

## ASPECTOS DO MELHORAMENTO GENÉTICO DA BANANEIRA

GILBERTO KEN-ITI YOKOMIZO

### O MELHORAMENTO GENÉTICO

Para compreender os avanços da agricultura, inicialmente deve-se conhecer o significado de melhoramento genético, que seria uma fusão entre a arte e a ciência, conforme conceituação apresentada por Ferh (1987). No seu surgimento em épocas remotas era uma arte, pois, quando o homem deixou de ser nômade e passou a ser sedentário, ao perceber que poderia plantar e cultivar alguns vegetais através das sementes e/ou propágulos mais promissores, manteve os mais importantes para a propagação da espécie. Como ciência, o melhoramento iniciou-se a partir do momento em que os pesquisadores introduziram a metodologia científica no processo, cujo principal objetivo seria realizar as melhores combinações genéticas visando obter produtos que satisfizessem as necessidades humanas. De uma forma simplificada,

seria uma evolução direcionada conforme as necessidades do homem, visando principalmente suprir sua alimentação. Esta atividade é extremamente importante pela necessidade de se aumentar as produções em termos quantitativos em resposta ao aumento da população humana e mais recentemente em resposta ao surgimento de novas doenças e pragas; além da necessidade de valores nutricionais superiores, exigidos pelos mercados.

O melhoramento genético das plantas geralmente tem como objetivo atuar em caracteres economicamente importantes, visando a identificação e a seleção de genótipos com características superiores, como melhor vigor e germinação das sementes; maior precocidade na produção; menor exigência de água, nutrientes e qualidade do solo, utilizando, com isso, da melhor forma, os elementos à disposição da planta, ou também com caracteres que garantam maior qualidade de sua produção.



O melhoramento genético é uma ciência biológica, indicando que não existem métodos científicos fixos e únicos para que os objetivos propostos sejam atingidos, podendo, entretanto, adotarem-se diferentes estratégias para que os objetivos específicos possam ser atingidos, pois cada indivíduo tende a interagir de maneira diferente com os fatores bióticos e abióticos do ambiente. Desta forma, o melhorista deve avaliar criticamente cada situação para otimizar os recursos disponíveis, permitindo alcançar os objetivos da melhor maneira possível.

## GERMOPLASMA E PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS

O processo evolutivo da maioria das cultivares de banana ocorreu no Continente Asiático, iniciando-se com base em espécies selvagens *Musa acuminata* Colla e *M. balbisiana* Colla, cujas variedades apresentam diferentes níveis de autopoliploidia (di, tri ou tetraploides), com 22, 33 ou 44 cromossomos, em combinações dos grupos gênicos A (*M. acuminata*) e B (*M. balbisiana*) (SIMMONDS; SHEPHERD, 1955).

Em função do desequilíbrio da meiose, uma cultivar triploide apresenta baixa fertilidade feminina, e produz embriões e híbridos possuindo entre 22 e 33 cromossomos (sacos embrionários com 11 e 22 cromossomos, mais 11 cromossomos do pólen haploide), bem como embriões e híbridos com 44 cromossomos (33 mais 11) ou até 77 cromossomos (duas vezes 33 mais 11), porém, em termos práticos, os híbridos tetraploides contendo 44 cromossomos são os mais desejados, com potencial para serem utilizados como cultivares para produção de frutos comestíveis com valor comercial. Neste tipo de híbrido o pólen contribui com apenas um quarto do resultado do cruzamento, desta forma sua ação é

apenas de implantação de características adicionais (BRAZ, 2008). Assim, o híbrido tetraploide concentra na média 75% das características do parental feminino triploide, inclusive aquelas relacionadas às características organolépticas do fruto (DANTAS et al., 1993; SILVA et al., 1996, 1997a, 1997b, 1998).

Os mais importantes grupos genômicos e seus respectivos representantes no Brasil são: grupo genômico AAB, com as cultivares Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore e Terra; grupo AA e AAA representados, respectivamente, pela ‘Ouro’ e pelas cultivares Caru Verde, Caru Roxa, São Tomé, Nanica, Nanicão e Grande Naine. Os grupos AB, AAAB e AAAA, embora presentes não apresentam cultivares de destaque (CARVALHO, 1996; CARVALHO et al., 1996; SILVA; SHEPHERD, 1991; SILVA et al., 1997c).

Nas diversas formas selvagens da espécie *Musa acuminata* encontra-se variabilidade genética importante para o melhoramento genético, sendo que esta espécie engloba sete subespécies bastante distintas morfológicamente (SHEPHERD et al., 1986). Também promissores existem os acessos de diploides (AA), segundo Dantas et al. (1993) e Carvalho (1996), englobando as espécies silvestres Calcutta, Madang e Malaccensis; cultivares Lidi, Sinwobogi, Tjau Lagada, Tuu Gia e Heva e híbridos M-48, M-53, M-61, F<sub>2</sub>P<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>P<sub>4</sub> (Tabelas 1 e 2), e de cultivares triploides (AAB) que apresentam boas características agronômicas e/ou resistência/tolerância a pragas e doenças, a exemplo da Pacovan, Prata Anã, Caipira, Thap Maeo, já recomendadas aos agricultores e Figue Pome Naine cultivar tipo ‘Maçã’ com porte baixo (SILVA et al., 1997c).

## CONSERVAÇÃO DE GEMOPLASMA

Os recursos genéticos disponíveis são responsáveis pela presença da variabilidade



**Tabela 1.** Características de genótipos diploides (AA) de plantas de bananeiras usadas na fase inicial do programa de melhoramento. Embrapa Mandioca e Fruticultura, BA, 1993.

Genótipo	Altura da Planta	Número de frutos/cacho	Comprimento dos frutos (cm)	Reação à doença <sup>1</sup> .		
				Mal do Panamá	Sigatoka Amarela	Sigatoka Negra
Calcutta	Baixa	120	8	R	R	R
Madang	Alta	130	12	R	MR	-
Malaccensis	Baixa	170	8	-	R	-
Lidi	Baixa	90	11	R	R	MR
Sinwobogi	Média	100	10	-	S	-
Tjau Lagada	Alta	180	9	R	S	MR
Tuu Gia	Média	70	18	R	R	R
Heva	Média	60	17	S	MR	MR

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

Fonte: Dantas et al. (1993), adaptada pelo autor.

**Tabela 2.** Características de bananeiras diploides (AA) híbridas introduzidas em 1995. Embrapa Mandioca e Fruticultura, BA, 1995.

Genótipo	Altura da Planta	Número de frutos/cacho	Comprimento dos frutos (cm)	Reação à doença <sup>1</sup> .		
				Mal do Panamá	Sigatoka Amarela	Sigatoka Negra
M-48	Alta	140	18	R	R	MR
M-53	Alta	170	16	R	R	MR
M-61	Média	180	16	R	R	-
F <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	Média	96	12	-	R	-
F <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	Média	80	13	-	R	-

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

Fonte: Carvalho (1996), adaptada pelo autor.

de genética necessária aos programas de melhoramento genético, por este motivo a conservação e a manutenção de coleções de germoplasma in situ e ex situ são extremamente importantes. Contudo, apresentam altos gastos, elevada quantidade de atividades e estão sujeitas a perdas de acessos (erosão genética) em decorrência de diversos

problemas, como alterações ambientais em algumas ocasiões inadequadas e possíveis incidências de doenças e pragas. Um problema existente em quase todos os materiais de banana é o de não produzirem sementes e, portanto, não poderem ser mantidas em um banco de sementes convencional. Desta forma, uma alternativa seria a conservação in vi-



tro, por apresentar como vantagem adicional a de possibilitar a manutenção de um grande número de acessos em um pequeno espaço físico, sem riscos causados por fatores bióticos e abióticos. Porém, tendo como desvantagens, possíveis problemas como risco de perda de acessos devido à contaminação ou falha humana, perda do potencial morfogênico e a possibilidade da ocorrência de variação somaclonal durante o processo de cultivo, embora a estocagem em condições de crescimento mínimo ajude a reduzir a frequência de mutações (SANTOS-SEREJO et al., 2006).

No INIBAP Transit Centre (ITC), está localizada a maior coleção internacional in vitro de germoplasma de *Musa*, com mais de 1.100 acessos, sob condições de crescimento mínimo ( $15^{\circ}\text{C} - 18^{\circ}\text{C}$  e 2000 lux) na forma de microplantas, com 20 repetições de cada acesso (DOLEZELOVÁ et al., 2005; VAN DEN HOUVE et al., 1995). O ITC é o “órgão” responsável pela manutenção de bancos de germoplasma de banana em termos mundiais, situado na Bélgica, e ligado a International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP), rede internacional destinada ao melhoramento de plantas, pertencente a Bioversity International, com sede na França. Também existe a conservação do germoplasma em temperaturas ultrabaixas ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) usando nitrogênio líquido que é a criopreservação, quando se deseja a conservação por longos períodos, uma vez que nestas condições a maioria dos processos bioquímicos e físicos estão paralisados (PANIS, 1995; PANIS et al., 1996; PANIS; THINH, 2001), mas ainda existem diversas espécies que ainda não apresentam protocolos definidos.

