

**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**

**COMPORTAMENTO AGRONÔMICO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE
BANANEIRA EM ÁREA INFESTADA COM MAL-DO-PANAMÁ (*Fusarium
oxysporum* f.sp. *cubense*) E ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE POR
MEIO DE MARCADORES SSR.**

TAMYRES AMORIM REBOUÇAS

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
MAIO – 2015**

**COMPORTAMENTO AGRONÔMICO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE
BANANEIRA EM ÁREA INFESTADA COM MAL-DO-PANAMÁ (*Fusarium
Oxysporum f.sp. cubense*) E ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE POR
MEIO DE MARCADORES SSR.**

TAMYRES AMORIM REBOUÇAS

Engenheira Agrônoma
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2012

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

**Orientador: Prof. Dr. Edson Perito Amorim
Co-orientadora: Dra. Cláudia Fortes Ferreira
Co-orientador: Dr. Fernando Haddad**

FICHA CATALOGRÁFICA

R292 Rebouças, Tamyres Amorim.

Comportamento agrônômico de diferentes genótipos de bananeira em área infestada com Mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense*) e estimativa da variabilidade por meio de marcadores SSR / Tamyres Amorim Rebouças. – Cruz das Almas, BA., 2015.
68 f. il.; 30 cm.

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

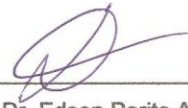
Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)-
Universidade Federal da Bahia do Recôncavo da Bahia, 2015.

1. Banana. 2. Doença de planta. 3. Mal do Panamá. I. Amorim, Edson Perito. II. Ferreira, Cláudia Fortes. III. Haddad, Fernando IV. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia V. Título.

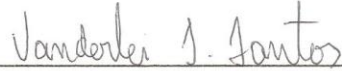
CDD: 634.772 (21.ed.)

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

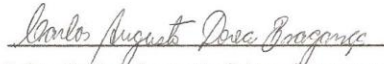
COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
TAMYRES AMORIM REBOUÇAS



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



Dr. Vanderlei da Silva Santos
Embrapa Mandioca e Fruticultura



Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Recursos
Genéticos Vegetais em.....Conferindo o grau de
Mestre em Recursos Genéticos Vegetais em

Dedico

A minha avó Eurides Batista do Amorim, mulher guerreira que sempre me ensinou a lutar por meus objetivos, seu apoio foi fundamental para a concretização desta etapa em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao soberano DEUS, que em seu infinito amor tem me honrado, a te Senhor toda minha gratidão, louvor e adoração, te amo meu Pai.

Agradeço aos meus pais Hamilton e Bernadete pelo amor, compreensão e dedicação. Por me mostrar que o amor sempre é a melhor escolha. E aos meus irmãos (Tamaiara, Taize, Matheus e Cauã) que são minha fonte de inspiração amo muito vocês.

A meu esposo (Marcio Rebouças), pelo apoio nos momentos difíceis, dedicação, companheirismo e pela promessa de amor. A família Rebouças pelo incentivo.

À minha família em especial minhas tias Noemia, Ana, Alaíde e a minha Avó Eurides, que sempre, torceram por minha felicidade e sempre apoiaram meus estudos.

Ao Dr. Edson Perito Amorim pela orientação, oportunidade, ensinamentos e conselhos compartilhados, pela confiança depositada contribuindo para o meu crescimento profissional.

Aos meus co-orientadores Dr. Fernando Haddad e Dra. Claudia Fortes, por compartilhar o seu saber, contribuindo para a minha formação acadêmica.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo apoio institucional e por permitir a realização do trabalho em seus laboratórios onde tive a ajuda de importantes profissionais como: Sinésio, Bizunga, Rafael, Jorge, Magalhães, Teles, Paulo, Leandro, Tânia, Fabiana, Andressa, Vanderson á Sr. Raimundo.

Aos amigos que torcem por mim, em especial a minhas amigas de caminhada Daniela, Sandy e Eline, pelas emoções vividas, convívio e amizade vocês tornam meus dias mais felizes.

Paulo e Kátia pela ajuda e ensinamentos no Laboratório de Biologia Molecular. Ao Prof. Carlos Bragança, Lindineia Rios e a galera de fitopatologia pela imensa ajudar nos trabalhos. Ao pessoal do campo pela ajuda nas atividades em especial a Marcos e Daniel.

A Rafaela, Lorena e Zalmar pelas experiências compartilhada e amizade, aos estudantes de iniciação científica Leandro Ferreira e Sara Helem.

A meus primos Fabricio, Manuela, Wilson e Mauricio pela convivência e incentivo sempre.

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pela oportunidade de realização do curso que me transformou em uma nova profissional.

OBRIGADA POR TUDO.

SUMÁRIO

Resumo	
Abstract	
Introdução geral	01
Referências bibliográficas	07
Capítulo I	11
Resumo	12
Abstract	13
Introdução	14
Material e Métodos	15
Resultados e Discussões	17
Conclusões	22
Referências bibliográficas	23
Capítulo II	37
Resumo	38
Abstract	39
Introdução	40
Material e Métodos	41
Resultados e Discussões	44
Conclusões	47
Referências bibliográficas	48
Considerações finais	58

COMPORTAMENTO AGRONÔMICO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE BANANEIRA EM ÁREA INFESTADA COM MAL-DO-PANAMÁ (*FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP. *CUBENSE*) E ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE POR MEIO DE MARCADORES SSR.

Autora: Tamyres Amorim Rebouças

Orientadora: Dr. Edson Perito Amorim

Coorientadora: Dra. Cláudia Fortes Ferreira

Coorientador: Dr. Fernando Haddad

RESUMO: Os objetivos do presente trabalho foram identificar genótipos resistentes ao mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* – Foc) na coleção de germoplasma de bananeira da Embrapa, assim como quantificar a variabilidade genética dos mesmos, a partir de marcadores moleculares do tipo SSR. Foram avaliados 11 genótipos em área artificialmente infestada com Foc, 19 genótipos em casa de vegetação e 26 a partir de marcadores SSR, incluindo diploides selvagens e cultivados, tri- e tetraploides. Foram mensuradas cinco características agronômicas e a incidência do mal-do-Panamá, a partir da expressão dos sintomas internos e externos da doença, estimando-se o índice de intensidade da doença (ID) e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). A similaridade genética entre todos os 26 genótipos foi calculada a partir do coeficiente de Nei e Li e o agrupamento dos genótipos foi realizado pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Averages*). O ID em campo variou de 0,00 % a 94,00 % entre os genótipos analisados. Os dados de casa de vegetação, obtidos a partir da estimativa da AACPD e do ID, permitiram a formação de três grupos: O G1 (suscetíveis) composto por 'Maçã' e 'Maçã 159'; o G2 (modernamente resistentes) por 'Princesa', 'Tropical' e o mutante 'Maçã 150', todos do tipo Maçã; e G3 (resistentes), com 'Birmanie' e 'Pisang Jaran'. A correlação entre os dados de campo e de casa de vegetação, obtidos a partir da análise dos genótipos em comum nas duas avaliações foi de 0,97 ($p \leq 0,001$), fato que demonstra alta associação. O número de alelos obtidos foi 105, com média de 3,38 alelos por primer. A partir dos resultados de campo e casa de vegetação percebe-se que há comportamento diferenciado entre os genótipos quanto à resistência ou suscetibilidade a Foc. Com base nos resultados moleculares com SSR, se observou que alguns genótipos apresentaram alta variabilidade genética o que torna possível planejar cruzamentos, principalmente utilizando os diploides selvagens considerados resistentes no presente trabalho.

Palavras-chave: melhoramento genético, marcadores moleculares, *Fusarium*.

AGRONOMICAL BEHAVIOR OF DIFFERENT BANANA GENOTYPES IN AREA INFESTED WITH PANAMA DISEASE (*Fusarium Oxysporum* f.sp. *cubense*) AND GENETIC VARIABILITY USING SSR MARKERS.

Author: Tamyres Amorim Rebouças

Advisor: Dr. Edson Perito Amorim

Co-advisor: Dra. Cláudia Fortes Ferreira

Co-advisor: Dr. Fernando Haddad

ABSTRACT: The objectives of the present work were to identify genotypes resistant to Panama disease (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* – Foc) in the banana germplasm collection at Embrapa, as well as to quantify the genetic variability using SSR markers. Eleven genotypes were evaluated in an area artificially infested with Foc, 19 genotypes under greenhouse conditions and 26 using SSR markers, including wild and cultivated diploids and tri- and tetraploids. Five agronomic characteristics were measured as well as the incidence of Panama disease based on internal and external symptoms of the disease estimated by disease intensity index (DI) and area under disease progress curve (AUDPC). Genetic similarity between all 26 genotypes was calculated using the Nei & Li coefficient and clustering using UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). The DI varied from 0.00% to 94%. Greenhouse data, obtained by the AUDPC and DI separated the genotypes into three main groups: G1 (susceptible) - 'Maçã' and 'Maçã 159'; G2 (moderately resistant) - 'Princesa', 'Tropical' and the 'Maçã 150' mutant, all Maçã types, and G3 (resistant) - 'Birmanie' and 'Pisang Jaran'. Correlation between field and greenhouse data obtained by the analysis of the common genotypes for both evaluations was high, 0.97, and significant ($p \leq 0,001$), demonstrating high association. The number of alleles was 105, with an average of 3.38 alleles/primer. Given the field and greenhouse data, results show a differentiated behavior between the genotypes as to Foc resistance and susceptibility. Based on the SSR markers, some genotypes presented greater genetic variability, which will allow new crosses, especially using wild diploids considered resistant in this present work.

Key-words: plant breeding, molecular markers, *Fusarium*.

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o quinto produtor mundial de banana, tendo produzido aproximadamente 7,2 milhões de toneladas em 2013, em uma área aproximada de 539 mil hectares (FAO, 2015). Em todas as regiões geográficas do País a bananeira é cultivada, possuindo elevada importância social e econômica, por seu valor nutricional, pela fixação de mão-de-obra no meio rural e por gerar divisas para o País (GOMES et al., 2004).

Assim como em outras espécies agrícolas, a bananeira é atacada por diversos fitopatógenos, entre os quais fungos, nematoides e insetos. Os fungos de maior importância são os agentes causais da Sigatoka-amarela (*Mycosphaerella musicola*, Leach), Sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet) e mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*). O nematóide que tem causado maiores danos à bananicultura é o *Radopholus similis*, e entre os insetos praga a broca-do-rizoma (*Cosmopolites sordidus*) é considerada mais importante nas regiões produtoras brasileiras.

As cultivares de bananeira mais usadas no Brasil ('Prata', 'Pacovan', 'Maçã', 'Grande Naine' e 'Terra Maranhão') são muito suscetíveis à Sigatoka-negra, à exceção da 'Terra Maranhão', 'Maçã' e 'Grande Naine' são também, suscetíveis à Sigatoka-amarela. Com relação ao mal-do-Panamá, as cultivares 'Grande Naine' e 'Terra Maranhão', são resistentes, a 'Maçã' é altamente suscetível e as demais cultivares são medianamente suscetíveis.

Entre as doenças fúngicas que atacam a cultura da bananeira, o mal-do-Panamá, causado pelo fungo de solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, é um dos problemas fitossanitários mais importantes, provocando perdas consideráveis na produção, devido ao seu grande potencial destrutivo e pela dificuldade de aplicação de medidas de controle, podendo atingir até 100 % de perdas quando em alta infestação (NOGUEIRA, 2002; KUPPER, 2005).

Primeiramente essa doença foi relatada na Austrália, em 1874, quando foi descrito os sintomas de murcha na cultivar 'Maçã' (AAB). Posteriormente, a ocorrência da doença foi constatada no Panamá e na Costa Rica, em 1980, sendo posteriormente disseminada para todos os países da América Latina e Caribe (WARDLAW, 1972; STOVER, 1993). Em 1904, foram relatados os

primeiros prejuízos no Panamá, sendo esta à provável razão do nome 'mal-do-Panamá' (CORDEIRO e MATOS, 2003).

No Brasil, a doença foi observada pela primeira vez em 1930, na cidade de Piracicaba (SP), onde em apenas quatro anos dizimou cerca de um milhão de plantas de banana 'Maçã' (CORDEIRO et al., 2005; NOGUEIRA, 2002).

A variabilidade do fungo é representada por quatro raças fisiológicas, sendo que a raça 1 é responsável pela infecção das variedades do subgrupo 'Gross Michel'; a raça 2 ataca o subgrupo 'Bluggoe'; a raça 3 é específica das 'Heliconias spp.' e a raça 4 tem potencial de causar danos, inclusive, em cultivares do subgrupo 'Cavendish' (CORDEIRO et al., 2005; PLOETZ, 2006). A raça 4 foi subdividida em subtropical e tropical, visando diferenciar populações que afetam Cavendish em condições subtropicais ou tropicais, respectivamente (PLOETZ, 1990). A raça 4 tropical (RT4), foi descrita no início da década de 1990 no Sul da Ásia, onde tem se disseminado rapidamente, causando severos danos e inviabilizando o plantio de banana nos locais afetados. Embora ainda restrita, a RT4 é considerada atualmente a maior ameaça à bananicultura mundial, pois as grandes empresas exportadoras produzem variedades do subgrupo 'Cavendish', que são resistentes às raças 1 e 2, mas altamente suscetíveis a RT4. Uma vez a raça 4 estabelecida nas Américas, a produção de banana será bastante afetada, pois não existem cultivares que substituam as 'Cavendish' (CORDEIRO et al., 2005; PLOETZ, 2006). No caso brasileiro, a RT4 também poderá trazer sérios prejuízos a bananicultura, considerando que as principais cultivares utilizadas pelos agricultores 'Prata-Anã', 'Maçã', e 'Pacovan' são suscetíveis ao patógeno.

A infecção das plantas pelo fungo inicia-se com a penetração nas raízes secundárias ou terciárias, ascendendo por meio do xilema, onde ocorre abundante esporulação atingindo o rizoma e pseudocaule. Os sintomas internos são observados com pontuações pardo-avermelhadas no rizoma em todo cilindro central e ao se cortar transversalmente o pseudocaule. Essa característica deve-se ao acúmulo e a oxidação da dopamina na presença do patógeno. O sintoma externo característico é o amarelecimento do limbo das folhas mais velhas em direção as mais novas, partindo dos bordos em direção à nervura principal. Com o progresso da doença as folhas murcham, secam e ocorre a quebra do pecíolo

junto à inserção do pseudocaule conferindo um aspecto de 'guarda-chuva' (CORDEIRO et al., 2005; KUPPER, 2005; PLOETZ, 2006).

Por ser causada por um fungo de solo o fungo, mesmo na ausência da cultura, sobrevive por prolongados períodos, o que torna difícil o seu controle, sendo considerada como o problema fitopatológico mais importante da bananeira na atualidade (PLOETZ, 2015).

A busca por cultivares resistentes, a partir de programas de melhoramento, é considerada o meio mais eficiente para o controle dessa enfermidade (AMORIM et al., 2013). Vale ressaltar que uma cultivar resistente pode induzir a um aumento de produtividade e um menor custo de produção em função do baixo emprego de defensivos agrícolas, assim como pela redução de gastos com o manejo da cultura; além de proporcionar melhoria na qualidade dos frutos, aumentando, conseqüentemente, a renda líquida do produtor e preservando a saúde dos consumidores e do ambiente.

