção de biomassa são bons critérios para a avaliação do grau de estresse e da capacidade da planta de superá-lo (LARCHER, 2000).

Segundo Seeman e Critchley (1985) o estresse afeta vários aspectos metabólicos das plantas e induz mudanças anatômicas e morfológicas, resultando na redução do crescimento.

Essa redução é decorrente das altas concentrações de sal, causando um desequilíbrio iônico e um estresse osmótico nas plantas. Além disso, mudanças drásticas na homeostase iônica e hídrica levam a danos moleculares, parada no crescimento e até a morte (ZHU, 2001).

O rendimento das plantas sensíveis ao estresse salino é reduzido se a condutividade elétrica do solo ultrapassar o valor de 4 mS cm^{-1} e, por este motivo, a água de irrigação não deve apresentar valores acima de 2 mS cm^{-1} (LARCHER, 2000).

Figura 3 - Condutividade elétrica das soluções salinas utilizadas no cultivo hidropônico das plântulas de bananeira

Como pode ser observado no gráfico acima (Figura 3), os tratamentos empregados no sistema hidropônico no presente trabalho possuíam valores maiores que os recomendados, o que demonstra serem bons indicativos para o estudo do comportamento fisiológico e bioquímico das bananeiras e para a realização de uma futura seleção de genótipos mais resistentes.

Segundo Gondim et al. (2006), a bananeira é sensível à salinidade e, para seu bom desenvolvimento vegetativo, requer valores de condutividade elétrica da água de irrigação menores que 1 mS cm^{-1} , para alcançar boa produtividade.

No trabalho realizado por Abreu et al. (1982) o aumento da condutividade para 6 mS cm^{-1} na cultivar 'Nanica', provocou decréscimo de 40% na produtividade, além de atrasar a emissão do cacho em, aproximadamente, um mês.

4.1 Avaliação dos aspectos fisiológicos

Os gráficos a seguir (Figuras 4 a 9) representam o comportamento das plântulas de bananeira submetidas aos diferentes níveis de estresse salino no cultivo hidropônico.

A partir da análise destes gráficos, percebe-se que a partir do 30º dia do início dos tratamentos salinos já ocorre uma redução no crescimento e desenvolvimento das plântulas de bananeira (de ambas variedades) a medida que se aumenta a concentração de NaCl na solução para todos os caracteres avaliados. Tal redução pode ser encontrada tanto a nível radicular quanto na parte aérea.

Resultados semelhantes aos aqui apresentados foram encontrados por Martins e Macedo (2005) avaliando plântulas de abacaxizeiros submetidas ao estresses salino e hídrico no cultivo hidropônico; por Macedo et al. (2005) avaliando brotos de bananeiras submetidos a estresse salino no cultivo *in vitro*, por Brito et al. (2007) avaliando brotos de abacaxizeiro submetidos ao estresse salino no cultivo *in vitro* e por Martins et al. (2003) avaliando plântulas de abacaxizeiro em cultivo hidropônico submetidas a diferentes estresses salinos.

Figura 4 - Altura das plântulas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão

Figura 5 - Altura das plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão

Figura 6 - Número de folhas das plântulas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão

Figura 7 - Número de folhas das plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão

Figura 8 - Comprimento das raízes das plântulas de bananeira da variedade Maça no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão

Figura 9 - Comprimento das raízes das plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento. Barras verticais representam o erro padrão

A redução geral no crescimento da planta e produtividade das culturas, tem-se tornado comportamento corriqueiro verificado em diversos trabalhos, quando as plantas são submetidas ao estresse salino. Este comportamento é atribuído à redução no potencial hídrico da solução do solo gerado pelo efeito osmótico dos íons, adicionados em grandes quantidades pelo uso continuado de água salina, como verificado por Gondim, Medeiros e Carmo (2002), dificultando a absorção de água pelas raízes das plantas de banana. Como a água é um dos fatores essenciais para a expansão celular, sua limitação implica em menor crescimento de células e tecidos, também menor incremento em altura da planta, número de folhas e área foliar da bananeira (CARMO *et al.*, 2003), e, conseqüentemente, menor produtividade.

A tolerância ao sal também pode ser avaliada em termos de sobrevivência, que é mais apropriada para espécies perenes e anuais. As taxas de produção de biomassa são mais utilizadas quando correspondem com o crescimento (MUNNS, 2002).