## HERANÇA GENÉTICA DOS PRINCIPAIS CARACTERES

Mesmo com os problemas devido à baixa, e em alguns casos até mesmo a ausência da

produção de sementes nos cruzamentos de bananeira, as heranças da presença de cera no pseudocaule, persistência das brácteas masculinas e flores hermafroditas na ráquis, partenocarpia do fruto, esterilidade, nanismo, dominância apical e albinismo já foram estudadas, concluindo-se ser tais características governadas por um ou poucos genes (ORTIZ, 1995).

O caráter esterilidade masculina em híbridos diploides de plátano pode ser devido à interação de pelo menos três genes recessivos nucleares da banana com o citoplasma do plátano. Razão típica de cruzamento teste (em termos de fertilidade ou ausência de fertilidade) do macho é esperada quando o híbrido (plátano x banana) é usado como fêmea. No entanto, quando se usa Calcutta como parental feminino não se observa segregação (sendo todos machos estéreis). Portanto, pode-se concluir que a esterilidade em *Musa* é uma característica genômica, cromossômica (numérica e estrutural) e ocasionada geneticamente (FOURÉ et al., 1993).

Segundo Dodds e Simmonds (1948), o desenvolvimento de fruto partenocárpico em bananeiras diploides ocorre devido à ação de um gene dominante denominado como P. O grau de partenocarpia, contudo, também é afetado pela ação de alelos modificadores. A presença de três genes dominantes (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> e P<sub>3</sub>), segundo Simmonds (1953), estariam envolvidos no controle desta característica nos cruzamentos entre bananeiras selvagens e cultivadas.

Para a genética da resistência às principais pragas e doenças da bananeira, na sigatoka-amarela há evidências de existirem dois componentes de resistência, o de maior intensidade, com controle genético, afeta a latência da infecção, enquanto o de menor intensidade é um tipo de resistência de campo baseada numa maior velocidade de produção



de folhas, possibilitando a permanência de uma maior área foliar verde (SHILLINGFORD, 1974). A base genética para a resistência é extremamente complexa, com a presença de genes recessivos que sejam parcialmente responsáveis pela resistência de *Musa acuminata* selvagem, acrescentando-se que parentais altamente suscetíveis podem gerar híbridos resistentes (SHEPHERD, 1990).

A herança da resistência à sigatoka-negra é governada por três locos com efeitos recessivos/aditivos em plátanos e Calcutta 4. O modelo consiste em um gene principal (alelo dominante para suscetibilidade à doença) e outros dois locos independentes de efeitos menores, com efeitos aditivos favoráveis. Fenótipos moderadamente resistentes correspondem a alelos homozigotos recessivos/favoráveis nos três locos. O alelo dominante apresenta-se sempre presente no híbrido diploide suscetível. A homozigosidade para o alelo recessivo de menor efeito proporciona suscetibilidade quando um ou dois locos aditivos de efeito menor são homozigotos. O efeito favorável do alelo para resistência é contrabalançado pelo efeito negativo do alelo de suscetibilidade em cada loco aditivo de efeito menor. Um efeito claro de dosagem genética tem sido observado em favor das progênies tetraploidoides com alta frequência de híbridos com resistência (ORTIZ; VUYLSTEKE, 1992a, 1992b). A alta resistência tem ocorrido somente em genótipos AA e AAA. Com a avaliação de progênies autofecundadas de M53 (híbrido diploide AA), observou-se que, embora a alta resistência seja mascarada nos parentais, ela foi dominante na geração F1 e que da interação entre resistências, a parcial foi dominante em relação à alta resistência (FOURÉ, 1993). No trabalho de Rowe (1984) o resultado obtido foi de que a resistência em *M. acuminata malaccensis* à sigatoka-negra é controlada por vários genes dominantes.

A imunidade ao mal-do-panamá, segundo Larter (1947), apresenta controle por um gene dominante em descendentes de tetraploidoides obtidos pelo cruzamento de Gros Michel com acessos diploidoides. O estudo da segregação em progênies derivadas do cruzamento entre três espécies de *Musa* sp. suscetíveis com a Pisang Lilin (Lidi) sugeriu também a presença de um único fator dominante para a resistência à raça 1 em Lidi (VAKILI, 1965), mas para a raça 4 a característica parece estar sob a regulação de fatores poligênicos (ROWE, 1991).

Rowe e Richardson (1975) relataram que a resistência de *M. acuminata* ao moko, em bananeira, era controlada por fatores recessivos. No entanto, constatou-se que a resistência para a raça que ataca o tomate era dominante em *M. acuminata* subsp. banksii, e recessiva em *M. acuminata* subsp. microcarpa (VAKILI, 1965).

## MELHORAMENTO GENÉTICO DA BANANEIRA

O melhoramento genético da bananeira teve seu início no final da década de 1920, em Honduras, Trinidad e Jamaica, como reflexo da necessidade de serem obtidos materiais que pudessem ser utilizados em locais com a presença da murcha de fusarium ou mal-do-panamá (SHEPHERD, 1992). Sendo que no começo da década de 1930 consegue-se produzir o primeiro tetraploide a partir do cruzamento de uma cultivar triploide AAA (Gros Michel) com um diploide AA (selvagem), permitindo-se adotar um sistema de hibridação para o melhoramento de algumas cultivares triploidoides de banana e também de diploidoides (AA), que continua sendo universalmente usado com resultados satisfatórios (SANTOS-SEREJO et al., 2006).

Com o desenvolvimento da bananicultura, semelhante às demais culturas vegetais, esta espécie tem sido afetada em grande escala pela falta de resistência a fatores abi-



óticos e bióticos, principalmente os agentes patogênicos como fungos, bactérias, nematoides e vírus, levando a grandes problemas de manutenção e expansão das áreas de cultivo devido à falta de cultivares resistentes. Além da pequena quantidade existente de cultivares que combinem resistência e excelentes características organolépticas, tem-se que os principais genes de resistência às principais doenças, como sigatoka-negra, sigatoka-amarela e mal-do-panamá estão presentes em diploides não cultivados (BAKRY et al., 1997) e, ainda pouco é conhecido sobre o tipo de herança envolvendo os caracteres atualmente necessários de resistência, causando dificuldades na transferência dessas características para gerar materiais comerciais triploides através da hibridação (SILVA et al., 2001, 2004).

O esquema adotado pelo melhoramento convencional utiliza o genótipo diploide (AA) como parental que irá contribuir com resistência às diversas doenças existentes, tais como: mal-do-panamá, sigatoka-amarela, sigatoka-negra e moko, com outras características desejáveis. O objetivo do melhoramento do germoplasma AA é, portanto, agrupar em um mesmo genótipo, o maior número possível de características favoráveis, como a partenocarpia, elevado número de frutos e pencas, maior comprimento de frutos, boa formação de cachos e resistência às pragas, doenças e aos nematoides, para posteriormente tentar transferi-las às variedades triploides comerciais, mediante a síntese de tetraploides (DANTAS et al., 1993; SILVA et al., 1996, 1997a, 1997b, 1998). Sendo que a principal linha de pesquisa no melhoramento genético de bananeira realizado no Brasil é baseada principalmente na produção de tetraploides AAAB, oriundos de cruzamentos de diploides melhorados (AA) com triploides AAB dos tipos Prata e Maçã. Tendo como ob-

jetivos desenvolver variedades resistentes a doenças, pragas e nematoides; redução do porte; precocidade; aumento da produtividade; resistência ao desprendimento do fruto; e qualidade pós-colheita (SILVA et al., 2003).

As variedades de banana existentes com os mais variados tipos de resistências de interesse, apresentam principalmente problemas nos aspectos que são desejáveis numa cultivar comercial como aparência, sabor e textura do fruto para o consumidor, produtividade, resistência à seca, porte e resistência ao frio, sendo restrito o número de cultivares com potencial para atender ao mercado. No Brasil temos como principais cultivares: Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola, pertencentes ao grupo AAB, utilizadas unicamente para o mercado interno e Nanica, Nanicão e Grande Naine, pertencentes ao grupo AAA, usadas principalmente no mercado para exportação (SILVA et al., 2003). As cultivares Prata, Prata Anã e Pacovan são responsáveis por aproximadamente 60% da área cultivada com banana no Brasil (SILVA et al., 2001).