Várias iniciativas de melhoramento encontram-se em andamento desde 1920 em sete centros de pesquisa distribuídos pelo mundo: a *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; *Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement* (CIRAD), na França e Embrapa Mandioca e Fruticultura, no Brasil. Dentre esses programas o da Embrapa é provavelmente o que tem dispensado maior tempo no desenvolvimento de cultivares resistentes ao mal-do-Panamá.

O melhoramento genético da bananeira foi iniciado na Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA) em 1976, a partir da criação da sua coleção de germoplasma; produto de coletas nacionais e internacionais. Esse programa desenvolveu as seguintes cultivares por meio de hibridação: BRS Caprichosa, BRS Garantida, BRS Japira, BRS Pacovan Ken, BRS Preciosa, BRS Princesa, BRS Tropical, BRS Vitória, BRS Pioneira e BRS Platina. Cabe destacar que a maioria desses híbridos é resistente ou moderadamente resistente ao patógeno. As cultivares mais utilizadas pelos agricultores brasileiros e que ocupam aproximadamente 80% da área cultivada, 'Prata Anã' e 'Pacovan', também foram

desenvolvidas pela Embrapa (ALVES et al., 1985). Atualmente, a 'Prata-Anã' tem apresentado sérios problemas com Foc nos principais polos de produção de banana no Brasil, fazendo com que parte expressiva da produção seja perdida. Da mesma forma, a cultivar 'Maçã' tem sido dizimada no país devido à elevada suscetibilidade ao mal-do-Panamá.

Para o sucesso de um programa de melhoramento, a identificação de genótipos resistentes ao mal-do-Panamá é de interesse e estratégias de avaliação quanto ao comportamento frente a presença do patógeno são fundamentais. A Embrapa faz uso de duas estratégias básicas para identificar genótipos resistentes: a primeira diz respeito a avaliação em área artificialmente infestada com Foc e a segunda, utiliza a inoculação de esporos do fungo em mudas micropropagadas em casa de vegetação (DITA et. al., 2011).

Na literatura são encontrados trabalhos avaliando o comportamento de genótipos de bananeira quanto a resistência ao mal-do-Panamá em condições de campo.

Silva et al. (2011), avaliaram 15 tetraploides de bananeira em área infestada com Foc e verificaram que oito desses apresentaram resistência ao mal-do-Panamá. Silva et al. (2012) em seus estudos com sete genótipos diploides observaram que o patógeno não foi capaz de causar infecção no híbrido diploide 001016-10, tanto no primeiro, quanto no segundo ciclos de avaliação.

RODRIGUES et al. (2014) avaliando a incidência de mal-do-Panamá em bananeira tipo 'Pacovan' constataram que o híbrido 'PV79-34', desenvolvido pela Embrapa, foi o mais suscetível a doença. Lopes et al. (2014) avaliaram 13 plantas da cultivar 'Prata-Anã' identificadas no perímetro irrigado do Jaíba, no norte de Minas Gerais, como possivelmente resistentes ao mal-do-Panamá. Os autores relatam que três desses possíveis mutantes apresentaram comportamento tolerante ao patógeno.

Somando-se à caracterização dos genótipos quanto ao comportamento em relação ao mal-do-Panamá, os marcadores de DNA também são uma excelente ferramenta para o melhorista. Esses marcadores são úteis na escolha de parentais para cruzamentos; na quantificação da variabilidade disponível; na seleção assistida por marcadores e no mapeamento de genes de interesse. Alguns marcadores moleculares, em especial aqueles associados com métodos

baseados em PCR (*Polymerase Chain Reaction*), incluindo AFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) e ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) têm sido utilizados para caracterizar genótipos/acessos de banana.

Dentre todos os marcadores moleculares disponíveis, os microssatélites têm sido preferidos, principalmente em função da codominância, do elevado polimorfismo e da possibilidade de se utilizar primers locos-específicos (YANG e ZHONG, 2008). Além disso, é um marcador de natureza multialélica e amplamente distribuído no genoma (BORÉM e CAIXETA, 2009).

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos utilizando marcadores SSR na cultura da bananeira com o intuito de estimar a divergência genética; investigar as linhagens de acessos diploides e triploides, e comparar os padrões alélicos entre e dentro dos principais subgrupos (AMORIM et al., 2008; JESUS et al., 2009; MATTOS et al., 2010; HIPPOLYTE et al., 2012). Essa técnica tem demonstrado ser indicada para bananeira, em razão de sua elevada reprodutibilidade e facilidade de interpretação (NING et al., 2007).

Amorim et al., (2008) quantificaram a variabilidade genética entre 38 diploides, incluindo melhorados, cultivados e selvagens. Desses diploides, 26 foram desenvolvidos pelo programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura e são utilizados como doadores de pólen na obtenção de cultivares tri- e tetraploides. A análise de grupos, com base no polimorfismo de microssatélites, não pode separar completamente os híbridos melhorados, cultivados e selvagens. Alguns diploides agruparam-se com base em sua origem geográfica, entre eles 'Musa ornata' e 'IAC-1', e 'Tjau Lagada' e 'Lidi', enquanto que, em outros, nenhuma relação foi estabelecida. Houve tendência de agrupamento entre os diploides com parentais em comum.

Uma investigação sobre a diversidade genética entre 11 diploides melhorados de bananeira, por meio de nove características agronômicas e 16 marcadores microssatélites, foi implementada na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (AMORIM et al., 2009). Os autores conseguiram atestar a existência de variabilidade genética suficiente para o desenvolvimento de novos diploides com características desejáveis. Em contrapartida, não encontraram

concordância entre os agrupamentos formados com base nos caracteres agronômicos e moleculares. Por outro lado, Jesus et al., (2009) trabalhando com bananeira, observaram que os marcadores SSR apresentaram comportamento semelhante ao agrupamento dos descritores morfológicos de alguns genótipos.

Mattos et al., (2010) caracterizaram acessos de bananeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, por meio de características agronômicas, físicas e físico-químicas dos frutos e por marcadores SSR e observaram ampla variabilidade genética entre os 26 genótipos estudados.

Pereira et al. (2012) calcularam a diversidade genética de 33 diploides melhorados de bananeira, por meio de avaliações agronômicas e marcadores microssatélites. Os autores constataram a existência de variabilidade genética entre os genótipos em estudo e a eficácia dos SSRs em sua quantificação.

Diante do que foi apresentado, o presente trabalho se propõe a identificar genótipos resistentes ao mal-do-Panamá na coleção de germoplasma de bananeira da Embrapa, assim como quantificar a variabilidade genética dos mesmos, a partir de marcadores moleculares do tipo SSR. Para nosso conhecimento este é o primeiro trabalho envolvendo estudos de diversidade genética usando marcadores SSR e *screening* para resistência a essa doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E.J.; SHEPHERD, K.; FERREIRA, F.R.; Cultivares de banana caracterizadas e avaliadas no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura. **Comunicado Técnico**, Cruz das Almas - BA, p. 1-8, 1985.

AMORIM, E.P.; REIS, R.V.; SANTOS-SEREJO, J.A.; AMORIM, V.B.O.; SILVA, S.O. Variabilidade genética estimada entre diplóides de banana por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1045-1052, 2008.

AMORIM, E.P.; LESSA, L.S.; LEDO, C.A.S.; AMORIM, V.B. de O.; REIS, R.V.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SILVA, S.O. Caracterização agrônômica e molecular de genótipos diploides melhorados de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.1, p.154-161, 2009.

AMORIM, E.P; SANTOS-SEREJO, J; AMORIM, V.B.O; FERREIRA, C; SILVA, S. Banana breeding at Embrapa cassava and fruits. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 986, p.171-176, 2013.

BORÉM, L.; CAIXETA, E.T. **Marcadores Moleculares**. 2ª Edição. Viçosa, MG, 2009, p. 532 (11-12).

CORDEIRO, Z.J.M.; MATOS, A.P.; KIMATI, H. Doenças em bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed). **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p. 99-117,2005.

CORDEIRO, Z.J.M.; MATOS, A.P. Mal-do-Panamá: fim do bananal? **Cultivar Hortaliças e Frutas**, Pelotas, v.3, n.18, p. 27-30, 2003.

DITA, M.A.R.; RIBEIRO, L.R.; AMORIM, E.P.; CORDEIRO, Z.J.M.; SILVA, S.O. Metodologia para a caracterização de genótipos de bananeira quanto à resistência ao mal-do-Panamá em casa de vegetação. **Comunicado Técnico 150**. Cruz das Almas - Ba, Ed.1, p. 1-5, 2011.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org/site/340/default.aspx>>. Acesso em: 19/05/2015.

Fitossanidade Do Instituto Biológico.

RODRIGUES, V.A.F.; DONATO, S.L.; SILVA, T.S.; AMORIM, E.P. Características agronômicas e ocorrência de mal-do-panamá em bananeiras tipo Pacovan. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 2, p. 515-519, 2014.

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

HIPPOLYTE, I.; JENNY, C.; GARDES, F. BAKRY, et al. Foundation characteristics of edible Musa triploids revealed from allelic distribution of SSR markers. **Annals of Botany** v.109, p. 937–951, 2012.

JESUS, O.N.; FERREIRA, C. F. SILVA, S.O.; CÂMARA, T.R.; SOARES, T.L.; PESTANA, K.N. Characterization of recommended banana cultivars using morphological and molecular descriptors. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.9, p. 164-173, 2009.

LOPES, O.P.; MAIA, V.M.; XAVIER, A.A.; COSTA, M.D.R.; RODRIGUES, M.G.V. Diversidade genética, crescimento e produção de genótipos de bananeira 'Prata-Anã' em área com mal-do-Panamá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 4, p.924-939, 2014.

KUPPER, K.C. Mal-do-Panamá. **ANAIS XIII Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico.** p.28-31, 2005. Disponível: www.biologico.sp.gov.br. Acesso em: 20/02/2015.

MATTOS, L.A.; AMORIM, E.P.; AMORIM, V.B.O. et al. Agronomical and molecular characterization of banana germplasm. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 2, 2010.

NING, S.P.; XU, L.B.; LU, Y.; HUANG, B.Z.; GE, X.J. Genome composition and genetic diversity of Musa germplasm from China revealed by PCR-RFLP and SSR markers. **Scientia Horticulturae**, v.114, p.281-288, 2007.

NOGUEIRA, E.M.C. Principais doenças da bananeira. **ANAIS VI Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico.** p.9-20, 2002. Disponível em: www.biologico.sp.gov.br. Acesso em: 20/02/2015.

PEREIRA, V.M.; BORGES, C.V.; BRANDÃO, L.P.; OLIVEIRA, L.S.; SOUZA, C.P.F.; GONÇALVES, Z.S.; SILVA, S.O.; SANTOS-SEREJO, J.A.; FERREIRA, C.F.; AMORIM, E.P.; LEDO, C.A.S. Genetic diversity between improved banana diploids using canonical variables and the Ward-MLM method. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 47, n. 10, p 1480-1488, 2012.

PLOETZ, R.C. Variability In *Fusarium oxysporum f. sp. Cubense*. **Canadian Journal of Botany**, Montreal, v.68, n.6, p. 1357-1363, 1990.

PLOETZ, R.C. Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n 6, p.653-656, 2006.

PLOETZ, R.C. Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. **Crop Protection**, USA, p.1-9, 2015.

SILVA, S.O.E.; MATOS, A.P.; CORDEIRO, Z.J.M.; Lima, M.J.C.; AMORIM, E.P. Avaliação de genótipos tetraplóides de bananeira cultivados em área infestada pelo agente causal do mal-do-Panamá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 137-143, 2011.

SILVA, S.O.; MATOS, A. P.; CORDEIRO, Z. J. M.; AMORIM, E. P.; LIMA, M. J. C. Avaliação de diploides de bananeira em área artificialmente infestada pelo mal-do-Panamá. **Magistra**, v. 24, p. 210-216, 2012.

STOVER, R.H. Fusarium wilt of banana: Fusarium wilt of banana: some history and current status of the disease. In: PLOETZ, R.C. Fusarium wilt of banana, USA: **APS Press**, 1993.v.2, p.1-7.

YANG, B.J.; ZHONG, S.B. Fourteen polymorphic microsatellite markers for the fungal banana pathogen *Mycosphaerella fijiensis*. **Molecular Ecology Resources**, v.8, p.910-912, 2008.

WARDLAW, C.W. **Banana diseases including plantain and abaca**. Ed, 2. London: Longman, 1972.p.878.

CAPÍTULO I

IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA RESISTENTES AO MAL- DO-PANAMÁ A PARTIR DA AVALIAÇÃO EM ÁREA INFESTADA E EM CASA DE VEGETAÇÃO

IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA RESISTENTES AO MAL-DO-PANAMÁ A PARTIR DA AVALIAÇÃO EM ÁREA INFESTADA E EM CASA DE VEGETAÇÃO

RESUMO: O objetivo desse trabalho foi identificar genótipos de bananeira resistentes ao mal-do-Panamá em área artificialmente infestada com Foc e por meio da inoculação de mudas micropropagadas com esporos do fungo em casa de vegetação. No experimento de campo foram avaliados 11 genótipos e em casa de vegetação 19, incluindo diploides selvagens e cultivados, tri- e tetraploides, além da cultivar 'Maçã' utilizada como testemunha. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com dez repetições por genótipo. Para avaliação de campo foram mensuradas cinco características agrônomicas, e a incidência do mal-do-Panamá foi avaliada com base na expressão dos sintomas internos da doença. Em condições de casa de vegetação as avaliações foram realizadas com base nos sintomas externos e internos da doença. Os dados agrônomicos foram submetidos à análise de variância. A escala de notas para os sintomas internos foi transformada para índice de intensidade da doença (ID); já para os dados de casa de vegetação, foi estimada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e o índice de intensidade da doença (ID). Os resultados foram agrupados pelo método *k*-médias. Foi realizada a correlação de Pearson com base nos dados de ID de campo e de casa de vegetação. O índice de intensidade da doença (ID), variou de 0,00 % a 94,00 % entre os genótipos analisados. Com base nos dados de AACPD e ID, foi possível visualizar a formação de três agrupamentos: O G1(suscetíveis) composto por 'Maçã' e 'Maçã 159'; o G2 (modernamente resistentes) formado por 'Princesa', 'Tropical' e o mutante 'Maçã 150', todos do tipo Maçã; e G3 (resistentes), representados por 'Birmanie' e 'Pisang Jaran'. A correlação entre os dados de campo e de casa de vegetação, obtidos a partir da análise dos genótipos em comum nas duas avaliações, foi de 0,97 ($p \leq 0,001$), fato que demonstra alta associação. Pelos resultados percebe-se que há comportamento diferenciado entre os genótipos quanto a resistência ou suscetibilidade a Foc. A maioria dos genótipos testados mostrou-se resistente ou moderadamente resistente ao mal-do-Panamá, com destaque para os diploides 'Birmanie' e 'Malaccensis', que tem potencial para uso como parentais em cruzamentos com cultivares comerciais visando desenvolver genótipos resistentes a Foc.

