

ROBERTA LANE DE OLIVEIRA SILVA

**AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DIPLÓIDES AA DE *Musa* spp. SUBMETIDOS
A ESTRESSE SALINO**

RECIFE

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

S586a Silva, Roberta Lane de Oliveira
Avaliação de genótipos diplóides AA de Musa spp. submetidos
a estresse salino / Roberta Lane de Oliveira Silva. -- 2008
104 f. : il.

Orientadora : Luiza Suely Semen Martins
Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas) -
Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de
Agronomia.

Inclui anexo e bibliografia.

CDD 631.53

1. Salinidade
 2. Fisiologia vegetal
 3. Marcadores moleculares
 4. RAPD
 5. ISSR
- I. Martins, Luiza Suely Semen
II. Título

ROBERTA LANE DE OLIVEIRA SILVA

**AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DIPLÓIDES AA DE *Musa* spp.
SUBMETIDOS A ESTRESSE SALINO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, na área de concentração em Melhoramento Genético de Plantas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para conclusão do Curso de Mestrado.

Comitê de orientação:

Dra. Luiza Suely Semen Martins
Dra. Luciane Vilela Resende
Dr. Edson Ferreira do Nascimento

**RECIFE – PE
2008**

ROBERTA LANE DE OLIVEIRA SILVA

**AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DIPLÓIDES AA DE *Musa* spp.
SUBMETIDOS A ESTRESSE SALINO**

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: __/__/____

ORIENTADORA:

Dra. Luiza Suely Semen Martins – UFRPE

EXAMINADORES:

Dra. Rosimar dos Santos Musser – UFRPE

Dr. Edson Ferreira do Nascimento – UFRPE

Dra. Vivian Loges – UFRPE

**RECIFE – PE
2008**

Não tenha medo por ser fraco, não sinta orgulho por ser forte, apenas olhe para dentro de seu coração, olhe para dentro de você mesmo. Seja você, não tenha vergonha de ser, não se esconda, não se importe com que outros pensam ou digam, apenas seja você.

Autor desconhecido

DEDICO

**Aos meus queridos pais, Roberto e Linete, por
todo carinho, apoio e incentivo.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela imensa proteção em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, Roberto e Linete, pela educação exemplar que me deram, pelo amor incondicional e por não medirem esforços para que eu concretizasse mais essa etapa na minha vida.

Às minhas irmãs, Rafaela e Renata, pelo carinho e amizade.

À minha amada vizinha Sofia, pelo cuidado, amor e pelas inúmeras orações.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado.

À minha orientadora, Dra. Luiza Suely Semen Martins, pela amizade, carinho, paciência, ensinamentos e disponibilidade durante a execução deste trabalho.

Aos meus co-orientadores, em especial a Dra. Luciane Vilela Resende, pela atenção, generosidade e sugestões prestadas.

Aos professores do Curso de Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas, pelos valiosos ensinamentos transmitidos.

Aos meus grandes amigos Vladimir e David, por fazerem parte da minha vida, por estarem sempre presentes, pelo amor e cumplicidade.

À querida amiga Carla Caroline, pelos momentos especiais, pela força, carinho e dedicação.

Às amigas de graduação, Flávia e Elâne, pelo carinho e amizade.

Aos meus amigos de Caruaru, pelo apoio e pelos momentos vividos.

Aos colegas do mestrado, em especial aos amigos, Wellington, Iradênia e Carla, pelos momentos de descontração e por tornarem mais leve essa batalha.

À minha companheira de curso e de bancada, Gabriela Guerra, pelos ensinamentos, carinho e apoio durante a realização desse trabalho.

À equipe de genoma do IPA, pela disponibilidade em ceder o laboratório para que pudéssemos desenvolver parte dessa pesquisa.

Aos colegas de laboratório, em especial a Renato Moraes, pela convivência e imensa ajuda nesse trabalho.

Ao Dr. Edson Perito, da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, pela gentileza e suporte de material na etapa final dessa pesquisa.

Ao apoio financeiro do Banco do Nordeste que permitiu a execução do projeto.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO

Lista de figuras	ix
Lista de tabelas	x
Resumo	xii
Abstract	ix
Introdução Geral	1
Capítulo I: Revisão de Literatura	
1. Revisão de Literatura	5
1.1 Aspectos da planta	6
1.1.1. Taxonomia e características botânicas	6
1.1.2. Origem, distribuição geográfica e evolução das bananeiras cultivadas	9
1.2. Importância econômica	11
1.3. Melhoramento genético da bananeira	15
1.4. Salinidade	18
1.4.1. Efeitos da salinidade	18
1.4.2. Mecanismos de tolerância à salinidade	20
1.5. Marcadores moleculares em plantas	21
1.5.1. Marcadores ISSR	23
1.5.2. Marcadores RAPD	25
Referências Bibliográficas	27

Capítulo II: Avaliação de diplóides de bananeira (<i>Musa spp.</i>) quanto à tolerância a salinidade	45
Resumo	46
Abstract	47
Introdução	48
Material e métodos	50
Resultados e discussão	51
Conclusões	54
Referências Bibliográficas	54
Capítulo III: Avaliação fisiológica e molecular de genótipos diplóides (AA) de bananeira (<i>Musa spp.</i>) submetidos a estresse salino	60
Resumo	61
Abstract	62
Introdução	63
Material e métodos	65
Resultados e discussão	69
Conclusões	75
Referências Bibliográficas	76
Conclusões gerais	91
Anexos	93

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I: Revisão de Literatura

- Figura 1. Produção anual, em toneladas, dos 10 maiores produtores mundiais de banana (Adaptado de FAO, 2008) 12
- Figura 2. Participação percentual das regiões brasileiras na produção de banana (Adaptado de AGRIANUAL, 2005) 13
- Figura 3. Principais cultivares de banana recomendadas no Brasil (Adaptado de <http://www.todafruta.com.br/todafruta>) 14

Capítulo III: Diversidade entre genótipos diplóides AA de *Musa* spp. submetidos a estresse salino com base em marcadores ISSR e RAPD

- Figura 1. Padrão eletroforético obtido pela amplificação do DNA em 9 genótipos diplóides de banana utilizando o primers UBC 855 e UBC 830 87
- Figura 2. Padrão eletroforético obtido pela amplificação do DNA em 9 genótipos diplóides de banana utilizando o primer OPA12 87
- Figura 3. Dendrograma da análise de agrupamento de nove genótipos diplóides de bananeira baseado em marcadores ISSR 88
- Figura 4. Dendrograma da análise de agrupamento de nove genótipos diplóides de bananeira baseado em marcadores RAPD 89
- Figura 5. Dendrograma consenso das análises de similaridade de nove genótipos diplóides de bananeira obtido pelos marcadores ISSR RAPD, através do programa NTSYSpc, usando o método UPGMA e o coeficiente de similaridade de Jaccard 90

LISTA DE TABELAS

Capítulo II: Avaliação de diplóides de bananeira (*Musa spp.*) quanto à tolerância a salinidade

Tabela 1. Genótipos diplóides de bananeira, oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical – CNPMF 58

Tabela 2. Número de folhas, altura, diâmetro do pseudocaule e área foliar de nove genótipos diplóides de bananeira submetidas a dois níveis de NaCl 58

Tabela 3. Peso de fitomassa fresca e seca em nove genótipos diplóides de bananeira submetidas a dois níveis de NaCl 59

Capítulo III: Diversidade entre genótipos diplóides AA de *Musa spp.* submetidos a estresse salino com base em marcadores ISSR e RAPD

Tabela 1. Genótipos diplóides de bananeira, oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical-CNPMF 81

Tabela 2. Valores médios de altura da planta (AP), número de folhas (NF), área foliar (AF) e diâmetro do pseudocaule (DP) de nove genótipos diplóides de bananeira, cultivados em casa de vegetação sob dois níveis de sal (0 mM e 100mM) 82

Tabela 3. Valores médios de fitomassa fresca e fitomassa seca de limbo e pseudocaule de nove genótipos diplóides de bananeira, cultivados em casa de vegetação sob dois níveis de sal	83
Tabela 4. Valores médios de fitomassa fresca raiz+rizoma (FFRR) e fitomassa seca raiz+rizoma (FSRR) de nove genótipos diplóides de bananeira, cultivados em casa de vegetação sob dois níveis de sal	84
Tabela 5. Primers de ISSR selecionados, seqüência, número de fragmentos, número de bandas polimórficas e percentual de polimorfismo	85
Tabela 6. Primers de RAPD selecionados, seqüência, número de fragmentos, número de bandas polimórficas e percentual de polimorfismo	86

RESUMO

A salinidade é um fator comum de estresse abiótico que afeta a produção agrícola mundial. Atualmente, cerca de 800 milhões de hectares no mundo são afetados pela salinidade. Uma das estratégias para promover a reincorporação de áreas salinizadas e o aumento da produtividade consiste no desenvolvimento e na seleção de genótipos tolerantes, o que permitirá a identificação de parentais a serem utilizados em cruzamentos. Os diplóides (AA) de bananeiras do Banco Ativo de Germoplasma do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura – CNPMF/Embrapa, que são fontes de genes de interesse para os programas de melhoramento, não estão caracterizados, ainda, quanto à sua tolerância à salinidade. Esta pesquisa teve como objetivo identificar dentre nove genótipos diplóides de bananeiras, aqueles tolerantes a salinidade e caracterizá-los geneticamente, através de marcadores ISSR e RAPD, visando à obtenção de cultivares adaptados a solos salinos da região nordeste brasileira. Na avaliação fisiológica, as variáveis de crescimento analisadas foram área foliar, altura da planta, diâmetro do pseudocaule, número de folhas, peso da matéria fresca e o peso da matéria seca. Na avaliação molecular foram testados 20 primers RAPD e 20 primers ISSR. O dendograma consenso das análises de similaridades genéticas obtidas a partir dos marcadores ISSR e RAPD agruparam em mesmo subgrupos os genótipos Monyet e Borneo, Buitenzorg e Tjau Lagada e também 0323-03 e 0116-01, os quais se repetiram nos dendogramas de ISSR e RAPD. O genótipo 0116-01 apresentou maior tolerância à salinidade e poderá ser utilizado em futuros programas de melhoramento. Considerando o conjunto das variáveis analisadas, o genótipo 0116-01 foi considerado o mais tolerantes dos

nove genótipos diplóides AA avaliados no primeiro trabalho. No segundo trabalho, o genótipo 0337-02 por apresentar menor redução nas variáveis área foliar, número de folhas e fitomassa fresca e seca do limbo, foi considerado tolerante ao estresse salino, enquanto o genótipo Borneo foi o mais sensível na presença do sal.

Palavras-chave: Salinidade, banana, melhoramento genético, parâmetros de crescimento, marcadores moleculares.

ABSTRACT

The salinity is a common factor of abiotic stress that seriously affects the agricultural production. Currently, over 800 million hectares worldwide are affected by salinity. One of the strategies to promote reincorporation of salinity areas and the productivity increase consists in development and selection of tolerant genotypes, which allows parental identification for crossings. The diploid (AA) of bananas Germplasm Bank's Active of the National Center for Research of Cassava and Fruticulture (CNPMP/Embrapa), sources of interest genes to improvement programmes, still are not characterized for their salinity tolerance. This research aimed to identify the salinity tolerance among nine banana diploid genotypes and characterize them genetically through ISSR and RAPD markers, to obtain cultivars adapted to saline soils. In physiological assessing, the growth variables analyzed were leaf area, plant height, diameter of pseudostem, leaves number, weight of fresh and dry matter. Twenty RAPD primers and twenty ISSR primers were used in molecular evaluation. The consensus dendrogram of similarity genetic analyses grouped the genotypes Monyet with Borneo, Buitenzorg with Tjau Lagada and 0323-03 with 0116-01, in ISSR and RAPD dendrogramas. The 0116-01 genotype showed greater salinity tolerance and could be used in future improvement programs. The 0337-02 genotype, presenting minor reduction in leaf area, number of leaves and fresh/dry biomass of limbo variables, was considered the most tolerant to salinity stress, while the Borneo genotype was the most sensitive on salt presence.

Keywords: Salinity, banana, genetic improvement, growth parameters, molecular markers.

INTRODUÇÃO GERAL

A bananeira é uma planta herbácea perene, possuindo rizoma - tronco curto e subterrâneo, no qual se insere as raízes, pseudocaule - união das bainhas foliares, terminando numa copa de folhas longas, largas e com nervura central desenvolvida. A inflorescência é do tipo espiga simples, terminal, protegida por uma bráctea com coloração roxo-avermelhada, em cujas axilas nascem as flores femininas e masculinas, que reunidas formam uma penca, com um número variado de frutos (DANTAS et al., 1999). É propagada vegetativamente por meio de mudas ou brotos, embora as espécies selvagens sejam propagadas por sementes (SIMMONDS, 1973; SILVA, 2000).

De acordo com Simmonds e Shepherd (1955), a evolução da maioria das cultivares de banana ocorreu no Continente Asiático, a partir da hibridação intra ou interespecífica de duas espécies selvagens diplóides (*Musa acuminata* e *Musa balbisiana*).

A cultura da bananeira é explorada na grande maioria dos países tropicais, sendo a banana uma das frutas mais consumidas no mundo. A nível mundial ocupa o quarto lugar em termos de importância alimentar, após o arroz, trigo e leite (CROUCH et al., 1999). A banana é rica em carboidratos (24%), fibras (6-7%), como também em elementos minerais, como potássio, magnésio, cálcio, fósforo, sódio, ferro e vitaminas A, B e C (SHARROCK e LUSTY, 2001).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de banana, com produção estimada na ordem de 6,5 milhões de toneladas de frutas e área colhida de 485 mil ha (FAO, 2008). A bananicultura é praticada em todas as regiões fisiográficas do país e possui elevada importância social e econômica. Na região Nordeste do Brasil é uma das principais espécies de explorações agrícolas entre as fruteiras, assumindo importância fundamental por seu valor na alimentação, na fixação de mão-de-obra no meio rural e por gerar divisas para o país. No entanto, grande parte dos solos desta região, mais precisamente nas áreas irrigadas das zonas semi-áridas, encontram-se salinizados, devido ao manejo inadequado do solo e da água (SANTOS e GHEYI, 1993; GOMES et al., 2004).

Segundo informações da FAO (2008), em nível global, o problema da salinidade já ocorre em 397 milhões de hectares. Desses estima-se que 250 milhões de hectares são irrigados e, aproximadamente, 50% já apresentam problemas de salinização e que dez milhões de hectares são abandonados anualmente, em

virtude desse problema. No Brasil, principalmente na região Nordeste, cerca de 30% das áreas de projetos públicos de irrigação estão com problemas de salinidade.

No perímetro irrigado de São Gonçalo-PB, cerca de 40% da área irrigada está afetada por sais. Já o Município de Custódia/PE apresenta 70% do perímetro irrigado salinizado. Na região do pólo Petrolina-PE/Juazeiro-BA, que hoje conta com seis perímetros de irrigação, em área de 38.917 ha, tem-se observado que, aproximadamente, 20% dessa área apresenta reduções na produção agrícola e diminuição da área total irrigada, devido à salinização do solo (CRUZ, 2003; GOMES et al. 2002; 2004). Como a bananeira é uma espécie exigente em K^+ , Ca^{2+} e N, supõe-se que uma nutrição mineral adequada, possa também minimizar o efeito da salinidade nas plantas (AYERS e WESTCOT, 1999; PAZ et al., 2000). Além disso, a avaliação de genótipos diplóides de bananeiras quanto à tolerância à salinidade permitirá a identificação de parentais a serem utilizados em cruzamentos. Esta iniciativa possibilitará o desenvolvimento de materiais tolerantes às condições de solos salinos nas regiões semi-áridas brasileiras.

O melhoramento genético da bananeira em todo o mundo enfoca, sobretudo, os aspectos de resistência a pragas e doenças (CROUCH et al., 1998). A questão da tolerância a solos salinos não tem sido amplamente estudada e, assim, regiões que enfrentam o problema cultivam, indiscriminadamente, genótipos de bananeira sem o conhecimento de sua tolerância. Desta forma, a produtividade e a qualidade do produto ficam aquém do potencial da cultura e limitam o desenvolvimento regional, além de haver redução na produção por abandono das áreas salinizadas.

Uma das estratégias para promover a reincorporação de áreas salinizadas e o aumento da produtividade consiste no desenvolvimento e na seleção de genótipos tolerantes (SHANNON, 1997; GOMES et al., 2001). Esta iniciativa possibilitará o desenvolvimento de materiais tolerantes às condições de solos salinos nas regiões semi-áridas brasileiras.

A caracterização por meio de marcadores moleculares tem sido de grande importância na proteção de cultivares. Marcadores moleculares vêm substituindo ou complementando a caracterização morfológica e agrônômica tradicional porque são virtualmente ilimitados, não são influenciados pelo ambiente e podem cobrir todo o genoma (GOULÃO e OLIVEIRA, 2001).

O desenvolvimento e aplicação de tecnologias baseadas em marcadores moleculares fornecem ferramentas únicas, capazes de revelar polimorfismos ao nível de seqüências de DNA, suficientes para discriminar a variação genética existente entre indivíduos e dentro de populações (KRESOVICH et al., 1995). Dentre os marcadores existentes, os ISSR e RAPD utilizam pequenas quantidades de DNA sem envolvimento de métodos radioativos ou fluorescentes, são de fácil execução e baixo custo (LAKSHAMANAN et al. 2007).

Marcadores ISSR e RAPD têm sido aplicados com sucesso na detecção de variabilidade genética (GOULÃO e OLIVEIRA, 2001; GOMES et al., 2005; BORÉM e CAIXETA, 2006) e de similaridades ou dissimilaridades genéticas em materiais micropropagados em várias espécies vegetais (MARTINS et al., 2004; RAMAGE et al., 2004; MARTIN et al., 2006).

Esta pesquisa teve como objetivo identificar genótipos diplóides de bananeira quanto à tolerância a salinidade e caracterizá-los, quanto a diversidade genética, através de marcadores ISSR e RAPD.

**CAPÍTULO I:
REVISÃO DE LITERATURA**

1. Aspectos da planta

1.1. Taxonomia e características botânicas

A bananeira (*Musa* spp.) é uma fruteira pertencente à classe Monocotiledônea, ordem Scitaminales, família Musaceae, a qual é composta pelas subfamílias Heliconioideae, Strelitzioideae e Musoideae. Dentre as subfamílias citadas, a Musoideae possui o gênero *Musa*, constituído por quatro secções: Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys e (Eu-) *Musa*. Esta última engloba as espécies denominadas de *Musa acuminata* Colla (genoma A) e *Musa balbisiana* Colla (genoma B), genitores da grande maioria das bananas comestíveis (SIMMONDS e SHEPERD, 1955; SIMMONDS, 1973).

As bananeiras produtoras de frutos comestíveis foram classificadas, pela primeira vez, por Linneu, que as agrupou no gênero *Musa* com as espécies: *Musa cavendishi*, *Musa sapientum*, *Musa paradisiaca* e *Musa corniculata* (SIMMONDS e SHEPHERD, 1973). Essa classificação foi abandonada porque, dado seu empirismo, não seria possível incluir todos os cultivares hoje conhecidos, sem provocar grandes conflitos dentro da mesma espécie. A classificação mais aceita para o gênero *Musa* baseia-se no número básico de cromossomos. Foi proposto por Cheesman (1948) e divide o gênero em dois grupos: espécies com $n = 10$ cromossomos, pertencentes às seções Australimusa e Callimusa; e as espécies com $n = 11$ cromossomos, pertencentes às seções Rhodochlamys e (Eu-) *Musa*. Segundo Shepherd et al. (1986), tais espécies são: a) Rhodochlamys: *Musa laterita* Cheesman, *M. ornata* Roxburgh, *M. rubra*, *M. sanguinea* e *M. velutina* Wendl e Drude; b) (Eu-)Musa: *M. acuminata* Colla, *M. balbisiana* Colla, *M. flaviflora* Simmonds, *M. halabanensis* Meijer, *M. ochracea* Shepherd e *M. schizocarpa* Simmonds

A bananeira compreende plantas de porte elevado, herbáceas perenes. É uma planta caracterizada pela exuberância de suas formas e dimensões das folhas. Possui tronco curto e subterrâneo, denominado de rizoma, que constitui um órgão de reserva onde se inserem as raízes adventícias e fibrosas. O pseudocaule é resultante da união das bainhas foliares e termina com uma copa de folhas longas e largas, com nervura central desenvolvida. Sua inflorescência é de coloração

normalmente roxo-avermelhada, em cujas axilas nascem as flores. Cada grupo de flores reunidas forma a penca, com um número variado de frutos. Esses frutos inicialmente são verdes e tornam-se amarelos com a maturação (DANTAS et al., 1999).

De acordo com Moreira (1999), a inflorescência da bananeira é uma espiga simples, terminal, que emerge do centro das bainhas foliares, protegida por uma grande bráctea, onde as flores são completas na estrutura, porém com funções unissexuais. Tanto as flores masculinas como as femininas apresentam ovário ínfero trilocular e cinco estames. As flores pistiladas, (femininas) têm o ovário bem desenvolvido em cujo ápice são implantadas seis tépalas (cinco soldadas e uma livre) circundando o estilo espesso e os estames (estaminóides) carnosos e não funcionais.

As flores estaminadas (masculinas) têm o ovário atrofiado, mas o estilo e o estigma se apresentam apenas com as dimensões um pouco reduzidas, sendo o ovário cerca de 30 a 50% menor e, geralmente, abortam ou se desenvolvem formando rudimentares frutinhas (DANTAS et al., 1999). Os estames possuem anteras bem desenvolvidas e os sacos polínicos dispostos ao longo do filamento, em duas linhas paralelas. Os grãos de pólen são geralmente de cor branco-amarelada (MOREIRA, 1999), normalmente inviáveis em grande parte dos cultivares, ao contrário do que ocorre com as espécies selvagens (SILVA et al., 2002).

Nas ráquis, as primeiras pencas são constituídas de flores femininas, que originam os frutos, sendo que no restante do eixo da inflorescência aparecem grupos de flores masculinas. Na região de transição entre flores femininas e masculinas podem surgir pencas com os dois tipos de flores e ainda as hermafroditas, que originam frutos comestíveis porém de aspecto atrofiado e paladar inferior (MOREIRA, 1999). Os frutos partenocárpicos são bagas alongadas e triloculares, com o pericarpo correspondendo à casca e o mesocarpo formando a polpa comestível (DANTAS et al., 1999).

Segundo Alves (1999), a bananeira, como todas as plantas, tem um ciclo de vida definido onde há a formação de uma planta que irá produzir um cacho, cujas frutas se desenvolvem, amadurecem e caem, verificando-se em seguida o secamento de todas as suas folhas. Como esse processo é contínuo e extremamente dinâmico, uma bananeira adulta apresenta sempre ao seu redor, em

condições naturais, outras bananeiras em diversos estádios de desenvolvimento. Esse conjunto de bananeiras interligadas, com diferentes idades, oriundas de uma única planta e crescendo desordenadamente, denomina-se touceira.

A propagação da bananeira comestível pode ser feita por via vegetativa, a partir de rizoma, quer brotado ou sem brotação, podendo, porém, esse processo causar desuniformidade das mudas, lentidão e possibilidade de disseminação de pragas e doenças. Entretanto, o seu plantio também pode ser feito por meio de sementes, processo este usado mais freqüentemente quando se pretende fazer a criação de novas variedades ou híbridos. O outro método de propagação é através da biotecnologia vegetal, pela cultura *in vitro*, apresentando vantagens como limpeza do material, facilidade no intercâmbio de germoplasma e maior rendimento na multiplicação (SOUZA e TORRES FILHO, 1999).

A polinização da bananeira é cruzada, pois a maturação dos órgãos, masculinos e femininos, ocorre em épocas diferentes (dicogamia) e geralmente é feita por insetos. A polinização só é realizada objetivando o melhoramento genético, já que os frutos da bananeira originam-se por partenocarpia (JESUS, 2006).

Segundo Dantas et al. (1999), a partenocarpia, comum nas variedades comestíveis, está presente também em diplóides, sendo portanto independente da ploidia e da esterilidade gamética, uma vez que plantas partenocárpicas não são completamente estéreis. Ainda de acordo com os mesmos autores, a herança desta característica é regida por um mínimo de três genes dominantes. As anomalias como assinapse, aborto de sacos embrionários e translocação, que têm sido observada na meiose, são algumas das causas da esterilidade gamética em *Musa*. Silva et al. (2002) constataram que em alguns casos a esterilidade não era de origem genética direta, mas uma consequência de condições particulares, talvez de natureza hormonal, como deficiência do crescimento do tubo polínico nos estigmas e estiletos, ou mesmo defeito de fusão dos núcleos. Soto Ballesteros (1992) afirma que, no caso dos triplóides, a esterilidade parcial ou completa se deve também a problemas no pareamento, irregularidades ou retardamento do crescimento de tubos polínicos.

De um modo geral, as bananeiras de frutos comestíveis, não produzem grãos de pólen férteis e os ovários das flores femininas dificilmente podem ser fecundados, devido a um atrofiamento do estigma que impede a passagem do pólen. Entretanto,

constatam-se casos de não acontecer o atrofiamento e a fecundação poderá se processar normalmente, surgindo com isso sementes férteis. Uma vez que as bananas se formam naturalmente por partenocarpia, a polinização é realizada apenas nos trabalhos de pesquisa (MOREIRA, 1999).