O principal problema existente no processo do melhoramento convencional da bananeira é primordialmente a ausência de sementes, devido à inexistência de pólen viável ou, talvez, de polinizadores naturais eficientes. As cultivares que não produzem sementes quando polinizadas ou aquelas que as produzem em pequena quantidade podem ser tanto diploides quanto triploides. A ausência de sementes pode estar relacionada ao processo de seleção agronômica aplicada à espécie pelo homem desde os tempos remotos, podendo ser, portanto, um reflexo do processo de domesticação da espécie (SHEPHERD et al., 1986). Sendo possível observar que as cultivares do subgrupo Cavendish não produzem sementes quando polinizadas com diploides, enquanto que na 'Maçã', as poucas



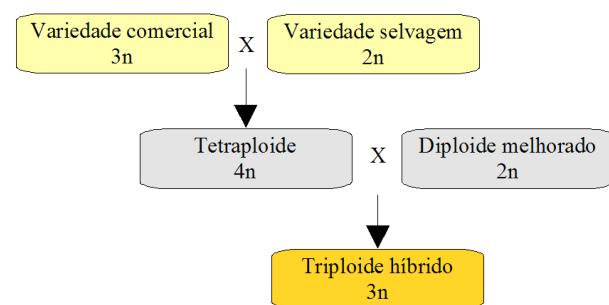
sementes produzidas não germinam (BRAZ, 2008). Para contornar problemas desta natureza, técnicas não convencionais de melhoramento foram sendo desenvolvidas com o passar do tempo, (a exemplo das transformações genéticas, tais como: mutação, hibridação somática e duplicação do número de cromossomos dos diploides) (GANRY, 1993).

Pois segundo Santos-Serejo et al. (2006), o melhoramento convencional realiza cruzamentos planta a planta, enquanto que a transformação genética tem como vantagem permitir a introdução de uma ou mais características em uma variedade mantendo-se as principais já existentes, modificando-se apenas aquela que se deseja corrigir. Assim, as técnicas de transformação genética apresentam-se como uma valiosa ferramenta na introdução de novos caracteres ausentes, no “pool” gênico original da *Musa spp.* e no melhoramento de cultivares comerciais que apresentem limitações ao melhoramento convencional, como as cultivares do subgrupo Cavendish.

Um programa de melhoramento genético importante e interessante, por ser relativamente simples, é adotado pelo International Institute of Tropical Agriculture (IITA), situado na Nigéria, que tem sido financiado, primordialmente, com recursos do Consultative Group on International Agricultural Research (CGIAR), que tem sede nos Estados Unidos, sendo um sistema ancorado no Banco Mundial, e que integra 16 centros de investigação internacionais, especialmente vocacionados para a resolução da maioria dos problemas relacionados com a segurança alimentar das populações dos países em desenvolvimento.

Trata-se, assim, de um sistema fortemente orientado para a cooperação para o desenvolvimento que reúne um conjunto de governos, fundações e outros atores institucionais que procuram, através do

fomento da investigação agrícola internacional, promover o desenvolvimento sustentável, diminuir a pobreza, reduzir os problemas da fome e proteger o ambiente, sendo a banana uma das culturas contempladas e cujo esquema básico de melhoramento é apresentado na Figura 1, podendo ser adotado facilmente pelos programas de pesquisas.



**Figura 1.** Esquema do melhoramento genético de bananeira adotado pelo IITA.

Fonte: Pillay (2009), adaptada pelo autor.

Pesquisas objetivando a obtenção de bananeiras transgênicas, também foram iniciadas no início da década de 1990, focalizando principalmente o subgrupo Cavendish. Desde então, vários relatos sobre otimização de sistemas de transformação têm sido apresentados, através da eletroporação (SAGI et al., 1994), por bombardeamento de partículas (BECKER et al., 2000; HOULLOU-KIDO et al., 2005; MATSUMOTO et al., 2002; SAGI et al., 1995) e pela utilização de Agrobacterium (ACERETO-ESCOFFIÉ et al., 2005; GANAPATHI et al., 2001; KHANNA et al., 2004; MAY et al., 1995; PINEDA et al., 2002), tanto em cultivares do grupo genômico AAA quanto nas do grupo AAB. O quantitativo de indivíduos que é obtido nos processos de transformação é altamente variável, sendo entretanto, dependente do genótipo empregado e do ajuste de protocolos para cada material utilizado (ARI-NAITWE et al., 2004).



A cultura de embriões é também uma técnica que pode ser utilizada como suporte ao programa de melhoramento genético, visando aumentar a percentagem e uniformidade de germinação dos híbridos obtidos, superando as dificuldades naturais devido à insuficiência de endosperma, que torna inviável a germinação da semente. Sua utilização tem maior importância naqueles cruzamentos que envolvem as cultivares comerciais como genitores femininos (SANTOS-SEREJO et al., 2006). Porém, tais materiais produzem poucas sementes, em grande parte inviáveis quando semeadas em vasos com substratos convencionais. Assim, um maior número de plantas pode ser recuperado pelo cultivo in vitro, embora essa técnica torne-se ineficiente na recuperação de híbridos sem endosperma e embriões muito deficientes (NEVES, 1998; SHEPERD et al., 1994).

## TÉCNICAS EMPREGADAS NO MELHORAMENTO GENÉTICO DA BANANEIRA

### A MICROPROPAGAÇÃO

A cultura de embrião em plantas teve seus estudos iniciados para o desenvolvimento de protocolos há cerca de 50 anos (COX et al., 1960), sendo uma ferramenta básica para o melhoramento clássico, vislumbrando possibilidades de uso naquela época também na bananeira, pois o cruzamento entre cultivares (triploides ou tetraploides) com diploides resulta em frutos com poucas sementes e adicionalmente com baixa viabilidade e, portanto, uma frequência de germinação extremamente baixa, devido aos seguintes fatores: má formação do embrião, ausência de endosperma, tegumento da semente mal desenvolvido ou ausência do embrião ainda que o endosperma e a

região chalazal estejam completamente desenvolvidos (VUYLSTEKE; SWENNEN, 1993). Com o auxílio do cultivo de embriões, a taxa de germinação pode ser aumentada em dez vezes ou mais, segundo Vuylsteke et al. (1990) e Asif et al. (2001), permitindo o resgate de uma maior quantidade de híbridos.

As técnicas de propagação de bananeira in vitro foram desenvolvidas no início da década de 1980 (BANERJEE; DE LANGHE, 1985; CRONAUER; KRIKORIAN, 1984) e atualmente têm os protocolos definidos para a espécie, apresentando como vantagens a produção e a clonagem em grande escala de plantas livres de pragas e doenças, em qualquer época do ano e com economia de tempo e espaço.

A principal vantagem desta técnica é a alta quantidade de mudas obtidas em relação ao tempo gasto na produção das mesmas, pois no processo natural são necessários 12 meses para obtenção de apenas 15 a 30 mudas, cerca de dez vezes mais mudas são obtidas em quase metade do tempo mediante a micropropagação em meio de cultura semissólido (ALVES et al., 2004), sendo que a taxa de multiplicação pode ser ainda maior quando se utiliza um sistema de biorreator de imersão temporária em meio líquido (ALVARD et al., 1993; MATSUMOTO; BRANDÃO, 2002; ROELS et al., 2005, 2006).

As mudas obtidas pelo processo de micropropagação são importantes por poder agilizar os replantios, obtendo estabelecimento mais rápido, crescimento mais vigoroso, ciclo de produção mais curto e uniforme e maior produtividade em relação às mudas convencionais (ÁLVARES; CALDAS, 2002; ARIAS, 1993; DREW; SMITH, 1990; ROBINSON et al., 1993; VUYLSTEKE; ORTIZ, 1996; ZERDA, 1991).

Nos programas de melhoramento genético a micropropagação tem aplicações importantes por permitir a rápida multiplicação dos



genótipos selecionados, reduzindo o tempo para a realização de avaliações clonais e promovendo as trocas de cultivares de forma mais rápida pelos agricultores (ROWE; ROSALES, 1996; SILVA et al., 2001; VUYLSTEKE et al., 1997). Adicionalmente, a técnica tem sido utilizada na conservação e intercâmbio de germoplasma, assim como para indução de variação somaclonal (SANTOS-SEREJO et al., 2006).

#### USO DA VARIAÇÃO SOMACLONAL

Quando se realiza o cultivo *in vitro* podem surgir variações genéticas, que seriam as denominadas variações somacloniais, tornando-se indesejáveis seu aparecimento quando o objetivo for apenas a propagação ou conservação de germoplasma, porém, existe a possibilidade de utilidade para o melhoramento genético, a partir do momento em que for possível controlar os tipos e as frequências das variações, possibilitando o aparecimento de novos caracteres desejados.

O conhecimento dos mecanismos que venham a causar estas variações e, desta forma, permitir o controle do aparecimento ou não das mesmas, bem como o desenvolvimento de métodos de detecção precoce, são fatores importantes para a produção de mudas micropagadas de alta qualidade (SANTOS-SEREJO et al., 2006). A frequência do aparecimento de variação somaclonal pode ser afetada por diversos fatores, mas principalmente pelo tipo e pela concentração dos reguladores de crescimento e número de ciclos de subcultivo (acima de 5 a 6 subcultivos), entre outros (BAIRU et al., 2006; CÔTE et al., 1993).

