

EFEITOS DE DOSES DE RAIOS GAMA EM ÁPICES CAULINARES DE BANANEIRA (*MUSA SP.*) DESENVOLVIDOS *IN VITRO* PARA INDUÇÃO DE MUTAÇÃO¹

EDSON TOBIAS DOMINGUES², AUGUSTO TULMANN NETO³, BEATRIZ M.J. MENDES⁴ e AKIHIKO ANDO⁵

RESUMO - Ápices caulinares de bananeira 'Maçã' foram tratados com raios gama (20, 40, 60, 80 e 100 Gy) e subcultivados *in vitro* por quatro ciclos vegetativos (geração M1V4), e concluiu-se, pelas variegações foliares observadas *in vitro*, que este é o número mínimo de gerações a ser utilizado antes da seleção de mutantes. Foram quantificadas, também, nesta geração, em casa de vegetação, as alterações fenotípicas (teor de antocianina, e alterações na forma, na variegação foliar e na arquitetura da planta), observando-se aumento das frequências destes variantes com a elevação da dose. A dose de 40 Gy resultou em maior aumento da frequência (13,49%) em comparação com o controle (0,85%), sendo a recomendada para trabalhos de indução de mutação com esta cultivar. Em casa de vegetação foram inoculadas, com suspensão de esporos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal do mal-do-panamá, 2.765 plantas jovens obtidas do controle e da geração M1V4. Não foram observadas plantas resistentes ao fungo, mas o sistema utilizado permitiu uma triagem rápida e eficiente das plantas suscetíveis.

Termos de indexação: explantes, cultivar de banana, cultura de ápices caulinares, brotações, irradiação sobre plantas.

EFFECTS OF GAMMA-RAYS DOSES ON SHOOT APEX OF BANANA (*MUSA SP.*) PLANTS DEVELOPED *IN VITRO* AIMING AT MUTATION INDUCTION

ABSTRACT - Shoot tips from banana cv. Maçã, were gamma-irradiated (20, 40, 60, 80 and 100 Gy) and subcultivated *in vitro* for 4 vegetative generations (M1V4). Based on leaf variegation observed *in vitro* it was concluded that M1V4 is the minimum number of generations to be used before the screening of mutants. At greenhouse, besides leaf variegation others phenotypic changes (anthocyanin, disturbed plant and leaf architecture) were also quantified. The frequency of this variants increased with the dose, and, the treatment with 40 Gy produced the highest frequency of 13,49% while in control plants it was only 0.85. So, this dose is recommended to be applied in mutation breeding with this cultivar. Inoculation of 2765 young plants were carried out in greenhouse with spores suspension of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. No resistant plants were found, but this system permitted a quick and efficient screening of the susceptible ones and can be utilized for the selection of the mutants from big populations of banana cultivars.

Index terms: banana cultivars, explants, shoot tip culture, irradiation of buds.

INTRODUÇÃO

A bananeira é uma das principais frutíferas; constitui um dos componentes básicos na alimentação de milhões de pessoas. A produção é inteiramente dependente de clones não-melhorados que foram selecionados na natureza, domesticados e mantidos em cultivo. As mutações espontâneas têm contribuído para a ampliação da limitada diversidade genética em *Musa* (Novak, 1992).

¹ Aceito para publicação em 4 de fevereiro de 1994.

Trabalho realizado com suporte financeiro da FAPESP e CNPq.

² Eng.-Agr., Instituto Agrônomo, Caixa Postal 28, CEP 13001 Campinas, SP. Bolsista do CNPq.

³ Eng.-Agr., Seção de Radiogenética do CENA/USP Caixa Postal 96, CEP 13400-970 Piracicaba, SP. Bolsista do CNPq.

⁴ Enga.-Agr., Seção de Radiogenética do CENA/USP.

⁵ Eng.-Agr., Docente do Dep. de Genética da ESALQ/USP e da Seção de Radiogenética do CENA. Bolsista do CNPq.