1.1.2. Origem, distribuição geográfica e evolução das bananeiras cultivadas

A bananeira é originada do continente Asiático, possuindo centros de diversidade na África Ocidental e centros secundários na África Oriental e nas ilhas do Pacífico. Constitui-se como uma planta tipicamente tropical, possui ampla adaptação em quase todos os países tropicais, sendo necessárias condições de calor e elevada umidade para o seu desenvolvimento (DANTAS et al.,1999). Segundo Moreira (1999), a palavra banana é originária das línguas serra-leonesa e liberiana (costa ocidental da África), a qual foi incorporada pelos portugueses à sua língua.

No que se refere a introdução da banana no Brasil, é certo afirmar que elas existem desde antes do seu descobrimento por Pedro Álvares Cabral. Existem informações de que os povos indígenas já conheciam e plantavam a banana, pois comiam "in natura" uma variedade muito digestiva que se supõe tratar-se da cultivar 'Branca' e outra, rica em amido, que precisava ser cozida antes do consumo, chamada de 'Pacoba'. A palavra pacoba, em guarani, significa banana. Com o decorrer do tempo, verificou-se que a 'Branca' predominava na região litorânea e a 'Pacoba', na Amazônica (MOREIRA, 1999). A cultura da bananeira é praticada no Brasil desde a faixa litorânea até os planaltos interioranos sendo uma das principais fontes de renda para os pequenos produtores. A bananicultura pode ser implantada no Brasil em quase toda a região Norte e Nordeste, enquanto as regiões Sudeste, Centro-Oeste e Sul apresentam restrições quanto à temperatura, abrangendo zonas que variam de pouco recomendadas a inaptas (BRUNINI, 1984; MOREIRA e CORDEIRO, 2006).

Duas importantes alterações determinam a domesticação da bananeira. A ocorrência de partenocarpia por mutação em *Musa acuminata*, seguida da

esterilidade feminina, o que resultou no desenvolvimento dos frutos sem a ocorrência de polinização (KAEMMER et al., 1992).

Por meio da seleção praticada pelo homem, vários clones passaram a ser cultivados nas áreas úmidas do sudeste Asiático, particularmente na Malásia. Dessa forma, as cultivares diplóides primitivas foram completamente derivadas de *Musa acuminata* e denominadas diplóides AA. Cultivares triplóides de *Musa acuminata* (AAA; $3x = 33$) passaram a ocorrer como resultado de hibridações, nas quais diplóides partenocárpicos, parcialmente estéreis, cruzaram-se com formas macho férteis. Por apresentarem frutos maiores e serem mais produtivos, os clones triplóides foram preferidos em relação aos diplóides, substituindo-se em muitos locais (SHARROCK, 1998).

Nas áreas secas da Ásia, onde predominam espécies selvagens de *Musa balbisiana*, ocorreu o desenvolvimento evolucionário paralelo, conduzindo ao aparecimento de cultivares diplóides e triplóides, puramente *balbisiana*, reconhecidos primeiramente nas Filipinas (VALMOYOR et al., 1991). A sobreposição da distribuição natural de *Musa acuminata* nesta região, associada a existência de autocompatibilidade entre estas duas espécies, levou ao aparecimento das bananeiras de constituição genômica AB, AAB e ABB. Os tetraplóides dos grupos AAAA, AAAB, AABB, AB BB evoluíram de forma similar (D'HONT et al., 2000). Durante algum tempo, não foram reconhecidas cultivares dos grupos BB, BBB e BBBB, que pareciam não existir devido à ausência de partenocarpia na espécie *M. balbisiana*. Entretanto, Shepherd et al. (1986), observaram uma cultivar BB na Tailândia (Lep Chang Kut), que poderia ser um híbrido do cruzamento Teparod x BB. Em plantios extensivos pode-se observar, com relativa freqüência, ocorrência de mutações em muitas cultivares, possibilitando a ampliação do número de variedades. Quando essas mutações produzem efeitos importantes no uso e na comercialização, utiliza-se o termo subgrupo proposto por Simmonds (1973) que abrange cultivares originárias por mutação de uma única forma ancestral, como as do subgrupo Cavendish (grupo AAA) e o subgrupo Plantain, Plátano ou Terra (grupo AAB).

Os plátanos (grupo de cultivares de constituição genômica AAB, impalatáveis quando cruas) são predominantes nas áreas de planícies ao oeste e ao centro da África, enquanto que bananas do grupo genômico AAA prevalecem em áreas

montanhosas no leste africano (VUYSTEKE, 2001). A introdução da banana nos demais continentes ocorreu com a expansão do comércio, atingindo toda a costa asiática banhada pelo oceano Índico, e posteriormente, difundindo-se pela costa africana, atingindo as Américas com as conquistas européias (DE LANGHE, 1995).

Em 1986, Shepherd et al., pesquisando o gênero *Musa* no Brasil e no exterior, elaboraram uma lista, com mais de 100 descritores, quase todos relativos a aspectos morfológicos, quantitativos e qualitativos, que podem ressaltar diferenças entre cultivares. Na identificação de cultivares dentro dos grupos são conhecidas apenas as chaves publicadas por Simmonds (1973), que se referem, separadamente, às principais cultivares dos três grupos triplóides. Entretanto, ainda não foi publicada uma lista completa de descritores para a caracterização das cultivares; pois a lista de Simmonds (1984) é incompleta e as outras listas já publicadas, do mesmo modo, omitem alguns descritores úteis. Há bastante tempo se reconhece a necessidade da elaboração de uma lista internacional, bem abrangente de descritores, para facilitar a identificação de sinônimos em diferentes países e permitir uma descrição mais acurada da variabilidade existente no mundo.

1.2. Importância Econômica

A bananicultura é uma atividade presente atualmente em mais de 100 países tropicais e subtropicais, apresentando produção mundial de aproximadamente 70 milhões de toneladas de fruta fresca (Figura 1), em área colhida de 4 milhões de hectares (FAO, 2008). Estima-se que as exportações mundiais de banana superem US\$5 bilhões por ano, sendo considerada a fruta principal do comércio internacional, o que a torna importante fonte de renda para muitos países (FAO, 2008). Entre as frutas tropicais, a banana é a que apresenta o mais alto índice de consumo per capita. Na Europa, o consumo é de 9,0 kg por habitante ano (SOUZA e TORRES FILHO, 1999; ROSA JÚNIOR, 2000). O mercado europeu tem se mostrado grande apreciador desta fruta e isso tem feito com que cada vez mais aumente a exportação de banana para esses países (FIORAVANÇO, 2003).

No Brasil, a cultura da banana ocupa o segundo lugar em volume de frutas produzidas e consumidas e a terceira posição em área colhida. Com relação à área plantada, apresenta cerca de 520 mil hectares com um rendimento de 10,55 t/ha, o

que posiciona o país como o segundo maior produtor mundial desse fruto, com aproximadamente 6,5 milhões de toneladas, sendo superado apenas pela Índia (FAO, 2008; IEA, 2008).

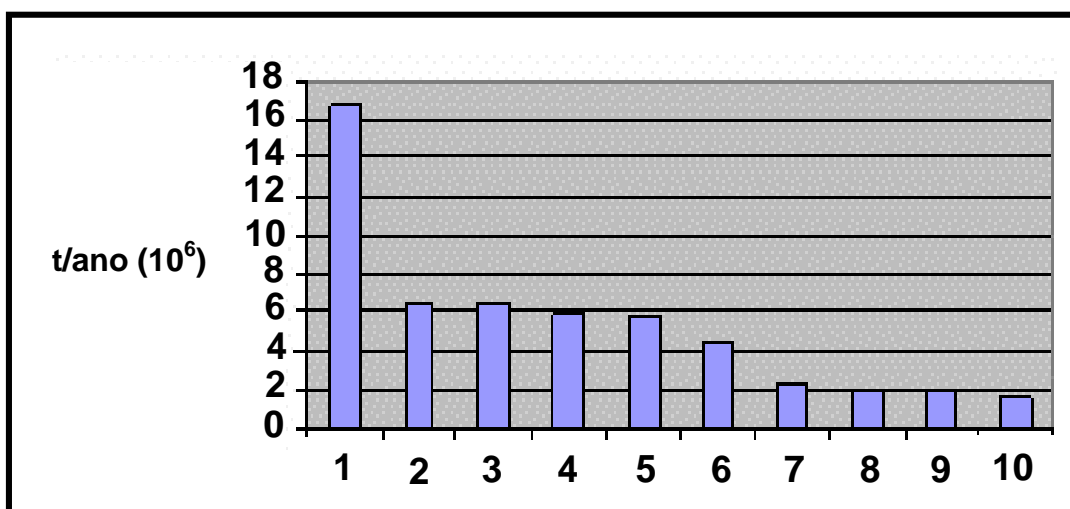


Figura 1. Produção anual, em toneladas, dos 10 maiores produtores mundiais de banana: Índia(1); Brasil(2); China(3); Equador(4); Filipinas(5); Indonésia(6); Costa Rica(7); México(8); Tailândia(9); Colômbia(10) (Adaptado de FAO, 2008)

Praticamente toda a produção brasileira de banana é destinada para o mercado interno e é distribuída por todo território nacional, sendo a Região Nordeste a principal região produtora de banana do Brasil (Figura 2), representando 36,12% da produção nacional, seguidas das Regiões Sudeste (27,4%), Norte (26,2%), Sul (10,1%) e Centro-Oeste (5,2%) (AGRIANUAL, 2005). Sua importância está no volume exportado no Brasil, que em 2005 foi na ordem de 212 mil toneladas, representando cerca de 33 milhões de dólares (BRASIL, 2006).

Os Estados de maior produção são Pará, que ocupa a primeira posição no cenário nacional, seguido por Bahia, São Paulo, Minas Gerais e Pernambuco. Do total de frutos produzidos no país, apenas 1,0% é exportado, sendo o restante da produção comercializada no mercado interno, já que a banana é um importante

complemento da dieta alimentar, especialmente da população de baixa renda (IBGE, 2008).

Ainda segundo dados do IBGE (2008) e IEA (2008), na Região Nordeste, a Bahia participa com 46.438 ha de área plantada e o Estado de Pernambuco com 38.000 ha. De acordo com Silva et al. (2001) e Creste (2002), no Brasil predominam cultivares locais ou 'landraces' de constituição genômica AAB como "Prata", "Pacovan" e "Maçã", que juntas correspondem a 75% da área plantada, seguindo-se as cultivares do subgrupo 'Cavendish' (AAA), como "Nanica" e "Nanicão".

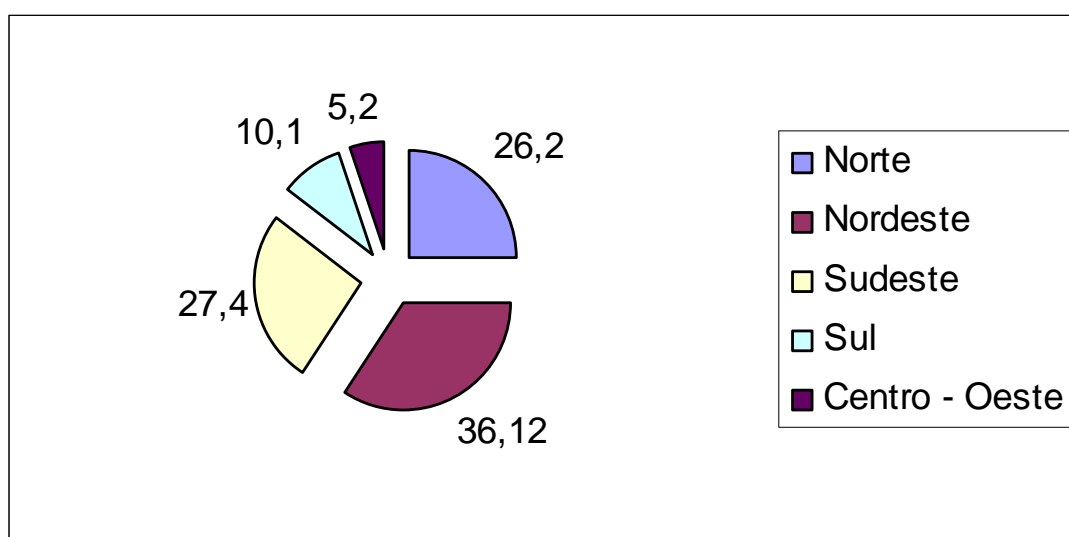


Figura 2. Participação percentual das regiões brasileiras na produção de banana (Adaptado de AGRIANUAL, 2005)

No sul da Bahia se encontra um pólo forte de produção da cultivar "Prata anã". Já no do Estado do Rio Grande do Norte a produção está voltada para a cultivar "Nanica" que é destinada a exportação, principalmente para o mercado europeu. A produção de banana visando o mercado de exportação está concentrada em cultivares do subgrupo 'Cavendish' de constituição genômica AAA, AAB, e ABB, que também são cultivadas para o consumo local em diversas regiões do mundo. As principais cultivares recomendadas no Brasil (Figura 3) são: Nanicão (AAA), Nanica (AAA), Maçã (AAB), Prata (AAB), Branca (AAB), Enxerto (AAB), Mysore (AAB), Pacovan (AAB), Figo (ABB), Terra (AAB), Farta velhaco (AAB) e a diplóide Ouro (AA) (PEREIRA e GASPAROTTO, 2005).

Na região que envolve o Pólo Petrolina-Juazeiro, a cultura da banana é explorada numa área de 4.179 ha, contribuindo para uma produção de 10.522.000 cachos por ano (IBGE, 2008). As altas temperaturas e a quantidade ideal de água, advinda da CODEVASF, garantem boas condições para produção de banana. A cultivar mais produzida na região nordeste é a “Pacovan”, sendo esta diferente das cultivares “Prata” e “Nanica” nas demais regiões do Brasil. As grandes distâncias dos principais centros consumidores, como Sudeste e Sul, prejudicam a comercialização da banana nordestina nestes mercados (CODEVASF, 2007).

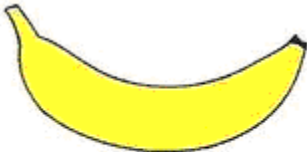



 Sub-grupo Cavendish Grupo genômico AAA: Nanica, Nanicão, Grand Naine	 Sub-grupo Ouro Grupo genômico AA: Ouro
 Sub-grupo Maçã Grupo genômico AAB: Maçã, Mysore, Thap Maeo	 Sub-grupo Prata Grupo genômico AAB: Prata, Prata Anã (Enxerto), Pacovan e Branca

Figura 3. Principais cultivares de banana recomendadas no Brasil
(Adaptado de <http://www.todafruta.com.br/todafruta>)

Apesar da região semi-árida do pólo Petrolina-Juazeiro apresentar excelentes condições de clima e solo para a produção de banana de alto padrão de qualidade, ainda é preciso superar, em grande parte, a baixa eficiência na produção. São vários os problemas que afetam a bananicultura da região, principalmente no que se refere

à salinização dos solos que ocorre devido à qualidade da água de irrigação (BARROS e BOTEON, 2002; CODEVASF, 2007).

Os perímetros irrigados são as áreas nobres da agricultura e representam pólos dinâmicos de crescimento que favorecem a transformação da economia local. O Pólo Petrolina-Juazeiro envolve vários projetos de irrigação, tais como Bebedouro, Nilo Coelho, Maria Tereza, Mandacaru, Salitre, Tourão, Curaçá e Pontal, que mantêm uma produção de frutas colocando este pólo como destaque no cenário nacional (BARROS e BOTEON, 2002; CODEVASF, 2007).

Segundo Vitti (2007), apesar do Brasil ser o segundo maior produtor de banana do mundo, a sua participação no mercado internacional em receita é pequena (1,4%), deixando para o Equador, a Costa Rica e a Colômbia a maior fatia do mercado, que juntos representam cerca de 80% das exportações mundiais. A colocação do Equador em primeiro lugar nas exportações em receita é devido à presença no país de multinacionais especializadas na produção/comércio da fruta, como a Del Monte, a Dole e a Chiquita, que juntas detêm mais de 90% de toda a exportação mundial. Ainda de acordo com Vitti (2007), apesar de ter apenas uma pequena fatia do mercado internacional, o Brasil merece destaque também nesse setor, pois a receita nacional com exportação de banana aumentou 205% nos últimos 10 anos (1993/95 e 2003/05), número bem acima da média de crescimento mundial, que foi de 35%. Isto se deve ao fato do Brasil ter passado a exportar para a Europa a partir da instalação de uma multinacional no Nordeste do País, especializada na produção de banana de alta qualidade, atendendo às exigências do mercado europeu.

Investir em tecnologia de produção, visando elevar o nível especialmente de pequenas propriedades e melhorar a qualidade da fruta, são condições indispensáveis para melhorar ainda mais a posição brasileira no ranking das exportações de banana (FIORAVANÇO, 2003; VITTI, 2007).

1.3. Melhoramento genético da bananeira

Segundo Alves (1999), a bananeira é uma das poucas culturas importantes que depende de cultivares que são produto da evolução natural. Toda a banana do

comércio internacional é originária de clones Cavendish bastante semelhante entre si em características agrônômicas e comerciais, provavelmente originários de um único clone por mutação somática que afetou o porte da planta.

Em todo o mundo, a cultura da bananeira tem enfrentado uma série de problemas causados principalmente pela infestação de patógenos e pragas, os quais são responsáveis por grandes perdas na produção. Dentre estes, os fungos correspondem aos agentes infecciosos de maior importância, pois determinam o aparecimento da murcha de *Fusarium* ou mal-do-Panamá, como também manchas foliares, representadas principalmente pela Sigatoka amarela e Sigatoka negra, esta última também introduzida na região norte do Brasil (SILVA et al., 1999a ; 1999b).

O melhoramento genético da bananeira foi iniciado em 1922, em Trinidad, e em 1924 na Jamaica, quando a murcha do *Fusarium* dizimou as plantações de 'Gros Michel' na América Central e na Jamaica. O objetivo desses dois programas era produzir um híbrido de 'Gros Michel' resistente ao *Fusarium*. Posteriormente passou-se a objetivar também resistência à Sigatoka. No início da década de 30, foi obtido o primeiro híbrido tetraplóide resistente ao *Fusarium* e a Sigatoka, a partir do cruzamento da cultivar triplóide 'Gros Michel' e a espécie selvagem diplóide *Musa acuminata malaccensis*. Apesar do híbrido obtido não apresentar performance comercial, havia sido delineado um sistema de hibridação que permitia o melhoramento genético da banana (SILVA et al., 1999a; 2003).

Os programas de melhoramento genético da bananeira visam desenvolver variedades com menor porte, maior produtividade, além de resistência às principais doenças e pragas. Existe um número expressivo de variedades de banana, no entanto, quando se considera aspectos como preferência dos consumidores, produtividade, tolerância a pragas e doenças, resistência à seca, porte e resistência ao frio, restam poucas variedades para serem usadas comercialmente (SILVA et al., 2003). As espécies *Musa acuminata* e *Musa balbisiana* (diplóides selvagens) vêm contribuindo com seus genomas na formação de novas variedades de bananeiras, resultando os grupos genômicos AA, BB, AAA, AAB, ABB, AAAA, AAAB, AABB e ABBB (DANTAS et al., 1999). Na bananeira, a variabilidade genética importante localiza-se entre as diversas formas selvagens da espécie *Musa acuminata* e nas cultivares do grupo AA, as quais são usadas como genitores masculinos no

melhoramento e deverão contribuir com resistência a doenças e ainda com outras características agronômicas favoráveis (SILVA et al., 1999a).

A formação, manutenção, avaliação e utilização de um amplo banco de germoplasma têm sido pré-requisitos dos programas de pesquisa com o objetivo de produzir nova variedade de bananeira. Segundo Alves (1978), o “Imperial College of Tropical Agriculture” de Trinidad, para prover seu programa de melhoramento da bananeira de uma ampla base genética, fez expedições de estudo e de coleta ao Leste da África e ao Sudeste da Ásia e Pacífico. Com a mesma finalidade, a “United Brands Company” fez expedições ao Pacífico Ocidental e Sudeste da Ásia, a qual originou a mais ampla coleção de bananeiras de todo o mundo, tendo atingido 850 introduções distintas em 1964.

O programa de melhoramento de banana no Brasil foi iniciado em 1983, com a introdução do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, com 283 acessos, dos quais 87% são cultivares e 13% espécies selvagens, composto por germoplasmas nacional e internacional, objetivando obter tetraplóides (AAAB) com frutos tipo Prata, resistentes às principais pragas e doenças da bananeira (Silva et al., 2002). A caracterização dos genótipos é feita com o uso de 107 descritores botânico-agronômicos (SILVA et al., 2003). A partir de 1993, uma nova linha de hibridações foi iniciada, com o objetivo de obter híbridos tetraplóides, tipo Maçã, resistentes ao mal-do-panamá (SILVA et al., 1995, 1997a). Atualmente estão sendo testados, quanto à tolerância ao sal, os diplóides selvagens e algumas cultivares, do referido BAG, para serem utilizadas em programas de melhoramento visando a seleção de genótipos adaptados a solos salinos, pesquisa esta desenvolvida por uma equipe de pesquisadores da UFRPE e da Embrapa Mandioca e Fruticultura, ao qual faz parte a pesquisa desta Dissertação. Além do BAG de banana da Embrapa, que é o mais completo, existem outros dois no Brasil: no IAC e na EPAGRI.

Outro programa que se destaca no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical da Embrapa é o que objetiva desenvolver genótipos produtivos, resistentes a pragas e doenças, e com ciclo precoce, mediante cruzamentos entre genótipos diplóides (AA), que contribuem com genes de resistência às diversas doenças e com características agronômicas favoráveis, além

de genótipos triplóides (AAB) atualmente cultivados no Brasil (SILVA et al., 1999a; GOMES et al., 2004).

Na última década, o crescente reconhecimento sobre a importância da banana pela comunidade científica, coincidiu com os grandes avanços nas técnicas de melhoramento, possibilitando superar, em grande parte, as barreiras existentes para o avanço desta cultura (FRISON et al., 1997; CRESTE et al., 2003).

Os avanços em programas de melhoramento de bananeira por hibridação, seja para obtenção de híbridos comerciais triplóides ou tetraplóides, dependem basicamente da qualidade dos parentais diplóides, em virtude de seu papel fundamental na incorporação de valores agronômicos. Desta forma, identificar genótipos tolerantes à salinidade é de fundamental importância para cruzamentos que visem à obtenção de variedades adaptadas aos solos salinos na Região Nordeste (SILVA, 2000).

A Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, além de trabalhar com melhoramento convencional de bananeira, vem desenvolvendo pesquisas com biologia molecular, fazendo prospecção de genes de interesse agronômicos e mapeamento genético, além de atuar em parceria nos trabalhos de mutação do CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura) e desenvolver projetos com transgenia visando resistência ao moko. Hoje o Brasil é um dos 14 países integrantes do *Global Musa Genomics Consortium* (CORDEIRO, 2003, FERRAZ, 2008).

1.4. Salinidade

1.4.1. Efeitos da salinidade

A salinidade dos solos é um dos problemas mais limitantes da produção agrícola em regiões áridas e semi-áridas do mundo (FAGERIA, 1999; GOMES et al., 2005). A alta salinidade causa efeitos hiperiônicos e hiperosmóticos de estresse e a consequência disso pode ser a morte da planta, pois provoca a desorganização da membrana, toxicidade metabólica, inibição da fotossíntese, e aquisição reduzida de nutrientes (HASEGAWA et al., 2000; MUNNS, 2002; GOMES et al., 2004).

Na maioria das regiões áridas e semi-áridas, a salinização destes solos é causada por altas concentrações de determinadas espécies de íons, principalmente Na^+ e Cl^- na solução do solo. A predominância destes íons no meio de crescimento das plantas, além de causar toxidez, quando se acumulam nos tecidos vegetais, pode acarretar mudanças na capacidade da planta em absorver, transportar e utilizar os íons essenciais ao crescimento vegetal (GHEYI, 2000; MUNNS, 2002). O estado alterado da absorção da água pela planta causa redução do crescimento inicial das mesmas, todavia, precisa de processos subseqüentes, para a inibição da divisão celular, expansão e aceleração da morte da célula, eventos esses que não têm sido bem elucidados (HASEGAWA et al., 2000). A redução no crescimento, em resposta ao aumento da salinidade no meio de cultivo, pode ser atribuída a um efeito direto dos íons Na^+ e Cl^- sobre processos fisiológicos importantes da planta (efeito tóxico), e a um efeito indireto, devido à redução do potencial osmótico da solução do solo, a qual pode induzir condições de estresse hídrico (CRUZ, 2003). Em algumas situações, a salinidade pode determinar reduções na condutância estomática (SULTANA et al., 1999) e na atividade fotossintética (GARCIA-LEGAZ et al., 1993; BAÑULS et al., 1997). A habilidade para minimizar o efeito negativo da salinidade está na dependência do genótipo utilizado (LACERDA, 2000).

Nos perímetros irrigados do nordeste brasileiro e no norte de Minas Gerais, onde a cultura da banana é uma das principais explorações agrícolas, têm ocorrido problemas de salinização do solo (NEVES et al., 2002).