Figura 10 - Taxa de sobrevivência das plântulas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 11 - Taxa de sobrevivência das plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Apesar dos estresses serem iguais para ambas as variedades, os efeitos do estresse salino são bem maiores nas plântulas de bananeira da variedade Maçã, pois ao final dos 60 dias nenhuma plântula submetida a maior dose de sal (75 mM de NaCl) foi capaz de sobreviver; enquanto que as da variedade Nanica apresentaram apenas uma redução na taxa de sobrevivência (Figuras 10 e 11).

O estresse salino, como muitos outros estresses abióticos, inibe o crescimento das plantas. O crescimento lento é uma característica adaptativa para a sobrevivência sob estresse porque permite as plantas contar com múltiplos recursos para combater o estresse. Na natureza, a tolerância ao estresse parece ser inversamente proporcional ao nível de crescimento. Uma causa da redução no crescimento sob estresse é a fotossíntese inadequada devido o fechamento dos estômatos, para evitar a perda excessiva de água, a qual é absorvida de maneira limitada pelas raízes devido à redução no potencial osmótico na solução do solo. Em virtude do fechamento estomático, a aquisição e fixação de CO₂ no processo fotossintético são reduzidas.

Além disso, o estresse pode inibir a expansão e divisão celular diretamente (LARCHER, 2000).

O crescimento e o desenvolvimento das bananeiras são significativamente reduzidas em muitas áreas onde vem sendo cultivadas devido à salinização dos solos. Os sintomas de estresse desenvolvem-se lentamente e os primeiros sinais iniciam-se pela redução e murchamento das folhas mais velhas e pelo aparecimento de pontos de necrose e amarelecimento, conforme pode ser visto nas Figuras 12 e 13.

Figura 12 - Plântulas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl, respectivamente, da esquerda pra direita, aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 13 - Plântulas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl, respectivamente, da esquerda pra direita, aos 60 dias após a montagem do experimento

O conteúdo de clorofila e de carotenóides totais nas folhas geralmente decrescem sob estresse salino. As folhas mais velhas começam a desenvolver clorose e caem com prolongados períodos de estresse salino (HERNANDEZ et al., 1995, 1999; GADALLAH, 1999; AGASTIAN; KINGSLEY; VIVEKANANDAN, 2000)

As diferenças nas respostas dos níveis de tolerância encontradas entre as duas variedades de bananeiras (Maçã e Nanica) podem ser atribuídas às próprias diferenças genéticas inerentes a cada genótipo, pois as condições ambientais às quais foram submetidas eram as mesmas.

Baseado nisso, a seleção para a tolerância ao sal comumente ocorre como resultado de uma adaptação temporária; as células são capazes de compartimentalizar o excesso de sais em vacúolos e sobreviver ajustando a pressão osmótica. Essa adaptação causa reduções na divisão e alongamento celular (BRESSAN et al., 1985).

4.2 Avaliação dos aspectos bioquímicos

Muitas plantas desenvolvem mecanismos ou para excluir o sal de suas células ou para tolerar sua presença no interior das mesmas. Durante o estresse salino todos os principais processos como fotossíntese, síntese protéica e metabolismos energético e lipídico são afetados (PARIDA; DAS, 2005).

A integridade das membranas celulares, a atividade de várias enzimas, a aquisição de nutrientes e funcionamento do aparato fotossintético são prejudicados pelos efeitos do estresse osmótico imposto pela adição de sal nas plantas. Uma causa importante dos danos deve-se a espécies oxigênio reativas geradas (ZHU, 2001).

As plantas podem utilizar-se de diversas estratégias bioquímicas para enfrentar o estresse salino, as quais incluem (I) acúmulo ou exclusão seletiva de íons, (II) controle na captação de íons pelas raízes e transporte até as folhas, (III) compartimentalização de íons a nível celular e da planta inteira, (IV) síntese de solutos compatíveis, (V) mudanças na via fotossintética, (VI) alteração da estrutura da membrana, (VII) indução de enzimas anti-oxidativas e (VIII) indução de fitohormônios (IYENGAR; REDDY, 1996).