Apesar de geralmente ser indesejável, a variação somaclonal poderia ser utilizada pelos programas de melhoramento como possível fonte de variabilidade superior,

porém na prática tem-se observado que ocorre o surgimento de características inferiores na maioria das vezes (CROUCH et al., 1998), assim como a frequência dos tipos de variação depende diretamente do genótipo (KHAYAT et al., 2004). A maioria das variações somacloniais observadas no subgrupo Cavendish (AAA) são para alterações no porte, o que está associado com a sensibilidade ao ácido giberélico (REUVENI et al., 1996). Também foram gerados variantes somacloniais resistentes à raça 4 de *Fusarium oxysporum* (HWANG; KO, 1988, 2004) e à sigatoka-amarela (VIDAL; GARCÍA, 2000; TRUJILLO; GARCÍA, 1996). Este último, o somaclone CIEN BTA-03, além de ser resistente à sigatoka-amarela, apresenta frutos com características superiores aos do clone parental ‘Williams’ (EMALDI et al., 2004). Em cultivares do grupo AAB, foram observados maiores variações na morfologia da inflorescência e do fruto (VUYLSTEKE et al., 1991). A variação somaclonal originada do cultivo *in vitro* de meristemas pode representar apenas uma fração da variação que poderia ser gerada mediante a regeneração de plantas a partir de cultura de células e protoplastos de diferentes explantes (CROUCH et al., 1998).

#### APLICAÇÃO DA MUTAGÊNESE *IN VITRO*

As mutações ocorrem causando o aparecimento de novos alelos, que tornam-se matéria-prima para novas combinações genéticas, passíveis de serem herdados, e representam a base genética das variações (GRIFFITHS et al., 2006).

A indução de mutação em bananeira com o emprego da radiação gama em gemas adventícias apresenta maiores taxas de variações fenotípicas comparativamente à técnica



da variação somaclonal (DOMINGUES et al., 1994; GARCIA et al., 2002; TULMANN NETO et al., 1995).

Champion, antes do ano de 1963, sugeriu o uso de mutagênicos físicos no melhoramento genético de bananeiras (BROERTJES; VAN HARTEN, 1988). Embora somente duas cultivares de banana sejam registradas na base de dados de variedades mutantes, denominadas de 'Klue Hom Thong KU1' (cachos e frutos maiores) e 'Novaria' (Grande Naine precoce), ambas obtidas com raios gama em explantes in vitro no final da década de 1980 (FAO, 2008; ROUX, 2004).

Vários trabalhos relatam sobre a obtenção de mutantes para diferentes características, destacando-se a resistência à murcha de fusarium (EPP, 1987; BHAGWAT; DUNCAN, 1998; HO et al., 2001; SMITH et al., 1994) e resistência à sigatoka-negra (PÉREZ PONCE; ORELLANA, 1994). Também existem citações sobre materiais com tolerância ao alumínio (MATSUMOTO; YAMAGUCHI, 1991), tolerância à salinidade (KIDO, 2003), precocidade, porte baixo e maior rendimento (HIRIMBURREGAMA et al., 2004; JAMALUDDIN, 1994; RESENDE, 2005).

## IMPORTÂNCIA DA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA

A primeira citação existente sobre embriogênese somática em bananeira pertence aos pesquisadores Cronauer e Krikorian (1983), obtendo-se a partir de suspensões celulares derivadas de ápices cultivados in vitro. A cultura de calos embriogênicos pode ser utilizada diretamente para a micropropagação de alguns genótipos que não apresentem responsividade adequada ao cultivo de meristemas (MORAIS et al., 2004) e para a transformação genética (ACERETO-ESCOFFIÉ et al., 2005), ou ainda ser cultivadas em meio

líquido para obtenção de suspensões celulares as quais têm diferentes aplicações, principalmente na transformação genética (GANAPATHI et al., 2001), na fusão de protoplastos (MATSUMOTO et al., 2002), na mutagênese (ROUX, 2004), na criopreservação (PANIS et al., 2004), na micropopulação (GÓMEZ-KOSKY et al., 2000) e na indução de variação somaclonal (CROUCH et al., 1998). A principal vantagem da transformação de células em suspensão é pela regeneração das plantas a partir de uma única célula, evitando a possibilidade da presença de quimeras, e a taxa de regeneração é pelo menos cinco vezes mais alta quando comparada ao cultivo de meristemas (SANTOS-SEREJO et al., 2006).

## PRINCÍPIOS DA HIBRIDAÇÃO SOMÁTICA

Todo melhorista que atua na bananicultura tem conhecimento que a esterilidade das sementes devido à composição triploide é um dos principais fatores que dificultam o progresso nos projetos pelos métodos convencionais. Uma possibilidade de contornar este problema seria o uso da técnica de fusão de protoplastos, que permite a combinação assexual do genoma de duas plantas diferentes (ASSANI et al., 2005).

A técnica pode ser otimizada para transferir características poligênicas ou de controle genético desconhecido, o que engloba a grande maioria dos caracteres de interesse econômico (produtividade, diversas resistências a pragas e moléstias, tolerância a estresses) (BINSFELD, 1999).

A fusão de protoplastos é uma técnica adequada para a produção de híbridos somáticos tetraploidados, que serão usados posteriormente como parentais em cruzamentos com diploides ou para a obtenção direta de híbridos somáticos triploidados mediante a



fusão de protoplastos haploides e diploides (ASSANI et al., 2003).

Em bananeira, até o momento, são poucas as citações sobre obtenção de híbridos somáticos, apesar do protocolo de regeneração de plantas a partir de protoplastos já ter sido estabelecido para determinados genótipos (ASSANI et al., 2001, 2002; MATSUMOTO; OKA, 1998; MEGIA et al., 1993; PANIS et al., 1993). O primeiro relato da obtenção de híbridos a partir da fusão de protoplastos foi realizado por Matsumoto et al. (2002) resultando da cultivar Maçã (AAB) e do diploide ‘Lidi’ (AA), via eletrofusão.

## UTILIZAÇÃO DA DUPLICAÇÃO DE CROMOSSOMOS

A indução da duplicação de cromossomos de diploides promissores e posterior cruzamento do autotetraploide obtido com um diploide elite (VAN DUREN et al., 1996), levando a obtenção de triploides secundários AAA é uma alternativa importante no melhoramento genético da bananeira. A indução de poliploidos pode ser obtida com o uso da colchicina em várias espécies de plantas, porém pouco é citado para a obtenção de poliploidos de bananeira *in vitro* (GANGA; CHEZHIYAN, 2002; HAMMIL et al., 1992; VAN DUREN et al., 1996). A duplicação dos cromossomos é resultante da substância em inibir a formação do fuso, particularmente com a tubulina e, consequentemente, impedindo a separação das cromátides irmãs na divisão da célula. Como resultado, tem-se uma duplicação do número de cromossomos por célula em cada processo mitótico (SANTOS-SEREJO et al., 2006).

A orizalina (3,5-dinitro-N<sub>4</sub>, N<sub>4</sub>-dipropilsulfanilamida), um herbicida dinitroanilina (DNH) que, de forma semelhante à colchicina, apresenta afinidade pela tubulina, uma subunidade da proteína do microtúbulo, é também uma inibidora de meiose utilizada em espécies de *Musa*

sp. (HUGDAHL; MOREJOHN, 1993). Este agente antimitótico induz tetraploidia em concentrações muito menores que as utilizadas para a colchicina (SREE RAMULU et al., 1991; WAN et al., 1991) devido à alta afinidade das dinitroanilinas pela tubulina e à estabilidade do complexo orizalina-tubulina (HART; SABINS, 1976; OKAMURA, 1980).

A estimativa de ploidia baseada na análise do número, tamanho e densidade dos estômatos (HAMMIL et al., 1992; VAN DUREN et al., 1996) é um método fácil, porém nem sempre é confiável devido a efeitos ambientais. A contagem de cromossomos constitui-se um método bastante útil, embora seja mais trabalhoso (DESAUW, 1988; GANGA; CHEZHIYAN, 2002; HAMMIL et al., 1992) e na atualidade pouca importância é dada a essas metodologias, nos projetos de pesquisa, para verificar a presença das inibições de meioses. Uma metodologia adotada para a verificação de ploidia em larga escala é a análise do conteúdo de DNA nuclear utilizando citometria de fluxo (DOLEZEL et al., 1994; VAN DUREN et al., 1996).

## TRANSGÊNICOS

Considerada uma metodologia de elevada eficiência e refletindo em redução do tempo e garantias de introdução de caracteres de interesse em materiais comerciais de diversas espécies, a produção de transgênicos tem sido pesquisada também para a bananicultura.

Uma das vantagens do uso de transgênicos em relação ao fluxo gênico em bananeiras é a ausência de produção de sementes nas cultivares comestíveis, sendo propagadas vegetativamente e sem segregação para o transgene obtido.