Na Região Nordeste, a qualidade das águas que podem ser utilizadas na irrigação é muito variável, tanto em termos geográficos, como ao longo do ano, principalmente em pequenos açudes. Com a utilização de águas com níveis mais altos de condutividade elétrica, comumente encontrados no final do período de estiagem, há sérios riscos de salinização dos solos a serem irrigados, com prejuízos, também, para as culturas (AUDRY e SUASSUNA, 1995; AYERS e WESTCOT, 1999; PAZ et al., 2000).

Com relação às espécies vegetais, os efeitos da salinidade são diferentes, variando entre espécies e entre genótipos de uma mesma espécie, visto que algumas produzem rendimentos aceitáveis, em níveis relativamente altos de condutividade elétrica, enquanto outras são mais sensíveis. Esta diferença deve-se à melhor capacidade de adaptação osmótica de algumas espécies, sendo capazes

de absorver e acumular íons e utilizá-los na síntese de compostos orgânicos, além de terem maior capacidade de absorção de água, mesmo em potenciais osmóticos muito baixos. É muito útil essa variabilidade genética entre as plantas, por permitir a seleção de espécies e cultivares mais tolerantes e capazes de produzir rendimentos economicamente aceitáveis, em condições de salinidade (AYERS e WESTCOT, 1999).

Várias tecnologias têm sido utilizadas para se produzir, economicamente, em condições de solo ou de água com altos riscos de salinização; dentre elas, o uso de culturas consideradas tolerantes à salinidade tem-se destacado, sendo importantes os estudos que visem avaliar a sensibilidade das espécies ao estresse salino (GOMES et al., 2005).

1.4.2. Mecanismos de tolerância à salinidade

As plantas cultivadas apresentam diferentes respostas à salinidade, variando desde sensíveis até tolerantes. A bananeira é considerada moderadamente sensível à salinidade (SILVA et al., 1997b), e o estudo do comportamento de diversos cultivares ao estresse salino pode servir de subsídio para a indicação de genótipos em áreas onde este problema existe.

Tem sido observada por muitos autores que, a tolerância ao sal em plantas é uma ação complexa, controlada por vários genes (herança poligênica) e, portanto difícil de ser manipulada. A variedade de mecanismos de adaptação que as plantas têm desenvolvido para enfrentarem com sucesso o estresse ao sal traz dificuldades para escolher uma simples ação que tenha como alvo a manipulação da tolerância ao sal em plantas (McCUE e HANSON, 1990; MUNNS et al, 2002). Isto pode explicar o pouco sucesso dos programas desenvolvidos com a finalidade de obter variedades tolerantes ao estresse ao sal, enquanto permanecem produzindo em terras salinizadas (FLOWERS e YEO, 1995; SOARES et al., 2000; GOMES et al., 2001; 2002 e 2004).

A identificação e a compreensão dos mecanismos de tolerância ao estresse salino são fundamentais no desenvolvimento de novas cultivares comerciais tolerantes a salinidade. A expressão de genes em genótipos tolerantes a esse fator

pode ser usada no estudo de mecanismos de tolerância ao sal e para identificar outros genótipos com características similares. A tolerância das plantas ao sal não é uma característica simples, mas uma característica onde mecanismos trabalham isoladamente ou em conjunto para evitar ou tolerar o sal (MANSOUR et al., 2003).

Todas as mudanças fisiológicas, morfológicas e de desenvolvimento em plantas têm uma base genética. Portanto, genótipos que diferem em tolerância a salinidade devem apresentar diferenças qualitativas e quantitativas em expressão gênica. Dessa forma, uma resposta específica ao estresse salino representa, na realidade, a combinação de eventos moleculares prévios, que foram ativados pela percepção do sinal de estresse. A compreensão de como esses eventos são ativados/desativados e como interagem entre si será essencial no desenvolvimento de novas variedades mais tolerantes a salinidade (XIONG et al., 2002).

O mecanismo de tolerância ao sal em várias espécies de plantas pode residir a nível celular (KERKEB et al., 2001). Exclusão e seqüestro de íons, ajustamento osmótico, proteção de macromoléculas, homeostase de lipídeos da membrana, e a função do sistema de transporte da membrana em ambientes salinos são importantes estratégias celulares que podem conferir à planta tolerância ao sal (MANSOUR e AL-MUTAWA, 1999; HASEGAWA et al., 2000). Assim, o entendimento sobre o efeito da pressão do sal nos processos fisiológicos e bioquímicos das células pode fornecer informações importantes e necessárias para a seleção de plantas tolerantes ao sal e promover entendimento básico sobre o efeito da salinidade no crescimento e desenvolvimento das plantas (MUNNS et al, 2002; MANSOUR et al., 2003).

1.5. Marcadores moleculares em plantas

Marcadores moleculares são polimorfismos na seqüência nucleotídica de DNA existentes entre indivíduos. Quando localizados próximos a genes de interesse (ligação gênica), a presença de tais polimorfismos pode ser utilizada para inferir sobre a presença do gene devido ao fenômeno de co-segregação (TEIXEIRA, 2004). Esses marcadores têm inúmeras vantagens, destacando-se o fato de não serem influenciados pelo ambiente e serem independentes do estágio da vida da

planta, sendo uma poderosa ferramenta dos programas de melhoramento genético (ZIETKIEWICZ et al., 1994).

Por identificarem, mesmo que indiretamente, o genótipo desejado, marcadores moleculares ligados a genes de importância agrônômica cujos fenótipos sejam de difícil avaliação permitem acelerar o processo de seleção (WANG et al., 2000; OLIVER et al., 2001). Nos últimos anos, a seleção assistida por marcadores (SAM) tornou-se uma ferramenta utilizada na rotina da seleção indireta de genótipos. Em mapeamento genético, esses marcadores, além de possibilitarem a redução das operações relacionadas à fenotipagem e manutenção dos isolados em hospedeiros vivos, não são influenciados por condições ambientais (TEIXEIRA, 2004).

O uso de marcadores moleculares representa uma ferramenta adicional em programas de melhoramento genético em plantas, além de possibilitar a classificação do germoplasma em grupos de interesse para os diferentes programas de melhoramento. Permite, também, determinar a presença ou ausência de gene(s) ligado(s) a características específicas para fins de melhoramento, com a vantagem de se fazer às análises antes do material ir para o campo (MARTINS et al, 2004). Com isso, diminui-se o volume de material que necessitaria de cuidados como adubação, capina, irrigação, etc., havendo redução no número de gerações de melhoramento necessárias no desenvolvimento de variedades.

Alguns dos maiores desafios no melhoramento de plantas são a natureza poligênica das características de importância agrônômica e a interação do genótipo com o ambiente. Esses desafios, que vinham limitando o progresso genético no desenvolvimento de novos cultivares, começaram a ser superados com as novas tecnologias advindas da biotecnologia, com a qual é possível a identificação e seleção baseada diretamente no genótipo do indivíduo, resultando assim em maior progresso genético. Esta tecnologia vem permitindo o gerenciamento de germoplasma, visando caracterizar a diversidade genética e os relacionamentos filogenéticos entre acessos, facilitando assim a introgressão da variabilidade presente em acessos selvagens (BORÉM e CAIXETA, 2006).

Dentre as técnicas moleculares, destacam-se os marcadores baseados em hibridação e os derivados de aplicação da PCR ("Polimerase Chain Reaction", reação em cadeia de polimerase). A técnica de PCR foi descrita em meados da

década de 80 por Saiki e colaboradores (SAIKI et al., 1985), e permite obter *in vitro* várias cópias de um determinado segmento de DNA.

A escolha de uma técnica de marcador molecular depende de sua reprodutividade e simplicidade. Atualmente estão disponíveis diferentes tipos de marcadores moleculares que se diferenciam pela tecnologia utilizada para revelar variabilidade a nível de DNA, e assim variam quanto à habilidade de detectar diferenças entre indivíduos, custo, facilidade de uso, consistência e repetibilidade (MILACH, 1998).

Entre os identificados por hibridização estão os marcadores RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) e minissatélites ou locos VNTR (Variable Number of Tandem Repeats). Já aqueles revelados por amplificação incluem os marcadores do tipo: RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), STS (Sequence Tagged Sites), SSR (Simple Sequence Repeats), ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) e AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (BORÉM e CAIXETA, 2006).

Vários métodos têm sido empregados para investigar a variabilidade genética presente no germoplasma de *Musa*. O grande poder de discriminação dos marcadores moleculares justifica o seu uso quando se pretende obter uma boa representação da diversidade genética existente em *Musa*, conduzindo a estudos de diversidade inter e intra-específica e promovendo melhor compreensão do seu genoma (GRAPIN et al., 1998, BORÉM, 2006).

1.5.1. Marcadores ISSR

Nos eucariotos, os genomas são densamente povoados por seqüências simples repetidas, as quais consistem em um a seis nucleotídeos repetidos em tandem, denominadas de microssatélites, SSR ou STR (Short Tandem Repeats). Essas diferentes repetições de microssatélites são classificadas em: a) repetições perfeitas, quando não apresentam nenhuma interrupção; b) repetições imperfeitas, quando são interrompidas por bases não repetidas; e c) repetições compostas, quando duas ou mais repetições de microssatélites estão dispostas adjacentes,

podendo estas serem perfeitas ou imperfeitas (REDDY et al., 2002; BORÉM e CAIXETA, 2006).

Os ISSRs (Inter-SSR amplification) ou AMP-PCR (Anchored microsatellite-primed PCR) são caracterizados por repetições de di- ou trinucleotídeos marcados e ancoradas com dois a quatro nucleotídeos em uma das extremidades que são usadas como primers para PCR. Isso permite a amplificação de apenas parte das regiões amplificadas pelo marcador MP-PCR, aumentando a reprodutibilidade (ZIETKIEWICZ et al., 1994). Esses marcadores não necessitam do conhecimento prévio do genoma e do desenho do primer clonado e podem produzir um grande número de fragmentos por primer, com a vantagem de possuírem, além da alta reprodutibilidade, custo relativamente baixo (FANG et al., 1997; NAGAOKA e OGIHANA, 1997; MORGANTE et al., 2002).

Culturas de maior importância econômica têm sido avaliadas com esses marcadores em relação à variabilidade genética de acessos e espécies silvestres visando resultados que auxiliem em programas de melhoramento para estas espécies (ALMEIDA, 2006). De acordo com Liu e Wendel (2001), o método fornece resultados altamente reprodutíveis e gera abundante polimorfismo em muitos sistemas.

Como um marcador com base em PCR, o ISSR tem algumas vantagens quando comparado aos outros marcadores. A amplificação não requer informações de sucessão do genoma e de padrões altamente polimórficos (ZIETKIEWICZ et al., 1994). Cada faixa corresponde a uma seqüência de DNA delimitada por dois microsatélites invertidos. Também, as seqüências-alvo dos ISSRs são abundantes ao longo do genoma de eucariontes e evoluem rapidamente (FANG e ROOSE, 1997; ESSELMAN et al., 1999) além da vantagem de analisar *loci* múltiplos em uma única reação (GOULÃO e OLIVEIRA, 2001). Os marcadores ISSRs têm provado ser úteis dentro de populações de estudos genéticos, especialmente em detecção clonal, diversidade e revelação de indivíduos proximalmente relacionados (SALIMATH et al., 1995; OLIVEIRA et al., 1996).

Devido às vantagens do desenvolvimento de marcadores ISSR utilizando as informações de seqüências disponíveis, estes estão sendo identificados, desenvolvidos e usados em diferentes estudos e em várias espécies de plantas. Marcadores ISSR, vêm sendo usados na caracterização e manutenção de

germoplasma de cacau (CHARTERS e WILKINSON, 2000), diferenciação entre várias cultivares de crisântemo (WOLF et al., 1995), identificação de aveia tolerantes a ácidos orgânicos (SOUZA et al., 2005), identificação de cultivares de citros (FANG e ROOSE, 1997), caracterização de coleções de gramíneas (COSTA et al., 2004), estudo de diversidade em *Brassica* e *Arabidopsis* (BORNET e BRANCHARD, 2004), análise de diversidade genética em *Eragrostis tef* (ASSEFA et al., 2003), estudo de polimorfismo em algodão (LIU E WENDEL, 2001), determinação do pool gênico de *Phaseolus vulgaris* (GALVAN et al., 2003), identificação de cultivares de *Olea europaea* (LOPES et al., 2007) e também têm sido aplicados com sucesso para detectar variabilidade genética em maçã e morango (GOULÃO e OLIVEIRA, 2001). Em estudos com bananeiras, esse marcador tem sido utilizado para detectar similaridades ou dissimilaridades genéticas em materiais micropropagados (GRAPIN et al., 1998; LAKSHAMANAN et al. 2007).

De um modo geral, a maior limitação dos microssatélites desenvolvidos a partir do banco de dados é a disponibilidade de seqüências depositadas nos bancos, ficando assim a obtenção desses marcadores limitada às espécies que possuem número suficiente de seqüências disponíveis. De acordo com Hu et al. (2004), há poucas seqüências, para a maioria das espécies vegetais, nos bancos de dados públicos, mas o seqüenciamento genômico e de ESTs em larga escala, obtidos com os Projetos Genôma para várias espécies, têm gerado muita informação de seqüências de DNA o que vem servindo como fonte para obtenção desses marcadores.

1.5.2. Marcadores RAPD

A técnica dos marcadores RAPD foi desenvolvida por dois grupos de pesquisadores, Williams et al. e Welsh & McClelland, que a denominaram, respectivamente, de *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), e *Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction* (AP-PCR) (WILLIAMS et al., 1990). Constituído-se basicamente, em uma variação do protocolo da PCR. RAPD é a denominação mais utilizada e envolve a amplificação simultânea de vários locos anônimos do genoma, utilizando um único primer (oligonucleotídeo) de seqüência arbitrária para realizar a amplificação (WELSH e MCCLELLAND, 1990).

Marcadores RAPD amplificam fragmentos de DNA distribuídos ao acaso no genoma, sem a necessidade do conhecimento prévio da seqüência do DNA (CAIXETA et al., 2006). A detecção dos produtos de amplificação é feita, normalmente, em géis de agarose, separados por eletroforese em meio semisólido, corado com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta (CAIXETA et al., 2006; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; MILACH, 1998). Utilizam primers de composição arbitrária com 10 nucleotídeos e amplificam regiões aleatórias no genoma (MILACH, 1998). Apresentam uma série de vantagens em relação às demais, como rapidez operacional, por não requerer isolamento de uma sonda específica e nenhuma informação prévia sobre seqüências de nucleotídeos, além de custo relativamente baixo e de permitir um número ilimitado de marcadores, haja vista a ocorrência de um número maior de anelamentos (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; MILACH, 1998; BINNECK, et al., 2002).

A característica dominante dos marcadores de RAPD, uma das limitações da técnica, faz com que a ausência do fragmento no gel seja atribuída ao genótipo homozigoto recessivo, enquanto a presença do fragmento seja denotada pelos genótipos homozigoto dominante e heterozigoto (CAIXETA et al., 2006).

Esses marcadores têm se mostrado eficientes na identificação da variabilidade genética em diversos grupos de plantas. Além de ser utilizado também como uma ferramenta auxiliar em programas de melhoramento, na obtenção de mapas genéticos (WILLIAMS et al., 1990; REITER et al., 1992; PHILIPP et al., 1994;) e identificação de marcadores moleculares úteis na seleção assistida (MICHELMORE et al., 1991; OHMORI et al., 1996). A técnica de RAPD pode ser eficaz na redução do número de acessos analisados, uma vez que permite a identificação de acessos contrastantes. O reconhecimento da variabilidade genética de espécies vegetais pode revelar os maiores contrastes existentes no germoplasma (MARTINS et al., 2004).

As principais vantagens do RAPD referem-se à fácil execução, rápida obtenção de marcadores, necessidade de pequenas quantidades de DNA genômico (10 a 100 ng), baixo custo, ausência de hibridação, não-utilização de radioisótopos, polimorfismo ser visualizado na forma de fragmentos amplificados de DNA visível em gel de agarose, polimorfismo ser detectado em regiões altamente repetitivas e um nível elevado de polimorfismo quando se compara com outros marcadores

moleculares (CRUZ e MILACH, 1998; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). Além disso, tem a vantagem de que muitos loci podem ser estudados simultaneamente e, associados à possibilidade de utilização de vários iniciadores, garantem a análise de uma amostra significativa de todo o genoma (CRUZ e MILACH, 1998; DIAS et al., 2003).

Desde o surgimento da técnica de RAPD, vários trabalhos foram realizados utilizando-a com finalidades diversas. Muitas espécies vegetais de importância econômica já foram caracterizadas por meio de marcadores RAPD, tais como cacau (RUSSELL et al., 1993), maçã (DUNEMANN et al., 1994), café (POWELL et al., 1995), algodão (BI et al., 1996), castanha (GALDERISI et al., 1998), soja (LI e NELSON, 2001), feijão (FRANCO et al., 2001; MACIEL et al., 2001), cacauzeiro (YAMADA et al., 2002), acerola (SALLA et al., 2002), guaranazeiro (SOUSA, 2003), eucalipto (CAIXETA et al., 2003; PIGATO e LOPES, 2001; ROCHA et al., 2002; XAVIER, 2001), seringueira (BICALHO, 2006) entre outras. Em banana, esses marcadores foram usados por Gawel e Jarret (1991), Bhat e Jarret (1995), Carneiro (1997), Paz (2000) e Gomes (2005), dentre outros autores.

2. Referências Bibliográficas

AGRIANUAL. **Banana**. São Paulo: FNP. Consultoria & Agroinformativos, 2005. p.220-229.

ALMEIDA, C.M.A. de. **Diversidade genética em populações de *Aechmea fulgens* Brong. (Bromeliaceae) na Mata Atlântica de Pernambuco**. 2006. 55f. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2006.

ALVES, E.J. **A cultura da banana: Aspectos técnicos, sócio-econômicos e agro-industriais**. Brasília: EMBRAPA-SPI/Cruz das Almas, 2^o edição - 1999. 585p.

ALVES, E.J. Melhoramento genético da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jabotical, p.7-22,1978.

ASSEFA, K.; MERKER, A.; TEFERA, H. Inter simple sequence repeat (ISSR) analysis of genetic diversity in tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter]. **Hereditas**, Sweden, v.139 (3), 174–183, 2003.

AUDRY, P.; SUASSUNA, J. **A salinidade das águas disponíveis para a pequena irrigação no Sertão do Nordeste: Caracterização, variação sazonal, limitação de uso**. Recife: CNPq, 1995. 128p.

AYERS, R.S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura**. 2ª (Ed.) Campina Grande: UFPB. 1999, 153p. Estudos da FAO Irrigação e Drenagem.

BAÑULS, J.; SERNA, M.D.; LEGAZ, M.; PRIMO-MILLO, E. Growth and gas exchange parameters of Citrus plants stressed with different salts. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.150, p.194-199, 1997.

BARROS, M.H.C.; BOTEON, M. Avaliação do desempenho dos principais pólos produtores de uva no Brasil. In: XL Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia, 2002, Ponta Grossa, **Anais...** 2002. 18p.

BHAT, K.V.; JARRET, R.L. Random amplified polymorphic DNA and genetic diversity in Indian *Musa* germplasm. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.42, p.107-118, 1995.

BI, I. V.; HARVENGT, L.; CHANDELIER, A.; MERGEAI, G.; DUJARDIN, P. Improved RAPD amplification of recalcitrant plant DNA by the use of activated charcoal during DNA extraction. **Plant Breeding**, Berlin, v.115, n.3, p.205-206, 1996.

BICALHO, K. C. **Identidade Genética entre clones de seringueira *Hevea* spp., de diferentes procedências, baseada em marcadores RAPD**. 2006. 55p. Dissertação (Mestrado em Florestas de Produção) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2006.

BINNECK, E.; NEDEL, J. L.; DELLAGOSTIN, O. A. Análise de RAPD na identificação de cultivares: uma metodologia útil? **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.24, n.1, p.183-196, 2002.

BORÉM, A. **Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento de plantas**. In: BORÉM A.; CAIXETA, E. T. ed. Marcadores moleculares. Viçosa, 2006. p.79-84.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. ed. Marcadores moleculares. Viçosa, 2006. 374p.

BORNET, B.; BRANCHARD, M. Use of ISSR fingerprints to detect microsatellites and genetic diversity in several related *Brassica* taxa and *Arabidopsis thaliana* **Hereditas**, Lund, v.140, n.3, p.245–247, 2004.

BRASIL. **Ministério do Desenvolvimento da Indústria e do Comércio**. Disponível em: <http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br>. Acesso em: 20 de agosto de 2006.

BRUNINI, O. Exigências climáticas e aptidão agroclimática da bananicultura. In: SIMPÓSIO SOBRE BANANICULTURA, 1, 1984, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: FCAVJ, 1984. p.99-117.

CAIXETA, E.T.; OLIVEIRA, A.C.B.; BRITO, G.G.; SAKIYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (Ed.). **Marcadores Moleculares** – Viçosa, 2006. p.9-78.

CAIXETA, R. P.; CARVALHO, D.; ROSADO, S. C. S.; TRUGILHO, P. F. Variações genéticas em populações de *Eucalyptus* spp. detectadas por meio de marcadores moleculares. **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.3, p.357-363, 2003.

CARNEIRO, M.S. **Aplicabilidade de marcadores “Random Amplified Polymorphic DNA” (RAPD) para monitoramento da variação somaclonal em bananeira do subgrupo Cavendish**. 1997. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - UFBA, Cruz das Almas, 1997.

CHARTERS, Y. M. AND WILKINSON, M.J., The use of self-pollinated progenies as 'in-groups' for the genetic characterization of cocoagernplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, London, v.100, p.160-166, 2000.

CHEESMAN, E. E. **Classification of the banana**. II. The genus *Musa* I. Kew bulletin, London, v.2, p. 106-117, 1948.

CODEVASF. **Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba.-2004** Disponível em: <http://www.codevasf.gov.br>. Acesso em: 10 de setembro de 2007.

CORDEIRO, Z. J. M. Variabilidade patogênica e resistência varietal à *Mucosphaerella musicola* em bananeira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA E WORKSHOP DO GENOMA MUSA, 2003, Paracatu. **Anais...** Cruz das Almas: Nova Civilização, 2003. p.35-43.

COSTA, R.; PEREIRA, G.; TAVARES DE SOUSA, M. M. Caracterização molecular de uma coleção de *Dactylis glomerata* L. utilizando marcadores RAPD e ISSR. **Revista Melhoramento**, Elvas, v.39, p.5-15, 2004.

CRESTE, S.A.C.D. **Avaliação da variabilidade genética em *Musa* spp. Utilizando marcadores microssatélites**. 2002. 86f. Tese (Doutorado em Ciências) – Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2002.

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; SILVA, S.O.; FIGUEIRA, A. Genetic characterization of of banana cultivars (*Musa* spp) from Brazil using microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v.132, p.259-268, 2003.

CROUCH, J.H.; CROUCH, H.K.; JARRET, R.L.; CREGAN, P.B.; ORTIZ, R. Segregation at microsatellite loci in haploid and diploid gametes of *Musa*. **Crop Science**, Madison, v.38, p.211-217, 1998.

CROUCH, J.H.; CROUCH, H.K.; TENKOUANO, A.; ORTIZ, R. VNTR-based diversity analysis of 2x and 4x full-sib *Musa* hybrids. **Electronic Journal of Biotechnology**, New Delhi, v.2, n.3, p. 99-108, 1999.

CRUZ, J.L. Produção e participação de matéria seca e abertura estomática do limoeiro cravo submetido a estresse salino. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.3, 2003.

CRUZ, R.P.; MILACH, S.C.K. Análise de RAPD. In: MILACH, S.C.K. (Ed.), **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre, 1998. p.107-116.

DANTAS, J.L.L.; SHEPHERD, K., SILVA, S.O. SOARES FILHO, W.S. Classificação botânica, origem, evolução e distribuição geográfica. In: ALVES, E.J. **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: Embrapa - SPI/Cruz das Almas: Embrapa - CNPMF, p.27-34, 1999.

DE LANGHE, E. Banana and platain: the earliest fruit crops? In: INTERNATIONAL NETWORK FOR THE IMPROVEMENT OF BANANA AND PLANTAIN – INIBAP. **Annual report**. 1995. p.6-8. Disponível em: <http://www.inibap.org/publications/annualreport/focus195.pdf>. Acesso em: 13 dezembro de 2005.

DIAS, L.A.S.; MARITA, J.; CRUZ, C.D.; BARROS, E.G.; SALOMÃO, T.M.F. Genetic distance and its association with heterosis in cacao. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.46, p.339-348, 2003.

D'HONT, A.; PAGET-GOY, A.; ESCOUTE, J.; CARREL, F. The interspecific genome structure of cultivated banana, *Musa* spp. Revealed by genomic DNA *in situ* hybridization. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.100, p.177-183, 2000.

DUNEMANN, F.; KAHNAU, R.; SCHMIDT, H. Genetic relationship in *Malus* evaluated by RAPD fingerprinting of cultivars and wild species. **Plant Breeding**, Berlin, v.113, p.150-159. 1994.

ESSELMAN, E.J.; JIANQIANG, L; CRAWFORD, D.J.; WINDUSS, J.L.; WOLFE, A.D. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *Insuperata* (*Poaceae*) : comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, Oxford, v.8, p.443-451, 1999.

FAGERIA, N.K. **Solos tropicais e aspectos fisiológicos das culturas**. Brasília: Embrapa/DPU, 1999. 425p. Embrapa/CNPAF. Documento, 18.

