

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

**DIPLOIDES SELVAGENS DE BANANEIRA COM RESISTÊNCIA À
SIGATOKA-NEGRA**

Fernanda dos Santos Nascimento

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

2019

DIPLOIDES SELVAGENS DE BANANEIRA COM RESISTÊNCIA À SIGATOKA-NEGRA

Fernanda dos Santos Nascimento

Licenciada em Biologia

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2017.

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Dr. Edson Perito Amorim

Co-orientador: Dr. Fernando Haddad

Co-orientadora: Dra. Cláudia Fortes Ferreira

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Nascimento, Fernanda dos Santos

Diploides selvagens de bananeira com resistência à Sigatoka-Negra /
Fernanda dos Santos Nascimento. – Cruz das Almas, BA, 2019.
56 f. il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Edson Perito Amorim.
Coorientador: Prof. Dra. Cláudia Fortes Ferreira
Coorientador: Prof. Dr. Fernando Haddad

Dissertação (Recursos Genéticos Vegetais)- Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia, 2019.

1. Banana. 2. Doença de planta. I. Amorim, Dr. Edson Perito. II.
Ferreira, Cláudia Fortes. III Haddad, Fernando. IV. Universidade Federal
do Recôncavo da Bahia V. Título.

CDD: 634.7722

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

**DIPLOIDES SELVAGENS DE BANANEIRA COM RESISTÊNCIA À
SIGATOKA-NEGRA**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação
Fernanda dos Santos Nascimento

Aprovado em 11 de março de 2019

Dr. Edson Perito Amorim
Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF
(Orientador)

Dr. Leandro de Souza Rocha
Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF
(Examinador Externo)

Dr. Zilton José Maciel Cordeiro
Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF
(Examinador Externo)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais e família por terem sido minha fonte de inspiração.

A todos que acreditaram em mim.

Avante!

AGRADECIMENTOS

Gratidão, palavra grandiosa, é com ela que me dirijo a todos!

Gratidão a Deus e à Nossa Senhora pela permissão de chegar até aqui, pela proteção e por me dar forças para sempre correr atrás dos meus sonhos e objetivos. Sem fé, luz e proteção nada sou!

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais e a Universidade Federal do Recôncavo a Bahia, pelos conhecimentos que adquiri.

À Embrapa pela disponibilidade da estrutura para realização dos trabalhos.

Ao meu orientador Edson Amorim e aos meus coorientadores Cláudia Fortes e Fernando Haddad por todos os ensinamentos, correções e por confiarem em mim para o desenvolvimento deste trabalho. Grata pela oportunidade!

A Fapesb pela concessão da bolsa.

Aos meus pais, Fernando e Maria José pelo apoio e incentivo de sempre, por todo cuidado, carinho, atenção, por todo amor, por cada preocupação, dedico e dedicarei toda vitória sempre a vocês.

Ao meu noivo, Gabriel, por todo apoio, carinho, companheirismo e compreensão, por estar ao meu lado e sempre incentivar meus sonhos.

Ao meu irmão Lucas, meus segundos pais Cassemiro e Zéu, Tia Dalva (in memoriam), Danilo, Gabriel, Iasmin, Eduardo, Karina, Arine, Ruan, Renan, obrigada pelo carinho e incentivo, tenho muito orgulho de pertencer a esta família extremamente unida que somos!

A Manassés por todo apoio, pela grande amizade, incentivo; A Zalmar por toda ajuda fornecida e amizade; A Julianna pela parceria, sinceridade, amizade e incentivo, tenho muita admiração por vocês.

As meninas da célula obrigada por cada oração e momentos de descontração: Anelita, Mileide, Lais, Michele, Lorena... Tenho cada uma em meu coração.

Aos professores da Pós Graduação por todos os ensinamentos e incentivos, em especial a Manoela Oliveira, Simone Alves, Ana Loyola e Vanderlei da Silva.

Ao professor Rogério Ribas por permitir que eu realizasse o estágio supervisionado na disciplina Fisiologia Vegetal.

Agradeço imensamente aos meus amigos e anjos científicos Anelita e Manassés por toda a ajuda, correções, e por palavras lindas e motivadoras.

Ao Grupo de Estudos da Bananeira que me deu a oportunidade de trocar conhecimentos com outros estudantes sobre a nossa querida cultura.

Agradeço também a Patrícia Kuhl, por me ensinar tão bem e com tanta paciência a técnica de micropropagação em bananeira; A Wagner por dar complemento à técnica; à Fabiana Aud pelos treinamentos e por ser essa pessoa adorável e motivadora.

Ao pessoal maravilhoso do Laboratório de Práticas Culturais, não tenho palavras para descrever minha gratidão e admiração por cada um de vocês: Sinésio, Rafael, Magalhães, Teles e Bizunga.

A Yan por toda ajuda e dedicação, obrigada pelo seu grande empenho nos trabalhos. Não posso deixar de agradecer a Gilvanei, Thainá, Caó e Léo por ter me ajudado no início deste trabalho, obrigada por se preocuparem comigo, principalmente quando o assunto era cair da escada (Risos).

Agradeço de coração a Andresa pela amizade, incentivo e por me acompanhar no laboratório de Biologia Molecular, tenho muita admiração por você; ao Sr. Seu Raimundo e Vanderson, minha gratidão por toda ajuda.

Ao pessoal do laboratório de Fitopatologia, em especial a Leandro por todas as informações, ajuda e conselhos.

Ao pessoal da limpeza por distribuir sorrisos de alegria.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente, o meu, **MUITO OBRIGADA!!!**

“Confia no senhor de todo o teu coração e, não te estribes no teu próprio entendimento. Reconhece-o em todos os teus caminhos e, Ele endireitará as tuas veredas. Feliz é o homem que acha sabedoria, e o homem que adquire entendimento, pois melhor é o lucro que ela dá do que o lucro da prata, e a sua renda do que o ouro. Mais preciosa é do que as jóias, e nada do que possas desejar é comparável a ela”.

Provérbios 3: 5-6, 13-15 (Bíblia Sagrada)

DIPLOIDES SELVAGENS DE BANANEIRA COM RESISTÊNCIA À SIGATOKA-NEGRA

Resumo: A Sigatoka-negra é uma das doenças foliares mais importantes da bananeira. O controle desta doença baseia-se principalmente no uso do controle químico, no entanto essa prática eleva o custo de produção e pode causar impactos ambientais e a saúde. O uso cultivares resistentes por sua vez mostra-se mais viável e economicamente sustentável. O objetivo deste estudo foi realizar a fenotipagem de acessos da coleção de germoplasma de bananeira da Embrapa, visando à identificação de genótipos resistentes à *Mycosphaerella fijiensis* (Morelet), agente causal da Sigatoka-negra para uso em cruzamentos a fim de desenvolver diploides melhorados. O experimento foi conduzido no campo experimental da Embrapa no município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil. Foram avaliados 31 acessos diploides pertencentes ao Banco de Ativo de Germoplasma de Bananeira. Foram estimadas a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), o índice de severidade da doença (ID) e o aumento da severidade da doença (AID). O parâmetro AID mostra-se eficiente na identificação de acessos de bananeira com resistência à Sigatoka-negra. O índice de seleção para o ranqueamento de acessos com moderada resistência à Sigatoka-negra permite identificar os genótipos com maior resistência quantitativa. Cinco acessos diploides de bananeira foram considerados resistentes à Sigatoka-negra (Krasan Saichon, Zebrina, Birmanie, Nº 118 e Tuu Gia), enquanto que oito foram moderadamente resistentes a doença (PA Rayong, Pisang Cici, Malaccensis 2, 028003-01, Microcarpa, Pisang Lidi, Lilin e Malbut).

Palavras-chave: Fenotipagem; *Musa* spp.; *Pseudocercospora fijiensis*

WILD DIPLOIDS OF BANANA WITH RESISTANCE TO BLACK SIGATOKA

Abstract: Black Sigatoka is one of the most important foliar diseases of the banana tree. The control of this disease is based mainly on the use of chemical control, however this practice raises the cost of production and can cause environmental impacts and health. The use of resistant cultivars in turn is more feasible and economically sustainable. The objective of this study was to perform the phenotyping of accessions at Embrapa germplasm collection, aiming at the identification of genotypes resistant to *Mycosphaerella fijiensis* (Morelet), causal agent of Black-Sigatoka for use in crosses in order to develop improved diploids. The experiment was conducted in the experimental field of Embrapa Mandioca e Fruticultura, in Cruz das Almas city, Bahia, Brazil. We evaluated 31 diploid accesses. The area under the disease progress curve (AACPD), the disease severity index (ID) and the increase in ID (AID) were estimated. The parameter increased disease severity (AID) was efficient in the identification of banana accesses with resistance to black Sigatoka. The selection index for the classification of accesses with moderate resistance to black Sigatoka allows to identify the genotypes with greater quantitative resistance. Five banana diploid accesses were considered resistant to black Sigatoka (Krasan Saichon, Zebrina, Birmanie, N° 118 and Tuu Gia), while eight were moderately resistant to disease (PA Rayong, Pisang Cici, Malaccensis 2, 028003-01, Microcarpa, Pisang Lidi, Lilin and Malbut).

Key words: Phenotyping; *Musa* spp.; *Pseudocercospora fijiensis*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Origem e características botânicas da bananeira.....	1
1.2 Importância da bananicultura	2
1.3 Interação planta-patógeno.....	3
1.4 Aspectos gerais da Sigatoka-negra.....	5
1.4.1 Etiologia.....	6
1.4.2 Epidemiologia	7
1.4.3 Sintomatologia	10
1.4.4 Métodos de controle	11
1.5 Melhoramento genético da bananeira	13
1.5.1 Fenotipagem de Sigatoka-negra em bananeira	14
REFERÊNCIAS	16
IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA À SIGATOKA-NEGRA ENTRE DIPLOIDES SELVAGENS DE BANANEIRA.....	23
1 INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

1.1 Origem e características botânicas da bananeira

A bananeira (*Musa* spp.) tem sua maior parte do germoplasma originado do Sul e Sudeste da Ásia e no Oeste do Pacífico, existindo também outros centros de origem secundários na África Oriental e Ocidental e nas Ilhas do Pacífico (CHAMPION, 1967; SIMMONDS, 1962).

A grande maioria das cultivares de bananeira foi originada pelo cruzamento entre as espécies selvagens *Musa acuminata* ($2n = 2x = 22$; genoma A) e de *Musa balbisiana* ($2n = 2x = 22$; genoma B), que resultaram em uma série de diploides, triploides e tetraploides. Os grupos genômicos resultantes destes cruzamentos foram classificados como AA, AB, AAA, AAB, ABB, AABB, AAAB e ABBB (SIMMONDS e SHEPHERD, 1955).

As bananeiras pertencem à classe das Monocotiledôneas, ordem Zingiberales, família Musaceae, subfamília Musoideae, gênero *Musa*, seção *Musa*, sendo esta seção a mais importante, uma vez que, além de ser representada por cerca de 33 espécies desse gênero, apresenta ampla distribuição geográfica e abrange as espécies comestíveis (SIMMONDS e SHEPHERD, 1955; HANKKIINEN, 2013).

Com relação à morfologia, a bananeira é considerada uma planta herbácea e perene que pode variar de dois a 15 metros de altura (incluindo plantas cultivadas e silvestres), apresentando um caule subterrâneo, o qual é denominado de rizoma e que em conjunto com as bainhas sobrepostas das folhas formam o pseudocaule (SIMMONDS e SHEPHERD, 1955; SIMMONDS, 1962).

A espécie *Musa* spp. apresenta sistema radicular fasciculado e fibroso, suas folhas são largas, compridas, eretas ou curvadas, possuindo nervura central bem desenvolvida, uma bananeira pode gerar de 30 a 70 folhas, isto depende da cultivar e das condições climáticas. A emissão de novas folhas é cessada a partir do momento em que a planta floresce (SIMMONDS, 1973; KARAMURA et al., 2011; DANTAS et al., 2016).

As flores da bananeira formam uma espécie de espiga simples denominada inflorescência, constituída por brácteas ovaladas e coloração

geralmente roxo-avermelhada. Possuem órgãos reprodutivos femininos e masculinos na mesma inflorescência, porém em diferentes localizações (DANTAS et al., 2016). A cada conjunto de flores se originam as pencas, que podem oscilar de 7 a 15 e são compostas por um número variável de frutos, que normalmente podem variar de 40 a 220, a depender da cultivar (DANTAS et al., 1997; 2016).

1.2 Importância da bananicultura

A banana é indicada como uma das frutas mais importantes no mundo, devido sua importância socioeconômica e nutricional. Na alimentação humana a banana adquire importância pelo seu valor energético, grande fonte de carboidratos, vitaminas (A, B e C), sais minerais (Ca, K e Fe) e baixos teores calóricos (90 a 120 kcal/100 g) e de gordura (0,37 a 0,48 g/100g) (BORGES et al., 2004; SCARPARE FILHO et al., 2016).