Adaptações fisiológicas ou metabólicas ao estresse salino a nível celular são as principais respostas moleculares e tem levado à identificação de um grande número de genes induzidos pelo sal (INGRAM; BARTELS, 1996; BRAY, 1997; SHINOZAKI et al., 1998). A tolerância ao sal é uma característica multigênica e vários genes dentro de diferentes grupos funcionais são responsáveis por codificar proteínas relacionadas ao estresse salino: (I) genes para enzimas fotossintéticas, (II) genes para a síntese de solutos compatíveis, (III) genes para enzimas de sequestro no vacúolo e (IV) genes para enzimas eliminadoras de radicais.

Uma característica comum dos solutos compatíveis é que esses componentes podem ser acumulados em altos níveis sem perturbar a bioquímica intracelular (BOHNERT; JENSEN, 1996). Solutos compatíveis têm a capacidade de preservar a atividade das enzimas que estão em soluções salinas. Estes componentes têm um efeito mínimo no pH ou no balanço de cargas do citosol ou do lúmen dos compartimentos e organelas. A síntese de solutos compatíveis é também obtida pela quebra de metabólitos intermediários básicos em pequenas reações bioquímicas.

Os gráficos a seguir (Figuras 14 a 25) representam os níveis dos diversos componentes bioquímicos avaliados nas folhas e raízes das bananeiras das variedades Nanica e Maçã submetidas ao estresse salino do início (T0) até os 60 dias após a montagem do experimento.

Figura 14 – Quantidade de proteínas solúveis totais das folhas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 15 – Quantidade de proteínas solúveis totais das raízes de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 16 – Quantidade de proteínas solúveis totais das folhas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 17 – Quantidade de proteínas solúveis totais das raízes de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 18 – Quantidade de aminoácidos livres totais das folhas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 19 – Quantidade de aminoácidos livres totais das raízes de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 20 – Quantidade de aminoácidos livres totais das folhas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 21 – Quantidade de aminoácidos livres totais das raízes de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 22 – Quantidade de açúcares solúveis totais das folhas de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 23 – Quantidade de açúcares solúveis totais das raízes de bananeira da variedade Maçã no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 24 – Quantidade de açúcares solúveis totais das folhas de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

Figura 25 – Quantidade de açúcares solúveis totais das raízes de bananeira da variedade Nanica no controle e submetidas às doses de 25; 50 e 75 mM de NaCl desde o início e até aos 60 dias após a montagem do experimento

A análise dos gráficos mostra um acréscimo progressivo no conteúdo dos componentes bioquímicos avaliados à medida que o experimento era realizado (no tempo) e conforme o aumento da dose de NaCl a qual as plântulas de bananeira eram submetidas. Este acréscimo é observado tanto nas folhas quanto nas raízes para todos os componentes avaliados, sendo bastante discreto para o conteúdo de proteínas solúveis totais em ambas variedades.

Percebe-se, também, que o acréscimo no conteúdo dos componentes bioquímicos era sempre maior nas plântulas de bananeira da variedade Maçã que nas da variedade Nanica; o que dá respaldo aos resultados obtidos nas avaliações dos aspectos fisiológicos, demonstrando uma maior sensibilidade ao sal das plantas daquela variedade.

Um grande número de componentes contendo Nitrogênio é acumulado em plantas expostas ao estresse salino. O acúmulo mais freqüente desses componentes inclui aminoácidos, amidas, proteínas, componentes quaternários de amônia e poliaminas. O componente acumulado varia de espécie para espécie.

Segundo Mansour (2000), o acúmulo de componentes contendo nitrogênio geralmente é correlacionado com a tolerância da planta ao sal. Há diversos trabalhos reportando o acúmulo de aminoácidos livres e outros componentes nitrogenados em plantas submetidas ao estresse salino.

Resultados semelhantes no incremento do conteúdo de aminoácidos livres totais e no conteúdo de proteínas solúveis totais foram encontrados por Viégas, Melo e Silveira (1999) em plântulas de cajueiro submetidas à salinidade.

Carboidratos, que entre outros substratos são necessários para o crescimento da célula, são supridos principalmente através do processo de fotossíntese, e o nível fotossintético geralmente diminui em plantas expostas à salinidade, especialmente ao NaCl (PARIDA; DAS, 2005).

O estresse salino aumenta a quantidade de açúcares redutores (glicose, frutose), sacarose e frutanas em várias plantas (KEREPESI; GALIBA, 2000; KHATKAR; KUHAD, 2000; SINGH et al., 2000).