FANG, D.Q.; ROOSE, M.L. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.95, p.408-417, 1997.

FANG, D.Q., ROOSE, M.L., Krueger, R.R., Federice', C.T., Fingerprinting trifoliolate orange germplasm accessions with isozymes, RFLPs and intersimple sequence repeat markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.95, p.211-219, 1997.

FAO. **FAO statistical databases**: Agricultural Production: Crops Primary: Brazil: bananas. Disponível em: <http://www.apps.fao.org/page/colletions>. Acesso em: 10 de março de 2008.

FERRAZ, G.M.G. **Avaliação fisiológica e aplicação de ddPCR (*diferencial display* PCR) em genótipos diplóides (AA) de bananeira (*Musa* spp.) submetidos a estresse salino**. 2008. 94f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ª ed. Embrapa-CENARGEN, Brasília, 1998. 220p.

FIORAVANÇO, J.C. Mercado Mundial da Banana: produção, comércio e participação brasileira, **Informações Econômicas**, v.33, n. 10, p.15-27, 2003.

FLOWERS, T.J.; YEO, A.R. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? **Plant Physiology**, Rockville, v.22, p.875-884, 1995.

FRANCO, M. C.; CASSINI, S. T. A.; OLIVEIRA, V. R.; TSAI, S. M. Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.2, p.381-385, 2001.

FRISON, E.A.; ORJEDA, G.; SHARROCK, S.L. (Ed.) **ProMusa: a global progreame for *Musa* improvement**. INIBAP, 1997. 64p.

GALDERISI, V.; CIPOLLARO, M. G.; MASI, C. B. L.; GALANO, G.; CASCINO, A. Molecular typing of Italian sweet chestnut cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis. **Journal of Science & Biotechnology**, v.73, n. 2, p.259-263. 1998.

GALVAN, M.Z., BONET, B.; BALLATTI, P. A.; BRANCHARD, M. Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as a tool for the assessment of both gentic diversity and gene pool origin in common bean (*Phaseolus vulgares L.*). **Euphytica**, Wageningen, v.132, p.297-301, 2003.

GARCÍA-LEGAZ, M.F.; ORTIZ, J.M.; GARCÍA-LINDON, A.G.; CRDÁ, A. Effect of salinity on growth, íon content and CO₂ assimilation rate lemon varieties on different rootstocks. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.89, p.427-432, 1993.

GAWEL, N.J.; JARRET, R.L. Chloroplast DNA restriction fragment length polymorphisms (RFLPS) in *Musa* species. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.81, p. 783-786, 1991.

GHEYI, H.R. Problemas de salinidade na agricultura irrigada. In: OLIVEIRA, T., ASSIS JR., R.N. ROMERO, R.E. E SILVA, J.R.C., eds. **Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido**. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do solo, 2000, p.329-345.

GOMES, E.W.F; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; CAMARA, T.R. The effects of salinity on five banana genotypes (*Musa* spp). **Plant Nutrition**, New York, 410-412. 2001.

GOMES, E.W.F; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; CAMARA, T.R.; SILVA, S.O. Genotypes of banana (*Musa* spp.) under saline stress: tolerance and sensitivity. **Infomusa**. INIBAP. v.11, n.2, p.13-18. 2002.

GOMES, E.W.F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; SILVA, S.O.; CAMARA, T.R.; MEUNIER, I.M.J. Diplóides (AA) de bananeira submetidos ao estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.6, p.525-531, 2004.

GOMES, E. W. F., WILLADINO, Lilia, MARTINS, Luiza Suely Semen, SILVA, Sebastião de Oliveira e, CAMARA, Terezinha Rangel Variabilidade Genética de genótipos de bananeira (*Musa* spp) submetidos a estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.9, p.171–177, 2005.

GOULÃO, L; OLIVEIRA, C.M. Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus x domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) marker. **Euphytica**, Wageningen, v.122, p.81-89, 2001.

GRAPIN, A.; NOYER, J.L.; CARREL, F.; DAMBIER, D.; BAURENS, F.C.; LANAUD, C.; LAGODA, P.J.L. Diploid *Musa acuminata* genetic diversity assayed with sequence-tagged microsatellite sites. **Electrophoresis**, Weinheim, v.19, p.1364-1380, 1998.

HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, P.A.; ZHU, H.J.; BOHNERT, H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, n.51, p.463-499, 2000.

HU, J.; NAKATANI, M.; LALUSIN, A. G.; FUJIMURA, T. New microsatellite markers developed from reporter *Ipomoea trifida* sequences and their application to sweetpotato and its related wild species. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.102, p. 375-386, 2004.

IBGE. **Estatística Agricultura. Comunicação Social de 22/11/2006**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 18 de abril 2008.

IEA. **Instituto de Economia Agrícola**. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br>. Acesso em: 22 de abril de 2008.

JESUS, O.N. **Caracterização morfológica e molecular de cultivares de bananeira**. 2006. 80f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

KAEMMER, D.; AFZA, R.; WEISING, K.; KAHL, G.; NOVAK, F.J. Oligonucleotide and amplification fingerprinting of wild species and cultivars of banana (*Musa* spp.) **Bio/Technology**, New York, v.10, p.1030-1035, 1992.

KERKEB, L.; DONAIRE, J.P.; RODRIGUEZ-ROSALES, M.P. Plasma membrane H⁺ - ATPase activity is involved in adaptation of tomato to NaCl. **Plant Physiology**, Rockville, n. 111, p. 483-490, 2001.

KRESOVICH, S.; SZEWC-MCFADDEN, A.K.; BLICK, S. Abundance and characterization of simple-sequence repeats (SSRs) isolated from a size-fractionated genomic library of *Brassica napus* L. (rapeseed). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.91, p.206-211, 1995.

LACERDA, C.F. **Crescimento e acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos em dois genótipos de sorgo forrageiros submetidos a estresse salino**. 2000. 163f. Tese (Doutorado Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

LAKSHMANAN, V.; VENKATARAMAREDDY, S.R.; NEELWARNE, B. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers. **Journal of biotechnology**, Amsterdam, v.10, n.1, p.106-113, 2007.

LI, Z. L.; NELSON, R. L. Genetic diversity among soybean accessions from three countries measured by RAPDs. **Crop Science**, Madison, v.41, n.4, p.1337- 1347, 2001.

LIU, B.; WENDEL, J. F. Intersimple sequence repeat (ISSR) polymorphisms as a genetic marker system in cotton. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, p. 205-208, 2001.

LOPES, P.M.; BRITO, L.B.; GOMES, S.; MEIRINHOS, J.; SANTOS, L. & PINTO, H.G. RAPD and ISSR MOLECULAR MARKERS in *Olea europaea* L.: Genetic variability and molecular cultivar identification. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.54, n.1, p.117-127, 2007.

MACIEL, F. L.; GERALD, L. T. S.; ECHEVERRIGARAY, S. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers variability among cultivars and landraces of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) of south-Brazil. **Euphytica**, Wageningen, v.120, n.2, p.257-263, 2001.

MANSOUR, M.M.F.; AL-MUTAWA, M.M. Stabilization of plasma membrane by polyamine against salt stress. **Cytobios**, Cambridge, n.100, p.7-17, 1999.

MANSOUR, M.M.F.; SALAMA, K.H.A.; AL-MUTAWA, M.M. Transport proteins and salt tolerance in plants. **Plant Science**, Limerick, n.164, p.891-900, 2003.

MARTIN, K.P.; PACHATHUNDIKANDI, S.K.; ZHANG, C.-L.; SLATER, A. and MADASSERY, J. RAPD analysis of a variant of banana (*Musa* sp.) cv. Grande naine and its propagation via shoot tip culture. **In Vitro Cellular and Development Biology - Plant**, Columbia, v.42, n.2, p.188-192, 2006.

MARTINS. L.S.S.; FALCÃO, T.M.M.; COELHO, R.S.B. Identificação de marcadores RAPD ligados à resistência à mancha angular do feijoeiro comum. **Summa Phytopatologica**, Botucatu, v.30, n.2, p.234-237, 2004.

McCUE, K.F.; HANSON, A.D. Drought and salt tolerance: towards understanding and application. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, n.8, p. 358-362, 1990.

MOREIRA, R.S. Banana: teoria e prática de cultivo. Campinas: **Fundação Cargill**, 1999. 335p.

MICHELMORE, R. W.; PARAN, I.; KESSELI, R. V. Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. **Proceedings of the National Academy of Science**, Washington, v.88, p.9828-9832, 1991.

MOREIRA, R.S.; CORDEIRO, Z.J. A História da Banana no Brasil. **XVII Reunião Internacional da Associação para Cooperação nas Pesquisas sobre banana no Caribe e na América Tropical – ACORBAT**. Joinville, 2006. p.48-82.

MORGANTE, M.; HANAFEY, M.; POWELL, W. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. **Nature**, London, v.3, 2002.

MILACH, S.C.K. Marcadores de DNA. **Aplicações no melhoramento de plantas**. Ed.Sandra Cristina Kothe Milach. Porto Alegre, 1998. 141p.

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

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**, The Hague, n.247, p.93-105, 2002.

NAGAOKA, T., OGIHARA, Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.94, p.597–602, 1997.

NEVES, L.L.M.; SIQUEIRA, D.L.; CECON, P.R.; MARTINEZ, C.A.; SALOMÃO, L.C.C. Crescimento, trocas gasosas e potencial osmótico da bananeira-prata, submetida a diferentes doses de sódio e cálcio em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, 2002.

OLIVEIRA, A.C.; RICHTER, T.; BENNETZEN, J. L. Regional and racial specificities in sorghum germplasm assessed with DNA markers. **Genome**, Ottawa, v.39, p.579-587, 1996.

OLIVER, M.; GARCIA-MAS, J.; MORALES, M. The Spanish melon genome project: Construction of a saturated genetic map. In: **Meeting on Cucurbit Genetic & Breeding**, Málaga, v.7, p.437, 2002.

OHMORI, T.; MURATA, M.; MOTOYOSHI, F. Molecular characterization of RAPD and SCAR markers linked to the *Tm-1* locus in tomato. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.92, p.151-156, 1996.

PAZ, V.P.S.; TEODORO, R.E.F.; MENDONÇA, F.C. Recursos Hídricos, Agricultura Irrigada e Meio Ambiente. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**, Campina Grande, v.4, n.3, 2000.

PEREIRA, J.R.C.; GASPAROTTO, L. **Contribuição para o reconhecimento das sigatokas negra e amarela e das doenças vasculares da bananeira**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 1ª Edição, 2005. CD-ROM.

PHILIPP, U.; WEHLING, P.; WRICKE, G. A linkage map of rye. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.88, p.243-238. 1994.

PIGATO, S. M. P. C.; LOPES, C. R. Caracterização silvicultural, botânica e avaliação da variabilidade genética por meio do marcador molecular RAPD em um teste de progênies de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.60, p.135-148, 2001.

POWELL, W.; OROZCOCASTILLO, C.; CHALMERS, K. J.; PROVAN, J.; WAUGH, R. Polymerase chain reaction-based assays for the characterization of plant genetic-resources **Electrophoresis**, Weinheim, v.16, n.9, p.1726-1730, 1995.

RAMAGE, C.M.; BORDA, A.M.; HAMILL, S.D. and SMITH, M.K. A simplified PCR test for early detection of dwarf off-types in micropropagated Cavendish banana (*Musa* spp. AAA). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.103, n.1, p.145-151. 2004.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, Wageningen, v.128, p.9-17, 2002.

REITER, R. S.; WILLIAMS, J. K. G.; FELDMAN, K. A.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V.; SKILNIK, P. A. Global and local genome mapping in *Arabidopsis thaliana* by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNAs. **Proceedings of the National Academy of Science**. Washington. v.89, p.1477-1481. 1992.

ROCHA, R. B.; ABAD, J. I. M.; PIRES, I. E.; ARAUJO, E. F. Fingerprint and genetic diversity analysis of *Eucalyptus* spp. genotypes using RAPD and SSR markers. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.62, p.24-1, 2002.

ROSA JÚNIOR, C.D.R.M. **Bananeira**. Cultivo sob condição irrigada. Recife: SEBRAE/PE, 2000. 51p.

RUSSELL, J. R.; HOSEIN, F.; JOHNSON, E.; WAUGH, R.; POWELL, W. Genetic differentiation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) populations revealed by RAPD analysis. **Molecular Ecology**, Oxford, v.2, p.89-97. 1993.

SAIKI, R.K. SCHARF, S.J.; FALOONA, F.; MULLIS, K.B.; HORM, G.T.; ERLICH, H.A.; ARNHEIM, M. Enzymatic amplification of betaglobin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, Washington, v.230, p.1350-1354, 1985.

SALLA, M. F. S; RUAS, C. de F.; RUAS, P. M.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D. C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.15-22, 2002.

SALIMATH, S. S.; OLIVEIRA, A.C.; GODWIN, I.O.A.C.; BENNETZEN, J.L. Assessment of genome origins and genetic diversity in the genus eleusine with DNA markers. **Genome**, Ottawa, v.38, p.757-763, 1995.

SANTOS, J.G.R.; GHEYI, H. Crescimento da bananeira nanica sob diferentes qualidades de água de irrigação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 8, p.339-349, 1993.

SHANNON, M.C. Adaptation of plants to salinity. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.60, p.76-199. 1997.

SHARROCK, S. Collecting the *Musa* gene pool in Papua New Guinea. In: GUARINO, L.; RAO, V.R.; REID, R. (Ed.) **Collecting plant genetic diversity**. Wallingford: CAB International, 1998. cap. 33, p. 647-658.

SHARROCK, S.; LUSTY, C. **Nutritive value of banana**. Disponível em: <http://www.inibap.org/publications/annualreport/focus299.pdf>. Acesso em: 20 de dezembro de 2001).

SHEPHERD, K.; DANTAS, J.L.L.; ALVES, E.J. **Melhoramento genético da bananeira**. Informe Agropecuário v.12, p.11-19, 1986.

SILVA, S.O. Melhoramento genético de bananeira. Simpósio Brasileiro de Melhoramento de Fruteiras 2, 2000, Viçosa; **Anais...** Bruckner, C.H. (Ed). Viçosa: UFV, DFT; 2000. p.20-48.

SILVA, S.O.; ALVES, E.J.; LIMA, M.B.; SILVEIRA, J.R. da. Bananeira. In: BRUCKNER, C. H. **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa: UFV, 2002. p.101-158.

SILVA, S. de O. e; SHEPHERD, K.; ALVES, E.J.; DANTAS, J.L.L. Cultivares de banana. In: ALVES, E.J. **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1999a. p.85-105.

SILVA, S. de O.E; CARVALHO, P.C.L. de; SHEPHERD, K.; ALVES, E.J.; OLIVEIRA, C.A.P.; CARVALHO, J.A.B.S. **Catálogo de germoplasma de bananeira (*Musa* spp.)**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, 1999b. 152p. (Documentos, 90).

SILVA, S.O.; GASPAROTTO, L.; MATOS, A.P.; CORDEIRO, Z.J.M.; FERREIRA, C.F.; RAMOS, M.M.; JESUS, O.N. **Banana Breeding Program in Brazil – Recent Results**. Cruz das Almas-BA: Empraba Mandioca e Fruticultura, 2003. 39p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura, Documento 122).

SILVA, S.O.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J.L.L.; SOUZA, A.S.; CARNEIRO, M.S. Germoplasma. In: ALVES, E.J. (Ed.) **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: Embrapa, 1997a, p.61-84.

SILVA, S.O.; SOUZA-JUNIOR, M.T.; ALVES, E.J.; SILVEIRA, J.R.S.; LIMA, M.B. Banana breeding program at Embrapa. **Crop Breed Applied Biotechnology**, Londrina, v.1, p.399–436, 2001.

SILVA, C.U.C.; ROCHA, P.S.; BURITY, M.P.; CÂMARA, T.R.; WILLADINO, L. Efeito de diferentes níveis de NaCl sobre o desenvolvimento *in vitro* de bananeira (*Musa* sp. Cv. Nanicão) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 6., 1997, Belém, **Anais...** Belém: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 1997b, p.152.

SIMMONDS, N. W. **Los platanos**. Barcelona: Blume, 1973. 539p.

SIMMONDS, N. W.; SHEPERD, K. The taxonomy and origin of the cultivated bananas. **The Botany Journal of Linnean Society of London**, London, v.55, n.359, p.302-312, 1955.

SIMMONDS, N. W.; SHEPHARD, K. The taxonomy and origin of the cultivated bananas. **The journal of the Linnean Society Botany**, London, v.55, n.359, p.302-303, 1973.

SOARES, A.C.D.; COSTA, J.T.A.; MELO, F.I.O. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de cajueiro anão precoce submetidas a estresse salino. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.22, n.3, p.458-462, 2000.

SOUZA, J.S.; TORRES FILHO, P. Aspectos socioeconômicos. In: ALVES, E. J. A. **A cultura da banana**. Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. Brasília DF: Embrapa-SP, 1999. p.507-524.

SOUZA, N. R. **Variabilidade genética e estimativas de parâmetros genéticos em germoplasma de guaranazeiro**. 2003. 90f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2003.

SOUZA, V.Q. de, PEREIRA, A. da S., KOPP, M.M. Dissimilaridade genética em mutantes de aveia tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.4, p.569-575, 2005.

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

SULTANA, N.; IKEDA, T.; ITOH, R. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. **Environmental and Experimental Botany**, Kidlington, v.42, p. 211-220, 1999.

TEIXEIRA, A.P.M. **Identificação de marcadores moleculares ligados a gene de resistência ao vírus do mosaico (PRSV-W) em melão (*Cucumis melo* L.)**. 2004. 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.

VALMOYOR, R.V.; SILAYOI, B.; JAMALUDDIN, S.H.; KUSUMO, S.; ESPINO, R.R.; PASCUA, O.C. **Banana classification and commercial cultivars in Southeast Asia**. Los Baños: INIBAP, 1991. (PCARRD. Information Bulletin, 24).

VITTI, A. **Perspectivas da fruticultura brasileira exportadora frente aos novos investimentos**. Artigo foi publicado na edição de novembro de 2007 da Revista Hortifruti Brasil/Cepea. Em: www.brazilianfruit.org.br

VUYSTEKE, D. Strategies for utilization of genetic variation in plantain improvement . Leuven, 2001. 213f. **Thesis** (Ph.D.) – Katholieke Universiteit Leuven. 2001.

WANG, Y.H.; THOMAS, C.E.; DEAN, R.A. Genetic mapping of a fusarium resistance gene (Fom-2) in melon (*Cucumis melo* L.). **Molecular Breeding**, Dordrecht, v.6, p.379-389, 2000.

WELSH, L.; McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.18, n.24, p.7213-7218, 1990.

WILLIAMS, J.G.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, L.A.; TINGER, S.V. DNA polymorphism amplified by arbitrary are useful as genetic marker. **Nucleic Acid Research**, Oxford, v.18, p.6531-6535, 1990.

XAVIER, K.G. **Diversidade genética em clones de *Eucalyptus* avaliados por marcadores RAPD, e variações nas propriedades da madeira.** 2001. 107p. Dissertação (Mestrado em Florestas de Produção) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2001.

XIONG, L.; LEE, H.; ZHU, J.K. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, n.25, p.131-139, 2002.

YAMADA, M.M.; FALEIRO, F.G.; LOPES, U.V.; DANTAS NETO, A.; PIRES, J.L.; FLORES, A.B.; FALEIRO, A.S.G.; BAHIA, R.C.S. Diversidade genética de acessos de cacauero da série CEPEC por meio de marcadores RAPD. **Agrotrópica**, Bahia, v.14, n. 3, p.137-140, 2002.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome Fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, San Diego, v.20, p.176-183, 1994.

CAPÍTULO II:
AVALIAÇÃO DE DIPLÓIDES DE BANANEIRA (*Musa* spp.)
QUANTO À TOLERÂNCIA A SALINIDADE

Artigo a ser submetido à Revista Brasileira de Fruticultura

Avaliação de diplóides de bananeira (*Musa* spp.) quanto à tolerância a salinidade

Roberta Lane de Oliveira Silva¹, Luiza Suely Semen Martins², Eline Waked Ferreira³ Gomes, Gabriela de Moraes Guerra Ferraz⁴, Lilia Willadino⁵, Terezinha de Jesus Rangel Câmara⁶

RESUMO

A salinidade é um fator comum de estresse abiótico que afeta a produção agrícola mundial. Uma das estratégias para promover a reincorporação de áreas salinizadas e o aumento da produtividade consiste no desenvolvimento e na seleção de genótipos tolerantes, o que permitirá a identificação de parentais a serem utilizados em cruzamentos. Esta pesquisa teve como objetivo identificar genótipos diplóides de bananeira tolerantes à salinidade a serem utilizados em futuros trabalhos de melhoramento genético visando à obtenção de cultivares adaptados a solos salinos. Foram avaliados nove genótipos diplóides (AA) de bananeira. Para avaliação dos parâmetros de crescimento foram feitas medições de área foliar, altura e contagem do número de folhas. As plantas foram tratadas durante 21 dias com 0 e 100 mM de NaCl, num delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições. Aos 21 dias, foi feita a determinação do peso da matéria fresca utilizando-se balança analítica. A obtenção do peso da matéria seca das partes limbo foliar, pseudocaule, raízes+rizoma de cada planta, foi feito após secagem em estufa a 60°C até peso constante. O genótipo Tjau Lagada, que sofreu menor redução da área foliar, possivelmente apresentará uma produção relativamente superior aos genótipos avaliados

Trabalho financiado pelo BNB/FUNDECI e CNPq e parte da dissertação de mestrado do primeiro autor

¹ Mestranda em Agronomia (Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n. Dois Irmãos, Recife-PE CEP: 53171-900. Email: lane.roberta@gmail.com

² Professor Adjunto do Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n. Dois Irmãos, Recife-PE CEP: 53171-900.

³ Pesquisadora Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias – IPA. Av. General San Martin, 1371, Bongi. Recife-PE CEP: 50761-000

⁴ Mestranda em Agronomia (Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n. Dois Irmãos, Recife-PE CEP: 53171-900.

⁵ Professora do Deptº de Biologia/Área de Botânica/UFRPE, Recife-PE.

⁶ Professora do Deptº de Química/Área de Química Agrícola/UFRPE, Recife-PE.

25 nesse estudo. O genótipo 0116-01, por ter apresentado maior tolerância à salinidade, poderá
26 ser utilizado em futuros cruzamentos disponibilizando genes a serem incorporados em
27 cultivares produtivas utilizadas em programas de melhoramento que visem a obtenção de
28 variedades adaptadas as regiões de solos salinos no Nordeste Brasileiro.

29
30 **Termos para Indexação:** estresse salino, banana, parâmetros de crescimento,
31 melhoramento genético.

32

33 **ABSTRACT**

34

35 The salinity is a common factor of abiotic stress that seriously affects the agricultural
36 production. One of the strategies to promote reincorporation of salinity areas and the
37 productivity increase consists in development and selection of tolerant genotypes, which
38 allows parental identification for crossings. This research aimed to identify the salinity
39 tolerance among banana diploid genotypes to be used in future works of genetic
40 improvement to saline soils of Brazilian northeast region. Nine banana diploid genotypes
41 (AA) were evaluated for growth variables as leaf area, height, diameter of pseudostem,
42 leaves number, weight of fresh and dry matter. During 21 days, the plants were treated with
43 0 and 100 mM of NaCl, in an entirely randomized experimental delineation with three
44 repetitions. After 21 days, the determination of fresh matter weight was released using
45 analytic balance. The attainment of the each plant dry matter weight from foliar limbo,
46 pseudostem and root+rizome was carried out through drying in greenhouse at 65°C until
47 constant weight. The Tjau Lagada genotype, which suffered minor reduction of leaf area,
48 can possibly show a higher production despite other genotypes analyzed in this study.
49 Genotype 0116-01, presenting a greater salinity tolerance, could be used in future crossings
50 providing genes to be incorporated in productive cultivars by improvement programs which
51 aims the adaptive varieties to Brazilian northeast saline soils.

52

53 **Index Terms:** saline stress, banana, growth parameters, genetic improvement.

54

55 **INTRODUÇÃO**

56 A cultura da bananeira é explorada na grande maioria dos países tropicais, ocupando
57 o segundo lugar em volume de frutas produzidas, perdendo apenas para a laranja (IBGE,
58 2006), e o quarto lugar em termos de importância alimentar, após o arroz, trigo e leite
59 (Crouch et al., 1999).

60 O Brasil é o segundo maior produtor mundial de banana, com produção na ordem de
61 6.703.400 milhões de toneladas de frutas e área colhida de 496.287 mil ha (IBGE, 2006). A
62 bananicultura é praticada em todas as regiões fisiográficas do país e possui elevada
63 importância social e econômica. Na região nordeste do Brasil é uma das principais
64 explorações agrícolas entre as fruteiras, assumindo importância fundamental por seu valor
65 na alimentação, na fixação de mão-de-obra no meio rural e por gerar divisas para o país. No
66 entanto, grande parte dos solos desta região, mais precisamente nas áreas irrigadas das
67 zonas semi-áridas, encontram-se salinizados, devido ao manejo inadequado do solo e da
68 água de irrigação (Gomes et al., 2004).