Palavras-chave: seleção, melhoramento genético, *Fusarium*, inoculação.

IDENTIFICATION OF BANANA GENOTYPES RESISTANT TO PANAMA DISEASE BASED ON EVALUATIONS IN INFESTED AREA UNDER GREENHOUSE CONDITIONS

ABSTRACT: The objective of the present work was to identify banana genotypes resistant to Panama disease in artificially infested area with Foc and by inoculation of micropropagated plants with spores of the fungus under greenhouse conditions. In the field experiment, 11 genotypes were evaluated and under greenhouse conditions, 19, including wild and cultivated diploids and tri- and tetraploids, using the 'Maçã' cultivar as control. The experimental design was completely randomized with ten replicates per genotype. For the field evaluation, five agronomic characteristics were evaluated and the incidence of Panama disease was evaluated based on the expression of the internal symptoms of the disease. Under greenhouse conditions the evaluations were carried out based on the external and internal symptoms of the disease. Agronomic data were submitted to the analysis of variance. The scores for the internal symptoms were transformed into the disease intensity index (DI); and for the greenhouse data, the area under disease progress curve (AUDPC) and the disease intensity index (DI), were estimated. Results were clustered by the *k-means* method. Pearson correlation based on the DI data from the field and greenhouse, was calculated. The disease intensity index (DI) varied from 0.00% to 94.00% between the genotypes analyzed. Three clusters were formed based on the AUDPC and DI values: G1 (susceptible) - 'Maçã' and 'Maçã 159'; G2 (moderately resistant) - 'Princesa', 'Tropical' and the 'Maçã 150' mutant, all 'Maçã' types; G3 (resistant) – represented by 'Birmanie' and 'Pisang Jaran'. The correlation between the field and greenhouse data obtained by the analysis of the genotypes common in both evaluations was high, 0,97, and significant ($p \leq 0,001$), demonstrating high association. Results show that there is a differentiated behavior between genotypes as resistance or susceptibility to Foc. Most genotypes were resistant or moderately resistant to Panama disease, highlighting the 'Birmanie' and 'Malaccensis' diploids, which have great potential for use as parentals in crosses with commercial cultivars aiming to develop Foc resistant genotypes.

Key-words: selection, plant breeding, *Fusarium*, inoculation

INTRODUÇÃO

As bananas estão entre as mais valiosas *commodities* agrícolas. Em 2013 a produção mundial foi de aproximadamente 106 milhões de toneladas com um valor bruto de produção de aproximadamente 38 bilhões de dólares (FAOSTAT, 2015). De acordo com Ploetz (2015), a banana está entre os oito mais importantes alimentos do mundo e figura na quarta posição considerando apenas países em desenvolvimento, em especial no continente africano. O Brasil ocupa a terceira posição no cenário mundial, com aproximadamente 6,9 milhões de toneladas em 485 mil hectares plantados e valor bruto de produção de 1,7 bilhão de dólares (FAOSTAT, 2015)

O mal-do-Panamá, causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc), é considerada uma das mais destrutivas doenças que acometem a bananicultura mundial (PLOETZ, 2015). A sua origem remete ao continente asiático, em especial ao Sudeste dessa região (PLOETZ e PEGG, 1997; PLOETZ, 2007), no entanto, a mesma foi identificada pela primeira vez em outro local, especificamente na Austrália e na sequência na Costa Rica e Panamá (STOVER, 1962). Os maiores danos causados pelo patógeno foram identificados a partir de 1900, em especial afetando a bananicultura de exportação, representada pela cultivar 'Gross Michel'. Atualmente o mal-do-Panamá está presente em praticamente todas as áreas de produção de banana pelo mundo.

As cultivares utilizadas no Brasil, em especial a 'Prata-Anã' e 'Pacovan' são suscetíveis ao mal-do-Panamá, ou tem apresentado relatos crescentes de áreas acometidas pelo patógeno. Essas duas cultivares ocupam aproximadamente 60% da área cultivada com banana no Brasil. Outra cultivar preferida pelo consumidor brasileiro, a 'Maçã', está em vias de extinção devido ao alto grau de suscetibilidade. Portanto, estratégias para mitigar esse problema e alavancar o agronegócio da banana no Brasil são prementes e necessários.

Fusarium oxysporum f. sp. *ubense* é um fungo de solo que apresenta os seguintes tipos de esporos assexuais: microconídios, macroconídios e clamidósporos. Os dois primeiros são estruturas reprodutivas produzidas em condições favoráveis; já os clamidósporos são estruturas de resistência produzidas por micélios ou macroconídios (AGRIOS, 2004). Essas estruturas

favorecem a sobrevivência na ausência do hospedeiro, permitindo que o patógeno permaneça no solo por longos períodos, mesmo na ausência da bananeira (DAVIS, 2005; FERNANDES, et al., 2006).

Em função das suas peculiaridades, a melhor forma de controle para o mal-do-Panamá passa obrigatoriamente pela resistência genética, a partir da identificação de genótipos resistentes e posterior uso em cruzamentos com cultivares comerciais, a exemplo da 'Prata-Anã' e da 'Maçã', visando transferir alelos de resistência.

Diante do que foi apresentado, esse trabalho tem por objetivo identificar genótipos de bananeira resistentes ao mal-do-Panamá em área artificialmente infestada com Foc e por meio da inoculação de mudas micropropagadas com esporos do fungo, em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento de campo foi conduzido em área experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas, Ba (12°40'19"S e 39°06'22"W, 220 a cima 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, uma umidade relativa de 80% e precipitação média de 1.249,7 mm anuais (AGRITEMPO, 2015). Foram avaliados 11 genótipos incluindo diploides selvagens e cultivados, tri- e tetraploides, além da cultivar 'Maçã' utilizada como testemunha plantada circundando cada tratamento/genótipo (Tabela 1).

O local de avaliação foi artificialmente infestado com *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (FOC) mediante cultivos sucessivos de banana 'Maçã', altamente suscetível ao patógeno (CORDEIRO, et al., 1993). Essa área compõe o sistema de avaliação agrônômica de novos híbridos da Embrapa Mandioca e Fruticultura e está em uso a mais de 20 anos, especificamente para a identificação de genótipos resistentes a Foc. A fim de promover uma distribuição uniforme do inoculo, a área experimental foi arada e gradeada antes da implantação do experimento. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento, representado por uma única planta, em espaçamento de 3 m x 2 m, suplementada com irrigação por aspersão.

No florescimento foram mensuradas as seguintes características agrônômicas: altura da planta (ALP - m); diâmetro do pseudocaulo (DPC - cm); número de dias do plantio a floração (NDF); número de folhas vivas na floração (NFVF); e número de filhos na floração (NFF). A incidência do mal-do-Panamá foi avaliada com base na expressão dos sintomas internos da doença, mediante cortes transversais do rizoma e exame da descoloração vascular causada pela infecção por Foc, atribuindo-se notas conforme a escala proposta por Cordeiro et al. (1993), como segue: (1) ausência de descoloração vascular, planta sadia; (2) pontos isolados de descoloração no câmbio vascular; (3) descoloração correspondente a até 1/3 do câmbio vascular; (4) descoloração entre 1/3 e 2/3 do câmbio vascular; (5) descoloração superior a 2/3 do câmbio vascular; e (6) descoloração total do câmbio vascular. A cultivar 'Maçã' foi utilizada como padrão de suscetibilidade ao Foc e como testemunha para avaliação da doença.

Para o experimento em casa de vegetação foram testados 19 genótipos, e utilizou-se o isolado CNPMF0801 raça 1, pertencente a micoteca da Embrapa Mandioca e Fruticultura. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento. O inoculo foi produzido em sacos plásticos contendo fubá de milho e areia lavada (FA) previamente esterilizados. Discos de micélio do fungo foram semeados em FA e mantidos em câmara de crescimento a 25°C por 15 dias. Após este período, foram realizadas as inoculações com a concentração de 10^6 UFC grama⁻¹ de FA. Essa concentração foi ajustada mediante outras avaliações com concentrações diferentes, sendo a concentração de 10^6 Para a inoculação utilizou se 40 gramas por vaso, sendo que 10 gramas do inoculo foi colocado em quatro orifícios ao redor das mudas de bananeira na profundidade de aproximadamente 10 cm. O controle foi realizado mediante a inoculação de 10 g do inoculo por orifício, totalizando 40 g do inoculo de FA sem a presença do patógeno (DITA et al., 2011).

A partir do aparecimento dos sintomas externos, foi avaliada a severidade da doença, utilizando-se a escala de notas proposta por Mohamed et al. (1999), como segue: (1) sem sintomas; (2) amarelecimento inicial em folhas velhas; (3) amarelecimento de folhas velhas com descoloração inicial em folhas jovens; (4) todas as folhas com intenso amarelecimento; (5) planta morta em intervalos de três dias até 85 dias após a inoculação ou até a morte da planta. Após 85 dias da

inoculação ou na morte da planta, os genótipos foram avaliados quanto a descoloração do rizoma (sintomas internos) utilizando a escala de notas proposta por Cordeiro et. al. (1993).

Testou-se a normalidade dos dados de campo para, em seguida, proceder à análise de variância. O agrupamento dos genótipos foi realizado por meio do método de agrupamento de Scott e Knott (1974). A escala de notas para os sintomas internos foi transformada para índice de intensidade da doença (ID), de acordo com a proposta de Mckinney (1923) pela fórmula $ID = S (\text{grau da escala} \times \text{frequência}) \times 100/n^{\circ} \text{ total de unidades} \times \text{grau máximo da escala}$. A Análise de *cluster* foi realizada a partir dos valores de ID, agrupados pelo método de *k*-médias utilizando o algoritmo proposto por Hartigan e Wong (1979).

Para os dados de casa de vegetação foi estimada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) avaliadas por 85 dias com uma frequência de 11 avaliações e o índice de intensidade da doença (ID). A partir dos valores da AACPD e ID os genótipos foram agrupados pelo método *k*-médias usando o algoritmo proposto por Hartigan & Wong (1979). Foi realizada a correlação de Pearson com base nos dados de ID de campo e de casa de vegetação visando identificar uma possível associação entre os resultados.

Todas as análises estatísticas foram realizadas pelos programas estatísticos SISVAR (Ferreira, 2008) e R (*R Development Core Team*, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse trabalho foram mensuradas cinco características agronômicas, tomadas quando do início do florescimento e constatou-se que houve diferenças significativas para a fonte de variação 'genótipos' a 1% de probabilidade, indicando a existência de ampla variabilidade genética entre os mesmos (Tabela 2).

O coeficiente de variação oscilou de 7,59% para altura da planta (ALP) a 30,82 % para o número de filhos (NFF). Resultados semelhantes foram obtidos por Silva et al. (2011) e Silva et al. (2012), avaliando o comportamento de diferentes genótipos na presença de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* nas mesmas condições realizadas nesse estudo.

Por meio do teste de agrupamento de Scott e Knott percebe-se a formação de oito agrupamentos para a altura de planta (ALP), indicando ampla variabilidade genética para essa característica entre os genótipos analisados (Tabela 3). A média geral foi de 2,10 m, destacando-se o híbrido ornamental 'Royal' com 0,85 m e os diploides selvagens 'Birmanie' (1,47 m) e 'Malaccensis' (1,73 m). No outro extremo, com maiores valores, estão 'Prata Maçã' e 'Pitogo', com 2,81 m e 2,91 m, respectivamente.

Lima et al. (2009) trabalhando com o híbrido ornamental 'Royal' observaram valor médio para altura de planta semelhante ao encontrado nesse trabalho (1,05 m). Souza et al. (2012) identificaram esse genótipo como um potencial parental visando o desenvolvimento de cultivares de bananeira ornamentais. Na sequência, Santos-Serejo et al. (2012), analisaram uma progênie oriunda do cruzamento entre 'Royal' e 'Monyet' e identificaram genótipos com potencial ornamental e porte baixo, demonstrando o potencial da 'Royal' como parental masculino e a capacidade de transferir para a progênie alelos associados com a redução do porte.

De acordo com Faria et al. (2010), a altura da planta é uma variável de destaque para o melhoramento genético da bananeira, uma vez que cultivares de porte baixo proporcionam maior facilidade para o manejo do cacho, assim como reduzem as perdas pela quebra ou tombamento do pseudocaule. Dessa forma, a identificação de diploides com baixa estatura, tais como 'Birmanie' e 'Malaccensis', é fundamental para o desenvolvimento de cultivar, uma vez que esses serão utilizados como parentais masculinos em cruzamentos (AMORIM et al., 2013).

Outra característica envolvida na capacidade de sustentação do cacho é o diâmetro do pseudocaule (SILVA, 2006). Para esse caráter, houve a formação de seis grupos, com média de 14,74 cm, destacando-se 'Prata Maçã'(21,35), 'Poteau Nain'(20,36) e 'Pitogo'(20,25) (Tabela 3).

O ciclo compreendido entre o plantio e a floração (NDF) apresentou média de 245,96 dias, destacando-se os genótipos 'Royal' com 140,67 dias, seguido por 'Birmanie' com 178,60 dias (Tabela 3). Como o indicado para a altura de planta, a identificação de genótipos com maior precocidade também é alvo do melhoramento genético.

Em relação ao número de folhas vivas no florescimento (NFVF), observou-se uma média de 11,79 com a formação de quatro agrupamentos. O maior valor médio observado foi 16,00 folhas no triploide 'Abuperak', seguido por 'Princesa' e 'Pitogo' e 'Prata Maçã (Tabela 3).

Para o caráter números de filhos na floração (NFF), destacaram-se os genótipos 'Tuugia' e 'Royal', com valores médios de 7,33 e 7,00, respectivamente. Para Alves e Lima (2001), o número de filhos é uma característica a ser considerada dentro do melhoramento, uma vez que genótipos com boa emissão permitem a seleção dos melhores seguidores, ou seja, filhos bem desenvolvidos, contribuindo para a redução no intervalo entre colheitas de cachos.

Considerando apenas a análise de campo, foi estimado o índice de intensidade da doença (ID), descrito por McKinney (1923), que variou de 0,0 % a 94,0 % entre os genótipos analisados (Tabela 4). A partir desses resultados, foi realizada uma análise visando agrupar os genótipos de acordo com seu nível de resistência, permitindo-se observar a formação de três grupos distintos, suscetível (G1), moderadamente resistente (G2) e resistente (G3) (Figura 1). O G1 foi formado pela 'Maçã 159', que foi coletado em área de produtor no distrito de irrigação de Ponto Novo (BA) como sendo resistente ao mal-do-Panamá, conforme informações do proprietário do bananal, fato que não se confirmou nesse estudo. Dois genótipos com genoma ABB agruparam no G2, 'Abuperak' e 'Poteau Nain' e os outros oito genótipos, entre os quais a Princesa, de acordo com os resultados, podem ser considerados resistentes ao mal-do-Panamá. Nesse último grupo estão presentes, entre outros, os diploides 'Birmanie' e 'Tuugia' e os triploides 'Pisang Pipit' e 'Prata Maçã', que apresentaram ID=0,00 % (Tabela 4). Para o restante do grupo os valores de ID oscilaram de 2,50 a 8,89 %.

