

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

**INDUÇÃO DE MUTAÇÃO POR MEIO DE IRRADIAÇÃO GAMA EM
CULTIVARES DE BANANEIRA**

ROSA KARLA NOGUEIRA PESTANA

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

MARÇO – 2010

INDUÇÃO DE MUTAÇÃO POR MEIO DE IRRADIAÇÃO GAMA EM CULTIVARES DE BANANEIRA

ROSA KARLA NOGUEIRA PESTANA

Engenheira Agrônoma
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2007

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

Orientador: Prof. Dr. Sebastião de Oliveira e Silva

Co-Orientador: Prof. Dr. Edson Perito Amorim

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL
MESTRADO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2010

FICHA CATALOGRÁFICA

P476 Pestana, Rosa Karla Nogueira

Indução de mutação por meio de irradiação gama em cultivares de Bananeira. / Rosa Karla Nogueira Pestana _ Cruz das Almas, BA, 2010.

f. 108. ; il.

Orientador: Sebastião de Oliveira e Silva

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Área de Concentração Biotecnologia e Melhoramento.

1. Bananeira-Cultivo. 2. Banana prata. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias e Tecnológicas. II. Título.

CDD 634.772

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

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
ROSA KARLA NOGUEIRA PESTANA**

Dr. Sebastião de Oliveira e Silva
Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical - CNPMF
(Orientador)

Dr^a. Cláudia Ferreira Fortes
Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical - CNPMF

Dr. José Carlos Fialho de Resende
Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - Epamig

Dissertação (ou tese) homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em
Recursos Genéticos Vegetais em
Conferindo o Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais
em.....

*A minha mãe Marinalva
pelo incentivo e torcida
Dedico...*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela a sua presença constante na minha vida e por em muitos momentos difíceis, proporcionar-me a sua paz e a serenidade para enfrentar os obstáculos que me atravessavam e superar os desafios.

Aos meus pais, Antonio e Marinalva; principalmente à minha mãe pelo esforço, dedicação, conselhos, incentivo, ensinamentos e compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas.

Ao meu namorado Israel, pela compreensão e apoio em cada momento, me tolerando quando só falava “de dissertação”, me dando forças e, principalmente, estando sempre do meu lado e torcendo por mim. Graças a sua presença foi mais fácil transpor os dias de desânimo e cansaço.

À minha irmã Kátia pelo incentivo.

Ao meu orientador Dr. Sebastião de Oliveira e Silva pela oportunidade e orientação.

Ao meu co-orientador Dr. Edson Perito Amorim, pela orientação, paciência e por sempre estar disposto a ouvir, ajudar e tirar as dúvidas.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e ao curso de Mestrado pela oportunidade de realização do curso.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical por disponibilizar a sua infraestrutura para a realização dos trabalhos.

À Fapesb pela bolsa concedida.

Ao Raimundo de Santana (Bizunga) pela incansável ajuda, ensinamentos e amizade. Nunca me esquecerei de você.

Aos amigos, Kaliane, Lindinéia, Ariana e Tarciano pela amizade, ajuda, incentivo, companhia, pelas divertidas conversas, pelas risadas e pelos momentos de alegrias que passamos juntos, obrigada!!

A todos do Laboratório de Práticas Culturais pela ajuda na realização do trabalho.

À Campo Biotecnologia Vegetal Ltda. por disponibilizar o seu espaço físico para o desenvolvimento do trabalho de mestrado.

A todos do Laboratório de Virologia e Biologia Molecular, em especial ao funcionário Epaminondas e o estagiário Paulo Henrique pela atenção e por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos colegas do Curso de Mestrado, em especial a Ivonilda pela amizade.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram com a concretização desse trabalho e cujos nomes não foram citados aqui.

Muito Obrigada!!!

SUMÁRIO

Página

RESUMO
ABSTRACT

INTRODUÇÃO.....10

Capítulo 1

CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA DE MUTANTES DE BANANEIRA OBTIDOS
POR MEIO DA RADIAÇÃO GAMA.....25

Capítulo 2

CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DE MUTANTES DE
BANANEIRA.....57

Capítulo 3

INDUÇÃO DE MUTAÇÃO PARA REDUÇÃO DO PORTE EM BANANEIRA DO
TIPO TERRA.....88

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....107

ANEXO

INDUÇÃO DE MUTAÇÃO POR MEIO DE IRRADIAÇÃO GAMA EM CULTIVARES DE BANANEIRA

Autora: Rosa Karla Nogueira Pestana
Orientador: Sebastião de Oliveira e Silva
Co-orientador: Edson Perito Amorim

Resumo: Um dos fatores que levam a grandes perdas no cultivo da bananeira é o tombamento de planta provocado pela altura elevada do pseudocaule de algumas cultivares comerciais. Uma alternativa para superar estas limitações é a redução do porte com o uso de indução de mutação por meio da radiação gama. Este trabalho foi desenvolvido na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com o objetivo de avaliar a variabilidade genética de bananeira do tipo Prata ('Pacovan' e 'Preciosa') irradiada e testar a sensibilidade à radiação na cultivar Terra Maranhão visando identificar a melhor dose de raios gama para mutação nessa cultivar. O trabalho foi subdividido em três capítulos: no primeiro foi realizada a caracterização agrônômica de mutantes das cvs. Pacovan e Preciosa visando à seleção de plantas com menor porte; no segundo capítulo a caracterização agrônômica foi comparada com marcadores ISSR para estimar a diversidade genética entre os mutantes; já no terceiro capítulo buscou-se identificar a melhor dose de radiação para a indução de mutação na cultivar Terra Maranhão. Os resultados indicaram que existe variabilidade genética para a maioria das características agrônômicas entre as plantas irradiadas tanto na 'Pacovan' quanto na 'Preciosa', o que permitiu a seleção de quatro plantas irradiadas de cada cultivar com menor porte e com boas características agrônômicas. Por meio da análise molecular, observou-se que os marcadores ISSR foram eficientes na detecção da variabilidade genética entre as plantas irradiadas tanto para a cv. Pacovan quanto para a cv. Preciosa. O teste de sensibilidade realizado com a cultivar Terra Maranhão indicou que as doses de 20 e 30 Gy são as mais recomendadas para uso nesse genótipo.

Palavras-chave: mutação, irradiação, raios gama, melhoramento, ISSR.

MUTATION INDUCTION IN BANANA USING GAMMA IRRADIATION

Author: Rosa Karla Nogueira Pestana

Advisor: Sebastião de Oliveira e Silva

Co-advisor: Edson Perito Amorim

Abstract: One of the factors that lead to great losses in banana production is toppling due to tall height of the pseudostem in some commercial cultivars. An alternative to overcome this limitation is height reduction by inducing mutation using gamma radiation. This work was developed at Embrapa Cassava and Tropical Fruits aiming to evaluate the genetic variability of irradiated Prata type bananas (‘Pacovan’ and ‘Preciosa’) and test the sensitivity to radiation in the Terra Maranhão cultivar in order to identify the best dose of gamma rays for mutation in this cultivar. The work was subdivided into three chapters: in the first one the agronomic characterization of Pacovan and Preciosa mutants aiming the selection of shorter plants was carried out; in the second chapter the agronomic characterization was compared with ISSR markers in order to estimate the genetic diversity between the mutants; in the third chapter the best radiation dose for inducing mutation in the Terra Maranhão cultivar was assayed. The results indicated that there is genetic variability for most agronomic characteristics between the irradiated ‘Pacovan’ as well as in the ‘Preciosa’ plants which allowed for the selection of four shorter irradiated plants from each cultivar and good agronomic characteristics. Through molecular analysis it was observed that the ISSR markers were efficient in detecting genetic variability between the irradiated plants of the Pacovan and Preciosa cultivars. The sensitivity test carried out with the Terra Maranhão cultivar indicated that the doses of 20 and 30 Gy are the best ones recommended for this genotype.

Key-words: mutation, irradiation, gamma rays, breeding, ISSR.

INTRODUÇÃO

A bananeira é uma das fruteiras de maior importância econômica, explorada quase exclusivamente por pequenos produtores, sendo inclusive uma fonte contínua de alimento e renda, pois é produzida durante todo o ano, contribuindo também para a fixação da mão-de-obra no meio rural (RODRIGUES et al., 2001; SILVA et al., 2003).

O Brasil se destaca como o quarto produtor mundial de banana, com uma produção aproximada de 7,0 milhões de toneladas em 2008, em uma área cultivada de aproximadamente 513 mil hectares (FAO, 2009). A produção brasileira de banana está distribuída em todos os estados brasileiros, destacando-se a Região Nordeste como a maior produtora, representando 40% da produção nacional. Segundo o IBGE (2009), em 2008, a área colhida e produção total na Região Nordeste, foram de 218 mil ha e 2,8 milhões de toneladas, respectivamente. Estes números demonstram a importância desta cultura na geração direta e indireta de empregos, sendo responsável pela renda de milhões de famílias nordestinas.

Embora o Brasil seja um grande produtor e consumidor de bananas, a bananicultura nacional enfrenta sérios problemas nas fases de produção e pós-colheita, que limitam a sua inserção no mercado internacional. Um dos fatores que levam a perdas é a altura elevada das plantas das principais cultivares comerciais. Sabe-se que valores altos para este caráter são indesejáveis, pois dificultam a colheita do cacho (LEDO et al., 1997) e contribuem significativamente para o tombamento da planta, em decorrência da ação de ventos fortes e da má sustentação causada pelo ataque de nematóides, broca do rizoma ou mesmo devido ao arranquio desordenado de mudas. Por outro lado, plantas de porte

baixo possibilitam um maior adensamento e conseqüentemente, maior produtividade por unidade de área (ALVES & LIMA, 2000)

Silva et al. (1999) relatam que apesar de existir um grande número de variedades de banana no Brasil, considerando a preferência dos consumidores, produtividade, tolerância às pragas, altura de planta e resistência à seca e ao frio, poucas apresentam potencial agrônômico que permita a sua indicação com fins comerciais. As cultivares mais difundidas são as do Grupo AAA, subgrupo Cavendish (Nanica, Nanicão e Grande Naine), e do grupo genômico AAB, representadas por Prata, Prata anã e Pacovan, do subgrupo Prata; Terra e D'Angola, do subgrupo Terra; e Maçã e Mysore. Entretanto, todas apresentam pelo menos uma característica indesejável, como altura de planta inadequada, suscetibilidade a pragas, em especial, as sigatokas amarela e negra e o mal-do-Panamá.

Uma estratégia para a solução deste problema é o desenvolvimento de novas cultivares mediante o melhoramento genético convencional, a partir de hibridação seguida de seleção na progênie (SILVA, et al., 2002; DONATO et al., 2006). No entanto, no caso da bananeira, existem alguns obstáculos no melhoramento genético por meio dos métodos tradicionais. A esterilidade feminina e o reduzido número de sementes são alguns desses obstáculos (DE GUZMAN et al., 1982; SHEPHERD, 1987). De maneira geral, as cultivares comerciais são clones triplóides propagados assexuadamente, com flores fêmeas, flores macho estéreis e frutos partenocárpicos (CONSTANTIN, 1984; MAK et al., 1996).

O melhoramento por hibridação tem desenvolvido poucos híbridos tetraplóides superiores, derivados do cruzamento entre diplóides melhorados e cultivares comerciais triplóides (SILVA et al., 2001). A ploidia e a esterilidade resultam na baixa porcentagem ou falta de uniformidade de germinação, principalmente nos cruzamentos em que são produzidas sementes em pequeno número, constituindo um dos fatores limitantes à obtenção de híbridos (MATSUMOTO & YAMAGUCHI, 1991; SOUZA et al., 1997; NEVES et al., 2001; JAIN, 2005). Shepherd et al. (1986) apontam que este fato resulta da inexistência de pólen viável ou, talvez, de polinizadores naturais eficientes. As cultivares que não produzem sementes quando polinizadas ou aquelas que as produzem em

pequena quantidade podem ser tanto diplóides quanto triplóides, onde a ausência desta característica está relacionada à intensa seleção agrônômica, sendo um reflexo do processo de domesticação da espécie.

Em situações como esta, onde existem limitações na variabilidade genética natural, ou dificuldades relacionadas às aplicações de métodos tradicionais de melhoramento, uma ferramenta de trabalho que pode superar estas barreiras é a indução de mutação por meio de agentes mutagênicos.

As mutações são definidas como alterações herdáveis na seqüência do DNA, e que não são derivadas de recombinação gênica e ou segregação genética (VAN HARTEN, 1998), e representam a base genética das variações. Estas mutações servem como ferramenta aos programas de melhoramento genético, pois acabam produzindo novas formas alélicas, que podem conferir novas características agrônômicas, aumentando os recursos genéticos disponíveis para o melhoramento (RAMALHO et al., 1994). As mutações naturais ocorrem em taxas muito baixas, fator que limita a identificação de mutantes. No entanto, certas substâncias químicas podem ser utilizadas para aumentar as freqüências de mutações e variações, a partir das quais mutantes de interesse agrônômico podem ser selecionados (PREDIERI, 2001).

A utilização de mutações como fonte de variabilidade constitui, desde a metade do século XX, ferramenta adicional na busca de novas variedades (GAUL, 1970). Os principais agentes mutagênicos podem ser divididos em químicos: etil-nitroso-uréia (ENH), metil-nitroso-uréia (MNH), azida sódica (SA), etilmetanosulfonato (EMS), dietil sulfato, e físicos: raios X, raios gama, nêutrons rápidos, ultravioleta e raios laser (JAIN, 2002).

Quando o objetivo é a obtenção de mutantes apresentando tolerância a estresses bióticos e ou abióticos, um dos mutagênicos físicos mais utilizados tem sido a radiação com raios gama (MALUSZYNSKI et al., 1986; ALVES, 2000).

A indução de mutação mostra-se particularmente útil em situações onde há necessidade de alterações em poucas características de herança simples e em sistemas genéticos altamente desenvolvidos (ALLARD, 1971; RUTGER, 1983). Maluszynski et al., (1986) relataram que quase todas as características de herança simples ou governadas por sistemas poligênicos podem ser modificadas

por meio de mutações induzidas, como demonstra uma série de mutantes que foi lançada como cultivares ou utilizadas como fonte de variabilidade genética.

O uso de agentes mutagênicos para a obtenção de variabilidade tem sido amplamente empregado no melhoramento vegetal, em função da sua capacidade de alterar uma ou poucas características de cultivares bem estabelecidas, mas sem alterar suas características desejáveis (BROERTJES & HARTEN, 1988); e pode ser particularmente importante para o gênero *Musa*, que se caracteriza pelo sistema de reprodução assexuado, onde a variabilidade genética tende a ser naturalmente reduzida (NOVAK et al., 1986). Nessas plantas propagadas vegetativamente, o evento de mutação induzida em uma célula somática, de qualquer camada celular no meristema caulinar ou no primórdio de gema axilar, será transmitido, e eventualmente, expresso em descendentes somáticos (clones). Uma vez encontrado algum mutante de interesse, este é propagado vegetativamente, sem que seja alterada a combinação dos alelos, geralmente favoráveis (BRUCKNER, 1999).

A redução da altura da planta é uma das características mutantes mais frequentes em *Musa* spp., quando se utiliza a indução de mutação (NOVAK et al., 1990; CÔTE et al., 1993; ISRAELI et al., 1995; TANG & HWANG, 1998; NEWBURY et al., 2000; TANG & TAI, 2001).

Por esta razão, a aplicação da mutagênese associada ao uso de outras tecnologias *in vitro*, se constitui em uma alternativa aos programas de melhoramento genético convencionais de bananeira, visando à redução do porte da planta, não somente por ampliar a variabilidade genética, mas também por reduzir o tempo até a seleção de mutantes com potencial para lançamento como uma nova cultivar.

A radiação gama é considerada um dos principais indutores de mutação e de aberrações cromossômicas estruturais (PIMENTEL, 1990), sendo seus efeitos influenciados por diversos fatores, entre eles: as condições de armazenamento após a irradiação (CONGER & CARABIA, 1972); o genótipo dos indivíduos (BAHL & GUPTA, 1982); o modo de exposição ao agente mutagênico (IQBAL & ZAHUR, 1975); a presença de algumas substâncias químicas (KUMAR, 1991); a fase do ciclo celular (GUDKOV & GRODZINSKY, 1982); a dosagem de irradiação

(SANTOS, 1993); o grau de ploidia (BROCK, 1980); o conteúdo de DNA por genoma haplóide (PLEWA et al., 1993) e o nível de oxigênio (BUMP et al., 1982).

Maluszynski (2001) relata que os raios gama têm sido o mutagênico a partir do qual, diretamente, via mutações, ou indiretamente, pelo uso de mutantes em cruzamentos, mais variedades têm sido liberadas. As vantagens dos raios gama, são a dosimetria acurada, razoável reprodutibilidade e a alta e uniforme penetração em sistemas multicelulares. Por meio do uso da radiação gama, foram obtidos mutantes com características de maior produtividade, precocidade, menor porte, maior resistência a pragas, que foram utilizados na obtenção de novas variedades de diversas espécies de interesse agrônômico (MIKAELSEN, 1971).

Segundo dados da FAO/IAEA (2009), três mil e cem variedades foram obtidas por meio de indução de mutação e destas, aproximadamente 50% foram desenvolvidas pelo uso direto dos mutantes. O Brasil tem registrado na IAEA dez mutantes sendo duas variedades de arroz, três de feijão, duas de trigo e três de Crisântemo (FAO/IAEA, 2009).

Países da Ásia e Europa são os que mais contribuem para o aumento desse banco de cultivares, ocupando o primeiro e segundo lugar no melhoramento por mutagênese, respectivamente. A América Latina está em quinto lugar. Em uma análise geral percebe-se que 45% dos mutantes estão associados a grãos e cereais (aveia, arroz, trigo e feijão) (FAO/IAEA, 2009).

O uso de mutagênicos físicos no melhoramento da bananeira foi sugerido antes de 1963 por Champion (BROERTJES & HARTEN, 1988), no entanto, são relatadas apenas duas cultivares desenvolvidas por meio de raios gama. A primeira a 'Klue Hom Thong KU1' que apresenta elevado peso de cacho e a 'Novaria' com ciclo precoce e qualidade dos frutos (FAO/IAEA, 2009).

Jain (2005) relata que os principais objetivos da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), ao utilizar agentes mutagênicos em *Musa* sp., é integrar a radiação com o cultivo *in vitro* e com os métodos de genética molecular, para induzir variações desejáveis, como resistência a pragas, redução da altura de plantas e precocidade, assim como promover o desenvolvimento de métodos para a multiplicação rápida e em larga escala, dos mutantes ou segregantes.

Em bananeira, alguns trabalhos têm sido realizados visando à geração de variabilidade genética para o melhoramento, a partir de irradiação com agentes

físicos e químicos (NOVAK et al., 1990; MATSUMOTO & YAMAGUCHI, 1990; DOMINGUES et al., 1994; PÉREZ PONCE & ORELLANA, 1994; JAMALUDDIN, 1994; TULMANN NETO et al., 1995; BHAGWAT & DUNCAN, 1998a; MAK et al., 1996; ALVES, 2000; HO et al., 2001; BERMÚDEZ et al., 2002; GARCIA et al., 2002; ROUX, 2004; LÓPEZ et al., 2004 e RESENDE, 2005).

Novak et al. (1990) regeneraram explantes da cultivar Grande Naine, irradiados com 60 Gy, identificando uma planta com florescimento precoce (clone GN-60A). Este clone foi micropropagado e suas mudas testadas a campo, em quatro locais (ROUX et al., 1994). O clone floresceu significativamente mais cedo que os controles não irradiados (Grande Naine), sendo liberado subsequentemente com o nome de Novaria, e entrou em produção comercial na Malásia a partir de 1993 (MAK et al., 1996).

Bermúdez et al. (2002), utilizando gemas adventícias de clones de bananeira das cultivares Maçã (AAB) e Gros Michel (AAA), irradiadas com raios gama, na dose de 25 Gy, obtiveram três mutantes resistentes a *Fusarium oxysporum* avaliados a campo, em solo infectado com o patógeno.

Matsumoto & Yamaguchi (1990) utilizaram a irradiação em conjunto com seleção *in vitro* e selecionaram um mutante de Cavendish tolerante ao alumínio. Usando também radiação, foi obtido por Ho et al. (2001), outro clone dessa mesma cultivar resistente à murcha de *Fusarium*. Nenhuma dessas seleções, no entanto foi liberada para plantio comercial.

Domingues et al. (1994) e Tulmann Neto et al. (1995), utilizando a indução de mutação *in vitro*, com o uso de raios gama em ápices caulinares de bananeira, indicaram um maior aumento na variabilidade genética quando comparada com a taxa de variação somaclonal. O cobalto 60, com radiação de 10 a 60 Gy, tem sido empregado para a obtenção de novas variedades de bananeira, produtivas, resistentes a pragas, de porte baixo (PÉREZ PONCE & ORELLANA, 1994; JAMALUDDIN, 1994); ou tolerantes ao alumínio (MATSUMOTO & YAMAGUCHI, 1991). Resultados obtidos por Jamaluddin (1994) com a indução de mutação *in vitro*, mediante o uso de raios gama, em doses que variaram de 10 Gy a 60 Gy e ou etilmetanossulfonato (EMS), levaram à seleção de clones da Grande Naine (Fatom-1) e de Pisang Rastali (AAB Maçã) mais precoces, com porte baixo e com maior rendimento.

López et al. (2004) avaliando quatro cultivares de bananeira, 'SH3436-L9' (AAAA), 'Parecido al Rey' (AAA), 'Gran Enano' (AAA) e 'Burro CEMSA' (AAB), em condições de campo, verificaram ampla variação nas características avaliadas. Por exemplo, nove clones provenientes da irradiação com 45 Gy, da cultivar SH3436-L9 apresentaram no primeiro ciclo, menor altura, florescimento mais precoce, maior número de pencas por cacho, mais frutos por cacho e peso de cacho superior em comparação com a média do controle; no entanto, essas características agronômicas apresentaram instabilidade durante o segundo ciclo. Em contrapartida, no terceiro ciclo de produção, dois clones provenientes de tratamento com irradiação da 'Parecido al Rey' tiveram altura significativamente menor que as plantas controle, alguma resistência a Sigatoka-negra, florescimento mais precoce e maior peso de cacho. No mesmo experimento, dois clones originados de tratamento com irradiação das cultivares Gran Enano e Burro CEMSA apresentaram menor altura que as plantas controle até o segundo ciclo de produção, mas mostraram-se instáveis no terceiro ciclo de colheita.

Alves (2000) em estudos do efeito da radiação gama de 60 Gy em gema de bananeira Nanicão (*Musa* spp. Grupo AAA) micropropagadas, visando a indução de mutação e a seleção de mutantes tolerantes à salinidade, obteve o clone MN2 que apresentou maior capacidade de tolerância à salinidade, sob os níveis de 42,77; 85,55 e 128,34 mM de NaCl, impostos às gemas em experimentos em casa-de-vegetação.

Resende (2005) aplicando radiação gama nas doses de 20 Gy em triplóides AAB (Pacovan) e 30 Gy em tetraplóides AAAB (Pacovan Ken) obteve ampla variabilidade genética para porte e uma série de mutantes para outras características, que foram avaliadas em campo.

Bhagwat & Duncan (1998a), utilizando diferentes doses de raios gama em explantes *in vitro* de bananeira, identificaram plantas da cv. Highgate tolerantes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Em outro trabalho Bhagwat & Duncan (1998b) utilizando outros agentes mutagênicos (azida sódica, dietil sulfato e etilmetanosulfonato), obtiveram 6,1% de plantas da cultivar Highgate consideradas tolerantes a *Fusarium*.

Garcia et al. (2002), avaliando duas populações de plantas, irradiadas e não irradiadas da 'Grande Naine' verificaram que as plantas provenientes de

gemas adventícias irradiadas com raios gama apresentaram maiores taxas de variação fenotípica quando comparadas às plantas regeneradas a partir de gemas adventícias não-irradiadas.

Estes resultados confirmam a possibilidade de emprego da indução de mutação em bananeira para a obtenção de características agrônômicas desejáveis, como menor porte e resistência a pragas; embora poucas cultivares comerciais tenham sido originadas usando esta metodologia.

A aplicação da radiação gama, com o propósito de obter plantas com menor porte, surge como prática promissora, utilizada para reduzir os custos e as perdas de cachos por tombamento de planta durante a fase de produção.

Este trabalho teve como objetivos induzir variabilidade genética em bananeira tipo Prata ('Pacovan' e 'Preciosa') por meio de indução de mutação com raios gama, visando à obtenção de genótipos de porte baixo; estimar a variabilidade genética entre estes mutantes mediante a utilização de marcadores moleculares ISSR e avaliar a sensibilidade à radiação gama na cultivar Terra Maranhão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLARD, R. W. **Princípios de melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381 p.

ALVES, G. D. **Indução de mutação em gemas micropropagadas de bananeira 'Nanicão' (Musa spp., Grupo AAA) e seleção de mutantes tolerantes à salinidade**. 2000. 105 p. Tese (Doutorado)–Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2000.

ALVES, E. J.; LIMA, M. B. Tratos Culturais. In: CORDEIRO, Z. J. M. (org.). **Banana. Produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferências de Tecnologia, 2000, p.83-91.

BAHL, J.R.; GUPTA, P.K. Chlorophyll mutations in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.63, p.23-26, 1982.

BERMÚDEZ, I.; HERRERA, I.; ORELLANA, N.; VEITIA, N.; ROMERO, C.; CLAVELO, J.; GARCIA, L.; ACOSTA, M.; GARCIA, L.R.; PADRÓN, Y. Study of experimentally-induced variants of 'Manzano' (AAB) and 'Gros Michel' (AAA) bananas for their potencial resistance to *Fusarium wilt*. **Infomusa**, Montpellier, v.11, n.2, p.7-8, 2002.

BHAGWAT, B.; DUNCAN, E.J. (1998a). Mutation breeding of Highgate (*Musa acuminata* AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* using gamma irradiation. **Euphytica** 101:143-150.

BHAGWAT, B.; DUNCAN, E.J. (1998b). Mutation breeding of Highgate (*Musa acuminata* AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* using chemical mutagens. **Scientia Horticulturae**. 73:11-12.

BROCK, R.D. Mutagenesis and crop improvement. In: CARLSON, P.S. **Biology of crop productivity**. New York: Academic, 1980. p.383-409.

BROERTJES, C.; HARTEN, A.M. van. **Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops**. Amsterdam: Elsevier, 1988.

BRUCKNER, C. H. Melhoramento de fruteiras. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p.679-714.

BUMP, E. A. et al. Radiosensitization of hypoxic tumor cells by depletion of intracellular glutathione. **Science**, Washington. v.217, p.544-545, 1982.

CONGER, B.V.; CARABIA, J.V. Modification of the effectiveness of fission neutrons versus ⁶⁰Co gamma radiation in barley seeds by oxygen and seed water content. **Radiation Botany**, Great Britain, v.12, p.411-420, 1972.

CONSTANTIN, M.J. Potencial of *in vitro* mutation breeding for the improvement of vegetatively propagated crop plant. In: CONSTANTIN, M.J. **Induced mutation for crop improvement in Latin America**. Vienna: IAEA, 1984. p.59-77.