Um resultado importante de um transgênico em bananeiras foi a obtenção de plantas



expressando o gene HBsAg (Hepatitis B surface Antigen), revelando o potencial desta cultura para a produção de vacina contra a hepatite B, além disso a banana é um fruto interessante para a produção de várias vacinas comestíveis devido a sua digestibilidade e palatabilidade, principalmente para as crianças, e possibilidade de cultivo durante todo o ano nos trópicos e subtrópicos (SUNIL KUMAR et al., 2005). Uma referência importante e que deve ser aproveitada é da obtenção de plantas transgênicas expressando genes de resistência a *Fusarium oxysporum* (FocR4), agente causador do maldo-panamá (PEI et al., 2005), uma das doenças mais importante na bananicultura, e que pode ser importante para a geração de cultivares resistentes às principais doenças.

Sendo, portanto, uma técnica que está demonstrando elevado potencial para gerar materiais comerciais importantíssimos num futuro bem próximo.

## MELHORAMENTO GENÉTICO DA BANANEIRA NO ESTADO DO AMAPÁ

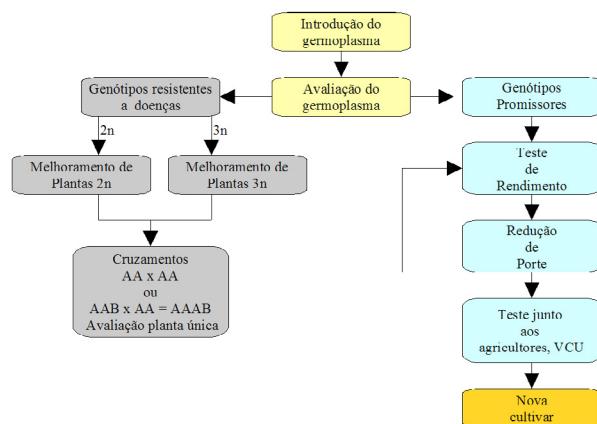
O melhoramento genético da bananeira teve seu início em experimento instalado em área de agricultor, no período de agosto de 2002 a setembro de 2005, na Colônia Agrícola do Matapi, no Município de Porto Grande, AP. Devido à necessidade de selecionar materiais que pudessem ser cultivados pelos pequenos agricultores e que apresentassem resistência à sigatoka-negra, que tem sido o principal fator limitante na atualidade no Amapá.

Foram estudados seis genótipos de bananeira, dois triploides, representados por Caipira (AAA) e Thap Maeo (AAB), um tetraploide PV03-44 (AAAB), obtidos no programa de melhoramento genético desenvolvido na Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Ba, cujo esquema básico do programa

de melhoramento segue o esquema apresentado na Figura 2 e, outros três tetraploides do tipo Prata (AAAB), representados por FHIA-01, FHIA-18 e FHIA-21, obtidos na Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), em La Lima, Honduras.

Tendo-se como resultados iniciais de que as variáveis Severidade (MPI) e Número de folhas viáveis (NFV) permitem clara avaliação da severidade da sigatoka-negra no campo; os genótipos resistentes apresentam no mínimo dez folhas viáveis, na floração; as cultivares Caipira, Thap Maeo, FHIA-01 e FHIA-18 são os genótipos mais promissores quanto à resistência à sigatoka-negra. A cultivar FHIA-01 destacou-se dos demais genótipos por apresentar maior peso de cacho (22,62 kg), seguido por FHIA-18 (17,06 kg) e THAP MAEO (16,25 kg), diferindo significativamente de FHIA-21 (14,61 kg), PV03-44 (11,52 kg) e Caipira (10,83 kg) e, a cultivar Thap Maeo apresentou porte alto; Caipira e FHIA-21, porte médio e PV03-44 e FHIA-18, porte baixo.

Maiores estudos são necessários para garantir que a bananicultura volte a ser uma das culturas de destaque no Amapá, garantindo uma produção sustentável. ■



**Figura 2.** Esquema do melhoramento genético de bananeira adotado pela Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Fonte: Silva et al. (2003), adaptada pelo autor.

## REFERÊNCIAS

- ACERETO-ESCOFFIÉ, P. O. M.; CHI-MANZARENO, B. H.; ECHEVERRÍA- ECHEVERRÍA, S.; GRIJALVA, R.; JAMES KAY, A.; GONZÁLEZ-ESTRADA, T.; CASTAÑO, E.; RODRÍGUEZ-ZAPATA, L. C. Agrobacterium-mediated transformation cv. "Grand Nain" scalps by vacuum infiltration. **Scientia Horticulturae**, v. 105, n. 3, p. 359-371, Jul. 2005.
- ALVARD, D.; COTE, F.; TEISSON, C. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 32, n. 1, p. 55-60, Jan. 1993.
- ÁLVARES, M. C.; CALDAS, L. S. Crescimento, produção e variação somaclonal em bananeiras micropagadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 415-420, mar. 2002.
- ALVES, É. J.; LIMA, M. B.; SANTOS-SEREJO, J. A.; TRINDADE, A.V. Propagação. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. (Ed.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2004. p. 59-86.
- ARIAS, O. Commercial micropropagation of banana. In: INTERNATIONAL NETWORK FOR THE IMPROVEMENT OF BANANA AND PLANTAIN. **INIBAP biotechnology application for banana and plantain improvement**. Montpellier, 1993. p.139-142.
- ARINAITWE, G.; REMY, S.; STROSSE, H.; SWENNEN, R.; SÁGI, L. Agrobacterium- and particle bombardment mediated transformation of a wide range of banana cultivars. In: JAIN, S. M.; SWENNEN, R. (Ed.). **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations**. Enfield: Science Publishers, 2004. p. 351-357.
- ASIF, M. J.; MAK, C.; OTHMAN, R.Y. In vitro zygotic embryo culture of wild *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* and factors affecting germination and seedling growth. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 67, n. 3, p. 267-270, Dec. 2001.
- ASSANI, A.; BAKRY, F.; KERBELLEC, F.; HAÏCOUR, R.; WENZEL, G.; FOROUGHI-WEHR, B. Production of haploids from anther culture of banana [(*Musa balbisiana* (BB)]. **Plant Cell Reports**, v. 21, n. 6, p. 511-516, Feb. 2003.
- ASSANI, A.; CHABANE, D.; HAÏCOUR, R.; BAKRY, F.; WENZEL, G.; FOROUGHI-WEHR, B. Protoplast fusion in banana (*Musa* spp.): comparison of chemical (PEG: polyethylene glycol) and electrical procedure. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 83, n. 2, p. 145-151, Nov. 2005.
- ASSANI, A.; HAÏCOUR, R.; WENZEL, G.; COTE, F.; BAKRY, F.; FOROUGHI-WEHR, B.; DUCREUX, G. Influence of donor material and genotype on protoplast regeneration in banana and plantain cultivars (*Musa* spp.). **Plant Science**, v. 162, n. 3, p. 355-362, 2002.
- ASSANI, A.; HAÏCOUR, R.; WENZEL, G.; COTE, F.; BAKRY, F.; FOROUGHI-WEHR, B.; DUCREUX, G.; AGUILAR, M.E.; GRAPIN, A. Plant regeneration from protoplasts of dessert banana cv. Grande Naine (*Musa* spp., Cavendish sub-group AAA) via somatic embryogenesis. **Plant Cell Reports**, v. 20, n. 6, p. 482-488, 2001.
- BAIRU, M.W.; FENNELL, C.W.; VAN STADEN, J. The effect of plant growth regulators on somaclonal variation in Cavendish banana (*Musa* AAA cv. 'Zelig'). **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 4, p. 347-351, May, 2006.
- BAKRY, F.; CARREEL, F.; CARUANA, M. L.; COTE, F.; JENNY, C.; MONTCEL, H.T. Les bananiers. In: CHARRIER, A.; JACQUOT, M.; HAMON, S.; NICOLAS, D. (Ed.). **L'amélioration des plantes tropicales**. Montpellier: Cirad: ORSTOM, 1997. p. 109-139.
- BANERJEE, N.; DE LANGHE, E. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (banana and plantain). **Plant Cell Reports**, v. 4, n. 6, p. 351-354, Dec. 1985.
- BECKER, D. K.; DUGDALE, B.; SMITH, M. K.; HARDING, R. M.; DALE, J. L. Genetic transformation of Cavendish banana (*Musa* spp. AAA group) cv 'Grand Nain' via microprojectile bombardment. **Plant Cell Reports**, v. 19, n. 3, p. 229-234, Jan. 2000.
- BHAGWAT, B.; DUNCAN, E. J. Mutation breeding of Highgate (*Musa acuminata* AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using gamma irradiation. **Euphytica**, v. 101, n. 2, p. 143-150, 1998.
- BINSFELD, P. C. Transferência genômica parcial. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 8, p. 86-88, jan./ fev. 1999. Encarte Especial.



BRAZ, V. B. **Melhoramento genético da bananeira.** Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/trab2002/MELHOR/MHR017.htm>>. Acesso em: 20 maio 2008.

BROERTJES, C.; VAN HARTEN, A. M. **Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops.** Amsterdam: Elsevier Publishers, 1988. 345 p.