Outros trabalhos, também utilizando a mesma área artificialmente infestada com *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc), identificaram genótipos com comportamento diferenciado na presença de Foc. Silva et al. (2012) avaliando sete diploides melhorados desenvolvidos pela Embrapa Mandioca e Fruticultura em relação a intensidade dos sintomas internos de Foc, constataram que todos os diploides apresentaram resistência ao mal-do-Panamá. A avaliação de 15 tetraploides desenvolvidos pela Embrapa, incluindo híbridos de 'Pacovan', 'Prata São Tomé' e 'Prata Comum', na mesma área, permitiu a identificação de 11

genótipos resistentes, em especial aqueles oriundos do cruzamento com o diploide melhorado M53 (MATOS et al., 2011).

Visando quantificar a importância dos caracteres mensurados sobre a variabilidade genética presente entre os genótipos foi realizada uma análise de componentes principais. Por meio da Figura 2 é possível inferir que o ID foi o caráter mais importante para discriminar os genótipos, pois está mais próximo do círculo, seguido por DPC, ALP, NDF. As características NFF e NFVF foram as que menos discriminaram os tratamentos. Os dois primeiros componentes principais explicaram 87,58% da variabilidade presente entre os genótipos.

Em casa de vegetação foi realizado um estudo complementar, adicionando-se mais genótipos, em função da disponibilidade de mudas *in vitro*. Nesse estudo, 19 genótipos, incluindo di-, tri-, e tetraploides foram submetidos à inoculação com Foc. Os resultados obtidos até os 85 dias após a inoculação foram utilizados para se estimar a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), com base nos sintomas externos, e o índice de intensidade da doença (ID), considerando os sintomas internos, que são caracterizados por pontuações pardo-avermelhadas e descoloração vascular no pseudocaule e rizoma (DITA et al., 2010). Aproximadamente 30 dias após a inoculação os genótipos 'Maçã' e 'Maçã 159' começaram a apresentar os sintomas do ataque de Foc.

Na Tabela 5 estão apresentados os dados de AACPD e ID, e o correspondente nível de resistência (NR), que foi obtido após análise da Figura 3, onde é possível visualizar a formação três grupos: suscetível (G1), moderadamente resistente (G2) e resistente (G3) (Figura 3). O G1 foi composto por 'Maçã' e 'Maçã 159'; o G2 agrupou nove genótipos, incluindo 'Princesa', 'Tropical' e o mutante 'Maçã 150', todos do tipo Maçã. A 'Grande Naine' e a 'Willians', pertencente ao subgrupo Cavendish, e resistentes a Foc raça 1, corretamente agruparam no G3, em conjunto com outros seis genótipos, entre os quais os diploides 'Birmanie' e 'Pisang Jaran', que podem ser utilizados em cruzamentos visando transferir a resistência para cultivares comerciais, a exemplo da 'Prata-Anã' ou 'Maçã'.

De acordo com Vandermolen, Beckman e Rodehorst, (1987), dentre os métodos de resistência utilizados pelas plantas, o mais efetivo contra o Foc deve-se a formação de tiloses nos vasos do xilema, uma vez que em cultivares

suscetíveis, a exemplo da 'Maçã', a formação de tilose ocorre tardiamente, permitindo a colonização das raízes por Foc. Outros estudos relatam que em algumas cultivares resistentes, a formação de tilose impede a colonização do patógeno (ASCENSÃO e DUBERY, 2003). Esse composto causa alterações da parede celular, uma vez que se desenvolve a partir dos plasmodesmas, obstruindo parcialmente ou totalmente os vasos do xilema (HARPER et al., 2012).

Os resultados desse trabalho corroboram com relatos da literatura, onde 'Grande Naine' apresenta-se como resistente, e 'Princesa' e 'Tropical' como moderadamente resistentes a Foc (BORGES et al., 2011; COSTA, 2012; SONEGO et al., 2012).

Ao avaliar a cultivar 'Princesa', quanto ao comportamento em relação ao Foc em casa de vegetação, Costa et al. (2015) observaram que este genótipo apresentou elevado grau de resistência ao mal-do-Panamá, uma vez que os primeiros sintomas da doença só se manifestaram quando submetidas a altas concentrações do inoculo. No presente estudo este genótipo foi considerado como moderadamente resistente, uma vez que 30% das plantas testadas apresentaram sintomas internos após o final da avaliação, aos 85 dias (dados não apresentados). Cabe salientar que nenhuma planta morreu devido à presença do patógeno.

Considerando que sete genótipos foram avaliados tanto em condições de campo quanto de casa de vegetação, buscou-se, por meio da análise de correção de Pearson, uma possível associação entre os resultados obtidos a partir do índice de intensidade da doença (ID) mensurado nas duas condições experimentais. Em relação à inoculação dos genótipos em casa de vegetação pode se afirmar que a concentração do inoculo é maior quando comparada as condições de campo, uma vez que em ambiente controlado a incidência da doença é favorecida.

A correlação obtida entre esses resultados foi de 0,97 ($p \leq 0,001$), fato que demonstra alta associação entre os resultados. Comparando-se as Tabelas 4 e 5 é possível perceber que apenas os genótipos 'Malaccensis' e 'Princesa' apresentaram classificação diferente, considerando as avaliações dos sintomas internos em campo e em casa de vegetação. No campo, os genótipos foram considerados resistentes, enquanto que em casa de vegetação, moderadamente

resistentes. Vale destacar também que a 'Maçã 159' tida como resistente no momento da coleta em área de produtor, apresentou comportamento suscetível, tanto em campo quanto em casa de vegetação, fato que exclui a possibilidade de uma mutação da cultivar 'Maçã' no sentido de torná-la resistente a Foc. Esses resultados necessitam ser repetidos, em especial com um maior número de genótipos, de forma a validar a associação encontrada nesse trabalho.

Para Dita et al. (2011) a seleção de genótipos em condições de campo, quando realizada de forma criteriosa, pode ser considerada confiável. No entanto, essa avaliação pode se alongar por até três anos, a depender do ciclo do genótipo, em especial o intervalo entre o plantio e o florescimento. Além disso, a falta de controle sobre a distribuição do patógeno no solo, assim como condições adversas de clima, que desfavoreçam o aparecimento da doença, podem ser motivo de escape e conclusões equivocadas quanto a resistência ou suscetibilidade a Foc. Ainda, segundo os autores, a seleção em casa de vegetação traz benefícios, entre os quais um menor período para a obtenção de resultados (no presente estudo, 85 dias), fato que levará a um menor tempo para o desenvolvimento de cultivares resistentes ao patógeno.

CONCLUSÕES

A maioria dos genótipos testados mostrou-se resistente ou moderadamente resistente ao mal-do-Panamá, com destaque para os diploides 'Birmanie' e 'Malaccensis';

Houve associação alta e positiva entre os resultados de campo e casa de vegetação, fato que permite inferir sobre a possibilidade do uso da segunda estratégia como critério para selecionar genótipos resistentes a *Fusarium*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5th Edition. Academic Press, London. p. 635, 2004.

AGRITEMPO. **Agritempo**: sistema de monitoramento agrometeorológico. Disponível em: <<http://www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario>>. Acesso em: 20/05/2015.

ALVES, E.J.; LIMA, B. **Cultivo de Bananeira Tipo Terra**. Práticas culturais. 1ª Ed. Editora Embrapa, p. 60-61, 2001.

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**, The Hague, v. 986, p.171-176, 2013.

ASCENSAO, A.R.F.D.C.; DUBERY, I.A. Soluble and wall-bound phenolics polymers in *Musa acuminata* roots exposed to elicitors from *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Phytochemistry**, v.63. p.679-686, 2003.

BORGES, R.; S.; SILVA, S.O, OLIVEIRA, F.; T.; ROBERTO, S.; R. Avaliação de genótipos de bananeira no norte do estado do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 291-296, 2011.

CORDEIRO, Z.J.M.; SHEPHERD, K.; SOARES FILHO, W.S.; DANTAS, J.L.L. Avaliação de resistência ao mal-do-panamá em híbridos tetraploides de bananeira. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, n.4, p.478-483, 1993.

COSTA, V. A. **Desempenho agrônômico de cultivares de bananeira no ecótono planalto-pantanal**. 2012. 24f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual De Mato Grosso Do Sul, AQUIDAUNA – MS, 2012.

COSTA, S. N.; BRAGANÇA, C. A. D.; RIBEIRO, L. R.; AMORIM, E. P.; OLIVEIRAS, A. S.; DITA, M. A.; LARANJEIRA, F. F.; HADDAD F. Genetic structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* in different regions from Brazil. **Plant Pathology**, v.64, p.137–146, 2015.

DAVIS, R. *Fusarium* wilt (Panama disease) of banana. **Plant Protection Service**, Secretariat of the Pacific Community. Pest Advisory Leaflet, 2005.

DITA, M.A.; WAALWIJK, C.; BUDDENHAGEN, I.W.; SOUZA JR, M.T.; KEMAG, H.J. A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana *usarium* wilt pathogen. **Plant Pathology**, v.59. p.348–35, 2010.

DITA, M.A.R.; RIBEIRO, L.R.; AMORIM, E.P.; CORDEIRO, Z.J.M.; SILVA, S.O. Metodologia para a caracterização de genótipos de bananeira quanto à resistência ao mal-do-Panamá em casa de vegetação. **Comunicado Técnico 150**. Cruz das Almas - Ba, Ed.1, p.1-5, 2011.

FAOSTAT, 2015. <http://faostat.fao.org/>. Acesso em: 19/05/2015.

FARIA, H.C.; DONATO, S.L.R.; PEREIRA, M.C.T.; SILVA, S.O. Avaliação fitotécnica de bananeiras tipo terra sob irrigação em condições semiáridas. **Ciência e Agrotecnologia**, vol.34 Lavras, 2010.

FERNANDES, C.F.; COSTA, J.N.M.; HOLANDA FILHO, Z.F.; SOUZA, F.F. Doenças da Bananicultura: Mal-do-Panamá. Embrapa Rondônia, **Circular Técnica 86**, Ed.1, p. 1-3, 2006.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Pernambuco, v.6, p.36-41, 2008.

HARPER, J.C.; BENJAMIN BOMFLEUR, B.; DECOMBEIX, A. L.; EDITH L.; TAYLOR, E.L.; TAYLOR, T. N.; KRINGS, M. Tylosis formation and fungal interactions in an Early Jurassic conifer from northern Victoria Land, Antarctica. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v.175 p.25–31, 2012.

HARTIGAN J.A.; Wong M.A. Algorithm AS 136: a k-means clustering algorithm. **Applied Statistics**, v.28, p.100–8 1979.

LIMA, M.J.C; SILVA, S.O.; AMORIM E.P; CORDEIRO, Z.J.M; MATOS, A.P. Comportamento de cultivares e híbridos de bananeira em área infestada pelo agente causal do Mal-do-Panamá. In: **5º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, 2009.

MATOS, A.P.; CORDEIRO, Z.J.M.; SILVA, S.O.; AMORIM, E. P.; FERREIRA, D.M.V. Reaction of diploid (AA) and tetraploid(AAAB) banana hybrids to fusarium wilt under Field conditions. **Acta Horticulture**. v.897, p.387-390, 2011.

MCKINNEY, H.H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, p.195-217, Nov. 1923.

MOHAMED, A.A.; MAK, C.; LIEW, K.W. and Ho, Y.W. 2000. Early evaluation of banana plants at nursery stage for Fusarium wilt tolerance. p.174-185. In: A.B. Molina, N.K. Masdek and K.W. Liew (eds.), *Banana Fusarium Wilt Management: towards Sustainable Cultivation*, Proc. Int. Workshop on the Banana Fusarium Wilt Disease, Genting Highlands Resort, Malaysia, p.18-20 October 1999.

PLOETZ, R.C., PEGG, K.G. Fusarium wilt of banana and Wallace's line: was the disease originally restricted to his Indo-Malayan region? Australas. **Plant Pathology**. v.26, p. 239-249, 1997.

PLOETZ, R.C. Diseases of tropical perennial crops: challenging problems in diverse environments. **Plant Dis**. v.91, p. 644-663, 2007.

PLOETZ, R, C. Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. **Crop Protection**, USA, p.1-9, 2015.

R Development Core Team R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.12.1. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0 <http://www.R-project.org>. 2010.

SANTOS-SEREJO, J.A.; SOUZA E.H.; COSTA, M.A.P.C.; JUNIOR, D.S.C.; AMORIM, E. P.; SILVA, S.O.; SOUZA, F.V.D. Selection and Use Recommendation in Hybrids of Ornamental Banana. **Crop Science**, v.52, p. 560-567, 2012.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M.A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SILVA, S. O; PIRES, E.T; PESTANA, R.K.N.; ALVES, J.S. SILVEIRA, D.C. Avaliação de clones de banana Cavendish. **Ciência Agrotecnologia**, v. 30, p. 832-837, 2006.

SILVA, S.O.E.; MATOS, A.P.; CORDEIRO, Z.J.M.; LIMA, M.J.C.; AMORIM, E.P. Avaliação de genótipos tetraplóides de bananeira cultivados em área infestada pelo agente causal do mal-do-Panamá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 137-143, 2011.

SILVA, S.O.; MATOS, A.P.; CORDEIRO, Z. J. M.; AMORIM, E.P.; LIMA, M.J.C. Avaliação de diploides de bananeira em área artificialmente infestada pelo mal-do-Panamá. **Magistra**, v. 24, p. 210-216, 2012.

SÔNEGO, M.; LICHTENBERG, A.L.; AMORIM, E.P. BRS Tropical: banana tipo 'maçã' e seu potencial de cultivo no sul de Santa Catarina. **XXIII congresso Brasileiro de fruticultura**, Bento Gonçalves- RS. p. 4755 – 4758, 2012.

SOUZA E. H; COSTA, M. A. P. C; SOUZA, F. V. D; JUNIOR, D. S. C; AMORIM, E. P; SILVA, S. O; SANTOS-SEREJO, J. A. Genetic variability of banana with ornamental potential. **Euphytica**, vol.184 p. 355–367, 2012

STOVER, R.H. Fusarial Wilt (Panama Disease) of Bananas and Other Musa Species. CMI, Kew, Surrey, UK. 1962.

VANDERMOLEM, G.E; BECKMAN, C.H.; RODEHORST, E. the ultrastructure of tylose formation in resistant banana following inoculation with *Fusarium Oxysporum f.sp.cubense*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.31, p. 185-200, 1987.

Tabela 1. Genótipos de bananeira, indicando seu grupo genômico, tipo, grupo/subgrupo, origem, presença no teste de campo e em casa de vegetação. Cruz das Almas (BA), 2015.