A poliploidia e a esterilidade são fatores que dificultam seriamente o melhoramento das cultivares de *Musa* (Shepherd, 1983). Os métodos tradicionais de melhoramento de plantas apresentam certas dificuldades, o que gera um grande potencial para a biotecnologia nesta cultura (Rowe, 1984; Novak et al., 1987).

Existe uma série de problemas que ainda precisam ser resolvidos no melhoramento da bananeira, dentre os quais destaca-se a susceptibilidade a doenças, tais como o mal-do-panamá, causado pelo *Fusarium oxysporum* f sp. *cubense*. Algumas cultivares de interesse comercial chegam a ter produção nômade para escapar da presença do patógeno. É o caso das bananas do grupo AAB, ao qual pertence a cultivar Maçã, de grande aceitação no território brasileiro.

As culturas de propagação vegetativa, dentre elas a bananeira, são usualmente heterozigotas, e este fato, aliado às dificuldades de aplicação dos métodos tradicionais de melhoramento, e do grande número de mutantes espontâneos cultivados comercialmente, sugere que o uso de mutagênicos possa trazer resultados de interesse. A indução de mutação visa a alteração de uma ou poucas características de cultivares bem estabelecidas, mas sem alterar suas características desejáveis (Broertjes & Harten, 1988), e pode ser particularmente importante para espécies estéreis de *Musa* onde não existe reprodução sexual que possa gerar variabilidade genética (Novak et al., 1986).

O cultivo de ápices caulinares *in vitro* tem sido utilizado como sistema auxiliar aos métodos de melhoramento por indução de mutações em bananeiras. Como se trata de uma estrutura multicelular, a ocorrência de mutação somática leva ao quimerismo, e, portanto, a irradiação sobre ápices caulinares deve ser seguida de um avanço de gerações antes do início da seleção, para que possa haver uma ampliação do setor mutado.

Devido à situação exposta anteriormente, a Seção de Radiogenética do CENA pretende associar indução de mutação e biotecnologia no melhoramento de bananeira. Várias etapas iniciais relacionadas ao desenvolvimento e à adaptação metodológica terão de ser cumpridas até que seja possível, em grande escala, realizar-se a seleção de

mutantes *in vivo* ou *in vitro*, de acordo com a característica agrônômica a ser melhorada.

O objetivo deste trabalho foi adaptar e iniciar a utilização do método de indução de mutação, através de raios gama, no cultivo *in vitro*, de ápices caulinares, visando à seleção, em casa de vegetação, de mutantes da cultivar Maçã resistentes ao mal-do-panamá. Os resultados obtidos serão também úteis para a obtenção de mutantes em outros caracteres extensivos a esta e a outras cultivares de bananeira. Como a dose de radiação a ser utilizada, pode variar de acordo com o genótipo, estudou-se a sensibilidade dos ápices caulinares de bananeira cv. Maçã aos raios gama.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ápices caulinares foram obtidos de plantas da bananeira 'Maçã', cultivadas *in vitro*, com parte aérea e sistema radicular bem formados. Estas plantas, com aproximadamente 7,0 cm de altura e 0,7 cm de diâmetro basal, foram obtidas da cultura de meristemas de bananeiras jovens originadas de campo comercial. Tais plantas foram subcultivadas e mantidas *in vitro* em meio semi-sólido, constituído de macro e micronutrientes de Murashige & Skoog (1962) e de vitaminas descritas por Morel & Wetmore (1951), suplementado com 5,0 mg.l⁻¹ de BAP, 3% de sacarose, pH 5,7 e solidificado com 6,5 g.l⁻¹ de ágar.

As plantas, em câmara asséptica, sofreram o corte da parte aérea 2,5 cm acima do rizoma, com o auxílio de pinça e bisturi flambados, retirando-se também as raízes. Foram, então, retiradas as bainhas foliares, até que o explante ficasse com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro basal e 1,0 cm de altura, sendo a seguir seccionado longitudinalmente e dividido em duas partes. Utilizou-se um total de 84 explantes, distribuídos em seis tratamentos (doses de radiação gama) com quatorze repetições (um ápice caulinar por repetição).