CARVALHO, P. C. L. **Estabelecimento de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de banana (*Musa spp.*).** 1996. 174 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Agronomia, Universidade feral da Bahia, Cruz das Almas.

CARVALHO, P. C. L.; SILVA, S. de O. e; ALVES, E. J. Caracterização de diplóides (AA) de banana (*Musa spp.*). **Magistra**, v. 8, n. 9, p.17-29, 1996.

CÔTE, F. X.; SANDOVAL, J. A.; MARIE, P.; AUBOIRON, E. Variations in micropropagated bananas and plantains: literature survey. **Fruits**, v. 48, p.15-22, 1993.

COX, E. A.; STOTZKY, G.; GOOS, R. D. In vitro culture of *Musa balbisiana* Colla embryos. **Nature**, v. 185, p. 403-404, Feb. 1960.

CRONAUER, S.; KRIKORIAN, A. D. Rapid multiplication of bananas and plantains by in vitro shoot tip culture. **HortScience**, v. 19, p. 234-235, 1984.

CRONAUER, S.; KRIKORIAN, A. D. Somatic embryos from cultured tissue of triploid plantains (*Musa ABB*). **Plant Cell Reports**, v. 2, n. 6, p. 89-291, Dec. 1983.

CROUCH, J.H.; VUYLSTEKE, D.; ORTIZ, R. Perspectives on the application of biotechnology to assist the genetic enhancement of plantain and banana (*Musa spp.*). **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 1-12, 1998.

DANTAS, J. L. L.; SHEPERD, K.; SOARES FILHO, W. dos S.; CORDEIRO, Z. J. M.; SILVA, S. de O. e; SOUZA, A. da S. **Citogenética e melhoramento de genético da bananeira (*Musa spp.*)**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF. 1993. 61 p. (Embrapa-CNPMF. Documentos, 48).

DESSAUW, D. Etude des facteurs de la stérilité du bananier (*Musa spp.*) et des relations cytotoxonomique entre *M. acuminata* COLLA et *M. balbisiana* COLLA. **Fruits**, v. 43, n. 11, p. 615-638, 1988.

DODDS, K. S.; SIMMONDS, N. W. Sterility and parthenocarpy in diploid hybrids of *Musa*. **Heredity**, v. 2, p. 101-107, 1948.

DOLEZEL, J.; DOLEZLOVÁ, M.; NOVAK, F. J. Flow cytometric estimation of nuclear DNA amount in diploid bananas (*Musa acuminata* and *M. balbisiana*). **Biologia Plantarum**, v. 36, n. 3, p. 351-357, Sep. 1994.

DOLEZLOVÁ, M.; DOLEZEL, J.; VAN DEN HOUVE, I.; ROUX, N.; SWENNEN, R. Ploidy levels revealed. **InfoMusa**, v. 14, n.1, p. 34-36, 2005.

DOMINGUES, E. T.; TULMANN-NETO, A.; MENDES, B. M. J.; ANDO, A. Efeitos de doses de raios-gama em ápices caulinares de bananeira (*Musa sp*) desenvolvidos in vitro visando a indução de mutação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 7, p. 1071-1079, 1994.

DREW, R. A.; SMITH, M. K. Field evaluation of tissue-cultured bananas in south-eastern Queensland. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 30, n. 4, p. 569-574, 1990.

EMALDI, U.; TRUJILLO, I.; GARCÍA, E. Comparison of characteristics of bananas (*Musa sp.*) from the somaclone CIEN BTA-03 and its parental clone Williams. **Fruits**, v. 59, p. 257-263, 2004.

EPP, M. D. Somaclonal variation in bananas: a case study with Fusarium wilt. In: PERSLEY, G. J.; DE LANGHE, E. A. (Ed.). **Banana and plantain breeding strategies**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1987. p. 140-150. (ACIAR. Proceedings, 21).

FAO. IAEA. **Mutant varieties database - MVD**. Disponível em: <<http://www-infocris.iaeа.org/MVD/>>. Acesso em: 02 jul. 2008.

FERH, W. R. **Principles of cultivar development**. New York : MacMillian, 1987. v. 1, 736 p.

FOURÉ, E. Characterization of the banana cultivars to *Mycosphaerella fijiensis* Morelet in Cameroon and genetics of resistance. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON GENETIC IMPROVEMENT OF BANANAS FOR RESISTANCE TO DISEASE AND PESTS, 1993, Montpellier. **Breeding banana and plantain for resistance to diseases and pests:** proceedings. Montpellier: CIRAD-FLOR, 1993. p. 159-170. Editado por J. Ganry.



- FOURÉ, E.; BAKRY, F.; GONZALES DE LEON, D. Cytogenetical studies of diploid bananas. In: GANRY, J. (Ed.). **Genetic improvement of bananas for resistance to disease and pest**. Montpellier: CIRAD: INIBAP, 1993, p. 77-92.
- GANAPATHI, T. R.; HIGGS, N. S.; BAILINT-KURTI, P. J.; ARNTZEN, C. J.; MAY, G. D.; VAN ECK, J. M. Agrobacterium-mediated transformation of embryogenic cell suspensions of the banana cultivar Rasthali (AAB). **Plant Cell Reports**, v. 20, n. 2, p. 157-162, 2001.
- GANGA, M.; CHEZHIYAN, N. Influence of the antimitotic agents colchicine and oryzalin on in vitro regeneration and chromosome doubling of diploid bananas (*Musa* spp.). **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v.77, n. 5, p. 572-575, 2002.
- GANRY, J. (Ed.). **Genetic Improvement of bananas for resistance to disease and pest**. Montpellier: CIRAD: INIBAP, 1993. 393 p.
- GARCIA, L. R.; PÉREZ, P. J.; BERMÚDEZ, I. C.; ORELLANA, P. P.; VEITIA, N. R.; GARCIA, L. R.; PADRÓN, Y. M.; ROMERO, C. Q. Comparative study of variability produced by induced mutation and tissue culture in banana (*Musa* sp.) cv 'Grande naine'. **InfoMusa**, v. 11, n. 2, p. 4-6, 2002.
- GÓMEZ-KOSKY, R.; GILLIARD, T.; BARRANCO, L. A.; REYES, M. Somatic embryogenesis in liquid media: maturation and enhancement of germination of the hybrid cultivar FHIA-18 (AAAB). **InfoMusa**, v. 9, n. 1, p. 12-16, 2000.
- GRIFFITHS, A. J. F.; WESLLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; GELBART, W. M.; SUZUKI, D. T.; MILLER, J. H. **Introdução à genética**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 743 p.
- HAMILL, S. D.; SMITH, M. K.; DOOD, W. A. In vitro induction of banana autotetraploid by colchicine treatment of micropropagated diploids. **Australian Journal of Botany**, v. 40, n. 6, p. 887-896, 1992.
- HART, J. W.; SABNIS, D. D. Binding of colchicine and luminocolchicine to components in plant extracts. **Phytochemistry**, v. 15, p. 1897, 1976.
- HIRIMBUREGAMA, W. K.; DIAS, W. K. G.; HIRIMBUREGAMA, K. Banana improvement through gamma irradiation and testing for banana bract mosaic virus in Sri Lanka. In: JAIN, S. M.; SWENNEN, R. (Ed.). **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations**. Enfield: Science Publishers, 2004. p. 79-85.
- HO, Y. M.; MAK, C.; LIEW, K.W. Selection of banana cultivars for tolerance to fusarium wilt race 4 in Malaysia. In: MOLINA, A. B.; NIK MASDEK, N. H.; LIEW, K. W. (Ed.). **Banana Fusarium wilt management: towards sustainable cultivation**. Los Baños, Laguna: International Network for the Improvement of Bananas and Plantains – Asia and Pacific Network, 2001. p. 234-242.
- HOULLOU-KIDO, L. M.; KIDO, E. A.; FALCO, M. C.; SILVA FILHO, M.C.; FIGUEIRA, A.V.O.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L.; TULMANN NETO, A. Somatic embryogenesis and the effect of particle bombardment on banana Maçã regeneration. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1081-1086, nov. 2005.
- HUGDAHL, J. D.; MOREJOHN, L.C. Rapid and reversible high affinity binding of the dinitroaniline herbicide oryzalin to tubulin from Zea mays L. **Plant Physiology**, v. 102, n. 3, p. 725-740, July, 1993.
- HWANG, S. C.; KO, W. H. Mutants of Cavendish banana resistant to race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Plant Protection Bulletin (Taiwan)**, v. 30, p. 386-392, 1988.
- HWANG, S. C.; KO, W. H. Cavendish banana cultivars resistant to Fusarium wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. **Plant Disease**, v. 88, n. 6, p. 580-588, June, 2004.
- JAMALUDDIN, S. H. Mutation breeding of banana in Malaysia. In: JONES, D. R. (Ed.). **The improvement and testing of Musa: a global workshop**. Montpellier: INIBAP, 1994. p. 228-232.
- KHANNA, H.; BECKER, D.; KLEIDON, J.; DALE, J. Centrifugation assisted Agrobacterium tumefaciens mediated transformation (CAAT) of embryogenic cell suspensions of banana (*Musa* spp. Cavendish AAA and Lady finger AAB). **Molecular Breeding**, v. 14, n. 3, p. 239-252, Oct. 2004.
- KHAYAT, E.; DUVDEVANI, A.; LAHAV, E.; BALLESTEROS, B.A. Somaclonal variation in banana (*Musa acuminata* cv. Grande Naine). Genetic mechanism, frequency, and application as a tool for clonal selection. In: JAIN, S. M.; SWENNEN, R. (Ed.). **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations**. Enfield: Science Publishers, 2004. p. 97-109.