69 A salinidade é um fator comum de estresse abiótico que afeta seriamente a produção
70 agrícola mundial. Atualmente, cerca de 800 milhões de hectares no mundo são afetados pela
71 salinidade (Munns, 2005). Estima-se que 250 milhões de hectares são irrigados sendo que
72 metade dessa área apresenta problemas de salinização e dez milhões de hectares são
73 abandonados anualmente, em virtude desse problema (FAO, 2005). Uma das estratégias
74 para promover a reincorporação destas áreas salinizadas e o aumento da produtividade,
75 consiste no desenvolvimento e na seleção de genótipos tolerantes (Gomes et al., 2001).

76 Os efeitos mais marcantes da salinidade sobre a planta refletem-se em alterações no
77 potencial osmótico, na toxicidade iônica e no desequilíbrio da absorção dos nutrientes,
78 provocando a redução generalizada do seu crescimento, com sérios prejuízos para a
79 atividade agrícola (Távora et al., 2001). Além disso, o desequilíbrio de íons, particularmente
80 com Ca e K, os efeitos tóxicos diretos do Na⁺ no processo metabólico (Munns et al., 2006) e
81 a indução de danos oxidativos em células de plantas catalisadas por espécies reativas ao
82 oxigênio são muito importantes e tem sido extensamente estudados fisiologicamente
83 (Azevedo-Neto et al., 2006).

84 Outro fator a ser considerado também é a diminuição nas taxas fotossintéticas sob
85 condições de estresse salino, como relatado por diversos pesquisadores (Pereira et al.,

86 2004). Segundo Zhu (2001), a resposta vegetal a condições de salinidade está relacionada à
87 expressão de vários genes, e cada espécie apresenta um grau de tolerância ao sal que
88 depende da concentração e da natureza dos sais dissolvidos, de fatores climáticos, da
89 absorção de água e da nutrição vegetal. Entre as espécies sensíveis ao sal, está a bananeira,
90 que vem sendo amplamente cultivada em regiões áridas e semi-áridas com o uso da
91 irrigação.

92 Apesar da irrigação se constituir em uma tecnologia fundamental para o
93 desenvolvimento de regiões semi-áridas, alguns fatores que lhe são associados contribuem
94 para a redução da produtividade das culturas. Dentre esses fatores, destaca-se o nível de sais
95 na água, que pode acarretar graus variados de estresse nas plantas e redução do potencial
96 produtivo dos solos (Larcher, 2004). Em geral, a salinidade do solo, tanto é causada pela
97 irrigação com água salina, como pela combinação dos fatores água e solo. (Rhoades et al.,
98 2000).

99 De acordo com Brito (2002), o nordeste brasileiro apresenta uma área potencial para
100 irrigação estimada em 6 milhões de hectares. No entanto, cerca de 30% das áreas de projetos
101 públicos de irrigação estão com problemas de salinidade. No perímetro irrigado de São
102 Gonçalo-PB, cerca de 40% da área irrigada está afetada por sais. Já o Município de
103 Custódia/PE apresenta 70% do perímetro irrigado salinizado. Na região do pólo Petrolina-
104 PE/Juazeiro-BA, que hoje conta com seis perímetros de irrigação, em uma área de 38.917
105 ha, tem-se observado que, aproximadamente, 20% dessa área apresenta reduções na
106 produção agrícola e diminuição da área total irrigada, devido à salinização do solo (Gomes
107 et al., 2004).

108 Os programas de melhoramento genético da bananeira visam desenvolver variedades
109 com menor porte, maior produtividade, além de resistência às principais doenças e pragas
110 (Silva et al., 1999). Existe um número expressivo de variedades de banana, no entanto,
111 quando se considera aspectos como preferência dos consumidores, produtividade, tolerância
112 a pragas e doenças, resistência à seca, porte e resistência ao frio, restam poucas variedades
113 para serem usadas comercialmente (Ferraz, 2008).

114 A avaliação de genótipos diplóides de bananeiras quanto à tolerância à salinidade
115 permitirá a identificação de parentais a serem utilizados em cruzamentos, possibilitando o
116 desenvolvimento de materiais tolerantes as condições de solos salinos nas regiões semi-

117 áridas brasileiras. Esta pesquisa teve como objetivo identificar genótipos diplóides de
118 bananeira tolerantes à salinidade a serem utilizados em futuros trabalhos de melhoramento
119 genético visando à obtenção de cultivares adaptados a solos salinos.

120

121 **MATERIAL E MÉTODOS**

122 Foram avaliados nove genótipos diplóides (AA) de bananeira, provenientes do Banco
123 Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (Tabela 1).
124 Utilizou-se nesse estudo, mudas em fase inicial de crescimento, fase em que as plantas
125 exibem maior sensibilidade à salinidade.

126 O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação do Departamento de Química da
127 Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE. As mudas, provenientes de cultura de
128 tecidos, com aproximadamente 15 cm de altura, foram plantadas em vasos de polietileno
129 preto contendo 10 Kg de areia lavada, coberta por uma camada de três centímetros de
130 cascalho fino, a fim de reduzir a evaporação e favorecer o controle da salinidade no
131 substrato. Utilizou-se irrigação por gotejamento (0,4 L/planta/dia). A condutividade elétrica
132 da solução nutritiva dos dois tratamentos foi mantida a aproximadamente 1 e 10 dS/m, que
133 corresponde à concentração de 0 e 100 mM de NaCl. Ambos os tratamentos receberam
134 742,86mg.L⁻¹ de fertilizante solúvel (Produto comercial Kristalon Marron) com a seguinte
135 composição: 3% de N, 11% de P₂O₅, 38% de K₂O, 4% de MgO, 11% de S e
136 micronutrientes. O cálcio e nitrogênio foram fornecidos na forma de nitrato de cálcio na
137 dose de 840 mg.L⁻¹ do produto comercial (Barco Viking) composto de 15% de N e 19% de
138 Ca. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com três repetições.

139 Para avaliação dos parâmetros de crescimento foram feitas medições de área foliar,
140 estimadas multiplicando-se o produto do comprimento e largura da folha pelo fator de
141 correção 0,7 (modificado de Moreira, 1987); altura da planta por meio de uma trena;
142 diâmetro do pseudocaule, utilizando-se o paquímetro; e contagem do número de folhas. Por
143 ocasião da coleta, aos 21 dias após a diferenciação dos tratamentos, foi feita a determinação
144 do peso da matéria fresca utilizando-se balança analítica. A obtenção do peso da matéria
145 seca das partes limbo foliar, pseudocaule, raízes+rizoma de cada planta, foi feito após
146 secagem em estufa a 60°C até peso constante.

147 Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas
148 pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade.

149

150 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

151 De uma forma geral, o estresse salino afetou quase todas as variáveis analisadas
152 (Tabelas 2 e 3). Com relação ao número de folhas, observou-se que quase todos os
153 genótipos apresentaram menos folhas com o incremento da salinidade (Tabela 2). Os
154 genótipos Tjau Lagada, 0323-03, Buitenzorg, Perak e Microcarpa apresentaram as maiores
155 reduções (30,27; 28,62; 26,7; 23,48 e 19,93%, respectivamente), em contraste com o
156 genótipo 0116-01 que não apresentou nenhuma redução nessa variável, permanecendo com
157 o mesmo número de folhas do controle. Segundo Barreto (1997), entre os efeitos primários
158 do estresse salino está à redução nas taxas de crescimento e emergência de folhas, e no
159 desenvolvimento da parte aérea. Isto poderá resultar diretamente na redução da parte
160 destinada à fotossíntese e na redução da capacidade produtiva das plantas (Lacerda et al.,
161 2003). A fotossíntese é limitada não somente devido ao fechamento estomático, mas
162 também pelo efeito do sal e sobre os processos secundários (Larcher, 2004). Essa redução
163 pode ser devido à incapacidade da planta produzir novas folhas mais rápido que a
164 senescência (Muscolo et al., 2003), além da morte das folhas mais velhas por necrose de
165 seus tecidos.

166 Com relação a variável altura, observou-se no tratamento submetido a 100 mM de
167 NaCl, que houve um decréscimo acentuado do genótipo Microcarpa (38,56%), enquanto nos
168 demais genótipos as taxas de redução variaram entre 2,56 (0116-01) a 21,53% (0323-03)
169 (Tabela 2). O genótipo que apresentou menor decréscimo no quesito altura foi o 0116-01
170 (2,56%), (Tabela 2). O crescimento de um vegetal resulta da interação de mecanismos
171 físicos e bioquímicos bastante complexos (Benincasa, 1988). Esse crescimento aumenta
172 quando há um maior ganho de CO₂ correlacionado com sua capacidade fotossintética. A
173 absorção de sais por plantas glicófitas, como a bananeira, acarreta numa limitação do
174 crescimento (Larcher, 2004). A adição de elevados níveis de NaCl nas plantas implica na
175 redução do crescimento devido a diversos fatores, tais como: o efeito tóxico dos íons que
176 foram absorvidos; o baixo potencial osmótico e hídrico das células; utilização de energia
177 metabólica no processo de ajustamento osmótico e à interferência na absorção de nutrientes

178 essenciais (Gomes et al., 2005). Araújo Filho et al. (1995), estudando a salinidade em
179 bananeira, observaram que houve redução de 17 a 28% na altura das plantas em comparação
180 com bananeiras cultivadas em solo não salino. Resultados semelhantes, também em
181 bananeira, foram obtidos por Neves et al., (2002) e Gomes et al., (2005).

182 A salinidade provocada pela adição de NaCl no meio nutritivo reduziu o diâmetro do
183 pseudocaule dos genótipos de até 35,07% (Tabela 2), promovendo assim efeito significativo
184 sobre essa variável em alguns genótipos. Os genótipos Microcarpa, 0337-02 e Perak tiveram
185 as maiores reduções nesse parâmetro (35,07; 27,61 e 25,55%, respectivamente), ao passo
186 que o genótipo 0116-01 apresentou redução de apenas 8,91% no diâmetro do pseudocaule.
187 Araújo Filho et al., (1995) trabalhando com bananeiras ‘Mysore’ e ‘Nanica’ em solo salino,
188 não observaram diferenças significativas no diâmetro do pseudocaule. Acredita-se que a
189 causa de tal divergência nos resultados se deva a fase de crescimento estudada e a diferenças
190 genéticas entre as cultivares.

191 Quanto à área foliar, o estresse salino promoveu diminuição em todos os genótipos
192 (Tabela 2). A área foliar é uma característica que, normalmente, é influenciada
193 negativamente pela salinidade (Alarcon et al., 1994). Todos os genótipos submetidos ao
194 estresse salino apresentaram diferença significativa nessa variável. Barreto (1997) afirma
195 que, tendo em vista que a área foliar representa a magnitude do sistema assimilatório dos
196 vegetais, é possível verificar que um dos fatores que confere maior tolerância a alguns
197 genótipos está relacionado à maior superfície de absorção dos raios solares e a conseqüente
198 conversão em energia metabólica. De acordo com Araújo Filho et al., (1995), em bananeira
199 cultivada em solo salino a área foliar teve redução de 24 a 42%, em comparação com as
200 plantas em solo não salinizado. Este efeito tem sido amplamente relatado em diferentes
201 genótipos de bananeira (Borges & Cintra, 1988; Gomes et al., 2005).

202 A produção de fitomassa fresca da parte aérea e das raízes foi afetada pela salinidade
203 em quase todos os genótipos avaliados (Tabela 3). Na parte aérea, considerando o peso
204 fresco, os genótipos que apresentaram maiores reduções foram, Microcarpa (69,1%), Perak
205 (49,22%), Tongat (47,74%), 0337-02 (47,62%), Monyet (47,29%) e Tjau Lagada (45,65%).
206 Em contraste, os genótipos Buitenzorg e 0116-01 não apresentaram redução significativa na
207 fitomassa fresca em relação aos demais genótipos. Segundo Muscolo et al. (2003), a
208 redução da fitomassa fresca está positivamente correlacionada à redução do número de

209 folhas, que leva à redução da área fotossintética e formação insuficiente de carboidratos
210 para o crescimento. Santiago (2000) afirma que qualquer fator que favoreça ou prejudique o
211 crescimento da parte aérea ou da raiz, alterando a relação raiz/parte aérea, afeta a
212 produtividade, especialmente no tocante à parte aérea, cujo crescimento pode ocorrer em
213 detrimento da raiz.

214 Em relação à fitomassa fresca das raízes+rizoma, as taxas de redução variaram entre
215 24,79% (0116-01) a 69,91% (0323-03) (Tabela 3). Entre os genótipos, 0323-03 apresentou
216 maior redução (69,91%), seguido de 0337-02 (63,78%), Perak (62,95%) e Tongat (54,81%),
217 enquanto que os genótipos Microcarpa, Monyet, Buitenzorg, Tjau Lagada e 0116-01 não
218 apresentaram diferenças significativas em relação aos demais. Considerando-se que a
219 salinidade afeta reações metabólicas, como assimilação de CO₂, síntese de proteínas,
220 respiração, reações enzimáticas e conversão de fitormônios (Shannon, 1997), esses efeitos
221 causam, entre outros, redução de disponibilidade de energia para manter o crescimento da
222 planta a níveis satisfatórios (Munns & Termaad, 1986).

223 A adição de 100 mM de NaCl à solução nutritiva afetou a produção de fitomassa seca
224 da parte aérea e das raízes em quase todos os genótipos analisados (Tabela 3). No que diz
225 respeito à parte aérea, as taxas variaram entre 17,07 a 62,48%. Os genótipos que
226 apresentaram as maiores reduções foram 0323-03 (62,48%), 0337-02 (60,62%), Tjau
227 Lagada (59,1%), Perak, (58,82%), Tongat (58,76%) e Monyet (58,13%) (Tabela 3). Já os
228 genótipos Buitenzorg, Microcarpa e 0116-01 não foram afetados com adição do incremento
229 salino (Tabela 3). De acordo com Richardson & McCree (1985), a redução na fitomassa
230 seca pode refletir o custo metabólico de energia associado com a adaptação à salinidade e
231 redução no ganho de carbono. Nesse sentido, pode-se incluir a regulação do transporte e
232 distribuição iônica em vários órgãos e dentro das células, a síntese de solutos orgânicos para
233 a osmorregulação e/ou proteção de macromoléculas, e a manutenção da integridade das
234 membranas (Azevedo-Neto, 2006). Já nas raízes+rizoma, quanto a fitomassa seca, o
235 genótipo Perak (70,51%) foi o mais afetado, seguido de 0337-02 (59,62%), Tongat (58,4%)
236 e 0323-03 (51,17%) (Tabela 3). Os demais genótipos, Buitenzorg, Microcarpa, Tjau Lagada
237 e 0116-01 não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle. Segundo
238 Larcher (2004), em condições de estresse salino extremo, ocorre a inibição do crescimento
239 da raiz, e a respiração nas raízes pode tanto decrescer quanto aumentar pela ação dos sais.

240 Sabe-se que a alongação da raiz é dependente da expansão irreversível de células jovens,
241 produzidas continuamente pelos tecidos meristemáticos das pontas das raízes (Azaizeh et
242 al., 1992), e tal expansão é bastante comprometida pela salinidade (Barreto, 1997).

243 Considerando o conjunto das variáveis analisadas, o genótipo 0116-01 foi
244 considerado o mais tolerantes dos nove genótipos diplóides AA avaliados neste trabalho.

245

246 **CONCLUSÕES**

247 Considerando que quanto maior a área foliar maior superfície de absorção dos raios
248 solares e a conseqüente conversão em energia metabólica, o genótipo Tjau Lagada, que
249 sofreu menor redução da área foliar, tem potencial relativamente superior aos genótipos
250 avaliados nesse estudo.

251 O genótipo 0116-01, por ter apresentado maior tolerância à salinidade, poderá ser
252 utilizado em futuros cruzamentos disponibilizando genes a serem incorporados em
253 cultivares produtivas utilizadas em programas de melhoramento que visem a obtenção de
254 variedades adaptadas as regiões de solos salinos.

255

256 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

257

258 AZEVEDO-NETO, D.D.; PRISCO, J.T.; ENEAS J.; ABREU, C.E.B.; GOMES, E. Effect
259 of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-
260 tolerant and saltsensitive maize varieties. **Environmental and Experimental Botany**,
261 Oxford, v.56, p.87-94, 2006.

262

263 ARAÚJO FILHO, J.B.; GHEYI, H.R.; AZEVEDO, N.C.; SANTOS, J.G.R. Efeitos da
264 salinidade no crescimento e no teor de nutrientes em cultivares de bananeira. **Revista**
265 **Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.19, n.3, p. 417-422, 1995.

266

267 ALARCON, J.J.; SANCHEZ-BLANCO, M.J.; BOLARIN, M.C.; TORRECULAR, A.
268 Growth and osmotic adjustment of two tomato cultivars during and after saline stress.
269 **Plant and soil**, The Hague, v.166, p.75-82, 1994.

270

- 271 AZAIZEH, H. GUNSE, B.; STEUDLE, E. Effects of NaCl and CaCl₂ on water transport
272 across cells of maize (*Zea mays* L.) seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v.99, p.886-
273 894, 1992.
- 274
- 275 BARRETO, L.P. **Estudo nutricional e bioquímico do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.)**
276 **Moench) sob estresse salino**. 1997. 179f. Tese (Doutorado em Botânica). UFRPE. 1997.
- 277
- 278 BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. 1^aed.
279 Jaboticabal:FUNEP, 1988. 42p.
- 280
- 281 BORGES A.L. & F.L.D. CINTRA. **Queima das folhas de bananeira no Nordeste do**
282 **Brasil**. Embrapa/CNPMP.Documentos 35/91, 16p. 1988.
- 283
- 284 BRITO, L.K.F.L. **Avaliação da resposta in vitro de duas variedades de abacaxizeiro**
285 **(*Ananas comosus* (L.) Merr) a um segundo cultivo na presença de NaCl**. 2002. 63f.
286 Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) – Universidade Federal do Rio Grande
287 do Norte, Natal, 2002.
- 288
- 289 CROUCH, J.H.; CROUCH, H.K.; TENKOUANO, A.; ORTIZ, R. VNTR-based diversity
290 analysis of 2x and 4x full-sib *Musa* hybrids. **Electronic Journal of Biotechnology**, New
291 Delhi, v.2, n.3, p.99-108, 1999.
- 292
- 293 FAO. **FAO statistical databases**: Agricultural Production: Crops Primary: Brazil: bananas.
294 Disponível em: <http://www.apps.fao.org/page/colletions>. Acesso em: 10 de junho de 2005.
- 295
- 296 FERRAZ, G.M.G. **Avaliação fisiológica e aplicação de ddPCR (*differential display***
297 **PCR) em genótipos diplóides (AA) de bananeira (*Musa* spp.) submetidos a estresse**
298 **salino**. 2008. 94f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal Rural de
299 Pernambuco, Recife, 2008.
- 300

- 301 GOMES, E.W.F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; CAMARA, T.R. The effects of
302 salinity on five banana genotypes (*Musa* spp). **Plant Nutrition**, New York, p.410-412.
303 2001.
304
- 305 GOMES, E.W.F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; SILVA, S.O.; CAMARA, T.R.;
306 MEUNIER, I.M.J. Diplóides (AA) de bananeira submetidos ao estresse salino. **Pesquisa**
307 **Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.6, p.525-531, 2004.
308
- 309 GOMES, E.W.F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; SILVA, S.O.; CAMARA, T.R.
310 Variedades de bananeira tratadas com água salinizada em fase inicial de crescimento.
311 **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.9,
312 (Suplemento), p.31-36, 2005.
313
- 314 IBGE. **Estatística Agricultura**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em:
315 03 de novembro 2006.
316
- 317 LACERDA, C.F.; CAMBRAIA, J.; CANO, M.A.O.; RUIZ, H.A.; PRISCO, J.T. Solute
318 accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum gentyes
319 under salt stress. **Enviromental and Experimental Botany**, Amsterdan, v.49, n.2, p.107-
320 2003.
321
- 322 LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2004. 531p.
323
- 324 MOREIRA, R.S. **Banana: teoria e prática de cultivo**. Campinas, SP: Fundação Cargill,
325 1987. 335p.
326
- 327 MUSCOLO, A.; PANUCCIO, M. R.; SIDARI, M. Effects of salinity on growth,
328 carbohydrate metabolism and nutritive properties of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*
329 Hoscht). **Plant Science**, Limerick, v.164, p.1103–1110, 2003.
330

- 331 MUNNS, R.; TERMAAD, A. Whole-plant responses to salinity. **Journal Plant Physiology**,
332 Rockville, v.131, p.143-160, 1986.
- 333
334 MUNNS, R.; JAMES, R.A.; LAUCHLI, A. Approaches to increasing the salt tolerance of
335 wheat and other cereals. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.57, n.5, p.1025–
336 1043, 2006.
- 337
338 PEREIRA, F. H. F.; ESPINOLA NETO, D.; SOARES, D. C.; OLIVA, M. A. Trocas
339 gasosas em plantas de tomateiro submetidas a condições salinas. **Horticultura Brasileira**,
340 Campo Grande, v.22, n.2, 2004. CD-Rom.
- 341
342 RICHARDSON, S.G.; MCCREE, K.L.; Carbon balance and water relations of sorghum
343 exposed to salt and water stress. **Plant Physiology**, Rockville, v.79, p.1015-1020, 1985.
- 344
345 RHOADES, J.D.; KANDIAH, A.; MASHALI, A.M. **Uso de águas salinas para produção**
346 **agrícola**. Campina Grande: UFPB. 2000, 117p. Estudos da FAO Irrigação e Drenagem, 48.
- 347
348 SANTIAGO, A. M. P. **Aspectos do crescimento do sabiá (*Mimosa caesalpinifolia***
349 **Benth.) em função da disponibilidade de água no solo**. 2000. 64f. Dissertação (Mestrado
350 em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2000.
- 351
352 SHANNON, M.C. Adaptation of plants to salinity. **Advances in Agronomy**, San Diego,
353 v.60, p.76-199. 1997.
- 354
355 SILVA, S.O.; ALVES, E.J.; LIMA, M.B.; SILVEIRA, J.R.S. Melhoramento genético da
356 bananeira. In: BRUCKNER, C.H. (Ed.) **Melhoramento de espécies frutíferas**. Visconde:
357 UFV, 1999. cap.1.
- 358
359 TÁVORA, F.J.A. F.; FERREIRA, R.G.; HERNANDEZ, F.F.F. Crescimento e relações
360 hídricas em plantas de goiabeira submetidas a estresse salino com NaCl. **Revista Brasileira**
361 **de Fruticultura**. Cruz das Almas, v.23, n.2, p.441-446, 2001.
- 362
363 ZHU, J. Plant salt tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v.6, n.2, p.66 – 71, 2001.
- 364

365 Tabela 1. Genótipos diplóides de bananeira, oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa
 366 Mandioca e Fruticultura Tropical - CNPMF
 367

GENÓTIPOS	GRUPO GENÔMICO	PROCEDÊNCIA	RESISTÊNCIA
PERAK	AA(*)	Malásia	RSN ¹
TONGAT	AA(**)	França	SSN ⁴
MONYET	AA(*)	Indonésia	RSN ¹
BUITENZORG	AA(*)	Jamaica	RSN ¹
MICROCARPA	AA(*)	França	--
TJAU LAGADA	AA(**)	Honduras	SSN ⁴
0337-02	AA(***)	Embrapa/CNPMF	RSN ¹ , RSA ² e RN ³
0323-03	AA(***)	Embrapa/CNPMF	RSN ¹ , RSA ² e RN ³
0116-01	AA(***)	Embrapa/CNPMF	RSN ¹ , RSA ² e RN ³

368 * Selvagem

369 ** Cultivado

370 *** Melhorado

371

372

373

374

375 Tabela 2. Número de folhas, altura, diâmetro do pseudocaule e área foliar de nove genótipos diplóides de
 376 bananeira submetidas a dois níveis de NaCl, Recife, 2008
 377

GENÓTIPOS	NÚMERO DE FOLHAS		ALTURA (cm)		DIÂMETRO DO PSEUDOCAULE (cm)		ÁREA FOLIAR (cm ²)	
	NaCl (mM)							
	0	100	0	100	0	100	0	100
PERAK	11,33Aab*	8,67Ba	47,50Aa	37,00Bab	3,17Aa	2,36Ba	3458,73Abc	1565,63Ba
TONGAT	9,33Aabc	7,33Ba	35,00Ab	28,67Aa	2,82Aab	2,45Aa	2828,03Acd	1174,40Ba
MONYET	9,00Abc	7,33Ba	41,00Aab	35,67Aab	2,55Aab	2,17Aa	2255,93Ad	966,43Ba
BUITENZORG	10,00Aabc	7,33Ba	43,00Aab	38,50Aa	2,70Aab	2,43Aa	2343,20Acd	1236,33Ba
MICROCARPA	8,33Ac	6,67Ba	43,67Aab	26,83Bb	2,68Aab	1,74Ba	2603,00Acd	782,40Ba
TJAU LAGADA	11,00Aab	7,67Ba	36,16Ab	33,83Aab	2,64Aab	2,17Aa	1221,50Ae	1022,57Aa
0337-02	10,33Aabc	7,67Ba	41,33Aab	33,67Bab	3,26Aa	2,36Ba	4078,83Aab	1758,37Ba
0323-03	11,67Aa	8,33Ba	43,33Aab	34,00Bab	2,84Aab	2,36Ba	4787,20Aa	1852,57Ba
0116-01	9,00Abc	9,00Aa	39,00Aab	38,00Ba	2,47Ab	2,25Aa	2789,90Acd	1602,40Ba