Mais de 85% da fruta é produzida por pequenos agricultores para alimentação e como fonte de renda (ALAKONYA et al., 2018). A fruta, após o arroz, o trigo, e o milho, é considerada uma das mais importantes fontes alimentares do mundo (PERRIER et al., 2011).

O Brasil ocupa a quarta posição, dentre os produtores mundiais, com plantios da cultura em todas as regiões do país, ficando atrás apenas da Índia, China e Indonésia. Com relação à produção mundial, em 2017 foi produzido aproximadamente 113 milhões de toneladas em 5,6 milhões de hectares plantados. Já no Brasil, foram produzidas, nesse mesmo período, aproximadamente 6,7 milhões de toneladas em 470 mil hectares (FAOSTAT, 2019).

Com relação à produção brasileira de banana, a região Nordeste do Brasil foi a primeira no ano de 2018, contribuindo com 33,8% da produção, seguida da região Sudeste com 33,3%. As regiões Sul, Norte e Centro-Oeste participaram com 14,4, 14,1 e 4,4%, respectivamente (IBGE, 2019).

1.3 Interação planta-patógeno

Entender como ocorre a interação entre uma planta e um patógeno apresenta uma grande importância. Estudos nesta área têm permitido aos melhoristas de plantas desenvolverem cultivares mais resistentes, sendo essa uma estratégia ideal para o controle de doenças, pois diminui os custos de produção e o impacto ambiental pelo uso de produtos químicos (SILVA et al., 2015).

Mesmo que o uso de cultivares resistentes apresente vantagens, como o não uso de pesticidas e eficiente redução do crescimento do patógeno, o surgimento de novas estirpes de patógenos pode quebrar essa resistência em um curto período (DODDS & RATHJEN, 2010; BOUALEM et al., 2016). Dessa forma, compreender como ocorre a interação entre a planta e um patógeno é necessário para o desenvolvimento de novas estratégias no melhoramento genético vegetal.

De acordo com Gill et al. (2015), na interação planta-patógeno, a planta pode ser considerada como não hospedeira ou hospedeira a um determinado tipo de patógeno. Em plantas não hospedeira a resistência (resposta imune) é uma regra, enquanto que a suscetibilidade a algum microrganismo é uma exceção. Já a resistência de hospedeiro ocorre quando a espécie do hospedeiro pertence ao ciclo de hospedeiro do patógeno, mas não é capaz de resistir aos ataques do mesmo, existindo suscetibilidade ou à resistência em níveis (GILL et al., 2015).

No caso dos patógenos, esses podem ser classificados como virulentos ou avirulentos. Nesta última, a capacidade de sintetizar o eliciador está presente, enquanto que no segundo, ele possui um alelo de virulência, mas neste caso não é capaz de codificar o eliciador (GLAZEBROOK, 2005).

Tratando especificamente de fungos, esses podem penetrar em seus hospedeiros por meio de três vias: pela superfície da planta, aberturas naturais ou por ferimentos. Através da superfície intacta, o mesmo vence barreiras como a cutícula e a epiderme na parte aérea ou periderme em raízes e ramos lenhosos (HOGENHOUT et al., 2009). Quando os esporos do fungo são depositados na superfície de uma planta, e o contato é estabelecido, o diâmetro da ponta da hifa ou radical, em contato com o hospedeiro, aumenta e

forma a estrutura achatada, em forma de bolbo, chamada apressório (algumas espécies de fungo). Isso aumenta área de aderência entre os dois organismos e prende firmemente o patógeno ao hospedeiro. Do apressório, um ótimo ponto de crescimento, chamado de penetração “peg” surge e avança para dentro e através da cutícula e da parede celular.

De acordo com Roux et al. (2014), nesta etapa de infecção ocorrem processos de reconhecimento pelo sistema imune das plantas, que podem ser associadas à imunidade desencadeada por PAMPs ou MAMPs (*pathogen or microbe associated molecular patterns*), assim como também aqueles associados à imunidade desencadeada por efetores.

Primeiramente ocorrerá o processo denominado de PTI (*PAMP-triggered immunity*) e o segundo ETI (*effector-triggered immunity*) (JONES & DANGL, 2006). Os PAMPs ou MAMPs são reconhecidos por receptores PRRs (*PAMP-recognition receptor*) localizados na superfície da membrana celular ou interior da célula, que desencadeiam uma cascata de sinalização ativando a resposta de defesa (HOGENHOUT et al., 2009). Este tipo de sistema de defesa permite que as plantas respondam rápida e eficientemente a uma ampla gama de patógenos (ROUX et al., 2014).

Alguns patógenos podem burlar esse primeiro processo (PTI), resultando em suscetibilidade desencadeada por efetores (ETS, *effector-triggered susceptibility*) (BIRCH et al., 2008). Os processos na resposta ETI envolvem a secreção de efetores para suprimir essa resposta. Contudo, plantas podem apresentar proteínas de resistência (R) que reconhecem estes efetores resultando em defesa (HOWDEN & HUITEMA, 2012). O reconhecimento de efetores por proteínas R pode ser direto (modelo gene-a-gene) (Oswald et al., 2014) ou indireto (modelo guarda) (JONES e DANGL, 2006). Enquanto patógenos desenvolvem novos efetores para manipular os processos de defesa das plantas, estas desenvolvem novas proteínas R, o que sugere uma constante e indefinida “corrida armamentista” na interação planta-patógeno (COLL et al., 2011).

Entre uma planta e um patógeno, existem inúmeras interações, onde ocorrem vários mecanismos de defesa pela planta, esses podem ser estruturais e bioquímicos, ambos pré e/ou pós-formados em relação à tentativa de penetração do patógeno no hospedeiro (HOGENHOUT et al., 2009). De

acordo com Stangarlin et al. (2011), os mecanismos estruturais são barreiras físicas à penetração e/ou colonização do patógeno, enquanto que os mecanismos bioquímicos englobam substâncias capazes de inibir o desenvolvimento do patógeno ou gerar condições adversas para a sobrevivência nos tecidos do hospedeiro.

Os mecanismos de resistência podem ser classificados como Pré-formados (passivos ou constitutivos), onde nos mecanismos estruturais tem-se cutícula, tricomas, estômatos, etc. E nos bioquímicos pode-se citar os fenóis, alcalóides glicosídicos, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, inibidores proteicos, quitinases e β -1,3 glucanases. Nos mecanismos pós-formados (ativos ou induzíveis), os estruturais envolve a formação de papilas, halos, lignificação, glicoproteínas ricas nos aminoácidos hidroxiprolina (HRGP) e glicina (GRP), camadas de cortiça, camadas de abscisão, tiloses e os bioquímicos as fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese e espécies ativas de oxigênio (STANGARLIN et al., 2011).

1.4 Aspectos gerais da Sigatoka-negra

A Sigatoka-negra da bananeira compreende um grupo de doenças foliares causadas pela espécie fúngica do gênero *Pseudocercospora fijiensis* (RODRÍGUEZ-GARCÍA, 2016). A importância dessa doença em áreas onde ocorrem o cultivo da bananeira está associada à limitação da produção, devido à redução da capacidade fotossintética provocada pelas manchas foliares, qualidade dos frutos e conseqüente queda no rendimento da produção (CHILLET et al., 2009).

Das espécies associadas à Sigatoka, *Pseudocercospora fijiensis*, agente causal da Sigatoka-negra, é considerada a mais danosa quando comparada a Sigatoka-amarela (*Pseudocercospora musae*). Este patógeno é mais agressivo e afeta um maior número de espécies do que *P. musae*, no entanto, sua distribuição geográfica ocorre em locais mais específicos, diferente de *P. musae* que é mais amplamente distribuído (CARLIER et al., 2002).

A doença foi descrita pela primeira vez em 1963 na Ilha de Viti Levu, República das ilhas Fiji, acerca de 100 km do Vale de Sigatoka, no entanto, acredita-se que esta doença tenha sido difundida no Pacífico muito antes disso,

com alguns registros sugerindo sua presença em Taiwan, onde então era denominada de raia negra (CHURCHILL, 2011; CORDEIRO et al., 2011).

Gasparotto et al. (2006) e Cordeiro et al. (2011) relatam que o primeiro registro da doença no Brasil ocorreu na fronteira com a Colômbia e o Peru, em 1998, quando foi introduzida nos municípios de Tabatinga e Benjamin Constant, no Estado do Amazonas. A doença também foi constatada em outros Estados brasileiros: Acre (1998); Rondônia e Mato Grosso (1999); Pará, Roraima e Amapá (2000); São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Sul de Minas Gerais e Santa Catarina (2004) (GASPAROTTO et al., 2006). Em 2015, a doença foi identificada no Estado da Bahia (RAMOS, et al., 2018).

1.4.1 Etiologia

A Sigatoka-negra é causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis* (Morelet), sendo este considerado um Ascomiceto haploide e hemibiotrófico da classe Dothideomycetes, ordem Capnodiales e família Mycosphaerellaceae (CHURCHILL, 2011).

O fungo possui dois tipos de reprodução: teleomórfica ou sexuada, e anamórfica ou assexuada representada por *Paracercospora fijiensis* (M. Morelet) Deighton ou *Pseudocercospora fijiensis* (M. Morelet) Deighton (DEIGHTON, 1976). Esses dois tipos de reprodução são importantes para o desenvolvimento da doença na planta.

Pseudocercospora fijiensis é a nomenclatura que mais tem sido utilizada para designar a forma anamórfica do fungo, isso porque, de acordo com Crous et al. (2003), citado por Montarroyos (2005), indicam que a partir do sequenciamento das regiões ITS do DNA ribossomal, descobriu-se que *Paracercospora* é sinônimo de *Pseudocercospora* e que, diante disso, o nome correto para designar a forma anamórfica de *M. fijiensis* seria *Pseudocercospora fijiensis* Morelet.

O fungo propaga-se por dois tipos de esporos: conídios (esporos assexuados) e ascósporos (esporos sexuais). Dias e Barreto (2011) descrevem que os ascósporos são hialinos, fusiformes, clavados, bicelulares e

ligeiramente constritivos no septo, medindo de 14 a 20 μm de comprimento e 4 a 6 μm de largura.

Com relação a sua localização, os ascósporos estão presentes nos pseudotécios de lesões maduras, comuns em folhas velhas e mortas e estão presentes em ambos os lados do limbo foliar, porém, em maior número na face adaxial ou superior da folha, produzindo assim numerosos ascos, cada um contendo oito ascósporos (MARIN et al., 2003; DIAS e BARRETO, 2011).

Os conídios de *M. fijiensis* são hialinos, obclavados a cilíndricos, retos ou ligeiramente curvos, medindo de 20 a 132 μm de comprimento e 2,5 a 5 μm de largura, com seis a nove septos, delgados em seu ápice e mais largos na base, com uma cicatriz no hilo basal do conídio (DIAS e BARRETO, 2011).

Os conidióforos possuem coloração escura e podem emergir diretamente do estômato de maneira individual ou em pequenos grupos de duas a oito unidades, estes podem ser formados tanto na face adaxial quanto abaxial da folha, porém é notável uma maior abundância na face abaxial da folha (DIAS e BARRETO, 2011). Em bananeiras ocorre um número maior de estômatos na superfície inferior da folha em comparação com a superfície superior. Os estômatos na superfície inferior tendem a ser menores em diâmetro do que aqueles presentes na superfície adaxial (CHURCHILL, 2011).

1.4.2 Epidemiologia

A reprodução do fungo *M. fijiensis* pode ocorrer de forma sexuada e assexuada durante seu ciclo de vida. A fase assexuada, conidial ou anamórfica, ocorre desde os primeiros estádios de desenvolvimento das lesões até o estágio de mancha, sendo que os conídios são as estruturas de propagação. Já a fase sexuada, ascógena ou teleomórfica, está presente nos estádios finais da mancha e queima, resultando na formação dos ascósporos (Figura 1) (GASPAROTTO et al., 2006).

É possível que em uma mesma planta ou até em uma mesma folha possa ser encontrado ambas as formas reprodutivas de *M. fijiensis* (CARLIER et al., 2000). De acordo com Stover (1980) e Pereira et al. (2003), a forma teleomórfica ou sexuada é considerada a mais importante para a disseminação

da doença, devido à alta produção de ascósporos, podendo ser até 100 vezes superior quando comparada com a produção de conídios.

A disseminação dos ascósporos pode ocorrer pelos ventos, por orvalhos, pingos de chuva, onde serão depositados na folha “vela” ou “cartucho”. A produção de ascósporos é mais elevada durante o período chuvoso e na formação de orvalho (MARIN et al., 2003; CORDEIRO et al., 2011). A fase conidial também é uma importante fonte de inóculo e sua dispersão ocorre por meio da água do orvalho e/ou pingos de chuva e vento, é importante salientar que os conídios são produzidos o ano inteiro (JACOME et al., 1991).