- KIDO, L. M. H. Irradiação de gemas axilares, suspensão celular e protoplastos de bananeira cv. Maçã (*Musa spp.*), visando a seleção de mutantes resistentes à salinidade. 2003. 136 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- LARTER, L. M. N. Report on banana breeding. *Department of Agriculture of Jamaica Bulletin*, v. 34, p. 24, 1947.
- MATSUMOTO, K; OKA, S. Plant regeneration from protoplasts of a Brazilian dessert banana (*Musa spp.* AAB Group). *Acta Horticulturae*, v. 490, p. 455-462, 1998.
- MATSUMOTO, K.; BRANDÃO, A. K. C. Comparison of temporary and permanent immersion systems for the in vitro culture of banana. *InfoMusa*, v. 11, n. 2, p. 36-37, 2002.
- MATSUMOTO, K.; MORAIS, L. S.; VIANA, G. R.; ARAGÃO, F. J. L.; RECH, E. L. Genetic transformation of banana embryogenic cells through particle bombardment using a herbicide resistance gene as selectable marker. *Acta Horticulturae*, v. 575, p. 61-67, 2002.
- MATSUMOTO, K.; YAMAGUCHI, H. Induction and selection of aluminium tolerance in the banana. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Plant mutation breeding to crop improvement*. Viena, 1991. p. 249-255.
- MAY, G. D.; AFZA, R.; MASON, H. S.; WIEKO, A.; NOVAK, F. J.; ARNTZEN, C. J. Generation of transgenic banana (*Musa acuminata*) plants via Agrobacterium-mediated transformation. *Bio/Technology*, v. 13, p. 486-492, 1995.
- MEGIA, R.; HAÏCOUR, R.; TIZROUTINE, S.; BUI TRANG, V.; ROSSIGNOL, L.; SIHACHAKR, D.; SCHWENDIMAN, J. Plant regeneration from cultured protoplasts of cooking banana cv. Bluggoe (*Musa spp.*, ABB group). *Plant Cell Reports*, v. 13, p. 41-44, 1993.
- MORAIS, L. S.; SILVA, S. de O. e; SANTOS-SEREJO, J. A. Induction of callus in banana *Musa spp.* and establishment of embryogenic cell suspension. In: REUNIÓN INTERNACIONAL ACORBAT, 16., 2004, Oaxaca. [Memorias...]. Oaxaca: ACORBAT, 2004. p.186.
- NEVES, T. dos S. *Avaliação do resgate e desenvolvimento in vitro de embriões em genótipos diplóides de bananeira*. 1998. 76 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Administração, Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas.
- OKAMURA, S. Binding of colchicine to soluble fraction of carrot cells grown in suspension cultures. *Planta*, v. 149, p. 350, 1980.
- ORTIZ, R; VUYLSTEKE, D. Inheritance of black Sigatoka resistance and fruit parthenocarpy in triploid AAB plantain. *Agronomy Abstracts*, p. 109. 1992a.
- ORTIZ, R; VUYLSTEKE, D. The genetics of black Sigatoka resistance, growth and yields parameters in 4x and 2x plantain bananas hybrids. In: GANRY, J. (Ed.). *Genetic improvement of bananas for resistance to disease and pests*. Montpellier: CIRAD: INIBAP, 1992b. p. 379.
- ORTIZ, R. *Musa genetics*. In: GOWEN, S. (Ed.). *Bananas and plantainns*. London: Chapman & Hill, 1995. p. 84-109.
- PANIS, B. Cryopreservation of *Musa* germplasm. *InfoMusa*, v. 4, p. 17-20, 1995.
- PANIS, B.; STROSSE, H.; REMY, S.; SÁGI, L.; SWENNEN, R. Cryopreservation of banana tissue: support for germplasm conservation and banana improvement. In: JAIN, S.M. E SWENNEN, R. (Ed.). *Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations*. Enfield: Science Publishers, 2004. p.13-21.
- PANIS, B.; THINH, N. T.; ESCALANT, J. V.; SHARROCK, S. (Ed.). Cryopreservation of *Musa* germplasm. Montpellier: International Plant Genetic Resources Institute: International Network for the Improvement of Banana and Plantain, 2001. 45 p. (INIBAP Technical Guidelines, 5).
- PANIS, B.; TOTTÉ, N.; VAN NIMMEN, K.; WITHERS, L.; SWENNEN, R. Cryopreservation of banana (*Musa spp.*) meristem cultures after preculture on sucrose. *Plant Science*, v. 121, p. 95-106, 1996.
- PANIS, B.; WAUWE, A.W.; SWENNEN, R. Plant regeneration through direct somatic embryogenesis from protoplasts of banana (*Musa spp.*). *Plant Cell Reports*, v. 12, p. 403-407, 1993.
- PEI, X.; CHEN, S.; WEN, R.; YE, S.; HUANG, J.; ZHANG, Y.; WANG, B.; WANG, Z.; JIA, S. Creation of transgenic bananas expressing human lysozyme gene for Panama wilt resistance. *Acta Botanica Sinica*, v. 47, n. 8, p. 971-977, 2005.



PÉREZ PONCE, J.; ORELLANA, P. *Musa Improvement in Cuba* In: JONES D. R. (Ed.). *The Improvement and testing of Musa: a global workshop*. Montpellier: INIBAP, 1994. p. 203-206.

PILLAY, M. **Breeding**. Disponível em: <[http://www.iita.org/cms/details/banana\\_project\\_details.aspx?articleid=228&zoneid=308](http://www.iita.org/cms/details/banana_project_details.aspx?articleid=228&zoneid=308)>. Acesso em: 28 jul. 2009.

PINEDA, C. R.; TORO PEREA, N.; NARVAEZ, J.; OROZCO, M. L.; LAIGNELET, A.; CÁRDENAS, H. Genetic transformation by Agrobacterium tumefaciens of embryogenic cell suspensions of plantain 'Dominico hartón' (*Musa* AAB Simmonds). *InfoMusa*, v.11, n. 2, p. 9-13, 2002.

RESENDE, J. C. F. **Melhoramento da bananeira (Musa spp.) utilizando indução de mutação com raios gama e variação somaclonal para a redução da altura de plantas**. 2005. 155 f. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

REUVENI, O.; ISRAELI, Y.; LAHAV, E. Somaclonal variation in bananas. In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). *Biotechnology in agriculture and forestry, somaclonal variation in crop improvement II*. Amsterdam: Elsevier Science, 1996. p. 174-196.

ROBINSON, J. C.; FRASER, C.; ECKSTEIN, K. A field comparison of conventional suckers with tissue culture banana planting material over three crop cycles. *Journal of Horticultural Science*, v. 68, p. 831- 836, 1993.

ROELS, S.; ESCALONA, M.; CEJAS, I.; NOCEDA, C.; RODRIGUEZ, R.; CANAL, M. J.; SANDOVAL, J.; DEBERGH, P. Optimization of plantain (*Musa* AAB) micropropagation by temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 82, n. 1, p. 57-66, July, 2005.

ROELS, S.; NOCEDA, C.; ESCALONA, M.; SANDOVAL, J.; CANAL, M. J.; RODRIGUEZ, R.; DEBERGH, P. The effect of headspace renewal in a temporary immersion bioreactor on plantain (*Musa* AAB) shoot proliferation and quality. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 84, n. 2, p. 155-163, 2006.

ROUX, N. S. Mutation induction in *Musa* – review. In: JAIN, S. M.; SWENNEN, R. (Ed.). *Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations*. Enfield: Science Publishers, 2004. p. 23-32.

ROWE, P. R. Avances genéticos em banana e plátano. *Augura Bogotá*, v. 17, n. 1, p. 19-83, 1991.

ROWE, P. R. Breeding bananas and plantain. *Plant Breeding Review*, v. 2, p. 135-155, 1984.

ROWE, P.; RICHARDSON, D. L. **Breeding bananas for disease resistance, fruit quality and yield**. Honduras: SIATSA, 1975. 41 p. (Bulletin, 2).

ROWE, P.; ROSALES, F. E. Bananas and plantains. In: JANICK, J.; MOORE, J. (Ed.). *Fruit breeding: tree and tropical fruits*. New York: John Wiley, 1996. v. 1, p. 167-211.