Os explantes foram colocados em placas-de-petri estéreis e submetidos a raios gama na fonte de Co⁶⁰ do CENA, com as doses de 20, 40, 60, 80 e 100 Gy (taxa de dose de 1140 Gy/h). Após submetidos a irradiação, os explantes foram transferidos para meio de cultura idêntico ao já citado, em frascos individuais, os quais foram levados para sala com temperatura controlada entre 26 - 27°C e sob 16 horas de luz (25 W.m⁻²) e 8 de escuro.

A avaliação da radiosensibilidade foi baseada em contagens quinzenais do número de brotos originados, durante 75 dias após a irradiação. A análise estatística

foi realizada através de análises de variância e foi utilizado o teste de Tukey para as médias transformadas se-

$$\text{gundo } \sqrt{\left(x + \frac{1}{2}\right)}.$$

Os explantes tratados com irradiação sofreram trocas de meio a cada 20 dias, e após as brotações emitidas atingirem aproximadamente 1,5 cm de altura foram realizadas repicagens, que consistiram na individualização destes novos brotos e na transferência para meio de cultura fresco. O objetivo destas repicagens foi obter as gerações M_1V_4 , isto é, plantas originadas de explantes que sofreram o tratamento mutagênico e que foram subcultivadas por quatro ciclos vegetativos. Esta fase durou aproximadamente cinco meses, sendo dois destes para a adaptação e brotação inicial dos explantes *in vitro*, e mais três meses para atingir a quarta e última geração vegetativa. Durante estes procedimentos procurou-se observar, dentro da sala de crescimento, a ocorrência de diferenças na capacidade de micropropagação e alterações fenotípicas, originadas de mutações ou variação somaclonal nas plântulas do tratamento com raios gama e nas do controle.

As plantas obtidas *in vitro*, após quatro gerações vegetativas e já enraizadas, apresentando 6 a 9 cm de altura, foram levadas para casa de vegetação, onde foram aclimatadas em sacos de plástico de 10 x 12 cm, contendo mistura autoclavada de terra argilosa, matéria orgânica e areia nas proporções de 1:1:1, respectivamente. As mudas ficaram dentro de câmara úmida durante quatro dias, sendo retiradas após este período e mantidas em casa de vegetação.

Durante a fase de desenvolvimento das plantas em casa de vegetação, houve a avaliação e cálculo das frequências das alterações fenotípicas que ocorreram em diversas características, tais como: coloração, tamanho, formato e angulação das folhas, tamanho e desenvolvimento das plantas e tamanho e coloração dos pecíolos e do pseudocaulo.

Aproveitando-se as plantas provenientes dos tratamentos anteriores, foi feita a inoculação visando à seleção para resistência ao mal-do-panamá, cujo agente causal (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) foi obtido de plantas em campo da bananeira cv. Maçã que apresentavam sintomas típicos da doença.

Para o isolamento do patógeno, realizou-se a limpeza de rizomas infectados, retirando-se a terra e as raízes, assim como os tecidos necrosados. A partir de pedaços destes rizomas, obteve-se, pelo processo tradicional, o crescimento do fungo em meio BDA, incubando-se em câmara B.O.D à temperatura de 25°C.

Para a inoculação em casa de vegetação, foram utilizadas, ao todo, 2.765 plantas jovens, desenvolvidas in-

dividualmente em vasos com solo autoclavado, e o método utilizado foi estabelecido por Mendes et al. (1989). Este método consiste na utilização de rega do solo com suspensão, com 5×10^4 esporos/ml, adicionando-se 50 ml desta suspensão para cada plântula medindo entre 10 e 15 cm de altura na época da inoculação. As plantas sobreviventes após a primeira inoculação foram mantidas e reinoculadas, de modo a se eliminarem possíveis escapes.

