

RESSALVA

Atendendo a solicitação do autor, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 03/01/2027.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

TAÍS FERREIRA COSTA

**MUTAGÊNESE EM BANANEIRA PARA OBTENÇÃO DE RESISTÊNCIA À
MURCHA DE *Fusarium***

Ilha Solteira - SP
2025



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

TAÍS FERREIRA COSTA

**MUTAGÊNESE EM BANANEIRA PARA OBTENÇÃO DE RESISTÊNCIA À
MURCHA DE Fusarium**

Tese apresentado(a) à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira, para obtenção do título de Grau acadêmico Doutora em Agronomia.

Área de Concentração: Sistema de Produção

Orientador(a): Prof. Dra. Glauca Amorim Faria

Coorientador(a): Prof. Dra. Janay Almeida dos Santos Serejo

Ilha Solteira - SP

2025

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

C837m Costa, Taís Ferreira.
Mutagênese em bananeira para obtenção de resistência à murcha de Fusarium / Taís Ferreira Costa . -- Ilha Solteira: [s.n.], 2025
95 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistema de Produção, 2025

Orientador: Glauca Amorim Faria

Co-orientador: Janay Almeida dos Santos Serejo

Inclui bibliografia

1. *Musa* spp. 2. Mutantes. 3. Radiação. 4. Melhoramento genético. 5. Variabilidade.


Amanda Sertori dos Santos

Bibliotecária - CRM/SP-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao
Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O uso de indução de mutação em bananeira é uma estratégia valiosa para obtenção de resistência à murcha de Fusarium, especialmente porque esta é uma doença devastadora para as cultivares de bananeira. O estudo está focado nas cultivares do subgrupo Cavendish que apresenta elevado nível de esterilidade, o que dificulta a obtenção de novas cultivares via melhoramento por hibridações.

A pesquisa oferece uma abordagem promissora para criar variedades de bananeiras resistentes à doença. Nesse sentido, contribui para o avanço das ciências agrárias e biotecnológicas, aprofundando o entendimento dos mecanismos de resistência das plantas a patógenos.

Além disso, a inovação gerada pela pesquisa pode transformar a produção de banana, beneficiando tanto pequenos quanto grandes produtores. A obtenção de variedades resistentes melhora a produtividade e garante a estabilidade da oferta de bananas, impulsionando a economia.

Paralelamente, a pesquisa tem um impacto direto nas regiões produtoras de banana no país, melhorando a resiliência dessas comunidades frente à doença. Vale salientar que a pesquisa aborda uma temática crucial para a segurança alimentar global, uma vez que a banana é uma das principais frutas consumidas no mundo. O enfoque na resistência genética à murcha de Fusarium, por meio da mutagênese, representa uma estratégia inovadora para garantir a produção desse alimento essencial.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The use of mutation induction in banana is a valuable strategy to obtain resistance to Fusarium wilt, especially since this is a devastating disease for banana cultivars. The study is focused on cultivars of the Cavendish subgroup that have a high level of sterility, which makes it difficult to obtain new cultivars via breeding by hybridization.

The research offers a promising approach to create banana varieties resistant to the disease. In this sense, it contributes to the advancement of agricultural and biotechnological sciences, deepening the understanding of the mechanisms of plant resistance to pathogens.

In addition, the innovation generated by the research can transform banana production, benefiting both small and large producers. Obtaining resistant varieties improves productivity and ensures the stability of the banana supply, boosting the economy.

At the same time, the research has a direct impact on the banana-producing regions of the country, improving the resilience of these communities to the disease. It is worth noting that the research addresses a crucial issue for global food security, since bananas are one of the main fruits consumed in the world. The focus on genetic resistance to Fusarium wilt, through mutagenesis, represents an innovative strategy to guarantee the production of this essential food.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Mutagênese em bananeira para obtenção de resistência à murcha do Fusarium

AUTORA: TAÍS FERREIRA COSTA

ORIENTADORA: GLAUCIA AMORIM FARIA

COORIENTADORA: JANAY ALMEIDA DOS SANTOS SEREJO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia, área:
Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente



JANAY ALMEIDA DOS SANTOS SEREJO
Data: 03/01/2025 12:14:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisadora JANAY ALMEIDA DOS SANTOS SEREJO (Participação Virtual)
Laboratório de Cultura de Tecidos / Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Documento assinado digitalmente



THAIS SOTO BONI
Data: 03/01/2025 17:38:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. THAÍS SOTO BONI (Participação Virtual)
Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Documento assinado digitalmente