SAGI, L.; PANIS, B.; REMY, S.; SCHOOPS, H.; DE SMET, K.; SWENNEN, R.; BRUNO, P.A.C. Genetic transformation of banana and plantain (*Musa* spp.) via particle bombardment. *Biotechnology*, v. 13, p. 481-485, 1995.

SAGI, L.; REMY, S.; PANIS, B.; SWENNEN, R.; VOLCKAERT, G. Transient gene expression in electroporated banana (*Musa* spp. Cv. Bluggoe, ABB group) protoplast isolated from regenerable embryogenic cell suspensions. *Plant Cell Reports*, v. 13, p.262-266, 1994.

SANTOS-SEREJO, J. A. ; SOUZA, A. S. ; MORAIS, L. S.; SOARES, T. L.; SOUZA, F. V. D.; KOBAYASHI, A. K.; FERREIRA, C. F.; SILVA, S. de O. e. Biotecnologia: algo mais que plantas transgênicas. In: REUNIÃO INTERNACIONAL ACORBAT, 17., 2006, Joinville. **Bananicultura: um negócio sustentável: anais**. Joinville: ACORBAT/ACAFRUTA, 2006. v. 1, p. 10-23.

SHEPHERD, K. History and methods of banana breeding. In: REPORT of the First External Program and Management Review of the International Network for the Improvement of Banana and Plantain. Washington: CGIAR SECRETARIAT: The World Bank, 1992, p. 108-110.

SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. *Informe Agropecuário*, v. 12, p.11-19, 1986.

SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; SILVA, S. de O. e. Breeding prata and maçã for Brazil. In: GLOBAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL *Musa* TESTING PROGRAM, 1994, San Pedro Sula, HON. **Proceedings....** Montpellier: INIBAP, 1994. p. 157-168.



- SHEPHERD, K. Genetic improvement of bananas in Brasil: aspects related to resistance to the genus *Mycosphaerella*. In: INTERNATIONAL WORKSHOP HELD, 1989, San José, Costa Rica. **Sigatoka leaf spot of bananas: proceedings**. Montpellier: INIBAP, 1990. p. 243-251. Editado por: Fullerton, R. e Stover, R. H.
- SHILLINGFORD, C. A. Varietal susceptibility of banana to infection by *Mycosphaerella musicula* in sprayed and unsprayed plot. **Tropical Agriculture**, v. 52, n. 2, p. 152-163, 1974.
- SILVA, S. de O. e; MATOS, A. P. de; ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. **Revista Pesquisa Agropecuária**, v. 33, n. 5, p. 693-703, 1998.
- SILVA, S. de O. e; MATOS, A. P. de; ALVES, E. J.; SHEPHERD, K. Breeding diploid banana (AA) at EMBRAPA/CNPBM. **InfoMusa**, v. 6, n. 2, p. 4-6, 1997a.
- SILVA, S. de O. e; MATOS, A. P. de; ALVES, E. J.; SHEPHERD, K. Breeding 'Prata' pomme and (Maçã) (silk) banana types: current achievements and opportunities. **InfoMusa**, v. 6, n. 2, p. 7-10, 1997b.
- SILVA, S. de O. e; SANTOS-SEREJO, J. A.; CORDEIRO, Z. J. M. Variedades. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 45-58.
- SILVA, S. de O. e; SHEPERD, K. Análise do germoplasma de banana do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical - CNPMF. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.13, n.3, p.115-127, 1991.
- SILVA, S. de O. e; SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; ALVES, E. J.; BORGES, A. L.; FANCELLI, M.; OLIVEIRA, S. L. de; ALMEIDA, M. de A. Avanços do programa de pesquisa em *Musa* no CNPMF, Embrapa, Brasil. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, 1996. 37 p. (Embrapa-CNPMF. Documentos, 65).
- SILVA, S. de O. e; SHEPHERD, K.; DANTAS, J.L.L.; SOUZA, A. da S.; CARNEIRO, M. S. Germoplasma de banana. In: ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana: aspectos técnicos socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1997c. p. 61-84.
- SILVA, S. de O. e; SOUZA JUNIOR, M. T.; ALVES, E. J.; SILVEIRA, J. R. S.; LIMA, M. B. Banana breeding program at Embrapa. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 4, p. 399-436, 2001.
- SILVA, S. de O. e; GASPAROTTO, L.; MATOS, A. P. de; CORDEIRO, Z. J. M.; FERREIRA, C. F.; RAMOS, M. M.; JESUS, O. N. de. **Programa de melhoramento de bananeira no Brasil: resultados recentes**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. 36 p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura, Documentos, 123).
- SIMMONDS, N. W. Segregations in some diploid bananas. **Journal of Genetics**, v.51, p. 458-469, 1953.
- SIMMONDS, N.W.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **The Journal of the Linnean Society of London**, v. 55, p. 302-312, 1955.
- SMITH, M. K.; HAMIL, S. D.; LANGDON, P. W.; PEGG, K. G. Mutation breeding for banana improvement in Australia. In: JONES D. R. (Ed.). **The Improvement and Testing of Musa: a global workshop**. Montpellier: INIBAP, 1994. p. 233-241.
- SREE RAMULU, K.; VERHOEVEN, H. A.; DJKHUIS, P. Mitotic blocking, micronucleation and chromosome doubling by oryzalin, amiprotophos methyl and colchicine in potato. **Protoplasma**, v. 160, p. 65-73, 1991.
- SUNIL KUMAR, G. B.; GANAPATHI, T. R.; REVATHI, C. J.; SRIVIVAS, L.; BAPAT, V. A. Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic banana plants. **Planta**, v. 222, n. 3, p. 484-493, Oct. 2005.
- TRUJILLO, I.; GARCÍA, E. Strategies for obtaining somaclonal variants resistant to yellow Sigatoka (*Mycosphaerella musicola*). **InfoMusa**, v. 5, n. 2, p. 12-13, 1996.
- TULMANN NETO, A.; MENDES, B. M. J.; LATADO, R. R.; SANTOS, P. C.; BOLIANI, A. In vitro mutation induction for resistance to Fusarium wilt in the banana. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE USE OF INDUCED MUTATIONS AND MOLECULAR TECHNIQUES FOR CROP IMPROVEMENT, Viena, Austria, 1995. **Induced mutations and molecular techniques for crop improvement: proceedings**. Viena, Austria: IAEA/FAO, 1995. p. 641-642.
- VAKILI, N.G. Inheritance of resistance in *M. acuminata* in bacterial wilt caused by the tomato race of *Pseudomonas solanacearum*. **Phytopathology**, v. 55, p. 1206-1209, 1965.
- VAN DEN HOUVE, I.; DE SMET, K.; TÉZENAS DU MONTCEL, H.; SWENNEN, R. Variability in storage potential of banana shoot cultures under medium term storage conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 42, p. 269-274, 1995.



VAN DUREN, M.; MORPURGO, R.; DOLEZEL, J.; AFZA, R. Induction and verification of autotetraploids in diploid banana (*Musa acuminata*) by in vitro techniques. **Euphytica**, v. 88, n. 1, p. 25-34, Jan. 1996.

VIDAL, M.C.; GARCIA, E. Analysis of a *Musa* spp. somaclonal variant resistant to yellow Sigatoka. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.18, p.23-31, 2000.

VUYLSTEKE, D.; ORTIZ, R. Field performance of conventional vs. in vitro propagules of plantain (*Musa* spp., AAB group). **HortScience**, v. 31, n. 5, p. 862-865, 1996.

VUYLSTEKE, D.; ORTIZ, R.; FERRIS, R. S. B.; CROUCH, J. H. Plantain improvement. **Plant Breeding Reviews**, v. 14, p. 267-320, 1997.

VUYLSTEKE, D.; SWENNEN, R. Genetic improvement of plantains: the potential of conventional approaches and the interface with in vitro culture and biotechnology. In: WORKSHOP ON BIOTECHNOLOGY APPLICATIONS FOR BANANA AND PLANTAIN IMPROVEMENT, 1992, San Jose, Costa Rica. **Proceedings...** Montpellier: INIBAP, 1993. p. 169-176.

VUYLSTEKE, D.; SWENNEN, R.; DE LANGHE, E. Tissue culture technology for the improvement of African plantains. In: FULLERTON, R. A.; STOVER, R. H. (Ed.). **Sigatoka leaf spot diseases of bananas**. Montpellier: INIBAP, 1990. p. 316-337.

VUYLSTEKE, D.; SWENNEN, R.; DE LANGHE, E. Somaclonal variants in plantains (*Musa* spp., AAB group) derived from shoot-tip culture. **Fruit**, v. 46, n. 4, p.429-439, 1991.

WAN, Y.; DUNCAN, D. R.; RAYBURN, A. L.; PETOLINO, J.F.; WIDHOLM, J.M. The use of antimicrotubule herbicides for the production of doubled haploid plants from anther derived maize callus. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 81, p. 205-211, 1991.

ZERDA, A. A. Successes and prospects in biotechnology in Colombia: the case of bananas and flowers. **Revista Nacional de Agricultura**, v. 897, p. 89-94, 1991.