CÔTE, F.X.; SANDOVAL, J.A.; MARIE, P.H.; AUBOIRON, E. Variations in micropropagated bananas and plantains: literature survey. **Fruits**, Paris, v.48, p.11-18, 1993.

DE GUZMAN, E.V.; DEL ROSARIO, A.G.; PAGCALIWAGAN, P.C. Production of mutants by irradiation of *in vitro*-cultured tissues of coconut and banana and their

mass propagation by the tissue culture technique. In: **FINAL RESEARCH COORDINATION MEETING ON INDUCED MUTATIONS IN VEGETATIVELY PROPAGATED PLANTS**, Vienna, 1982. Vienna: IAEA, 1982. p.113-138.

DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; MENDES, B.M.J.; ANDO, A. Efeitos de doses de raios gama em ápices caulinares de bananeira (*Musa* sp.) desenvolvidos *in vitro* para indução de mutação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.7, p.1091-1098, 1994.

DONATO, S.L.R.; SILVA, S. O.; LUCCA FILHO, O.A.; LIMA, M.B.; DOMINGUES, H.; ALVES, J. S. Correlação entre caracteres da planta e do cacho em bananeira (*Musa* spp). **Ciências Agrotecnologia**, Lavras-MG:UFLA, v. 30, n. 1, p. 21-30, Jan/Fev., 2006.

FAO. **Food and agriculture organization of the United Nations**. Acessado em: 20 de nov 2009. Disponível em <faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>.

FAO/IAEA. **Mutant Varieties databases**. Disponível em:<<http://www.iaea.org/MDV/>>. Acesso em: 17 dez 2009.

GARCIA, L.R.; PÉREZ, P.J.; BERMÚDEZ, I.C.; ORELLANA, P.P.; VEITIA, N.R.; PADRÓN, Y.M.; ROMERO, C.Q. (2002). Comparative study of variability produced by induced mutation and tissue culture in banana (*Musa* sp.) cv 'Grande naine'. **Infomusa**, 11(2):4-6.

GAUL, H. Mutagen effects observable in the first generation.In: MANUAL MUTATION BREEDING, IAEA. 1969, New Delhi **Proceedings...** Vienna: FAO/IAEA Division 1971. 106.1970.

GUDKOV, I.N.; GRODZINSKY, D.M. Cell radiosensitivity variation in synchronously-dividing root meristems of *Pisum sativum* L. during the mitotic cycle. **International Journal of Radiation Biology**, Bristol, v.41, n.4, p.401-409, 1982.

HO, Y. M.; MAK, C.; LIEW, K. W. Selection of banana cultivars for tolerance to Fusarium wilt race 4 in Malaysia. In: MOLINA, A. B.; NIK MASDEK, N. H.; LIEW, K. W. (Ed.). **Banana Fusarium wilt management: towards sustainable**

cultivation. International Network for the Improvement of Bananas and Plantains – Asia and Pacific Network, Los Baños, Laguna, 2001. p.234-242.

IBGE. Instituto brasileiro de estatística e geografia: <http://www.ibge.gov.br/home/>. Acessado em: 26/11/2009.

IQBAL, J.; ZAHUR, M.S. Effects of acute gamma irradiation and developmental stages on growth and yield of rice plants. **Radiation Botany**, Great Britain, v.15, p.231-240, 1975. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B75CM4H5FD3X4&_user=687358&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000037899&_version=1&_urlVersion=0&_userid=687358&md5=9c64c180a81ce8d935e413f22adae5a3>.Doi:0.1016/S0033-7560(75)80022-6.

ISRAELI, Y.; LAHAV, E.; REUVENI, O. *In vitro* culture of bananas. In: GOWEN, S. (Ed.). **Bananas and plantains**. London: Chapman and Hall, 1995. p.147-178.

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

JAIN, S.M. Major mutation-assisted plant breeding programs supported by FAO/IAEA. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.82, p.113-123, 2005.

JAMALUDDIN, S.H. Mutation breeding of banana in Malaysia. In: JONES D.R. (Ed.) **The improvement and testing of Musa: a global Workshop**. Montpellier: INIBAP, 1994. p.228-232.

KUMAR, G. Modification of radiation induced genetic damage and impaired DNA synthesis by thiourea treatment in **Solanum incanum** L. **Cytologia**, Tokyo, v.56, p.117-123, 1991.

LEDO, A. da S.; LÉDO, F. J. da; SILVA, S. de O. **Avaliação de cultivares de banana em Rio Branco, Acre**. Rio Branco: Embrapa-CPAF/AC, 1997. 16p. (Boletim de pesquisa, 15). Disponível em: <<http://www.cpa fac.embrapa.br/pdf/bp15.pdf>> Acesso em: 20 de nov. 2009.

LÓPEZ, J.; STROSSE, H.; DE LA C. VENTURA, J.; SÁNCHEZ, R.; RODRÍGUEZ, S.; SWENNEN, R.; PANIS, B.; AFZA, R. Field evaluation of potencial mutants

obtained after gamma irradiation of banana and plantain (*Musa* spp.) shoot-tip and embryogenic cell cultures. In: JAIN, S.M.; SWENNEN, R. (Ed.). **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations**. Enfield: Science Publishers, 2004. p.87-96.

MAK, C.; HO, Y.W.; TAN, Y.P.; IBRAHIM, R. Novaria – un nuevo mutante de banano inducido por radiación gama. **Infomusa**, Montpellier, v.5, n.1, p.35-36, 1996.

MALUSZYNSKI, M.; MICKE, A.; DONINI, B. Genes for semi-dwarf rice induced by mutagenesis. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 1986, Manila. Proceedings... Manila: International Rice Research Institute, 1986, p. 729-737.

MALUSZYNSKI, M. Officially released mutant varieties – the FAO/IAEA Database. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.65, p.175-177, 2001.

MATSUMOTO, K.; YAMAGUCHI, H. Selection of aluminium-tolerant variants from irradiated protocorm-like bodies in banana. **Tropical Agriculture**, London, v.67, p.229-232, 1990.

MATSUMOTO, K.; YAMAGUCHI, H. Induction and selection of aluminum tolerance in the banana. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Plant mutation breeding to crop improvement**. Vienna: IAEA, 1991. v.2, p.249-256, 1991.

MIKAELSEN, K. Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, fast neutrons and ethyl methane sulphonate in rice. In: RICE BREEDING WITH INDUCED MUTATIONS III, IAEA, 1969, New Delhi **Proceedings...** Vienna: FAO/IAEA Division 1971. ,p. 91-96.

NEVES, T. dos S.; SILVA, S. de O.; OLIVEIRA, R. P. Resgate *in vitro* de embriões em genótipos diplóides de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.2, p.285-290, 2001.

NEWBURY, H.J.; HOWELL, E.C.; CROUCH, J.H.; FORD-LLOYD, B.V. Natural and culture-induced genetic variation in plantains (*Musa* spp. AAAB group). **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v.48, p.493-500, 2000.

NOVAK, F.J.; AFZA, R.; VAN DUREN, M.; OMAR, M.S. Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot-tips of banana and plantain (*Musa cvs*). **Tropical Agriculture**, London, v.67, n.1, p.21-28, 1990.

NOVAK, F. J.; BRUNNER, H.; AFZA, R.; PHADVIBULYA, V.; HERMELIN, T.; DONNI, B. Micropropagation and radiation sensitivity in shoot tip cultures of banana and plantain. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Nuclear technics and in vitro culture for plant improvement**. Vienna:IAEA, 1986, p.167-174.

PÈREZ PONCE J.; ORELLANA, P. Musa improvement in Cuba. In: JONES D.R. (Ed.) **The Improvement and testing of musa: o global Workshop**. Montpellier: INIBAP, 1994. p.203-206.

PIMENTEL, M.C.G. **Indução de aberrações cromossômicas estruturais em milho (*Zea mays* L.) por radiação gama**. 1990. 131f. Dissertação (Mestrado Genética e Melhoramento) - Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, UFV, Viçosa, MG.

PLEWA, M.J.; DOWD, P.A.; SCHY, W.E. & WAGNER, E.D. Induced forward mutation at the *yg2* locus and a comparison with the ABCW relationship. **Maize Genetics Cooperation Newsletter**, Columbia, 57:147-149, 1993.

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

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária**. São Paulo: Globo, 1994. 359p.

RESENDE, J.C.F. (2005). **Melhoramento da bananeira (*Musa* spp.) utilizando indução de mutação com raios gama e variação somaclonal para a redução da altura de plantas**. 155p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

RODRIGUES, M. G. V.; SOUTO, R. F.; MENEGUCCI, J. L. P. Influência do ensacamento do cacho na produção de frutos de bananeira-‘pratã-anã’ irrigada, na região norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v.23, n.3, p.559-562, dez. 2001.

ROUX, N.S. Mutation induction in *Musa* – review. In: JAIN, S.M.; SWENNEN, R. (Ed.). **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations**. Enfield: Science Publishers, 2004. p.23-32.

ROUX, N.S.; AFZA, R.; BRUNNER, H.; MORBURGO, R. VAN DUREN, M. Complementary approaches to cross-breeding and mutation breeding for musa improvement. In: JONES D.R. (Ed). **The improvement and testing of Musa: a global Workshop**. Montpellier, INIBAP, 1994. p.213-218.

RUTGER, J.N. Applications of induced and spontaneous mutation in rice breeding and genetics. **Advance in agronomy**, New York, v. 36, p. 383-413, 1983.

SANTOS, M.V.F.D.L. **Resposta à radiação gama em sementes de milho (*Zea mays* L.) sob a influência de agentes físicos e químicos**. 1993. 131f. Dissertação (Mestrado Genética e Melhoramento) Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SHEPHERD, K. Banana breeding: past and present. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.196, p.37-43, 1987.

SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.12, n.133, p.11-19, 1986.

SILVA, S. de O. e; SHEPHERD, K.; ALVES, E. J. Cultivares de banana. In: ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana: Aspectos técnicos socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1999, p. 85-105.

SILVA, S.O.; SOUZA JUNIOR, M.T.; ALVES, É.J.; SILVEIRA, J.R.S.; LIMA, M. Banana breeding program at Embrapa. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v.1, p.399-436, 2001.

SILVA, S. de O. e; FLORES, J. C. O.; LIMA NETO, F. P. Avaliação de cultivares e híbridos de bananeira em quatro ciclos de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.11, p.1567-1574, 2002.

SILVA, S. de O.; GASPAROTTO, L.; MATOS, A. P. de; CORDEIRO, Z. J. M.; FERREIRA, C. F.; RAMOS, M. M.; O. N. de. **Programa de Melhoramento de Bananeira no Brasil – Resultados Recentes**. Cruz das Almas, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. 36p. (Documentos 123).

SOUZA, J. da S.; TORRES FILHO, P. Aspectos socioeconômicos. In: ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana**: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: EMBRAPA – SPI / Cruz das Almas-CNPMPF, 1997. p.507-524.

TANG, C.Y.; HWANG, S.C. Selection and asexual inheritance of a dwarf variant of Cavendish banana resistant to race 4 of *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v.38, p.189-194, 1998.

TANG, C.Y.; TAI, C.H. Improvement of the horticultural traits of Cavendish banana (*Musa spp*, AAA group) through somaclonal variation. **Tropical Agriculture**, London, v.78, n.1, p.40-47, 2001.

TULMANN NETO, A.; LATADO, R. R.; CESAR DOS SANTOS, P.; BOLIANI, A. Use of *in vitro* mutation induction for resistance to *Fusarium* wilt in the banana. In: **The Use of Induced Mutations and Molecular Techniques for Crop Improvement**. IAEA, Vienna, 1995. p.641-642.

VAN HARTEN, A. M. **Mutation breeding**: Theory and practical applications. Cambridge: Cambridge University Press, 353p, 1998.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA DE MUTANTES DE BANANEIRA OBTIDOS POR MEIO DA RADIAÇÃO GAMA¹

¹ Artigo submetido ao comitê editorial do Periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira.

CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA DE MUTANTES DE BANANEIRA OBTIDOS POR MEIO DA RADIAÇÃO GAMA

Autora: Rosa Karla Nogueira Pestana
Orientador: Sebastião de Oliveira e Silva
Co-orientador: Edson Perito Amorim

RESUMO: A bananeira é uma das fruteiras de maior importância econômica, explorada quase exclusivamente por pequenos produtores. Constitui-se em uma fonte contínua de alimento e renda. Embora o Brasil figure como um dos maiores produtores de banana, a bananicultura nacional enfrenta sérios problemas nas fases de produção e pós-colheita, que limitam a sua inserção no mercado internacional. Um dos fatores que levam a grandes perdas na produção é o tombamento resultante da altura elevada da planta das principais cultivares comerciais. Uma estratégia para a solução deste problema é a redução do porte por indução de mutação. O objetivo deste trabalho foi caracterizar mutantes de banana tipo Prata (cv's Pacovan e Preciosa) irradiadas, durante dois ciclos de produção, visando a seleção de plantas com porte baixo e boas características agronômicas. Plantas *in vitro* das duas cultivares foram irradiadas com raios gamas nas doses de 20 Gy ('Pacovan' – 200 mudas) e 30 Gy ('Preciosa' – 200 mudas), subcultivadas por quatro vezes e posteriormente avaliadas em campo durante dois ciclos de produção. Foram selecionados quatro possíveis mutantes de cada cultivar com altura inferior a média de altura das testemunhas, após dois ciclos de avaliação. Foi observado que alguns desses mutantes apresentaram maior precocidade e maior peso do cacho quando comparados com as testemunhas. Pelos resultados obtidos é possível selecionar plantas 'mutantes' com características agronômicas superiores, tanto para a 'Pacovan' quanto para a 'Preciosa', submetidas à radiação gama.

Palavras-chaves: *Musa spp.*, mutagênese *in vitro*, seleção de mutantes

AGRONOMIC CHARACTERIZATION OF BANANA MUTANTS OBTAINED BY GAMMA RADIATION

Author: Rosa Karla Nogueira Pestana
Advisor: Sebastião de Oliveira e Silva
Co-advisor: Edson Perito Amorim

ABSTRACT: Banana is one of the most economically important fruit, explored almost exclusively by small producers and is a continuous source of food and income. Although Brazil is one of the main banana producers, the national banana production is undergoing serious problems especially in the phases of production and post-harvest limiting its participation in the international market. One of the main factors leading to great production losses is the toppling over due to the tall height of plants of main commercial cultivars. A strategy to solve this problem is reducing height by inducing mutation. The objective of the present work was to characterize irradiated Prata type banana mutants (cv's Pacovan and Preciosa) during two production cycles in order to select short plants in height with good agronomic characteristics. *In vitro* plants of both cultivars were irradiated with gamma rays in the doses of 20 Gy ('Pacovan' - 200 plants) and 30 Gy ('Preciosa' - 200 plants) subcultivated four times and afterwards evaluated in the field during two production cycles. Four possible mutants were selected from each cultivar with height smaller than the average height of the controls after two evaluation cycles. It was observed that some of these mutants presented greater precocity and bunch weight compared to the controls. From the results obtained it is possible to select 'mutant' plants with superior agronomic characteristics for 'Pacovan' as well as 'Preciosa' submitted to gamma radiation.

Key-words: *Musa spp.*, *in vitro* mutagenesis, selection of mutants

1 INTRODUÇÃO

A bananeira é uma das fruteiras de maior importância econômica, explorada quase exclusivamente por pequenos produtores. Constitui-se em uma fonte contínua de alimento e renda; além de proporcionar a fixação da mão-de-obra no meio rural (RODRIGUES et al., 2001; SILVA et al., 2003). O Brasil se destaca como o quarto produtor mundial de banana, com uma produção aproximada de 7,0 milhões de toneladas em 2008, em uma área cultivada próxima a 513 mil hectares de bananeira (FAO, 2009).

Embora o Brasil figure como um dos maiores produtores de banana, a bananicultura nacional enfrenta sérios problemas nas fases de produção e pós-colheita, que limitam os ganhos na comercialização desta fruta. Um dos fatores que levam a grandes perdas é o tombamento, provocado pela altura elevada da planta das principais cultivares comerciais.

Uma estratégia para a solução deste problema é o desenvolvimento de novas cultivares mediante o melhoramento genético, a partir de hibridação e seleção na progênie (SILVA, et al., 2002; DONATO et al., 2006). No entanto, no caso específico da bananeira, existem alguns obstáculos no melhoramento genético por meio dos métodos tradicionais, entre eles, a elevada esterilidade feminina e o reduzido número de sementes produzidas (DE GUZMAN et al., 1982; SHEPHERD, 1987).

Em situações como esta, e no caso onde existem limitações na variabilidade genética natural disponível, ou dificuldades relacionadas às aplicações de métodos tradicionais de melhoramento, uma ferramenta que pode superar estas barreiras é a indução de mutação por meio de agentes mutagênicos. Estas mutações não são derivadas de recombinação gênica e ou segregação genética (VAN HARTEN, 1998), e representam a base genética das variações.

Dentre as características mutantes que se observam em *Musa* spp., quando se utiliza a indução de mutação, uma das mais freqüentes refere-se a redução da altura de planta (CÔTE et al., 1993; ISRAELI et al., 1995; TANG & HWANG, 1998; NEWBURY et al., 2000; TANG & TAI, 2001).

Em bananeira, alguns trabalhos têm sido realizados visando à geração de variabilidade genética para o melhoramento, a partir de irradiação com agentes

físicos e químicos (NOVAK et al., 1990; MATSUMOTO & YAMAGUCHI, 1990; DOMINGUES et al., 1994; PÉREZ PONCE & ORELLANA, 1994; JAMALUDDIN, 1994; TULMANN NETO et al., 1995; BHAGWAT & DUNCAN, 1998a; MAK et al., 1996; ALVES, 2000; HO et al., 2001; BERMÚDEZ et al., 2002; GARCIA et al., 2002; ROUX, 2004; LÓPEZ et al., 2004 e RESENDE, 2005). No entanto, apenas duas cultivares desenvolvidas por meio de raios gama foram registradas na Agência Internacional de Energia Atômica, a primeira a 'Klue Hom Thong KU1' que apresenta elevado peso de cacho e a 'Novaria' com ciclo precoce e qualidade dos frutos (IAEA, 2009).

Este trabalho teve como objetivo caracterizar mutantes de banana tipo Prata (Pacovan e Preciosa) durante dois ciclos de produção, visando a seleção de plantas com porte baixo e boas características agronômicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Genético

Plantas *in vitro* de bananeira das cultivares de porte alto Pacovan (AAB) e Preciosa (AAAB), com aproximadamente cinco centímetros de comprimento e com 4-5 primórdios foliares, fornecidas pela Campo Biotecnologia Vegetal Ltda., em Cruz das Almas (BA), Brasil, foram utilizadas para indução de mutação visando a seleção de plantas com porte reduzido.

2.2 Irradiação gama de gemas *in vitro*

Aproximadamente 200 gemas *in vitro* de cada cultivar foram irradiadas utilizando fonte Co^{60} no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), vinculado a Universidade de São Paulo (USP). As doses utilizadas foram 20 Gy para a cultivar Pacovan e 30 Gy para Preciosa, com taxas de $1,322 \text{ kGy h}^{-1}$. Estas doses foram selecionadas a partir do teste de sensibilidade realizado por Resende (2005), que indicou 20 Gy para Pacovan (AAB) e 30 Gy para Pacovan Ken (AAAB). Para cada cultivar, dez gemas foram usadas como testemunhas, as quais também foram enviadas ao CENA/USP, porém sem exposição ao Co^{60} .

As gemas irradiadas foram transferidas para meio de cultura básico MS, solidificado com 2,2 g L⁻¹ de Phytigel, e suplementado com 30 g de sacarose e benzilaminopurina (BAP) na concentração de 3,0 mg L⁻¹ e pH 5,8. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de 27±2°C e fotoperíodo de 16 horas de luz. As mudas foram submetidas a quatro subcultivos, realizados em intervalos de 30 dias.

Após os subcultivos, as plantas foram enraizadas em meio MS, com adição de 0,25 mg L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA) e 8 g L⁻¹ de ágar como geleificante, com o pH ajustado para 5,8 e levadas para a sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de 40 μmol m⁻² s⁻¹ e temperatura de 26±2 °C, onde permaneceram por um período de 35-40 dias.

As plantas já enraizadas foram levadas para telado, onde foram aclimatadas em tubetes contendo substrato Plantmax (composto por casca de madeira processada, vermiculita expandida, carvão granulado, turfa processada e enriquecida com macro e micronutrientes) e em telado com sombrite 50 %, com controle de luminosidade e irrigação realizada por nebulização automática.

Uma pré-seleção foi realizada em telado, utilizando-se como critério a identificação de plantas com altura inferior as testemunhas em, no mínimo, 10%. Foram selecionadas 190 plantas entre as 3.200 irradiadas da 'Preciosa' e entre as 1.200 plantas irradiadas da cv. Pacovan selecionaram-se 179. Estas plantas juntamente com 53 outras testemunhas (36 de 'Pacovan' e 17 de 'Preciosa'), foram caracterizadas agronomicamente.

2.3 Caracterização agrônômica dos mutantes

O experimento foi conduzido no campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, em Cruz das Almas (BA), tendo como objetivo selecionar clones de bananeira tipo Prata de porte baixo e com boas características agrônômicas.

As plantas selecionadas em telado foram plantadas em períodos distintos, e as diferentes épocas de instalação do experimento ficaram condicionadas ao vigor das mudas. A implantação do experimento foi realizada sem adoção de delineamento experimental, e o objetivo principal do trabalho foi selecionar 10 % das melhores plantas em um grupo relativamente grande de bananeiras.

Nas duas áreas experimentais, o plantio foi feito no espaçamento 3 m x 4 m, e a adubação de fundação e cobertura foi realizada de acordo com as recomendações técnicas para a cultura, após resultados de análise de solo e foliar. As plantas irradiadas foram devidamente numeradas para facilitar a sua identificação, caso fosse selecionada.

Na avaliação, foram anotadas todas as variações ocorridas (planta com folha estreita, coloração alterada, plantas com folhas secas, má formação de diferentes órgãos, incluindo cacho e frutos), bem como sua frequência.

As avaliações foram realizadas no período do florescimento, avaliando-se 369 plantas irradiadas e 53 plantas não irradiadas (testemunhas) em dois ciclos de produção, quanto às seguintes características agronômicas: número de dias do plantio ao florescimento, do plantio a colheita e número de dias do florescimento a colheita; diâmetro do pseudocaule (cm); altura da planta (m); número de folhas vivas na floração e de filhos; peso do cacho (kg), de pencas (kg) e peso médio de frutos (g); número de frutos por cacho; comprimento do fruto da segunda e da penúltima penca (cm); diâmetro do fruto da segunda penca e da penúltima penca (mm); número de pencas e de folhas vivas na colheita; comprimento do engaço (cm); diâmetro de engaço (mm); presença de Sigatoka-amarela na floração e na colheita, cor do pseudocaule; cor da nervura principal; forma da roseta; cor dos brotos; cor da borda do pecíolo; abertura da base do pecíolo e posição das folhas.

2.4 Seleção dos mutantes para porte baixo

Para selecionar 10% das plantas com menor porte, utilizou-se metodologia proposta por Resende (2005).

Inicialmente foi realizada uma classificação individual das plantas da população, para as características consideradas importantes na seleção de genótipos de bananeira, como menor porte de planta, menor número de dias do plantio ao florescimento e maior peso de cacho. Os dados obtidos para essas características foram organizados em ordem crescente (para altura de planta e números de dias para emissão do cacho) e decrescente (para peso de cacho), obtendo-se o número da classificação de cada planta.

Em seguida, multiplicou-se o número da classificação de cada planta pelo 'peso' correspondente a cada característica. Para altura de planta foi dado peso seis por ser considerada a mais relevante neste estudo e para número de dias do plantio ao florescimento e peso de cacho peso dois. Ao final desse processo, obteve-se a pontuação final, para cada planta, resultado do uso da fórmula $y = [0,6 \times (\text{classificação de altura}) + 0,2 \times (\text{classificação da emissão de cacho}) + 0,2 \times (\text{classificação de peso de cacho})]$. Em cada ciclo, a pontuação final foi ordenada crescentemente, obtendo-se a classificação final. As plantas selecionadas foram aquelas que estavam presentes entre as 10% melhores classificadas, nos dois ciclos de produção. Essas seleções serão novamente levadas a campo e avaliadas quanto aos caracteres agronômicos durante mais dois ciclos de produção a fim de verificar a estabilidade das características identificadas para posteriormente serem avaliadas em ensaios de rendimento.

2.5 Análise estatística dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias agrupadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa SAS (Statistical Analysis System, 2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância para as variáveis estudadas são apresentados nas tabelas 1 e 2. A análise de variância revelou diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$) para quase todos os caracteres avaliados nos dois ciclos de produção, à exceção da altura de planta (ALP), número de filhos (NFI) e comprimento do fruto da penúltima penca (CFP).

Na Fonte de Variação Ciclo todas as variáveis foram significativas ($P < 0,01$), exceto o número de dias do florescimento a colheita (NFC), comprimento do fruto da penúltima penca (CFP) e presença de Sigatoka-amarela na floração (SIG). Na interação tratamentos x ciclos foram significativos o número de folhas vivas na floração e colheita (NFO e NFV), número de filhos (NFI), peso médio do fruto (PMF), comprimento e diâmetro do engaço (CEG e DEG), presença de Sigatoka-amarela na colheita (SIC), cor do pseudocaule (CPS), cor

da borda do pecíolo (CBP), abertura da base do pecíolo (ABP) e posição das folhas (PFO). Os coeficientes de variação (CV%) oscilaram entre 12,12 % (NPC) e 74,35 (CBR) (Tabelas 1 e 2). O elevado coeficiente de variação (CV%) observado para a cor dos brotos pode ser explicado pela deficiência na escala de cor utilizada na avaliação dos mutantes.

3.1 Caracterização agrônômica dos mutantes de bananeira das cultivares Pacovan e Preciosa

Nas tabelas 3 e 4 encontram-se os dados médios para as características de desenvolvimento e produção das cultivares de bananeira Pacovan e Preciosa, avaliadas no primeiro e segundo ciclos de produção.

As alturas das plantas da cultivar Pacovan apresentaram médias muito semelhantes entre os tratamentos irradiados e não irradiados, tanto no primeiro quanto no segundo ciclos. O mesmo foi observado na 'Preciosa'. Este resultado é esperado quando se avalia plantas de um mesmo genótipo, embora o número de plantas testemunhas foi considerado baixo.

Resende (2005), avaliando as cultivares de bananeira Pacovan (AAB) e Pacovan Ken (AAAB) irradiadas com raios gama nas doses de 20 e 30 Gy, observou médias de altura de plantas similares entre as plantas tratadas e não tratadas, considerando os dois ciclos avaliados. Da mesma forma, Mak et al. (1995) avaliando triplóides de bananeira 'Pisang Berengan' irradiados com raios gama, observaram que a altura média das plantas irradiadas não diferiram significativamente das plantas testemunhas.

Apesar da altura de planta em bananeira ser uma das características que mais sofre variações quando se utiliza agentes mutagênicos, valores médios semelhantes para essa característica são esperados em populações de plantas irradiadas e não irradiadas, a não ser que a radiação cause efeitos deletérios em um número considerável de plantas, comprometendo alguma característica específica (RESENDE, 2005).