Os ascósporos e os conídios possuem um papel importante na dispersão do patógeno, seja a curta ou a longa distância. Geralmente, a disseminação do patógeno em plantações de regiões distantes está relacionada aos ascósporos que neste caso, são transportados pelo vento. Já a disseminação da doença dentro de uma plantação seria ocasionada pelos conídios dispersos pela água da chuva (CORDEIRO et al., 2011).

Em relação à dispersão destes patógenos, pode ocorrer na superfície de frutos, nos variados tipos de embalagens, em veículos que circulam nas áreas de plantio, além de vestimenta de trabalhadores. Esses fatores podem influenciar de maneira efetiva na dispersão destes microrganismos, tanto a curtas, quanto à longas distâncias (CORDEIRO et al; DIAS e BARRETO, 2011).

Estudos realizados por Hanada et al. (2002), revelaram que os conídios de *M. fijiensis* permanecem viáveis até 60 dias em folhas de bananeira e tecido de algodão; até 30 dias em papelão, madeira, plástico e pneu; até 18 dias nos frutos e até 10 dias no ferro.

Cordeiro et al. (2016) relataram que as condições climáticas para ocorrência da Sigatoka-negra são bastante influenciadas por clima úmido, alta pluviosidade e temperaturas na faixa de 25 a 28°C, propiciando um ambiente ideal para o estabelecimento da doença e produção de conídios de forma contínua.

O ciclo da doença de *M. fijiensis* consiste em vários estágios distintos como disseminação, germinação de esporos, penetração do hospedeiro, colonização, desenvolvimento de sintomas e produção de esporos (Figura 1).

De acordo com Stover (1980), ambas as espécies de *M. fijiensis* e *M. musicola* se iniciam com a deposição dos esporos (conídios ou ascósporos) nas superfícies das folhas da bananeira.

Dependendo da temperatura, a germinação poderá ocorrer na presença de água livre, seguido do crescimento de hifas na superfície foliar até encontrar um estômato e ocorrer a formação de um apressório que resulta na penetração do patógeno na planta (CHURCHILL, 2011).

O aparecimento de sintomas iniciais da doença após a infecção varia de acordo com as condições ambientais locais. Cordeiro et al. (2016), afirmam que em boas condições de temperatura e umidade, os primeiros sintomas da doença começam a aparecer na faixa de 15 dias.

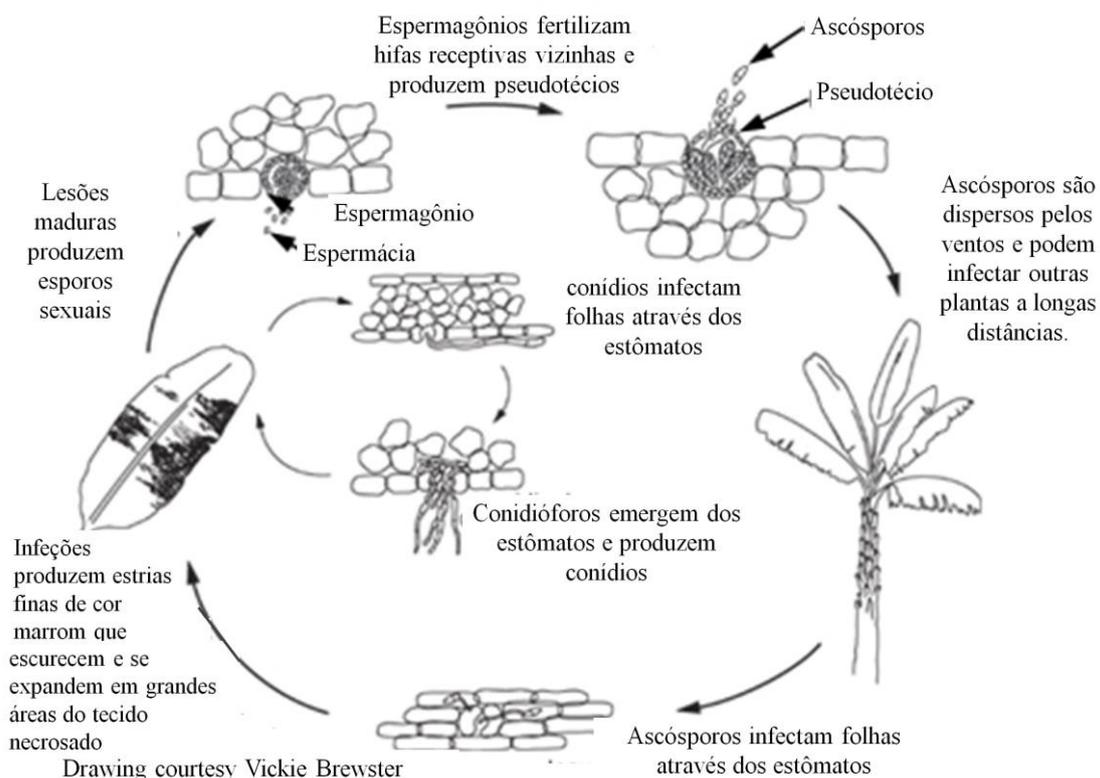


Figura 1: Ciclo de vida de *Mycosphaerella Musicola* ou *M. fijiensis* e suas respectivas fases de reprodução, sexuada (telomórfica) e assexuada (anamórfica) (Adaptado de Agrios, 2005).

Com relação ao surgimento das estruturas que infectam o hospedeiro,

os ascósporos surgem tardiamente em relação aos conídios, e serão ejetados a partir dos pseudotécios, em condições ambientais úmidas ou secas com prevalência de alta umidade (MARIN et al., 2003; CHURCHILL, 2011).

1.4.3 Sintomatologia

A Sigatoka-negra é reconhecida por ser uma das doenças da bananeira mais importante devido a sua maior agressividade. A infecção ocasionada pelo fungo geralmente ocorre nas folhas iniciais do hospedeiro, denominadas de “vela” ou “cartucho” que permanecem eretas por alguns dias e aos poucos começam a desenrolar até apresentar a configuração de folha aberta (CORDEIRO et al., 2011; GUERRA e MENDONÇA, 2009)

Guerra e Mendonça (2009) destacam que na configuração de vela e até atingir o desenrolamento completo, a folha fica exposta aos fatores ecológicos, favorecendo a infecção do hospedeiro pelo patógeno e facilitando o contato dos esporos no momento da disseminação.

Os sintomas da Sigatoka-negra manifestam-se por estrias de cor marrom-clara na superfície abaxial da terceira ou quarta folha aberta (Figura 2). A coloração das estrias se intensifica adquirindo coloração marrom-escura e negra, seguida por lesões que aumentam de tamanho, tornando-se fusiformes ou elípticas. Apresenta um aspecto estriado típico nas folhas infectadas, podendo ser visíveis inclusive na superfície adaxial e as manchas coalescem reduzindo significativamente a capacidade fotossintética, resultando na morte prematura do limbo foliar (Figura 2) (CHURCHILL, 2011; CORDEIRO et al., 2016).

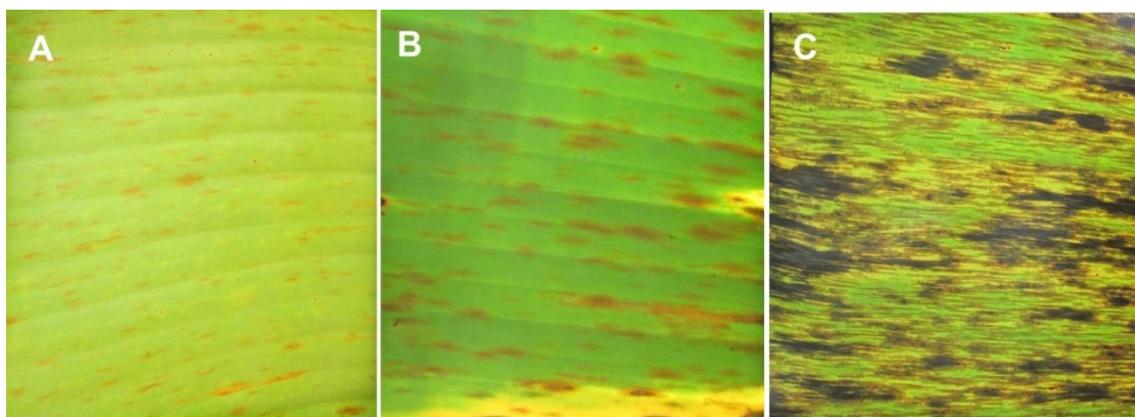


Figura 2: Evolução dos sintomas da Sigatoka-negra na face abaxial da folha; estágio inicial das manchas (A), aumento da lesão e início do coalescimento (B), folha com alto índice de necrose (C). Fotos: Fernanda dos Santos Nascimento, 2019.

No momento de identificação da doença é necessário ter cautela, uma vez que o patógeno *M. fijiensis* possui características semelhantes a *M. musicola*, e apesar dos sintomas serem similares, é possível distinguir ambas as doenças em campo (CORDEIRO et al., 2011).

Os primeiros sintomas apresentados pela Sigatoka-amarela são pontos com leve descoloração na superfície superior da folha que crescem, aumentam e começam evidenciar cor vermelho-amarronzada, geralmente próxima do centro. Quando a doença atinge esse estágio, as manchas começam a apresentar um halo amarelo a sua volta, podendo também ser observada as frutificações do fungo em forma de pontuações negras (CORDEIRO et al., 2011).

Os patógenos *M. musicola* e *M. fijiensis* podem ser diferenciados por microscopia, onde inicialmente, é observada a estrutura do conidióforo e examinando-se suas estruturas assexuadas, tendo em vista que, as distinções nas estruturas sexuadas de *M. musicola* e *M. fijiensis* são de difícil detecção.

O fungo *M. fijiensis* produz conidióforos em pequenos grupos, os quais emergem diretamente dos estômatos. Enquanto que, em *M. musicola* ocorre a presença de conidióforos em feixes sobre estromas (esporodóquios) (CORDEIRO et al., 2011).

Todavia, para a caracterização precisa do patógeno, têm sido utilizadas técnicas moleculares, tais como, o uso de marcadores moleculares específicos e por meio da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (ARZANLOU et al., 2007; CORDEIRO et al., 2011).

1.4.4 Métodos de controle

O controle da Sigatoka-negra baseia-se principalmente na aplicação de fungicidas, com uma gama ampla de princípios ativos disponíveis aos agricultores (DIAZ-TRUJILLO et al., 2018). No entanto, esta prática resulta em

um aumento no custo de produção que gira em torno de 25 a 30% para o grupo das Cavendish em países exportadores. A este custo, Churchill (2011), destaca que em todo o mundo são gastos anualmente em torno de 550 milhões de dólares para ao controle da doença.

O uso de produtos químicos é eficaz contra *M. fijiensis*, no entanto, estimulam o patógeno a desenvolver resistência contra esses fungicidas (RODRIGUEZ et al., 2016). Outra preocupação associada a estas aplicações é o risco ambiental para aqueles que trabalham e vivem próximos a plantações de bananeira (ALAKONYA et al., 2018).

Embora exista um elevado número de cultivares de bananeira no Brasil atendendo a preferência dos consumidores, as mais difundidas são do subgrupo Cavendish (Nanica, Nanicão e Grande Naine), subgrupo Prata (Prata, Prata-Anã e Pacovan); subgrupo Terra (Terra e D'Angola) e a Maçã. No entanto, a grande maioria delas apresentam pelo menos uma característica indesejável, como altura da planta inadequada ou suscetibilidade a algum tipo de doença (SILVA et al., 2013; AMORIM et al., 2016).

Estes são fatores que demonstram cada vez mais a necessidade de pesquisas para desenvolvimento de tecnologias de controle da doença como o desenvolvimento de cultivares resistentes. O controle genético mostra-se mais viável e economicamente sustentável, considerando que genótipos com perfil de resistência dispensam o uso de fungicidas, muitas vezes tóxicos ao homem e ao ambiente. Para que essa estratégia tenha sucesso, a identificação de genótipos resistentes é considerada o ponto de partida (AMORIM et al., 2011; SILVA et al., 2013).

Associado ao uso das cultivares resistentes faz-se necessário o manejo integrado da doença com as práticas culturais adequadas. Essas visam, de modo geral, prevenir a criação de condições microclimáticas favoráveis ao desenvolvimento da Sigatoka-negra. Cordeiro et al. (2011) destaca que os principais aspectos a serem levados em conta são: drenagem, carreadores, sistema de irrigação, combate a plantas daninhas, nutrição, desfolha sanitária e densidade populacional.

Ainda aliada a estas práticas, existem outras medidas alternativas de controle baseadas no uso de agentes de biocontrole (como *Bacillus* spp., *Trichoderma* spp. ou fungos micorrízicos) (ALVINDIA, 2012; CAVERO et al.,

SCHOUTEDEN et al., 2015) e na aplicação de compostos naturais como o silício (GBONGUE et al., 2019).

1.5 Melhoramento genético da bananeira

O melhoramento genético tem por objetivo concentrar, em um mesmo genótipo, o maior número possível de características favoráveis. No caso da bananeira, essas características são a partenocarpia, boa formação de cachos e resistência às pragas, doenças e aos nematoides, para posteriormente tentar transferi-las às variedades triploides comerciais, mediante a síntese de tetraploides (AMORIM et al., 2016).