Khavarinejad e Mostofi (1998) verificaram que em folhas de tomate o conteúdo de açúcares solúveis e açúcares totais são significativamente aumentados, mas a quantidade de amido não é significativamente aumentada pelo tratamento com NaCl.

O discreto acúmulo das proteínas deve-se, possivelmente, à síntese de pequenos peptídeos, provenientes do acréscimo de aminoácidos, e das proteínas (enzimas) envolvidas na síntese de carboidratos; como por exemplo a Rubisco. Tais resultados são corroborados pelo aumento na quantidade de açúcares solúveis totais.

A respeito do acréscimo de aminoácidos livres totais, estes podem ser provenientes de proteólises, o que é comum em plantas submetidas a estresse, ou à síntese *de novo* de aminoácidos. Dentre os quais, a prolina tem sido a mais freqüentemente reportada e relacionada ao estresse salino (LEE; LIU, 1999; KHATKAR; KUHAD, 2000; MUTHUKUMARASAMY; GUPTA; PANNERSELVAM, 2000; SINGH et al., 2000; JAIN et al., 2001).

Diante de tais evidências, supõe-se que um dos possíveis mecanismos utilizados pelas plântulas de bananeira das variedades Maçã e Nanica para enfrentar o desequilíbrio osmótico imposto pelo estresse salino é a síntese de compostos citoplasmáticos osmoticamente compatíveis (os solutos compatíveis), tais como açúcares e aminoácidos, na tentativa de reduzir o potencial osmótico na própria plântula e possibilitar a absorção de água; além de preservar a atividade enzimática.

5 CONCLUSÕES

Os resultados das avaliações das plântulas de bananeira submetidas aos diferentes níveis de estresse salino (0; 25; 50 e 75 mM de NaCl) mostraram que para a realização do estudo de seleção de cultivares mais resistentes à salinidade em cultivo hidropônico as doses indicadas são 25 e 50 mM de NaCl para a variedade Maçã e 25; 50 e 75 mM de NaCl para a variedade Nanica; pois esses tratamentos salinos foram capazes de induzir os sintomas de toxidez nas plântulas e de causar apenas reduções nas taxas de sobrevivência.

Diante dos dados apresentados para os aspectos fisiológicos, verifica-se que o crescimento e desenvolvimento das plântulas de bananeira submetidas ao estresse salino já apresentavam reduções, tanto na parte aérea como a nível radicular, desde o 30º dia de exposição ao sal; e que quanto maior a dose de sal aplicada, maiores as reduções em todos os caracteres avaliados. E que os efeitos da toxidez do sal são bem maiores nas plântulas da variedade Maçã, pois o impacto sobre o crescimento mostrou-se sempre maior que nas plântulas de bananeira da variedade Nanica e ao final dos 60 dias nenhuma plântula de bananeira da variedade Maçã foi capaz de sobreviver na presença de 75 mM de NaCl.

Na avaliação dos aspectos bioquímicos, percebe-se que há um maior aumento na produção dos solutos osmoticamente compatíveis avaliados (proteínas solúveis totais, aminoácidos livres totais e açúcares solúveis totais) nas plântulas da variedade Maçã que nas da variedade Nanica, tanto a nível de parte aérea como radicular, demonstrando uma maior sensibilidade ao sal daquela variedade e corroborando os dados obtidos na avaliação dos aspectos fisiológicos.

Verifica-se, também, que o incremento desses osmólitos parece agir na proteção celular de forma a tentar realizar um ajustamento osmótico das plântulas de bananeira com a solução hidropônica salina; e de realizar uma proteção da atividade enzimática.