Vale ressaltar que o primeiro ciclo da cultura não é apropriado para analisar o porte de plantas, pois a estabilidade só é atingida normalmente nos ciclos posteriores (SOTO BALLESTERO, 1992). Silva et al. (2002) e Leite et al. (2003), avaliando diferentes cultivares de bananeira, em quatro ciclos de produção,

observaram estabilidade para este caráter a partir do terceiro ciclo. Como a altura da planta apresenta uma tendência crescente ao longo dos ciclos, até que o genótipo atinja o seu porte definitivo, a seleção de mutantes de bananeira para porte baixo só poderá ser realizada a partir do segundo ciclo de produção em diante.

Trabalhos realizados por Silva et al. (2002); Lima et al. (2005); Donato et al. (2006); Ledo et al. (2008) e Oliveira et al. (2008) avaliando a cultivar Pacovan (sem tratamento mutagênico), observaram que as médias de alturas das plantas no primeiro e segundo ciclo, foram de 3,13 m e 3,94 m; 3,29 m e 4,43 m; 3,22 m e 4,44 m; 3,08 m e 4,80 m; e 2,81 m e 3,84 m, respectivamente. Estes valores são superiores aos observados no presente trabalho, tanto para as plantas irradiadas (2,74 m e 3,45 m), quanto para as testemunhas (2,76 m e 3,46 m) no primeiro e segundo ciclos, respectivamente (Tabela 3).

Para a cultivar Preciosa, Donato et al. (2006) encontraram valores para altura média das plantas no primeiro e segundo ciclos de 3,15 m e 3,54 m. Resultado semelhante foi obtido por Oliveira et al. (2008), com médias de 3,13 m e 4,54 m, para os mesmos ciclos. Estes valores são semelhantes aos obtidos no presente trabalho, considerando plantas irradiadas e testemunhas (Tabela 3).

Quanto ao número de dias do plantio ao florescimento (NPF), pelos resultados apresentados na Tabela 3, é possível observar que esse período nas plantas da cultivar Pacovan utilizadas como testemunha foi significativamente menor que nas plantas irradiadas, no primeiro ciclo avaliado. Resende (2005) encontrou resultados que divergem dos apresentados neste trabalho, indicando médias para o número de dias do plantio ao florescimento de 343 dias e 365 dias para plantas de Pacovan testemunhas e irradiadas. No entanto, para o segundo ciclo, diferença significativa não foi observada entre os tratamentos avaliados, verificando-se médias similares aquelas encontradas por Resende (2005). Donato et al. (2006) avaliando o número de dias do plantio ao florescimento da 'Pacovan' sem irradiação, obteve médias de 224 dias para o primeiro ciclo e 390 dias para o segundo. Estes valores menores observados se devem às condições de cultivo de Guanambi, BA, onde ocorrem temperaturas mais elevadas e o uso de irrigação.

Para a cultivar Preciosa nenhuma diferença foi observada entre os tratamentos para NPF, nos dois ciclos de produção avaliados (Tabela 3). Resultados encontrados por Donato et al. (2006) em Guanambi, BA apontam médias de 237 dias e 412 dias (primeiro e segundo ciclos) para 'Preciosa' não irradiada, valores inferiores aos apresentados neste estudo, tanto para o tratamento irradiado quanto para a testemunha.

O ciclo é um caráter de relevância no melhoramento genético da bananeira, já que reflete a precocidade da planta. A redução do número de dias necessários à emissão do cacho é desejada, pois representa a antecipação do retorno do investimento aplicado na lavoura (PEREIRA, 1997).

Com relação ao peso de cacho (Tabela 4), verificou-se que não houve diferença significativa, entre os tratamentos para a Pacovan, no primeiro ciclo de produção, confirmando os resultados obtidos por Resende (2005) com a mesma cultivar. Entretanto, no segundo ciclo diferença significativa foi observada entre os tratamentos, sendo que a Pacovan testemunha produziu, em média, cachos maiores quando comparada com a irradiada. Resultados obtidos por Lins (2005) apontam médias de peso de cacho para 'Pacovan' não irradiada de 2,20 Kg e 6,80 Kg, no primeiro e segundo ciclo, respectivamente; médias estas inferiores as obtidas no presente estudo. Resultados relatados por Silva et al. (2002); Leite et al. (2003); Lima et al. (2005); Donato et al. (2006) e Ledo et al. (2008) indicaram, entretanto, médias superiores para esse caráter em seus trabalhos com essa variedade, com o peso de cacho de 8,10 Kg e 13,80 Kg; 10,62 e 9,27; 10,91 Kg e 14,91 Kg; 17,80 Kg e 20,16 Kg; 14,33 Kg e 15,12 Kg, respectivamente, no primeiro e segundo ciclos.

A 'Preciosa' apresentou diferença significativa entre os tratamentos irradiados e testemunhas, nos dois ciclos de produção. Verificou-se ainda, que as plantas dessa cultivar utilizadas como testemunha produziram os maiores pesos de cachos, com médias de 9,56 Kg e 7,98 Kg no primeiro e segundo ciclos de produção, destacando-se entre os demais tratamentos (Tabela 4). Donato et al. (2006) observaram peso médio de cacho de 16,34 Kg e 22,32 Kg para o primeiro e segundo ciclos para 'Preciosa' não irradiada, valores superiores aos obtidos pelo presente trabalho. Vale ressaltar que os maiores pesos de cachos obtidos por esse autor se deve às condições mais adequadas de cultivo.

Em relação as demais características avaliadas, para a cv. Preciosa no primeiro ciclo, constataram-se diferenças significativas entre os tratamentos irradiados e não irradiados para as características número de folhas vivas na floração (NFO), diâmetro dos frutos da segunda e penúltima penca (DFS e DFP) (Tabelas 3 e 4). Considerando o segundo ciclo, as características peso da penca (PPE), número de frutos (NFR), peso médio do fruto (PMF), diâmetro do fruto da segunda penca (DFS) e número de pencas (NPE) diferiram significativamente entre os tratamentos avaliados (Tabela 3 e 4).

Para 'Pacovan', diferenças significativas no primeiro ciclo foram observadas para número de dias do plantio a colheita (NPC), peso médio do fruto (PMF) e número de folhas vivas na colheita (NFV). Para o segundo ciclo de produção, diferenças foram observadas para diâmetro do pseudocaule (DIA), peso de pencas (PPE), número de frutos (NFR), comprimento e diâmetro do fruto da segunda penca (CFS e DFS) e número de folhas na colheita (NFV) (Tabelas 3 e 4).

Em relação às características vegetativas avaliadas nos dois ciclos de produção, verificou-se, entre as plantas das cultivares Pacovan e Preciosa submetidas à irradiação com raios gama, que as alterações mais freqüentes ocorridas nos mutantes estão relacionadas ao porte, pseudocaule e folha (Tabelas 5 e 6).

Observou-se, para a 'Pacovan' nos dois ciclos, que diferença significativa foi encontrada apenas no segundo ciclo para as características cor da nervura principal (CNP) e cor da base do pecíolo (CBP). A caracterização vegetativa das plantas da cultivar Preciosa no primeiro ciclo revelou valores médios significativos entre os tratamentos, somente para a cor da borda do pecíolo (CBP) e posição das folhas (PFO); no segundo ciclo foi observada diferença entre cor da nervura principal (CNP) e cor da borda do pecíolo (CBP) (Tabela 5).

Em valores percentuais, foi observado que a alteração mais freqüente nos mutantes refere-se à ocorrência de variações nas folhas, seguidas de alterações no pseudocaule (Tabela 6 e Figura 1). Esses resultados concordam com os obtidos por Resende (2005), que observou variações na coloração do pseudocaule para 'Pacovan' semelhantes as apresentadas neste trabalho. Mak et al. (1995) e Silva et al. (2004) também observaram que as maiores freqüências de

variações fenotípicas encontradas em plantas mutantes de bananeira referem-se a alterações na coloração do pseudocaule.

Foi também verificado que, algumas bananeiras apresentaram características que indicam a ocorrência de alterações na disposição das folhas, sugerindo modificações no número cromossômico. Essa observação concorda com a obtida por Silva et al. (2004).

Chai et al. (2004) avaliando mutantes de 'Pisang Berengan' irradiados com raios gama nas doses de 45 Gy, observaram vários possíveis mutantes para coloração das folhas, incluindo plantas albinas, com tonalidade verde escuro, e várias outras formas de variegação. Além destas alterações, foram também observadas deformações na lâmina foliar, presença de folhas eretas, pseudocaule de colorações diversas e com pecíolos ondulados.

Com relação ao porte, como era esperado, no primeiro ciclo foram obtidas 41 plantas da cv. Preciosa (21,58%) e 32 da 'Pacovan' (17,87%) com porte baixo, ou seja, com altura inferior a 2,50 m (Tabela 6). No segundo ciclo foram identificadas poucas plantas irradiadas com porte reduzido, quando comparadas com as plantas não tratadas. Verificando-se que apenas quinze (7,89%) das 190 plantas avaliadas da cultivar Preciosa apresentaram altura abaixo de 2,50 m e somente sete (3,91%) das 179 plantas avaliadas da Pacovan.

As mutações mais freqüentes observadas na colheita foram associadas ao cacho que apresentaram menor número de frutos, coloração arroxeadada, raquis com presença de restos florais e engaço curto (Figuras 1).

3.2 Caracterização dos mutantes selecionados

Os resultados apresentados na Tabela 7 são referentes às plantas selecionadas da cultivar Pacovan entre as 10% melhores classificadas quanto aos caracteres: altura de planta (ALP), peso de cacho (PCA) e número de dias do plantio ao florescimento (NPF), avaliadas em dois ciclos de produção.

Observou-se que a altura de todas as quatro plantas selecionadas dentre as 179 avaliadas no primeiro ciclo foram menores que a média das testemunhas, assim como dos clones (Figura 2). A menor altura dentre as plantas selecionadas foi observada na planta 83, com uma diferença de 0,56 cm em relação à testemunha, equivalente a uma redução de 20,28% para essa característica.

Entretanto, no segundo ciclo as plantas de número 82 e 83 apresentaram a menor (0,26 m inferior a testemunha) e a maior redução na altura (1,06 m inferior a testemunha), respectivamente. Bermúdez et al. (2000), trabalhando com mutantes da cultivar FHIA-21, observaram no primeiro ciclo, frequência geral de variação de 4,78%, sendo que as características mais alteradas foram a altura de planta e o número de dedos por cacho.

No primeiro ciclo, verificou-se que, a planta 83 foi a mais precoce para a emissão da inflorescência (44 dias) e também apresentou maior peso de cacho (Tabela 7 e Figura 2). Resultado semelhante foi obtido no segundo ciclo, apenas para a emissão da inflorescência, com 155 dias a menos que a média das testemunhas. Esta planta apresentou também uma redução na altura de 30,62% (1,06 m). O número de dias do plantio ao florescimento, combinado a altura de planta contribuiu para a sua classificação entre as 10% melhores, apesar de produzir cachos com menor peso no segundo ciclo de produção.

Em relação ao número de dias do plantio ao florescimento, observou-se no primeiro ciclo, que a planta 83 apresentou os menores valores quando comparada a média das testemunhas e dos clones. Na avaliação do segundo ciclo, além da planta 83, a de número 72 foi mais precoce que a média das testemunhas e dos clones irradiados, em 131 dias.

Quanto ao número de dias do plantio a colheita, no primeiro ciclo não foi observada variações, com valores próximos a média das testemunhas. No entanto, no segundo ciclo as plantas 83 e 72 mostraram-se mais precoce quando comparada com as testemunhas e a média dos clones irradiados (Figura 2).

Na avaliação do primeiro ciclo para o número de dias do florescimento a colheita, foram observados valores semelhantes à média das testemunhas em todas as plantas selecionadas. No segundo ciclo, constatou-se que somente a planta 72 mostrou valores superiores à testemunha e à média dos clones irradiados.

Em relação ao peso de cacho, verificou-se que as plantas selecionadas apresentaram os maiores valores quando comparadas com as testemunhas e a média de todos os clones, destacando-se a planta 72 entre as demais, no primeiro ciclo avaliado. Entretanto, no segundo ciclo, apresentaram valores inferiores à média da testemunha e dos clones irradiados. Para o peso de pencas

no primeiro ciclo, verificou-se que as plantas selecionadas apresentaram valores superiores e próximos a média das testemunhas. O mesmo foi observado no segundo ciclo, à exceção das plantas 72 e 83 que apresentaram pesos de pencas bem menores quando comparados com o da testemunha e o da média dos clones irradiados.

Quanto ao peso médio do fruto, foi observado no primeiro ciclo, que a planta 83 apresentou os maiores valores entre as selecionadas, as testemunhas e a média dos clones irradiados. No segundo ciclo, a planta 82 apresentou peso de cacho similares a média das testemunhas, sendo que as demais plantas apresentaram valores inferiores. Observou-se também, no primeiro ciclo para o número de frutos por cacho valores similares à média das testemunhas, à exceção da planta 83 que se mostrou inferior para essa característica. Entretanto, no segundo ciclo, as plantas 72 e 83 apresentaram menor número de frutos entre as plantas selecionadas, valores estes, que também foram menores que os da testemunha e da média dos clones irradiados (Tabela 7).

Para a Preciosa as características das plantas selecionadas nos dois ciclos, encontram-se na Tabela 8. Constatou-se no primeiro ciclo, que todas as plantas selecionadas apresentaram alturas inferiores à média das testemunhas e da média dos clones irradiados. A planta de número 49 foi a que apresentou a menor altura entre as plantas selecionadas (Tabela 8 e Figura 3). O mesmo foi observado na avaliação do segundo ciclo, em que foi constatada uma redução de 25,15% (0,84 cm) para a planta 49, em relação à média das testemunhas.

Na avaliação do número de dias para a emissão do cacho, verificou-se que as plantas de número 9, 10 e 147 apresentaram os menores valores quando comparadas com as plantas testemunhas, no primeiro ciclo de produção. A planta de número 9 foi a mais precoce dentre as selecionadas, com uma diferença de 71 dias da média das testemunhas (Tabela 8). As demais plantas selecionadas apresentaram valores superiores para esse caráter quando comparadas com as testemunhas. No segundo ciclo, entretanto, as plantas selecionadas apresentaram valores semelhantes à média das testemunhas para essa característica, exceto as plantas de números 10 e 147 que emitiram a inflorescência 86 e 96 dias antes da média das testemunhas, respectivamente.

Em combinação com a altura de planta, esse caráter permitiu a seleção dessas duas plantas dentre as 10% melhores.

Com relação ao peso do cacho e de pencas, no primeiro ciclo, observou-se que a planta 49 apresentou peso de cacho e de pencas superiores a média das testemunhas e dos clones irradiados, destacando-se das demais plantas selecionadas. De maneira geral, verificou-se que no segundo ciclo todas as plantas selecionadas apresentaram valores inferiores a média das testemunhas para essas características.

Quanto ao número de frutos, observou-se nas plantas selecionadas valores semelhantes aos observados nas testemunhas, nos dois ciclos avaliados, à exceção da planta 9 no primeiro ciclo, que apresentou valor inferior para essa característica, quando comparada com a testemunha (Tabela 8). Para o peso médio do fruto verificou-se que, no primeiro ciclo, a planta 49 apresentou valor superior à média das testemunhas. Já no segundo ciclo, foram observadas médias semelhantes entre plantas selecionadas e a média das testemunhas (Tabela 8).

Trabalhos semelhantes foram realizados por Lopéz et al. (2004), selecionando nove clones mutantes superiores de SH3436-L9, baseando-se principalmente na redução da altura, florescimento precoce, número de frutos por cacho e peso de cacho. Resende (2005) trabalhando com mutantes de bananeira das cultivares Pacovan e Pacovan Ken realizou a seleção com base na altura de planta, peso e emissão de cacho, comparando os valores das características observadas nesses indivíduos com os da média das testemunhas.

CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos, verifica-se que, algumas plantas irradiadas apresentam porte reduzido e produção de cacho superior às testemunhas, indicando que é possível selecionar plantas mutantes com características agrônômicas superiores, tanto para 'Pacovan' quanto para 'Preciosa'. Desta forma, a indução de mutação por meio de raios gama é eficiente para induzir variabilidade nestas cultivares e permitir a seleção de mutantes promissores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, G. D. **Indução de mutação em gemas micropropagadas de bananeira 'Nanicão' (Musa spp., Grupo AAA) e seleção de mutantes tolerantes à salinidade.** 2000. 105 p. Tese (Doutorado)–Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2000.
- BERMÚDEZ, I.; ORELLANA, P.; PÉREZ PONCE, J.; CLAVELO, J.; VEITIA, N.; ROMERO, C.; MUJICA, R.; GARCIA, R.L. Improvement of the hybrid plantain clone FHIA-21 by mutagenesis *in vitro*. **Infomusa**, Montpellier, v.9, n.1, p.16-19, 2000.
- BERMÚDEZ, I.; HERRERA, I.; ORELLANA, N.; VEITIA, N.; ROMERO, C.; CLAVELO, J.; GARCIA, L.; ACOSTA, M.; GARCIA, L.R.; PADRÓN, Y. Study of experimentally-induced variants of 'Manzano' (AAB) and 'Gros Michel' (AAA) bananas for their potencial resistance to *Fusarium wilt*. **Infomusa**, Montpellier, v.11, n.2, p.7-8, 2002.
- BHAGWAT, B.; DUNCAN, E.J. (1998). Mutation breeding of Highgate (*Musa acuminata* AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* using gamma irradiation. **Euphytica** 101:143-150.
- CHAI, M.; HO, Y.W.; LIEW, K.W.; ASIF, J.M. Biotechnology and *in vitro* mutagenesis for banana improvement. In: JAIN, S.M.; SWENNEN, R. (Ed.). **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations.** Enfield: Science Publishers, 2004. p.59-77.
- CÔTE, F.X.; SANDOVAL, J.A.; MARIE, P.H.; AUBOIRON, E. Variations in micropropagated bananas and plantains: literature survey. **Fruits**, Paris, v.48, p.11-18, 1993.
- DE GUZMAN, E.V.; DEL ROSARIO, A.G.; PAGCALIWAGAN, P.C. Production of mutants by irradiation of *in vitro*-cultured tissues of coconut and banana and their mass propagation by the tissue culture technique. In: FINAL RESEARCH COORDINATION MEETING ON INDUCED MUTATIONS IN VEGETATIVELY PROPAGATED PLANTS, Vienna, 1982. Vienna: IAEA, 1982. p.113-138.
- DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; MENDES, B.M.J.; ANDO, A. Efeitos de doses de raios gama em ápices caulinares de bananeira (*Musa sp.*)

desenvolvidos *in vitro* para indução de mutação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.7, p.1091-1098, 1994.

DONATO, S. L. R.; SILVA, S. de O. e; LUCCA FILHO, O. A.; LIMA, M. B.; DOMINGUES, H.; ALVES, J. S. Comportamento de variedades e híbridos de bananeira (*Musa spp.*), em dois ciclos de produção no sudoeste da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 1, p. 139-144, 2006.

FAO/IAEA. **Mutant Varieties databases.** Disponível em: <<http://www.iaea.org/MDV/>>. Acesso em: 17 dez 2009.

FAO. **Food and agriculture organization of the United Nations.** Acessado em: 20 de nov 2009. Disponível em <faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>.

GARCIA, L.R.; PÉREZ, P.J.; BERMÚDEZ, I.C.; ORELLANA, P.P.; VEITIA, N.R.; PADRÓN, Y.M.; ROMERO, C.Q. Comparative study of variability produced by induced mutation and tissue culture in banana (*Musa sp.*) cv 'Grande naine'. **Infomusa**, v.11, n.2, p.4-6. 2002.

HO, Y. M.; MAK, C.; LIEW, K. W. Selection of banana cultivars for tolerance to fusarium wilt race 4 in Malaysia. In: MOLINA, A. B.; NIK MASDEK, N. H.; LIEW, K. W. (Ed.). **Banana Fusarium wilt management: towards sustainable cultivation.** International Network for the Improvement of Bananas and Plantains – Asia and Pacific Network, Los Baños, Laguna, 2001. p.234-238.

ISRAELI, Y.; LAHAV, E.; REUVENI, O. *In vitro* culture of bananas. In: GOWEN, S. (Ed.). **Bananas and plantains.** London: Chapman and Hall, 1995. p.147-178.

JAMALUDDIN, S.H. Mutation breeding of banana in Malaysia. In: JONES D.R. (Ed.) **The improvement and testing of Musa:** a global Workshop. Montpellier: INIBAP, 1994. p.228-232.

LÉDO, A. S.; SILVA JUNIOR, J. F. da; LÉDO, C. A. S.; SILVA, S. O. e. Avaliação de genótipos de bananeira na Região do Baixo São Francisco, Sergipe. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 3, p. 691-695, 2008.

LEITE, J. B. V.; SILVA, S. de O. e; élio José ALVES, LINS, R. D.; JESUS, O. N. de. Caracteres da planta e do cacho de genótipos de bananeira, em quatro ciclos de produção, em Belmonte, Bahia. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 25, n. 3, p. 443-447, 2003.

LIMA, M. B.; SILVA, S. de O. e; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, W. S. J.; GARRIDO, M. S.; AZEVEDO, R. L. Avaliação de cultivares e híbridos de bananeira no recôncavo baiano. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.3, p.515-520, 2005.

LINS, R. D. **Avaliação de genótipos de bananeira em dois ciclos de produção no município de Uma, Bahia**. 2005. 55 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Escola de Agronomia, Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas-BA.

LÓPEZ, J.; STROSSE, H.; DE LA C. VENTURA, J.; SÁNCHEZ, R.; RODRÍGUEZ, S.; SWENNEN, R.; PANIS, B.; AFZA, R. Field evaluation of potencial mutants obtained after gamma irradiation of banana and plantain (*Musa* spp.) shoot-tip and embryogenic cell cultures. In: JAIN, S.M.; SWENNEN, R. (Ed.). **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations**. Enfield: Science Publishers, 2004. p.87-96.

MAK, C.; Ho YW.; TAN YP.; IBRAHIM, R.; LIEW, KW (1995). Mutation reduction by gamma irradiation in a triploid banana Pisang Berangan. **Malaysian Jour. Sci.** 16: 77-81.

MAK, C.; HO, Y.W.; TAN, Y.P.; IBRAHIM, R. Novaria – un nuevo mutante de banano inducido por radiación gama. **Infomusa**, Montpellier, v.5, n.1, p.35-36, 1996.

MATSUMOTO, K.; YAMAGUCHI, H. Selection of aluminium-tolerant variants from irradiated protocorm-like bodies in banana. **Tropical Agriculture**, London, v.67, p.229-232, 1990.

NEWBURY, H.J.; HOWELL, E.C.; CROUCH, J.H.; FORD-LLOYD, B.V. Natural and culture-induced genetic variation in plantains (*Musa* spp. AAAB group). **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v.48, p.493-500, 2000.

NOVAK, F.J.; AFZA, R.; VAN DUREN, M.; OMAR, M.S. Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot-tips of banana and plantain (*Musa cvs*). **Tropical Agriculture**, London, v.67, n.1, p.21-28, 1990.

OLIVEIRA, T. K.; LESSA, L. S.; SILVA, S. de O. e; OLIVEIRA, J. P. Características agronômicas de genótipos de bananeira em três ciclos de produção em Rio Branco, AC. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.8, p.1003-1010, 2008.

PÈREZ PONCE J.; ORELLANA, P. Musa improvement in Cuba. In: JONES D.R. (Ed.) **The Improvement and testing of musa: a global Workshop**. Montpellier: INIBAP, 1994. p.203-206.

PEREIRA, M. C. T. **Crescimento e produção de primeiro ciclo da bananeira (*Musa spp.*) ‘Prata-Anã’ (AAB) em sete espaçamentos, em Jaíba e Visconde do Rio Branco (MG)**. 1997. 56 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

RESENDE, J.C.F. **Melhoramento da bananeira (*Musa spp.*) utilizando indução de mutação com raios gama e variação somaclonal para a redução da altura de plantas**. 2005. 155p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

RODRIGUES, M. G. V.; SOUTO, R. F.; MENEGUCCI, J. L. P. Influência do ensacamento do cacho na produção de frutos de bananeira-‘prata-anã’ irrigada, na região norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v.23, n.3, p.559-562, dez. 2001.

ROUX, N.S. Mutation induction in *Musa* – review. In: JAIN, S.M.; SWENNEN, R. (Ed.). **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations**. Enfield: Science Publishers, 2004. p.23-32.

SAS LEARNING EDITION **Programa SAS - Getting started with the SAS Learning Edition**. Cary SAS Publishing, North Carolina, 2002. 200p.

SHEPHERD, K. Banana breeding: past and present. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.196, p.37-43, 1987.

SILVA, S. de O. e; FLORES, J. C. de O.; Lima Neto, F. P. Avaliação de cultivares e híbridos de bananeira em quatro ciclos de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1567-1574, 2002.

SILVA, S. de O.; GASPAROTTO, L.; MATOS, A. P. de; CORDEIRO, Z. J. M.; FERREIRA, C. F.; RAMOS, M. M.; O. N. de. **Programa de Melhoramento de Bananeira no Brasil – Resultados Recentes**. Cruz das Almas, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. 36p. (Documentos 123).

SILVA, S. O. E., SANTOS-SEREJO, J. A., DIAS, D. L., ALVES, J. S., RESENDE, J. C. F., PESTANA, R. K. N. Caracterização de mutantes de bananeira ‘Pacovan’ e ‘Pacovan Ken’ In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2004, Florianópolis. 2004. Jaboticabal:RBF. 2004. v.1 CD Rom.

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

TANG, C.Y.; HWANG, S.C. Selection and asexual inheritance of a dwarf variant of Cavendish banana resistant to race 4 of *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v.38, p.189-194, 1998.

TANG, C.Y.; TAI, C.H. Improvement of the horticultural traits of Cavendish banana (*Musa spp*, AAA group) through somaclonal variation. **Tropical Agriculture**, London, v.78, n.1, p.40-47, 2001.

TULMANN NETO, A.; LATADO, R. R.; CESAR DOS SANTOS, P.; BOLIANI, A. Use of *in vitro* mutation induction for resistance to *Fusarium* wilt in the banana. In: **The Use of Induced Mutations and Molecular Techniques for Crop Improvement**. IAEA, Vienna, 1995. p.641-642.

VAN HARTEN, A. M. **Mutation breeding: Theory and practical applications**. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 353p.