No Brasil, o Programa de Melhoramento Genético de Bananas e Plátanos (PMGBP) desenvolvido pela Embrapa Mandioca e Fruticultura foi iniciado em 1982, a partir da criação da sua coleção de germoplasma a partir de coletas nacionais e internacionais. A Embrapa faz uso das seguintes estratégias para o desenvolvimento de cultivares de bananas e plátanos: hibridização entre tri- e tetraploides comerciais e diploides melhorados; duplicação de cromossomos de diploides superiores e indução de mutação (SILVA et al., 2013; AMORIM et al., 2016).

A utilização de diploides tem sido muito importante para o melhoramento genético, uma vez que estes apresentam a grande maioria das características agrônômicas de interesse, características estas que se encontram dispersas em um grande número de diploides selvagens, fazendo-se necessária a hibridação e o desenvolvimento de diploides melhorados (SILVA et al., 2011).

Segundo Amorim et al. (2016), são utilizadas basicamente duas estratégias para o desenvolvimento de diploides melhorados, a saber: 1) $2x/2x \times 2x$, em que se realiza a hibridação entre diploides selvagens, entre diploides selvagens e cultivados e somente entre cultivados; 2) $3x/2x \times 4x$ e $2x$ (derivado), que depois de obtidos são intercruzados [$2x$ (derivado 1) \times $2x$ (derivado 2)] $\times 2x$ melhorado.

A Embrapa possui 30 diploides melhorados (DM) sendo estes utilizados como parentais masculinos para o desenvolvimento de híbridos triploides e tetraploides (SILVA et al., 2011). Nessa coleção, existem diploides de primeira geração (hibridação entre dois diploides selvagens) e de segunda geração

(hibridação entre diploides melhorados). Esses DM são resistentes à Sigatoka-amarela, alguns a Sigatoka-negra, todos a murcha de Fusarium raça 1, assim como parte deles como tolerantes a nematoides e broca do rizoma.

Algumas cultivares foram desenvolvidas pela Embrapa por meio de hibridização entre cultivares comerciais triploides e diploides selvagens ou melhorados sendo elas a BRS Caprichosa, BRS Garantida, BRS Japira, BRS Pacovan Ken, BRS Preciosa, BRS Princesa, BRS Tropical, BRS Vitória, BRS Pioneira, BRS Platina e BRS Pacoua (AMORIM et al., 2016).

Existem outros centros de pesquisas ao redor do mundo que realizam melhoramento genético da bananeira, além da Embrapa Mandioca e Fruticultura no Brasil, a saber: *Fundación Hondureña de Investigación Agrícola* (FHIA), em Honduras; *National Research Centre for Banana* (NRCB) e *Tamil Nadu Agricultural University* (TNAU), ambos na Índia; *Centre Africain de Recherches sur Bananiers et Plantains* (Carbap), nos Camarões; *International Institute of Tropical Agriculture* (IITA), na Nigéria; e *Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement* (Cirad), na França (AMORIM et al., 2016; ALAKONYA et al., 2018).

É importante destacar que o desenvolvimento de cultivares resistentes é uma estratégia ideal para o controle da doença, pois diminuiria os custos de produção e o impacto ambiental (SILVA et al., 2016).

Na condução desse trabalho é importante a compreensão da virulência e agressividade do patógeno, que se desenvolveu em diferentes condições climáticas, cultivares e sistemas agrícolas, o que reforça a importância deste trabalho em realizar fenotipagem e conhecer como o patógeno atua nos genótipos avaliados.

1.5.1 Fenotipagem de Sigatoka-negra em bananeira

A Sigatoka-negra é a doença mais destrutiva da bananeira, ocasionando a morte precoce das folhas, alterações no processo fotossintético e, conseqüentemente, antecipando a maturação dos frutos, o que conduz ao amarelecimento da casca antes da colheita, resultando no comprometimento da fruta para a comercialização (ALAKONYA et al., 2018).

Estudos realizados por Uchôa et al. (2012) buscaram avaliar a influência da temperatura e da duração do tempo de molhamento foliar na penetração do agente causal da Sigatoka-negra em ambiente controlado. Os autores observaram que em todas as temperaturas avaliadas ocorreram sintomas da doença, entretanto, a maior ocorrência da doença foi observada em folhas inoculadas que permaneceram na temperatura de 24 e 27°C, a partir de 48 horas de molhamento foliar.

Para uma caracterização de resistência em nível de campo com sucesso é necessário que genótipos de bananeira sejam avaliados em pelo menos dois ciclos de produção (GASPAROTTO et al., 2006).

Para a fenotipagem de genótipos em campo, visando classificar as lesões características de Sigatoka-negra e avaliação do progresso da doença no hospedeiro, tem sido utilizado à escala diagramática de Stover (1972) modificada por Gauhl (1989) que propõe a atribuição de notas de acordo com o progresso da doença que vai do estágio zero, onde a planta não apresenta sintomas até o estágio VI, sendo que nesse estágio os sintomas apresentam entre 51 a 100% do limbo da folha, caracterizando-se pela fase final da mancha.

Estudos realizados por Barrera et al. (2016) buscaram avaliar o efeito de diferentes porcentagens de sombra na incidência da Sigatoka-negra e na sua produção. Foi observado que a presença de sombra expressava menos a doença quando comparado com plantas sem sombras, além disso, os autores observaram que os rendimentos aumentaram em 400 kg ha⁻¹.

A avaliação da doença, por meio da escala de notas, é quantificada baseando-se na intensidade dos sintomas. Essa avaliação tem como objetivos principais analisar o desenvolvimento da doença por meio da curva do progresso da doença (evolução da doença) e a resistência de cultivares ao patógeno que serão classificados em programas de melhoramento como resistentes, moderadamente resistentes e suscetíveis (DIAS e BARRETO, 2011).

A avaliação de genótipos de bananeira em relação a *M. fijiensis* pode ser realizada em campo ou em condições controladas, sendo esta última a mais utilizada devido à seleção precoce dos acessos (DIAS e BARRETO, 2011).

Em estudos desenvolvidos por Silva et al. (2016) foi possível observar que algumas cultivares reagiram a *M. fijiensis* e foi possível caracterizar a variabilidade genética de isolados de duas regiões distintas, uma no Brasil e outra na cidade de Leticia - Colômbia. A virulência do patógeno foi determinada após inoculação em três diferentes cultivares de bananeira (Maçã, Prata Comum e D'Angola). Todos os 22 isolados causaram sintomas da doença nas cultivares Maçã e Prata Comum, 45 dias após a inoculação, e pelo menos dois grupos de virulência foram identificados para as cultivares Maçã e Prata Comum.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi realizar a fenotipagem de acessos da coleção de germoplasma de bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura, a fim de identificar genótipos resistentes à *Mycosphaerella fijiensis* (Morelet), agente causal da Sigatoka-negra.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. Amsterdam: Elsevier Academic, p. 460, 2005.

ALAKONYA, A. E.; KIMUNYEB, J.; MAHUKUC, G.; AMAHA, D.; UWIMANAB, B.; BROWND, A. SWENNEND, R. Progress in understanding *Pseudocercospora* banana pathogens and the development of resistant *Musa* germplasm. **Plant Pathology**, v. 67, p. 759–770, 2018.

ALVINDIA, D.G. Inhibitory influence of biocontrol agents, plant oils and an inorganic salt on *Mycosphaerella fijiensis* and *Cordana musae*, the causal pathogen of black sigatoka and leaf spot of banana. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, p. 4179-4184, 2012.

AMORIM, E.P.; AMORIM, V.B.O.; SILVA, S.O.; PILLAY, M. Quality improvement of cultivated *Musa*. In: PILLAY, M.; TENKOUANO, A. (Org.). **Banana breeding: progress and challenges**. New York: CRC Press, p. 252-280, 2011.

AMORIM, E. P.; SEREJO, J. A. dos S.; AMORIM, V. B. O.; SILVA, S. O. Melhoramento genético. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 171-200, 2016.

ARZANLOU, M., ABELN, E. C. A., KEMA, G. H. J., WAALWIJK, C., CARLIER, J., VRIES, I. GUZMÁN, M., CROUS, P. W. Molecular Diagnostics for the Sigatoka Disease Complex of Banana. **Phytopathology**, v.97, p. 1112–1118, 2007.

BARRERA, J. V.; BARRAZA, F. A.; CAMPO, R. A. Efecto del sombrero sobre la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* MORELET) en cultivo de plátano cv hartón (*Musa* AAB Simmonds). **Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica**, v. 19, p. 317 – 323, 2016.

BIRCH, P. R. J.; BOEVINK, P. C.; GILROY, E. M.; HEIN, I.; PRITCHARD, L. & WHISSON, S. C. Oomycete RXLR effectors: delivery, functional redundancy and durable disease resistance. **Curr. Opin. Plant Biol**, v.11, p.373–379, 2008.

BORGES, A. L.; SOUZA, L. DA S. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 279, 2004.

BOUALEM, A.; DOGIMONT, C; BENDAHMANE, A. The battle for survival between viruses and their host plants. **Current Opinion in Virology**. Elsevier B. v.17, p. 32–38, 2016.

CARLIER, J.; FOURÉ , E.; GAUHL, D. R.; JONES, D. R.; LEPOI VRE, P.; MOURIC HO, X.; PASBERG-GAUHL, C. Fungal disease of the foliage. In: JONES, D. R. (Ed.) **Diseases of banana, abacá and ensete**. Wallingford, UK: CAB Publishing International, 2000, p. 37-142.

CARLIER, J.; HAYDEN, H.; RIVAS, G.; ZAPATER, M.F.; ABADIE, C.; AITKEN, E. Genetic differentiation in *Mycosphaerella* leaf spot

pathogens. **Mycosphaerella leaf spot diseases of bananas: present status and outlook**, p. 123, 2002.

CAVERO, P. A. S., HANADA, R. E., GASPAROTTO, L., COELHO NETO, R. A., SOUZA, J. T. Biological control of banana black Sigatoka disease with *Trichoderma*. **Ciência Rural**, v.45, p. 951–957, 2015.

CHAMPION, J. **Les bananiers et leur culture**; Tome I: Botanique et genetique, Paris: IFAC, 214 p. 1967.

CHILLET, M.; ABADIE, C.; HUBERT, O.; CHILIN-CHARLES, Y.; DE BELLAIRE, L.L.; CHILIN-CHARLES Y., DE BELLAIRE, L. L. Sigatoka disease reduces the greenlife of bananas. **Crop Protection**, v. 28, p. 41–5, 2009.

CHURCHILL, A.C.L. *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. **Molecular Plant Pathology**, v.12, p. 307–328, 2011.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; SILVA, S. O. **Recomendações técnicas sobre a Sigatoka-negra da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 107, 2011.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; HADDAD, F. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 111-136, 2016.

COLL, N. S.; EPPLE P. & DANGL, J. L. Programmed cell death in the plant immune system. **Cell Death and Differentiation**, v.18, p.1247-1256, 2011.

DANTAS, A. C. V. L.; DANTAS, J. L. L.; ALVES, E. J. Estrutura da Planta, In: ALVES, E. J. (Org.). **A cultura da banana, aspectos técnicos**

socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: Embrapa-SPI; EMBRAPA-CNPMF, p. 47-59, 1997.

DANTAS, A.C.V.L.; ALMEIDA, W.A.B.; DANTAS, J.L.L.; ALVES, E.J. Estrutura da planta. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 29-44, 2016.

DEIGHTON, F. C. 1976. Studies on *Cercospora* and allied genera. VI. *Pseudocercospora* Speg., *Pantospora* Cif., and *Cercoseptoria* Petr. Mycol. Pap. 140:1-168.

DIAS, J. S. A.; BARRETO, M. C. (Ed.). **Aspectos agronômicos, fitopatológicos e socioeconômicos da sigatoka-negra na cultura da bananeira no Estado do Amapá.** Macapá: Embrapa Amapá, 95 p. 1 CD-ROM, 2011. ISBN 978-85-61366-14-8.

DIAZ-TRUJILLO, C.; CHONG, P.; STERGIOPOULOS, I.; CORDOVEZ, V.; GUZMAN, M.; WIT, P.J.G.M.; MEIJER, H.J.G.; SCALLIET, G.; SIEROTZKI, H.; PERALTA, E.L.; ISAZA, R.E.A.; KEMA, G.H.J. A new mechanism for reduced sensitivity to demethylation-inhibitor fungicides in the fungal banana black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis*. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, p.1491–1503, 2018.

DODDS, P. N. & RATHJEN, J. P. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. **Nature reviews Genetics**. Nature Publishing Group, v. 11, p. 539–548, 2010.

FAO STAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations.** Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em: 07 Jan. 2019.

GAUHL, F.; PASBERG-GAUHL, C.; VUYLSTEKE, D; ORTIZ, R. Multilocational evaluation of black sigatoka resistance in banana and plantain. **Abuja: International Institute of Tropical Agriculture**, v.47, p.59, 1989.