A avaliação dos sintomas foi realizada através da observação visual das alterações externas e internas das plantas jovens inoculadas. Foram consideradas com sintomas típicos as plantas que apresentaram rachaduras no pseudocaulo, acompanhadas de necrosamento dos tecidos, amarelecimento das folhas mais velhas para as mais novas, necrosamento e morte, ou que apresentaram brotações posteriores lateralmente aos pseudocaulos pré-existentes, sendo anotado o número das que morreram e das que apresentaram recuperação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Sensitividade de ápices caulinares a raios gama

Os resultados obtidos para a determinação da radiosensitividade de ápices caulinares de bananeira, cultivar Maçã, são mostrados na Tabela 1, através da qual pode-se observar o número médio de brotos originados quinzenalmente a partir dos explantes irradiados. A dose de 20 Gy, pelos poucos efeitos que causou no número médio de bro-

TABELA 1. Número médio* de brotos obtidos através do tempo de cultivo *in vitro* de ápices caulinares de bananeira "Maçã", após irradiação com raios gama

Dose (Gy)	Tempo (dias)				
	15	30	45	60	75
0	1,51 a	2,91 a	4,47 a	5,34 ab	9,70 b
20	1,64 a	2,75 a	4,19 ab	6,19 a	13,19 a
40	1,07 a	1,96 a	2,55 b	3,92 b	6,37 c
60	0,05 b	0,05 b	0,09 c	0,21 c	0,47 d
80	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 d
100	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 d

* Médias seguidas de letras iguais na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey - 5% (CV. 31,15%)

tos, pode ser considerada como baixa para esta cultivar, notando-se, mesmo no final do experimento, um aumento em relação ao controle. Tal tendência também foi observada por De Guzman et al. (1982), quando submetiam a irradiação ápices caulinares de diversos clones a baixas doses de raios gama (10 - 25 Gy).

Observa-se, em relação ao controle, que a dose de 40 Gy provocou uma redução de, aproximadamente, 50% na emissão de novas brotações durante 75 dias de cultivo, a qual permitiu a produção de 6,37 brotos em média, enquanto que para este mesmo período de tempo, a dose de 60 Gy produziu apenas 0,47 brotos.

Assim como observado por Novak et al. (1986), foram notadas oxidações nos explantes tratados com irradiação, e esta tendência aumentou à medida que as doses de radiação foram maiores. Os explantes submetidos a irradiação com 80 e 100 Gy não chegaram a produzir brotos, tal a intensidade dos efeitos fisiológicos deletérios produzidos por estas doses. Broertjes & Harten (1988) comentam que células submetidas a irradiação e que sofreram danos fisiológicos ou cromossômicos apresentam menor capacidade mitótica em relação às células que não sofreram estes efeitos. No presente trabalho, observou-se, inicialmente, um atraso quanto à brotação, com doses superiores a 20 Gy (40 e 60 Gy), mas após este atraso inicial houve boa capacidade para a formação de novos brotos, em ambas as doses.

Em trabalhos envolvendo indução de mutação, utilizam-se, freqüentemente, doses próximas à LD_{50} e/ou à GR_{50} (dose ou concentração do mutagênico responsável pela redução de 50% na sobrevivência e no crescimento dos explantes tratados, respectivamente). Na presente pesquisa, a LD_{50} situou-se ao redor de 40 Gy, e este resultado está entre as doses determinadas no trabalho de Novak et al. (1990). Estes autores trabalharam com sete clones de diversos grupos genômicos de bananeira, e concluíram que havia diferença de radiosensibilidade entre estes grupos. No grupo AAB, o mesmo ao qual pertence a cultivar Maçã, verificaram que a dose que reduzia o crescimento em 50% situava-se entre 30 e 45 Gy.