Genótipo	Genoma	Tipo	Grupo/Subgrupo	Origem	Teste de campo	Teste de casa de vegetação
Royal	ES	Híbrido	<i>Rhodochlamys</i>	França	X	
Pisang Jaran	AA	Selvagem	<i>ssp. burmanica/burmannicoide</i>	Indonésia		X
Birmanie	AA	Selvagem	-	França	X	X
Malaccensis	AA	Selvagem	<i>ssp. malaccensis</i>	Honduras	X	X
Pisang Pipit	AAA	Selvagem	-	Indonésia	X	X
Tuugia	AA	Selvagem	-	Havaí	X	
Pisang Nangka	AA	Selvagem	-	Brasil		X
Williams	AAA	Cultivar	Cavendish	Brasil		X
Muga	AAA	Cultivar	-	Nova Guiné		X
Tong Ruong	AAA	Cultivar	Ibota	Tailândia		X
Prata Maçã	AAB	Cultivar	Prata	Brasil	X	X
Meywarvey	AAA	Cultivar	-	-		X
Pelipita	ABB	Cultivar	Bluggoe	Honduras		X
Pitogo	ABB	Cultivar	-	Brasil	X	
Pratão	AAB	Cultivar	Prata	Brasil		X
Saba Honduras	ABB	Cultivar	Saba	Honduras		X
Abuperak	ABB	Cultivar	Ney Mannan	França	X	
Poteau Nain	ABB	Cultivar	Bluggoe	França	X	

Tabela 1. Continuação.

Genótipo	Genoma	Tipo	Grupo/Subgrupo	Origem	Teste de campo	Teste de casa de vegetação
Maçã	AAB	Cultivar	Maçã	Brasil	X	X
Maçã 150	AAB	Mutante	Mutante (Maçã)	Brasil		X
Maçã 159	AAB	Mutante	Mutante (Maçã)	Brasil	X	X
Grande Naine	AAB	Cultivar	Cavendish	Brasil		X
Princesa	AAAB	Cultivar	Híbrido entre Yangambi n°2 e M53	Brasil	X	X
Tropical	AAAB	Cultivar	Híbrido entre Yangambi n°2 e M53	Brasil		X

Genótipos em negrito estão presentes em ambos os experimentos.

Tabela 2. Resumo da análise de variância das características altura de planta (ALP - m), diâmetro do pseudocaule (DPC - cm), número de dias do plantio à floração (NDF), número de folhas vivas na floração (NFVF), e número de filhos na floração (NFF) com o teste F e coeficiente de variação para cinco características agronômicas em genótipos de bananeira. Cruz das Almas (BA), 2015.

FV	GL	QM				
		ALP	DPC	NDF	NFVF	NFF
Genótipos	9	3,58*	261,033*	23137,79*	29,75*	15,40*
Resíduo	60	0,02	2,16	682,50	4,04	2,30
CV%		7,59	9,97	10,62	17,04	30,82

* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 3. Média para cinco características agrônômicas em 10 genótipos de bananeira mensuradas no período do florescimento. Cruz das Almas (BA), 2015.

Genótipo	ALP	DPC	NDF	NFVF	NFF
Royal	0,85 a	4,39 f	140,67 a	8,78 d	7,00 a
Birmanie	1,47 b	9,21 e	178,60 b	9,80 d	5,10 b
Malaccensis	1,73 c	11,75 d	267,75 c	11,37 c	4,50 b
Pisang Pipit	2,16 d	14,90 c	260,00 c	11,80 c	4,00 b
Tuugia	2,12 d	13,78 c	259,33 c	11,22 c	7,33 a
Prata Maçã	2,81 g	21,35 a	297,75 d	12,75 b	3,75 b
Pitogo	2,91 h	20,25 a	298,12 d	13,37 b	5,00 b
Abuperak	2,48 e	19,10 b	265,20 c	16,00 a	3,80 b
Poteau Nain	2,61 f	20,36 a	250,14 c	12,28 c	3,43 b
Princesa	2,60 f	19,00 b	291,80 d	14,00 b	4,00 b
Média	2,10	14,74	245,96	11,79	4,92

Médias seguidas de mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo de acordo com o método de agrupamento de Scott-Knott a 5% de significância; Altura de planta (ALP - m); diâmetro do pseudocaule (DPC - cm); número de dias do plantio à floração (NDF); número de folhas vivas na floração (NFVF); e número de filhos na floração (NFF).

Tabela 4. Índice de incidência da doença (ID) e nível de resistência (NR) de genótipos de bananeira em condições de área artificialmente infestada com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense*. Cruz das Almas (BA), 2015.

Genótipos	ID	NR
Royal	8,8	R
Birmanie	0,0	R
Malaccensis	2,5	R
Pisang Pipit	0,0	R
Tuugia	0,0	R
Prata Maçã	0,0	R
Pitogo	7,5	R
Abuperak	20,0	MR
Poteau Nain	20,0	MR
Maçã 159	94,0	S
Princesa	4,0	R

R: Resistente; MR: moderadamente resistente; S: suscetível.

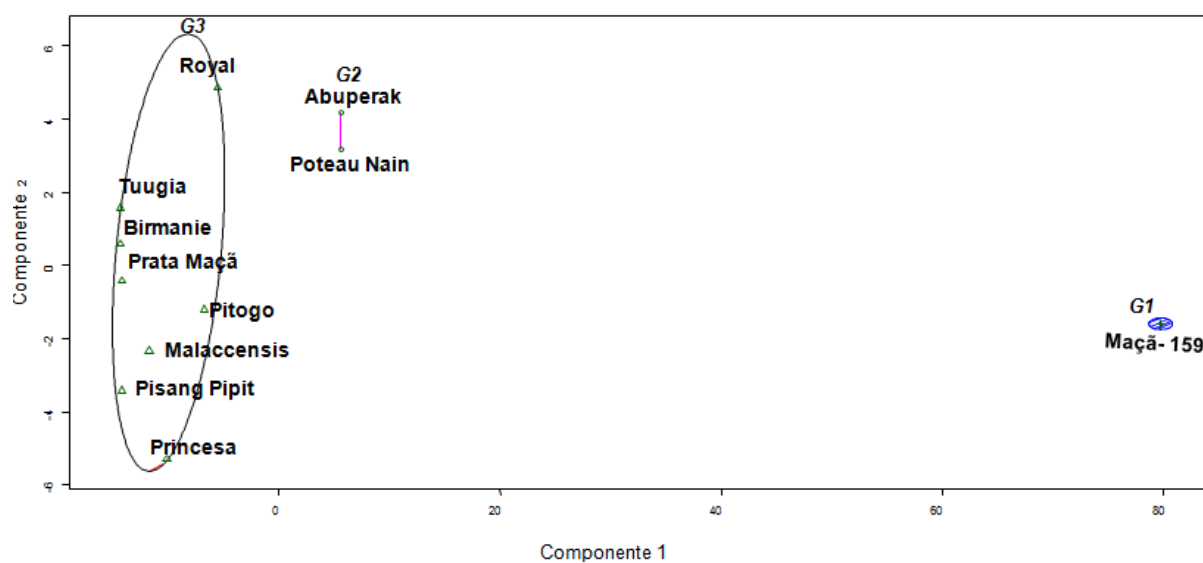


Figura 1. Agrupamento de genótipos de bananeira a partir da análise de componentes principais, considerando o índice de incidência da doença (ID). Cruz das Almas (BA), 2015.

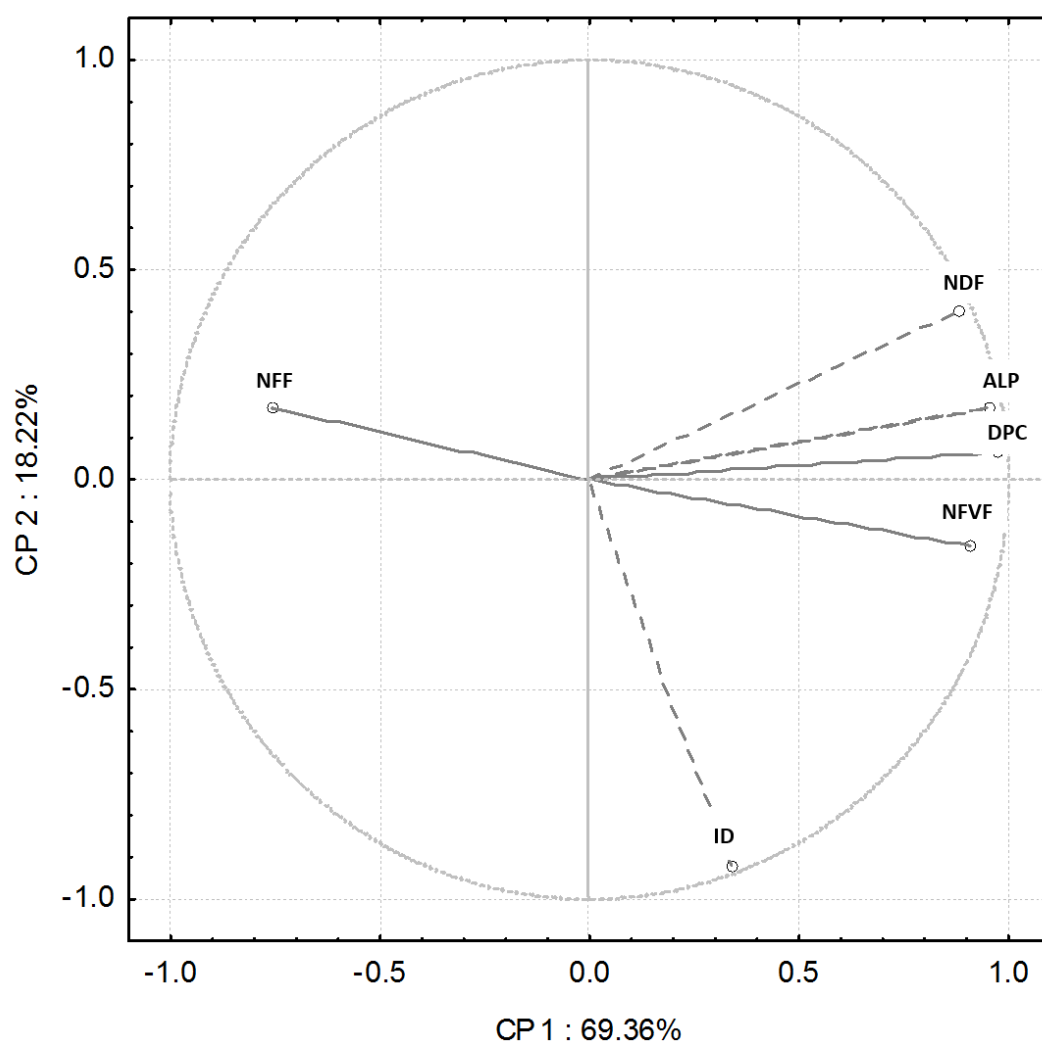


Figura 2: Importância relativa das cinco características agrônômicas e do índice de incidência da doença (ID) sobre a variabilidade genética entre 10 genótipos de bananeira. Cruz das Almas (BA), 2015.

Tabela 5. Área abaixo da curva do progresso da doença (AACDP), índice de incidência de doença (ID) e nível de resistência (NR) de 19 genótipos de bananeira avaliados quanto ao comportamento frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* em condições de casa de vegetação. Cruz das Almas (BA), 2015.

Genótipos	AACDP	ID	NR
Maçã	326,50	78,0	S
Pisang Jaran	40,00	8,0	R
Birmanie	27,00	0,0	R
Malaccensis	107,00	18,0	MR
Pisang Pipit	40,00	14,0	R
Pisang Nangka	75,00	28,0	MR
Williams	69,00	14,0	R
Muga	88,00	40,0	MR
Prata Maçã	8,00	4,0	R
Meywarvey	2,00	0,0	R
Pelipita	89,00	50,0	MR
Pratão	103,00	64,0	MR
Saba Honduras	193,00	48,0	MR
Maçã 150	98,00	30,0	MR
Maçã 159	444,00	78,0	S
Grande Naine	51,00	30,0	R
Princesa	91,00	10,0	MR
Tropical	119,00	34,0	MR
Tong Ruang	11,00	4,0	R

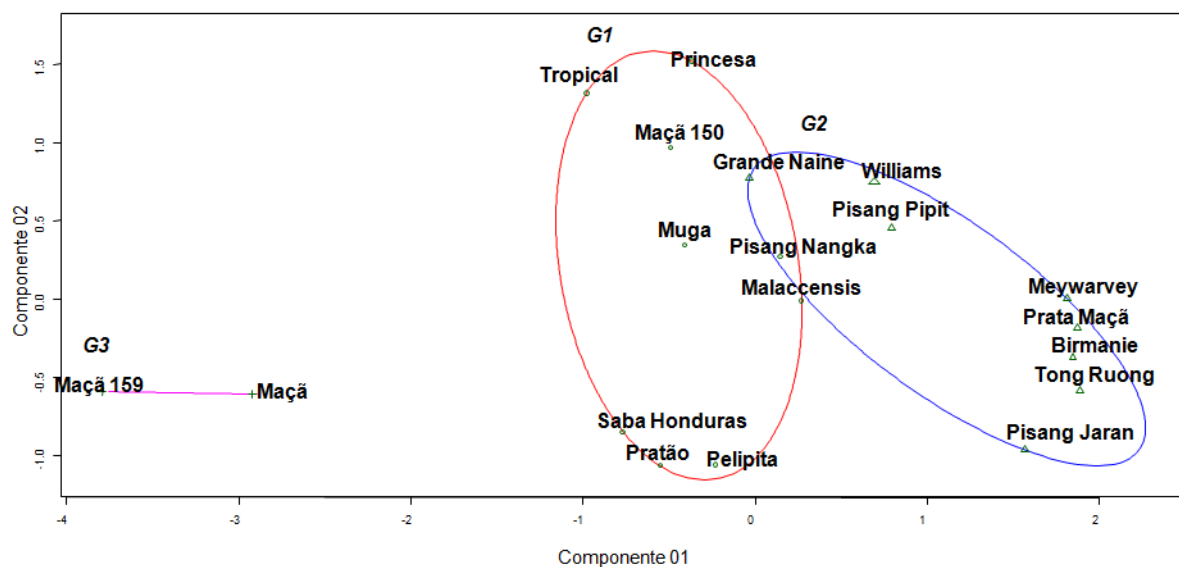


Figura 3. Agrupamento de 19 genótipos de bananeira a partir da análise de componentes principais, considerando a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e o índice de incidência da doença (ID) com base nos resultados de inoculação de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* em condições de casa de vegetação. Cruz das Almas (BA), 2015.