REFERÊNCIAS

- ABREU, H.J.M.; MASCRELL, J.; DUART, S.; SOCORRO, A.R. Na and Cl content in banana plants of the canarian Islands. **International Banana Nutrition Newsletter**, Nedlands, v. 15, n. 5, p. 13-14, 1982.
- AGASTIAN, P.; KINGSLEY, S.J.; VIVEKANANDAN, M. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. **Photosynthetica**, Prague, v. 38, p. 287–290, 2000.
- ASHIHARA, H.; ADACHI, K.; OTAWA, M.; YASUMOTO, E.; FUKUSHIMA, Y.; KATO, M.; SANO, H.; SASAMOTO, H.; BABA, S. Compatible solutes and inorganic ions in the mangrove plant *Avicennia marina* and their effects on the activities of enzymes. **Zeitschrift für Naturforschung. Journal of Biosciences**, Praha, v. 52, p. 433–440, 1997.
- BARROS, E.M.; PIZZOL, S.J.S. Comércio internacional de banana. **Preços Agrícolas**, Piracicaba, n. 173, p. 28-29, 2001.
- BETHKE, C.P.; DREW, C.M. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annum* during progressive exposure to NaCl salinity. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 99, p. 219-226, 1992.
- BOHNERT, H.J.; JENSEN, R. Strategies for engineering waterstress tolerance in plants. **Trends in Biotechnology**, London, v. 14, p. 89–97, 1996.
- BOHNERT, H.J.; NELSON, D.E.; JENSEN, R.G. Adaptations to environmental stresses. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, p. 1099–1111, 1995.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein dye-binding. **Annals of Botany**, Oxford, v. 72, p. 248-253, 1976.
- BRAY, E.A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, London, v. 2, p. 48–54, 1997.
- BRESSAN, R.A.; SINGH, N.K.; HANDA, A.K.; KONONOWICZ, A.K.; HASEGAWA, P.M. Stable and unstable tolerance to NaCl in cultured tobacco cells. In: **Plant genetics** (a proceeding of the 1985 UCLA symposia). New York: Ed. M. Freeling. Alan R. Liss, Inc., 1985. p. 755-769.
- BRITO, L.K.F.L.; MACÊDO, C.E.C.; MARTINS, C.P.; LOPES, D.B.; MOURA, G.E.D.D.; BARROSO, P.A.V.; ALLOUFA, M.A.I. Resposta de somaclones de abacaxizeiro ao cultivo *in vitro* na presença de NaCl. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 11, p. 279-283, 2007.

CARMO, G.A.; MEDEIROS, J.F.; TAVARES, J.C.; GHEYI, H.R.; SOUZA, A.M.; PALÁCIO, E.A.Q. Crescimento de bananeiras sob diferentes níveis de salinidade da água de irrigação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 513-518, 2003.

DANTAS, J.L.L.; SOARES FILHO, W.S. Classificação botânica, origem e evolução da bananeira. In: ALVES, E.J.; DANTAS, J.L.L. **Banana para exportação**: aspectos técnicos da produção. Brasília: Embrapa, SPI, 1995. p. 9-13. (Série Publicações Técnicas FRUPEX, 18).

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

FASSBEIDER, H.W.; BORNEMUZA, E. **Química de suelos de América Latina**. 2.ed. San José: IICA, 1987. 420 p.

FIORE, E.G. A banana como alternativa para o semi-árido brasileiro. **Preços Agrícolas**, Piracicaba, n. 134, p. 20-23, 1997.

FLOWER, T.J.; HAJIBAGUERI, M.A.; CLIPSON, N.C.W. Halophytes. **Quarterly Review of Biology**, Baltimore, v. 61, p. 313-337, 1986.

FORD, C.W. Accumulation of low molecular solutes in water stress tropical legumes. **Phytochemistry**, Oxford, v. 23, p. 1007-1015, 1984.

GADALLAH, M.A.A. Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* response to salt stress. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 42, p. 249-257, 1999.

GONDIM, A.R.O.; MEDEIROS, J.F.; CARMO, G.A. Coeficiente de cultura e salinidade do solo na fase reprodutiva da bananeira irrigada com diferentes níveis de salinidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 31., 2002, Salvador. **Anais ...** Salvador: SBEA, 2002. 1 CD-ROM.

GONDIM, A.R.O.; MEDEIROS, J.F.; CARMO, G.A.; PEREIRA, F.H.F.; GHEYI, H.R.; TAVARES, J.C. Produtividade de banana submetida a diferentes níveis de salinidade da água de irrigação: segundo ciclo. **Revista brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 1, p. 38-42, 2006.

GOUIA, H.; GHORBAL, M.H.; TOURAINE, B. Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO₃-reductase rate within whole plants of salt-sensitive bean and salt-tolerant cotton. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 105, p. 1409-1418, 1994.

HARE, P.D.; CRESS, W.A.; VAN STADEN, J. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, p. 413-434, 1999.

HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A.; ZHU, J.K.; BOHNERT, H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 51, p. 463-499, 2000.

HERNANDEZ, J.A.; CAMPILLO, A.; JIMENEZ, A.; ALACON, J.J.; SEVILLA, F. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. **NewPhytologist**, Blackwell, v. 141, p. 241-251, 1999.