- Avaliação de variantes fenotípicas

A Tabela 2 mostra o número dos principais variantes fenotípicos avaliados em casa de vegetação, nas 2.070 plantas provenientes do controle (geração M_0V_4) e do tratamento com raios gama (geração M_1V_4). Foram observadas alterações na coloração e formato das folhas e altura das plantas, como ocorreu em trabalhos de outros autores (Perea-Dallos & Novak, 1988; Novak et al., 1990).

Verifica-se que tanto a freqüência quanto o espectro de variantes obtidos no controle foi menor em relação aos obtidos nos tratamentos com irradiação. A ocorrência de variantes do controle pode ser atribuída à variação somaclonal espontânea, ao passo que os provenientes do tratamento seriam resultado da variação somaclonal associada ao tratamento com raios gama. Provavelmente, o número de variantes, nos dois casos, seria maior se as plantas fossem observadas em campo na fase adulta. Vuyulsteke et al. (1988), por exemplo, observaram, pela análise em campo, uma freqüência total de 2,8% de variantes somaclonais em plantas de bananeira "AAB" obtidas após quatro micropropagações (sem uso de mutagênicos), ao passo que Novak et al. (1990), em trabalho usando raios gama, encontraram freqüências de 3% a 40% de acordo com o genótipo e dose utilizada. O genótipo subcultivado *in vitro* pode ser um dos responsáveis pelo maior ou menor aparecimento de variantes somaclonais, como se observa na revisão de Novak (1992), em que se citam freqüências de 0 a 69,1%. Este tipo de variação pode ser utilizada para o melhoramento genético de *Musa*, como por exemplo, para a obtenção de resistência a doenças como o mal-do-panamá. No trabalho de Hwang & Ko (1987) com variação somaclonal, foram obtidas de uma população de 20.000 plantas, seis que apresentaram resistência às raças 1 e 4 da fusariose. Durante a fase de testes, a maioria destas variantes não apresentou boas características agrônomicas. Após um segundo ciclo de seleção, um dos clones resistentes começou a ser micropropagado para comercialização (Hwang, 1990). Como os tratamentos com mutagênicos podem aumentar a variabilidade, como se observa no presente trabalho, populações relativamente menores podem

TABELA 2. Variações fenotípicas e respectivas frequências (Fr) em bananeira "Maçã" (grupo AAB) micro-propagada a partir de ápices caulinares submetidos a irradiação e subcultivados por quatro ciclos vegetativos.

Dose (Gy)	NPR	PVVA	PVVB	PFE	PFR	PAPL	PPP	MD	PANÃ	Total	Fr (%)
0	585	0	0	2	0	1	2	0	0	5	0,85
20	520	4	3	4	0	0	0	0	0	11	2,10
40	489	9	17	12	7	9	9	2	1	66	13,49
60	476	10	6	3	4	11	7	3	0	44	9,24
Tot.	2070	23	26	21	11	21	18	5	1	130	6,28
Fr(%)		1,11	1,25	1,01	0,53	1,01	0,87	0,24	0,05	6,28	

NPR - Número de plantas regeneradas

PVVA - Plantas com folhas apresentando variegação verde-amarelada

PVVB - Plantas com folhas apresentando variegação verde-branca

PFE - Plantas com folhas estreitas

PFR - Plantas com folhas cujo limbo e bordos eram retorcidos

PAPL - Plantas altas, com internódios e pecíolos longos

PPP - Plantas cujos pecíolos e pseudocauls apresentavam-se com pigmentação alterada

MD - Plantas cujo meristema mostrou-se danificado, não permitindo crescimento vertical

PANÃ - Planta cujos internódios apresentaram-se sobrepostos dando à planta a condição de planta anã.

ser utilizadas, mantendo-se a possibilidade de seleção de um mutante de interesse agrônomico, desde que o genoma não seja alterado em relação a outras características, em decorrência da radiação.