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

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389
390
391

Tabela 3. Peso de fitomassa fresca e seca em nove genótipos diplóides de bananeira submetidas a dois níveis de NaCl, Recife, 2008

GENÓTIPOS	PARTE AÉREA		RAÍZES+RIZOMA	
	NaCl (mM)			
	0	100	0	100
	Peso fresco (g)			
PERAK	253,33Aab*	128,63Bab	141,83Aa	42,67Ba
TONGAT	217,50Aab	113,67Bab	90,00Aabc	40,67Ba
MONYET	183,43Aab	96,67Bab	68,67Abc	38,33Aa
BUITENZORG	196,17Aab	129,00Aab	65,00Abc	38,50Aa
MICROCARPA	164,00Ab	50,67Bb	40,50Ac	14,67Aa
TJAU LAGADA	212,50Aab	115,50Bab	72,17Abc	42,00Aa
0337-02	291,50Aa	152,70Bab	117,40Aab	43,50Ba
0323-03	291,17Aa	174,33Ba	106,50Aab	52,17Ba
0116-01	156,33Ab	156,00Aab	60,50Aab	45,50Aa
	Peso seco (g)			
PERAK	24,38Aa	10,04Ba	15,53Aa	4,58Ba
TONGAT	22,19Aa	9,15Ba	10,00Aabc	4,16Ba
MONYET	22,21Aa	9,30Ba	8,58Abc	4,41Ba
BUITENZORG	15,58Aa	12,92Aa	7,20Abc	5,58Aa
MICROCARPA	14,81Aa	8,29Aa	6,01Ac	4,19Aa
TJAU LAGADA	23,35Aa	9,55Ba	7,38Abc	4,49Aa
0337-02	29,20Aa	11,50Ba	12,73Aab	5,14Ba
0323-03	30,57Aa	11,47Ba	11,12Aabc	5,43Ba
0116-01	23,12Aa	13,77Aa	8,10Abc	6,91Aa

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

392
393
394
395
396
397

CAPÍTULO III:
DIVERGÊNCIA ENTRE GENÓTIPOS DIPLÓIDES AA DE *Musa*
spp. SUBMETIDOS A ESTRESSE SALINO COM BASE EM
MARCADORES ISSR e RAPD

Artigo a ser submetido à Revista BRAGANTIA

Divergência entre genótipos diplóides AA de *Musa* spp. submetidos a estresse salino com base em marcadores ISSR e RAPD

Roberta Lane de Oliveira Silva⁽¹⁾, Luíza Suely Semen Martins⁽²⁾, Luciane Vilela Resende⁽³⁾, Edson Ferreira da Silva⁽⁴⁾, Gabriela de Moraes Guerra Ferraz⁽⁵⁾, Renato Castro de Moraes⁽⁶⁾, Lilia Willadino⁽⁷⁾, Terezinha de Jesus Rangel Câmara⁽⁸⁾

Resumo

Atualmente, cerca de 800 milhões de hectares no mundo são afetados pela salinidade. Os diplóides (AA) de bananeiras do Banco Ativo de Germoplasma do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura – CNPMF/Embrapa, que são fontes de genes de interesse para os programas de melhoramento, não estão caracterizados, ainda, quanto à sua tolerância à salinidade. Esta pesquisa teve como objetivo identificar dentre nove genótipos diplóides de bananeiras (Perak, Tongat, Monyet, Buitenzorg, Tjau Lagada, Borneo, 0337-02, 0323-03 e 0116-01) aqueles tolerantes a salinidade e caracterizá-los geneticamente, através de marcadores ISSR e RAPD, visando à obtenção de cultivares adaptados a solos salinos da região nordeste brasileira. Na avaliação fisiológica, as variáveis de crescimento analisadas foram área foliar, altura da planta, diâmetro do pseudocaule,

Trabalho financiado pelo BNB/FUNDECI e CNPq e parte da dissertação de mestrado do primeiro autor

⁽¹⁾ Pós-graduando em Agronomia Fitotecnia/UFRPE, Recife-PE. Email: lane.roberta@gmail.com

⁽²⁾ Professora do Deptº. de Biologia/Área de Genética/UFRPE, Recife-PE. Email: luiza@db.ufrpe.br

⁽³⁾ Professora do Deptº. de Agronomia/Área de Fitotecnia/UFRPE, Recife-PE.

⁽⁴⁾ Professor do Deptº. de Biologia/Área de Genética/UFRPE, Recife-PE.

⁽⁵⁾ Pós-graduando em Agronomia Fitotecnia/UFRPE, Recife-PE.

⁽⁶⁾ Graduando em Agronomia/UFRPE, Recife-PE.

⁽⁷⁾ Professora do Deptº. de Biologia/Área de Botânica/UFRPE, Recife-PE.

⁽⁸⁾ Professora do Deptº. de Química/Área de Química Agrícola/UFRPE, Recife-PE.

número de folhas, peso da matéria fresca e o peso da matéria seca. Na avaliação molecular foram testados 20 primers RAPD e 20 primers ISSR. O dendograma consenso das análises de similaridades genéticas obtidas a partir dos marcadores ISSR e RAPD agruparam em mesmo subgrupos os genótipos Monyet e Borneo, Buitenzorg e Tjau Lagada e também 0323-03 e 0116-01, os quais se repetiram nos dendogramas de ISSR e RAPD. O genótipo 0337-02 por apresentar menor redução nas variáveis área foliar, número de folhas e fitomassa fresca e seca do limbo, foi considerado o mais tolerante ao estresse salino, enquanto o genótipo Borneo foi o mais sensível na presença do sal.

Palavras-chave: Salinidade, banana, melhoramento genético, marcadores moleculares, diversidade genética.

Abstract

Currently, over 800 million hectares worldwide are affected by salinity. The diploid (AA) of bananas Germplasm Bank's Active of the National Center for Research of Cassava and Fruticulture (CNPMP/Embrapa), sources of interest genes to improvement programmes, still are not characterized for their salinity tolerance. This research aimed to identify the salinity tolerance among nine banana diploid genotypes (Perak, Tongat, Monyet, Buitenzorg, Tjau Lagada, Borneo, 0337-02, 0323-03 and 0116-01) and characterize them genetically through ISSR and RAPD markers, to obtain cultivars adapted to northeastern Brazilian saline soils. In physiological assessing, the growth variables analyzed were leaf area, plant height, diameter of pseudostem, leaves number, weight of fresh and dry matter. Twenty RAPD primers and twenty ISSR primers were used in molecular evaluation. The consensus dendrogram of similarity genetic analyses grouped the genotypes Monyet

with Borneo, Buitenzorg with Tjau Lagada and 0323-03 with 0116-01, in ISSR and RAPD dendrogramas. The 0337-02 genotype, presenting minor reduction in leaf area, number of leaves and fresh/dry biomass of limbo variables, was considered the most tolerant to salinity stress, while the Borneo genotype was the most sensitive on salt presence.

Keywords: Salinity, banana, genetic improvement, molecular markers, genetic diversity.

INTRODUÇÃO

A cultura da banana é explorada na grande maioria dos países tropicais, ocupando o segundo lugar em volume de frutas produzidas (IBGE, 2006) e o quarto lugar em termos de importância alimentar (CROUCH et al., 1999).

A salinidade é um fator comum de estresse abiótico que afeta seriamente a produção agrícola mundial. Atualmente, cerca de 800 milhões de hectares no mundo são afetados pela salinidade. Estima-se que 250 milhões de hectares são irrigados e, aproximadamente, metade já apresentam problemas de salinização e que dez milhões de hectares são abandonados anualmente, em virtude desse problema (FAO, 2005). Em geral, a salinidade do solo, tanto é causada pela irrigação com água salina, como pela combinação dos fatores água e solo (MUNNS, 2005). A bananeira está entre as espécies sensíveis ao sal e vem sendo amplamente cultivada em regiões áridas e semi-áridas com o uso da irrigação.

Existe um número expressivo de variedades de banana, no entanto, quando se considera aspectos como preferência dos consumidores, produtividade, tolerância a pragas e doenças, resistência à seca, frio e porte, restam poucas

variedades para serem usadas comercialmente. No que diz respeito à salinidade em banana, a literatura é bem limitada. Isso talvez se deva ao fato de que os trabalhos em melhoramento genético têm sido direcionados, sobretudo, para a resistência a pragas e doenças (SILVA et al., 2003).

Os marcadores de DNA apresentam a capacidade de detectar variações genéticas adicionais e a possibilidade de acessar diretamente o genótipo do indivíduo, evitando assim, a expressão do fenótipo e a influência do ambiente sobre estes. Marcadores moleculares vêm substituindo ou complementando a caracterização morfológica e agrônômica tradicional, visto que são virtualmente ilimitados, cobrem todo o genoma e não são influenciados pelo ambiente. Vários métodos moleculares têm sido empregados para investigar a variabilidade genética presente no germoplasma de *Musa*. Marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) e RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) são utilizados na identificação da diversidade genética existente em *Musa*, conduzindo a estudos de diversidade inter e intra-específica e promovendo melhor compreensão do seu genoma (BORÉM e CAIXETA, 2006).

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da salinidade no crescimento vegetativo de nove genótipos diplóides (AA) de bananeiras e caracterizar a variabilidade genética desses genótipos por meio de marcadores ISSR e RAPD visando à obtenção de cultivares adaptados a solos salinos da região nordeste brasileira.

MATERIAL E MÉTODOS

Local da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida na Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife-PE. O experimento para as avaliações fisiológicas foi conduzido em casa-de-vegetação do Departamento de Química e as análises moleculares foram efetuadas no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Agronomia.

Material vegetal

Foram utilizados nove genótipos diplóides (AA) de bananeira, adquiridos do Banco Ativo de Germoplasma do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura – CNPMF/Embrapa, localizado em Cruz das Almas – BA, provenientes de cultura de tecido, já caracterizados quanto a resistência à Sigatoka Negra, Sigatoka Amarela e Nematóides (Tabela 1). Utilizou-se nesse estudo, mudas em fase inicial de crescimento, fase em que as plantas exibem maior sensibilidade à salinidade.

Condições de plantio

De acordo com metodologia utilizada por GOMES et al. (2005), as mudas foram plantadas em vasos de polietileno preto contendo 10 Kg de areia lavada, coberta por uma camada de 3 cm de cascalho fino, a fim de reduzir a evaporação e favorecer o controle da salinidade no substrato. Foi utilizada irrigação por gotejamento (0,4 L/planta/dia). Foram utilizados dois tratamentos, o primeiro com 0 mM de NaCl (controle) e o segundo contendo 100 mM de NaCl (tratamento salino). Ambos os tratamentos receberam $742,86\text{mg.L}^{-1}$ de fertilizante solúvel (marca

Kristalon) com a seguinte composição: 3% de N, 11% de P₂O₅, 38% de K₂O, 4% de MgO, 11% de S e micronutrientes. O cálcio e nitrogênio foram fornecidos na forma de nitrato de cálcio (marca Barco Viking) na dose de 840 mg.L⁻¹ do produto, composto de 15% de N e 19% de Ca. A condutividade elétrica da solução nutritiva dos dois tratamentos foi mantida a aproximadamente 1 e 10 dS/m, que corresponde à concentração de 0 e 100 mM de NaCl, respectivamente.

O experimento, em casa de vegetação, foi realizado em duas etapas: a primeira etapa teve duração de 15 dias, e correspondeu a fase de adaptação das plantas ao plantio; a segunda etapa durou 21 dias, fase em que as plantas foram submetidas ao tratamento salino. Em cada uma das etapas foram avaliados os nove genótipos. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado com três repetições.

Avaliações fisiológicas

As variáveis de crescimento foram avaliadas no início da diferenciação dos tratamentos e ao término do período experimental, no 21º dia da segunda etapa. As variáveis analisadas foram: área foliar (AF), que foi estimada multiplicando-se o produto do comprimento e largura da folha pelo fator de correção 0,7 (modificado de MOREIRA, 1987); altura da planta (AP); diâmetro do pseudocaule (DP) e número de folhas (NF). No final do experimento, as plantas foram fracionadas em limbo, pseudocaule e raiz+rizoma. Em seguida foi feita a determinação do peso da matéria fresca de cada parte da planta utilizando-se balança analítica. A obtenção do peso da matéria seca, de cada planta, ocorreu após secagem do material em estufa de circulação forçada a 65°C até peso constante.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através dos programas SAEG e GENES (CRUZ, 2001), através dos quais foi feita a análise de variância

com teste F. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade.

Avaliação molecular

Foram coletados no final do experimento, os tecidos foliares da terceira folha de cada genótipo. Estes foram acondicionados, identificados e mantidos sob refrigeração em freezer -80°C. A extração do DNA foi feita segundo metodologia proposta por DOYLE e DOYLE, (1990) com modificações.

Análise de ISSR

Vinte primers de ISSR foram selecionados de um conjunto produzido pela University of British Columbia, Vancouver, Canadá para *Sphagnum angermanicum* e *Pogonatum dentatum*. As reações de amplificação, seguindo metodologia de ZIETKIEWICZ et al (1994), com modificações, foram feitas para um volume final de 25 µL, contendo 20ng de DNA, uma unidade de Taq DNA polimerase (Invitrogen), 10mM de Tris-HCL (pH 8,0), 2 mM de MgCl₂, 0,25 µM de cada dNTPs e 0,2 µM de oligonucleotídeo. As amplificações do DNA foram realizadas em termociclador MJ Reseach, Inc. PTC100 Programmable Thermal Controller (Watetown, USA), nas seguintes condições: 15 min a 95°C (desnaturação); seguido por 36 ciclos de 30 segundos a 94°C (desnaturação), 45 segundos a 50°C (anelamento) e 2 min a 72°C (extensão), extensão final por 7 minutos a 72°C. Os produtos das amplificações foram separados em gel de agarose 2%, corados com Syber gold (1X, Invitrogen), utilizando-se o marcador de 100pb (Invitrogen) sendo visualizados sob luz ultravioleta e registrada em fotodocumentador digital Vilber Lourmat.

Análise de RAPD

Foram testados 20 primers decâmeros (Invitrogen). As reações de amplificação para RAPD foram feitas, seguindo metodologia de WILLIAMS et al (1990) com modificações, em um volume final de 15 µL, contendo tris-HCl 10Mm (pH 8,0), KCl 50mM, MgCl 2,0mM, 100µM de cada um dos dNTP, 20µM de primer, uma unidade de Taq polymerase (Invitrogen) e 20ng de DNA. A amplificação foi feita com aquecimento inicial de cinco minutos a 95°C para desnaturação inicial de DNA e, a seguir, 35 ciclos de 1 minuto a 95°C, 1 minuto a 40°C e um minuto a 72°C, seguida de cinco minutos a 72°C para a completa extensão de todas as cadeias complementares. Os fragmentos de DNA amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 2,0% (p/v) em tampão TBE a 80V. O marcador 100 pb DNA Ladder (Invitrogen) foi utilizado como padrão para estimar o tamanho dos fragmentos. Após a eletroforese, os géis foram corados com SyBr Gold (1X, Invitrogen) e fotografados sob luz UV em foto documentador digital Vilber Loumat.

Análise dos dados

Os produtos das amplificações foram tabulados como 1 (presença) e 0 (ausência) de bandas para os nove genótipos, sendo consideradas apenas as bandas com boas resoluções, estando de acordo com WEEDEN et al. (1992) que afirmam que as bandas fracas podem gerar erros de 2 a 7%.

A similaridade entre os genótipos foi calculada através do coeficiente de coincidência simples. O cálculo da similaridade foi feito utilizando o programa computacional NTSYSpc ver.2.01 (ROHLF, 2000) o qual gerou a matriz de distância genética entre os genótipos. Para construção do dendrograma, a partir da matriz, foram gerados grupos pelo método da média aritmética não ponderada UPGMA

(Unweighted pair Group Method with Arithmetic Average), com 1000 simulações expressos na forma de um dendrograma. Para a verificação do ajuste, entre a matriz de similaridade e o dendrograma obtido, foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (r) (SOKAL & ROHLF, 1962).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise entre os genótipos o estresse salino afetou significativamente o crescimento em altura da planta (AP), pois comparando os genótipos entre si, Borneo foi o que mais sofreu com a salinidade (Tabela 2). Perak e Buitenzorg se destacaram não diferindo estatisticamente das demais variedades mostrando redução acentuada nessa variável. De acordo com WILLADINO e CÂMARA (2005), o estresse salino, de certa forma, restringe o crescimento das plantas, especialmente em glicófitas, por essas apresentarem menor tolerância à salinidade. Esse comportamento já vem sendo relatado na literatura há várias décadas (AZEVEDO NETO, 2005). Em bananeira, outros pesquisadores também observaram redução nessa variável (ARAÚJO FILHO et al., 1995; NEVES et al., 2002; e GOMES et al., 2005).

No que diz respeito ao número de folhas (NF), houve diferença significativa entre os tratamentos com e sem sal (Tabela 2). Esses dados diferem dos encontrados por MACÊDO (2005). Os genótipos 0337-02 e Perak apresentaram maior número de folhas em relação a Monyet e Borneo. A salinidade pode não alterar características da planta, como por exemplo, a emissão de folhas. Este resultado é relevante, uma vez que o número de folhas vivas durante o ciclo da bananeira influencia positivamente a sua produtividade.

Em relação à área foliar (AF), comparando-se os genótipos, observou-se diferença significativa entre os mesmos, destacando-se Borneo com maior redução

(Tabela 2). A redução da área foliar talvez seja causada pela redução do volume celular ou pela inibição da expansão celular provocada pelo sal (ORCUTT e NIELSEN, 2000).

Quanto ao diâmetro do pseudocaule (DP), a salinidade provocada pela adição de NaCl no meio nutritivo praticamente não promoveu efeito significativo entre os genótipos avaliados (Tabela 2), contudo, Borneo foi o genótipo mais sensível em comparação aos demais. ARAÚJO FILHO et al. (1995), trabalhando com bananeiras 'Mysore' e 'Nanica' em solo salino, não observaram diferenças significativas no diâmetro do pseudocaule.

A avaliação da produção de fitomassa fresca do limbo (FFL) mostrou diferença significativa entre os genótipos, destacando-se 0337-02 com mais tolerância as condições salinas que os demais genótipos, exceto o 0116-01 (Tabela 3). Em relação a fitomassa seca do limbo (FSL), houve também diferença significativa entre os genótipos, com destaque para 0337-02 que superou os genótipos 0323-03, Monyet, Tongat e Borneo. A redução no acúmulo de fitomassa é considerado um dos principais efeitos negativos do estresse salino. Entretanto, os limites de tolerância ao sal não são estanques, cada espécie apresenta um grau de tolerância ao sal. O que pode depender da concentração e da natureza dos sais dissolvidos, de fatores climáticos, absorção de água e nutrição vegetal (MACÊDO, 2005).

Na variável fitomassa fresca do pseudocaule (FFP) não foi observada diferença significativa entre os genótipos. Quanto a fitomassa seca do pseudocaule (FSP) os genótipos 0323-03 e 0116-01 foram menos afetado pela presença do sal que o genótipo Borneo (Tabela 3). De acordo com MUSCOLO et al, (2003), a redução da fitomassa está relacionada com a redução do número de folhas que leva

à redução da área fotossintetizante e formação insuficiente de carboidratos para o crescimento da planta.

No que diz respeito à fitomassa fresca das raízes+rizoma (FFRR), foi observado que não houve diferença significativa entre os tratamentos. Entretanto, em relação a fitomassa seca das raízes+rizomas (FSRR), o mesmo não aconteceu, sendo a redução mais sentida nos genótipos 0337-02, 0116-01, Perak e Tongat (Tabela 4). Segundo LARCHER (2004), em condições de estresse salino extremo, ocorre a inibição do crescimento da raiz, e a respiração nas raízes pode tanto decrescer quanto aumentar pela ação dos sais. A sobrevivência de plantas glicófitas em ambientes salinos pode resultar de processos adaptativos envolvendo absorção, transporte e distribuição de íons nos vários órgãos da planta, bem como a sua compartimentalização celular (MUNNS et al., 2002).

Na avaliação fisiológica dos nove genótipos, o 0337-02 destacou-se como o mais tolerante ao estresse salino, seguido do genótipo Perak e contrastando com Borneo que demonstrou maior sensibilidade ao sal.

Na análise molecular da similaridade genética entre os genótipos, estimada com base nos marcadores moleculares ISSR, dos 20 primers testados, três não apresentaram padrões reproduzíveis de bandas. Os 17 primers restantes amplificaram 251 regiões de bandas, sendo 178 polimórficas (70,9%) e 73 monomórficas (29,1%) (Tabela 5). O primer UBC 866 foi o que gerou o menor número de bandas amplificadas (9), enquanto que o primer UBC 855 gerou o maior número de bandas (25), destas 21 foram polimórficas, com um percentual de 84% de polimorfismo. Ao passo que o primer UBC 830 gerou 16 bandas, sendo 15 polimórficas, com um percentual de 93,7% de polimorfismo (Figura 1). A média de fragmentos amplificados por primer foi de 14,76 e o tamanho desses fragmentos variou de 120pb (UBC 890) a 2800pb (UBC 820).

A partir dos cálculos da matriz de similaridade, gerou-se um dendograma, o qual formou dois grupos (Figura 2). O grupo I constituído por dois subgrupos e o grupo II formado pelos genótipos Monyet (cultivado) e Borneo (selvagem) que apresentaram comportamento semelhantes nas variáveis fitomassa fresca e seca de raízes+rizoma. Esses genótipos embora não tenham a mesma procedência, são resistentes a sigatoka negra. Alguns estudos comparativos entre espécies selvagens e cultivadas de mandioca têm indicado que as espécies selvagens contêm igual ou maior variabilidade genética que as cultivadas (MÜHLEN, 1999). O que pode ser levado em consideração também para bananeira.

O grupo I se subdivide em dois subgrupos, o primeiro subgrupo divide-se em dois outros agrupamentos, um constituído pelos genótipos Perak, Tongat e 0323-03, que mostraram comportamento semelhantes nas variáveis área foliar, diâmetro do pseudocaule, fitomassa fresca do pseudocaule, e outro formado pelo genótipo melhorado 0116-01. O segundo subgrupo é formado pelos genótipos melhorados Buitenzorg, Tjau Lagada e 0337-02, que apresentaram comportamento semelhantes nas variáveis diâmetro do pseudocaule e fitomassa fresca de raízes+rizoma.

COSTA (2003), estudando *Manihot esculenta*, relaciona agrupamentos envolvendo genótipos selvagens, cultivados e melhorados com a elevada frequência de locos em heterose, fazendo com que exista grande variabilidade entre indivíduos do mesmo grupo genômico e origem geográfica distinta.

O coeficiente de correlação cofenético obteve 72,9% para o marcador ISSR, valor este que expressa uma considerável confiabilidade obtida nos agrupamentos. A similaridade média entre todos os genótipos foi baixa (0,051), indicando que esses diplóides são bastante distintos entre si, conferindo grande diversidade genética nos genótipos estudados.

Dos 20 primers de RAPD testados, apenas em um não houve produto de amplificação. Foram geradas 219 bandas, sendo 136 polimórficas (62,1%) e 83 monomórficas (37,9%) (Tabela 6). Os primers OPA12 (Figura 3), OPA04 e OPN06 mostraram-se mais polimórficos, gerando 48 bandas, apresentando uma média de 16 fragmentos por primer. O primer OPS01 foi o menos polimórfico, apresentando um percentual de polimorfismo de 30,8%. A média de fragmentos amplificados por primer foi de 18,05 e o tamanho desses fragmentos variou de 200 pb a 1200 pb.

O dendrograma gerado partir dos cálculos da matriz de similaridade mostrou um coeficiente de correlação cofenético de 81,6% para o marcador RAPD, determinando uma boa confiabilidade da matriz de similaridade, obtida a partir do coeficiente de Jaccard. A similaridade média entre todos os genótipos foi de 0,054. Os genótipos agruparam-se em dois grandes grupos, a partir desses, outros subgrupos foram originados (Figura 3).

O primeiro grupo, subdividido em dois subgrupos, sendo um formado pelos genótipos Perak (selvagem) e 0323-03 (melhorado) apresentaram comportamento semelhantes nas variáveis área foliar, diâmetro do pseudocaule e fitomassa fresca de raízes+rizoma. A ampla variabilidade entre diplóides selvagens do grupo AA pode ser atribuída ao efeito de repetidos cruzamentos ou mutações nos clones cultivados, que têm resultado em genoma de *Musa acuminata*, significativamente diferente daquele encontrado em seus ancestrais diplóides (BHAT e JARRET, 1995). O outro subgrupo formado pelo genótipo 0116-01 (melhorado) que apresentou comportamento semelhantes ao outro subgrupo nas variáveis diâmetro do pseudocaule e fitomassa fresca de raízes+rizoma.

A formação desse primeiro grupo, envolvendo genótipos selvagens e melhorados, pode ser explicado devido ao fato de que, na reação de RAPD, a mudança de um único nucleotídeo pode levar a uma variação no padrão de bandas

obtidas, sem que isto altere outras características, morfológicas e químicas. O agrupamento de um diplóide selvagem com um diplóide cultivado ou melhorado foi observado também por CRESTE (2002) em trabalho com genótipos diplóides e triplóides de *Musa acuminata*. GOMES et al. (2005) observaram também a separação de grupos distintos na análise de agrupamento de genótipos diplóides de banana e atribuíram esse fato a prováveis mutações existentes nesses genomas.