Tabela 1. Análise de variância para variáveis de crescimento e produção em dois ciclos nas cultivares de bananeira ‘Pacovan’ e ‘Preciosa’ irradiadas e não irradiadas. Cruz das Almas, 2010.

| FV | GL | Variáveis ¹ | | | | | | | | | | |
|----------------|------------|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------|
| | | NPF | NPC | NFC | DIA | ALP | NFO | NFI | PCA | PPE | NFR | PMF |
| Tratamento (T) | 3 | 33,27** | 42,30** | 6,52** | 22,09** | 0,31 ^{ns} | 6,65** | 1,25 ^{ns} | 10,79** | 10,76** | 6,65** | 6,37** |
| Ciclo (C) | 1 | 4184,42** | 3711,89** | 0,54 ^{ns} | 43,92** | 667,23** | 377,68** | 434,78** | 51,28** | 55,98** | 27,69** | 37,18** |
| T x C | 3 | 0,46 ^{ns} | 1,01 ^{ns} | 0,43 ^{ns} | 1,22 ^{ns} | 0,55 ^{ns} | 5,13** | 3,68** | 1,18 ^{ns} | 0,96 ^{ns} | 0,48 ^{ns} | 2,51* |
| Erro | 836 | | | | | | | | | | | |
| Total | 843 | | | | | | | | | | | |
| CV (%) | | 14,48 | 12,12 | 17,52 | 12,91 | 13,05 | 22,89 | 36,65 | 42,84 | 45,37 | 25,35 | 38,64 |
| Média Geral | | 497,46 | 628,80 | 133,77 | 18,29 | 3,09 | 9,77 | 2,61 | 6,65 | 5,88 | 61,72 | 94,32 |
| | | Variáveis ¹ | | | | | | | | | | |
| | | CFS | CFP | DFS | DFP | NPE | NFV | CEG | DEG | SIG | SIC | |
| Tratamento (T) | 3 | 4,35** | 0,82 ^{ns} | 6,99** | 4,82** | 5,13** | 17,55** | 3,95** | 5,77** | 85,07** | 14,27** | |
| Ciclo (C) | 1 | 15,14** | 0,26 ^{ns} | 15,88** | 10,04** | 24,68** | 33,78** | 135,09** | 69,56** | 0,810 ^{ns} | 34,44** | |
| T x C | 3 | 2,32 ^{ns} | 0,43 ^{ns} | 0,45 ^{ns} | 0,94 ^{ns} | 0,51 ^{ns} | 6,05** | 3,09* | 5,33** | 0,518 ^{ns} | 7,919** | |
| Erro | 836 | | | | | | | | | | | |
| Total | 843 | | | | | | | | | | | |
| CV (%) | | 18,96 | 35,19 | 14,42 | 16,17 | 17,60 | 68,04 | 27,12 | 16,10 | 29,93 | 44,77 | |
| Média Geral | | 497,46 | 628,80 | 133,77 | 18,29 | 5,28 | 2,92 | 34,08 | 45,78 | 0,32 | 0,66 | |

¹ NFC: número de dias do plantio a floração; NPC: número de dias do plantio a colheita; NFC: número de dias da floração a colheita; DIA: diâmetro do pseudocaule (cm); ALP: altura de planta (m); NFO: número de folhas na floração; NFI: número de filhos; PCA: peso de cacho (Kg); PPE: peso de pencas (Kg); NFR: número de frutos; PMF: peso médio do fruto (g); CFS: comprimento do fruto da segunda penca (cm); CFP: comprimento do fruto da penúltima penca (cm); DFS: diâmetro do fruto da segunda penca (mm); DFP: diâmetro do fruto da penúltima penca (mm); NPE: número de penca; NFV: número de folhas vivas na colheita; CEG: comprimento do engaço (cm); DEG: diâmetro do engaço (cm); SIG: presença de sigatoka-amarela na floração; SIC: presença de Sigatoka-amarela na colheita. ^{ns} Não significativo. ^{*} Significativo a 5% de probabilidade. ^{**} Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 2. Análise de variância para características vegetativas em dois ciclos nas cultivares de bananeira ‘Pacovan’ e ‘Preciosa’ irradiadas e não irradiadas. Cruz das Almas, 2010.

| FV | GL | Caracteres ¹ | | | | | | |
|-----------------------|-----|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|----------|----------|
| | | CPS | CNP | FRT | CBR | CBP | ABP | PFO |
| Tratamento (T) | 3 | 9,16** | 5,07** | 8,78** | 4,48** | 31,07** | 28,39** | 108,24** |
| Ciclo (C) | 1 | 4,41* | 131,79** | 32,92** | 12,01** | 122,31** | 105,83** | 51,84** |
| T x C | 3 | 3,81** | 2,11 ^{ns} | 0,75 ^{ns} | 0,82 ^{ns} | 3,61** | 18,67** | 25,64** |
| Erro | 836 | | | | | | | |
| Total | 843 | | | | | | | |
| CV (%) | | 50,96 | 33,22 | 36,90 | 74,35 | 62,08 | 15,31 | 25,87 |
| Médias Geral | | 1,93 | 1,69 | 1,17 | 1,64 | 3,46 | 1,87 | 2,66 |

¹ CPS: cor do pseudocaule; CNP: cor da nervura principal; FRT: forma da roseta; CBR: cor dos brotos; CBP: cor da borda do pecíolo; ABP: abertura da base do pecíolo; PFO: posição das folhas. ^{ns} Não significativo. * Significativo a 5% de probabilidade. ** Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 3. Características de desenvolvimento das cultivares Pacovan e Preciosa, provenientes de plantas irradiadas com raios gama (20 e 30 Gy respectivamente) e não irradiadas (testemunhas), no primeiro e segundo ciclos de produção. Cruz das Almas, 2010.

| Caracteres ¹ | Tratamentos ² | | | | | | | |
|-------------------------|--------------------------|---------|--------------------|---------|----------------|---------|---------------------|---------|
| | Pacovan 20 Gy | | Pacovan testemunha | | Preciosa 30 Gy | | Preciosa testemunha | |
| | ----- Ciclos ----- | | | | | | | |
| | 1º | 2º | 1º | 2º | 1º | 2º | 1º | 2º |
| NPF | 319,81b | 635,29b | 295,63c | 616,05b | 360,87a | 684,7a | 341,23a | 683,00a |
| NPC | 449,07b | 758,51b | 418,83c | 747,58b | 496,15a | 821,64a | 482,35a | 822,35a |
| NFC | 130,81a | 128,81a | 137,02a | 131,52a | 136,50a | 137,06a | 142,29a | 139,23a |
| DIA | 17,15b | 18,00b | 17,36b | 19,25a | 18,25a | 19,44a | 19,47a | 19,97a |
| ALP | 2,74a | 3,45a | 2,76a | 3,46a | 2,71a | 3,45a | 2,77a | 3,34a |
| NFO | 10,97b | 7,98a | 10,44b | 8,41a | 11,46b | 8,52a | 13,70a | 8,05a |
| NFI | 3,39a | 1,86a | 3,63a | 1,91a | 3,13a | 1,99a | 3,29a | 1,70a |
| SIG | 0,66 a | 0,68 a | 0,22 b | 0,41 a | 0,00 b | 0,02 b | 0,00 b | 0,05 b |

¹ NPF: Número de dias do plantio ao florescimento; NPC: número de dias do plantio a colheita; NFC: número de dias do florescimento à colheita; DIA: diâmetro do pseudocaule (cm); ALP: altura de planta (m); NFO: número de folhas vivas na floração; NFI: número de filhos; SIG: presença de Sigatoka-amarela na floração; ² Médias seguidas da mesma da letra na horizontal não diferem estatisticamente entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Características de produção das cultivares Pacovan e Preciosa, provenientes de plantas irradiadas com raios gama (20 e 30 Gy respectivamente) e não irradiadas (testemunhas) no primeiro e segundo ciclos de produção. Cruz das Almas, 2010.

| Caracteres ¹ | Tratamentos ² | | | | | | | |
|-------------------------|--------------------------|--------|--------------------|--------|----------------|--------|---------------------|---------|
| | Pacovan 20 Gy | | Pacovan testemunha | | Preciosa 30 Gy | | Preciosa testemunha | |
| | ----- Ciclos ----- | | | | | | | |
| | 1º | 2º | 1º | 2º | 1º | 2º | 1º | 2º |
| PCA | 7,11b | 5,30c | 7,29b | 6,98a | 7,77b | 6,17b | 9,56a | 7,98a |
| PPE | 6,31a | 4,61b | 6,85a | 6,01a | 6,57a | 5,43b | 8,72a | 7,10a |
| NFR | 63,53a | 58,31b | 69,66a | 67,44a | 63,96a | 57,45b | 71,05a | 62,76a |
| PMF | 101,43a | 78,13b | 99,79b | 91,50b | 100,97a | 91,26b | 120,66a | 112,27a |
| CFS | 13,96a | 12,77b | 14,50a | 13,58a | 13,79a | 13,59a | 15,05a | 14,58a |
| CFP | 12,77a | 12,51a | 13,47a | 12,30a | 12,67a | 12,76a | 13,76a | 14,00a |
| DFS | 33,30b | 31,71b | 33,30b | 33,11a | 33,92b | 32,64b | 36,76a | 35,76a |
| DFP | 32,30b | 30,86a | 32,25b | 32,00a | 32,80b | 31,98a | 36,58a | 33,17a |
| NPE | 5,41a | 5,15a | 5,75a | 5,58a | 5,40a | 5,01b | 5,64a | 5,17a |
| NFV | 2,96b | 1,72b | 4,16a | 2,30a | 3,45a | 3,17a | 3,70a | 3,25a |
| CEG | 36,99a | 35,91a | 39,30a | 30,91a | 38,25a | 28,98b | 37,52a | 28,82b |
| DEG | 47,66a | 45,03a | 48,47a | 47,66a | 47,78a | 41,68b | 50,58a | 42,97b |
| SIC | 1,23a | 0,51a | 1,66a | 0,47a | 0,45b | 0,36a | 0,47b | 0,35a |

¹ PCA: peso de cacho (Kg) e de pencas (PPE); NFR: número de frutos por cacho; PMF: peso médio do fruto (g); CFS: comprimento do fruto da segunda penca (cm); CFP: comprimento do fruto da penúltima penca (cm); DFS: diâmetro do fruto da segunda penca (mm); DFP: diâmetro do fruto da penúltima penca (mm); NPE: número de penca; NFV: número de folhas vivas na colheita; CEG: comprimento do engajo (cm); DEG: diâmetro do engajo (mm). ² Médias seguidas da mesma da letra na horizontal não diferem estatisticamente entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Características vegetativas das cultivares Pacovan e Preciosa, provenientes de plantas irradiadas com raios gama (20 e 30 Gy respectivamente) e não irradiadas (testemunhas), no primeiro e segundo ciclos de produção. Cruz das Almas, 2010.

| Caracteres ¹ | Tratamentos ² | | | | | | | |
|-------------------------|--------------------------|--------|--------------------|--------|----------------|--------|---------------------|--------|
| | Pacovan 20 Gy | | Pacovan testemunha | | Preciosa 30 Gy | | Preciosa testemunha | |
| | ----- Ciclos ----- | | | | | | | |
| | 1º | 2º | 1º | 2º | 1º | 2º | 1º | 2º |
| CPS | 1,78 a | 1,70 b | 1,83 a | 1,80 b | 1,94 a | 2,28 a | 1,64 a | 2,29 a |
| CNP | 1,44 a | 1,86 a | 1,55 a | 1,72 b | 1,51 a | 2,03 a | 1,23 a | 1,70 b |
| FRT | 1,03 a | 1,17 a | 1,00 a | 1,13 a | 1,15 a | 1,34 a | 1,00 a | 1,35 a |
| CBR | 1,65 a | 1,30 a | 1,52 a | 1,58 a | 1,97 a | 1,64 a | 1,64 a | 1,70 a |
| CBP | 3,97 b | 1,79 c | 3,86 b | 2,08 b | 4,46 b | 3,30 b | 6,58 a | 5,52 a |
| ABP | 2,00 a | 1,94 a | 2,00 a | 1,86 a | 1,95 a | 1,62 b | 2,00 a | 1,47 b |
| PFO | 2,71 a | 3,50 a | 2,66 a | 3,16 a | 2,26 c | 2,21 b | 2,30 b | 2,00 b |

¹ CPS: cor do pseudocaule; CNP: cor da nervura principal; FRT: forma da roseta; CBR: cor dos brotos; CBP: cor da borda do pecíolo; ABP: abertura da base do pecíolo; PFO: posição das folhas. ² Médias seguidas da mesma da letra na horizontal não diferem estatisticamente entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Frequência de variações observadas em bananeiras ‘Pacovan’ e ‘Preciosa’ irradiadas com raios gama nas doses de 20 Gy e 30 Gy respectivamente, em dois ciclos de produção. Cruz das Almas, 2010.

| Características observadas | Genótipos | | | |
|---|-----------------|----------|------------------|----------|
| | Pacovan (20 Gy) | | Preciosa (30 Gy) | |
| | 1º ciclo | 2º ciclo | 1º ciclo | 2º ciclo |
| Porte | | | | |
| Porte baixo | 17,87 | 3,91 | 21,58 | 7,89 |
| Folha | | | | |
| Margem do pecíolo de coloração rosa/roxa | 1,67 | - | 6,84 | 23,68 |
| Nervura principal de coloração rosa/roxa | 1,12 | 1,67 | 15,78 | 13,15 |
| Alterações na posição das folhas | 32,40 | 21,22 | 0,53 | 10,52 |
| Pseudocaule | | | | |
| Pseudocaule com alterações de coloração rosa/roxa | 2,23 | 0,56 | 6,84 | 1,57 |
| Manchas escuras no pseudocaule | 0,56 | 10,61 | 6,84 | 42,63 |
| Brotos com alterações na cor do pseudocaule rosa/roxa | 1,67 | - | 7,89 | 3,15 |
| Brotos com pseudocaule com manchas escuras | - | 2,23 | 2,63 | 12,10 |



Figura 1. Alterações observadas na coloração do pseudocaule e relacionadas com o cacho, em plantas irradiadas de ‘Pacovan’ (A e D) e ‘Preciosa’ (B, C, E e F). Cruz das Almas, 2010.

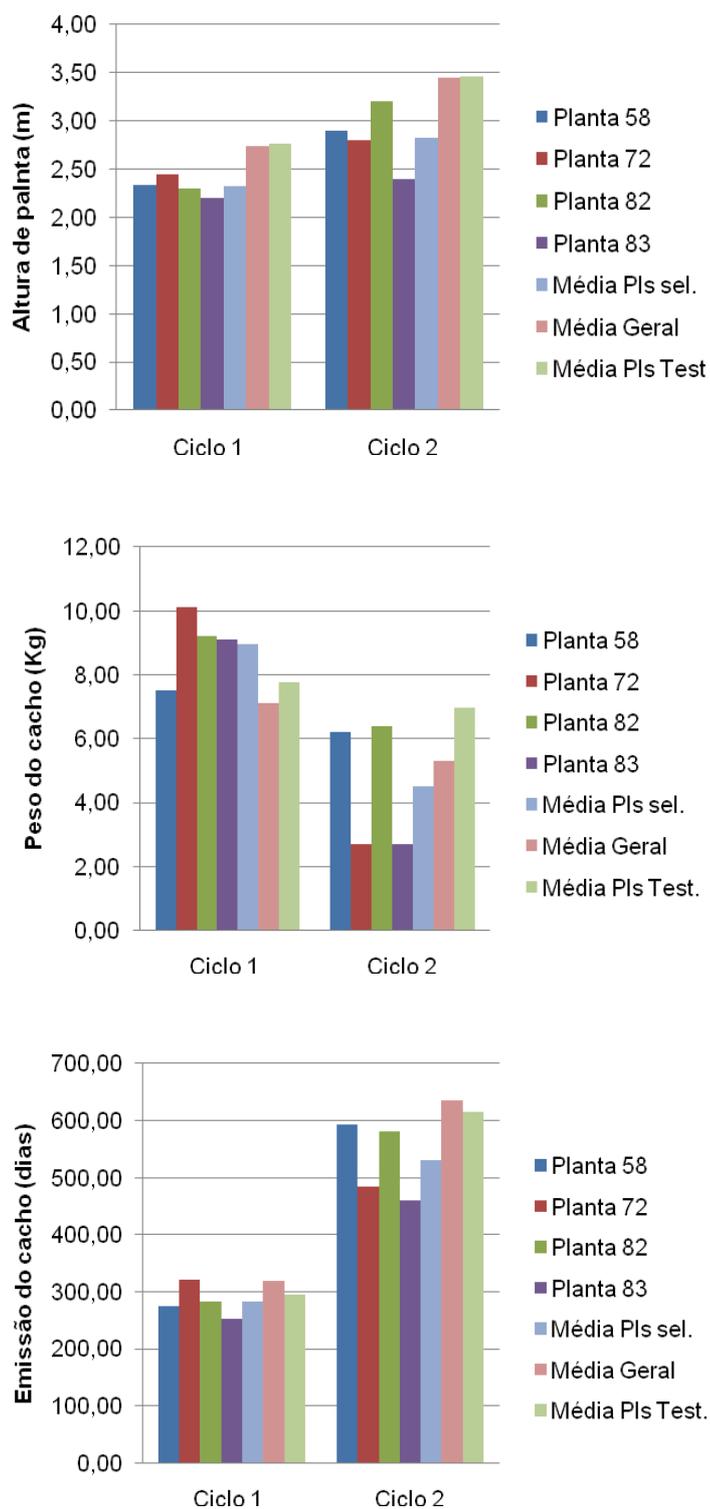


Figura 2. Média das plantas irradiadas da cultivar Pacovan selecionadas para redução do porte. Cruz das Almas, 2010.

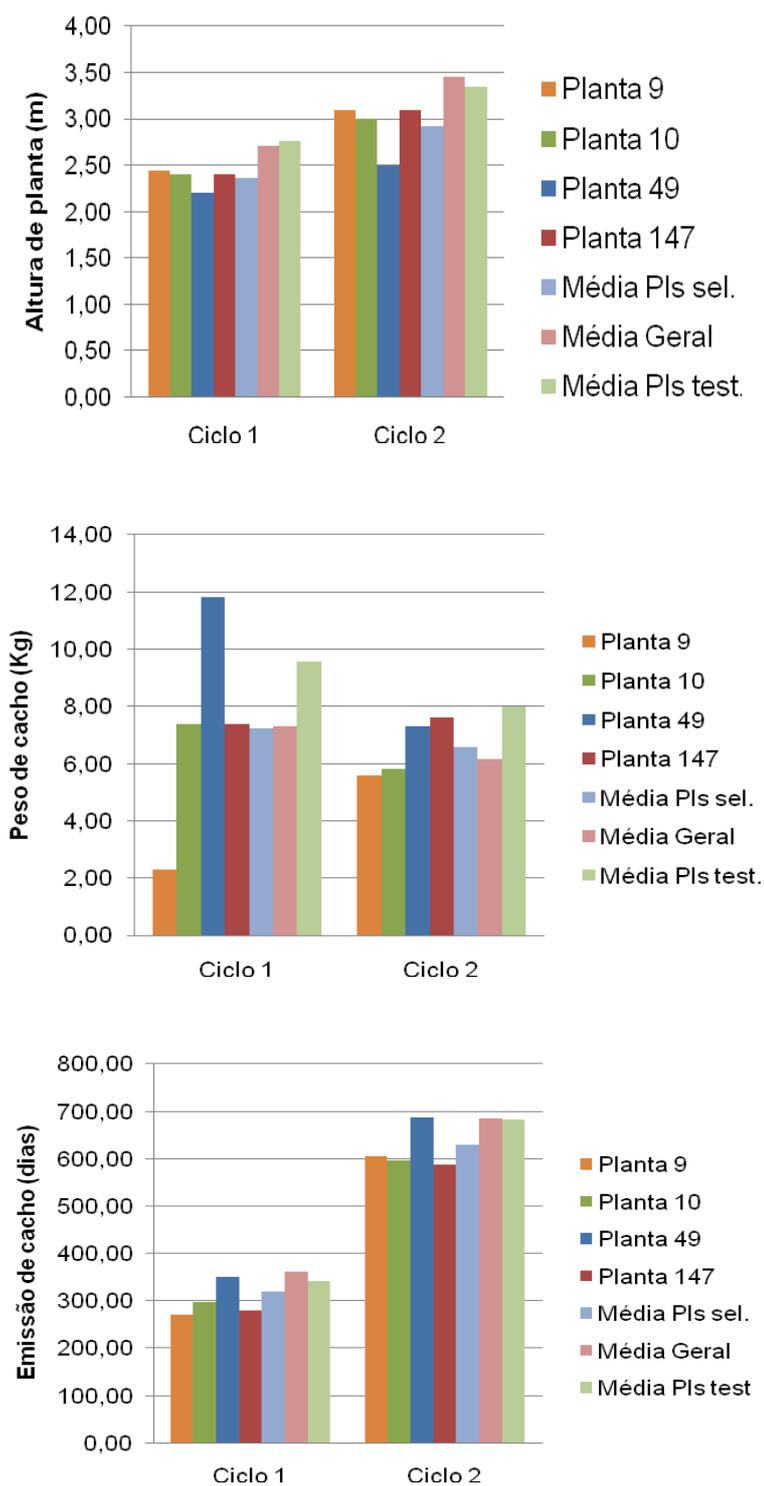


Figura 3. Média das plantas irradiadas da cultivar Preciosa selecionadas para redução do porte. Cruz das Almas, 2010.

Tabela 7. Plantas irradiadas de bananeira 'Pacovan', selecionadas em dois ciclos dentre as 10% classificadas. Cruz das Almas, 2010.

| Caracteres | Planta 58 | | Planta 72 | | Planta 82 | | Planta 83 | | Testemunha | | Média Clones | |
|------------|-----------|---------|-----------|---------|-----------|---------|-----------|---------|------------|---------|--------------|---------|
| | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 |
| NPF | 275,00 | 593,00 | 320,00 | 485,00 | 283,00 | 580,00 | 252,00 | 461,00 | 295,63 | 616,05 | 319,81 | 635,29 |
| NPC | 408,00 | 726,00 | 431,00 | 640,00 | 420,00 | 689,00 | 392,00 | 587,00 | 418,83 | 747,58 | 449,07 | 758,51 |
| NFC | 133,00 | 133,00 | 111,00 | 155,00 | 137,00 | 109,00 | 140,00 | 126,00 | 137,02 | 126,67 | 130,81 | 128,81 |
| DIA | 16,00 | 20,00 | 17,00 | 12,00 | 14,00 | 18,00 | 12,00 | 18,00 | 17,36 | 19,25 | 17,15 | 18,00 |
| ALP | 2,33 | 2,90 | 2,44 | 2,80 | 2,30 | 3,20 | 2,20 | 2,40 | 2,76 | 3,46 | 2,74 | 3,45 |
| NFO | 11,00 | 10,00 | 11,00 | 10,00 | 11,00 | 8,00 | 12,00 | 7,00 | 10,44 | 8,41 | 10,97 | 7,98 |
| NFI | 3,00 | 2,00 | 3,00 | 2,00 | 3,00 | 3,00 | 6,00 | 3,00 | 3,63 | 1,91 | 3,39 | 1,86 |
| SIG | 1,00 | 2,00 | 1,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 1,00 | 0,00 | 7,77 | 6,98 | 7,11 | 5,30 |
| PCA | 7,50 | 6,20 | 10,10 | 2,70 | 9,20 | 6,40 | 9,10 | 2,70 | 6,85 | 6,01 | 6,31 | 4,61 |
| PPE | 6,50 | 5,60 | 9,00 | 2,40 | 8,40 | 5,40 | 8,50 | 2,40 | 6,85 | 6,01 | 6,31 | 4,61 |
| NFR | 62,00 | 88,00 | 77,00 | 31,00 | 64,00 | 57,00 | 42,00 | 31,00 | 69,66 | 67,44 | 63,53 | 58,31 |
| PMF | 104,84 | 63,64 | 116,88 | 77,42 | 131,25 | 94,74 | 202,38 | 77,42 | 99,79 | 91,50 | 101,43 | 78,13 |
| CFS | 13,00 | 12,00 | 16,00 | 14,00 | 16,00 | 14,00 | 13,00 | 12,00 | 14,50 | 13,58 | 12,77 | 12,51 |
| CFP | 13,00 | 10,00 | 14,00 | 12,00 | 15,00 | 13,00 | 14,00 | 10,00 | 13,47 | 12,30 | 12,77 | 12,51 |
| DFS | 34,00 | 31,00 | 37,00 | 34,00 | 35,00 | 32,00 | 43,00 | 34,00 | 33,30 | 33,11 | 33,30 | 31,71 |
| DFP | 35,00 | 30,00 | 37,00 | 36,00 | 35,00 | 28,00 | 40,00 | 34,00 | 32,25 | 32,00 | 32,30 | 30,86 |
| NPE | 5,00 | 7,00 | 6,00 | 4,00 | 5,00 | 5,00 | 5,00 | 5,00 | 5,75 | 5,58 | 5,41 | 5,15 |
| NFV | 5,00 | 5,00 | 4,00 | 3,00 | 4,00 | 1,00 | 6,00 | 0,00 | 4,16 | 2,31 | 2,96 | 1,73 |
| SIC | 3,00 | 3,00 | 0,00 | 0,00 | 3,00 | 0,00 | 3,00 | 0,00 | 1,66 | 0,47 | 1,20 | 0,51 |
| CEG | 41,00 | 38,00 | 28,00 | 22,00 | 48,00 | 46,00 | 36,00 | 20,00 | 39,30 | 30,91 | 36,99 | 35,91 |
| DEG | 46,00 | 46,00 | 34,00 | 30,00 | 53,00 | 50,00 | 44,00 | 30,00 | 48,47 | 47,66 | 47,66 | 45,03 |
| CPS | 2,00 | 1,00 | 1,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 1,83 | 1,80 | 1,78 | 1,70 |
| CNP | 1,00 | 2,00 | 1,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 1,55 | 1,72 | 1,44 | 1,86 |
| FRT | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 2,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,13 | 1,03 | 1,17 |
| CBR | 2,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 2,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,52 | 1,58 | 1,65 | 1,30 |
| CBP | 6,00 | 2,00 | 6,00 | 1,00 | 7,00 | 1,00 | 6,00 | 6,00 | 3,86 | 2,08 | 3,97 | 1,79 |
| ABP | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 1,86 | 2,00 | 1,94 |
| PFO | 3,00 | 3,00 | 2,00 | 3,00 | 2,00 | 4,00 | 3,00 | 3,00 | 17,12 | 2,66 | 2,71 | 0,46 |

¹ NPF: Número de dias do plantio ao florescimento; NPC: número de dias do plantio a colheita; NFC: número de dias do florescimento à colheita; DIA: diâmetro do pseudocaule (cm); ALP: altura de planta (m); NFO: número de folhas vivas na floração; NFI: número de filhos; PCA: peso de cacho (Kg) e de pencas (PPE); NFR: número de frutos por cacho; PMF: peso médio do fruto (g); CFS: comprimento do fruto da segunda penca (cm); CFP: comprimento do fruto da penúltima penca (cm); DFS: diâmetro do fruto da segunda penca (mm); DFP: diâmetro do fruto da penúltima penca (mm); NPE: número de penca; NFV: número de folhas vivas na colheita; CEG: comprimento do engaço (cm); DEG: diâmetro do engaço (mm); SIG: presença de Sigatoka-amarela na floração; SIG:: Presença de Sigatoka-amarela na colheita; CPS: cor do pseudocaule, CNP: cor da nervura principal); FRT: forma da roseta; CBR: cor dos brotos; CBP: cor da borda do pecíolo; ABP: abertura da base do pecíolo; PFO: posição das folhas.