Observando-se a Tabela 2, nota-se que os efeitos dos raios gama foram mais pronunciados em relação às doses de 40 e 60 Gy. Quanto à dose de 40 Gy, verificou-se a maior frequência de variantes (13,49%), sendo que nesta dose foi possível encontrar também o maior número de tipos de alterações. Sugere-se, portanto, que esta dose deva ser utilizada para trabalhos futuros com esta cultivar. Além da dose, outro aspecto de importância para estes trabalhos com indução de mutação em bananeira refere-se ao número mínimo de gerações vegetativas que se devem avançar, após a irradiação, com o objetivo de ampliar os setores mutados, para a obtenção de mutantes estáveis (sólidos ou periclinais). Novak et al. (1986), no início dos trabalhos com bananeira, não chegaram a definir um número exato de gerações. Posterior-

mente, Novak et al. (1989) sugeriram multiplicações *in vitro* por quatro gerações (geração M_1V_4). Entretanto, não se observam, neste trabalho as razões que levaram estes autores a tal sugestão. No presente trabalho, procurou-se, portanto, investigar também este aspecto. Isto foi feito observando-se principalmente as variegações foliares de clorofila das plantas ainda *in vitro*, na sala de crescimento, durante as gerações M_1V_1 , M_1V_2 , M_1V_3 e M_1V_4 , e as respectivas gerações das plantas do controle. Esta característica foi escolhida pela facilidade visual de reconhecimento. Foram reconhecidas algumas plantas com variegação bastante definida, em tons verde e branco ou verde e amarelo claro, em relação às doses de 40 (8 plantas) e 60 Gy (5 plantas) apenas na geração M_1V_4 , e nenhuma alteração foi observada em relação ao controle e à dose de 20 Gy. Como é bem conhecido, as mutações de clorofila têm sido muito utilizadas para auxiliar a esclarecer aspectos básicos de método em trabalhos com indução de mutação, e o resultado obtido serve como um su-

porte para que a micropropagação com vistas à seleção de mutantes se faça pelo menos até a geração M_1V_4 .

Dentre os variantes fenotípicos obtidos, os mais frequentes foram quanto a clorofila foliar, seguidos dos variantes em relação a largura de folha, folha com o limbo foliar retorcido, plantas altas com internódios e pecíolos foliares longos, pigmentação intensa com antocianina do pecíolo, e pseudocaule e meristema danificados. Estes variantes provavelmente não apresentam interesse agrônomico, com a possível exceção da planta de porte anão. Este resultado corresponde ao obtido por Novak et al. (1990) quando selecionaram um mutante de porte baixo do cultivar Grand Nain, após o cultivo por quatro gerações vegetativas dos ápices caulinares submetidos à irradiação com a dose de 60 Gy. Esta planta mutante foi denominada de GN-60GyA, e está sendo testada para sua utilização comercial em vários países.

Com relação à estabilidade das variações fenotípicas obtidas na presente pesquisa, observou-se que quase todas as alterações de clorofila mostraram-se reversíveis, o que indica tratar-se, na maioria dos casos, de setores mutados, portanto quimeras, que durante o crescimento das plantas tenderam a desaparecer. Provavelmente os setores mutados, com menor teor de clorofila, apresentaram menor competitividade em relação aos tecidos não mutados. Broertjes & Harten (1988) atestam que este tipo de competição intrassomática leva, muitas vezes, à eliminação das células mutadas. Alguns dos variantes fenotípicos encontrados, no entanto, mantiveram-se estáveis até o final do experimento, como, por exemplo, o variante de porte anão e um variante de clorofila.

- Inoculação de plantas jovens visando à resistência ao mal-do-panamá

Na Tabela 3, observam-se os resultados obtidos durante a fase de inoculação plantas jovens do cultivar Maçã, originadas após o subcultivo por quatro gerações vegetativas (M_1V_4) de ápices caulinares submetidos a irradiação (doses de 0, 20, 40 e 60 Gy).

Todas as plantas inoculadas apresentaram, de maneira menos ou mais intensa, sintomas do mal-

TABELA 3. Inoculação de plantas jovens^{*} de bananeira "Maçã" (grupo AAB) com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, obtidas após irradiação e micropropagação de ápices caulinares.

