

CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DE MUTANTES DE BANANEIRA ‘PACOVAN’

Rosa Karla Nogueira Pestana¹; Edson Perito Amorim²; Cláudia Fortes Ferreira²; Vanusia Batista de Oliveira Amorim²; Larissa Santos Oliveira³; Carlos Alberto da Silva Ledo²; Sebastião de Oliveira e Silva²

¹ MSc. em Recursos Genéticos Vegetais. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua Rui Barbosa s/nº. CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. Email: karapestana6@yahoo.com.br.

² Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa s/nº. CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. E-mail: edson@cnpmf.embrapa.br.

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

INTRODUÇÃO

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

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

MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, 179 plantas de bananeira da cultivar Pacovan, provenientes de gemas *in vitro* irradiadas, no CENA/USP, com raios gama na dose de 20 Gy, foram avaliadas em dois ciclos de produção na Embrapa/CNP MF, juntamente com outras 36 testemunhas, quanto as seguintes características agronômicas: número de dias do plantio ao florescimento, do plantio à colheita e do florescimento à colheita; diâmetro do pseudocaule

(cm); altura da planta (m); número de folhas vivas na floração e de filhos; peso do cacho (kg), de pencas (kg) e peso médio de frutos (g); número de frutos por cacho; comprimento do fruto da segunda e da penúltima penca (cm); diâmetro do fruto da segunda penca e da penúltima penca (mm); número de pencas e de folhas vivas na colheita; comprimento do engaço (cm); diâmetro de engaço (mm); presença de Sigatoka-amarela na floração e na colheita; cor do pseudocaule; cor da nervura principal; forma da roseta; cor dos brotos; cor da borda do pecíolo; abertura da base do pecíolo e posição das folhas. Posteriormente, as plantas irradiadas foram submetidas a uma etapa de seleção visando selecionar 10% das melhores classificadas quanto aos caracteres: menor altura de planta, maior peso do cacho e menor número de dias do plantio à floração.

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

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

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

Seqüência do primer ISSR¹: R: A, G; Y: C, T

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

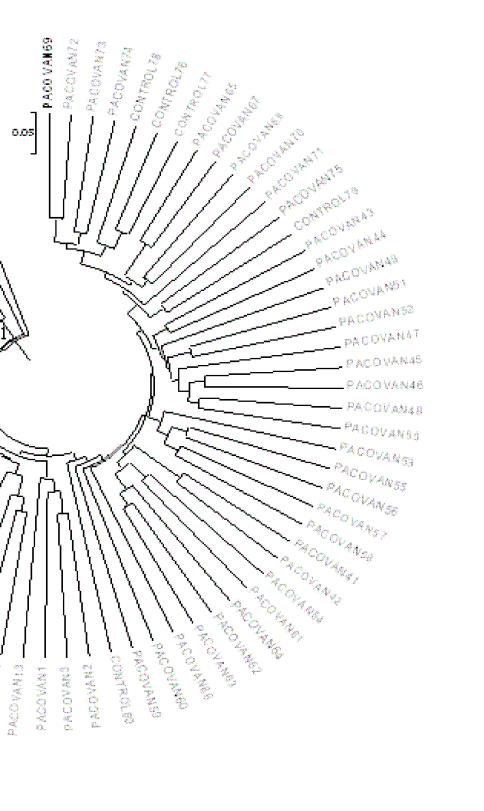


Figura 1. Dendrograma construído com 75 mutantes putativos de 'Pacovan' e cinco controles com 21 características quantitativas, seis multicategóricas e 186 dados binários (marcadores ISSR) pelo algoritmo de Gower. O dendrograma foi construído usando o método UPGMA e o software MEGA-4.

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

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

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

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

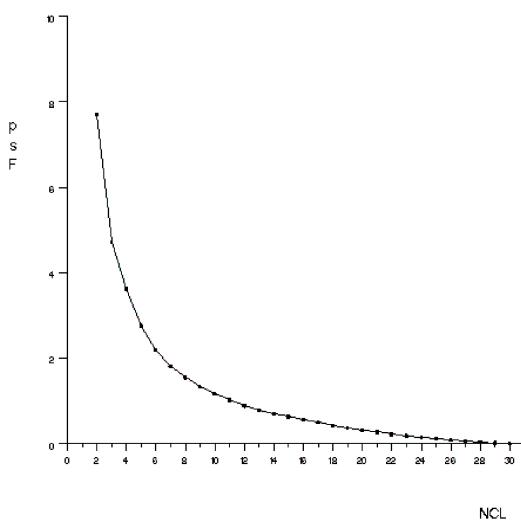


Figura 2. Critérios do Pseudo-F e Pseudo-t2 com o número ideal de grupos (2-3), utilizando a metodologia de Ward-MLM-Software SAS (SAS Institute, 2001).

CONCLUSÃO

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FANG, D.Q, ROOSE, M.L (1997) Identification of closely related citrus cultivars with intersimple sequence repeat markers. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 408-417.

FRANCO, J; CROSSA, J; VILLASEÑOR, J; TABA S; EBERHART, SA (1998) Classifying genetic resources by categorical and continuous variables. *Crop Sci* 38: 1688-1696.

SAS Institute Inc. (2001) SASs user's guide: statistics. SAS Institute, Cary, North Carolina.