JAQUELINE BONFIM DE CARVALHO
Data: 03/01/2025 18:45:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. JAQUELINE BONFIM DE CARVALHO (Participação Virtual)
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Documento assinado digitalmente



FERNANDO HADDAD
Data: 06/01/2025 10:05:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. FERNANDO HADDAD (Participação Virtual)
Departamento de Fitopatologia / Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

Documento assinado digitalmente



ARIANA SILVA SANTOS

Data: 06/01/2025 10:45:53-0300

Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. ARIANA SILVA SANTOS (Participação Virtual)

Departamento de Ciências da Natureza / Universidade Federal do Vale de São Francisco - UNIVASF

Ilha Solteira, 03 de janeiro de 2025

Toda honra e glória a Deus.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado saúde, força, sabedoria e determinação para seguir sempre em frente e superar as dificuldades encontradas ao longo do caminho. Agradeço a ele, pela oportunidade de estar aqui e não permitir que eu abrisse mão de mais essa vitória e conquista.

Aos meus pais, Cleomário Mota Costa e Helena Maria Ferreira Costa, pela dedicação, pelos valiosos conselhos e no apoio contínuo em todos os momentos da minha vida. Amor incondicional.

A minha orientadora Dra Glaucia Amorim Faria, obrigada pela sua orientação, por todos os conhecimentos transmitidos e por estar sempre disposto a ajudar.

A minha coorientadora Dra. Janay Almeida dos Santos Serejo, por toda atenção, paciência e disponibilidade em me ajudar no que precisei.

Ao Pesquisadores Edson Perito Amorim e Claudia Fortes, por toda atenção e orientação, disponibilidade em ajudar.

Aos meus colegas do Doutorado e a Equipe de Banana da Embrapa, por todas as experiências trocadas o meu muito obrigado. Em especial a Manoela Caldas por todo companheirismo, disponibilidade e apoio durante esse processo a qual sou eternamente grata.

A José Henrique Bernardino, por quem tenho muito amor e gratidão todo carinho, compreensão e incansável apoio durante todo processo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UNESP, pela oportunidade de me tornar Doutora e por todos os ensinamentos que foram transmitidos pelos professores.

A Embrapa Mandioca e Fruticultura, por toda a estrutura e suporte no qual foi essencial para a realização de todo o trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Enfim, por todos que de forma direta e indireta contribuíram para eu chegasse até aqui. O meu muito obrigado.

“Sê forte e corajoso; não temas, nem te espantes, porque o Senhor, teu Deus, é contigo por onde quer que andares.” (Josué 1:9).

RESUMO

A banana é um dos alimentos mais consumidos no mundo e uma das principais commodities para exportação em vários países e cultivadas extensivamente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Nos últimos anos, uma das maiores limitações para a produção da fruta é a murcha de Fusarium causada pelo fungo habitante de solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), principalmente devido a cepa altamente agressiva do patógeno, chamada raça 4 tropical (R4T), cuja epidemia está em proporções pandêmicas e a Subtropical 4 (ST4), representando uma séria ameaça à produção de bananas do subgrupo Cavendish. Devido aos hábitos de natureza saprofítica e por apresentar muitos mecanismos evolutivos, resultando em alta diversidade genética, o manejo de Foc em áreas infestadas é difícil. Além disso, as cultivares deste subgrupo apresentam elevada esterilidade, exigindo o desenvolvimento de cultivares resistentes por meio de estratégias biotecnológicas, como a indução de mutação em cultura de tecidos. Assim, este trabalho envolve a indução de mutações via radiação gama (cobalto-60) nas cultivares Valery e Grande Naine (genoma AAA), utilizando duas dosagens: 20 e 30 Gy. Após a avaliação dos sintomas em casa de vegetação, foram selecionados um total de 57 mutantes resistentes que não apresentaram sintomas após 150 dias em contato com o patógeno. Foram realizadas análises histoquímicas e histológicas nos mutantes no qual indicaram possíveis mecanismos de defesa contra o Foc, como maior produção de compostos fenólicos e a presença de celulose e calose nas raízes. Alguns mutantes não apresentaram estruturas patogênicas (hifas e clamidósporos) nos vasos condutores do xilema, sugerindo assim resistência à penetração do patógeno. Este trabalho objetivou ainda realizar a análise em nível molecular para caracterizar os mutantes selecionados como resistentes ao Foc, com uso de marcadores moleculares, IRAP (Inter-retrotransposon amplified polymorphism), ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) e REMAP (Retrotransposon–microsatellite amplified polymorphism). A análise da matriz de dissimilaridade genética foi baseada no índice de dissimilaridade revelou mutantes com maiores e menores distâncias genéticas com relação a cultivar comercial, que poderão ser usados no programa de melhoramento genético da bananeira que visa o desenvolvimento de variedades mais produtivas e resistentes à Foc. Em conclusão, este trabalho demonstrou que mutações via radiação gama mostrou-se uma estratégia promissora para o desenvolvimento de cultivares de

