

## CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DE MUTANTES DE BANANEIRA 'PACOVAN'

Rosa Karla Nogueira Pestana<sup>1</sup>; Edson Perito Amorim<sup>2</sup>; Cláudia Fortes Ferreira<sup>2</sup>; Vanusia Batista de Oliveira Amorim<sup>2</sup>; Larissa Santos Oliveira<sup>3</sup>; Carlos Alberto da Silva Ledo<sup>2</sup>; Sebastião de Oliveira e Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MSc. em Recursos Genéticos Vegetais. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua Rui Barbosa s/nº. CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. Email: [karlapestana6@yahoo.com.br](mailto:karlapestana6@yahoo.com.br).

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa s/nº. CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. E-mail: [edson@cnpmf.embrapa.br](mailto:edson@cnpmf.embrapa.br).

<sup>3</sup> Estudante de graduação. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua Rui Barbosa s/nº. CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

### INTRODUÇÃO

A indução de mutação por raios gama, juntamente com as técnicas de cultivo *in vitro*, constitui uma ferramenta para os programas de melhoramento visando à redução do porte em bananeira. Essa técnica de mutação induzida tem como objetivo promover o melhoramento de uma única característica governada por um ou poucos genes, conservando as outras características do fenótipo original.

Os ISSRs (*Inter Simple Sequence Repeats*) são marcadores dominantes e reproduzíveis, com a vantagem de gerar grandes quantidades de bandas, sendo amplamente distribuídos ao longo do genoma de eucariontes (FANG & ROOSE, 1997). O objetivo deste trabalho foi selecionar mutantes putativos com porte reduzido da cultivar Pacovan submetida a irradiação com raios gama e estimar a variabilidade genética mediante a utilização de marcadores moleculares ISSR.

### MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, 179 plantas de bananeira da cultivar Pacovan, provenientes de gemas *in vitro* irradiadas, no CENA/USP, com raios gama na dose de 20 Gy, foram avaliadas em dois ciclos de produção na Embrapa/CNPMF, juntamente com outras 36 testemunhas, quanto as seguintes características agronômicas: número de dias do plantio ao florescimento, do plantio à colheita e 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 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. Posteriormente, as plantas irradiadas foram submetidas a uma etapa de seleção visando selecionar 10% das melhores classificadas quanto aos caracteres: menor altura de planta, maior peso do cacho e menor número de dias do plantio à floração.

Para a análise molecular, foram amostrados setenta e cinco mutantes putativos no final das avaliações, utilizando como critério, amostrar plantas que apresentassem menor altura e bom cacho. As plantas amostradas foram denominadas de Pacovan seguido do número da amostra. O DNA genômico foi extraído de folhas jovens, utilizando o método CTAB. Após extração e quantificação, o DNA foi amplificado com 19 primers ISSR. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 2,0%. Informações sobre os primers ISSR e as suas respectivas seqüências, temperaturas de anelamento (Ta) e número total de bandas (NTB) podem ser obtidas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Iniciadores ISSR utilizados na amplificação de mutantes de bananeira ‘Pacovan’, com suas respectivas seqüências, temperaturas de anelamento (Ta) e número total de bandas (NTB).

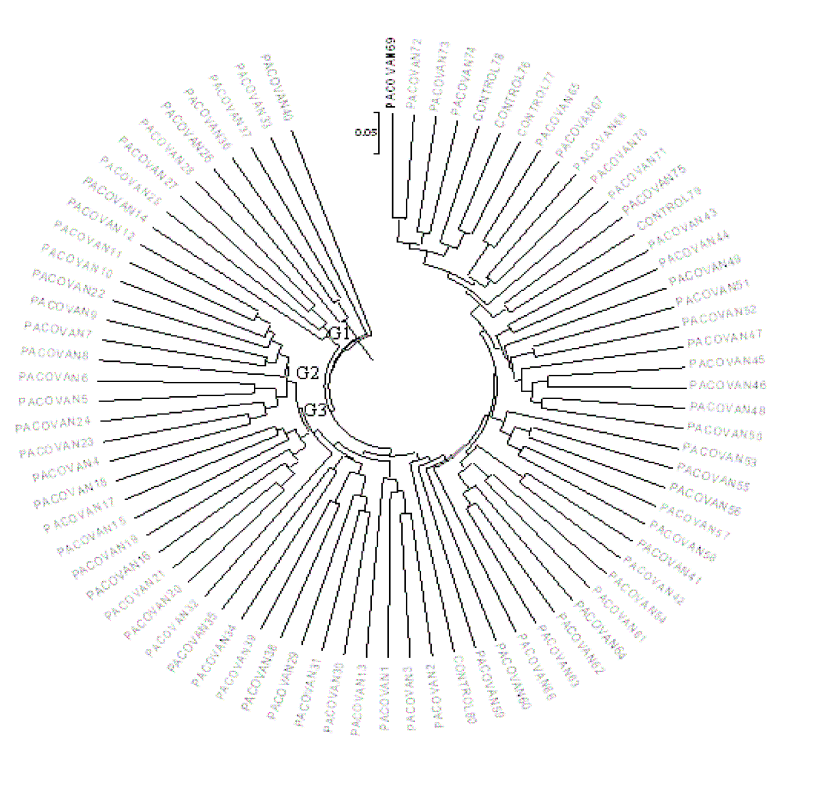
Primer	Seqüência <sup>1</sup>	Ta	NTB	Primer	Seqüência <sup>1</sup>	Ta	NTB
DiGA3’C	(GA)8C	48	12	TriAAG3’RC	(AAG)5RC	48	15
DiGA3’RC	(GA)8RC	48	12	TriTGA3’RC	(TGA)5RC	48	14
TriGTA3’RC	(GTA)5RC	48	12	TriCAA3’RC	(CAA)5RC	48	13
DiGT3’RG	(GT)8RG	48	6	TriCTG3’RC	(CTG)5RC	48	11
TriTAG3’RC	(TAG)5RC	48	12	TriTGC3’RC	(TGC)5RC	48	06
TriTGG3’RC	(TGG)5RC	48	11	TriGAG3’RC	(GAG)5RC	48	05
TriCTC3’RC	(CTC)5RC	48	8	TriTTC3’RC	(TTC)5RC	48	05
TriGAT3’RC	(GAT)5RC	48	9	DiGT3’A	A(GT)8	48	05
TriAGA3’RC	(AGA)5RC	48	10	DiGT5’CY	CY(GT)8	48	10
TriCAG5’CR	CR(CAG)5	48	10				