Tabela 8. Plantas irradiadas de bananeira ‘Preciosa’, selecionadas em dois ciclos dentre as 10% classificadas. Cruz das Almas, 2010.

| Caracteres | Planta 9 | | Planta 10 | | Planta 49 | | Planta 147 | | Testemunha | | Média Clones | |
|------------|----------|---------|-----------|---------|-----------|---------|------------|---------|------------|---------|--------------|---------|
| | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 |
| NPF | 270,00 | 605,00 | 297,00 | 597,00 | 350,00 | 688,00 | 280,00 | 587,00 | 341,23 | 683,00 | 360,87 | 684,71 |
| NPC | 398,00 | 750,00 | 413,00 | 742,00 | 470,00 | 798,00 | 412,00 | 752,00 | 482,35 | 822,35 | 496,15 | 821,64 |
| NFC | 128,00 | 145,00 | 116,00 | 145,00 | 181,00 | 110,00 | 132,00 | 165,00 | 142,29 | 139,24 | 136,50 | 137,07 |
| DIA | 16,20 | 20,00 | 17,00 | 21,00 | 18,00 | 16,50 | 18,00 | 20,00 | 19,47 | 19,97 | 18,25 | 19,44 |
| ALP | 2,44 | 3,10 | 2,40 | 3,00 | 2,20 | 2,50 | 2,40 | 3,10 | 2,76 | 3,34 | 2,71 | 3,45 |
| NFO | 11,00 | 8,00 | 8,00 | 6,00 | 12,00 | 6,00 | 13,00 | 12,00 | 13,7 | 8,05 | 11,46 | 8,52 |
| NFI | 2,00 | 1,00 | 3,00 | 3,00 | 4,00 | 2,00 | 3,00 | 4,00 | 3,29 | 1,70 | 3,13 | 1,99 |
| SIG | 2,30 | 5,60 | 7,40 | 5,80 | 11,80 | 7,30 | 7,40 | 7,60 | 9,56 | 7,98 | 7,29 | 6,17 |
| PCA | 2,00 | 4,90 | 6,70 | 5,00 | 10,80 | 6,00 | 6,60 | 6,60 | 8,72 | 7,10 | 6,57 | 5,43 |
| PPE | 30,00 | 44,00 | 67,00 | 57,00 | 64,00 | 70,00 | 62,00 | 58,00 | 71,1 | 62,76 | 63,96 | 57,45 |
| NFR | 66,66 | 111,36 | 100,00 | 87,72 | 168,75 | 85,71 | 106,45 | 113,79 | 120,7 | 112,27 | 100,97 | 91,86 |
| PMF | 11,00 | 15,00 | 15,00 | 15,00 | 19,00 | 13,00 | 15,00 | 17,00 | 15,05 | 14,58 | 13,79 | 13,59 |
| CFS | 10,00 | 14,00 | 14,00 | 12,00 | 16,00 | 15,00 | 14,00 | 16,00 | 13,76 | 14,00 | 12,67 | 12,76 |
| CFP | 27,00 | 35,00 | 35,00 | 34,00 | 41,00 | 32,00 | 30,00 | 33,00 | 36,76 | 35,76 | 33,92 | 32,64 |
| DFS | 27,00 | 35,00 | 34,00 | 34,00 | 38,00 | 31,00 | 29,00 | 33,00 | 36,58 | 33,17 | 32,80 | 31,98 |
| DFP | 4,00 | 4,00 | 5,00 | 5,00 | 6,00 | 6,00 | 5,00 | 5,00 | 5,64 | 5,17 | 5,40 | 5,01 |
| NPE | 2,00 | 4,00 | 6,00 | 2,00 | 4,00 | 5,00 | 6,00 | 8,00 | 3,71 | 3,18 | 3,45 | 3,26 |
| NFV | 28,00 | 46,00 | 44,00 | 35,00 | 39,00 | 25,00 | 39,00 | 42,00 | 37,5 | 28,82 | 38,25 | 28,98 |
| SIC | 52,00 | 41,00 | 49,00 | 40,00 | 47,00 | 25,00 | 48,00 | 48,00 | 50,58 | 42,97 | 47,78 | 41,68 |
| CEG | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,05 | 0,01 | 0,02 |
| DEG | 0,00 | 0,00 | 3,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 0,00 | 0,47 | 0,24 | 0,45 | 0,36 |
| CPS | 4,00 | 3,00 | 1,00 | 3,00 | 2,00 | 1,00 | 2,00 | 2,00 | 1,64 | 2,29 | 1,94 | 2,28 |
| CNP | 3,00 | 2,00 | 1,00 | 2,00 | 1,00 | 3,00 | 2,00 | 2,00 | 1,23 | 1,70 | 1,51 | 2,03 |
| FRT | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,35 | 1,15 | 1,34 |
| CBR | 5,00 | 2,00 | 1,00 | 2,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 2,00 | 1,64 | 1,70 | 1,97 | 1,64 |
| CBP | 7,00 | 2,00 | 1,00 | 2,00 | 7,00 | 4,00 | 6,00 | 1,00 | 6,58 | 5,52 | 4,46 | 3,30 |
| ABP | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 1,47 | 1,95 | 1,62 |
| PFO | 3,00 | 3,00 | 3,00 | 2,00 | 3,00 | 3,00 | 2,00 | 2,00 | 1,64 | 2,00 | 360,87 | 2,21 |

¹ NPF: Número de dias do plantio ao florescimento; NPC: número de dias do plantio a colheita; NFC: número de dias do florescimento à colheita; DIA: diâmetro do pseudocaule (cm); ALP: altura de planta (m); NFO: número de folhas vivas na floração; NFI: número de filhos; PCA: peso de cacho (Kg) e de pencas (PPE); NFR: número de frutos por cacho; PMF: peso médio do fruto (g); CFS: comprimento do fruto da segunda penca (cm); CFP: comprimento do fruto da penúltima penca (cm); DFS: diâmetro do fruto da segunda penca (mm); DFP: diâmetro do fruto da penúltima penca (mm); NPE: número de penca; NFV: número de folhas vivas na colheita; CEG: comprimento do engaço (cm); DEG: diâmetro do engaço (mm); SIG: presença de Sigatoka-amarela na floração; SIG:: Presença de Sigatoka-amarela na colheita; CPS: cor do pseudocaule, CNP: cor da nervura principal); FRT: forma da roseta; CBR: cor dos brotos; CBP: cor da borda do pecíolo; ABP: abertura da base do pecíolo; PFO: posição das folhas.

CAPÍTULO 2

CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DE MUTANTES DE BANANEIRA²

² Artigo submetido ao comitê editorial do periódico científico Revista Brasileira de Fruticultura

CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DE MUTANTES DE BANANEIRA

Autora: Rosa Karla Nogueira Pestana
Orientador: Sebastião de Oliveira e Silva
Co-orientador: Edson Perito Amorim

RESUMO: A bananeira é uma fruteira tropical de grande importância mundial devido ao seu valor comercial e como alimento da população de baixa renda. No Brasil, a banana é a principal fruta destinada ao consumo *in natura*, ocupando o segundo lugar no mercado interno, ficando atrás apenas dos citros. Entretanto, a cultura ainda apresenta baixa disponibilidade de variedades comerciais produtivas com boas características agronômicas. Uma estratégia para a solução deste problema é o desenvolvimento de novas cultivares mediante o melhoramento genético convencional. No entanto, este procedimento possui alguns obstáculos, entre eles a esterilidade feminina e o reduzido número de sementes produzidas. Para suplantar estas barreiras, o uso da indução de mutação visando à seleção de mutantes com características agronômicas desejáveis mostra-se com potencial para o desenvolvimento de novas cultivares. O objetivo deste trabalho foi selecionar mutantes putativos com porte reduzido nas cultivares Pacovan e Preciosa submetidas a irradiação com raios gama e estimar a variabilidade genética entre estes mutantes mediante a utilização de marcadores moleculares ISSR. Plantas das duas cultivares foram utilizadas para indução de mutação por meio de raios gama, com doses de 20 Gy (Pacovan) e 30 Gy (Preciosa). Os mutantes putativos foram avaliados em condições de campo para uma série de características agronômicas durante dois ciclos. Além disso, utilizaram-se marcadores ISSR para inferir sobre a variabilidade genética existente nas duas populações. Foram selecionados quatro mutantes para porte baixo para cada cultivar, considerando a altura de planta, peso do cacho e número de dias do plantio ao florescimento. Por meio das análises com ISSR foi possível quantificar a variabilidade genética disponibilizada após irradiação com raios gama, tanto na 'Pacovan' quanto na 'Preciosa', o que permite inferir que a indução de mutação para a seleção de porte é uma técnica promissora, que pode auxiliar os

programas de melhoramento genético da bananeira na busca de novas variedades com menor porte e boas características agronômicas.

Palavras-chaves: *Musa spp.*, mutagênese *in vitro*, marcadores ISSR

AGRONOMIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF BANANA MUTANTS

Author: Rosa Karla Nogueira Pestana
Advisor: Sebastião de Oliveira e Silva
Co-advisor: Edson Perito Amorim

ABSTRACT: Bananas are tropical fruits with worldwide importance due to its commercial value and as food for low income populations. In Brazil, banana is the main fruit consumed *in natura*, occupying second place in the internal market losing only to citrus. However, the crop still presents low availability of productive commercial varieties with good agronomic characteristics. A strategy to solve this problem is the development of new cultivars through conventional genetic breeding. However, this procedure presents some obstacles; among them, female sterility and the low number of seeds produced. In order to overcome these obstacles, the use of the induction of mutation aiming the selection of mutants with desirable agronomic characteristics has shown potential for the development of new cultivars. The objective of the present work was to select putative short mutants in the Pacovan and Preciosa cultivars submitted to radiation with gamma rays and estimate the genetic variability between these mutants using ISSR molecular markers. Plants of both cultivars were used for the induction of mutation via gamma rays with doses of 20 Gy (Pacovan) and 30 Gy (Preciosa). The putative mutants were evaluated under field condition for a series of agronomic characteristics during two cycles. Furthermore, ISSR markers were used to evaluate the genetic variability in both populations. Four short mutants were selected for each cultivar considering plant height, bunch weight and number of days from planting to flowering. The ISSR analysis enabled the quantification of the genetic variability for 'Pacovan' and 'Preciosa' after irradiation with gamma rays, allowing to infer that the induction of mutation for selection of height is a promising technique to be used in the banana breeding program searching for new shorter varieties with good agronomic characteristics.

Key-words: *Musa spp.*, *in vitro* mutagenesis, ISSR markers

INTRODUÇÃO

A bananeira é uma fruteira tropical de grande importância mundial devido ao seu valor comercial e como fonte de alimento para população de baixa renda. No Brasil, a banana é a principal fruta destinada ao consumo *in natura*, ocupando o segundo lugar no mercado interno, ficando atrás apenas dos citros (SILVA & TORRES FILHO, 1997). Entretanto, a cultura ainda apresenta baixa disponibilidade de variedades comerciais produtivas, com porte reduzido, e resistentes a pragas. Uma estratégia para a solução deste problema é o desenvolvimento de novas cultivares mediante o melhoramento genético convencional. No entanto, este procedimento possui alguns obstáculos, entre eles a esterilidade feminina e o reduzido número de sementes produzidas. Para suplantiar estas barreiras, o uso da indução de mutação visando à seleção de mutantes com características agrônômicas desejáveis mostra-se com potencial para o desenvolvimento de novas cultivares.

Os marcadores moleculares são importantes ferramentas para a detecção dos efeitos da radiação gama com precisão, uma vez que, com o advento das técnicas modernas de biologia molecular, surgiram diversos métodos de detecção de polimorfismo genético direto, ou seja, em nível de DNA. O maior interesse na aplicação dos marcadores genéticos no melhoramento vegetal é a perspectiva de estabelecer ligações entre os marcadores e os genes que controlam determinada característica (OLIVEIRA et al., 1996).

A técnica ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) é uma dentre muitas de *fingerprinting* baseada em PCR (*Polymerase Chain Reaction*) que utiliza *primers* de seqüência simples repetitivas para amplificar regiões entre seqüências alvo. Essa técnica tem a capacidade de gerar um grande número de marcadores multiloci e pode ser aplicada para analisar praticamente qualquer organismo, mesmo aqueles para os quais se dispõe de pouca ou nenhuma informação genética prévia (ARCADE et al., 2000).

Os ISSRs são úteis para estudos genéticos, especialmente na detecção clonal, na avaliação da diversidade e na revelação de indivíduos proximalmente relacionados (SALIMATH et al., 1995; OLIVEIRA et al., 1996). Tais marcadores são dominantes e reproduzíveis, com a vantagem de gerar grandes quantidades de bandas, sendo amplamente distribuídos ao longo do genoma de eucariontes

(FANG & ROOSE, 1997; GUPTA et al., 1994). Cada faixa corresponde a uma seqüência de DNA delimitada por dois microssatélites invertidos. A amplificação não requer informações de sucessão do genoma e de padrões altamente polimórficos (ZIETKIEWICZ et al., 1994).

O objetivo deste trabalho foi selecionar mutantes putativos com porte reduzido das cultivares Pacovan e Preciosa submetidas a irradiação com raios gama e estimar a variabilidade genética entre estes mutantes mediante a utilização de marcadores moleculares ISSR.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Genético

Plantas *in vitro* de bananeira das cultivares de porte alto Pacovan (AAB) e Preciosa (AAAB), com aproximadamente cinco centímetros de comprimento e com 4-5 primórdios foliares, fornecidas pela Campo Biotecnologia Vegetal Ltda., em Cruz das Almas (BA), Brasil, foram utilizadas para indução de mutação visando a seleção de plantas com porte reduzido.

2.2 Irradiação gama de gemas *in vitro*

Aproximadamente 200 gemas *in vitro* das cultivares Pacovan e Preciosa foram irradiadas utilizando Co^{60} no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), vinculado a Universidade de São Paulo (USP). As doses utilizadas foram 20 Gy para a cultivar Pacovan e 30 Gy para Preciosa, com taxas de $1,322 \text{ kGy h}^{-1}$. Estas doses foram selecionadas a partir do teste de sensibilidade realizado por Resende (2005), que indicou 20 Gy para Pacovan (AAB) e 30 Gy para Pacovan Ken (AAAB). Para cada cultivar, dez gemas foram usadas como testemunhas, as quais também foram enviadas ao CENA/USP, porém sem exposição ao Co^{60} .

As gemas irradiadas foram transferidas para meio de cultura básico MS, solidificado com $2,2 \text{ g L}^{-1}$ de Phytigel, suplementado com 30 g de sacarose, benzilaminopurina (BAP) na concentração de $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ e pH 5,8, e mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16

horas de luz. As mudas foram submetidas a quatro subcultivos, realizados em intervalos de 30 dias.

Após os subcultivos, as plantas foram enraizadas em meio MS, com adição de 0,25 mg L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA) e 8 g L⁻¹ de ágar como geleificante, com o pH ajustado para 5,8, e conduzidas á sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de 40 µmol m⁻² s⁻¹ e temperatura de 26±2 °C, onde permaneceram por um período de 35-40 dias.

As plantas já enraizadas foram levadas para telado, com sombrite 50 %, com controle de luminosidade, onde foram aclimatadas em tubetes contendo substrato Plantmax (composto por casca de madeira processada, vermiculita expandida, carvão granulado, turfa processada e enriquecida com macro e micronutrientes) sob irrigação por nebulização automática.

Uma pré-seleção foi realizada em telado, utilizando-se como critério a identificação de plantas com altura inferior às testemunhas em, no mínimo, 10%. Somente estas plantas foram avaliadas em campo durante dois ciclos de produção. A partir desta seleção, 179 plantas de 'Pacovan' e 190 de 'Preciosa' irradiadas, juntamente com 53 plantas testemunhas (36 de 'Pacovan' e 17 de 'Preciosa'), foram caracterizadas agronomicamente.

2.3 Caracterização agrônômica dos mutantes

A implantação do experimento foi realizada sem adoção de delineamento estatístico, considerando-se cada planta como repetição, no campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, em Cruz das Almas (BA). O plantio foi feito no espaçamento 3 m x 4 m, e a adubação de fundação e cobertura foi realizada de acordo com as recomendações técnicas para a cultura, após resultados de análise de solo e foliar. As plantas foram numeradas em campo para facilitar o seu histórico de avaliação.

Foram utilizadas 369 plantas irradiadas (190 da 'Preciosa e 179 da 'Pacovan') e testemunhas (36 de 'Pacovan' e 17 de 'Preciosa') avaliadas em dois ciclos de produção, quanto às seguintes características agrônômicas: número de dias do plantio ao florescimento; número de dias do florescimento à colheita; diâmetro do pseudocaule (cm); altura da planta (m); número de folhas vivas na floração e de filhos; peso do cacho (kg) de pencas (kg) e peso médio de frutos (g);

número de frutos por cacho; comprimento do fruto da segunda penca (cm) e da penúltima penca (cm); diâmetro do fruto da segunda penca (mm) e da penúltima penca (mm); número de pencas e de folhas vivas na colheita; comprimento (cm) e diâmetro (mm) do engaço; presença de Sigatoka-amarela na floração e na colheita, cor do pseudocaule da nervura principal, da borda do pecíolo e cor dos brotos; forma da roseta; abertura da base do pecíolo e posição das folhas.

2.4 Análise estatística dos dados agronômicos

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias utilizadas para estimar a distância Euclidiana média entre as plantas irradiadas utilizando o programa SAS (Statistical Analysis System, 2002). Foi realizado o agrupamento por meio do procedimento UPGMA (*Unweighted pair-group Method with arithmetic mean*), no programa Mega4 (TAMURA et al., 2007).

2.5 Seleção dos mutantes para porte baixo

Para selecionar 10% das plantas com menor porte, utilizou-se metodologia proposta por Resende (2005).

Inicialmente foi realizada uma classificação individual das plantas da população, para as características consideradas importantes na seleção de genótipos de bananeira, como menor porte de planta, menor número de dias do plantio ao florescimento e maior peso de cacho. Os dados obtidos para essas características foram organizados em ordem crescente (para altura de planta e números de dias para emissão do cacho) e decrescente (para peso de cacho), obtendo-se o número da classificação de cada planta.

Em seguida, multiplicou-se o número da classificação de cada planta pelo 'peso' correspondente a cada característica. Para altura de planta foi dado peso 6 por ser considerada a mais relevante neste estudo e para número de dias do plantio ao florescimento e peso de cacho peso 2. Ao final desse processo, obteve-se à pontuação final, para cada planta, resultado do uso da fórmula $y = [0,6 \times (\text{classificação de altura}) + 0,2 \times (\text{classificação da emissão de cacho}) + 0,2 \times (\text{classificação de peso de cacho})]$. Em cada ciclo, a pontuação final foi ordenada crescentemente, obtendo-se a classificação final. As plantas selecionadas foram

aquelas que estavam presentes entre as 10% melhores classificadas, nos dois ciclos de produção.

2.6 Caracterização molecular dos mutantes com uso de marcadores ISSR

Foram amostradas 75 e 74 plantas irradiadas das cultivares Pacovan e Preciosa respectivamente. A amostragem foi realizada após as avaliações do segundo ciclo de produção, utilizando como critério, amostrar plantas que apresentassem menor porte e bom cacho.

Em função da amostragem aleatória realizada no campo para a genotipagem com ISSR, a numeração inicial das plantas foi alterada. Para cada número de planta no campo houve um número correspondente da amostra de DNA (Tabelas 1 e 2 - Anexo).

2.6.1 Primers ISSR

Foram utilizados um total de 20 *primers* ISSR. Informações sobre as suas respectivas seqüências, temperaturas de anelamento (T_a) e número total de bandas (NTB) podem ser obtidas na Tabela 1.

2.6.2 Extração de DNA e condições de PCR

DNA genômico foi extraído de folhas jovens, utilizando-se o método CTAB (DOYLE & DOYLE, 1990). A avaliação da quantidade e qualidade do DNA foi efetuada mediante análise comparativa das amostras em gel de agarose 0,8%, corado com brometo de etídio, sendo as amostras diluídas em água ultrapura e padronizadas em $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$.

Para as reações de amplificação via ISSRs as amostras tinham um volume final de $15 \mu\text{L}$, contendo: KCl 50 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), MgCl_2 1,5 mM, $100 \mu\text{M}$ de cada um dos dNTPs (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), $0,4 \mu\text{M}$ de cada *primer*, 20 ng de DNA genômico e uma Unidade de *Taq* DNA polimerase (Pharmacia Biotech, EUA).

As amplificações foram conduzidas em termociclador Perkin Elmer modelo 9700, e constaram de uma etapa a 94°C por 4 min, seguida de 35 ciclos de 94°C por 40 s, (temperatura de anelamento de 48°C) por 40s, 72°C por 1 min, com extensão final 72°C por 2 min. Os produtos da amplificação foram separados por

eletroforese em gel de agarose 2,0%.

2.6.3 Análise dos dados de ISSR

Os fragmentos amplificados foram avaliados como ausência (0) e presença (1) de bandas. As similaridades genéticas entre todos os mutantes foram calculadas a partir do coeficiente de Jaccard e posteriormente, utilizadas para fazer o agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA (*Unweighted pair-group Method with arithmetical mean*) por meio do software Mega4 (TAMURA et al., 2007). Foi calculado o valor de correlação cofenética entre a matriz de similaridades genéticas e a matriz dos valores cofenéticos, a fim de verificar a consistência do agrupamento.

O método de reamostragens foi realizado para verificar se o número de locos foi suficiente para determinar com precisão as estimativas de similaridade genética entre os genótipos, utilizando-se o software GQMol (CRUZ & SHUSTER, 2004).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância para as variáveis estudadas estão apresentados nas tabelas 2 e 3. A análise de variância revelou diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$) para quase todos os caracteres avaliados nos dois ciclos de produção. Pelos resultados foi possível constatar a existência de variabilidade genética entre os clones da 'Pacovan' e 'Preciosa'. Esta variabilidade deve-se, em grande parte, ao efeito da radiação gama, uma vez que variações somaclonais advindas dos subcultivos, normalmente, não provocam alterações em um grande número de clones do mesmo genótipo.

Os resultados apresentados na Tabela 4 são referentes às plantas selecionadas da cultivar Pacovan entre as 10% melhores classificadas quanto aos caracteres: altura de planta (ALP), peso de cacho (PCA) e número de dias do plantio ao florescimento (NPF), avaliados em dois ciclos de produção.

Observou-se que a altura das quatro plantas selecionadas dentre as 179 avaliadas no primeiro ciclo, foram menores que a média das testemunhas, assim como dos clones irradiados. A menor altura dentre as plantas selecionadas foi

observada na planta 83, com uma diferença de 0,56 cm em relação à média das testemunhas. Além disso, esse mutante foi o mais precoce para a emissão da inflorescência (44 dias) e também figurou entre as plantas com maior peso de cacho. Resultado semelhante foi obtido no segundo ciclo, com uma redução na altura de 30,62%, além de maior precocidade (155 dias a menos que a média das testemunhas).

Bermúdez et al. (2000), trabalhando com mutantes da cultivar FHIA-21, observaram no primeiro ciclo, frequência geral de variação de 4,78%, sendo que as características mais alteradas foram a altura de planta e o número de dedos por cacho.

Em relação ao número de dias do plantio ao florescimento, observou-se, no primeiro ciclo, que a planta 83 apresentou os menores valores quando comparada a média das testemunhas e dos clones irradiados. Na avaliação do segundo ciclo, além da planta 83, a de número 72 foi mais precoce que a média das testemunhas e dos clones irradiados, em 131 dias.

Quanto ao número de dias do plantio a colheita, no primeiro ciclo não foi observada variações, com valores próximos à média das testemunhas. No entanto, no segundo ciclo somente a planta 83 mostrou-se mais precoce quando comparada com as testemunhas e a média dos clones irradiados, em 155 dias e 174 dias, respectivamente.

Em relação ao peso de cacho, verificou-se que as plantas selecionadas apresentaram os maiores valores quando comparadas com as testemunhas e a média dos clones irradiados, destacando-se a planta 72 entre as demais, no primeiro ciclo avaliado. Entretanto, no segundo ciclo, apresentaram valores inferiores à média da testemunha e dos clones irradiados. Para o peso de pencas no primeiro ciclo, verificou-se que as plantas selecionadas apresentaram valores superiores e próximos à média das testemunhas. O mesmo foi observado no segundo ciclo, à exceção das plantas 72 e 83 que apresentaram peso bem menores, quando comparados com a testemunha e a média dos clones irradiados.

Quanto ao peso médio do fruto, foi observado no primeiro ciclo, que a planta 83 apresentou os maiores valores entre os observados nas selecionadas, nas testemunhas e na média dos clones irradiados. No segundo ciclo, a planta 82

apresentou peso de cacho similar ao da média das testemunhas, sendo que as demais plantas apresentaram valores inferiores.

Para a Preciosa as características das plantas selecionadas nos dois ciclos, encontram-se na Tabela 5. Constatou-se no primeiro ciclo, que todas as plantas selecionadas apresentaram alturas inferiores a da média das testemunhas e da média dos clones irradiados. A planta de número 49 foi a que apresentou a menor altura entre as plantas selecionadas. O mesmo foi observado na avaliação do segundo ciclo, com uma redução de 25,15% (0,84 cm) em relação à média das testemunhas.

Na avaliação do número de dias para a emissão do cacho, verificou-se que as plantas de número 9, 10 e 147 apresentaram os menores valores quando comparadas com as plantas testemunhas, no primeiro ciclo de produção. A planta de número 9 foi a mais precoce dentre as selecionadas, com uma diferença de 71 dias da média das testemunhas (Tabela 5). As demais plantas selecionadas apresentaram valores superiores para esse caráter, portanto mais próxima aos das testemunhas. No segundo ciclo, entretanto, as plantas selecionadas apresentaram valores semelhantes à média das testemunhas para essa característica, exceto nas plantas de números 10 e 147 que emitiram a inflorescência 86 e 96 dias antes da média das testemunhas, respectivamente. Em combinação com a altura de planta, esse caráter permitiu a seleção dessas duas plantas dentre as 10% melhores.

Com relação ao peso do cacho e de pencas, no primeiro ciclo, observou-se que a planta 49 apresentou peso de cacho e de pencas superiores ao da média das testemunhas e dos clones irradiados, destacando-se das demais plantas selecionadas.

Quanto ao número de frutos, observou-se nas plantas selecionadas valores semelhantes aos observados nas testemunhas, nos dois ciclos avaliados, a exceção da planta 9 no primeiro ciclo, que apresentou valores inferiores para essa característica quando comparada com a testemunha (Tabela 5). Para o peso médio do fruto verificou-se que, no primeiro ciclo, a planta 49 apresentou valor superior ao da média das testemunhas. Já no segundo ciclo, foram observadas médias semelhantes entre plantas selecionadas e a média das testemunhas.

Nas figuras 1 e 2 encontram-se os dendrogramas das dissimilaridades genéticas, obtidos pelo método UPGMA e construídos a partir da distância Euclidiana média entre as 179 plantas irradiadas da 'Pacovan' e 190 da 'Preciosa', considerando as 29 características agronômicas mensuradas em campo. A dissimilaridade genética média entre as plantas irradiadas da 'Pacovan' foi de 0,77, com uma variação de 0,977 (entre a planta 28 e a planta 2 e entre a planta 24 e a planta 21) a 0,44 (entre a planta 177 e a planta 20). Por meio do dendrograma, foi possível identificar uma relativa variabilidade genética entre as 179 plantas mutantes de Pacovan (Figura 1). Para Preciosa, a dissimilaridade média foi de 0,73, com várias plantas apresentando dissimilaridade total (clones) (Figura 2).

