# Caracterização Morfológica e Molecular na Identificação Varietal de Bananeira

Onildo Nunes de Jesus<sup>1</sup>, Sebastião de Oliveira e Silva<sup>2</sup>, Claudia Fortes Ferreira<sup>2</sup>, Terezinha Rangel Câmara<sup>3</sup>, Taliane Leila Soares<sup>4</sup>, Kátia Nogueira Pestana<sup>5</sup>, Vânia Jesus dos Santos<sup>5</sup>

# Introdução

As principais cultivares de bananeira usadas no Brasil apresentam baixa produtividade e suscetibilidade às principais pragas da cultura. No entanto, novos cultivares de bananeira vem sendo produzidos pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, resultando na recomendação de algumas variedades com resistência genética a algumas pragas.

O desenvolvimento de novas cultivares é um processo caro para as instituições de pesquisa. Para manter os programas de melhoramento funcionando, as empresas têm buscado recursos na proteção de cultivares que lhes dá direitos sobre a comercialização das mesmas. No Brasil, essa proteção está amparada na lei de nº 9.456, de 1997, que institui a proteção de cultivares, reconhecendo a propriedade intelectual e os direitos ao titular de materiais genéticos protegidos.

Para a caracterização morfológica da bananeira é inicialmente necessária a distinção entre os acessos diplóides, triplóides e tetraplóides e dentro de cada grupo de ploidia podem ocorrer mutações resultando em genótipos (subgrupos) distintos tornando o processo de caracterização ainda mais dificil [1].

Assim, a caracterização de forma precisa da cultivar é um dos pontos essenciais e para isto, descritores homogêneos quanto as suas características em cada estádio de desenvolvimento e que sejam estáveis ao longo de gerações sucessivas, tornam-se necessários.

Tradicionalmente, a caracterização dos genótipos é feita baseando-se em descritores morfológicos, herdáveis, facilmente visíveis e mensuráveis, que, a princípio, são expressos em todos os ambientes [2]. Um dos grandes problemas da utilização dos descritores morfológicos é o grande número de descritores necessário e a grande influencia ambiental tornando o método pouco eficiente, principalmente quando se considera caracteres métricos que são na maioria das vezes influenciados por vários genes e conseqüentemente muito influenciados pelo ambiente. Assim, a seleção de descritores com alta herdabilidade e estáveis; a exemplo de descritores qualitativos, poderão ser de grande importância para a caracterização da bananeira.

De uma forma diferente, os descritores de DNA apresentam a vantagem de representam o genótipo, mantendo consistência nos resultados, evitando o problema da avaliação dos dados da expressão do fenótipo muitas vezes influenciados pelo ambiente [3].

Os microssatélites, ou SSRs (Simple Sequence Repeats), são sequências curtas de DNA consistindo de mono, di, tri ou tetranucleotídeos repetidas em tandem e são marcadores altamente polimórficos. Em função do grande número de regiões repetitivas, os SSRs se tornam marcadores altamente informativos e cada individuo pode apresentar um fingerprinting único [4].

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar molecularmente genótipos recomendados de bananeira por meio de descritores morfológicos e moleculares.

#### Material e métodos

Foram avaliados os genótipos: Caipira e Nam (AAA), Bucaneiro e HIIA-02 (AAAA), Thap Maeo (AAB) e os hibridos do grupo AAAB: Tropical, PA42-44, FHIA-18, FHIA-01, FHIA-21, Pacovan Ken, Garantida e Preciosa. Utilizaram-se 37 primers de SSR. Os marcadores SSR foram resolvidos em gel de poliacrilamida 5% a 80 W por 90 min. [5]. Os resultados das amplificações foram avaliados como presença (1) e ausência de bandas (0) expressos na forma de um dendograma, onde utilizou-se o coeficiente de dissimilaridade de Jaccard.

Os 61 descritores (Fig. 1) qualitativos multicategóricos [6] foram avaliados utilizando o índice de similaridade obtido pelo o software GENES. As 12 características quantitativas [6] foram submetidas à análise de componentes principais. Posteriormente, uma vez obtida a matriz de dissimilaridade, utilizou-se o método de agrupamento hierárquicos (UPGMA) para a obtenção dos dendogramas utilizando o programa STATGRAPHICS.

Apoio financeiro: CAPES e FAPESB.



Doutorando em Genética e Melhoramento de Plantas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, Piracicaba, SP, CEP 13416-381. E-mail: onildonunes@yahoo.com.br

Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: ssilva@cnpmf.embrapa.br, claudiaf@cnpmf.embrapa.br

Professora D.Sc Adjunta da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, CEP 52171-900. E-mail: tkreamara@bol.com.br

M. Sc em Ciência Agrárias, Bolsista DTFD/CNPq, Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA. E-mail: talialcila@gmail.com

Estudante de Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: katypestana@yahoo.com.br

### Resultados

Os dendrogramas com os descritores morfológicos qualitativos, quantitativos e moleculares encontram-se na Fig 2.

Para os descritores norfológicos qualitativos formaramse dois grandes grupos. O primeiro grupo alocou todos os triplóides AAB e AAA e a FHIA-21 (AAAB), sendo essa cultivar agrupada juntamente com a Thap Maeo (AAB), enquanto a Caipira e Nam (AAA) ficaram no mesmo subgrupo. O segundo grupo ficou representado pelos tetraplóides (AAAB), enquanto o tetraplóide AAAA, representado pela Bucaneiro, ficou em um subgrupo isolado (Fig. 2A). De forma geral, os descritores morfológicos qualitativos agruparam os genótipos que apresentavam grau de parentesco como ocorreu nos agrupamentos dos cultivares (FHIA-01, PA42-44 e FHIA-18) e (Preciosa, Garantida e Pacovan Ken).