GASPAROTTO, L., PEREIRA, J.C.R., HANADA, R.E. & MONTARRYOS, A.V.V. **Sigatoka negra da banana**. 1º. Ed. Embrapa. Manaus. 2006.

GBONGUE, L.R., LALAYMIA, I., ZEZE, A., DELVAUX, B., DECLERCK, S. Increased Silicon Acquisition in Bananas Colonized by *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833 Reduces the Incidence of *Pseudocercospora fijiensis*. **Frontiers in Plant Science**, v.9, p. 11, 2019.

GILL, U. S.; LEE, S.; MYSORE, K. S. Host Versus Nonhost Resistance: Distinct Wars with Similar Arsenals. **Phytopathology**, v.105, p. 580–587, 2015.

GLAZEBROOK, J. Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 43, p. 205–227, 2005.

GUERRA, A. G.; MENDONÇA, V. **Manual de Fruticultura tropical**. Editora Clube dos autores, 375p, 2009.

HAKKINEN, M. Reappraisal of sectional taxonomy in *Musa* (Musaceae). **Taxon**, v. 62, n. 4, p. 809-813, 2013.

HANADA, R.E.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R. Sobrevivência de conídios de *Mycosphaerella fijiensis* em diferentes materiais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 408-411, 2002.

HOGENHOUT, S. A.; VAN DER HOORN, R. A. L.; TERAUCHI, R.; KAMOUN, S. Emerging Concepts in Effector Biology of Plant-Associated Organisms. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, p.115–122, 2009.

HOWDEN, A. J. & HUITEMA, E. Effector-triggered post-translational modifications and their role in suppression of plant immunity. **Front Plant Sci**, v.3, p.160, 2012.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. LSPA, Levantamento sistemático da Produção Agrícola. 2018. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201803.pdf>. Acesso em: 06 Jan. 2019.

JACOME, L.H.; SCHUH, W.; STEVENSON, R.E. Effect of temperature and relative humidity on germination and germ tube development of *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. **Phytopathology**, v. 81, p. 1480-1485, 1991.

JONES, J. D. G. & DANGL, J. L. 2006. The plant immune system. **Nature** 444: 323–9.

KARAMURA, D.; KARAMURA, E.; BLOMME, G. General Plant Morphology of *Musa*. In: PILLAY, M.; TENKOUANO, A. (Org.). **Banana Breeding: Progress and Challenges**. New York: CRC Press, p. 1-17, 2011.

MARÍN, D.H.; ROMERO, R.A.; GUZMÁN, M.; SUTTON, T.B. Black Sigatoka: na increasing treat to banana cultivation, **Plant Disease**, v. 87, p. 208-222, 2003.

MONTARROYOS, A. V. V. **Análise da diversidade genética e patogênica de *Mycosphaerella fijiensis* e *Mycosphaerella musicola* no Brasil**. 2005. 163 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

OSWALD, W.; FLEISCHMANN, F.; RIGLING, D.; COELHO, A. C.; CRAVADOR, A.; DIEZ, J.; DALIO, R. J.; HORTA JUNG M.; PFANZ, H.; ROBIN, C.; SIPOS, G.; SOLLA. A.; CECH, T.; CHAMBERY, A.; DIAMANDIS, S.; HANSEN, E.; JUNG, T.; ORLIKOWSKI, L. B.; PARKE, J.; PROSPERO, S. &

WERRES, S. Strategies of attack and defence in woody plant–Phytophthora interactions. **Forest Pathology**, v.44, p.169-190, 2014.

PERRIER, X.; DE LANGUE, E.; DONOHUE, M.; LENTFER, C.; VRYDAGHS, L.; BAKRY, F.; CARREEL, F.; HIPPOLYTE, I.; HORRY, J. P.; JENNY, C.; LEBOT, V.; RISTERUCCI, A. M.; TOMEKPE, K.; DOUTRELEPONT, H.; BALL, T.; MANWARING, J.; DE MARET, P.; DENHAM, T. Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 28, p. 11311-11318, 2011.

PEREIRA, J.C.R.; GASPAROTTO, L.; COELHO, A.F.S.; VÉRAS, S. de M. **Doenças da bananeira no Estado do Amazonas**. EMBRAPA - CPAA, 12 p. (Circular Técnica, n. 20), 2003.

RAMOS, J.B.; Bragança, C.A.D.; Rocha, L.S.; Oliveira, A.S.; Cordeiro, Z.J.M.; Haddad, F. First Report of Black Sigatoka of Banana Caused by *Mycosphaerella fijiensis* in Bahia, Brazil. **Plant Disease "First Look" paper** PDIS-12-17-1998-PDN, 2018.

RODRÍGUEZ-GARCÍA, C.M. R; GÓMEZ, A.D.C; CARBONELL, L.S; ECHEVERRÍA, L.P; CANCHÉ, B.C; FLORES, I.I; ECHEVERRÍA, S.P. Expression of MfAvr4 in banana leaf sections with black leaf streak disease caused by *Mycosphaerella fijiensis*: a technical validation. **Australasian Plant Pathology Society Inc**. 2016.

RODRIGUEZ, H. A., RODRIGUEZ-ARANGO, E., MORALES, J. G., KEMA, G., & ARANGO, R. E. Defense Gene Expression Associated with Biotrophic Phase of *Mycosphaerella fijiensis* M. Morelet Infection in Banana. **Plant Disease**, v. 100, p. 1170–1175, 2016.

ROUX, F.; VOISIN, D.; BADET, T.; BALAGUÉ, C.; BARLET, X.; HUARD-CHAUVEAU, C.; ROBY, D. RAFFAELE, S. Resistance to phytopathogens e tutti quanti: placing plant quantitative disease resistance on the map. **Molecular Plant Pathology**, v.15, p.427-432, 2014.

SCARPARE FILHO, J. A.; SILVA, S. R.; SANTOS, C. B. da C.; NOVOLETTI, G.V. **Cultivo e produção de banana**. Piracicaba: ESALQ, 84p. 2016.

SCHOUTEDEN, N., DE WAELE, D., PANIS, B., VOS, C. M. Arbuscular mycorrhizal fungi for the biocontrol of plant-parasitic nematodes: a review of the mechanisms involved. **Front. Microbiol**, v. 6 p.12, 2015.

SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO; J. A.; AMORIM, E. P. Pré-melhoramento da banana. In: LOPES, M. A.; FÁVERO, A. P., FERREIRA, M. A. J. da F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. (Ed.). **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 317-350, 2011.

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

SILVA, G. F., SANTOS, V. S., SOUSA, N. R., HANADA, R. E., GASPAROTTO, L. Virulence and genetic diversity among isolates of *Mycosphaerella fijiensis* in two regions of Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, p.9, 2016.

SIMMONDS, N. W. **The Evolution of the Bananas**. London: Longmans, 170 p., 1962.

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

SIMMONDS, N. W.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **The journal of the Linnean Society of London**, London, v. 55, p. 302-12, 1955.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, p. 18-46, 2011.

STOVER, R.H. **Banana, Plantain and Abaca Diseases**. Common wealth Agricultural Bureaux, London, p. 316, 1972.

STOVER, R.H. Sigatoka leaf spot of bananas and plantains. **Plant Disease**, v. 64, p. 750-755, 1980.

UCHÔA, C.N.; POZZA, E.A.; ALBUQUERQUE, K.S.; MORAES, W.S. Relationship between temperature and leaf wetness in black sigatoka monocycle. **Summa Phytopathologica**, v.38, p.144-147, 2012.

**IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA À SIGATOKA-NEGRA
ENTRE DIPLOIDES SELVAGENS DE BANANEIRA**

1 INTRODUÇÃO

Bananas e plátanos são considerados a base alimentar de milhões de pessoas, esses apresentam grande importância social, econômica e nutricional em regiões tropicais e subtropicais (WEBER et al., 2017; ALAKONYA et al., 2018).

Algumas doenças são responsáveis por perdas significativas na produção de banana e plátanos, com destaque para a Sigatoka-negra, causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis* (fase assexual: *Pseudocercospora fijiensis*). O fungo foi descrito pela primeira vez em 1963, nas Ilhas Fiji (CROUS et al., 2011) e o primeiro registro da doença no Brasil deu-se na fronteira com a Colômbia e o Peru em 1998, quando foi introduzida nos municípios de Tabatinga e Benjamin Constant, Estado do Amazonas (GASPAROTTO et al., 2006). Sua propagação ocorre por meio de dois tipos de esporos, os conídios, que são os esporos assexuados e ascósporos, esporos sexuados (CHURCHILL, 2011; ONYLO et al., 2018).

O controle da Sigatoka-negra é realizado a partir da combinação de fungicidas de contato e sistêmicos. Essa prática eleva o custo de produção em 30% representando, em nível global, um custo estimado em mais de 550 milhões de dólares (CHURCHILL, 2011; DIAS-TRUJILLO et al., 2018). Soma-se a esse fato, impactos potenciais ao ambiente e à saúde. O controle biológico do patógeno ainda é incipiente, muito em função da efetiva eficiência de alguns agentes biológicos e do custo de produção e aplicação (JIMENEZ et al., 2007).

Cultivares resistentes à Sigatoka-negra são uma alternativa sustentável para o agronegócio de bananas e plátanos. Para alcançar esse objetivo, alguns programas de melhoramento pelo mundo dedicam-se ao desenvolvimento de híbridos resistentes, incluindo o programa de melhoramento genético de banana da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, no Brasil (ALAKONYA et al., 2018). Infere-se que a genética da resistência à *Pseudocercospora fijiensis* está associada a um alelo recessivo (*bs1*) e dois alelos independentes com efeitos aditivos (*bsr2* e *bsr3*) (ORTIZ e VUYLSTEKE, 1994). Há também interação intralocus no locus *bs1*, que aparentemente estão associados com o surgimento dos primeiros sintomas nas folhas e com a

interação intraloci nos loci *bsr*, que influenciam no desenvolvimento da doença (CRAENEN e ORTIZ, 1997).

Desde 1982 a Embrapa realiza cruzamentos envolvendo diploides melhorados e cultivares comerciais triploides ou tetraploides suscetíveis à *Pseudocercospora fijiensis*, *Pseudocercospora musae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raça 1 (AMORIM et al., 2013). Onze híbridos tetraploides foram desenvolvidos e recomendados aos agricultores brasileiros a partir dessa estratégia, todos resistentes à murcha de *Fusarium* e alguns à Sigatoka-negra.

O desenvolvimento de diploides melhorados é uma atividade de rotina na Embrapa, que anualmente gera vários híbridos resistentes à Sigatoka-amarela e murcha de *Fusarium* raça 1; sendo que alguns também são resistentes à Sigatoka-negra e tolerantes à broca do rizoma e nematoides; além de possuírem outras características agronômicas de interesse para o melhoramento. Trata-se de um processo dinâmico, uma vez que novos diploides melhorados, com características superiores, são inseridos nas rotinas de cruzamentos, assim como outros são excluídos por questões técnicas (AMORIM et al., 2013). É importante também ter disponível diploides melhorados com *background* genético diferentes, de forma a evitar o estreitamento da base genética do germoplasma comercial e a suplantação da resistência por patógenos, como a Sigatoka-negra.

Nesse contexto, esse estudo se propõe a desafiar acessos diploides selvagens de bananeira na presença de *Pseudocercospora fijiensis*, visando selecionar genótipos resistentes para uso em cruzamentos com o objetivo de desenvolver novos diploides melhorados.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área experimental da Embrapa, localizada em Cruz das Almas, Estado da Bahia (12°40'19"S e 39°06'22"W', 220m acima do nível do mar). O clima é designado como tropical quente e úmido, Aw a Am, de acordo com a classificação de Köppen, tendo temperatura média anual de 24,5°C, umidade relativa de 80% e precipitação média de 1.250 mm anuais (AGRITEMPO, 2018).

Foram utilizados trinta e um acessos diploides de bananeira pertencentes à coleção de germoplasma de bananas e plátanos da Embrapa, todos com o genoma AA, exceto o genótipo IAC 1 (genoma AB) (Tabela 1). A referida coleção é representada por quatro plantas por acesso, dispostos em filas com espaçamento de 2,0m entre filas x 1,7 entre plantas e irrigada por microaspersão, de acordo com as necessidades da cultura. Esse manejo evita estresses às plantas pelo déficit hídrico, considerando que o experimento foi conduzido em região com períodos de escassez de água.

Os acessos foram avaliados quanto ao comportamento na presença da Sigatoka-negra, a partir da aplicação da escala de notas de sintomas da doença nas folhas, proposta por Stover (1972) e modificada por Gauhl (1989), onde: (1) até 1% da lâmina foliar com sintomas; (2) de 1 a 5 % da lâmina foliar com sintomas; (3) de 6 a 15% da lâmina foliar com sintomas; (4) de 16 a 33% da lâmina foliar com sintomas; (5) de 34 a 50% da lâmina foliar com sintomas; (6) de 51 a 100% da lâmina foliar com sintomas.