Nas análises com ISSR com 19 primers, para 'Pacovan' irradiada, um total de 186 bandas foram obtidas, das quais 110 eram polimórficas, com média de 9,8 bandas totais e 5,8 bandas polimórficas, respectivamente. O maior número de bandas foi identificado no *primer* TriAAG3'RC (15 bandas) e o menor nos *primers* TriGAG3'RC, TriTTC3'RC e DiGT3'A (5 bandas). Para a Preciosa irradiada usando 15 primers, o maior número de bandas foi identificado no *primer* TriAAG3'RC (16 bandas) e o menor no TriTGA3'RC (6 bandas), obtendo-se um total de 156 bandas, sendo 90 bandas polimórficas, com média de 10,4 bandas totais e 6 bandas polimórficas, respectivamente (Tabela 1).

Racharak & Eiadthong (2007) utilizando um total de 36 primers ISSR em subespécies de *Musa acuminata* e cultivares com genoma A, identificaram que seis *primers* revelaram um total de 128 bandas, número próximo aos obtidos neste estudo. Trabalhos realizados por Venkatachalam et al. (2007) utilizando 50 *primers* de RAPD e 12 de ISSR, na cultivar de bananeira Nanjanagudu Rasabale, identificaram 625 bandas. Resultados obtidos por Ray et al. (2006) observaram um total de 5.330 bandas para RAPD (21 *primers*) e 2.741 para ISSR (12 *primers*) nas cultivares de bananeira Robusta (AAA), Giant Governor (AAA) e Martaman (AAB).

Por meio da análise de re-amostragens foi possível identificar que 90 bandas foram suficientes, para uma precisa estimativa da divergência genética entre as 75 plantas irradiadas da 'Pacovan' (Figura 3). A correlação entre a matriz considerando todas as 186 bandas e a matriz com 90 bandas foi de 0,88, com

soma dos quadrados dos desvios (SQ_d) de 3,76 e valor de estresse (E) de 0,046. Kruskal (1964) relata que um valor de $E \leq 0,05$ é indicativo de uma excelente precisão nas estimativas. Para a 'Preciosa' irradiada a análise de reamostragem revelou que 70 bandas foram suficientes para estimar a diversidade genética entre as 74 plantas analisadas. A estimativa de correlação entre a matriz das 156 bandas e a matriz das 70 bandas foi de 0,89, com soma dos quadrados dos desvios (SQ_d) de 4,11 e valor de estresse (E) de 0,045.

Por meio destes resultados é possível inferir que a genotipagem realizada, tanto na 'Pacovan' quanto na 'Preciosa' apresentou poder de quantificar a variabilidade genética disponibilizada após irradiação com raios gama.

O dendrograma das similaridades genéticas baseado em ISSR, obtido pelo método UPGMA, encontra-se nas figuras 5 e 6. A similaridade genética média entre todas as plantas da Pacovan foi 0,73, variando de 0,52 entre a planta 26 e a planta 2 a 0,95 entre as plantas 74 e a planta 72 (Figura 6). Para a Preciosa foi observada uma similaridade média de 0,79 entre todas as plantas, com uma variação de 0,48 entre as plantas 78 e 11 a 0,97 entre a planta 51 e a planta 52.

Em face da amostragem aleatória realizada no campo para a genotipagem com ISSR (Tabelas 1 e 2 - Anexo), as plantas mutantes selecionadas receberam numeração distinta (Campo/ISSR) como segue: 'Pacovan' – 58/28, 72/35, 82/38, 83/40; para 'Preciosa' – 9/5, 10/6, 49/18, 147/64.

Comparando-se especificamente as plantas mutantes selecionadas, tanto da cultivar Pacovan quanto da 'Preciosa', verificou-se que essas plantas apresentaram diferenças genéticas (figuras 5 e 6). No caso da 'Preciosa', adotando-se a similaridade média (0,79) como ponto de corte no dendrograma, observou-se a formação de três agrupamentos, com G1 formado apenas pela testemunha, G2 com outros mutantes e G3 com as quatro plantas mutantes selecionadas (Figura 5). Entre as plantas selecionadas, maior similaridade foi observada entre as de números 5 e 6 (Tabela 6), com o par mais divergente representado pelas plantas 18 e 64. Já para a 'Pacovan', por meio da similaridade média (0,73) usada como ponto de corte, foram formados sete agrupamentos, com os mutantes selecionados de números 35 e 38 no G6; a planta 28, presente no G4 e 40 no G1 (Figura 6). A testemunha (planta 76) agrupou separadamente com outras plantas irradiadas.

Verificou-se variabilidade genética entre os mutantes tanto da 'Pacovan' quanto da 'Preciosa', o que permite inferir que a indução de mutação para a seleção de porte é uma técnica promissora, que pode auxiliar os programas de melhoramento genético da bananeira na busca de novas variedades com menor porte e boas características agronômicas.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostram que existe variabilidade genética para a maioria das características agronômicas entre as 179 plantas irradiadas da 'Pacovan' e 190 plantas irradiadas da 'Preciosa', o que permite a seleção de plantas com menor porte e com boas características agronômicas.

Por meio da análise molecular, observa-se que os marcadores ISSR são eficientes na detecção da variabilidade genética entre as 75 plantas irradiadas de Pacovan e 74 plantas irradiadas de Preciosa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCADE, A. F.; ANSELIN, P.; FAIVRE, R. M. C.; LESAGE, L. E.; PRAT, D. Application of AFLP, RAPD and ISSR markers to genetic mapping of European and Japanese larch. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlim, v.100, p.299-307, 2000.

BERMÚDEZ, I.; ORELLANA, P.; PÉREZ PONCE, J.; CLAVELO, J.; VEITIA, N.; ROMERO, C.; MUJICA, R.; GARCIA, R.L. Improvement of the hybrid plantain clone FHIA-21 by mutagenesis *in vitro*. **Infomusa**, Montpellier, v.9, n.1, p.16-19, 2000.

CRUZ, C. D.; SCHUSTER, I. **GQMOL – Aplicativo computacional para análise de dados moleculares e de suas associações com caracteres quantitativos**. versão 2004.2.1. Viçosa: UFV, 2004.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v.12, n.1, p.13-15, 1990.

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.

GUPTA, M.; CHYI, Y. S.; ROMEO-SEVERSON J.; OWEN, J. L. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeat. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlim, v. 89, p. 998-1006, 1994.

KRUSKAL, J.B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a non-metric hypothesis. **Psychometrika**, Baltimore, v.29, p.1-27, 1964.

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

RACHARAK, P.; EIADTHONG, W. Genetic relationship among subspecies of *Musa acuminata* Colla and A-genome consisting edible cultivated bananas assayed with ISSR markers. **Songklanakarin J. Sci. Technol.**, v.29, n.6, p.1479-1489, 2007.

RAY, T.; DUTTA, I.; SAHA, P.; DAS, S.; ROY, S. C. Genetic stability of three economically micropropagated banana (*Musa* spp.) cultivars of lower Indo-Gangetic plains, as assessed by RAPD and ISSR markers. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. v. 85, n. 1, p. 11-21, 2006.

RESENDE, J.C.F. **Melhoramento da bananeira (*Musa* spp.) utilizando indução de mutação com raios gama e variação somaclonal para a redução da altura de plantas**. 2005, 155p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

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**, Canada, v.38, p.757-763, 1995.

SAS LEARNING EDITION **Programa SAS - Getting started with the SAS Learning Edition**. Cary SAS Publishing, North Carolina, 2002, 200p.

SILVA, J. da; TORRES FILHO, P. Aspectos socioeconômicos. In: **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: Embrapa-CNPMF, 1997. 585p.

TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, v.24, p.1596-1599, 2007.

VENKATACHALAM, L.; SREEDHAR, R. V.; BHAGYALAKSHMI, N. Micropropagation in banana using high levels of cytokinins does not involve any genetic changes as revealed by RAPD and ISSR markers. **Plant Growth Regulation**. v. 51, n. 3, p.193-205, 2007.

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. Iniciadores ISSR utilizados na amplificação de mutantes de bananeira ‘Pacovan’ e ‘Preciosa’, com suas respectivas seqüências, temperaturas de anelamento (Ta) e número total de bandas (NTB).

| Primer | Seqüência | Ta | NTB¹ | Primer | Seqüência | Ta | NTB¹ |
|---------------|------------------|-----------|------------------------|-------------------------|------------------|-----------|------------------------|
| DiGA3'C | (GA)8C | 48 | 12/10 | TriAAG3'RC | (AAG)5RC | 48 | 15/16 |
| DiGA3'RC | (GA)8RC | 48 | 12/7 | TriTGA3'RC | (TGA)5RC | 48 | 14/6 |
| TriGTA3'RC | (GTA)5RC | 48 | 12/8 | TriCAA3'RC | (CAA)5RC | 48 | 13/15 |
| DiGT3'RG | (GT)8RG | 48 | 6/8 | TriCTG3'RC | (CTG)5RC | 48 | 11/10 |
| TriTAG3'RC | (TAG)5RC | 48 | 12/8 | DiGA3'YC ² | (GA)8YC | 48 | 08 |
| TriTGG3'RC | (TGG)5RC | 48 | 11/14 | TriTGC3'RC ³ | (TGC)5RC | 48 | 06 |
| TriCTC3'RC | (CTC)5RC | 48 | 8/10 | TriGAG3'RC ³ | (GAG)5RC | 48 | 05 |
| TriGAT3'RC | (GAT)5RC | 48 | 9/11 | TriTTC3'RC ³ | (TTC)5RC | 48 | 05 |
| TriAGA3'RC | (AGA)5RC | 48 | 10/12 | DiGT3'A ³ | A(GT)8 | 48 | 05 |
| TriCAG5'CR | CR(CAG)5 | 48 | 10/13 | DiGT5'CY ³ | CY(GT)8 | 48 | 10 |

¹ NTB Pacovan/Preciosa; ² Primer utilizado somente nos mutantes de ‘Preciosa’; ³ Primers utilizados somente nos mutantes de ‘Pacovan’. Os primers restantes foram utilizados nos mutantes da ‘Pacovan’ e da ‘Preciosa’. R: A, G; Y: C, T

Tabela 2. Análise de variância para variáveis de crescimento e produção em dois ciclos nas cultivares de bananeira Pacovan e Preciosa irradiadas e não irradiadas. Cruz das Almas, 2010.

| FV | GL | Variáveis ¹ | | | | | | | | | | |
|--------------------|------------|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------|
| | | NPF | NPC | NFC | DIA | ALP | NFO | NFI | PCA | PPE | NFR | PMF |
| Tratamento (T) | 3 | 33,27** | 42,30** | 6,52** | 22,09** | 0,31 ^{ns} | 6,65** | 1,25 ^{ns} | 10,79** | 10,76** | 6,65** | 6,37** |
| Ciclo (C) | 1 | 4184,42** | 3711,89** | 0,54 ^{ns} | 43,92** | 667,23** | 377,68** | 434,78** | 51,28** | 55,98** | 27,69** | 37,18** |
| T x C | 3 | 0,46 ^{ns} | 1,01 ^{ns} | 0,43 ^{ns} | 1,22 ^{ns} | 0,55 ^{ns} | 5,13** | 3,68** | 1,18 ^{ns} | 0,96 ^{ns} | 0,48 ^{ns} | 2,51* |
| Erro | 836 | | | | | | | | | | | |
| Total | 843 | | | | | | | | | | | |
| CV (%) | | 14,48 | 12,12 | 17,52 | 12,91 | 13,05 | 22,89 | 36,65 | 42,84 | 45,37 | 25,35 | 38,64 |
| Média Geral | | 497,46 | 628,80 | 133,77 | 18,29 | 3,09 | 9,77 | 2,61 | 6,65 | 5,88 | 61,72 | 94,32 |
| | | Variáveis ¹ | | | | | | | | | | |
| | | CFS | CFP | DFS | DFP | NPE | NFV | CEG | DEG | SIG | SIC | |
| Tratamento (T) | 3 | 4,35** | 0,82 ^{ns} | 6,99** | 4,82** | 5,13** | 17,55** | 3,95** | 5,77** | 85,07** | 14,27** | |
| Ciclo (C) | 1 | 15,14** | 0,26 ^{ns} | 15,88** | 10,04** | 24,68** | 33,78** | 135,09** | 69,56** | 0,810 ^{ns} | 34,44** | |
| T x C | 3 | 2,32 ^{ns} | 0,43 ^{ns} | 0,45 ^{ns} | 0,94 ^{ns} | 0,51 ^{ns} | 6,05** | 3,09* | 5,33** | 0,518 ^{ns} | 7,919** | |
| Erro | 836 | | | | | | | | | | | |
| Total | 843 | | | | | | | | | | | |
| CV (%) | | 18,96 | 35,19 | 14,42 | 16,17 | 17,60 | 68,04 | 27,12 | 16,10 | 29,93 | 44,77 | |
| Média Geral | | 497,46 | 628,80 | 133,77 | 18,29 | 5,28 | 2,92 | 34,08 | 45,78 | 0,32 | 0,66 | |

¹ NFC: número de dias do plantio a floração; NPC: número de dias do plantio a colheita; NFC: número de dias da floração a colheita; DIA: diâmetro do pseudocaule (cm); ALP: altura de planta (m); NFO: número de folhas na floração; NFI: número de filhos; PCA: peso de cacho (Kg); PPE: peso de pencas (Kg); NFR: número de frutos; PMF: peso médio do fruto (g); CFS: comprimento do fruto da segunda penca (cm); CFP: comprimento do fruto da penúltima penca (cm); DFS: diâmetro do fruto da segunda penca (mm); DFP: diâmetro do fruto da penúltima penca (mm); NPE: número de penca; NFV: número de folhas vivas na colheita; CEG: comprimento do engaço (cm); DEG: diâmetro do engaço (cm); SIG: presença de Sigatoka-amarela na floração; SIC: presença de Sigatoka-amarela na colheita. ^{ns} Não significativo. * Significativo a 5% de probabilidade. ** Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 3. Análise de variância para características vegetativas em dois ciclos nas cultivares de bananeira Pacovan e Preciosa irradiadas e não irradiadas. Cruz das Almas, 2010.

| FV | GL | Caracteres ¹ | | | | | | |
|---------------------|------------|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|----------|----------|
| | | CPS | CNP | FRT | CBR | CBP | ABP | PFO |
| Tratamento (T) | 3 | 9,16** | 5,07** | 8,78** | 4,48** | 31,07** | 28,39** | 108,24** |
| Ciclo (C) | 1 | 4,41* | 131,79** | 32,92** | 12,01** | 122,31** | 105,83** | 51,84** |
| T x C | 3 | 3,81** | 2,11 ^{ns} | 0,75 ^{ns} | 0,82 ^{ns} | 3,61** | 18,67** | 25,64** |
| Erro | 836 | | | | | | | |
| Total | 843 | | | | | | | |
| CV (%) | | 50,96 | 33,22 | 36,90 | 74,35 | 62,08 | 15,31 | 25,87 |
| Médias Geral | | 1,93 | 1,69 | 1,17 | 1,64 | 3,46 | 1,87 | 2,66 |

¹ CPS: cor do pseudocaule; CNP: cor da nervura principal; FRT: forma da roseta; CBR: cor dos brotos; CBP: cor da borda do pecíolo; ABP: abertura da base do pecíolo; PFO: posição das folhas. ^{ns} Não significativo. * Significativo a 5% de probabilidade. ** Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 4. Plantas irradiadas de bananeira Pacovan, selecionadas em dois ciclos dentre as 10% classificadas com menor altura. Cruz das Almas, 2010.

| Caracteres | Planta 58 | | Planta 72 | | Planta 82 | | Planta 83 | | Testemunha | | Média pop. | |
|------------|-----------|---------|-----------|---------|-----------|---------|-----------|---------|------------|---------|------------|---------|
| | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 |
| NPF | 275,00 | 593,00 | 320,00 | 485,00 | 283,00 | 580,00 | 252,00 | 461,00 | 295,63 | 616,05 | 319,81 | 635,29 |
| NPC | 408,00 | 726,00 | 431,00 | 640,00 | 420,00 | 689,00 | 392,00 | 587,00 | 418,83 | 747,58 | 449,07 | 758,51 |
| ALP | 2,33 | 2,90 | 2,44 | 2,80 | 2,30 | 3,20 | 2,20 | 2,40 | 2,76 | 3,46 | 2,74 | 3,45 |
| PCA | 7,50 | 6,20 | 10,10 | 2,70 | 9,20 | 6,40 | 9,10 | 2,70 | 6,85 | 6,01 | 6,31 | 4,61 |
| PPE | 6,50 | 5,60 | 9,00 | 2,40 | 8,40 | 5,40 | 8,50 | 2,40 | 6,85 | 6,01 | 6,31 | 4,61 |
| NFR | 62,00 | 88,00 | 77,00 | 31,00 | 64,00 | 57,00 | 42,00 | 31,00 | 69,66 | 67,44 | 63,53 | 58,31 |
| PMF | 104,84 | 63,64 | 116,88 | 77,42 | 131,25 | 94,74 | 202,38 | 77,42 | 99,79 | 91,50 | 101,43 | 78,13 |

[†]NPF: Número de dias do plantio ao florescimento; NPC: número de dias do plantio a colheita; ALP: altura de planta (m); PCA: peso de cacho (kg) e de pencas (PPE); NFR: número de frutos por cacho; PMF: peso médio do fruto (g).

Tabela 5. Plantas irradiadas de bananeira ‘Preciosa’, selecionadas em dois ciclos dentre as 10% classificadas com menor altura. Cruz das Almas, 2010.

| Caracteres | Planta 9 | | Planta 10 | | Planta 49 | | Planta 147 | | Testemunha | | Média pop. | |
|------------|----------|---------|-----------|---------|-----------|---------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|
| | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 |
| NPF | 270,00 | 605,00 | 297,00 | 597,00 | 350,00 | 688,00 | 280,00 | 587,00 | 341,23 | 683,00 | 360,87 | 684,71 |
| NPC | 398,00 | 750,00 | 413,00 | 742,00 | 470,00 | 798,00 | 412,00 | 752,00 | 482,35 | 822,35 | 496,15 | 821,64 |
| ALP | 2,44 | 3,10 | 2,40 | 3,00 | 2,20 | 2,50 | 2,40 | 3,10 | 2,76 | 3,34 | 2,71 | 3,45 |
| PCA | 2,00 | 4,90 | 6,70 | 5,00 | 10,80 | 6,00 | 6,60 | 6,60 | 8,72 | 7,10 | 6,57 | 5,43 |
| PPE | 30,00 | 44,00 | 67,00 | 57,00 | 64,00 | 70,00 | 62,00 | 58,00 | 71,1 | 62,76 | 63,96 | 57,45 |
| NFR | 66,66 | 111,36 | 100,00 | 87,72 | 168,75 | 85,71 | 106,45 | 113,79 | 120,7 | 112,27 | 100,97 | 91,86 |
| PMF | 11,00 | 15,00 | 15,00 | 15,00 | 19,00 | 13,00 | 15,00 | 17,00 | 15,05 | 14,58 | 13,79 | 13,59 |

[†] NPF: Número de dias do plantio ao florescimento; NPC: número de dias do plantio a colheita; ALP: altura de planta (m); PCA: peso de cacho (kg) e de pencas (PPE); NFR: número de frutos por cacho; PMF: peso médio do fruto (g).

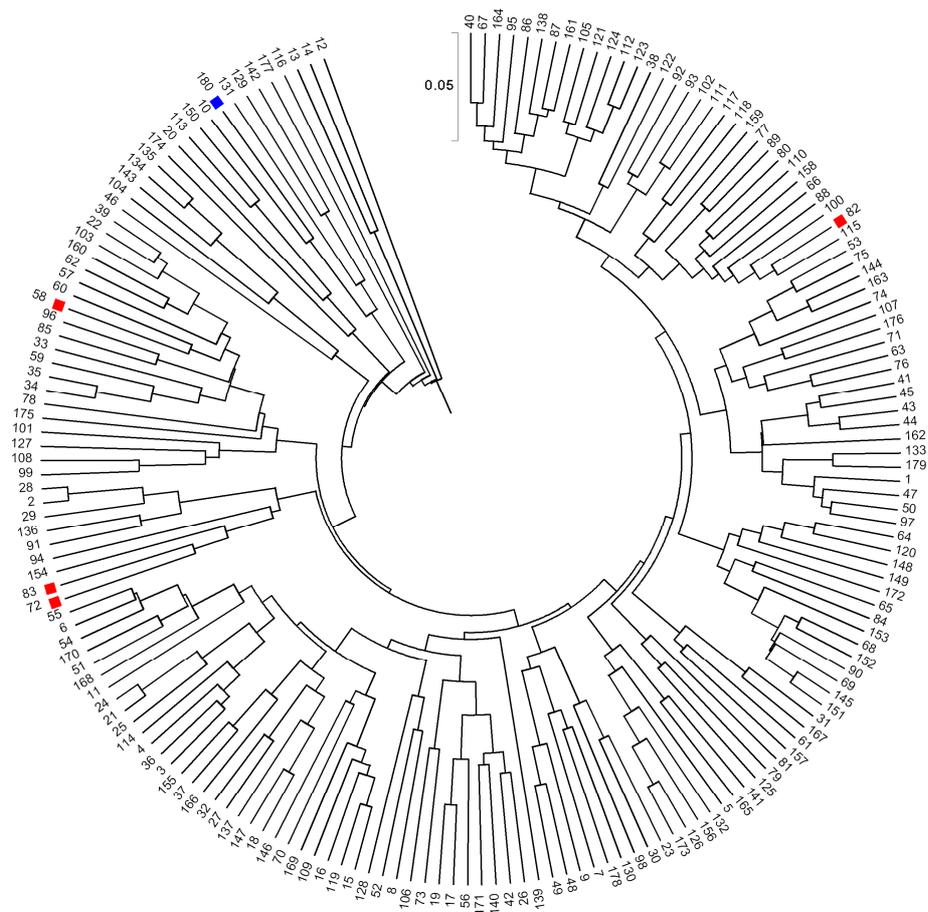


Figura 1. Dissimilaridade genética entre 179 mutantes da ‘Pacovan’ e testemunha não irradiada obtida a partir de 29 características agrônômicas. Números grifados de vermelho indicam as plantas mutantes selecionadas para porte reduzido e em azul, a testemunha não irradiada. Cruz das Almas, 2010.

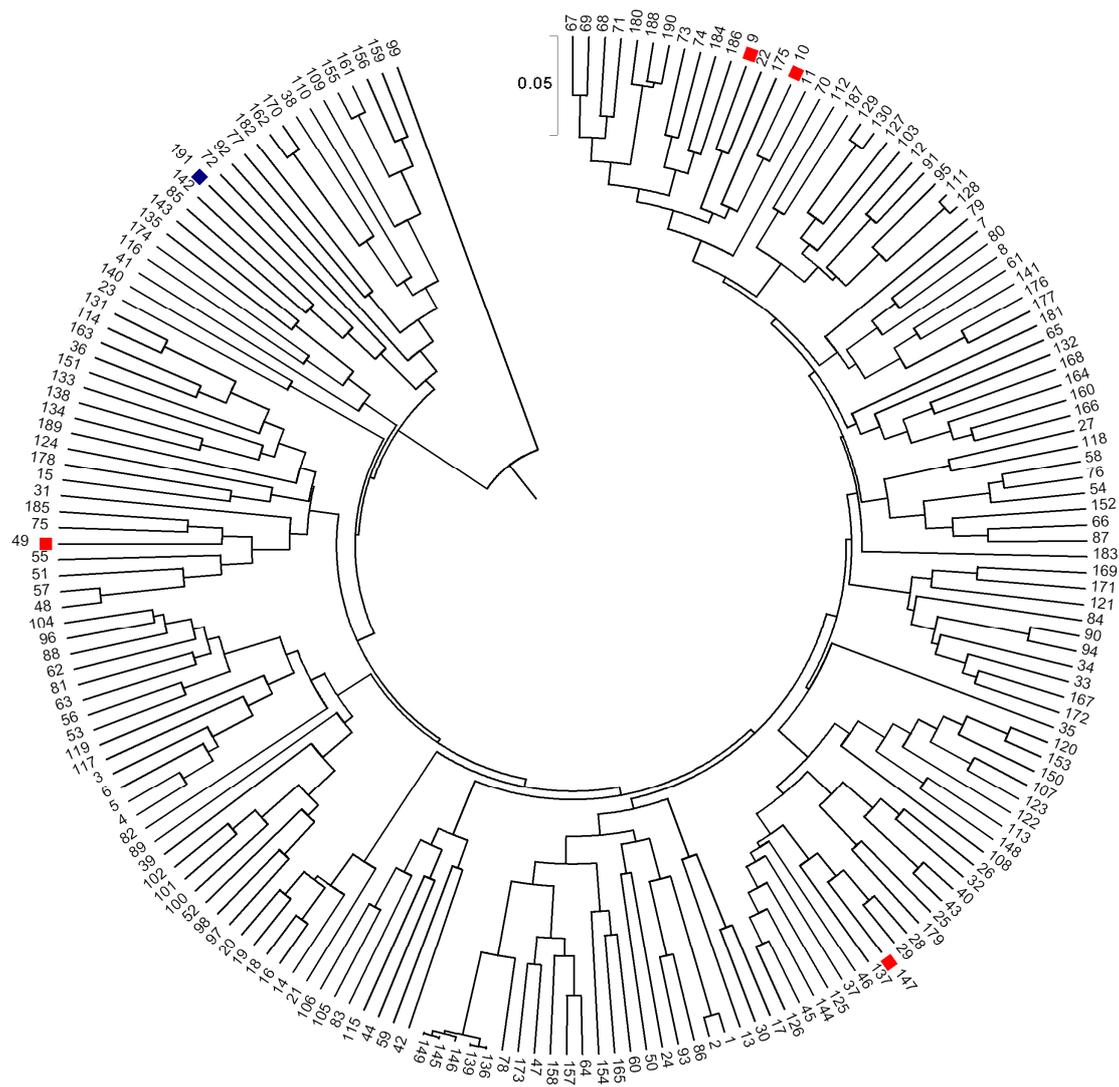


Figura 2. Dissimilaridade genética entre 190 mutantes da ‘Preciosa’ e testemunha não irradiada obtida a partir de 29 características agrônômicas. Números grifados de vermelho indicam as plantas mutantes selecionadas para porte reduzido e em azul, a testemunha não irradiada. Cruz das Almas, 2010.