banana resistentes à murcha de Fusarium e o uso de marcadores moleculares permitiu a identificação de mutantes como fonte de novos alelos para resistência em programas de melhoramento genético de *Musa* spp. para resistência a murcha de Fusarium.

Palavras-chave: *Musa* spp.; mutantes; radiação; melhoramento genético, variabilidade.

ABSTRACT

Bananas are one of the most widely consumed fruits globally and a major export commodity in many countries, extensively cultivated in tropical and subtropical regions. In recent years, one of the most significant limitations to banana production has been Fusarium wilt, caused by the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc). This is primarily due to highly aggressive strains of the pathogen, such as Tropical Race 4 (R4T) and Subtropical Race 4 (ST4), whose epidemics have reached pandemic proportions, posing a serious threat to Cavendish subgroup banana production. Due to the saprophytic nature of Foc and its extensive evolutionary mechanisms resulting in high genetic diversity, managing Foc in infested areas is challenging. In addition, the cultivars of this subgroup have high sterility, requiring the development of resistant cultivars through biotechnological strategies, such as mutation induction in tissue culture. Thus, this work involves the induction of mutations via gamma radiation (cobalt-60) in the Valery and Grande Naine cultivars (genome AAA), using two dosages: 20 and 30 Gy. After evaluating symptoms in a greenhouse, a total of 57 resistant mutants were selected that showed no symptoms after 150 days of contact with the pathogen. Histochemical and histological analyses conducted on the mutants indicated potential defense mechanisms against Foc, such as increased production of phenolic compounds and the presence of cellulose and callose in the roots. Some mutants did not show pathogenic structures (hyphae and chlamydo-spores) in the xylem vessels, suggesting resistance to pathogen penetration. This study also aimed to conduct molecular-level analysis to characterize radiation-induced mutants selected as resistant to Foc, using molecular markers such as IRAP (Inter-retrotransposon amplified polymorphism), ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats), and REMAP (Retrotransposon–microsatellite amplified polymorphism). The analysis of the genetic dissimilarity matrix revealed mutants with greater and lesser genetic distances in relation to the commercial cultivar, which could be used in banana breeding programs aimed at developing more productive and Foc-resistant varieties. In conclusion, this study demonstrated that gamma radiation-induced mutations proved to be a promising strategy for developing banana cultivars resistant to Fusarium wilt. Moreover, the use of molecular markers allowed for the identification of mutants as a source of new alleles for resistance in *Musa* spp. breeding programs for Fusarium wilt resistance.

Keywords: *Musa* spp.; mutants; irradiation; genetic breeding; variability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Pipeline de indução de mutação	34
Figura 2 – Etapas de preparação do inóculo CNPMF 229A para infestação do solo nos canteiros da casa de vegetação.....	35
Figura 3 – Sintomas internos da murcha de Fusarium em mutantes de bananeira Valery (AAA) avaliadas em casa de vegetação.....	39
Figura 4 – Sintomas internos da murcha de Fusarium em mutantes de bananeiras Grand Naine (AAA) avaliadas em casa de vegetação	40
Figura 5 – Estruturas fúngicas em 18 amostras de raízes dos mutantes de bananeira Valery após à infecção pelo isolado Foc CNPMF 229A após 150 dias.....	42
Figura 6 – Compostos fenólicos em micrografias transversais das raízes de 18 amostras raízes dos mutantes da cultivar Valery resistente à infecção pelo isolado Foc CNPMF 229A	44
Figura 7 – Celulose em micrografias de fluorescência de cortes transversais das raízes de 18 amostras raízes dos mutantes da cultivar Valery resistente à infecção pelo isolado Foc CNPMF 229A.....	45
Figura 8 – Calose em micrografias de fluorescência de cortes transversais das raízes de 18 amostras dos mutantes da cultivar Valery resistente à infecção pelo isolado Foc CNPMF 229A	46
Figura 9 – Estruturas fúngicas em raízes dos mutantes de Grande Naine após à infecção pelo isolado Foc CNPMF 229A após 150 dias.....	47
Figura 10 – Compostos fenólicos em micrografias transversais das raízes de mutantes da cultivar Grande Naine resistente à infecção pelo isolado Foc CNPMF 229A.....	49
Figura 11 – Celulose em micrografias de fluorescência de cortes transversais das raízes de mutantes da cultivar Grande Naine resistente à infecção pelo isolado Foc CNPMF 229A	50
Figura 12 – Calose em micrografias de fluorescência de cortes transversais das raízes de mutantes da cultivar Grande Naine resistente à infecção pelo isolado Foc CNPMF 229A.....	51
Figura 13 – Perfil eletroforético de dezenove amostras de mutantes resistentes de Valery (AAA- <i>Musa</i> spp.).....	78
Figura 14 – Matriz de dissimilaridade genética em mutantes resistentes de Valery ..	80