CAPÍTULO II

VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE BANANEIRA RESISTENTES AO MAL-DO-PANAMÁ A PARTIR DE MARCADORES SSR

VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE BANANEIRA RESISTENTES AO MAL-DO-PANAMÁ A PARTIR DE MARCADORES SSR

RESUMO: O objetivo do presente estudo foi identificar genótipos resistentes ao mal-do-Panamá e quantificar a variabilidade genética entre esses genótipos a partir de marcadores SSR. O experimento foi dividido em teste de campo (11 genótipos), de casa de vegetação (19 genótipos) e uso de marcadores moleculares SSR (26 genótipos). Foram avaliados diploides selvagens e cultivados, tri- e tetraploides, além da cultivar 'Maçã' utilizada como testemunha. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições. A similaridade genética entre todos os 26 genótipos foi calculada a partir do coeficiente de Nei e Li e utilizadas para fazer o agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Averages). A avaliação em área artificialmente infestada com Foc permitiu a obtenção do índice de intensidade da doença (ID) para cada genótipo, sendo que o mesmo foi utilizado para agrupar os genótipos de acordo com seu nível de resistência, permitindo-se observar a formação de três grupos distintos. O G1 (suscetível) foi formado pela 'Maçã 159', 'Abuperak' e 'Poteau Nain', assim como outros oito genótipos, de acordo com os resultados considerados como moderadamente resistentes ao mal-do-Panamá formaram o G2. Os diploides 'Birmanie' e 'Tuugia' e os triploides 'Pisang Pipit' e 'Prata Maçã', que apresentaram ID=0,00 %, e os outros genótipos agrupados no G3 (resistentes). Em casa de vegetação houve a formação de três grupos, considerando a AACPD e o ID. Os genótipos 'Maçã' e 'Maçã 159' compõem o G1 (suscetível), uma vez que apresentaram os maiores valores para AACPD e ID, nove genótipos, incluindo 'Princesa', 'Tropical' e o mutante 'Maçã 150', todos do tipo Maçã, formaram o G2, considerado o grupo com moderada resistência ao mal-do-Panamá. A 'Grande Naine' e a 'Willians', pertencente ao subgrupo Cavendish, e resistentes a Foc raça 1, corretamente agruparam no G3, em conjunto com outros seis genótipos, entre os quais os diploides 'Birmanie' e 'Pisang Jaran'. O número de alelos obtidos foi 105, com média de 3,38 alelos por primer. Sete agrupamentos foram formados considerando a análise com SSR: G1 e G2 apenas com um diploide selvagem cada, 'Birmanie' e 'Tuugia', respectivamente; G3 com o híbrido 'Royal', que pertence a seção *Rhodochlamys*; G4 com um grande número de genótipos, não sendo possível considerar um agrupamento baseado no genoma, no tipo de genótipo, no grupo/subgrupo ou mesmo origem; G5 com três genótipos, dois com genoma AAA e um diploide AA; G6 onde estão presentes dois triploides ABB ('Namwa Khom' e 'Tai'); e por final o G7 com a subespécie *Malaccensis*. A partir dos resultados é possível planejar novas cruzamentos, em especial utilizando os diploides selvagens resistentes ao mal-do-Panamá, com foco no desenvolvimento de diploides melhorados para uso em cruzamentos com tri- e tetraploides visando desenvolver cultivares comerciais resistentes ao patógeno e com características agrônômicas de interesse, tais como porte baixo, ciclo curto e qualidade sensorial dos frutos.

Palavras-chave: seleção, marcadores moleculares, SSR, *Fusarium*

GENETIC VARIABILITY BETWEEN BANANA GENOTYPES RESISTANT TO PANAMA DISEASE USING SSR MARKERS

ABSTRACT: The objective of the present work was to identify genotypes resistant to Panama disease and quantify the genetic variability using SSR markers. The experiment was divided into field trials (11 genotypes) and greenhouse (19 genotypes) and the use of SSR markers (26 genotypes). Wild and cultivated diploids, tri- and tetraploids and the 'Maçã' cultivar used as control, were evaluated. The experimental design was completely randomized, with 10 replicates. The genetic similarity between the 26 genotypes was calculated using the Nei & Li coefficient and the distance matrix used to calculate the clusters by UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). The evaluation in artificially infested area with Foc provided data for the disease intensity index (DI) for each genotype, whereas the same was used to separate the genotypes into clusters according to their resistance level, where three clusters were formed: G1 (susceptible) - 'Maçã 159', 'Abuperak' and 'Poteau Nain'. Eight other genotypes, considered as moderately resistant to Foc, formed G2. The diploids, 'Birmanie' and 'Tuugia', and the triploids, 'Pisang Pipit' and 'Prata Maçã', which presented DI = 0.00% and the other genotypes, were clustered in G3 (resistant). Under greenhouse conditions, three clusters were formed when AUDPC and DI, were considered. The genotypes 'Maçã' and 'Maçã 159' comprised G1 (susceptible), since they presented the highest values of AUDPC and DI. Nine genotypes, including 'Princesa', 'Tropical' and the 'Maçã 150' mutant, all Silk types, were clustered in G2, considered the cluster with moderate resistance to Foc. 'Grande Naine' and 'Williams', belonging to the Cavendish subgroup and resistant to Foc race 1, were correctly clustered in G3 together with six other genotypes, including the 'Birmanie' and 'Pisang Jaran' diploids. The number of alleles obtained was 105 with an average of 3.38 alleles per primer. Seven clusters were formed considering the SSR analysis: G1 and G2 with only one wild diploid each, 'Birmanie' and 'Tuugia', respectively; G3 with the 'Royal' hybrid, which belongs to the *Rhodochlamys* section; G4 with a large number of genotypes, not being able to consider a cluster based on genome, genotype type, group/subgroup or same origin; G5 with three genotypes, two with the AAA genome and an AA diploid; G6 with two triploids ABB ('Namwa Khom' and 'Tai'); and finally, G7, with the Malaccensis subspecies. Results show that it is possible to plan new crosses, especially using the Foc resistant wild diploids focusing in the development of improved diploids for use in crosses with tri- and tetraploids to develop commercial cultivars resistant to Foc and with agronomic characteristics of interest, such as short height, early cycle and sensorial quality of fruits.

Key-words: selection, molecular markers, SSR, *Fusarium*

INTRODUÇÃO

A banana se destaca como uma das frutas mais consumidas no mundo, cultivada na maioria dos países tropicais, o que a coloca entre as atividades agrícolas de maior expressão econômica. Apesar de existirem aproximadamente 50 subgrupos de banana, o subgrupo Cavendish responde por 40% da produção global, seguido pelo subgrupo dos plátanos (banana da terra no Brasil) com 21% (PLOETZ, 2015). Apesar dessa realidade, 87% da produção é comercializada em mercados locais ou regionais, em especial em países da África, Ásia e América tropical, onde o consumo se dá sob a forma *in natura*, cozida ou frita (KARAMURA et al., 2012).

O caso brasileiro difere do contexto mundial, uma vez que grande parte produção está baseada em cultivares do subgrupo Prata, em especial a 'Prata-Anã'. Com importância secundária, em especial no Norte e Nordeste do país, a 'Pacovan' e as cultivares do subgrupo plátanos também se fazem presentes nos bananais brasileiros. O subgrupo Cavendish, representado no Brasil pelas cultivares 'Grande Naine', 'Nanica' e 'Nanicão', tem sua produção mais expressiva no Sudeste (Vale do Ribeira, estado de São Paulo) e Sul do Brasil (Nordeste de Santa Catarina).

No agronegócio da bananeira as doenças fúngicas são aquelas que merecem mais atenção, tanto pelo número de patógenos quanto pelos danos causados (CORDEIRO et al., 2005). Dentre as doenças provocadas por fungos, o mal-do-Panamá, causado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) é a doença que tem causado maiores danos nos bananais brasileiros. Cabe destacar também a raça 4 tropical do patógeno, que acomete as cultivares do subgrupo Cavendish (PLOETZ, 2015). Essa raça ainda é inexistente no país, mas tem potencial para causar sérios prejuízos, considerando que 'Prata-Anã', 'Pacovan' e 'Maçã' são suscetíveis.

Diante desse quadro, a busca de cultivares resistente ao mal-do-Panamá, a partir de programas de melhoramento, é considerada o meio mais eficiente de controle dessa enfermidade (AMORIM et al., 2013).

Para o desenvolvimento de novas cultivares, a existência de variabilidade genética para os caracteres e interesse é fundamental, a exemplo do mal-do-Panamá e da necessidade de se identificar genótipos resistentes para uso em cruzamentos, a partir da seleção em ambiente com a presença do patógeno e ou em

casa de vegetação, por meio da inoculação do patógeno em mudas micropropagadas (DITA et al., 2011).

Outra ferramenta que tem potencial para auxiliar no desenvolvimento de cultivares resistentes é o uso de marcadores moleculares, que tem como principal vantagem, nesse caso, a capacidade de identificar genótipos divergentes para uso em cruzamentos ou mesmo comparar esses entre si, visando estimar o grau de associação com cultivares comerciais, fato que é de interesse, pois ao serem utilizados em cruzamentos, as características da cultivar elite serão mantidas, apenas tornando-a resistente a Foc.

Dentre as várias opções de marcadores moleculares, os SSR (*Simple Sequence Repeats*), são usados em estudos de diversidade no melhoramento genético de várias culturas. Por ser um marcador que apresenta alta reprodutibilidade e caráter codominante tornou-se indispensável na caracterização de espécies de importância econômica como é o caso bananeira e na criação de perfis moleculares de variedades (GHISLAIN et al., 2000; CRESTE et al., 2003).

O objetivo do presente estudo foi identificar genótipos resistentes ao mal-do-Panamá em condições de campo e em casa de vegetação e quantificar a variabilidade genética entre esses genótipos a partir de marcadores moleculares SSR.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação em área artificialmente infestada com Foc

O experimento de campo foi conduzido em área experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas, Ba. Foram avaliados 11 genótipos incluindo diploides selvagens e cultivados, tri- e tetraploides, além da cultivar 'Maçã' utilizada como testemunha plantada circundando cada tratamento/genótipo (Tabela 1). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento em espaçamento de 3 m x 2 m. A incidência do mal-do-Panamá foi avaliada com base na expressão dos sintomas internos da doença, mediante cortes transversais do rizoma e exame da descoloração vascular causada

pela infecção por Foc, atribuindo-se notas conforme a escala proposta por Cordeiro et al.(1993).

Avaliação em condições de casa de vegetação mediante inoculação

Para o experimento em casa de vegetação foram testados 19 genótipos, e utilizou-se o isolado CNPMF0801 raça 1, pertencente a micoteca da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Tabela 1). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento. A inoculação dos genótipos foi realizada seguindo metodologia proposta por Dita et al. (2011). A partir do aparecimento dos sintomas externos avaliados com base no grau de infecção das folhas dos genótipos de bananeira, foi avaliada a severidade da doença, realizada utilizando-se a escala de notas proposta por Mohamed et al. (1999), os sintomas internos da doença, mediante cortes transversais do rizoma e exame da descoloração vascular causada pela infecção por Foc, atribuindo-se notas conforme a escala proposta por Cordeiro et al. (1993).

Estimativa da variabilidade genética a partir de marcadores SSR.

Foram avaliados 26 genótipos, diploides selvagens e cultivados, tri- e tetraploides, além da cultivar 'Maçã' utilizada como testemunha plantada circundando cada tratamento/genótipo (Tabela 1).

Foram utilizados 31 primers utilizados nas rotinas de análise da Embrapa Mandioca e Fruticultura, sendo um primer da série MaOCEN derivada de uma biblioteca da cultivar Ouro (AA) desenvolvida por Creste et al. (2006), 18 primers da série MaC e 12 primers da série MaO validados por Jesus et al. (2013) e desenvolvidos a partir de bibliotecas dos diploides Calcutta 4 e Ouro, respectivamente (Tabela 2).

O DNA genômico foi extraído de folhas utilizando-se o método CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) (DOYLE E DOYLE, 1990). Nas reações de amplificação utilizou se um volume final de 15 µL, contendo os seguintes reagentes: KCl 50 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), MgCl₂ 2,5 mM, 100 µM de cada um dos

dNTPs (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 0,2 μ M de cada iniciador, 50 ng de DNA genômico e uma unidade de Taq DNA polimerase (Pharmacia Biotech, EUA).

As amplificações foram conduzidas em Termociclador Perkin Elmer modelo 9700. A amplificação incluiu um ciclo de desnaturação de 5 min. a 94°C, seguido de 35 ciclos de desnaturação de 1min a 94 °C, 1 min. de anelamento com a temperatura específica de cada primer, 1 min. de extensão a 72 °C, com uma extensão final de 10 min. a 72 °C e 14 °C. Os fragmentos foram separados em géis de agarose ultrapura 1000 a 3% (Invitrogen) sob condições-padrão, e os produtos da amplificação foram corados com brometo de etídeo e visualizados através de raios ultravioletas e fotodocumentados por meio do equipamento UVITEC.

Análise dos dados

Para os dados de campo foi estimado o índice de intensidade da doença (ID), proposta de Mckinney (1923), com base nas notas dadas aos sintomas internos de Foc, a partir da proposta de Cordeiro et al. (1993). A Análise de *cluster* foi realizada a partir dos valores de ID, agrupados pelo método de *k*-médias utilizando o algoritmo proposto por Hartigan e Wong (1979).

Para os dados de casa de vegetação foi estimada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e o índice de intensidade da doença (ID). A partir dos valores da AACPD e ID os genótipos foram agrupados pelo método *k*-médias usando o algoritmo proposto por Hartigan & Wong (1979). Foi realizada a correlação de Pearson com base nos dados de ID de campo e de casa de vegetação visando identificar uma possível associação entre os resultados.

As análises estatísticas dos dados obtidos em campo e em casa de vegetação foram realizadas pelos programas estatísticos SISVAR (Ferreira, 2008) e R (*R Development Core Team*, 2010).

A similaridade genética entre os 26 genótipos foi calculada a partir do coeficiente de Nei e Li e os valores de similaridades genéticas foram utilizados para fazer o agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Averages*) por meio do software NTSYS (ROHLF, 2000).

O método de reamostragens (Bootstrap) foi realizado para verificar se o número de locos (combinações de primers) foi suficiente para determinar com

precisão as estimativas de similaridade genética entre os genótipos utilizando o software GENES (CRUZ, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação em área artificialmente infestada com Foc permitiu a obtenção do índice de intensidade da doença (ID) para cada genótipo, sendo que o mesmo foi utilizado para agrupar os genótipos de acordo com seu nível de resistência, permitindo-se observar a formação de três grupos distintos (Figura 1). O G1 foi formado pela 'Maçã 159', que foi coletado em área de produtor no distrito de irrigação de Ponto Novo (BA) como sendo resistente ao mal-do-Panamá, conforme informações do proprietário do bananal, fato que não se confirmou nesse estudo, uma vez que foi o genótipo que apresentou maior ID. 'Abuperak' e 'Poteau Nain', assim como outros oito genótipos, de acordo com os resultados, podem ser considerados moderadamente resistentes ao mal-do-Panamá e formaram o G2. Os diploides 'Birmanie' e 'Tuugia' e os triploides 'Pisang Pipit' e 'Prata Maçã', que apresentaram ID=0,00 %, e os outros genótipos agrupados no G3 são considerados resistentes ao mal-do-Panamá.

O estudo realizado em casa de vegetação, a partir da inoculação dos genótipos permitiu a identificação de três grupos, considerando a AACPD e o ID. Os genótipos 'Maçã' e 'Maçã 159' compõem o G1, classificados como suscetíveis a Foc, uma vez que apresentaram os maiores valores para AACPD e ID; nove genótipos, incluindo 'Princesa', 'Tropical' e o mutante 'Maçã 150', todos do tipo Maçã, formaram o G2, considerado o grupo com moderada resistência ao mal-do-Panamá. A 'Grande Naine' e a 'Willians', pertencente ao subgrupo Cavendish, e resistentes a Foc raça 1, corretamente agruparam no G3, em conjunto com outros seis genótipos, entre os quais os diploides 'Birmanie' e 'Pisang Jaran' (Figura 1).