Dose (Gy)	NPI	NPA	NPM	%	NPS ₁	NPS ₂	%
0	896	896	880	98,2	73	16	1,8
20	715	715	689	96,4	115	26	3,6
40	636	636	584	91,8	123	52	8,2
60	518	518	507	97,9	98	11	2,1
Totais	2765	2765	2660	96,2	409	105	3,8

* As plantas foram obtidas a partir da micropropagação a partir de ápices caulinares submetidos a radiação gama e subcultivadas por quatro ciclos vegetativos (geração M_1V_4)

- NPI - Número de plantas infectadas
- NPA - Número de plantas que apresentaram sintomas da fusariose
- NPM - Número de plantas que morreram devido ao ataque do fungo, após as duas inoculações
- NPS₁ - Número de plantas sobreviventes após 1ª inoculação
- NPS₂ - Número de plantas sobreviventes após 2ª inoculação

do-panamá; isto significa que até o momento não foi possível obter plantas resistentes ao fungo. Isto já era esperado, pois nesta etapa do trabalho o número de plantas inoculadas foi relativamente pequeno.

Os sintomas apresentados nas plantas jovens de bananeira em casa de vegetação corresponderam às indicações de Martinez (1986) e Mendes et al. (1989), ocorrendo externamente o amarelecimento gradual das folhas mais velhas em direção às mais novas.

Normalmente, em plantas de campo esta doença provoca a quebra do pecíolo foliar junto ao pseudocaule. Na presente pesquisa, no entanto, observou-se que isto não ocorreu de maneira pronunciada, graças ao tamanho e peso reduzidos das folhas das plantas em casa de vegetação. As rachaduras das bainhas foliares na altura do colo da planta foram bastante evidentes, mostrando estarem, na maioria dos casos, relacionadas ao ataque do patógeno. Internamente, ocorreu escurecimento dos vasos condutores, tornando a tonalidade branca dos rizomas saudios em levemente amarelo-

acinzentados, até a necrose total das áreas infectadas dos rizomas e das bainhas foliares, adquirindo a coloração marrom escura.

As plantas que apresentaram sintomas da doença o fizeram de maneira diferenciada, e a maioria delas não sobreviveu. Algumas plantas, mesmo apresentando rachaduras no pseudocaule, mantiveram o desenvolvimento da gema apical. Outro tipo de reação apresentada foi a emissão de brotações laterais. Estas plantas sobreviventes foram mantidas em casa de vegetação e reinoculadas. Deste modo, as remanescentes voltaram a apresentar sintomas, e novamente houve plantas que morreram e outras que sobreviveram.

As plantas sobreviventes após inoculação também apresentaram sintomas e estes não diferiram em comparação com plantas originadas de ápices caulinares irradiados ou não-irradiados. Neste tipo de trabalho, as plantas sobreviventes apesar de mostrarem sintomas, podem apresentar interesse e merecer ulteriores observações. Isto porque elas podem ter sobrevivido por serem provenientes de uma mutação com vistas a resistência à doença. Tal planta poderia, entretanto, apresentar quimerismo, com uma mistura de tecidos resistentes e susceptíveis.

CONCLUSÕES

1. A dose de raios gama que causou a redução de 50% na brotação de ápices caulinares da bananeira 'Maçã' (grupo AAB) situou-se ao redor de 40 Gy.

2. Deve-se avançar, no mínimo, até a geração M_1V_4 antes do início da seleção, uma vez que somente a partir desta geração foram observadas maiores taxas de variantes de variação foliar.

3. A dose de 40 Gy foi a que mais contribuiu para o aumento da frequência e para espectro de variantes, e portanto, é recomendada para trabalhos de indução de mutação com esta cultivar.