Figura 15 – Diversidade genética entre quarenta e três mutantes resistentes de Valery e seu parental (controle) de <i>Musa</i> spp	82
Figura 16 – Perfil eletroforético de nove amostras de mutantes resistentes de Grande Naine (AAA- <i>Musa</i> spp.).....	83
Figura 17 – Matriz de dissimilaridade genética em mutantes resistentes de Grande Naine	85
Figura 18 – Diversidade genética entre nove mutantes resistentes de Grande Naine e seu parental (controle) de <i>Musa</i> spp	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Mecanismos de resistência identificados em mutantes de bananeira das cultivares Valery e Grande Naine.....	52
Tabela 2 – Marcadores ISSR, IRAP e REMAP utilizados na genotipagem de populações mutantes de bananeiras Valery e Grande Naine	77

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	20
	REFERÊNCIAS.....	24
2	DESENVOLVIMENTO DE CULTIVARES DE BANANEIRA DO SUBGRUPO CAVENDISH RESISTENTES A FUSARIUM VIA MUTAGÊNESE 28	
2.1	INTRODUÇÃO.....	29
2.2	MATERIAL E MÉTODOS	33
2.2.1	Material vegetal.....	33
2.2.2	Radiação gama	33
2.2.3	Preparo do inóculo.....	34
2.2.4	Avaliação da resistência a murcha de Fusarium.....	36
2.2.5	Análises Histológicas e Histoquímicas	37
2.3	RESULTADOS	38
2.3.1	Avaliação de resistência em casa de vegetação	38
2.3.2	Análises Histológicas e Histoquímicas	40
2.3.2.1	Mutantes resistentes de Valery	40
2.3.2.2	Mutantes resistentes de Grande Naine	47
2.4	DISCUSSÃO	52
2.4.1	Avaliação da resistência em estufa	52
2.4.2	A Análise dos mecanismos de resistência por avaliações histológicas e histoquímicas	55
2.5	CONCLUSÃO.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60
3	DIVERSIDADE GENÉTICA DE MUTANTES RESISTENTES DE BANANA CAVENDISH POR MARCADORES MOLECULARES	69
3.1	INTRODUÇÃO.....	70
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	73
3.2.1	Seleção de mutantes	73
3.2.2	Extração de DNA genômico.....	74
3.2.3	Condições da PCR com marcadores moleculares IRAP, ISSR e REMAP e Análise de dados	74

3.3	RESULTADOS	78
3.3.1	Análise molecular do polimorfismo gênico por marcadores moleculares de DNA — ISSR, IRAP e REMAP	78
3.3.1.1	Mutantes resistentes de Valery	78
3.3.1.2	Diversidade genética de mutantes resistentes Valery	79
3.3.1.3	Mutantes resistentes de Grande Naine	83
3.3.1.4	Diversidade genética de mutantes resistentes Grand Naine	84
3.4	DISCUSSÃO	88
3.4.1	Análise de diversidade genética em mutantes usando marcadores moleculares	88
3.5	CONCLUSÃO.....	90
	REFERÊNCIAS.....	91
4	CONCLUSÃO GERAL	96

1 INTRODUÇÃO GERAL

As bananas e plátanos (*Musa* spp.) são frutas comestíveis originárias do sudoeste asiático, desenvolvidas por meio da hibridação intraespecífica entre as espécies selvagens *Musa acuminata* Colla, com genoma A, e *Musa balbisiana* Colla, com genoma B. Esse processo de hibridação gerou diversos grupos genômicos distintos, que englobam uma ampla variedade de formas e características (Simmonds; Shepher, 1955; De Langhe *et al.*, 2009). Bananas e plátanos são cultivados em todos os trópicos e subtropicais, desempenhando um papel crucial como alimento básico em diversas regiões do mundo. Mais de 1000 variedades de banana são produzidas e consumidas globalmente. (Heslop-Harrison; Schwarzacher, 2007; Oyeyinka; Afolayan, 2020) evidenciando a sua importância na alimentação e economia.