As avaliações foram iniciadas aos doze meses após o plantio, a partir da visualização dos sintomas da Sigatoka-negra em todas as folhas, até a sua completa senescência, perfazendo um total de 26 avaliações, no período de julho de 2017 a julho de 2018. Todas as folhas emitidas foram avaliadas, em número variável, a depender da taxa de emissão foliar de cada acesso. As avaliações foram realizadas em intervalos de 15 dias, em três plantas por acesso.

As notas obtidas em intervalos de 15 dias foram transformadas em índice de severidade da doença ID (%), baseado na fórmula descrita por McKinney (1923):

$$ID (\%) = \left[\frac{\sum \text{nota da doença} \times \text{número de plantas com uma certa nota da doença}}{\text{número de plantas avaliadas por parcela} \times \text{maior nota adotada na escala}} \right] \times 100$$

Para cada acesso, estimou-se o ID médio, com base nas avaliações realizadas a cada 15 dias e no número de folhas avaliadas.

Estimou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de acordo com a fórmula proposta por Madden et al. (2007), onde n é o número de avaliações, ID é o índice de severidade da doença e $(T_1 - T_2)$, é o intervalo de

tempo entre duas avaliações consecutivas, como pode ser observado na seguinte fórmula:

$$AACPD = \frac{\sum n - 1n[(ID1 + ID2)]}{2} \times (T2 - T1)$$

A AACPD foi padronizada pelo número de avaliações realizadas a cada 15 dias até a colheita dos cachos, considerando que o número de folhas emitidas foi variável entre os acessos.

O aumento na severidade da doença (AID, %) foi estimado a partir do somatório dos ID obtidos para cada período de avaliação (intervalos de 15 dias), por meio da seguinte fórmula:

$$AID = \frac{\sum ID}{n} \times 100$$

Onde n está associado ao número de avaliações.

Com base na AACPD, ID e AID foram elaborados dois dendrogramas, um com AACPD e ID e outro com as três variáveis, utilizando-se a distância euclidiana média e o método de *K-means* para agrupar os acessos, adotando-se como critério para o ponto de corte o proposto por Krzanowski e Lai (1988). Com base nos mesmos parâmetros realizou-se a análise de *heat map*, que produz uma interpretação gráfica onde os dados referentes a cada genótipo são representados por cores, onde tonalidades na escala do verde associam-se com níveis de resistência genética (verde claro indica alta resistência), enquanto que cores na escala do vermelho indicam níveis de suscetibilidade (vermelho claro indica alta suscetibilidade).

Os pacotes estatísticos utilizados para as análises foram: *devtools*, *NbClust* e *gplots*, executados no programa R (R CORE DEVELOPMENT TEAM, 2016).

Visando ranquear os genótipos classificados como moderadamente resistentes à Sigatoka-negra, utilizou-se o teste de agrupamento de Scott e Knott e estimou-se um índice de seleção (IS), onde para cada grupo formado no teste de Scott e Knott estipulou-se peso 10. Um exemplo numérico hipotético será apresentado abaixo:

Genótipos	AACPD	ID	AID (%)	Índice de seleção (IS)
Gen. 1	50 b	70 a	10 b	100
Gen. 2	70 a	70 a	3 d	90
Gen. 3	30 c	50 b	18 a	60
Gen. 4	10 d	15 c	7 c	50

Mesma letra na coluna pertencem ao mesmo agrupamento, de acordo com o teste de Scott e Knott. *Peso para os grupos: a (40); b (30); c (20); d (10).

Ao final da soma de cada índice de seleção foram considerados com melhor resistência quantitativa os acessos que conseguiram reduzir seus índices em 60%, obtendo-se assim uma nota de corte de 70, logo, se os genótipos apresentaram valores abaixo de 70 eles seriam indicados para programa de melhoramento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando que se trata de um trabalho que teve como objetivo selecionar genótipos para uso em cruzamentos visando desenvolver diploides melhorados, a identificação segura de genótipos resistentes ou com resistência parcial ou moderada à Sigatoka-negra é fundamental. Utilizou-se três parâmetros para selecionar diploides resistentes: a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), o índice de severidade da doença (ID) e o aumento no índice de severidade da doença (AID), esse último é uma nova proposta para a identificação de genótipos resistentes que será validada nesse trabalho, que também é o primeiro a realizar seleção de genótipos resistentes à Sigatoka-negra na Bahia.

Os sintomas da Sigatoka-negra podem variar em função da idade da folha, da pressão do inóculo, das condições ambientais, do período de infecção e da cultivar utilizada (JONES et al., 2000). Soma-se a esses fatores a resposta diferenciada à Sigatoka-negra entre plantas jovens e adultas, o que exige a padronização do período e do estágio fenológico das plantas para uma correta seleção de genótipos resistentes (FULLERTON e OLSEN, 1995).

Na Figura 1A está apresentado o dendrograma obtido com base na AACPD e ID. Foram obtidos três agrupamentos: G1 com cinco genótipos

resistentes; GII com 15 genótipos moderadamente resistentes; e GIII com onze suscetíveis.

Entre os diploides selvagens classificados como resistentes estão Tuu Gia e Birmanie, informações que corroboram com Ortiz-Vázquez et al. (2005) e Rebouças et al. (2018). Os outros quatro acessos, para nosso conhecimento, não possuem relatos na literatura no que diz respeito ao comportamento na presença da Sigatoka-negra. Da mesma forma, entre os moderadamente resistentes identificou-se Pisang Lilin, Pisang Lidi e Tjau Lagada, classificações que concordam com Leiva-Mora et al. (2015) e Silva et al. (2001); já entre os suscetíveis Niyarma Yik também apresentou o mesmo comportamento em trabalho realizado por Ferreira et al. (2004). Percebe-se, dessa forma, que os grupos formados apresentam genótipos referência, fato que reforça a acurácia na fenotipagem. É importante destacar que *Pseudocercospora fijiensis* possui ampla variabilidade genética no que diz respeito a agressividade e virulência, exigindo que a seleção local de genótipos resistentes seja realizada, de forma a evitar erros na classificação (ALAKONYA et al., 2018).

Quando se considera o parâmetro aumento do índice de severidade da doença (AID), em conjunto a AACPD e o ID, percebe-se variação no que diz respeito aos agrupamentos formados, uma vez que o número de genótipos em cada *cluster* foi variável, assim como os indivíduos *per se* (Figura 1 A e B). Na presença da AID, maior número de acessos foram considerados como moderadamente resistentes à Sigatoka-negra em comparação ao agrupamento considerando a AACPD e o ID. Dessa forma, infere-se pela melhor eficiência na discriminação dos genótipos nas classes resistente, moderadamente resistente e suscetível, quando se considera a variável AID, afinal, essa variável conseguiu discriminar melhor os acessos no que diz respeito ao comportamento frente à Sigatoka-negra, demonstrando a evolução da doença ao longo do tempo, já que alguns materiais apresentaram sintomas em um curto período de tempo e outros mais tardiamente.

Em alguns casos, os valores de AACPD e ID foram próximos entre acessos, fazendo com que tenham sido classificados no mesmo perfil de resistência/suscetibilidade; já quando se analisa o AID, percebe-se que um genótipo tem menor capacidade de suportar a infecção por Sigatoka-negra, uma vez que é menos eficiente em ativar mecanismos de resistência. Dessa forma,

não é correto classificá-los no mesmo grupo. Como exemplo desse fato temos os acessos Akondro Mainty (suscetível) e M53 (moderadamente resistente), pois ambos possuem AACPD e ID próximos e AID contrastantes (Tabela 2). Em se tratando do acesso Akondro Mainty, esse é indicado como um dos possíveis ancestrais das cultivares dos subgrupos Prata e Cavendish, fato que pode justificar a suscetibilidade desses genótipos à Sigatoka-negra (PERRIER et al., 2009; 2011; HIPOOLYTE et al., 2012; JESUS et al., 2013; CHRISTELOVÁ et al., 2016).

Entre uma planta e um patógeno, existem inúmeras interações, onde ocorrem vários mecanismos de defesa pela planta, tais como a produção de cera, pilosidade, presença de cutícula, espessura da parede celular da epiderme, entre outras; constituindo, dessa forma, os mecanismos de defesa pré-formados, também conhecidos como passivos ou constitutivos. Existem também os mecanismos pós-formados ou ativos, que ocorrem geralmente por meio de indução de um sistema de reconhecimento de patógenos localizados na membrana celular ou no interior da célula (HOGENHOUT et al., 2009). Estudos futuros podem elucidar quais mecanismos são ativados pelos acessos resistentes e moderadamente resistentes selecionados no presente trabalho.

Visando corroborar com os resultados dos agrupamentos descritos acima, fez-se análises de *heat map*, com base nas duas estratégias de seleção (AACPD+ID e AACPD+ID+AID) (Figura 2). A escala do verde associa-se com níveis de resistência genética (quanto mais claro significa maior resistência), enquanto que cores na escala do vermelho indicam níveis de suscetibilidade (quanto mais claro maior suscetibilidade). Percebe-se também que AACPD e ID formam um grupo, enquanto que a AID mantém-se isolada (Figura 2B), reforçando que se trata de um parâmetro relevante para a seleção. O *heat map* é uma análise de fácil interpretação quando em comparação aos métodos de agrupamento clássicos, baseados em dendrogramas (REBOUÇAS et al., 2018).

Na Tabela 2 estão apresentados os valores médios para AACPD, ID e AID, assim como o nível de resistência dos acessos fenotipados na presença da Sigatoka-negra. A AACPD variou de 5,12 a 1081,19; o ID oscilou entre 0,40 e 78,34; já o AID iniciou em 0,04 e alcançou 19,87%. Não é possível afirmar que foram identificados acessos com resistência completa à Sigatoka-negra, entretanto, resistência quantitativa existe em vários genótipos, incluindo os

classificados como resistentes (Krasan Saichon, Zebrina, Birmanie, Nº 118 e Tuu Gia) e moderadamente resistentes; esses passíveis de seleção mais criteriosa.

Aplicou-se o teste de agrupamento de Scott e Knott entre os acessos classificados como moderadamente resistentes (Tabela 3). Percebe-se a formação de agrupamentos entre genótipos para as três variáveis. Com base no ponto de corte do índice de seleção proposto (<70), é possível afirmar que os acessos PA Rayong, Pisang Cici, Malaccensis 1, 028003-01, Microcarpa, Pisang Lidi, Lilin e Malbut são bons genótipos para uso em cruzamentos, uma vez que nesse caso é possível desenvolver diploides melhorados com resistência quantitativa durável à Sigatoka-negra.

Os acessos Tuu Gia, Birmanie, Zebrina, PA Rayong e Pisang Lilin foram considerados resistentes a raça 4 tropical de *Fusarium oxysporum* s. sp. *cubense* (Foc), doença quarentenária A1 no Brasil (ZUO et al., 2018). Em outros dois trabalhos Birmanie, Malaccensis 1 e 028003-01 foram classificados como resistentes a raça 1 de Foc (REBOUÇAS et al.; RIBEIRO et al., 2018). Com base nessas informações, a partir do intercruzamento entre esses acessos, aventa-se pela possibilidade da seleção nas progênes de híbridos resistentes as duas raças de Foc e a Sigatoka-negra.

Craenen e Ortiz (1997) não observaram resistência completa à *Mycosphaerella fijiensis*, embora tenham observado que níveis de resistência ou tolerância foram claramente demonstrados. Nossos resultados corroboram com os achados dos autores, uma vez que não foram identificados acessos sem sintomas da doença em campo. Por outro lado, Gonçalves (2019), ao fenotipar diploides melhorados na presença da Sigatoka-negra, identificou resistência completa em três híbridos. De acordo com o autor, uma possível explicação diz respeito ao acúmulo de genes de resistência oriundos dos seus parentais.

A genética de resistência à Sigatoka-negra está associada a um alelo recessivo (*bs1*) e dois alelos independentes com efeitos aditivos (*bsr2* e *bsr3*) (ORTIZ E VUYLSTEKE, 1994), sendo considerado um controle genético simples e de fácil manipulação por técnicas de melhoramento genético.

A Embrapa possui em sua coleção 30 diploides melhorados, todos resistentes à Sigatoka-amarela e murcha de *Fusarium* raça 1; e alguns também resistentes à Sigatoka-negra, tolerantes à broca do rizoma e nematoides, além

de outras características agronômicas de interesse para o melhoramento. Esta atividade é dinâmica, uma vez que são desenvolvidos novos diploides melhorados com características superiores (mais de 100 frutos por cacho, elevada fertilidade masculina, arquitetura pendular do cacho, etc), ao mesmo tempo em que diploides melhorados antigos são excluídos dos esquemas de cruzamento e passam a integrar a coleção de germoplasma diploide de bananeira (AMORIM et al., 2013).