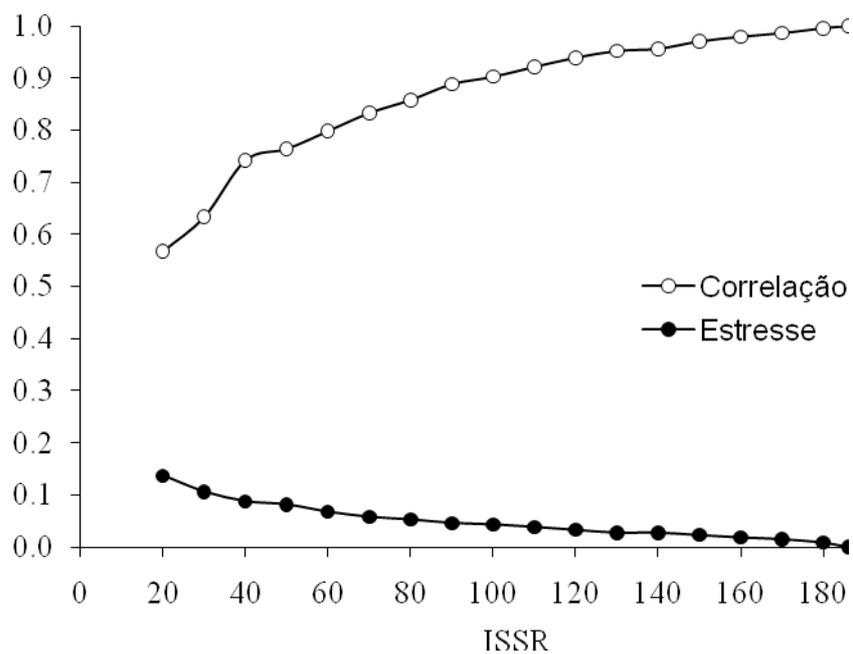


Figura 3. Análise de reamostragem para uma precisa estimativa da variabilidade genética em mutantes da 'Pacovan' por meio de marcadores ISSR.

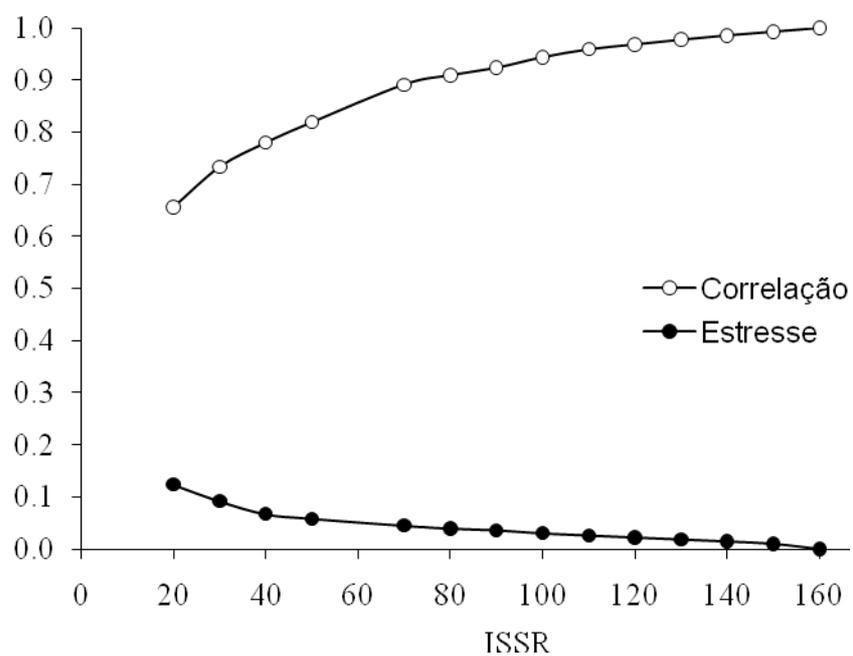


Figura 4. Análise de reamostragem para uma precisa estimativa da variabilidade genética em mutantes da 'Preciosa' por meio de marcadores ISSR.

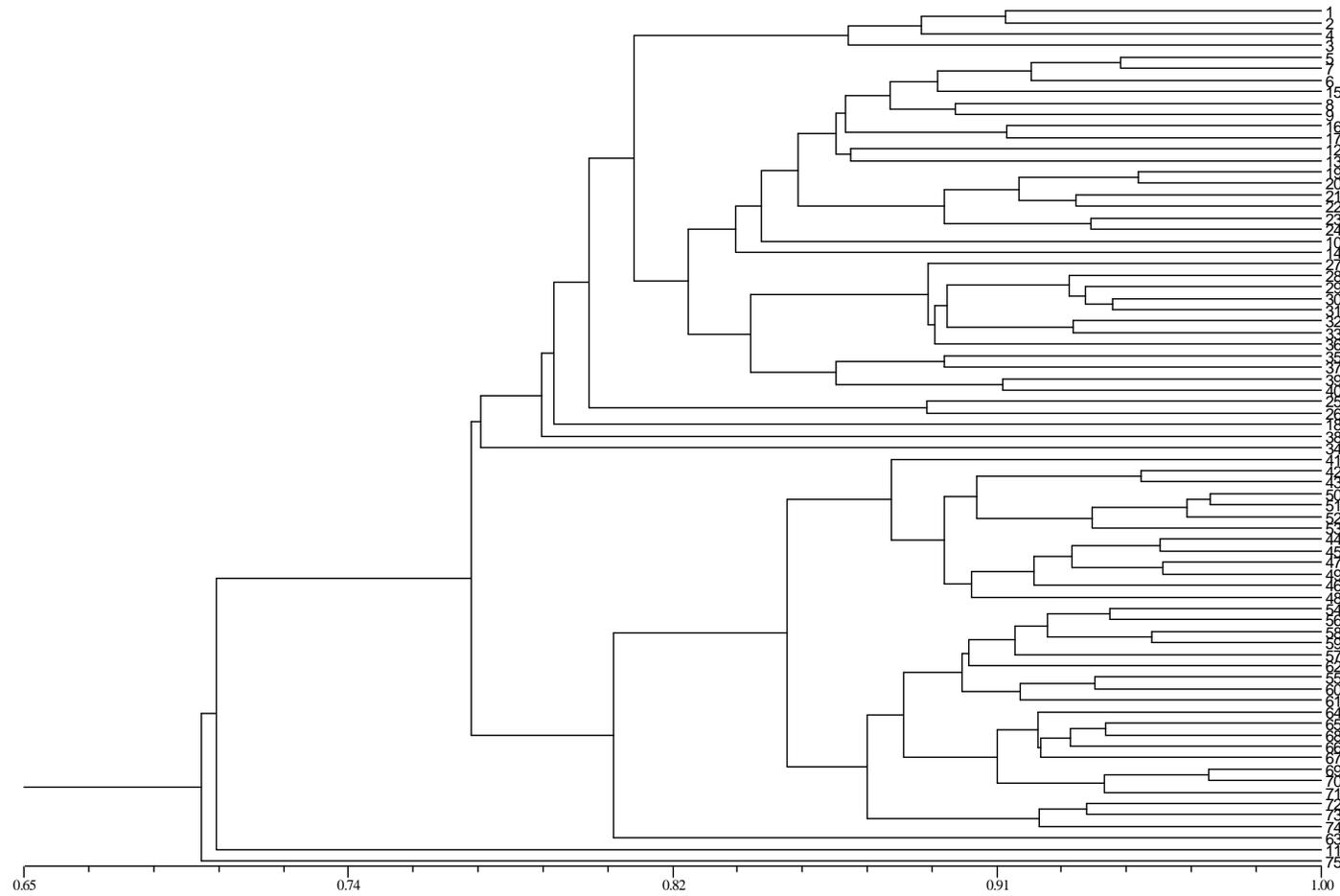


Figura 5. Similaridade genética entre 74 mutantes da 'Preciosa' e testemunha não irradiada obtida a partir de 15 marcadores ISSR. Cruz das Almas, 2010.

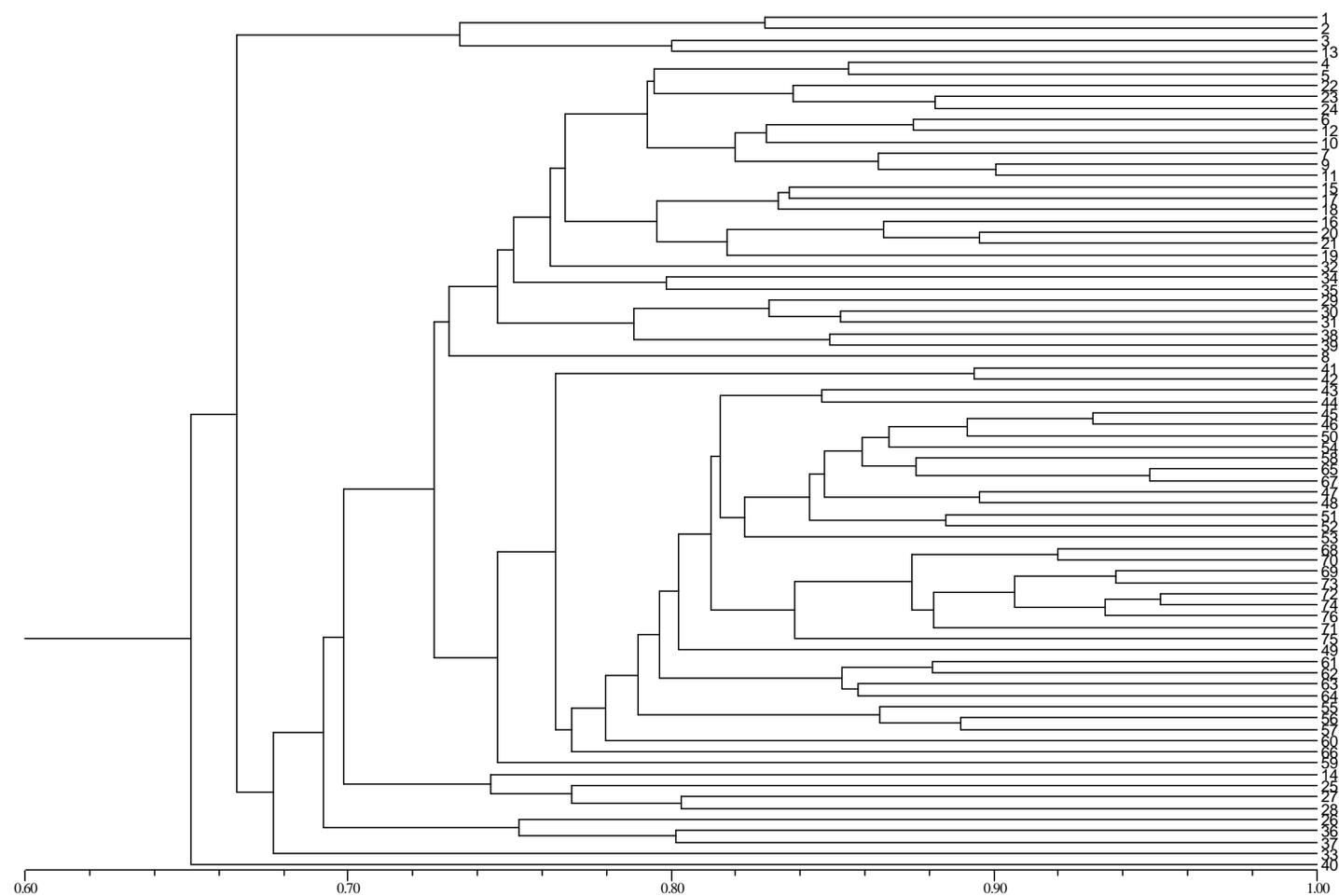


Figura 6. Similaridade genética entre 75 mutantes da 'Pacovan' e testemunha não irradiada obtida a partir de 19 marcadores ISSR. Cruz das Almas, 2010.

Tabela 6. Similaridades genéticas entre plantas mutantes selecionadas das cultivares Pacovan e Preciosa, com base em marcadores ISSR. Cruz das Almas, 2010.

| Variedade | | Pacovan | | |
|-----------|------|----------|------|------------|
| Plantas | 35 | 38 | 40 | Testemunha |
| 28 (58) | 0,53 | 0,76 | 0,57 | 0,67 |
| 35 (72) | | 0,69 | 0,69 | 0,66 |
| 38 (82) | | | 0,69 | 0,67 |
| 40 (83) | | | | 0,64 |
| Variedade | | Preciosa | | |
| Plantas | 06 | 18 | 64 | Testemunha |
| 05 (09) | 0,92 | 0,77 | 0,79 | 0,68 |
| 06 (10) | | 0,82 | 0,76 | 0,66 |
| 18 (49) | | | 0,64 | 0,57 |
| 64 (147) | | | | 0,84 |

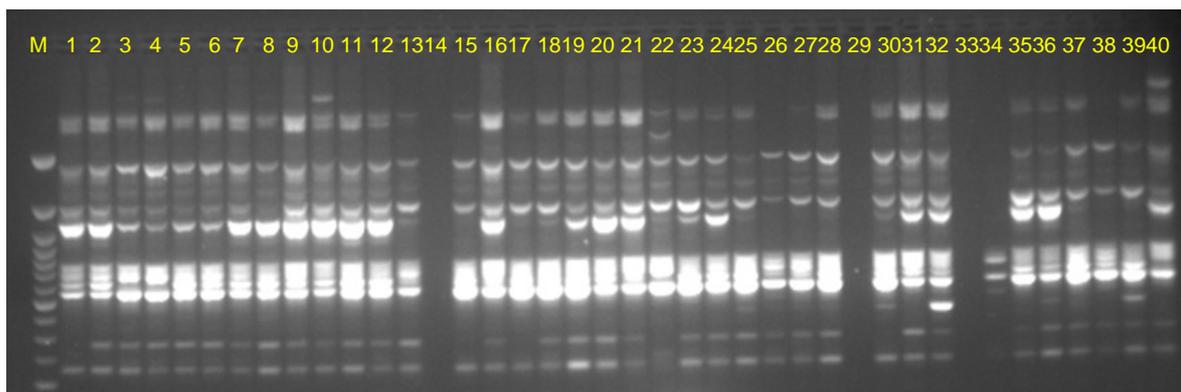


Figura 7. Perfil eletroforético de ISSR obtido com o *primer* TriGTA3'RC em 40 plantas mutantes de bananeira, onde: M : Marcador de peso molecular (Ladder 50 pb); Números de 1 a 40 representam indivíduos irradiados por meio de raios gama da cultivar Pacovan.

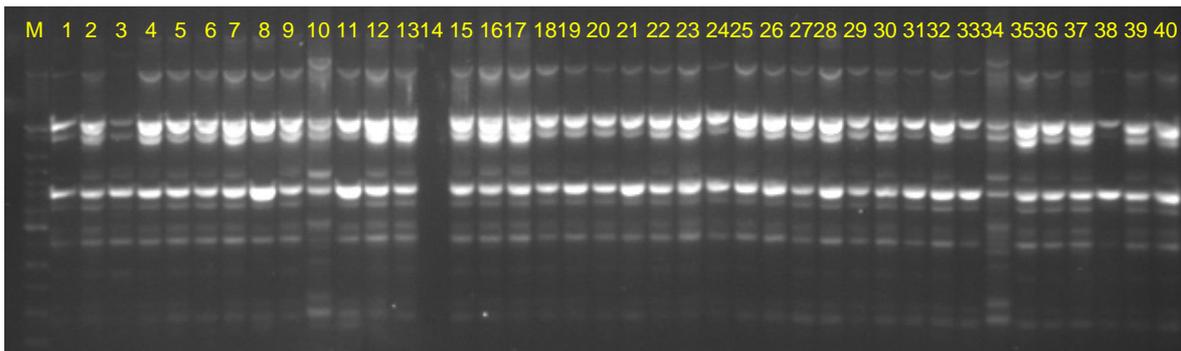


Figura 8. Perfil eletroforético de ISSR obtido com o *primer* TriCAA3'RC em 40 plantas mutantes de bananeira, onde: M: Marcador de peso molecular (Ladder 50 pb); Números de 1 a 40 representam indivíduos irradiados por meio de raios gama da cultivar Preciosa.

CAPÍTULO 3

INDUÇÃO DE MUTAÇÃO PARA REDUÇÃO DO PORTE EM BANANEIRA DO TIPO TERRA³

³ Artigo submetido ao comitê editorial do periódico Scientia Agrícola

INDUÇÃO DE MUTAÇÃO PARA REDUÇÃO DO PORTE EM BANANEIRA DO TIPO TERRA

Autora: Rosa Karla Nogueira Pestana
Orientador: Sebastião de Oliveira e Silva
Co-orientador: Edson Perito Amorim

RESUMO: Bananeiras estão entre as mais importantes culturas alimentares em todo o mundo, sendo cultivadas em mais de 80 países tropicais, principalmente por pequenos agricultores. A principal cultivar representante do Subgrupo Terra ou Plátano, no Brasil, é a 'Terra Maranhão'. Essa cultivar apresenta suscetibilidade a Sigatoka-negra além de possuir porte alto, características que dificultam o seu cultivo. A indução de mutação por raios gama, juntamente com as técnicas de propagação *in vitro*, constituem ferramentas de grande utilidade nos programas de melhoramento visando à redução do porte em bananeira. O objetivo desse trabalho foi estudar a sensibilidade de plantas *in vitro* de bananeira da cultivar Terra Maranhão à radiação gama, a fim de identificar a melhor dose para a obtenção de plantas com porte reduzido. Utilizando Co^{60} plantas *in vitro* da cultivar Terra Maranhão, foram irradiadas com diferentes doses de raios gama (0, 20, 30, 40 e 60 Gy) e posteriormente avaliadas quanto a taxa de multiplicação. Por meio do teste de sensibilidade identificou-se que as doses de 20 e 30 Gy foram as mais indicadas para uso na cultivar Terra Maranhão, uma vez que, essas intensidades de irradiação foram as que proporcionaram maiores valores para o número de brotos e para índice de sobrevivência. Após o teste de sensibilidade, foram irradiadas 315 gemas *in vitro*, com a dose de 20 Gy, as quais foram subcultivadas por quatro vezes e posteriormente avaliadas em casa-de-vegetação quanto aos caracteres: altura de planta, diâmetro do pseudocaule e número de folhas vivas, e em campo quanto à altura de planta, a cada 30 dias (0-150 dias) após o plantio. Os resultados preliminares permitem inferir que é possível identificar mutantes putativos da cultivar Terra Maranhão com porte reduzido, após irradiação com raios gama na dose de 20 Gy.

Palavras-chaves: *Musa spp.*, sensibilidade, radiação gama

INDUCTION OF MUTATION FOR REDUCTION OF HEIGHT IN PLANTAIN

Author: Rosa Karla Nogueira Pestana

Advisor: Sebastião de Oliveira e Silva

Co-advisor: Edson Perito Amorim

ABSTRACT: Bananas are among the most important food crops worldwide being cultivated in more than 80 tropical countries mainly by small producers. The most important cultivar representative of the Terra Subgroup or Plantain, in Brazil, is 'Terra Maranhão'. This cultivar is susceptible to black-Sigatoka and is very tall in height; characteristics which makes its cultivation difficult. Induction of mutation by gamma rays, along with *in vitro* propagation techniques are very useful tools in breeding programs aiming for shorter bananas. The objective of the present work was to study the sensitivity of *in vitro* plants of the Terra Maranhão cultivar to gamma radiation in order to identify the best dosage for obtaining plants shorter in height. Using Co⁶⁰ *in vitro* plants of the Terra Maranhão cultivar were irradiated with different doses of gamma rays (0, 20, 30, 40 and 60 Gy) and afterwards their multiplication rate was evaluated. It was identified, using the sensitivity test that the doses of 20 and 30 Gy were the most indicated for use in the Terra Maranhão cultivar since these irradiation intensities enabled greater values for the number of buds and survival index. After the sensitivity test, 315 *in vitro* buds were irradiated with the 20 Gy dose, subcultivated four times and afterwards evaluated in the greenhouse as to the following characteristics: plant height, pseudostem diameter and number of live leaves, and in the field: plant height every 30 days (0-150 days) after planting. Preliminary results showed that it is possible to identify putative mutants of the Terra Maranhão cultivar short in height after irradiation with gamma rays in the dose of 20 Gy.

Key-words: *Musa spp.*, sensitivity, gamma radiation.

1 INTRODUÇÃO

Bananas e plátanos estão entre as mais importantes culturas alimentares em todo o mundo, sendo cultivados em mais de 80 países tropicais, principalmente por pequenos agricultores. A principal representante do Subgrupo Plátano, no Brasil, é a cultivar Terra Maranhão. Essa cultivar apresenta suscetibilidade a Sigatoka-negra além de possuir porte alto, características que dificultam o seu cultivo (SILVA et al., 2002).

A indução de mutação por raios gama, juntamente com as técnicas de propagação *in vitro*, constituem ferramentas de grande utilidade nos programas de melhoramento visando à redução do porte em bananeira. Essa técnica de mutação é indicada para cultivares elites sendo adequada para resistência a doenças ou características agronômicas governadas por um ou poucos genes, uma vez que conserva as outras características do fenótipo original.

Resultados preliminares obtidos por Jamaluddin (1994) com a indução de mutação *in vitro* em bananeira, mediante o uso de raios gama em doses que variaram de 10 Gy a 60 Gy e ou etilmetanossulfonato (EMS), levaram à seleção de clones de 'Grande Naine' (Fatom-1) e de 'Pisang Rastali' (AAB Maçã) mais precoces, com porte baixo e maior rendimento. A mutação com raios Gama foi também empregada por Matsumoto & Yamaguchi (1991) na obtenção de mutantes da 'Nanicão' tolerantes ao alumínio. Estes resultados confirmam a possibilidade de emprego da indução de mutação no melhoramento de bananeira para a obtenção de características agronômicas desejáveis, como porte baixo e resistência a pragas.

A mutação induzida, utilizando raios gama, constitui-se em uma nova linha de trabalho recentemente incrementada no programa de melhoramento de bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMPF), visando à obtenção de plantas com porte baixo. A aplicação de radiação de 20 Gy em triplóides AAB (Pacovan) e 30 Gy em tetraplóides AAAB (Pacovan Ken) criou uma ampla variabilidade para porte e uma série de mutantes para outras características, que foram avaliadas em área experimental do CNPMPF (RESENDE, 2005).

O presente trabalho teve por objetivo estudar a sensibilidade de plantas *in vitro* de bananeira da cultivar Terra Maranhão à radiação gama, a fim de identificar a melhor dose para obtenção de plantas com porte reduzido.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Teste de sensibilidade de plantas *in vitro* de bananeira

Plantas *in vitro* da cultivar Terra Maranhão, produzidas pela Campo Biotecnologia Vegetal Ltda. em Cruz das Almas (BA), com aproximadamente 5 cm de altura e com 4 a 5 primórdios foliares, foram submetidas à irradiação com diferentes doses de raios gama (0, 20, 30, 40, e 60 Gy), em uma fonte de Co^{60} no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), em Piracicaba (SP). Foram utilizadas 65 plantas por dose de irradiação, incluindo testemunhas não irradiadas em mesmo número de plantas.

Após irradiação, as gemas axilares foram colocadas em meio de cultura básico MS, solidificado com 2 g L^{-1} de Phytigel, e suplementado com 30 g de sacarose e benzilaminopurina (BAP) na concentração de $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ e em seguida levadas para sala de crescimento, onde permaneceram durante 40 dias. Posteriormente, as plantas foram avaliadas quanto as seguintes características: taxa de multiplicação, que corresponde ao número de brotos (NB) por explante, altura de plantas (AP) e índice de sobrevivência (IS). Estes parâmetros foram submetidos à análise de regressão visando identificar a(s) melhor(es) dose(s) para uso na indução de mutação na cultivar Terra Maranhão. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 13 repetições (cinco gemas/repetição).

2.2 Irradiação gama de gemas *in vitro*

Foram irradiadas 315 gemas *in vitro*, utilizando Co^{60} no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), vinculado a Universidade de São Paulo (USP). A dose utilizada foi de 20 Gy, previamente identificada no teste de sensibilidade. Cinquenta gemas foram usadas como testemunhas, as quais também foram enviadas ao CENA/USP, porém sem exposição ao Co^{60} .

As gemas irradiadas foram transferidas para meio de cultura básico MS, solidificado com 2,2 g L⁻¹ de Phytigel, e suplementado com 30 g de sacarose e benzilaminopurina (BAP) na concentração de 3,0 mg L⁻¹ em pH 5,8. Em seguida as plantas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de 27±2°C e fotoperíodo de 16 horas de luz. As mudas foram submetidas a quatro subcultivos, realizados em intervalos de 30 dias.

Após os subcultivos, as plantas foram enraizadas em meio MS, com adição de 0,25 mg L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA) e 8 g L⁻¹ de ágar como geleificante, com o pH ajustado para 5,8 sendo posteriormente conduzidas a sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de 40 μmol m⁻² s⁻¹ e temperatura de 26±2 °C, onde permaneceram por um período de 35-40 dias.

As plantas já enraizadas foram levadas para casa-de-vegetação, onde foram aclimatadas em tubetes contendo substrato Plantmax (composto por casca de madeira processada, vermiculita expandida, carvão granulado, turfa processada e enriquecida com macro e micronutrientes) e em telado com sombrite 50 %, com controle de luminosidade e irrigação realizada por nebulização automática.

2.3 Avaliação preliminar dos mutantes em casa-de-vegetação

A avaliação preliminar dos possíveis mutantes foi realizada em casa-de-vegetação, na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, em Cruz das Almas (BA), visando determinar o crescimento inicial de plantas mutantes de bananeira, cv. Terra Maranhão.

Durante o desenvolvimento das plantas, foram realizadas medições biométricas, aos 30, 60 e 90 dias após o plantio em casa-de-vegetação, das seguintes características agrônômicas: altura de plantas (ALP), diâmetro do pseudocaule (DIA) e número de folhas (NFL).

2.4 Avaliação preliminar dos mutantes em campo

O experimento foi conduzido no campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, em Cruz das Almas (BA), tendo como objetivo

selecionar clones de bananeira do tipo Terra com menor porte e boas características agronômicas.

A instalação do experimento foi realizada sem adoção de delineamento experimental, e o objetivo principal do trabalho foi selecionar 10 % das melhores plantas em um grupo relativamente grande de bananeiras. O plantio foi feito no espaçamento 3 m x 4 m, e a adubação de fundação e cobertura foi realizada de acordo com as recomendações técnicas para a cultura. Foram avaliadas em campo 261 plantas irradiadas e 52 não irradiadas, da cultivar Terra Maranhão.

Após a instalação do experimento em campo, avaliou-se a altura de planta a cada 30 dias após o plantio, com medições realizadas aos 0, 60, 90, 120 e 150 dias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teste de sensibilidade de plantas *in vitro* de bananeira

Os resultados obtidos para a análise de sensibilidade de gemas axilares de bananeira, cultivar Terra Maranhão, são mostrados na Figura 1, por meio da qual se observa que as plantas expostas às diferentes doses de radiação apresentaram uma redução expressiva do número de brotos e ou plântulas *in vitro* produzidas, em função do aumento na dose de raios gama, indicando uma associação inversa entre estes dois parâmetros. O mesmo foi observado na altura de plantas e no índice de sobrevivência.

Observou-se, em relação à testemunha que as menores doses (20 e 30 Gy) reduziram em menor intensidade a sobrevivência das plantas, enquanto nas maiores dose (40 e 60 Gy) resultaram em menores taxas de sobrevivência, durante 40 dias de cultivo. Estes resultados corroboram com os observados por Bhagwat e Duncan (1998) que avaliaram o uso da irradiação no melhoramento genético de bananeira.

Verificou-se que o número de brotos teve uma considerável redução, 40 dias após a irradiação, em todos os tratamentos utilizados. Em relação à altura de plantas, os menores valores foram identificados nas doses de 40 e 60 Gy, as

quais apresentaram também valores de índice de sobrevivência baixos, de 60 e 20%, respectivamente.