HERNANDEZ, J.A.; OLMOS, E.; CORPAS, F.J.; SEVILLA, F.; DEL RIO, L.A. Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. **Plant Science**, Amsterdam, v. 105, p. 151-167, 1995.

HERRIDGE, D.F. Effects of nitrate and plant development on the abundance of nitrogenous solutes in root – bleeding and vacuum – extracted exudates of soybean. **Crop Science**, Madison, v. 25, p. 173-179, 1984.

HIEN, D.T.; JACOBS, M.; ANGENON, G.; HERMANS, C.; THU, T.T.; SON, L.V.; ROOSENS, N.H. Proline accumulation and Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene properties in three rice cultivars differing in salinity and drought tolerance. **Plant Science**, Amsterdam, v.165, p. 1059-1068, 2003.

INGRAM, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 377-403, 1996.

JAIN, M.; MATHUR, G.; KOUL, S.; SARIN, N.B. Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Plant Cell Reports**, New York, v. 20, p. 463-468, 2001.

KEREPESI, I.; GALIBA, G. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 482-487, 2000.

KHAN, M.A.; UNGAR, I.A.; SHOWALTER, A.M. Effects of salinity on growth, ion content, and osmotic relations in *Halopyrum mocoronatum* (L.) Stapf. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 22, p. 191-204, 1999.

_____. Effects of sodium chloride treatments on growth and ion accumulation of the halophyte *Haloxylon recurvum*. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 31, p. 2763-2774, 2000.

KHAN, M.A.; UNGAR, I.A.; SHOWALTER, A.M.; DEWALD, H.D. NaCl-induced accumulation of glycinebetaine in four subtropical halophytes from Pakistan. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 102, p. 487–492, 1998.

KHATKAR, D.; KUHAD, M.S. Short-term salinity induced changes in two wheat cultivars at different growth stages. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 43, p. 629–632, 2000.

KHAVARINEJAD, R.A.; MOSTOFI, Y. Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. **Photosynthetica**, Prague, v. 35, p. 151–154, 1998.

KUZNETSOV, V.V.; SHEVYAKOVA, N.I. Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity. Proline accumulation and phosphorylation of polypeptides. **Physiologia Plantarum**. Lund, v. 100, p. 320–326, 1997.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531 p.

LEA, P.J. Primary nitrogen metabolism. In: DEY, P.M.; HARBONE, J.B. (Ed.). **Plant Biochemistry**. New York: Academic Press, 1997. p. 178–197.

LEE, T.M.; LIU, C.H. Correlation of decreases calcium contents with proline accumulation in the marine green macroalga *Ulva fasciata* exposed to elevated NaCl contents in seawater. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, p. 1855–1862, 1999.

LUTTS, S. **Etude des mecanismes de resistance a la salinite chez lê riz (*Oryza sativa* L.)**: variation somaclonale e strategie d'amelioration par utilisation des cultures *in vitro*. 1996. 379p. These (Doctorat) - Universite Catholique de Louvain, Louvain, 1996.

LUTTS, S.; MAJERUS, V.; KINET, J.M. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 105, p. 450–458, 1999.

MACÊDO, C.E.C.; MOURA, G.E.D.; ALLOUFA, M.A.I.; BARROSO, P.A.V. Efeito do NaCl sobre o crescimento e multiplicação *in vitro* de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 194–197, 2005.

MANSOUR, M.M.F. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress: **Biologia Plantarum**, Praha, v. 43, p. 491–500, 2000.

MARTINEZ, H.E.P. **O uso de cultivo hidropônico de plantas em pesquisa**. 2.ed. Viçosa: UFV, 1999. 47 p.

MARTINS, C.P.; MACÊDO, C.E.C. Cultivo hidropônico de abacaxizeiros submetidos aos estresses salino e hídrico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 10., 2005, Recife. **Anais ...** 2005. CD-ROM

MARTINS, C.P.; NOBREGA, F.S.; LIMA, L.L.F.; SOUSA, M.B.; ALLOUFA, M.A.I.; MACEDO, C.E.C. Cultivo hidropônico de plântulas de abacaxizeiro em presença de NaCl. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro. **Anais ...** Porto Seguro, SBMP, 2003. 1 CD-ROM

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, p. 239–250, 2002.