Pensando em resistência durável à Sigatoka-negra nas cultivares comerciais, o diploide melhorado ideal é aquele que combina resistência qualitativa e quantitativa, as quais podem ser transferidas aos híbridos comerciais. Sendo assim, a nova cultivar comercial poderá fazer uso de duas estratégias de defesa; em primeiro lugar o uso da resistência qualitativa, que na possibilidade de ser suplantada pelo patógeno, permitirá ainda o uso da resistência quantitativa (ALANKONYA et al., 2018). De acordo com Pilet Nayel et al. (2017) a resistência quantitativa não exerce intensa pressão de seleção sobre as populações do patógeno, além disso reduz a multiplicação do patógeno, a colonização e a severidade de sintomas.

Considerando as perdas causadas pela Sigatoka-negra, que em condições extremas pode chegar a 100% da produção, o uso de cultivares resistentes mostra-se uma excelente alternativa (CHURCHILL, 2011). Mesmo que a infecção não alcance 100% das plantas, a presença da doença reflete negativamente sobre o peso dos cachos, calibre dos frutos e maturação precoce (CHILLET et al., 2014; ALAKONYA et al., 2018). Soma-se a isso o risco de contaminações ambientais pelo uso de fungicidas, assim como humanas, em especial sobre as pessoas que vivem próximas as plantações de banana (DE BELLAIRE et al., 2010).

De acordo com Calberto et al. (2015), modelos probabilísticos indicam aumentos na temperatura média em função de ações antrópicas, fato que permitirá incrementos de mais de 50% na área cultivada com banana no planeta, mas precisamente em regiões subtropicais. Nesse contexto, a demanda por água para a produção será suprida por meio de irrigação, favorecendo também o fungo no que diz respeito a sua severidade. Portanto, cultivares adaptadas a essa nova condição serão cada vez mais demandadas pelos agricultores, em

especial associadas com a resistência genética a pragas e doenças, como é o caso da Sigatoka-negra.

CONCLUSÕES

O parâmetro aumento da severidade da doença (AID) apresenta melhor capacidade de estratificar os acessos de bananeira.

Cinco acessos diploides de bananeira são resistentes à Sigatoka-negra (Krasan Saichon, Zebrina, Birmanie, Nº 118 e Tuu Gia), enquanto que oito são moderadamente resistentes (PA Rayong, Pisang Cici, Malaccensis 1, 028003-01, Microcarpa, Pisang Lidi, Lilin e Malbut).

REFERÊNCIAS

AGRITEMPO. **Agriempo**: sistema de monitoramento agrometeorológico. Disponível em: <<http://www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario>>. Acesso em: 13 Dez. 2018.

ALAKONYA, A. E.; KIMUNYEB, J.; MAHUKUC, G.; AMAHA, D.; UWIMANAB, B.; BROWND, A. SWENNEND, R. Progress in understanding *Pseudocercospora* banana pathogens and the development of resistant *Musa* germplasm. **Plant Pathology**, v.67, p.759–770, 2018.

AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, V. B. O.; FERREIRA, C.F.; SILVA, S. Banana breeding at Embrapa Cassava and Fruits. **Acta Horticulturae**, v.986, p.171-176, 2013.

CALBERTO, G. G.; STAVAR, C.; SILES, P. An assessment of global banana production and suitability under climate change scenarios. In: Elbehri A, Climate Change and Food Systems: **Global Assessments and Implications for Food Security and Trade**. Rome, Italy: Food Agriculture Organization of the United Nations (FAO), p.266-291, 2015.

CHILLET, M.; CASTELAN, F. P.; ABADIE, C.; HUBERT, O.; CHILIN-CHARLES Y.; DE BELLAIRE, L. L. Effect of different levels of Sigatoka disease severity on banana pulp colour and early ripening. **Canadian Journal of Plant Pathology** v.36, p.48-53, 2014.

CHRISTELOVÁ, P.; DE LANGHE, E.; HŘIBOVÁ, E.; ČÍŽKOVÁ, J.; SARDOS, J.; HUŠÁKOVÁ, M.; HOUVE, I. V. D.; SUTANTO, A., KEPLER, A. K., SWENNEN, R., ROUX, N., DOLEŽEL, J. Molecular and cytological characterization of the global *Musa* germplasm collection provides insights in to the treasure of banana diversity. **Biodiversity and Conservation**, v. 26, p.801–824, 2016.

CHURCHILL, A.C.L. *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. **Molecular Plant Pathology**, v.12, p.307–328, 2011.

CRAENEN, K.; ORTIZ, R. Effect of the bs1 gene in plantain-banana hybrids on response to black Sigatoka. **Theoretical and Applied Genetics** v.95, p.497-505, 1997.

CROUS, P.W.; GROENEWALED, J.Z.; APTROOT, A.; BRAUN, U. X.; CARLIER, J. Integrating morphological and molecular data sets on *Mycosphaerella*, with specific reference to species occurring on *Musa*. In: Workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases held in San Jose, 2002, Costa Rica. ***Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: present status and outlook**. Montpellier: INIBAP. p. 43-57, 2011.

DE BELLAIRE, L. L.; FOUR, E.; ABADIE, C.; CARLIER, J. Black Leaf Streak Disease is challenging the banana industry. **Fruits**. v.65, p.327-342, 2010.

DIAZ-TRUJILLO, C.; CHONG, P.; STERGIOPOULOS, I.; CORDOVEZ, V.; GUZMAN, M.; WIT, P.J.G.M.; MEIJER, H.J.G.; SCALLIET, G.; SIEROTZKI, H.; PERALTA, E.L; ISAZA, R.E.A.; KEMA, G.H.J. A new mechanism for reduced

sensitivity to demethylation-inhibitor fungicides in the fungal banana black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis*. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, p.1491–1503, 2018.

FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; SOBRINHO, N. P. D.; DAMASCENA, S. C. S.; ASSIS, F. S.; ALVES, A. O.; PAZ, O. P. Molecular Characterization of Banana (AA) Diploids with Contrasting Levels of Black and Yellow Sigatoka Resistance. **American Journal of Applied Sciences**, n.1, p. 276-278, 2004.

FULLERTON, R. A.; OLSEN, T. L. Pathogenic variability in *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, cause of black Sigatoka in banana and plantain. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 23, p. 39–48, 1995.

GAUHL, F.; PASBERG-GAUHL, C.; VUYLSTEKE, D.; ORTIZ, R. Multilocational evaluation of black sigatoka resistance in banana and plantain. **Abuja: International Institute of Tropical Agriculture**, v.47, p.59, 1989.

GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; HANADA, R.E. & MONTARRYOS, A.V.V. **Sigatoka negra da banana**. 1^o. Ed. Embrapa. Manaus. 2006.

GONÇALVES, Z. S. **Fontes de resistência à murcha de *Fusarium* raça 1 e Sigatoka-negra entre híbridos de bananeira**. 2019. 79 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

HIPPOLYTE, I.; JENNY, C.; GARDES, L.; BAKRY, F.; RIVALLAN, R.; POMIES, V.; CUBRY, P.; TOMEKPE, K.; RISTERUCCI, A. M.; ROUX, N.; ROUARD, M.; ARNAUD, E.; KOLESNIKOVA-ALLEN, M.; PERRIER, X. Foundation characteristics of edible *Musa* triploids revealed from allelic distribution of SSR markers. **Annals of Botany**, v.109, p. 937–951, 2012.

HOGENHOUT, S. A.; VAN DER HOORN, R. A. L.; TERAUCHI, R.; KAMOUN, S. Emerging Concepts in Effector Biology of Plant-Associated Organisms. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, p.115–122, 2009.

JESUS, O. N.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; FERREIRA, C. F.; CAMPOS, J. M. S.; SILVA, G. G.; FIGUEIRA, A. Genetic diversity and population structure of *Musa* accessions in *ex situ* conservation. **BMC Plant Biology**, v.13, p. 22, 2013.

JIMENEZ, M. I.; VAN DER VEKEN, L.; NEIRYNCK, H.; RODRIGUEZ, H.; RUIZ, O. SWENNEN, R. Organic banana production in Ecuador: its implications on black Sigatoka development and plant-soil nutritional status. **Renewable Agriculture & Food Systems**. v.22, p.297–306, 2007.

JONES, D. R. Sigatoka. In: **Diseases of Banana, Abacá and Enset** (Jones, D. R.), 2000, p.79-92.

KRZANOWSKI, W. J. e LAI, Y. T. A Criterion for Determining the Number of Groups in a Data Set Using Sum-of-Squares Clustering. **Biometrics**, v.44, p.23–34, 1988.

LEIVA-MORA, M.; ALVARADO-CAPÓ, Y.; ACOSTA-SUÁREZ, M.; CRUZ-MARTÍN, M.; ROQUE, B.; MÉNDEZ, E.M. Components of resistance to assess Black Sigatoka response in artificially inoculated *Musa* genotypes. **Rev. Protección Veg.** v. 30, p.60-69, 2015.

MADDEN, L. V.; HUGLES, G.; BOSCH, F. V. D. The study of Plant Disease Epidemics. **The American Phytopathological Society**. v.32, p.31-63, 2007.

MCKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. Journal of Agricultural Research, v.6, p.195-218, 1923.

ONYILO, F.; TUSIIME, G.; TRIPATHI, J.N.; CHEN, L.H.; FALK, B.; STERGIOPOULOS, L.; TUSHEMERIRWE, W.; KUBIRIBA, J.; TRIPATHI, L. Silencing of the Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK) Fus3 and Slt2 in *Pseudocercospora fijiensis* Reduces Growth and Virulence on Host Plants. **Frontiers in Plant Science**, v.9, article 291, 2018.

ORTIZ, R.; VUYLSTEKE D. Inheritance of black Sigatoka resistance in plantain and banana (*Musa* spp.) hybrids. **Theoretical and Applied Genetics** v.89, p.46–52, 1994.

ORTIZ-VÁZQUEZ, E.; KAEMMER, D.; ZHANG, H.B.; MUTH, J.; RODRÍGUEZ-MENDIOLA, M.; ARIAS-CASTRO, C.; JAMES, A. Construction and characterization of a plant transformation-competent BIBAC library of the black Sigatoka-resistant banana *Musa acuminata* cv. Tuu Gia (AA). **Theoretical and Applied Genetics**, v.110, p. 706–713, 2005.

PERRIER, X.; BAKRY, F.; CARREEL, F.; JENNY, C.; HORRY, J. P.; LEBOT, V.; HIPPOLYTE, I. Combining Biological Approaches to Shed Light on the Evolution of Edible Bananas. **Ethnobotany Research & Applications**, v.7, p.199-216, 2009.

PERRIER, X.; DE LANGHE, E.; DONOHUE, M.; LENTFER, C.; VRYDAGHS, L.; BAKRY, F.; ET AL. Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. Proceedings of the National Academy of Sciences, **PNAS**, v.108, n.28, p.11311–11318, 2011.

PILET-NAYEL, M.L.; MOURY, B.; CAFFIER, V.; MONTARRY, J.; KERLAN, M.C.; FOURNET, S.; DUREL, C.E.; DELOURME, R. Quantitative resistance to plant pathogens in pyramiding strategies for durable crop protection. **Frontiers in plant science**, v. 8, p.1-9, 2017.

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

STOVER, R. H. Banana Plantain and Abaca Diseases. **Common Wealth Mycological Institute**, p.316, 1972.

R CORE DEVELOPMENT TEAM, 2016. R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.12.1. ISBN 3-900051-07-0. **R Foundation for Statistical Computing**, Viena, Austria.

REBOUÇAS, T. A.; HADDAD, F.; FERREIRA, C. F.; OLIVEIRA, S. A. S.; LEDO, C. A. S.; AMORIM, E. P. Identification of banana genotypes resistant to *Fusarium* wilt race 1 under field and greenhouse conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 239, p. 308–313, 2018.

RIBEIRO, L. R.; SILVA, S. O. E; OLIVEIRA, S. A. S.; AMORIM, E. P.; SEREJO, J. A. S.; HADDAD, F. Sources of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in banana germplasm. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.40, p.8, 2018.

WEBER, O. B.; GARRUTI, D. S.; NORÕES, N. P.; SILVA, S.O. E. Performance of banana genotypes with resistance to black leaf streak disease in Northeast of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p.161–169, 2017.

ZUO, C.; DENG, G.; LI, B.; HUO, H.; LI, C.; HU, C.; KUANG, R.; YANG, Q.; DONG, T.; SHENG, O.; YI, G. Germplasm screening of *Musa* spp. for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (Foc TR4). **European Journal of Plant Pathology**, v. 151, p. 723–734, 2018.

Tabela 1. Acessos diploides de bananeira pertencentes a coleção de germoplasma de bananas e plátanos da Embrapa fenotipados na presença da Sigatoka-negra. Embrapa 2019.