O grupo II se divide em dois subgrupos. O primeiro subgrupo é constituído pelos genótipos Tongat (cultivado) e 0337-02 (melhorado) que apresentaram comportamento semelhantes nas variáveis número de folhas, diâmetro do pseudocaule e fitomassa fresca e seca de raizes+rizoma.

O segundo subgrupo se divide em outros dois agrupamentos, um formado pelos genótipos Monyet e Borneo, ambos genótipos selvagens, que apresentaram comportamento semelhantes nas variáveis fitomassa fresca e seca de raizes+rizoma. O outro agrupamento, formado pelos genótipos Buitenzorg (selvagem) e Tjau Lagada (cultivado), apresentaram comportamento semelhantes nas variáveis número de folhas, diâmetro do pseudocaule e fitomassa fresca e seca de raizes+rizoma. Marcadores RAPD têm sido utilizados para estudos de variabilidade genética e para monitorar a eventual transferência de material genético de espécies diplóides selvagens para cultivadas. Isso pode estar relacionado ao fluxo gênico das espécies diplóides selvagens, como consequência do evento da poliploidização (MORETZSOHN et al., 2005).

O dendograma consenso das análises de similaridades genéticas obtidas a partir dos marcadores ISSR e RAPD (Figura 5) agruparam em mesmo subgrupos os genótipos Monyet e Borneo, Buitenzorg e Tjau Lagada e também 0323-03 e 0116-01, os quais se repetiram nos dendogramas de ISSR e RAPD (Figuras 3 e 4),

demonstrando assim a eficiência destes no estudo da diversidade genética entre os genótipos avaliados.

As variáveis área foliar, número de folhas e fitomassa fresca e seca do limbo estão envolvidas no maior ou menor crescimento e desenvolvimento vegetativo. Portanto, é possível verificar que um dos fatores que confere maior tolerância a alguns genótipos está relacionado à maior superfície de absorção dos raios solares e a conseqüente conversão em energia metabólica (BARRETO, 1997), sendo esses os parâmetros que conferem ao genótipo 0337-02 as condições de ter se destacado como o mais tolerante as condições salinas neste trabalho.

Selecionar genótipos tolerantes à salinidade é apenas o início de um trabalho mais longo que seria a identificação e sequenciamento de genes relacionado com a resposta ao estresse salino, pois atualmente sabe-se que, de acordo com ZHU (2001), a resposta vegetal a condições de salinidade está relacionada à expressão de vários genes.

CONCLUSÕES

- O genótipo 0337-02 (melhorado) foi o mais resistente entre os diplóides a serem usados em cruzamentos, como fornecedor de genes, visando à obtenção de variedades adaptadas a solos salinos.
- O genótipo Borneo (selvagem), que se apresentou altamente sensível a salinidade, não é indicado para ser utilizado em cruzamentos em trabalhos de melhoramento visando a introgressão de genes resistentes ao estresse salino.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO-NETO, D.D.; PRISCO, J.T.; ENEAS J.; ABREU, C.E.B.; GOMES, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and saltsensitive maize varieties. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.56, p.87-94, 2005.

ARAÚJO FILHO, J.B.; GHEYI, H.R.; AZEVEDO, N.C.; SANTOS, J.G.R. Efeitos da salinidade no crescimento e no teor de nutrientes em cultivares de bananeira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.19, n.3, p. 417-422, 1995.

BARRETO, L.P. **Estudo nutricional e bioquímico do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) sob estresse salino**. 1997. 179p. Tese (Doutorado em Botânica). UFRPE. 1997.

BHAT, K.V.; JARRET, R.L. Random amplified polymorphic DNA and genetic diversity in Indian *Musa* germplasm. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.42, n.2, p.328-332, 1995.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. ed. Marcadores moleculares. Viçosa – MG, 2006.374p.

COSTA, M.R.; CARDOSO, E.R.; OHASE, M.M.M. Similaridade genética de cultivares de mandioca (*manihot esculenta*) por meio de marcadores RAPD. **Ciência agrotécnica**, Lavras. v.27, n. 1, p. 158-164, 2003.

CRESTE, S. **Avaliação da variabilidade genética em *musa* spp. utilizando marcadores microssatélites.** 2002. 86f. Tese (Doutorado em Agronomia). Piracicaba – SP. 2002.

CROUCH, J.H.; CROUCH, H.K.; TENKOUANO, A.; ORTIZ, R. VNTR-based diversity analysis of 2x and 4x full-sib *Musa* hybrids. **Eletronic Journal of Biotechnology**, New Delhi, v.2, n.3, p. 99-108, 1999.

CRUZ, C.D. **Programa GENES** – versão Windows 2005.6.1 Viçosa: UFV, 2001, 624p.

DOYLE, I.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant from fresh tissue. **Foccus**, Rockville v.12, p.13-15, 1990.

FAO. **FAO statistical databases:** Agricultural Production: Crops Primary: Brazil: bananas. Disponível em: <http://www.apps.fao.org/page/colletions>. Acesso em: 10 de junho de 2005.

GOMES, E.W.F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; SILVA, S.O.; CAMARA, T.R. Variedades de bananeira tratadas com água salinizada em fase inicial de crescimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.9, (Suplemento), p.31-36, 2005.

IBGE. **Estatística Agricultura.** Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 03 de novembro 2006.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2004. 531p.

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

MOREIRA, R.S. **Banana: teoria e prática de cultivo**. Campinas, São Paulo: Fundação Cargill, 1987. 335p.

MORETZSOHN, M.C.; LEOI, L.; PROITE, K.; GUIMARÃES, P.M.; LEAL-BERTIOLI, S.C.M.; GIMENES, M.A.; MARTINS, W.S.; VALLS, J.F.M.; GRATTAPAGLIA, D.; BERTIOLI, D.J. A microsatellite-based, gene-rich linkage map for the AA genome of *Arachis* (Fabaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.111, p.1060-1071, 2005.

MÜHLEN, G. S. **Avaliação da diversidade genética de etnovariedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com marcadores de DNA: RAPD, AFLP e Microsatélites**. 1999. 176 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Piracicaba. 1999.

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

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytologist**, Cambridge, v.167, p.645–663, 2005.

MUSCOLO, A.; PANUCCIO, M. R.; SIDARI, M. Effects of salinity on growth, carbohydrate metabolism and nutritive properties of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hoscht). **Plant Science**, Limerick, v.164, p.1103–1110, 2003.

NEVES, L.L.M.; SIQUEIRA, D.L.; CECON, P.R.; MARTINEZ, C.A.; SALOMÃO, L.C.C. Crescimento, trocas gasosas e potencial osmótico da bananeira-‘prata’, submetida a diferentes doses de sódio e cálcio em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.24, n.2, p.524-529, 2002.

ORCUTT, D.M.; NILSEN, E.T. **Physiology of plants under stress**: soil and biotic factors. New York: J. Wiley, 2000. 683p.

ROHLF, F. J. 2000. **NTSYSpc**: numerical taxonomy and multivariate data analysis system, ver. 2.01. Exeter software: Setauket, New York.

SILVA, S.O.; GASPAROTTO, L.; MATOS, A.P.; CORDEIRO, Z.J.M.; FERREIRA, C.F.; RAMOS, M.M.; JESUS, O.N. **Banana Breeding Program in Brazil – Recent Results**. Cruz das Almas-BA: Empraba Mandioca e Fruticultura, 2003. 39p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura, Documento 122).

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. 1962. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Utrecht, v.11, p.30-40.

WEDEN, N.F.; TIMMERMAN, G.M.; HEMMAT, M.KNNEN, B.E.; LODHI, M.A. Inheritance and reliability of RAPD markers. *In* **Aplication of RAPD technology to plant breeding**. Crop Science of America, Madison, Wis. pp.12-17, 1992.

WILLIAMS, J.G.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, L.A.; TINGER, S.V. DNA polymorphism amplified by arbitrary are useful as genetic marker. **Nucleic Acid Research**, Oxford, v.18, p.6531-6535, 1990.

WILLADINO, L.G.; CÂMARA, T.R. Aspectos fisiológicos do estresse salino em plantas. In: Nogueira, R.J.M.C.; ARAÚJO, E.L.; WILLADINO, L.G.; CAVALCANTE, U. M. T. **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife, PE, 2005. p.118-126.

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

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome Fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, San Diego, v.20, p.176-183, 1994.

Tabela 1. Genótipos diplóides de bananeira, oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa/CNPMPF

GENÓTIPOS	GRUPO	PROCEDÊNCIA	RESISTÊNCIA
PERAK	AA(S*)	Malásia	RSN ¹
TONGAT	AA(C**)	França	SSN ⁴
MONYET	AA(S*)	Indonésia	RSN ¹
BUITENZORG	AA(S*)	Jamaica	RSN ¹
TJAU LAGADA	AA(C**)	Honduras	SSN ⁴
BORNEO	AA(S*)	Jamaica	RSN ¹ e RN ³
0337-02	AA(M***)	Embrapa/CNPMPF	RSN ¹ , RSA ² e RN ³
0323-03	AA(M***)	Embrapa/CNPMPF	RSN ¹ , RSA ² e RN ³
0116-01	AA(M***)	Embrapa/CNPMPF	RSN ¹ , RSA ² e RN ³

* Selvagem

** Cultivado

*** Melhorado

¹RSN = Resistente a Sigatoka Negra

²RSA = Resistente a Sigatoka Amarela

³RN = Resistente a Nematóides

⁴SSN = Susceptível a Sigatoka Negra

Tabela 2. Valores médios de altura da planta (AP), número de folhas (NF), área foliar (AF) e diâmetro do pseudocaule (DP) de nove genótipos diplóides de bananeira, cultivados em casa de vegetação sob dois níveis de sal (0 mM e 100mM), Recife, 2008

VARIÁVEIS				
GENÓTIPOS	AP (cm)	NF (unid)	AF (cm²)	DP (cm)
0337-02	38,66ab*	10,00a	4022,82a	2,59a
0323-03	38,42ab	9,00ab	2514,19bc	2,33a
0116-01	37,50ab	9,00ab	3462,33ab	2,77a
Monyet	38,33ab	8,17bc	1917,08c	2,36a
Perak	42,25a	10,00a	2763,67bc	2,77a
Tongat	31,83b	8,33ab	2421,48bc	2,63a
Tjau lagada	35,00ab	9,33ab	2546,10bc	2,40a
Borneo	18,32c	6,50c	659,11d	1,33b
Buitenzorg	40,75a	8,67ab	2222,27c	2,57a
SALINIDADE				
0 mM	38,96 a	10,00a	2952,51a	2,64a
100 mM	32,38 b	7,55b	2053,95b	2,19b

*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Valores médios de fitomassa fresca do limbo (FFL) e pseudocaule (FFP) e fitomassa seca fresca do limbo (FSL) e pseudocaule (FSP) de nove genótipos diplóides de bananeira, cultivados em casa de vegetação sob dois níveis de sal (0 mM e 100mM), Recife, 2008

VARIÁVEIS				
GENÓTIPOS	FFL (g)	FFP (g)	FSL (g)	FSP(g)
0337-02	105,08 ^{a*}	130,67a	14,42a	8,39ab
0323-03	52,25cd	87,00a	6,89bc	9,65a
0116-01	94,67ab	12,43a	10,96ab	9,39a
Monyet	47,80cd	92,26a	7,33bc	8,42ab
Perak	55,73cd	131,92a	9,25ab	7,29ab
Tongat	63,75bc	101,83a	7,79bc	7,38ab
Tjau lagada	61,25bc	103,75a	9,69ab	6,76ab
Borneo	21,34d	24,92a	2,19c	1,23b
Buitenzorg	53,00cd	109,58a	7,94abc	6,31ab
SALINIDADE				
0 mM	80,93a	128,78a	11,58a	10,22a
100 mM	42,59b	7,30b	5,04b	4,18b

* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Valores médios de fitomassa fresca raiz+rizoma (FFRR) e fitomassa seca raiz+rizoma (FSRR) de nove genótipos diplóides de bananeira, cultivados em casa de vegetação sob dois níveis de sal, Recife, 2008

GENÓTIPOS	FFRR (g)		FSRR (g)	
	SALINIDADE			
	0 mM	100 mM	0 mM	100 mM
0337-02	106,50Aab*	52,17Aa	11,12Ab	4,12Ba
0323-03	46,67Acd	39,33Aa	6,60Abc	4,87Aa
0116-01	117,40Aab	43,50Aa	12,73Aab	5,14Ba
Monyet	68,67Abcd	38,33Aa	6,58Abc	4,08Aa
Perak	42,67Aa	141,83Aa	18,47Aa	4,58Ba
Tongat	90,00Aabc	40,67Aa	9,99Ab	4,83Ba
Tjau lagada	72,17Abcd	42,00Aa	6,71Abc	4,49Aa
Borneo	26,50Ad	7,50Aa	2,81Ac	3,75Aa
Buitenzorg	65,00Abcd	38,50Aa	7,42Abc	4,08Aa

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

Tabela 5. Primers de ISSR selecionados, seqüência, número de fragmentos, número de bandas polimórficas e percentual de polimorfismo

Primer	Seqüência*	Nº total de fragmentos amplificados	Nº de bandas polimórficas	Percentual de polimorfismo
UBC 2	GAGAGAGAGAGAGAGAT	14	7	50
UBC 3	CTCTCTCTCTCTCTG	23	14	60,9
UBC 5	CTCTCTCTCTCTGC	10	6	60
UBC 827	ACACACACACACACACG	12	9	75
UBC 830	TGTGTGTGTGTGTGTGG	16	15	93,7
UBC 834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	16	11	68,7
UBC 845	CTCTCTCTCTCTCTRG	16	13	81,2
UBC 848	CACACACACACACACARG	10	5	50
UBC 849	GTGTGTGTGTGTGTGYA	14	8	57,1
UBC 855	ACACACACACACACACYT	25	21	84
UBC 857	ACACACACACACACACTG	16	8	50
UBC 860	TGTGTGTGTGTGTGTGRA	11	7	63,6
UBC 866	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	9	7	77,7
UBC 868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	15	11	73,3
UBC 878	GGATGGATGGATGGA	11	9	81,8
UBC 887	DVDTCTCTCTCTCTCTC	18	11	83,3
UBC 890	VHVGTTGTGTGTGTGTGT	11	15	73,3
TOTAL		251	178	69,62**

*Degeneração de acordo com a IUPAC

**Percentagem média de polimorfismo.

Tabela 6. Primers de RAPD selecionados, seqüência, número de fragmentos, número de bandas polimórficas e percentual de polimorfismo

Primer	Seqüência*	Nº total de fragmentos amplificados	Nº de bandas polimórficas	Percentual de polimorfismo
OPA01	CAGGCCCTTC	9	6	66,6
OPA04	AATCGAGCTG	19	15	78,9
OPAA06	GTGGGTGCCA	8	3	37,5
OPA10	GTGATCGCAG	13	9	69,2
OPA11	GAATCGCCGT	18	10	55,5
OPA12	TCGGCGATAG	14	12	85,7
OPA15	TTCCGAACCC	9	5	55,5
OPAH05	TTGCAGGCAT	19	11	57,9
OPAH06	AATCGGGCTG	13	8	61,5
OPAH09	AGAACCGAGG	6	2	33,3
OPAH10	GGGATGACCA	15	8	53,3
OPAH13	TGAGTCCGCA	12	8	66,6
OPAH15	CTACAGCGAG	16	10	62,5
OPAH16	CAAGGTGGGT	13	10	76,9
OPN06	GAGACGCACA	15	11	73,3
OPS01	CTACTGCGCT	13	4	30,8
PC11	AAACGTGCGG	7	4	57,1
TOTAL		219	136	53,79**

*Degeneração de acordo com a IUPAC.

**Percentagem média de polimorfismo

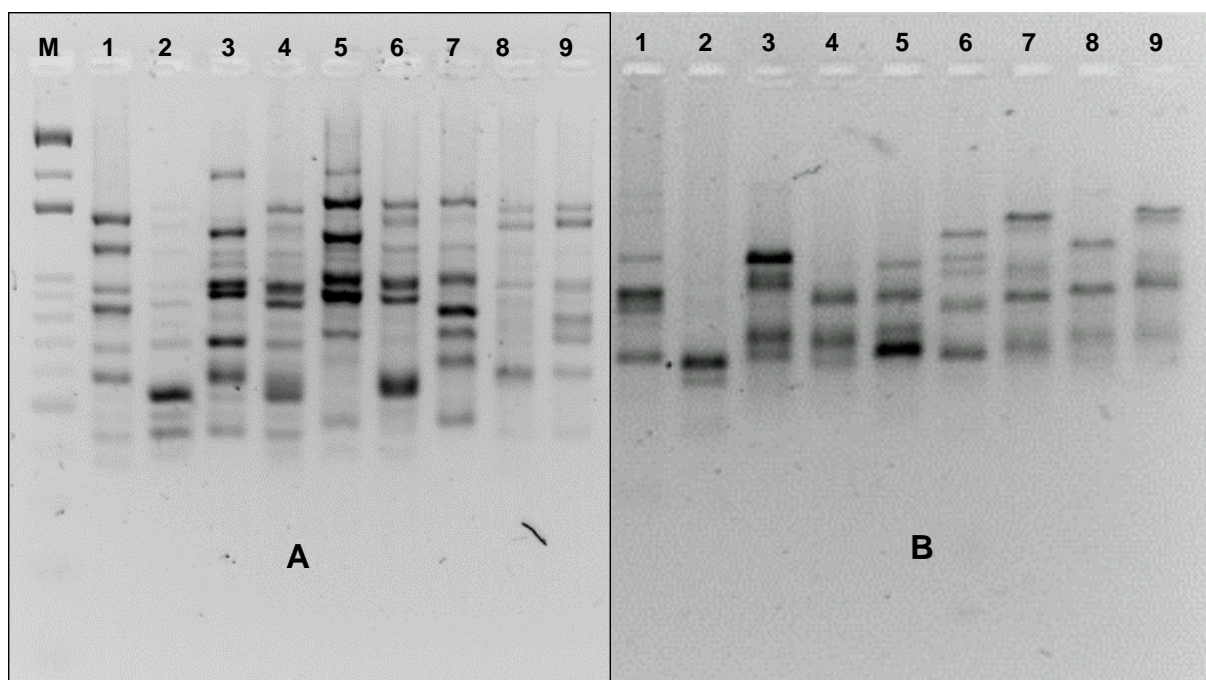


Figura 1. Padrão eletroforético obtido pela amplificação do DNA em 9 genótipos diplóides de banana utilizando **A**: primer UBC 855 e **B**: primer UBC 830. Os genótipos estão numerados de acordo com a tabela 1. M: Ladder 100pb.

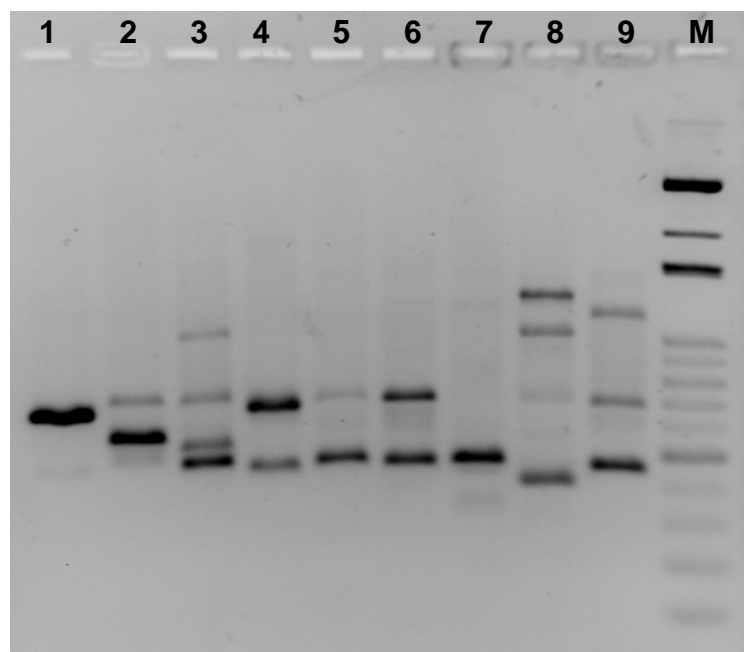


Figura 2. Padrão eletroforético obtido pela amplificação do DNA em 9 genótipos diplóides de banana utilizando o primer OPA12. Os genótipos estão numerados de acordo com a tabela 1. M: Ladder 100pb.

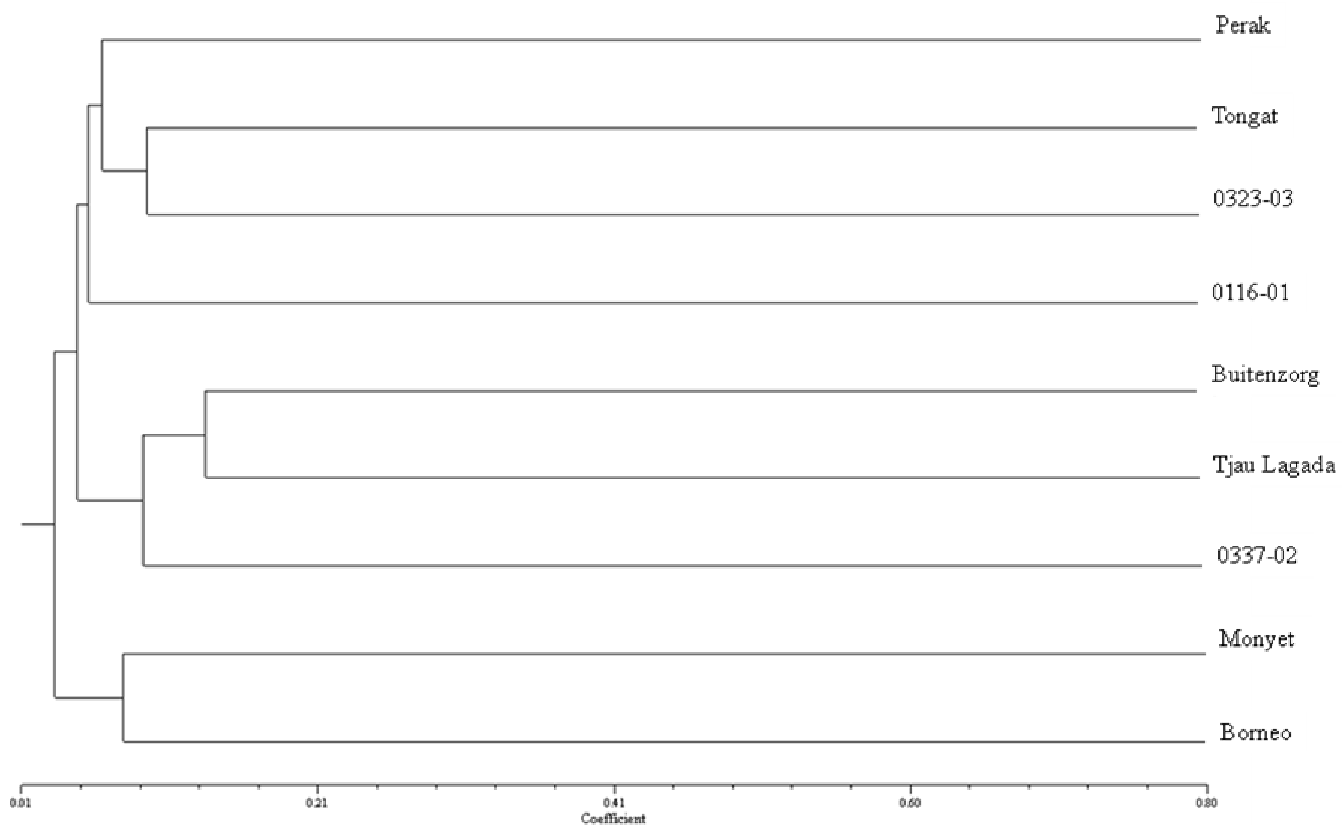


Figura 3. Dendrograma da análise de agrupamento de nove genótipos diplóides de bananeira baseado em marcadores ISSR, obtido por meio do programa NTSYSpc, usando o método UPGMA e o coeficiente de similaridade de Jaccard