Por meio da análise de regressão identificou-se que as doses de 20 e 30 Gy foram as mais indicadas para uso na cultivar Terra Maranhão, uma vez que, essas intensidades de irradiação foram as que proporcionaram maiores valores para o número de brotos e para índice de sobrevivência, critérios utilizados para a identificação de doses de irradiação mais adequada em diversas culturas.

Resultados semelhantes foram obtidos por Resende (2005) que realizando trabalhos com indução de mutação, utilizando raios gama, identificou que as doses de 20 Gy e 30 Gy foram as mais indicadas para induzir mutação visando a redução do porte nas cultivares de bananeira Pacovan (AAB) e Pacovan Ken (AAAB).

Domingues et al. (1994) selecionaram a dose de 40 Gy como a melhor para irradiar bananeira do tipo maçã e Roux (2004) as doses de 30 Gy e 40 Gy para a cultivar 'Three Hand Plantly' (genoma AAB), ambos utilizaram como critérios de seleção a taxa de sobrevivência, o peso fresco das brotações, a altura de plantas e a taxa de brotações. Novak et al. (1990), trabalhando com uma cultivar de plátano (AAB) identificaram que a dose de 30 Gy foi a mais indicada para a indução de mutação, corroborando com os resultados obtidos no presente trabalho.

3.2 Avaliação preliminar dos mutantes em casa-de-vegetação

Os resultados preliminares de desenvolvimento da bananeira mostram que houve diferença significativa para altura de plantas entre os tratamentos irradiados e testemunhas. Embora, aos 30 dias não tenha havido diferenças significativas entre os tratamentos, no entanto, para as avaliações aos 60 e 90 dias, as maiores médias foram obtidas entre as plantas irradiadas (Tabelas 1 e 2).

Em relação ao diâmetro do pseudocaule, pode-se constatar valores médios com diferenças significativas aos 30 dias, o mesmo não ocorreu na segunda e terceira mensuração em que foram observados valores médios similares entre os tratamentos estudados.

Observou-se também, para o número de folhas, que somente houve diferenças significativas aos 30 e 90 dias entre os tratamentos irradiados e não irradiados.

Na Figura 2 são apresentados os modelos de regressões e seus respectivos coeficientes de determinação, para as características altura de planta, diâmetro do pseudocaule e número de folhas aos 30, 60 e 90 dias.

Por meio da análise de regressão, é possível inferir que a altura de planta apresentou uma tendência de menor desenvolvimento entre os tratamentos irradiados quando comparados com os não irradiados. Para o diâmetro do pseudocaule, comportamento semelhante também foi obtido, com tendência a redução das diferenças a partir dos 90 dias após plantio.

O número de folhas apresentou regressão de segundo grau, com plantas irradiadas apresentando maior número de folhas aos 30 dias após plantio e tendência de queda ao longo do tempo de permanência em casa-de-vegetação. Por outro lado, as plantas não irradiadas apresentaram pequena redução do número de folhas até os 30 dias com posterior aumento no valor da característica em função do tempo após plantio.

3.3 Avaliação preliminar dos mutantes em campo

A análise de variância revelou que não houve diferença significativa entre os tratamentos para a altura de planta (Tabela 3). Verificou-se que as plantas irradiadas apresentaram altura média de planta semelhantes as testemunhas para todos os períodos de dias avaliados (Tabela 4). Por meio da análise de regressão foi identificado que a altura das plantas irradiadas foi praticamente a mesma das testemunhas, no entanto, apresentaram um maior desenvolvimento a partir dos 120 e 150 dias, quando comparadas com as testemunhas (Figura 3).

Por meio da Figura 4 é possível verificar a existência de ampla variabilidade genética para altura de plantas na cultivar Terra Maranhão irradiada com raios gama. resultado este que, leva a inferir que a irradiação com raios gama tem potencial para provocar alterações no porte de plantas dessa cultivar. O ensaio continua em avaliação em campo e os resultados conclusivos só serão obtidos após a emissão da inflorescência, ocasião em que a planta de bananeira atinge a altura máxima. Além disso, essas plantas serão avaliadas por, no

mínimo, dois ciclos de produção, seguido de uma seleção das 10% menores plantas, que apresentem bom cacho.

CONCLUSÕES

Por meio do teste de sensibilidade as melhores doses de raio gama identificadas são 20 e 30 Gy, as quais são recomendadas para futuros trabalhos de irradiação visando à seleção de mutantes de porte reduzido na cultivar Terra Maranhão.

Os resultados preliminares permitem inferir sobre a possibilidade de identificação de mutantes putativos da cultivar Terra Maranhão com porte reduzido, após irradiação com raios gama na dose de 20Gy.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHAGWAT, B.; DUNCAN, E.J.. Mutation breeding of Highgate (*Musa acuminata* AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using gamma irradiation. **Euphytica** 101:143-150,1998

DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; MENDES, B.M.J.; ANDO, A . Efeitos de doses de raios gama em ápices caulinares de bananeira (*Musa* sp.) desenvolvidos *in vitro* para indução de mutação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.7, p.1091-1098, 1994.

JAMALUDDIN, S.H. Mutation Breeding of Banana in Malaysia. In: JONES D.R. (ed) **The Improvement and Testing of Musa**: a global Workshop. Montpellier, INIBAP, 1994, p. 228-232.

MATSUMOTO, K.; YAMAGUISHI, H. 1991. **Induction and selection of aluminium tolerance in the banana**. Viena; IAEA, p. 249-255.

NOVAK, F.J.; AFZA, R.; VAN DUREN, M.; OMAR, M.S. Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot-tips of banana and plantain (*Musa* cvs). **Tropical Agriculture**, London, v.67, n.1, p.21-28, 1990.

RESENDE, J.C.F. **Melhoramento da bananeira (*Musa spp.*) utilizando indução de mutação com raios gama e variação somaclonal para a redução da altura de plantas.** 2005, 155p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ROUX, N.S.; AFZA, R.; BRUNNER, H.; MORBURGO, R. VAN DUREN, M. Complementary approaches to cross-breeding and mutation breeding for musa improvement. In: JONES D.R. (Ed). **The improvement and testing of Musa: a global Workshop.** Montpellier, INIBAP, 1994. p.213-218.

SILVA, S. O.; FLORES, J. C. O; LIMA NETO, F. P. Avaliação de cultivares e híbridos de bananeira em quatro ciclos de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.11, p.1567-1574, 2002.

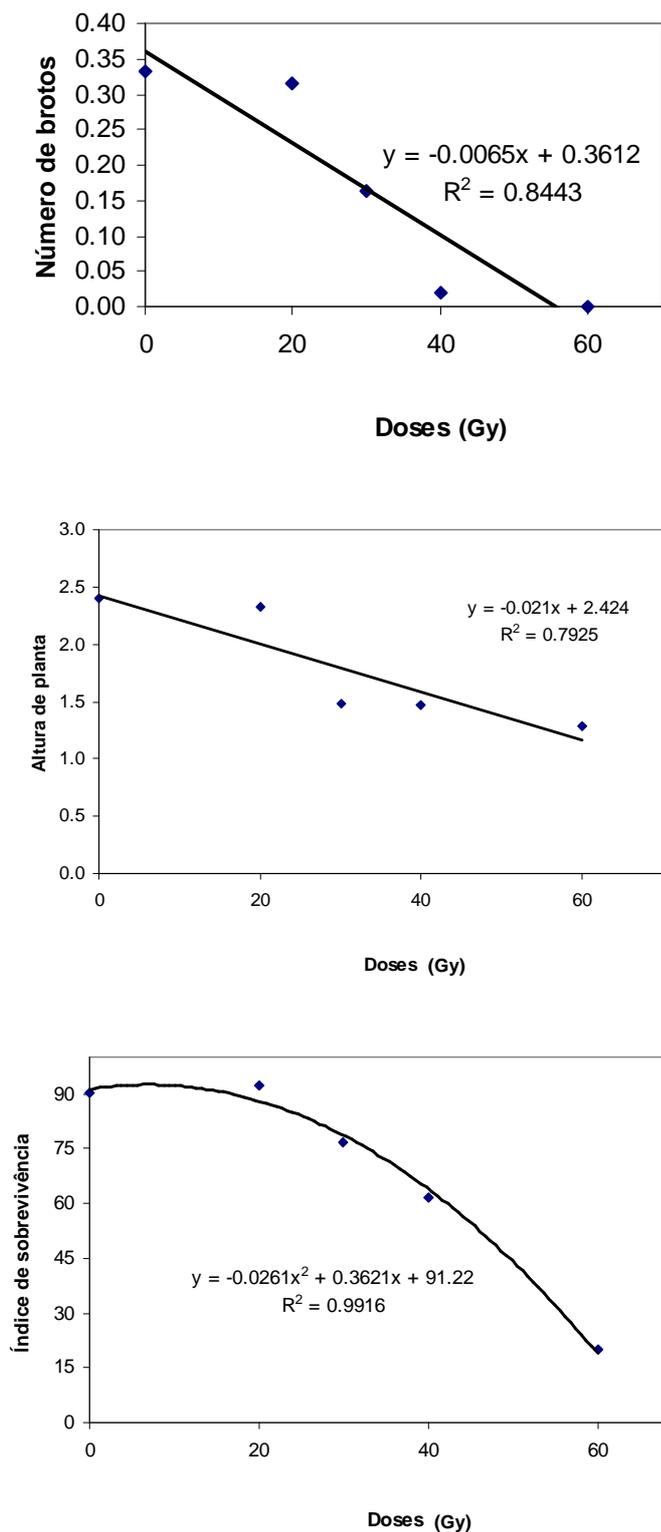


Figura 1. Efeito de diferentes doses de irradiação gama no número de brotos, altura de planta e índice de sobrevivência de gemas axilares de bananeira cultivar Terra Maranhão obtidas da irradiação de plantas *in vitro*, após 40 dias em sala de crescimento. Cruz das Almas, 2010.

Tabela 1. Análise de variância para altura de plantas (ALP em cm), diâmetro do pseudocaule (DIA em mm) e número de folhas (NFL) considerando o tratamento irradiado e testemunha da cultivar Terra Maranhão aos 30, 60 e 90 dias após plantio em casa-de-vegetação. Cruz das Almas, 2010.

| FV | GL | QM | | |
|------------|-----|---------------------|---------------------|--------------------|
| | | ALP | DIA | NFL |
| Tratamento | 1 | 76,51 ^{**} | 94,85 ^{**} | 0,37 ^{ns} |
| Resíduo | 319 | 8,67 | 9,38 | 0,87 |
| Total | 320 | | | |
| CV (%) | | 37,81 | 43,06 | 24,39 |

^{ns} não significativo e ^{**} significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 2. Médias de altura de planta (ALP em cm), diâmetro do pseudocaule (DIA em mm) e número de folhas (NFL) de plantas de bananeira da cultivar Terra Maranhão avaliadas aos 30, 60 e 90 dias após plantio. Cruz das Almas, 2010.

| Tratamentos | Características ¹ | | | | | | | | |
|-------------|------------------------------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | ALP1 | ALP2 | ALP3 | DIA1 | DIA2 | DIA3 | NFL1 | NFL2 | NFL3 |
| Irradiados | 4,82 a | 8,38 a | 10,52 a | 4,85 a | 7,46 a | 9,48 a | 4,05 a | 3,70 a | 3,69 b |
| Testemunhas | 4,81 a | 7,21 b | 9,51 b | 3,23 b | 7,14 a | 8,97 a | 3,74 b | 3,66a | 4,19 a |

¹ALP1, ALP2 e ALP3: altura de planta (cm) aos 30, 60 e 90 dias; DIA1, DIA2 e DIA3: diâmetro do pseudocaule (mm) aos 30, 60 e 90 dias; NFL1, NFL2 e NFL3: número de folhas aos 30, 60 e 90 dias; Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste T.

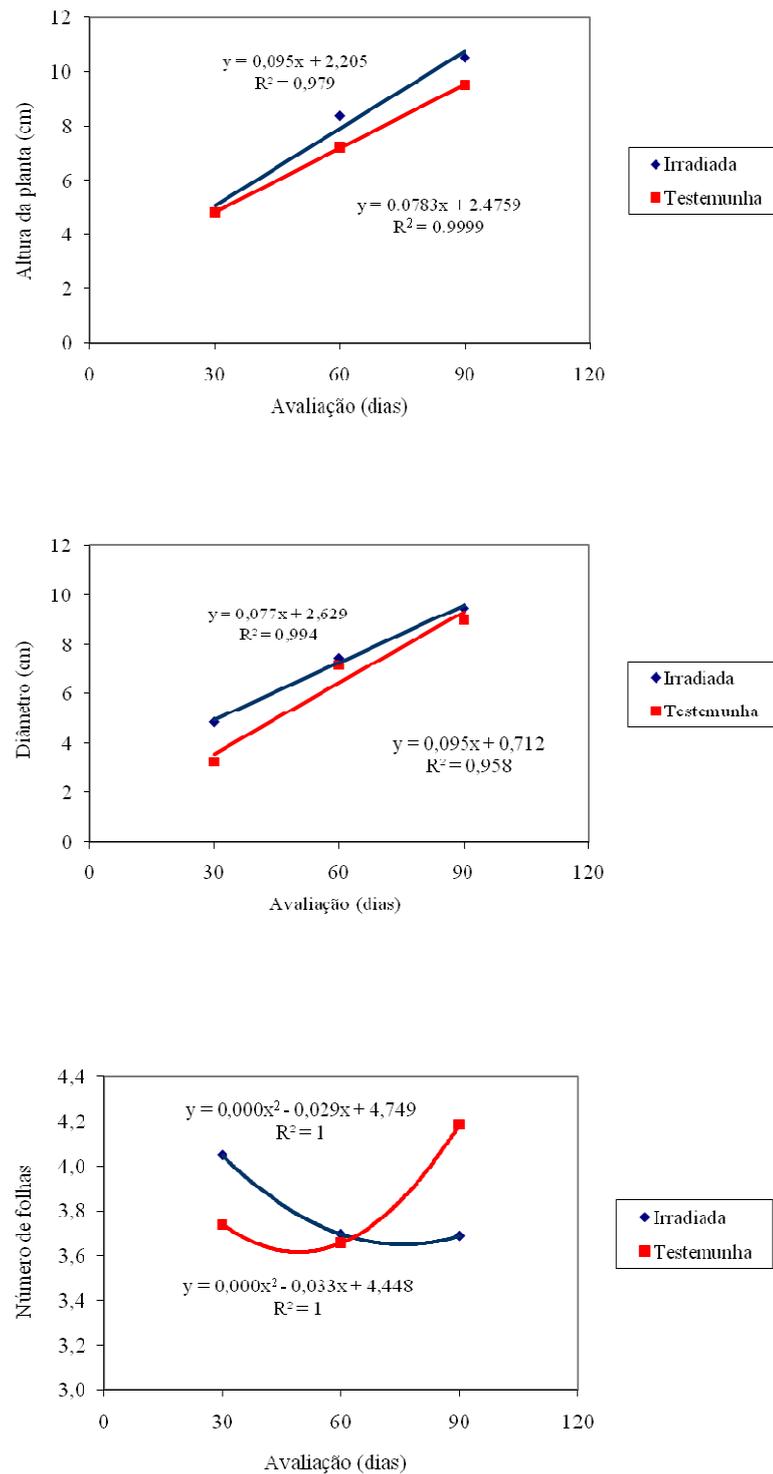


Figura 2. Efeito de doses de raios gama sobre a altura da planta, diâmetro do pseudocaule e número de folhas em bananeira, cv. Terra Maranhão aos 30, 60 e 90 dias após plantio em casa-de-vegetação. Cruz das Almas, 2010.

Tabela 3. Análise de variância para altura de plantas (ALP em cm) considerando o tratamento irradiado e testemunha da cultivar Terra Maranhão aos 0, 60, 90, 120 e 150 dias após plantio em campo. Cruz das Almas, 2010.

| FV | GL | ALP | |
|-------------|-----|---------|--------------------|
| | | QM | F |
| Tratamentos | 1 | 1568,80 | 1,37 ^{ns} |
| Residuo | 310 | 1142,94 | |
| Total | 311 | | |
| CV (%) | | 38,48 | |

^{ns} não significativo e ** significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 4. Médias de altura de planta (ALP em cm) de bananeira da cultivar Terra Maranhão avaliadas aos 0, 60, 90, 120 e 150 dias após plantio. Cruz das Almas, 2010.

| Tratamentos | Característica | | | | |
|--------------------|----------------|-------|-------|--------|--------|
| | ALP1 | ALP2 | ALP3 | ALP4 | ALP5 |
| Médias irradiados | 30,16 | 54,54 | 82,38 | 114,51 | 159,89 |
| Médias testemunhas | 32,01 | 52,42 | 81,94 | 111,23 | 150,44 |

¹ALP1, ALP2, ALP3, ALP4 e ALP5: altura de planta (cm) aos 0, 60, 90, 120 e 150 dias. Médias nas colunas não diferiram significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

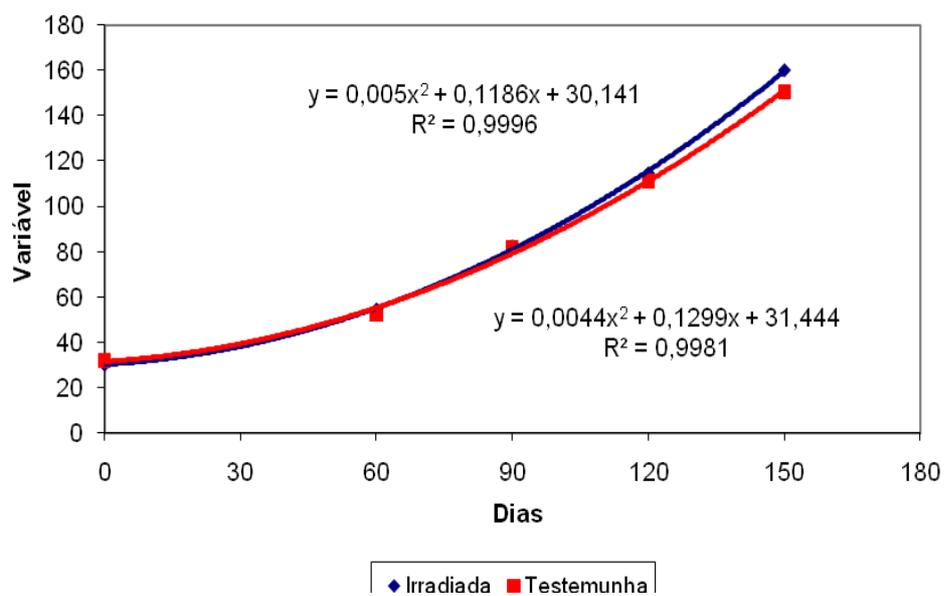


Figura 3. Altura da planta em bananeira, cv. Terra Maranhão irradiada e não irradiada aos 0, 60, 90, 120 e 150 dias após plantio em campo. Cruz das Almas, 2010.

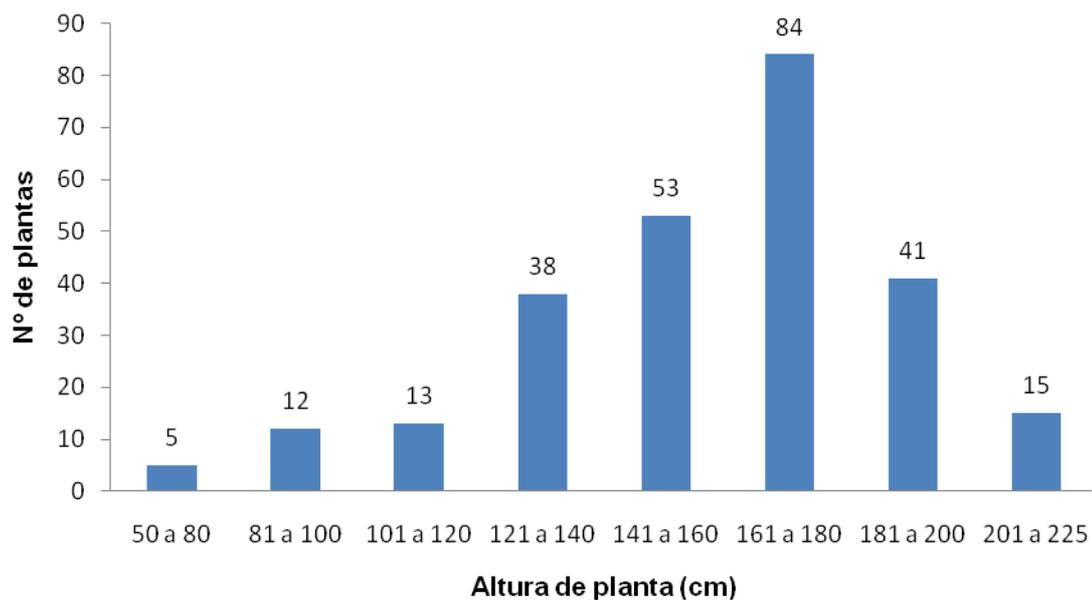


Figura 4. Distribuição geral de dados de altura de plantas da cultivar Terra Maranhão irradiada aos 150 dias após plantio em campo. Cruz das Almas, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se que, apesar da altura média das plantas irradiadas serem semelhantes à das testemunhas, algumas plantas da 'Pacovan' e da 'Preciosa' irradiadas apresentaram altura inferior à média das testemunhas, nos dois ciclos avaliados. Além disso, alguns mutantes apresentaram maior precocidade e produção de cacho quando comparados com as testemunhas. Esses resultados indicam que é possível selecionar plantas mutantes com características agronômicas superiores, tanto para a 'Pacovan' quanto para a 'Preciosa'.

Após a irradiação com raios gama, os resultados obtidos mostram elevada variabilidade genética para a maioria das características agronômicas entre as 179 e 190 plantas irradiadas da 'Pacovan' e da 'Preciosa' respectivamente, o que permitiu a seleção de quatro plantas irradiadas com menor porte e com boas características agronômicas, em ambas as cultivares analisadas. Desta forma, a indução de mutação por meio de raios gama é eficiente para induzir variabilidade nestas cultivares e permitir a seleção de mutantes promissores.

Por meio da análise molecular, observa-se que os marcadores ISSR foram eficientes na detecção da variabilidade genética entre as 75 plantas irradiadas da cv. Pacovan e 74 plantas irradiadas da cv. Preciosa. Verifica-se também, variabilidade genética entre os mutantes selecionados tanto da 'Pacovan' quanto da 'Preciosa', o que permitiu inferir que a indução de mutação para a seleção de porte é uma técnica promissora, que pode auxiliar os programas de melhoramento genético da bananeira na busca de novas variedades com menor porte e boas características agronômicas.

Com relação ao teste de sensibilidade na cultivar Terra Maranhão, verifica-se que as melhores doses de irradiação gama foram as de 20 e 30 Gy,

as quais são recomendadas para futuros trabalhos de irradiação visando à identificação de mutantes de porte reduzido nessa cultivar.

A indução de mutação em bananeira pode ser utilizada como ferramenta auxiliar aos programas de melhoramento genético dessa fruteira, em especial quando o foco é modificar uma ou poucas características de interesse, ou mesmo realizar pequenas correções sem modificar drasticamente a estrutura genética da cultivar. Além disso, os marcadores ISSR mostram-se muito promissores na quantificação da variabilidade genética após irradiação.

ANEXO

Tabela 1. Numeração de planta usada na análise de característica agrônômica e de amostra na análise molecular da cv. Preciosa.

| Nº Planta campo | Nº Amostra DNA |
|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| 4 | 1 | 46 | 17 | 88 | 33 | 123 | 49 | 154 | 65 |
| 6 | 2 | 49* | 18 | 89 | 34 | 127 | 50 | 155 | 66 |
| 7 | 3 | 50 | 19 | 90 | 35 | 128 | 51 | 160 | 67 |
| 8 | 4 | 59 | 20 | 101 | 36 | 131 | 52 | 161 | 68 |
| 9* | 5 | 60 | 21 | 104 | 37 | 133 | 53 | 162 | 69 |
| 10* | 6 | 61 | 22 | 108 | 38 | ** | 54 | 163 | 70 |
| 11 | 7 | 62 | 23 | 109 | 39 | 134 | 55 | 166 | 71 |
| 12 | 8 | 66 | 24 | 110 | 40 | 135 | 56 | 169 | 72 |
| 33 | 9 | 72 | 25 | 113 | 41 | 136 | 57 | 186 | 73 |
| 34 | 10 | 74 | 26 | 114 | 42 | ** | 58 | 187 | 74 |
| 36 | 11 | 75 | 27 | 115 | 43 | 137 | 59 | | |
| 37 | 12 | 79 | 28 | 117 | 44 | 138 | 60 | | |
| ** | 13 | 80 | 29 | 118 | 45 | 139 | 61 | | |
| 38 | 14 | 82 | 30 | 119 | 46 | 141 | 62 | | |
| 42 | 15 | 83 | 31 | 120 | 47 | 143 | 63 | | |
| 44 | 16 | 87 | 32 | 122 | 48 | 147* | 64 | | |

*Plantas selecionadas em campo por apresentarem menor porte e boas características agrônômicas. **Plantas amostradas para análise molecular que não foram consideradas na análise estatística para caracteres agrônômicos, por apresentarem dados apenas de um ciclo de produção.

Tabela 2. Numeração de planta usada na análise de característica agrônômica e de amostra na análise molecular da cv. Pacovan.

| Nº Planta campo | Nº Amostra DNA |
|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| 1 | 1 | 31 | 16 | 62 | 31 | 104 | 46 | 156 | 61 |
| 5 | 2 | 32 | 17 | 63 | 32 | 105 | 47 | 158 | 62 |
| 10 | 3 | 33 | 18 | 71 | 33 | 107 | 48 | 161 | 63 |
| 15 | 4 | 34 | 19 | ** | 34 | 108 | 49 | 162 | 64 |
| 16 | 5 | 35 | 20 | 72* | 35 | 113 | 50 | 165 | 65 |
| 17 | 6 | 36 | 21 | 73 | 36 | 114 | 51 | 167 | 66 |
| ** | 7 | 37 | 22 | 79 | 37 | 124 | 52 | 168 | 67 |
| 18 | 8 | 38 | 23 | 82* | 38 | 125 | 53 | 170 | 68 |
| 23 | 9 | 39 | 24 | ** | 39 | 126 | 54 | 171 | 69 |
| 24 | 10 | 45 | 25 | 83* | 40 | 133 | 55 | 172 | 70 |
| ** | 11 | 46 | 26 | 85 | 41 | 134 | 56 | * | 71 |
| 25 | 12 | 56 | 27 | 95 | 42 | 137 | 57 | 173 | 72 |
| 26 | 13 | 58* | 28 | 97 | 43 | 138 | 58 | 174 | 73 |
| 28 | 14 | 59 | 29 | 100 | 44 | 142 | 59 | 175 | 74 |
| 30 | 15 | 60 | 30 | 101 | 45 | 154 | 60 | 179 | 75 |

*Plantas selecionadas em campo por apresentarem menor porte e boas características agrônômicas. **Plantas amostradas para análise molecular que não foram consideradas na análise estatística para caracteres agrônômicos, por apresentarem dados apenas de um ciclo de produção.