Seqüência do primer ISSR<sup>1</sup>: R: A, G; Y: C, T

Os dados agronômicos e moleculares foram submetidos a análise do algoritmo de Ward-WLM (Franco et al., 1998) e agrupadas utilizando metodologia de MLM–Software SAS (SAS Institute, 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variabilidade genética dos setenta e cinco mutantes putativos da cultivar Pacovan e 5 plantas controles foi analisada com base em 21 características quantitativas, seis multicategóricas e 186 bandas oriundas de 19 marcadores ISSR usando metodologia de Ward-MLM (Franco et al. 1998) (Figura 1).



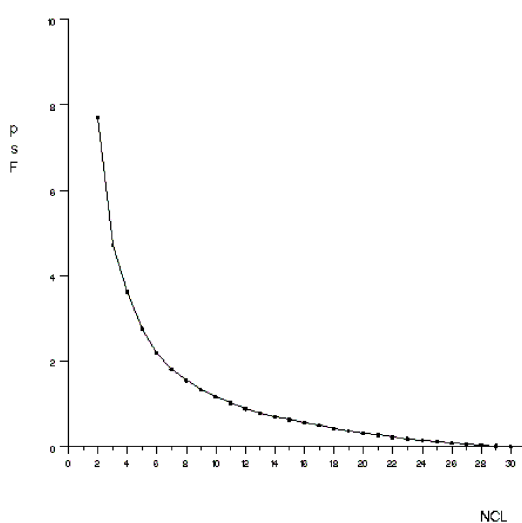
**Figura 1.** Dendrograma construído com 75 mutantes putativos de 'Pacovan' e cinco controles com 21 características quantitativas, seis multicategóricas e 186 dados binários (marcadores ISSR) pelo algoritmo de Gower. O dendrograma foi construído usando o método UPGMA e o software MEGA-4.

A distância entre as plantas mutantes de Pacovan variou 0,26-0,64, com média de 0,459 e coeficiente de correlação cofenética de 0,7669 \*\*. Os mutantes de 'Pacovan' mais próximos foram as plantas Pacovan 65 e Pacovan 67, com 0,26 de distância genética e os mais divergentes foram Pacovan 26 e Pacovan 2, com 0,64. Quatro plantas mutantes de 'Pacovan' (planta 28, 35, 38 e 40) foram selecionadas entre os 10% melhores classificadas. A altura das quatro plantas selecionadas entre os 75 avaliados foi menor do que a média dos controles. A menor altura foi observada na planta 40, com uma diferença de 0,56 cm em relação ao controle. Adicionalmente, esse mutante foi o mais precoce para emissão da inflorescência (44 dias inferior ao controle) e também apresentou maior peso do cacho.

Nas análises com ISSR foram obtidas um total de 186 bandas, das quais 110 foram polimórficas, com média de 9,8 bandas por primer. O maior número de bandas foi

identificado pelo primer TriAAG3'RC (15 bandas) e o menor pelos primers TriGAG3'RC, TriTTC3'RC e DiGT3'A (5 bandas).

O teste de PSF (Pseudo-F Statistic) para a seleção do ponto de corte para a formação do agrupamento é apresentado na Figura 2. Os critérios do pseudo-F e pseudo-t2 mostraram que o número ideal de grupos está entre 2-3. Adotando a formação de três grupos, com uma queda de 9,407-2,660 pontos pelo Ward-MLM valor de corte, observa-se que a menor distância entre os controles foi de 0,38. Em relação aos quatro mutantes selecionados, Pacovan 28 e 40 foram colocados no mesmo grupo (G1) e Pacovan 35 e 38 foram colocados no grupo G3.



**Figura 2.** Critérios do Pseudo-F e Pseudo-t2 com o número ideal de grupos (2-3), utilizando a metodologia de Ward-MLM–Software SAS (SAS Institute, 2001).

## CONCLUSÃO

Os resultados mostram que entre os mutantes putativos existe variabilidade genética que pode ser usada no programa de melhoramento de bananeira visando à obtenção de plantas com menor porte, precoce e de alta produtividade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FANG, D.Q, ROOSE, M.L (1997) Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 408-417.
- FRANCO, J; CROSSA, J; VILLASENÏR, J; TABA S; EBERHART, SA (1998) Classifying genetic resources by categorical and continuous variables. *Crop Sci* 38: 1688-1696.
- SAS Institute Inc. (2001) SASs user's guide: statistics. SAS Institute, Cary, North Carolina.