Genótipo	Subgrupo/ Subespécie
Pisang Jari Buaya	Pisang Jari Buaya
Pisang Lilin	Pisang Lilin
028003-01	Tuu Gia x Calcutta 4
M53	(Kedat x Samoa) (Paka x Samoa)
Pisang Jaran	ssp. <i>Burmannica</i>
Malbut	—
Nº 118	—
PA Rayong	ssp. <i>Siamea</i>
Zebrina	ssp. <i>Zebrina</i>
Buitenzorg	ssp. <i>Zebrina</i>
Birmanie	—
Akondro Mainty	—
Pisang Lidi	—
Khai Nai On	—
Microcarpa	ssp. <i>Microcarpa</i>
Pisang Berlin	—
Khi Maeo	—
Mambee Thu	ssp. <i>Banksii</i>
Niyarma Yik	ssp. <i>Banksii</i>
Malaccensis 1	ssp. <i>Malaccensis</i>
Malaccensis 2	ssp. <i>Malaccensis</i>
Pisang Tongat	ssp. <i>Errans</i>
Pisang Pipit	—
SF-751	—
Pisang Rojo Uter	—
Tuu Gia	—
Krasan Saichon	—
Tjau Lagada	—
Tong Dok Mak	—
Pisang Cici	ssp. <i>Malaccensis</i>
IAC 1	<i>Musa acuminata</i> x <i>Musa balbisiana</i>

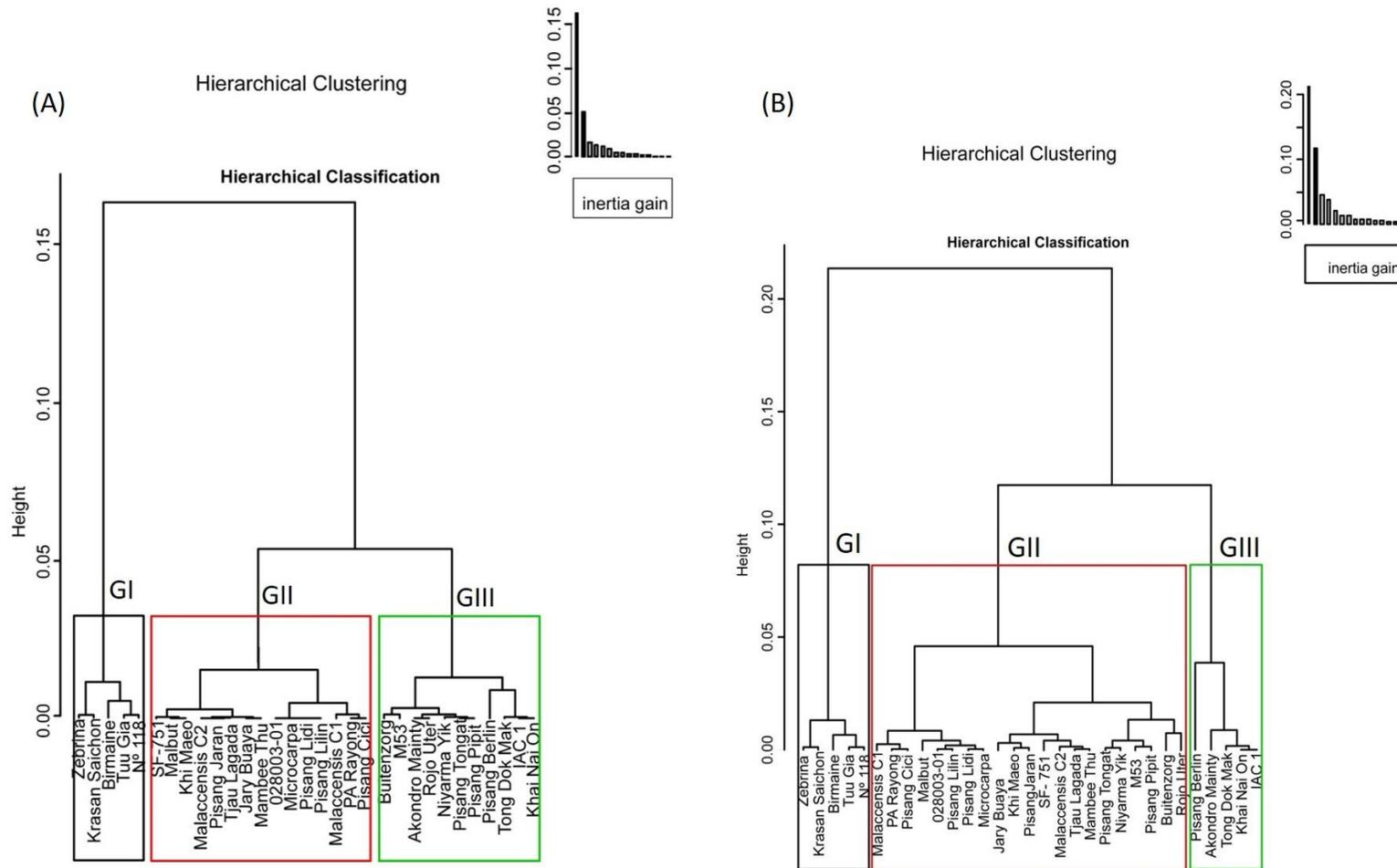


Figura 1: Análise de agrupamento hierárquico entre acessos diploides de bananeira fenotipados quanto o comportamento na presença da Sigatoka-negra. (A): com base na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e no índice de severidade da doença (ID); (B) com base na AACPD, ID e no aumento de ID (AID). GI: resistentes; GII: moderadamente resistentes; GIII: suscetíveis. Embrapa 2019.

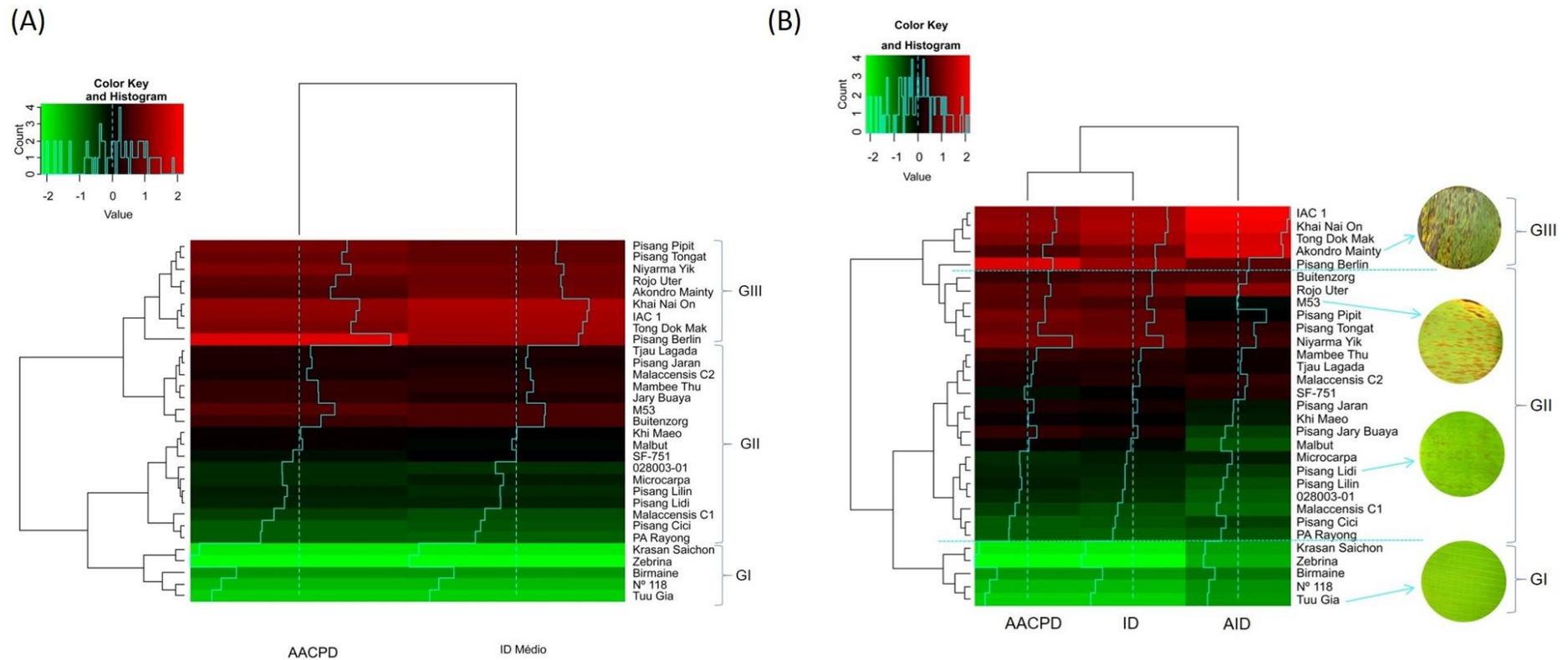


Figura 2. Análise de agrupamento hierárquico entre acessos diploides AA de bananeira fenotipados quanto o comportamento na presença da Sigatoka-negra. (A) com base na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e no índice de severidade da doença (ID); (B) com base na AACPD, no ID e no aumento do ID (AID). GI: resistentes, GII: moderadamente resistentes, GIII: suscetíveis. Embrapa 2019.

Tabela 2. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), índice de severidade da doença (ID) e aumento de ID (AID) entre acessos diploides de bananeira pertencentes a coleção de germoplasma de bananas e plátanos da Embrapa fenotipados na presença da Sigatoka-negra. Embrapa 2019.

Genótipos	AACPD	ID (%)	AID (%)	NR
Pisang Berlin	1089,19	73,88	12,07	S
IAC 1	899,654	77,46	19,87	S
Khai Nai On	917,82	78,34	19,22	S
Tong Dok Mak	871,52	75,70	17,89	S
Akondro Mainty	763,28	66,71	18,31	S
Niyarma Yik	872,97	67,48	10,52	MR
Pisang Tongat	824,65	63,84	9,94	MR
Pisang Pipit	852,84	64,32	8,08	MR
M53	784,49	59,44	7,70	MR
Rojo Uter	789,17	66,17	14,50	MR
Buitenzorg	710,81	59,01	11,62	MR
Mambée Thu	695,38	54,21	8,75	MR
Tjau Lagada	653,80	51,80	8,53	MR
Malaccensis 2	634,68	53,08	10,10	MR
SF-751	558,32	46,76	9,57	MR
Pisang Jaran	661,86	50,96	6,94	MR
Khi Maeo	600,90	46,93	6,78	MR
Pisang Jari Buaya	698,16	51,39	5,03	MR
Malbut	610,09	45,03	4,10	MR
Microcarpa	503,37	41,29	6,64	MR
Pisang Lidi	512,28	39,97	5,50	MR
Pisang Lilin	527,17	39,72	4,53	MR
028003-01	500,73	37,62	3,93	MR
Malaccensis 1	455,61	33,24	3,08	MR
Pisang Cici	391,52	31,23	5,20	MR
PA Rayong	383,72	29,12	4,05	MR
Krasan Saichon	53,87	4,48	0,45	R
Zebrina	5,12	0,40	0,04	R
Birmanie	252,80	19,79	2,61	R
Nº 118	170,85	13,18	1,28	R
Tuu Gia	118,97	9,33	0,97	R

NR: nível de resistência à Sigatoka-negra; S: suscetível; MR: moderadamente resistente; R: resistente.

Tabela 3. Agrupamento de médias para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), índice de severidade da doença (ID) e aumento de ID (AID) e índice de seleção (IS) entre acessos diploides de bananeira pertencentes a coleção de germoplasma de bananas e plátanos da Embrapa, classificados como moderadamente resistentes à Sigatoka-negra. Embrapa 2019.

Genótipos	AACPD	ID	AID	IS
Rojo Uter	789,17 a	66,17 a	14,50 a	170
Pisang Tongat	824,65 a	63,84 a	9,94 c	150
Niyarma Yik	872,97 a	67,48 a	10,52 c	150
Pisang Pipit	852,84 a	64,32 a	8,08 d	140
Buitenzorg	710,81 b	59,01 b	11,62 b	140
M53	784,49 a	59,44 b	7,70 d	130
Malaccensis 2	634,68 b	53,08 c	10,10 c	120
Tjau Lagada	653,80 b	51,80 c	8,53 d	110
Mambee Thu	695,38 b	54,21 c	8,75 d	110
SF- 751	558,32 c	46,76 d	9,57 c	100
Pisang Jaran	661,86 b	50,96 c	6,94 e	100
Jari Buaya	698,16 b	51,39 c	5,03 f	90
Khi Maeo	600,90 c	46,93 d	6,78 e	80
Pisang Lidi	512,28 c	39,97 e	5,50 e	70
Microcarpa	503,37 c	41,29 e	6,64 e	70
Pisang Lilin	527,17 c	39,72 e	4,53 f	60
Malbut	610,09 c	45,03 d	4,10 g	60
028003-01	500,73 c	37,62 e	3,93 g	50
Pisang Cici	391,52 d	31,23 f	5,20 f	40
PA Rayong	383,72 d	29,12 f	4,05 g	30
Malaccensis 1	455,61 d	33,24 f	3,08 g	30

Médias com a mesma letra, na coluna, formam agrupamentos com base no método de Scott e Knott, a 5% de probabilidade.