4. Nas condições experimentais do presente trabalho não foram observadas plantas resistentes ao mal-do-panamá.

REFERÊNCIAS

- BROERTJES, C.; HARTEN, A.M. van. *Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops*. Amsterdam: Elsevier, 1988.313p.
- DE GUZMAN, E.V.; ROSARIO, A.G.DEL; PAGCALIWAGAN, P.C. Production of mutants by irradiation of *in vitro* cultured tissues of coconut and banana and their mass propagation by the tissue culture technique. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Induced mutations in vegetatively propagated plants II*. Vienna: IAEA, 1982. p.113-138.
- HWANG, S.C.; KO, W.A. Somaclonal variation of bananas and screening for resistance to Fusarium wilt. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON BANANA AND PLANTAIN BREEDING STRATEGIES, 2., 1986, Cairns. *Proceedings...* Brisbane: ACIAR, 1987. p.151-156.
- HWANG, S.C. Somaclonal resistance in *Cavendish* banana to *Fusarium* Wilt of Banana. St. Paul: APS Press, 1990. p.121-125.
- MARTINEZ, J.A. Banana; principais doenças da bananeira. *Toda Fruta*, São Paulo, v.1, n.8, p.29-31, dez. 1986.
- MENDES, B.M.J.; RODRIGUES, B.I.P.; DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* em plantas jovens de bananeira. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v.15, p. 31, 1989.
- MOREL, G.; WETMORE, R.H. Fern callus tissue culture. *American Journal of Botany*, Columbus, v.38, p.141-143, Feb. 1951.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NOVAK, F.J. *Musa* (Bananas and Plantains). In: HAMMERSCHLAG, F.A.; LITZ, R. (Ed.). *Biotechnology of perennial fruit crops*. Wallingford: C.A.B. International, 1992. p.449-487
- NOVAK, F.J.; AFZA, R.; DUREN, M. van; OMAR, M.S. Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* shoot-tips of banana and plantain (*Musa cvs*). *Tropical Agriculture*, Trinidad, v.67, p. 21-28, 1990.
- NOVAK, F.J.; AFZA, R.; DUREN, M. van; PEREADALLOS, M.; CONGER, B.V.; XIAOLANG, T. Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspension cultures of dessert (AA and AAA) and cooking (ABB) bananas (*Musa* spp).

- Bio/Technology**, New York, v.7, p.154-159, 1989.
- NOVAK, F.J.; AFZA, R.; PHADVIBULYA, V.; HERMELIN, T.; BRUNNER, H.; DONINI, B. Micro-propagation and radiation sensitivity in shoot tip cultures of banana and plantain. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Nuclear technics and *in vitro* culture for plant improvement**. Vienna: IAEA, 1986. p.167-174.
- NOVAK, F.J.; DONINI, B.; HERMELIN, T.; MICKE, A. Potential of banana and plantain improvement through *in vitro* mutation breeding. In: ACORBAT REUNIÓN, 8, Turrialba, Costa Rica. **Memorias**. Turrialba: CATIE, 1987. p. 67-70.
- PEREA-DALLOS, M.; NOVAK, F.J. Resultados promisorios en el mejoramiento genetico a través de mutagénesis y regeneración de plantas de *Musa* spp via embriogénesis somática. **Boletín Científico Aceviv**, Bogotá, v.3, p.29-32, jul. 1988.
- ROWE, P.R. Breeding bananas and plantains. **Plant Breeding Reviews**, New York, v.2, p.135-155, 1984.
- SHEPHERD, K. Melhoramento genético da bananeira. In: SIMPÓSIO SOBRE BANANEIRA PRATA, 1.,1983, Cariacica, ES. **Anais...** Cariacica: EMCAPA/EMBRAPA, 1983. p.121-146. (EMCAPA. Documento, 4)
- VUYULSTEKE, D.; SWENNEN, R.; WILSON, G.F.; DE LANGHE, E. Phenotypic variation among *in vitro* propagated plantains (*Musa* sp. cultivar "AAB"). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 36, p. 79-88, 1988.