MUTHUKUMARASAMY, M.; GUPTA, S.D.; PANNERSELVAM, R. Enhancement of peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase activities by triadimefon in NaCl stressed *Raphanus sativus* L. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 43, p. 317–320, 2000.

ORTHEN, B.; POPP, M.; SMIRNOFF, N. Hydroxyl radical scavenging properties of cyclitols. **Proceedings of the Royal Society of Edinburgh Section B**, Edinburgh, v. 102, p. 269–272, 1994.

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

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

PEOPLE, M.B.; FAIZAH, A.W.; RERKASEN, B.G.D.F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian Center for International Agricultural Research, 1989. 76 p.

PILON-SMITS, E.A.H.; EBSKAMP, M.J.M.; PAUL, M.J.; JEUKEN, M.J.W.; WEISBEEK, P.J.; SMEEKENS, S.C.M. Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 107, p. 125–130, 1995.

POPP, M.; LARTHER, F.; WEIGEL, P. Osmotic adaptation in Australian mangroves. **Plant Ecology**, Jena, v. 61, p. 247–254, 1985.

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

ROOSENS, N.H.C.J.; THU, T.T.; ISKANDER, H.M.; JACOBS, M. Isolation of the ornithine- δ -aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 117, p. 263–271, 1998.

SANEOKA, H.; SHIOTA, K.; KURBAN, H.; CHAUDHARY, M.I.; PREMACHANDRA, G.S.; FUJITA, K. Effect of salinity on growth and solute accumulation in two wheat lines

differing in salt tolerance. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 45, p. 873–880, 1999.

SEEMAN, J.D.; CRITCHLEY, C. Effects of salt stress on the growth, ion content, stomatal behavior and photosynthetic capacity of salt-sensitive species *Phaseolus vulgaris*. **Planta**, New York, v. 164, p. 151–162, 1985.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; MIZOGUCHI, T.; URARO, T.; KATAGIRI, T.; NAKASHIMA, K.; ABE, H.; ICHIMURA, K.; LIU, Q.A.; NANJYO, T.; UNO, Y.; LUCHI, S.; SRKI, M.; LTO, T.; HIRAYAMA, T.; MIKAMI, K. Molecular responses to water stress in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Plant Research**. Tokyo, v. 111, p. 345–351, 1998.

SILVA, M.C.A.; TARSITANO, M.A.A.; BOLIANI, A.C. Analises técnica e econômica da cultura da bananeira 'Maçã' (*Musa* spp.) na região Noroeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 139-142, 2005.

SINGH, S.K.; SHARMA, H.C.; GOSWAMI, A.M.; DATTA, S.P.; SINGH, S.P. In vitro growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 43, p. 283–286, 2000.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q.J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, p. 1057–1060, 1989.

STAFF, H. **Hidroponia**. Cuiabá: SEBRAE/MT, 1997. 86 p

SZABOLCS, I. Agronomical and ecological impact of irrigations on soil and water salinity. **Advances in Soil Science**, New York, v. 4, p. 189-218, 1986.

_____. Soils and salinisation. In: PESSARAKALI, M. (Ed.). **Handbook of plant and crop stress**. New York: Marcel Dekker, 1994. p. 3-11.

VIÉGAS, R.A.; MELO, A.R.B.; SILVEIRA, J.A.G.S. nitrate reductase activity and proline accumulation in cashew in response to NaCl salt shock. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 21-28, 1999.

WANG, Y.; NIL, N. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase–oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. **Journal of Horticulture Science and Biotechnology**, Ashford, v. 75, p. 623–627, 2000.

YANCEY, P.; CLARK, M.E.; HAD, S.C.; BOWLUS, R.D.; SOMERO, G.N. Living with water stress: evolution of osmolyte system. **Science**, Washington, v. 217, p. 1214–1222, 1982.

YEMM, E.W.; COCKING, E.F. The determination of amino acids with ninhidrin. **Analyst**, Cambridge, v. 80, p. 209-213, 1995.

YEO, A. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, p. 915-929, 1998.

ZHIFANG, G.; LOESCHER, W.H. Expression of a celery mannose 6- phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and a glucosyl-mannitol dimmer. **Plant Cell Environment**, Oxford, v. 26, p. 275–283, 2003.

ZHU, J-K. Plant salt tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v. 6, n. 2, p. 66-71, 2001.