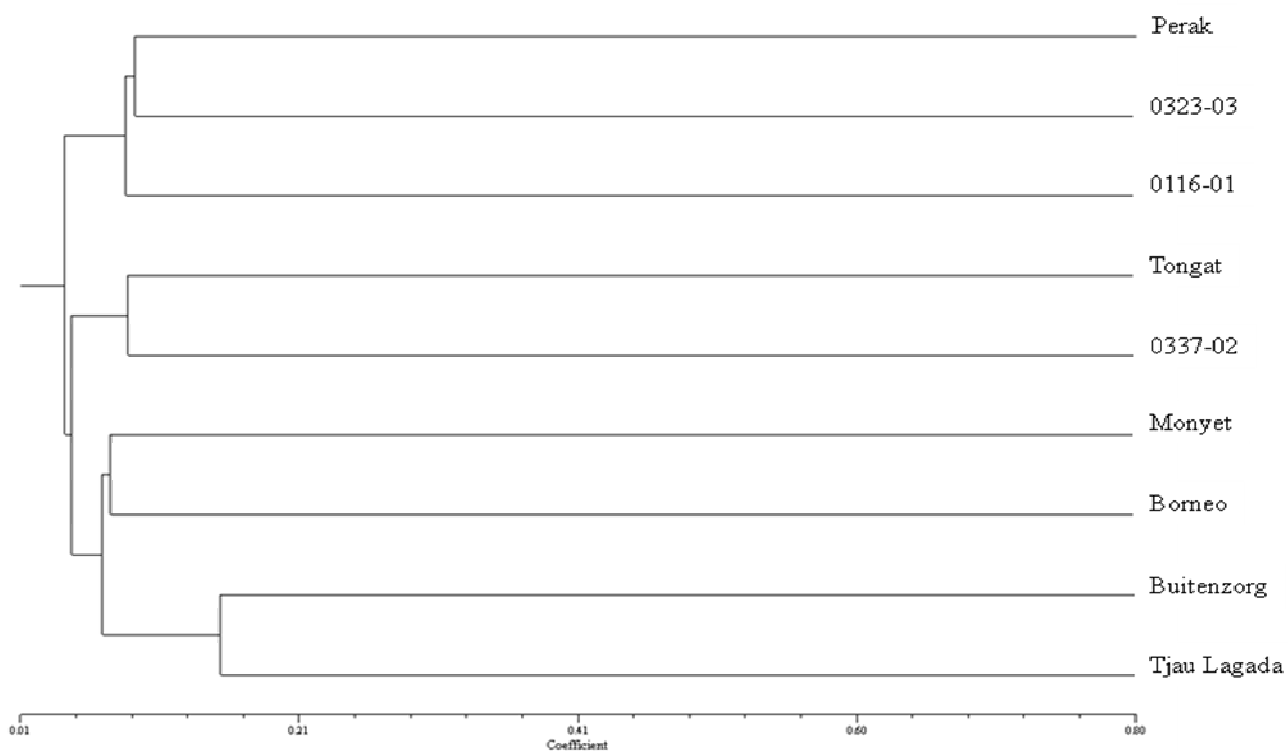


Figura 4. Dendrograma da análise de agrupamento de nove genótipos diplóides de bananeira baseado em marcadores RAPD, obtido por meio do programa NTSYSpc, usando o método UPGMA e o coeficiente de similaridade de Jaccard

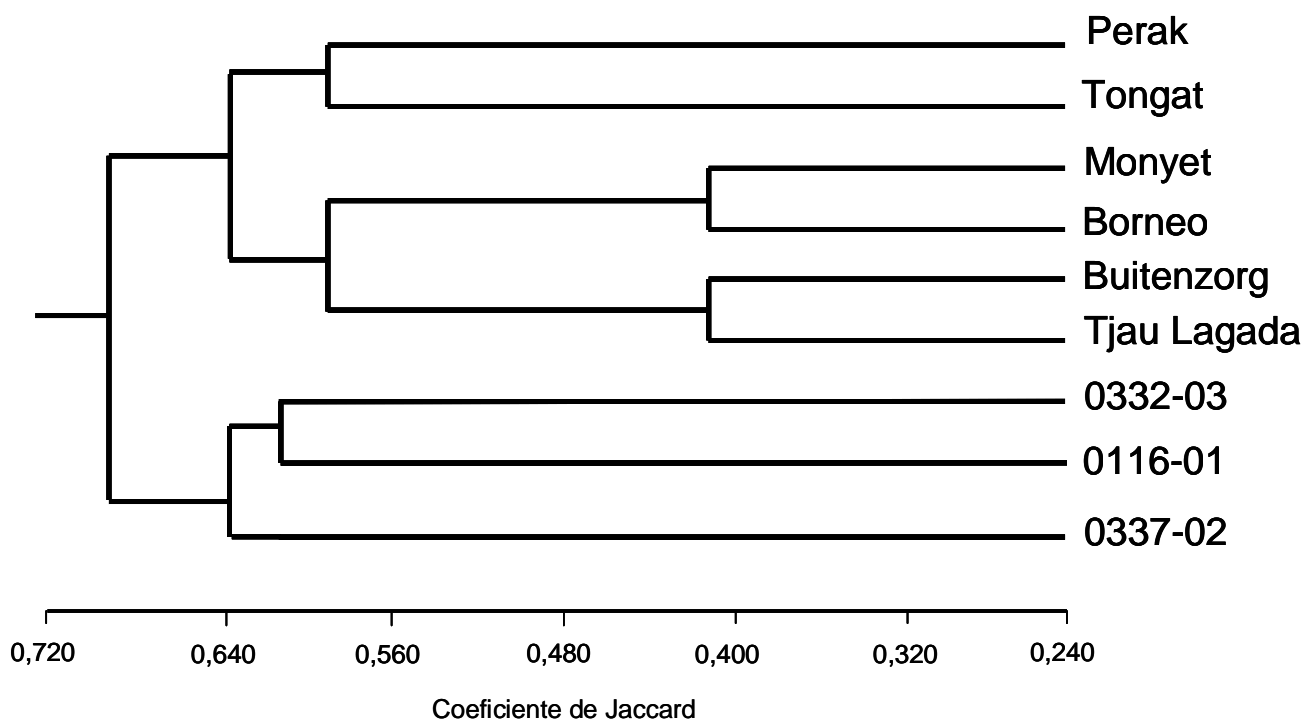



Figura 5. Dendrograma consenso das análises de similaridade de nove genótipos diplóides de bananeira obtido pelos marcadores ISSR e RAPD, através do programa NTSYSpc, usando o método UPGMA e o coeficiente de similaridade de Jaccard



CONCLUSÕES GERAIS

- O genótipo Tongat, que apresentou maior redução na área foliar, provavelmente terá um menor potencial produtivo quando cultivado em solos salinos. No entanto, o genótipo Tjau Lagada possivelmente apresentará uma produção relativamente superior aos genótipos avaliados nesse estudo.
- O genótipo 0116-01, por ter apresentado maior tolerância à salinidade, poderá ser utilizado em futuros cruzamentos disponibilizando genes a serem incorporados em cultivares produtivas utilizadas em programas de melhoramento que visem a obtenção de variedades adaptadas as regiões de solos salinos no Nordeste Brasileiro.
- O genótipo 0337-02 (melhorado) deverá constar entre os diplóides a serem usados em cruzamentos, como fornecedor de genes, visando à obtenção de variedades adaptadas a solos salinos da região nordeste do Brasil.
- O genótipo Borneo (selvagem), que mostrou-se altamente sensível a salinidade, não deverá ser utilizado em cruzamentos em trabalhos de melhoramento visando a introgressão de genes resistentes ao estresse salino.
- Esta pesquisa gerou trabalhos acadêmicos divulgados em eventos de cunho técnico-científicos e em periódicos especializados.



ANEXOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS

NORMAS DE REDAÇÃO DE DISSERTAÇÃO

1. Normas Gerais

1.1. Dissertação constitui o produto final de pesquisas desenvolvidas em cursos de Mestrado. Exigem investigações próprias à área de especialização e métodos específicos.

1.2. A Dissertação é de responsabilidade do aluno, da Comissão Orientadora e da Banca Examinadora, a quem competirá alterações na forma, na linguagem e no conteúdo.

2. Estrutura

2.1. A Dissertação deverá ser composta de: (i) capa, (ii) páginas pré-textuais, (iii) corpo da Dissertação propriamente dita, e (iv) anexo (páginas pós-textuais).

2.2. A capa deverá constar a autoria, o título da Dissertação, local e ano da aprovação da Dissertação. As capas das Dissertações encadernadas em mais de um volume deverão conter as mesmas informações acrescidas da identificação do respectivo volume. Obrigatoriamente, cinco (5) exemplares devem ser de capas duras de cor preta e letras amarelas.

2.3. As páginas pré-textuais serão compostas:

2.3.1. Primeira folha interna (página de rosto), contendo: (i) autoria, (ii) título da Dissertação, (iii) nota explicativa de que se trata de um trabalho de Dissertação, mencionando o Programa de Pós-graduação, a Universidade e o grau pretendido (Mestrado); (iv) comitê de orientação e (v) local e ano de aprovação da Dissertação. Conterá, no verso desta folha, a ficha catalográfica.

2.3.2. Segunda folha interna deve conter o título, o nome do mestrando (a), a data de aprovação da Dissertação, os nomes e assinaturas do orientador e dos participantes da Banca Examinadora, local e data.

2.3.3 Opcionalmente, poderão ser incluídas páginas adicionais contendo: (i) agradecimento (ii) oferecimento, (iii) dedicatória e (iv) biografia do autor, obrigatoriamente, deve conter (v) lista de símbolos, figuras, tabelas e sumário.

2.3.4. Folha (s) em que conste (m) o resumo em português, palavras-chave, o abstract em inglês e key words. O resumo deve destacar: o local da pesquisa, delineamento estatístico, caracterização do problema, focalizar o(s) objetivo(s), síntese da metodologia, resultados obtidos e conclusões.

2.4. O corpo da Dissertação conterá todo o trabalho impresso, avaliado e aprovado pela Banca Examinadora. O corpo da Dissertação poderá ser organizado na forma de capítulos.

2.5. O corpo da Dissertação em capítulos será composto das seções:

(i) Capítulo I: Introdução Geral, (ii) Capítulos (I ou mais artigo(s) científico(s)) e (iii) Conclusões Gerais. A organização interna deverá obedecer às características inerentes de cada capítulo. A bibliografia deverá aparecer ao final de cada capítulo.

2.6. O anexo (páginas pós-textuais) conterá material pertinente e complementar à Dissertação, como por exemplo, as normas do(s) periódico(s) escolhido(s).

3. Editoração

3.1. Composição tipográfica. As Dissertações deverão ser impressas em forma permanente e legível, com caracteres de alta definição e de cor preta no tipo Arial tamanho 12, com espaçamento 1,5.

3.2. Notação científica e medidas. A nomenclatura científica deverá ser diferenciada contextualmente, de acordo com as normas internacionais. As unidades métricas deverão seguir o padrão do Sistema Internacional de Unidades.

3.3 Papel. Utilizar papel A-4 (210 x 297 mm) branco, e suficientemente opaco para leitura normal.

3.4. Margens. A margem esquerda deve ser de 3 cm e as outras margens de 2 cm.

3.5. Paginação. Todas as páginas textuais e pós-textuais deverão ser numeradas em seqüência contínua, i.e., desde a página da Introdução geral (texto corrido), até a última página, em algarismos arábicos. A seqüência deverá incluir tudo que estiver como mapas, diagramas, páginas em branco e outros. As páginas pré-textuais deverão ser numeradas, sequencialmente, como algarismos romanos minúsculos.

3.6. Ilustrações. Fotografias e outras ilustrações deverão ser montadas de forma definitiva e incluídas no corpo da Dissertação. É admitido o uso de cores nas figuras e ilustrações. Em nenhuma circunstância deve-se-á empregar fita adesiva ou material similar para afixação de ilustrações no corpo da Dissertação. Folhas de tamanho superior a A4 serão aceitáveis, desde que dobradas, de forma a resultar em dimensões inferiores ao tamanho do papel adotado.

REVISTA BRASILEIRA DE FRUTICULTURA

ISSN 0100-2945 *versión impresa*

ISSN 1806-9967 *versión online*

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Forma e preparação de manuscritos

1. A Revista Brasileira de Fruticultura (RBF) destina-se à publicação de artigos e comunicações técnico-científicos na área da fruticultura, referentes a resultados de pesquisas originais e inéditas, redigidas em **português, espanhol** ou **inglês**, e ou 1 ou 2 revisões por número, de autores convidados.

2. É imperativo que todos os autores assinem o ofício de encaminhamento mencionando que : "OS AUTORES DECLARAM QUE O REFERIDO TRABALHO NÃO FOI PUBLICADO ANTERIORMENTE, OU ENCAMINHADO PARA PUBLICAÇÃO À OUTRA REVISTA E CONCORDAM COM A SUBMISSÃO E TRANSFERÊNCIA DOS DIREITOS DE PUBLICAÇÃO DO REFERIDO ARTIGO PARA A REVISTA.", deve indicar a natureza da publicação (ARTIGO OU COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA). De acordo com a natureza da publicação, o mesmo deverá ser redigido de acordo com as respectivas normas. Trabalhos submetidos como artigo não serão julgados ou publicados na forma de Comunicação Científica e vice-versa.

3. Os trabalhos devem ser encaminhados (SEM DISQUETE) em quatro vias (3 vias sem o nome do(s) autor(es) para serem utilizadas pelos assessores e uma via completa para o arquivo, incluindo e-mail.), em papel tamanho A4 (210 x 297mm), numeradas, com margens de 2 cm, em espaço um e meio, letra Times New Roman, no tamanho 13 e escritos em uma única face do papel.

4. O texto deve ser escrito corrido, numerando linhas e parágrafos. Tabelas e figuras em folhas separadas, no final do artigo.

5. O Custo para publicação na RBF é de R\$ 250,00 por trabalho de 12 páginas (R\$ 50,00 por página adicional) a ser pago da seguinte forma:

No encaminhamento inicial efetuar o pagamento de R\$ 45,00 e na aceitação do trabalho o restante da taxa :

a) R\$ 105,00 para sócios;

b) R\$ 205,00 para não sócios.

c) Banco do Brasil, agência nº 0269-0 e Conta Corrente nº 8356-9 (enviar cópia do comprovante)

OBS: Para trabalhos denegados ou encerrados, não será devolvido o pagamento inicial.

6. Enviar os trabalhos para o editor-chefe da RBF, Prof. Carlos Ruggiero, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane,s/n – Unesp/FCAV -CEP 14884-900 – Jaboticabal-SP - email: rbf@fcav.unesp.br . home page: www.rbf.org.br .

7. Uma vez publicados, os trabalhos poderão ser transcritos, parciais ou totalmente, mediante citação da RBF, do(s) autor(es) e do volume, número, paginação e ano. As opiniões e conceitos emitidos nos artigos são de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es).

8. Os artigos deverão ser organizados em **Título, Nomes dos Autores completos (sem abreviações e separados por vírgula, e de dois autores, separadas por &), Resumo (incluindo Termos para Indexação), Title, Abstract (incluindo Index Terms), Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusão, Agradecimentos (opcional), Referências Bibliográficas, Tabelas e Figuras. O artigo deve ser** submetido à correção de Português e Inglês, por profissionais habilitados, antes de ser encaminhado à RBF.

9. As comunicações devem ter estrutura mais simples 8 páginas, com texto corrido, sem destacar os itens, exceto Referências.

10. No **Rodapé** da primeira página, deverão constar a qualificação profissional, o endereço e e-mail atualizados do(s) autor(es) e menções de suporte financeiro.

11. As **Legendas** das Figuras e Tabelas deverão ser auto-explicativas e concisas. As Figuras coloridas terão um custo adicional de R\$250,00 em folhas que as contenham. As legendas, símbolos, equações, tabelas,etc. deverão ter tamanho que permita perfeita legibilidade, mesmo numa redução de 50% na impressão final da revista; parte alguma da Figura deverá ser datilografada; a chave das convenções adotadas deverá ser incluída na área da Figura; a colocação de título na Figura deverá ser evitada, se este **puder** fazer parte da legenda; as fotografias deverão ser de boa qualidade, bem focalizadas e de bom contraste, e serão colocadas em envelopes; cada Figura será identificada na margem, a traço leve de lápis, pelo seu número e nome do autor; as Figuras não devem estar danificadas com grampos.

12. Nas Tabelas, devem-se evitar as linhas verticais e usar horizontais, apenas para a separação do cabeçalho e final das mesmas, evitando o uso de linhas duplas.

13. **Apenas a versão final do artigo deve ser acompanhada por cópia em disquete OU cd**, usando-se preferencialmente os programas Word for Windows (texto) e Excel (gráficos).

14. As citações de autores no texto deverão ser feitas com letras minúsculas, tanto fora quanto dentro dos parênteses, separadas por "&", quando dois autores. Quando mais de dois autores, citar o primeiro seguido de "et al". (não use "itálico").

REFERÊNCIAS :

NORMAS PARA REFERENCIA (ABNT NRB 6023, Ago. 2002)

As referencias no fim do texto deverão ser apresentadas em ordem alfabética nos seguintes formatos:

ARTIGO DE PERIODICO

AUTOR (es). Titulo do artigo. **Titulo do periódico**, local de publicação, v., n., p., ano.

ARTIGO DE PERIODICO EM MEIO ELETRONICO

AUTOR(es). Titulo do artigo. **Titulo do Periódico**, cidade, v., n., p., ano.

Disponível em:<endereço eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado). ano

AUTOR(es). Titulo do artigo. **Titulo do Periódico**, local de publicação, v., n. p., ano. CD-ROM

LIVRO

AUTOR(es). **Titulo**: subtítulo. edição (abreviada). Local: Edidora, ano. p. (total ou parcial)

CAPITULO DE LIVRO

AUTOR. Titulo do capitulo. In: AUTOR do livro. **Titulo**: subtítulo. edição(abreviada). Local: Editora, ano. paginas do capítulo.

LIVRO EM MEIO ELETRONICO

AUTOR(es). **Titulo**. edição(abreviada). Local: Editora, ano. p. (total ou parcial).

Disponível em<endereço eletrônico>.Acesso em: dia mês (abreviado). Ano

AUTOR (es). **Titulo**. edição(abreviada). Local: Editora, ano. p. CD-ROM

EVENTOS

AUTOR.Titulo do trabalho. In: NOME DO EVENTO, numeração, ano, local de realização.

Titulo...Local de publicação: editora, ano de publicação. p.

EVENTOS EM MEIO ELETRONICO

AUTOR. Titulo do trabalho. In: NOME DO EVENTO, numeração, ano, local de realização. **Título**...Local de publicação: Editora, data de publicação. Disponível em:

<endereço eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado) ano.

AUTOR. Titulo do trabalho. In: NOME DO EVENTO, numeração, ano, local de realização. **Título**...Local de publicação: Editora, ano de publicação. CD-ROM

DISSERTAÇÃO, TESES E TRABALHOS DE GRADUAÇÃO

AUTOR. Titulo. ano. Numero de folhas ou volumes. Categoria da Tese (Grau e área de concentração)- Nome da faculdade, Universidade, ano.

NORMAS PARA TABELAS E FIGURAS:

Tabela - Microsoft Word 97 ou versão superior; Fonte: Times New Roman, tamanho 10; Parágrafo/Espaçamento simples; Largura da tabela em 10 ou 20,6 cm; Além de mandar a tabela no mesmo arquivo do trabalho, enviar cada tabela em arquivos separados; O título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word.

Gráfico - Microsoft Excel/ Word 97 ou versão superior; Fonte: Times New Roman, tamanho 10; Parágrafo/Espaçamento simples; Largura da tabela em 10 ou 20,6 cm; Além de estar no corpo do trabalho, o gráfico deverá ser enviado separadamente, como imagem (na extensão jpg, tif ou gif com 300 dpi de resolução), e como arquivo do Excel atentando para as especificações de largura e fonte; O título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word.

Fotos - Todas as fotos deverão estar com 300 dpi de resolução em arquivo na extensão: jpg, jpeg, tif ou gif; Além de estarem no corpo do trabalho, as fotos devem estar em arquivos separados; O título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word.

Figuras ou imagens geradas por outros programas – As imagens geradas por outros programas que não sejam do pacote Office Microsoft, devem estar com 300 dpi na extensão: jpg, tif ou gif; Largura de 10 ou 20,6 cm; O título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word.

BRAGANTIA

ISSN 0006-8705 *printed version*

ISSN 1678-4499 *online version*

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Scope and editorial policy

Bragantia is a Scientific Journal, edited by the Instituto Agronômico, Campinas, of the Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, Brazil.

The Journal publishes original scientific papers, in Portuguese or English or Spanish, on Agricultural Sciences, in the areas of Crop Production, Soil Science and Agroenvironmental Resources, Agricultural Mechanization and Automation and Basic Sciences applied to agriculture.

The papers submitted to **Bragantia** must be original and not simultaneously submitted to other Journals. This Journal publishes articles, scientific notes or short communications and review papers under request.

The content of manuscript submitted to Bragantia is exclusive responsibility of author (s).

Analysis and approval procedures of the papers

The papers submitted to the analysis of the Editorial Committee, after registration, are directed to an Associate-Editor to indicate two specialist reviewers in the area of knowledge of the paper. The opinions emitted by those reviewers are analyzed by the Associate-Editor who emits the conclusive opinion on behalf of the Editorial Committee. The revisions, together with the conclusive opinion, are directed to the authors for corrections, justifications and preparation of the new form. After that, the new version is confronted with the original version of the paper by the Associated-Editor for approval. Once accept, the paper is directed for references, abstract and vernacular revisions. After the final layout format, the text is submitted for the final corrections by the authors and by the editorial committee, being soon afterwards made available on-line in the **Bragantia** Journal homepage. Finally, the final form is directed to the Scielo and to a graph to be printed.

Preparation of manuscripts

Each original manuscript is to be mailed in duplicate, the original and a copie, with a floppy disk or CD, in Word for Windows, double-space typed in A4-size paper and font 12 Times New Roman. Pages are numbered sequentially, including tables and figures.

Research and Review Articles: maximum of 25 double-spaced pages, including sets of tables and illustrations.

Scientific Notes or Short Communications: maximum of 10 double-spaced pages, including tables and illustrations.

Front page: Title, short running title of about 50 characters including spaces, authors, with identification of the author for correspondence, complete professional addresses, E-mail, Phone-fax. Total number of pages, tables and figures.

Identify the paper section by selecting only one of the options:

Basic Areas (Botanic, Cytogenetic, Physiology Vegetal, Biotechnology, Molecular Biology e Phytochemistry)

Plant Breeding

Crop Production and Management

Plant Protection

Soil and Plant Nutrition

Seed and Fiber Technology

Post-harvest technology

Irrigation

Agricultural Engineering

Agrometeorology

Methodology and Experimental Techniques

Article sections:

a) Title; Author (s).

b) Abstract (maximum 250 words) and key words: includes the aims and objectives of the research, location and date of the experiment trials, and the most important results and conclusions.

c) Abstract in Portuguese with "palavras-chave" (key words).

d) Introduction (with literature review): maximum 2 pages, double-space typed.

e) Material and Methods: only new methods and unusual materials are described in details. Otherwise give general information followed by the specific references.

f) Results and Discussion.

h) Acknowledgements.

i) References.

Scientific Notes may not necessarily follow this subdivision. A new page is always used for the following sections: a) References: b) tables plus title and footnote; c) figure plus title and legend.

Text citations: In the text, literature citations appear like STEEL and TORRIE (1980) or (STEEL and TORRIE, 1980). When there are more than two authors: HAAG et al. (1992) or (HAAG et al., 1992). More than one publication of the same authors in the same year are discriminated with small letters: HAAG et al. (1992a,b).

References: follow the norms of the ABNT, NBR 6023 (Brazilian Association for Technical Norms). The sequence is based on the author's last name alphabetical order, and within this, the publication chronological order. It contains only literature mentioned in the text, tables and figures. Examples:

a) Periodicals

BOAVENTURA, Y.M.S. Microsporogênese de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner com número duplicado de cromossomos. **Bragantia**, Campinas, v.49, n.2, p.193-204, 1990.

b) Books

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 2.ed. New York : McGraw-Hill, 1980. 631p.

c) Book s chapters, annals, etc.

JACKSON, M.L. **Chemical composition of soil**. In: BEAR, F.E. (Ed.). Chemistry of the soil. 2.ed. New York: Reinhold, 1964. p.71-141

HIROCE, R., FIGUEIREDO, J.O. de; POMPEU JUNIOR, J.; CASTRO, J.L. Composição mineral das folhas de tangerineiras tardias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. **Anais**. Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988. v.1, p.287-290.

d) Dissertations and Thesis

OLIVEIRA, H. de. **Estudo da matéria orgânica e do zinco em solos sob plantas cítricas sadias e apresentando sintomas de declínio**. 1991. 77f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP, Jaboticabal.

Tables: are typewritten in separate sheets and numbered with Arabic numerals. Horizontal lines are only used to separate the table title from the heading and the latter from the table content and footnotes. Do not use vertical lines to separate columns.

Unities: are based on the International System of Measurements.

Figures: Graphs, maps, photographs, photo-micrographs are sequentially numbered with Arabic numerals and bring self-explanatory title/legend with the indication of insertion place in the text. Photographs and photomicrographs should be sent in photographic paper. Eletronically-created figures should be sent together with the correspondent computer files (one file per figure). For non electronically-created figures, high-resolution xerox copies or originals should be sent. Do not insert any figure in the text.

Submission of original papers

Papers submitted to Bragantia are supposed to be approved by authors, signed by them and mailed to the Editorial Committee to the following address:

BRAGANTIA

Instituto Agronômico (IAC)
Av. Barão de Itapura, 1.481
Caixa Postal 28
13020-902 Campinas (SP) – BRAZIL

Publication costs

US\$ 30,00 per per printed page

Color figures (photographs) will have an additional cost of US\$ 150,00 for half page and US\$ 300,00 for entire page

Send a money order of **FUNDAG - Fundação de Apoio à Pesquisa Agrícola**, to the bank: **BANCO DO BRASIL - Swift code: BRASBRRJCAS; banking account: 0013360X0000042005** and correspondence to IAC / BRAGANTIA, at the address below:

BRAGANTIA

Instituto Agronômico (IAC)
Caixa Postal 28
13020-902 Campinas (SP) - BRASIL

Tel: (19) 3231-5422 ramal 183

Fax: (19) 3231-5422 ramal 215

E-mail: editor@iac.sp.gov.br