Para os descritores quantitativos (Fig. 2B), nota-se que não houve uma coincidência nos agrupamentos em relação a ploidia e constituição genômica. Porém, para os cultivares Preciosa, Garantida e Pacovan Ken, estes apresentaram comportamento semelhante aos demais descritores avaliados, indicando que além da uniformidade morfológica houve também uma uniformidade das características agronômicas.

Os descritores de microssatélites separaram os genótipos em função da constituição genômica e da origem. No primeiro grupo ficou a FHIA-21 (um plátano AAAB), no segundo grupo, as cultivares do grupo AAA representadas pela Caipira e Nam e no terceiro grupo, ficaram as cultivares Bucaneiro (AAAA), Thap Maeo (AAB), as cultivares AAAB, meio-irmãs, representadas pelos subgrupos (PA42-44 e FHIA-01) e pelos subgrupos (Pacovan Ken, Garantida e Preciosa) e (FHIA-18 e Tropical) (Fig. 2C).

As cultivares aparentadas, Pacovan Ken, Garantida e Preciosa, apresentaram uma baixa dissimilaridade com ambos os descritores morfológicos e moleculares. O resultado da amplificação com 18 primers via RAPD, reforça ainda mais a alta similaridade genética desses cultivares. Foi possível verificar que apenas o cultivar Preciosa apresentou bandas características, enquanto a Garantida e a Pacovan Ken não diferiram para alguns primers avaliados (Fig. 3).

#### Discussão

Os descritores utilizados mostraram-se eficientes na caracterização da maioria dos genótipos avaliados. Porém, percebe-se que uma baixa taxa de dissimilaridade entre as cultivares Preciosa, Pacovan Ken e Garantida, hibridos de Pacovan; e as cultivares PA42-44, FHIA-01 e FHIA-18 hibridos de Prata Anã, o que era esperado, visto que possuem como background comum o diploide M53. Essa tendência está de acordo com o que afirma [7] onde as variedades derivadas de outras apresentaram maior dificuldade de distinção, necessitando de outros descritores, além dos morfológicos, que complementem sua caracterização.

Os marcadores SSR mostraram-se eficientes em separar alguns cultivares aparentados, porém os híbridos tetraplóides Garantida, Preciosa e Pacovan Ken respectivamente, resultantes dos cruzamentos dos cultivares (AAB) Prata São Tomé e Pacovan e com o genitor masculino diplóide M53 (AA), ficaram agrupados conforme também observados os outros descritores utilizados. Vale a pena ressaltar que os cultivares Preciosa e Pacovan Ken são irmãos completos e que a 'Pacovan' é uma mutação da 'Prata' intensificando assim o grau de parentesco entre os genótipos. Morfologicamente existem poucas diferenças entre essas três variedades. Assim, a utilização de novos primers e/ou marcadores poderá distinguir melhor essas cultivares.

# Agradecimentos

À Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, À CAPES e À FAPESB pelo apoio financeiro na realização desse trabalho.

## Referências

- SHEPHERD, K. Taxonomia e caracterização de cultivares de banana. Cruz das Almas, BA: Embrapa CNPMF, 1984. 5p.
- [2] IPGRI International Plant Genetic Resources Institute. Descriptors for banana (Musa spp.). Roma: IPGRI, 1996, 55p.
- [3] MILLACH, S.C.K. Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas. Disponível em: <a href="https://www.cpatsa.embrapa.br/livrorg/marcadormolecular.doc">www.cpatsa.embrapa.br/livrorg/marcadormolecular.doc</a>. Acessado em 07 de agosto de 2004.
- [4] DECROOCQ V., HAGEN L.S., FAVÉ M.G., EYQUARD J.P., PIERRONNET A. Microsatellite markers in the hexaploid Prunus domestica species and parentage lineage of three European plum cultivars using nuclear and chloroplast simplesequence repeats. Molecular Breeding, v.13, p.135–142, 2004.
- [5] CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphism in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. Plant Molecular Biology Reporter. v. 19, p. 299 – 306, 2001.
- [6] JESUN, O. N. Caracterização morfológica e molecular de cultivares de bananeira. Dissertação de Mestrado: Recife-PE: Universida de Federal Rural da Bahia, 87p. 2006.
- [7] PRIOLLI, R.H.G.; MENDES-JUNIOR, C.T.; ARANTES, N.E.: CONTEL, E.P.B. Characterization of Brazilian soybean cultivars using microsatellite markers. Genetics and Molecular Biology, v.25, n.2, p.185-193, 2002.





Figura 1. Detalhamento da planta com algumas características avaliadas.

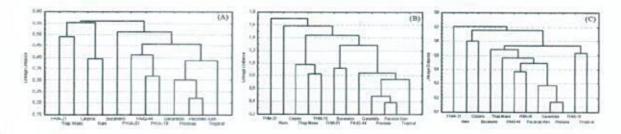


Figura 2. Dendograma das dissimilaridades observadas das relações genéticas entre cultivares e híbridos de bananeira obtido descritores qualitativos (A), quantitativos (B) e microssatélites (B).



Figura 3. Amplificação com 18 primers RAPD para as cultivares de bananeira Preciosa (1), Garantida (2) e Pacovan Ken (3). M = Marcador de 1kb. OPC-04 não amplificou. As setas indicam a presença ou ausência de bandas polimórficas.