Nesse trabalho buscou-se também estimar a correlação entre os dados de ID obtidos em campo com os advindos do ensaio em casa de vegetação. Considerando os sete genótipos que estiveram presentes nos dois experimentos, a correlação obtida foi de 0,97 ($p \leq 0,001$), fato que demonstra alta associação entre os resultados.

O número de alelos obtidos foi 105, com média de 3,38 alelos por primer. O maior número de alelos foi identificado nos primers MaCEN 4 e MaC-CEN39 (seis

alelos) e o menor número observado foram dois alelos, revelados por oito primers (Tabela 2). O número médio de alelos por loco SSR é similar ao obtido com outros estudos realizados em banana (KAEMMER et al., 1997; GRAPIN et al., 1998; CRESTE et al., 2003, 2004, 2006; NING et al., 2007; AMORIM et al., 2009; MATOS et al., 2010; PEREIRA et al., 2012).

O conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) variou de 0,07 para o primer MaC-CEN42 a 0,76 para o primer MaCEN4, com média de 0,45. A correlação entre o número de alelos e o PIC foi alta ($r = 0,64$, $P \leq 0,005$), indicando que *primers* com maior número de alelos apresentam maior poder discriminatório entre os genótipos avaliados.

A análise de reamostragens indicou que 80 alelos foram suficientes para uma estimativa precisa da divergência genética entre os 26 genótipos de banana. A correlação entre a matrix considerando todos os 105 alelos e a matriz com 80 alelos foi de 0,98, com soma dos quadrados dos desvios (SQd) de 0,052 e valor de estresse (E) de 0,05 (Figura 2). De acordo com Kruskal (1964), um valor de $E \leq 0,05$ é indicativo de uma excelente precisão nas estimativas.

Na literatura são encontrados trabalhos onde o número de marcadores SSR, assim como o número de alelos utilizados para genotipar diferentes genótipos de banana foram similares aos utilizados neste trabalho. Ning et al. (2007) consideraram suficientes dez SSRs para genotipar 50 acessos de banana de diferentes origens, encontrando 92 alelos; Creste et al. (2004) utilizaram nove SSR para genotipar 49 diploides a partir de 115 alelos; Creste et al. (2003) genotiparam 35 cultivares de banana com 11 SSR e 67 alelos; Amorim et al. (2009) genotiparam 11 diploides melhorados de bananeira por meio de 16 marcadores SSR e encontraram 120 alelos e média de 7,51 alelos por primer; Matos et al. (2010) utilizaram 13 primer SSR para estimar a variabilidade genética entre 26 genótipos de bananeira e encontraram média de 7,23 alelos por primer (total de 94 alelos); e Pereira et al. (2012) utilizaram 20 SSR para genotipar 32 diploides melhorados de bananeira e encontraram 133 alelos e média de 6,65 alelos por primer.

A similaridade genética média entre todos os genótipos foi de 0,40, variando de 0,00 entre os genótipos 'Pisang Nangka' e 'M61' a 0,75 entre os genótipos 'Abuperak' e 'Birmanie', indicando a existência de ampla variabilidade genética entre os genótipos.

Creste et al. (2004) avaliaram a diversidade genética entre 49 acessos diploides do BAG banana da Embrapa por meio de marcadores SSR, observando uma similaridade genética média de 0,10. Pillay et al. (2001) utilizaram marcadores RAPD para inferir sobre a variabilidade genética disponível entre 31 acessos de banana utilizados na Nigéria. Com base nos resultados, os autores concluíram que a base genética disponível para melhoramento naquele País é estreita. Resultados semelhantes aos observados neste trabalho foram encontrados por Ning et al. (2007) com 31 acessos na China genotipados com RFLP e SSR e por Ruangsuttapha et al. (2007) com 22 cultivares na Tailândia genotipados com RAPD.

O dendrograma das similaridades genéticas baseada em SSR, obtido pelo método UPGMA, encontra-se na Figura 3. O valor cofenético foi alto ($r = 0,90$, $P < 0,0001$, 10.000 permutações) e adequado, já que $r \leq 0,56$ são considerados ideais, refletindo uma boa concordância com os valores de similaridade genética (VAZ PATTO et al., 2004).

Neste trabalho assumiu-se como ponto de corte no dendrograma a similaridade genética média entre todos os genótipos com microssatélites (0,40). Com base neste ponto de corte foram formados sete grupos: G1 e G2 apenas com um diploide selvagem cada, 'Birmanie' e 'Tuugia', respectivamente; G3 com o híbrido 'Royal', que pertence a seção *Rhodochlamys*; G4 com um grande número de genótipos, não sendo possível considerar um agrupamento baseado no genoma, no tipo de genótipo, no grupo/subgrupo ou mesmo origem; G5 com três genótipos, dois com genoma AAA e um diploide AA; G6 onde estão presentes dois triploides ABB ('Namwa Khom' e 'Tai'); e por final o G7 com a subespécie *Malaccensis* (Figura 3).

Mesmo considerando que não houve tendência de agrupamento dos genótipos a partir do ponto de corte escolhido, percebe-se que alguns genótipos apresentaram maior similaridade, considerando informações, tais como o grupo/subgrupo. A maioria dos genótipos avaliados se mostrou resistente ou moderadamente resistente ao Foc, portanto, inferências sobre agrupamentos com base nessa informação não serão tratados nesse trabalho.

O agrupamento G4 é composto por 18 genótipos, incluindo di-, tri- e tetraploides, com genomas AA, AAA, AAB, ABB e AAAB. O subgrupo Cavendish, representado pelos genótipos 'Canela' e 'Willians' formaram um subgrupo, e

apresentaram similaridade genética acentuada com 'Grande Naine' (0,14 e 0,16, respectivamente) (Figura 3).

Os dois únicos genótipos identificados nesse trabalho como suscetíveis ao mal-do-Panamá, 'Maçã' e 'Maçã 159', apresentaram alta similaridade genética (0,11), demonstrando que, provavelmente, não houve mutação como o informado pelo produtor no momento da coleta do genótipo. Uma possível explicação para este fato passa pela dispersão do patógeno no campo, uma vez que é possível que a 'Maçã 159' estivesse plantada sob uma área com baixa concentração de Foc. Independente da reação ao Foc, 'Maçã', 'Maçã 159', 'Maçã 150' e 'Princesa' formaram um subgrupo. Essa última apresentou similaridade genética de 0,21 com 'Maçã'. Todos os genótipos do subgrupo Bluggoe agruparam-se juntas no G4, demonstrando o potencial do conjunto de SSRs utilizados em discriminar esse subgrupo.

Outros trabalhos também têm indicado o uso de microssatélites para alocar genótipos de banana segundo sua origem ou mesmo grupo/subgrupo (CRESTE et al., 2003; CRESTE et al., 2004; JESUS et al., 2006).

A partir dos resultados é possível planejar novas cruzamentos, em especial utilizando os diploides selvagens resistentes ao mal-do-Panamá, com foco no desenvolvimento de diploides melhorados para uso em cruzamentos com tri- e tetraploides visando desenvolver cultivares comerciais resistentes ao patógeno e com características agrônômicas de interesse, tais como porte baixo, ciclo curto e qualidade sensorial dos frutos.

CONCLUSÕES

A partir dos dados de campo e de casa de vegetação, foi possível identificar genótipos resistentes ao mal-do-Panamá, fato que possibilita o desenvolvimento de novas cultivares de bananeira resistentes, a partir da transferência de alelos por meio de cruzamentos. A correção entre os dados de campo e casa de vegetação permite inferir que a segunda tem potencial para uso no melhoramento da bananeira, em especial permitindo um *screening* inicial, reduzindo os genótipos para análise em condições de campo, onde outras interações poderão ser analisadas. Os SSR permitiram a identificação de ampla variabilidade genética entre os genótipos

avaliados, fato positivo para o melhoramento, pois permite a exploração de uma infinita combinação de alelos para caracteres de interesse, entre os quais ciclo precoce, porte baixo, qualidade dos frutos, entre outras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, E.P.; LESSA, L.S.; LEDO, C.A.S.; AMORIM, V.B. de O.; REIS, R.V. dos; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; SILVA, S.O. Caracterização agronômica e molecular de genótipos diploides melhorados de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.1, p.154-161, 2009.

AMORIM, E.P.; SANTOS-SEREJO, J; AMORIM, V. B. O; FERREIRA, C; SILVA, S. Banana breeding at Embrapa cassava and fruits. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 986, p.171-176, 2013.

CORDEIRO, Z.J.M.; SHEPHERD, K.; SOARES FILHO, W.S. DANTAS, J.L.L. Avaliação de resistência ao mal-do-Panamá em híbridos tetraplóides de bananeira. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, n.4, p.478-483, 1993.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças em bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M. BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed). **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p. 99-117,2005.

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

CRESTE, S.; TULMAN-NETO, A.; VENCOVSKY, R.; SILVA, S.O.S.; FIGUEIRA, A. Genetic diversity of *Musa* diploid and triploid accessions from the Brazilian banana breeding program estimated by microsatellite markers. **Genetic Resources and Crop Evolution** v. 51, p. 723-733, 2004.

CRESTE, S.; BENATTI, T.; ORSI, M. R.; RISTERUCCI, A. M.; FIGUEIRA, A. Isolation and characterization of microsatellite loci from a commercial cultivar of *Musa acuminata*. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 6, n.2, p.303-306. 2006.

CRUZ, C.D. Programas GENES-versão Windows 2009.7. Editora UFV, Viçosa, p. 642, 2006.

DITA, M. A. R.; RIBEIRO, L. R.; AMORIM, E. P.; CORDEIRO, Z. J. M.; SILVA, S. O. Metodologia para a caracterização de genótipos de bananeira quanto à resistência ao mal-do-Panamá em casa de vegetação. **Comunicado Técnico 150**. Cruz das Almas - Ba, Ed.1, p.1-5, 2011.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v.12, n.1, p.1315, 1990.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Pernambuco, v.6, p.36-41, 2008.

GHISLAIN, M.; RODRIGUEZ, F.; VILLAMON-NUÑEZ, J.; WAUGH, R.; Establishment of microsatellites assays for potato genetic identification. In: CIP **Program Report**. Editora FAO-CIP, Peru, p.167-174, 2000.

GRAPIN, A.; NOYER, J.L.; CARREEL, F.; DAMBIER, D.; BAURENS, F.C.; LANAUD, C.; LAGODA, P.J.L. Diploid *Musa acuminata* genetic diversity assayed with sequence-tagged microsatellite sites. **Electrophoresis**, v.19, p.1374-1380, 1998.

HARTIGAN JA, Wong MA,. Algorithm AS 136: a k-means clustering algorithm. **Applied Statistics 28**, p.100–8 1979.

JESUS, O.N. de. ; CÂMARA, T.R.; FERREIRA, C.F.; SILVA, S. O; PESTANA, K.N.; SOARES, T.L. Diferenciação molecular de cultivares elites de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n. 12, p.1739-1748. 2006.

JESUS, O.N; SILVA, S.O; AMORIM, E.P; FERREIRA, C.F; CAMPOS, J.M; SILVA, G; FIGUEIRA, A. Genetic diversity and population structure of *Musa* accessions in ex situ Conservation. **BMC Plant Biology**, v. 13, p.1, doi:10.1186/1471-2229-13-41, 2013.

KARAMURA, D.A.; KARAMURA, E.; TINZAARA, W. Banana Cultivar Names, Synonyms and Their Usage in East Africa. Bioversity Intl, Kampala, Uganda. Lakshmanan, P; Selvaraj; P., Mohan, S. 1987. Efficacy of different methods for the control of Panama disease. **Trop. Pest Manag.** v.33, p.373-374, 2012.

KAEMMER, D.; FISCHER, D.; JARRET, R.L. et al. Molecular breeding in the genus Musa: a strong case for STMS marker technology. **Euphytica**, v.96, p.49-63, 1997.

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

MATTOS, L.A.; AMORIM, E.P.; AMORIM, V.B.O. et al. Agronomical and molecular characterization of banana germplasm. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 2, 2010.

MCKINNEY, H.H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, p.195-217, Nov. 1923.

MOHAMED, A.A.; MAK, C.; LIEW, K.W. and Ho, Y.W. 2000. Early evaluation of banana plants at nursery stage for Fusarium wilt tolerance. p.174-185. In: A.B. Molina, N.K. Masdek and K.W. Liew (eds.), **Banana Fusarium Wilt Management: towards Sustainable Cultivation**, Proc. Int. **Workshop on the Banana Fusarium Wilt Disease**, Genting Highlands Resort, Malaysia, p.18-20 October 1999.

NING, S.P.; XU, L.B.; LU, Y.; HUANG, B.Z.; GE, X.J. Genome composition and genetic diversity of Musa germplasm from China revealed by PCR-RFLP and SSR markers. **Scientia Horticulturae**, v.114, p.281-288, 2007.

PEREIRA, V. M.; BORGES, C. V.; BRANDÃO, L. P.; OLIVEIRA, L. S.; SOUZA, C. P. F.; GONÇALVES, Z. S.; SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO, J. A.; FERREIRA, C. F.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic diversity between improved banana diploids using canonical variables and the Ward-MLM method. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 47, n. 10, p 1480-1488, 2012.

PILLAY, M.; OGUNDIWIN, E.; NWAKANMA, D.C.; UDE, G.; TENKOUANO, A. Analysis of genetic diversity and relationships in East African banana germoplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, v.102, p.965-970, 2001.

PLOETZ, R, C. Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. **Crop Protection**, USA, p.1-9, 2015.

R Development Core Team R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.12.1. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0 <http://www.R-project.org>. 2010.

ROHLF F.J., NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.1. **Exeter Software**. Setauket. NY. 2000.

RUANGSUTTAPHA, S.; EIMERT, K.; SCHRÖDER, M.B.; SILAYOI, B.; DENDUANGBORIPANT, J.; KANCHANAPOOM, K. Molecular phylogeny of banana cultivars from Thailand based on HAT-RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.54, p.1565-1572, 2007.

VAZ PATTO, M. C.; SATOVIC, Z.; PÊGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v.137, p.63-72, 2004.

Tabela 1. Genótipos de bananeira, indicando seu grupo genômico, tipo, grupo/subgrupo, origem, presença no teste de campo, casa de vegetação e análise com marcadores moleculares. Cruz das Almas (BA), 2015.

Genótipo	Genoma	Tipo	Grupo/Subgrupo	Origem	Teste de campo	Teste de casa de vegetação	Análise molecular
Royal	ES	Híbridos	<i>Rhodochlamys</i>	França	x		x
Pisang Jaran	AA	Selvagem	<i>ssp. burmanica/burmannicoide</i>	Indonésia		x	x
Birmanie	AA	Selvagem	-	França	x	x	x
Malaccensis	AA	Selvagem	<i>ssp. malaccensis</i>	Honduras	x	x	x
Pisang Pipit	AAA	Selvagem	-	Indonésia	x	x	x
Tuugia	AA	Selvagem	-	Havaí	x		x
Pisang Nangka	AA	Selvagem	-	Brasil		x	x
M61	AA	Híbrido	Híbrido	Equador			x
Canela	AAA	Cultivar	Cavendish	Brasil			x
Williams	AAA	Cultivar	Cavendish	Brasil		x	X
Muga	AAA	Cultivar	-	Nova Guiné		x	X
Namwa Khom	ABB	Cultivar	Pisang awak	Tailândia			X
Tong Ruang	AAA	Cultivar	Ibota	Tailândia		x	
Tai	ABB	Cultivar	Ney Mannan	Tailândia			X
Prata Maçã	AAB	Cultivar	Prata	Brasil	x	x	X
Meywarvey	AAA	Cultivar	-	-		x	X
Pelipita	ABB	Cultivar	Bluggoe	Honduras		x	X
Pitogo	ABB	Cultivar	-	Brasil	x		X

Continuação **Tabela 1.**

Genótipo	Genoma	Tipo	Grupo/Subgrupo	Origem	Teste de campo	Teste de casa de vegetação	Análise molecular
Pratão	AAB	Cultivar	Prata	Brasil		X	X
Saba Honduras	ABB	Cultivar	Saba	Honduras		X	X
Abuperak	ABB	Cultivar	Ney Mannan	França	X		X
Poteau Nain	ABB	Cultivar	Bluggoe	França	X		X
Maçã 150	AAB	Mutante	Mutante (Maçã)	Brasil		X	X
Maçã 159	AAB	Mutante	Mutante (Maçã)	Brasil	X	X	X
Grande Naine	AAB	Cultivar	Cavendish	Brasil		X	X
Maçã	AAB	Cultivar	Maçã	Brasil	X	X	X
Princesa	AAAB	Cultivar	Híbrido entre Yangambi n°2 e M53	Brasil	X	X	X
Tropical	AAAB	Cultivar	Híbrido entre Yangambi n°2 e M53	Brasil		X	

Genótipos em negrito estão presentes em ambos os experimentos.

Tabela 2. Locos microssatélites, número de alelos e conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) para os 26 genótipos de banana. Cruz das Almas (BA), 2015.

Loco SSR	Sentido F (5'-3')	Sentido R (5'-3')	Alelos	PIC
MaCEN3	ggaggaggaagaggagaagg	tgaactgacaccctgagcac	3	0,4
MaCEN4	Tgtcagataggtcggagttg	agtgctctgttaggtttcc	6	0,76
MaCEN5	Atctcgctcacctcgtcttc	tcatagacagcccagcagaa	2	0,73
MaCEN6	Ttctgctgggctgtctatga	aagggcagttcacaacacaa	2	0,34
MaCEN10	Atctgtgggcttatggctgt	gcaggtttgggagaagacat	4	0,51
MaO-EC02	Ggggaaggtggttagga	ggcaaatggaagagaggag	2	0,37
MaO-EC05	Tggagtcgcttttgccttt	gtggtgattccgagtggtt	3	0,36
MaO-EC11	Gcacaaccttactccatcac	cactacaactcaccctccaatc	5	0,55
MaO-FD02	Ggcatcacacagcaaaa	attacattcccagcccacac	4	0,51
MaO-FG09	Ttcttctgaccaccttttc	ccaagtatcacaccaacca	3	0,55
MaO-FH03	ctatggcgctgagtgcaatccaagtttgtaag	tctcttccctctctgcat	3	0,19
MaO-2B10	acgaggagcaggaaagtagc	ttctcttatcccggtgtg	3	0,45
MaO-EC12	aaccacaacaccaaaggaaga	tgtggcgagaaataaatc	3	0,37
MaO-ED09	Tgtcagataggtcggagttg	cgcatctatgacaacagcaa	5	0,62
MaO-EH12	aaccacaacaccaaaggaaga	atggaagcatgtggaggaac	3	0,59
MaC-CEN13	Tgttctcctgtgctcttga	tctcttccctctctgcat	3	0,34
MaCEN1	Agatgatgacccccacctc	ttctcttatcccggtgtg	2	0,35
MaC-CEN18	Gcttcgtaccgctctcac	gcgttcacccatttctac	3	0,37
MaC-CEN19	Ttctgcctttgctgta	ggtttaccattgctctgac	2	0,27
MaC-CEN23	atagaaggaaacgggaaatc	aaaggagttgttaggaagc	3	0,32
MaC-CEN34	Gagaatggcaaatgtcaagt	ggcccagtggttattgtc	4	0,36
MaO-EC09	Ggactgtatttgtgcttctc	atcatctccagccatctcc	5	0,63
MaO-ED01	Tgttccacaggtttctcca	cgcatctatgacaacagcaa	5	0,49
MaC-CEN17	agaaacaaacagatacccga	ttcccttatgtagtagacca	2	0,19
MaC-CEN39	Tggtgctgaattgaatctga	cgccacgaatacatctatct	6	0,59
MaC-CEN42	Aatcttggtggcttctga	caaataaacctggggcattc	2	0,07
MaC-CEN44	Gaaggcaggaacacgaa	tgagaagagcgagagaagca	3	0,57
MaC-CEN46	Tgtaaggagcctctgtgtgc	gagatgggattggtgtgtg	2	0,31
MaC-CEN52	Tcactcggcagttcacaaag	gacttcatctcggcaatgg	4	0,59
MaC-CEN56	Cgaggagcaggaaagtagc	tgtggcgagaaataaatc	4	0,61
MaOCEN03	acc acgaggagcaggaaagtagc	ttcgggataggaggaggag	4	0,6
Total			105	
Média			3,38	0,45

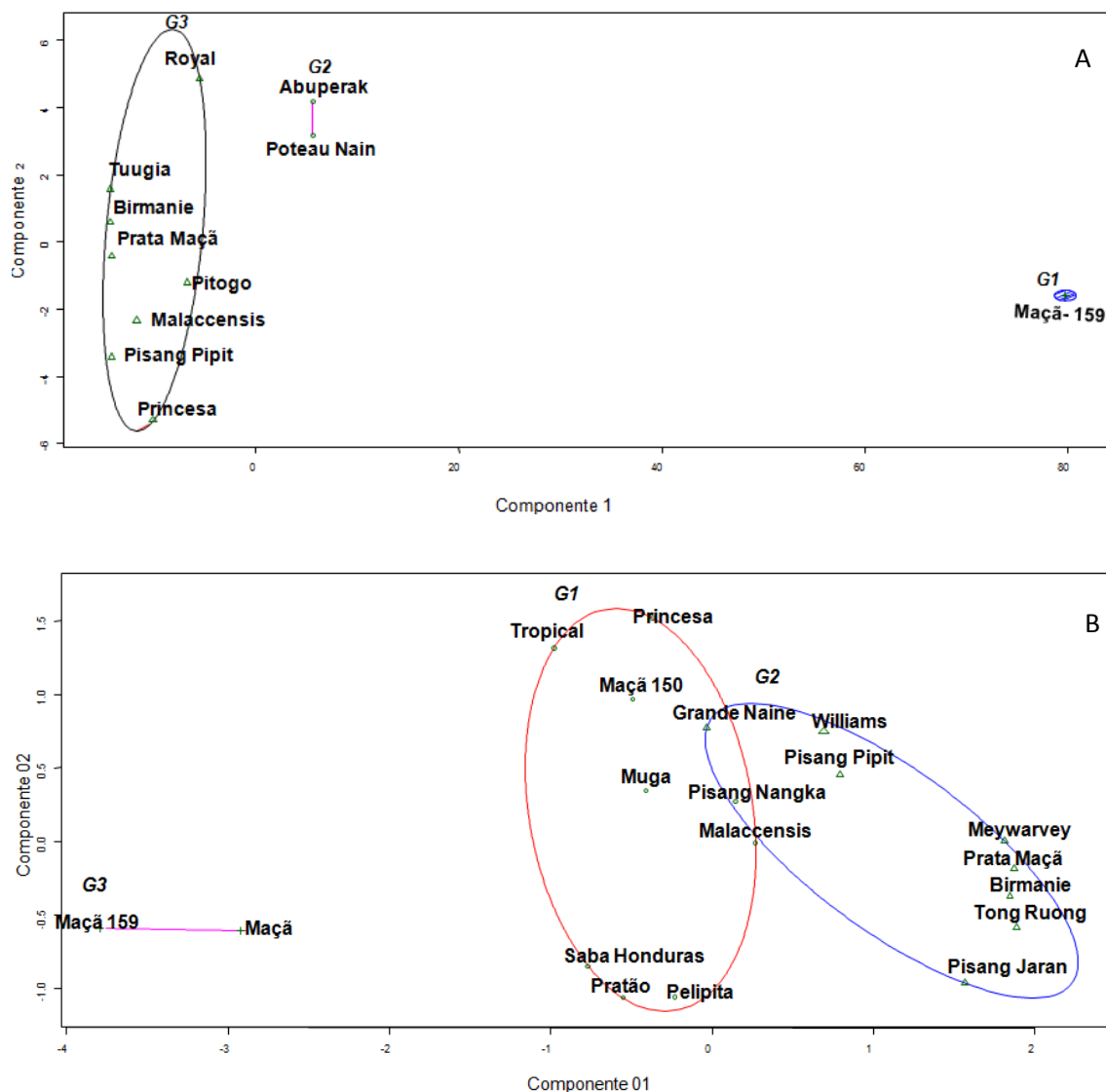


Figura 1. Agrupamento de genótipos de bananeira a partir da análise de componentes principais, considerando o índice de incidência da doença (ID) (A). Agrupamento de 19 genótipos de bananeira, considerando a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e o índice de incidência da doença (ID) com base nos resultados de inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* em condições de casa de vegetação (B). Cruz das Almas (BA), 2015.

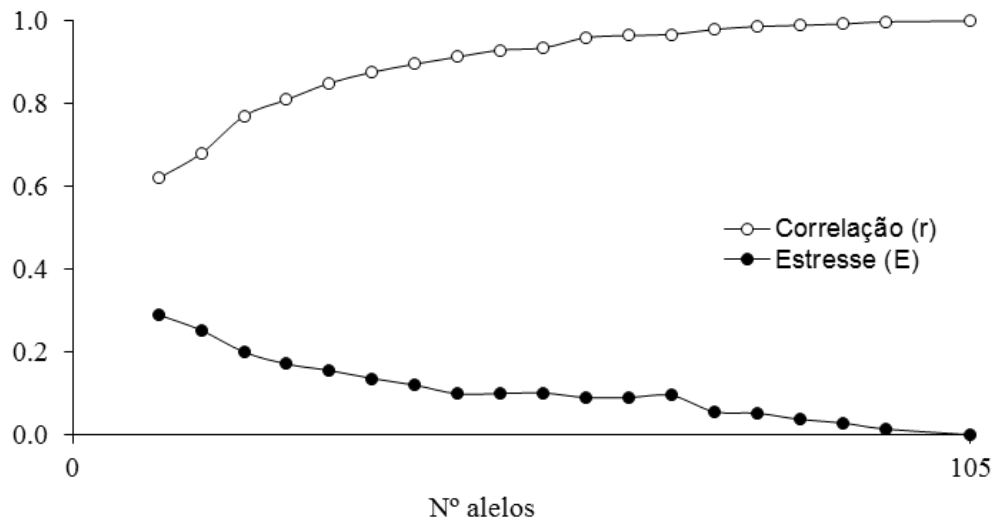


Figura 2: A análise de reamostragens entre 26 genótipos de bananeira.

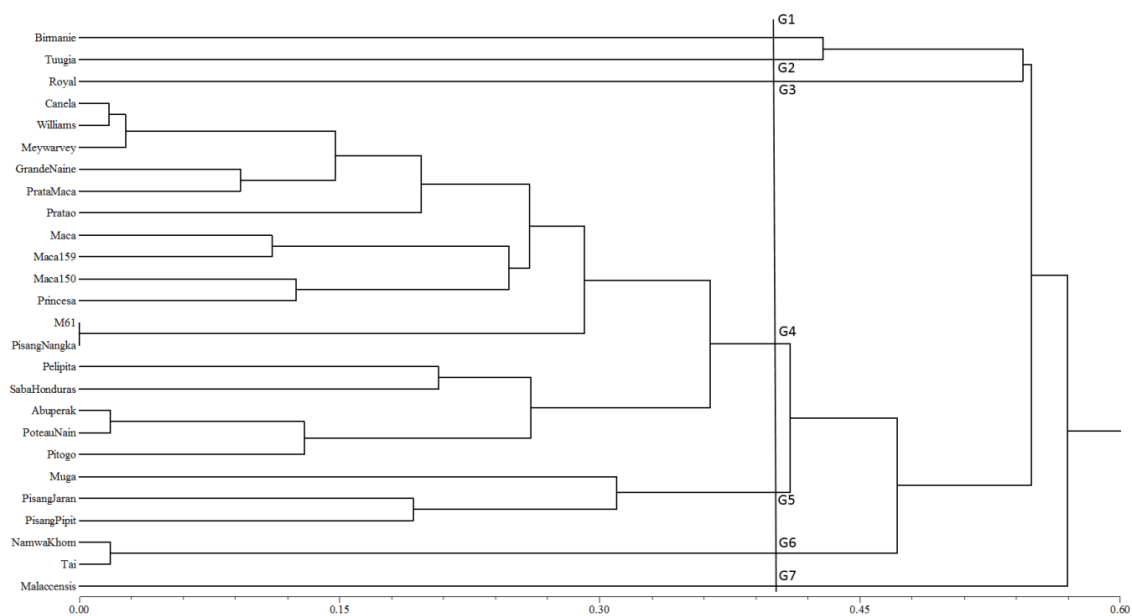


Figura 3. Diversidade genética entre 26 genótipos de bananeira a partir de 31 primers SSR. Cruz das Almas (BA), 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio das avaliações em campo e em casa de vegetação foi possível identificar genótipos com comportamento resistente e moderadamente resistente ao mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* – Foc), tanto entre os diploides selvagens quanto entre os tri- e tetraploides. Esses resultados permitem o direcionamento de cruzamentos visando transferir alelos associados com a resistência à Foc para as cultivares comerciais, por meio de hibridações. Também é possível planejar cruzamentos com foco no desenvolvimento de novos diploides melhorados, fazendo-se uso dos identificados como resistentes nesse trabalho.

Um possível mutante de 'Maçã', denominado de 'Maçã 150', apresentou comportamento moderadamente resistente à Foc em casa de vegetação. Nesse caso, estudos adicionais são recomendados visando confirmar a possível resistência. Em se confirmando tal resistência esse genótipo deverá passar por etapas de validação em condições adversas de clima e solo, em especial onde há problemas com o mal-do-Panamá, obtendo-se, com isso, informações sobre a interação entre o genótipo e os ambientes, verificando a estabilidade genética da possível mutação.

Os marcadores SSR permitiram a identificação de ampla variabilidade genética entre os genótipos, fato promissor para o melhoramento genético, uma vez que a existência de variabilidade é fundamental para o sucesso no desenvolvimento de genótipos resistentes a doenças e com boas características agrônômicas. Considerando que a resistência a Foc é controlada por poucos genes, infere-se que a variabilidade identificada pelos SSR está associada a outras características de interesse para o melhoramento, tais como porte baixo, ciclo precoce, qualidade dos frutos, produtividade, entre outras.