A produção mundial de banana, de acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (Fao), alcança 139 milhões de toneladas (Fao, 2025). A maior produção registrada é na Índia, com 36,6 milhões de toneladas, seguido da China (12 milhões), Indonésia (9,3 milhões), Nigéria (7,3 milhões) e em quarto lugar o Brasil com 6,82 milhões de toneladas (Fao, 2025). Dentre as variedades, as bananeiras do subgrupo Cavendish representam cerca de 47% da produção global e constituem as principais cultivares tipo exportação. Estima-se que 50 bilhões de toneladas de Cavendish são produzidas anualmente em todo mundo e fornecidas ao comércio internacional, sendo mais resiliente em mercados globais (Oyeyinka; Afolayan, 2020).

No entanto, com a evolução das bananas cultivadas para consumo, surgiram desafios, patógenos que causam doenças coevoluíram com o hospedeiro banana desde seu centro de origem, em destaque a evolução do agente causal da murcha de fusarium da banana, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), e seus vários VCGs e raças (Fourie *et al.*, 2009) se tornando mais eficientes em infectar o hospedeiro, além de ser considerado uma das grandes ameaças à produção global da fruta.

Foc é classificado em três raças: raça 1 (R1) capaz de causar doença em Gros Michel (AAA) e Silk (AAB); raça 2 (R2) que infecta bananas Bluggoe (ABB); raça 4 (R4) que atinge Cavendish (AAA), e às cultivares que são

suscetíveis a R1 e R2 (Waite e Stover, 1960; Ploetz, 2006). No entanto a duas divisões na Foc R4, que são raça subtropical 4 (STR4) e raça tropical 4 (R4T), onde a STR4 causa doenças em Cavendish nos subtropicos e R4T nos trópicos e subtropicos (Ploetz, 2006; Buddenhagen, 2009; Mostert *et al.*, 2017).

Além das raças, o Foc também foi agrupado com base na compatibilidade vegetativa (VCGs). Até o momento, 24 VCGs foram identificados (MOSTERT *et al.*, 2022). Entre eles, os VCGs 0120, 0122, 0123, 0126, 0129, 01210, 01211, 01215 e 01219 estão associados ao Foc SR4, enquanto o VCG 01213/16 está relacionado ao Foc TR4, que é a cepa mais agressiva que causa a murcha de Fusarium da banana (FWB) (Dita *et al.*, 2018; Czislowski *et al.*, 2017; Pant *et al.*, 2023).

O fusarium é um patógeno habitante de solo, que penetram através das raízes secundárias ou terciárias e de forma direta ou através de feridas (DITA *et al.*, 2018). Uma vez em contato com o hospedeiro, move-se para vasos do xilema e rizomas a medida em que o Foc coloniza a planta é formado extensas redes miceliais fazendo com que ocorra o bloqueio dos vasos do xilema, no qual o mesmo impede o transporte de nutrientes e água causando o sintoma reflexo de murcha e levando a morte (Stover. 1962; Zhang *et al.*, 2018; Warman e Aitken, 2018). Os sintomas externos podem ser observados divisão do pseudocaule, amarelecimento das folhas mais velhas, necrose e crescimento atrofiado. Internamente, há descoloração (marrom-avermelhado) e obstrução do sistema vascular dos vasos do xilema (Pegg *et al.*, 2019; Zakaria, 2023).

O ciclo de vida do Fusarium é caracterizado por uma estratégia de infecção que inicia com uma fase hemibiotrófica, na qual o patógeno depende do hospedeiro vivo para seu crescimento e desenvolvimento. Posteriormente, o patógeno transita para um estágio necrotrófico, no qual ocorre a morte da planta hospedeira (Ma *et al.*, 2013). Além disso, o Fusarium possui a capacidade de sobreviver em outros hospedeiros, como ervas daninhas, devido ao seu hábito endófito, e também colonizar e crescer saprofiticamente em detritos vegetais (Dita *et al.*, 2018; Pegg *et al.*, 2017; Gordon, 2017). Podendo permanecer no solo sob a forma de clamidósporos quando na ausência de um hospedeiro adequado, sendo importantes para a perpetuação do fungo por longos períodos de tempo no

solo, permanecendo dormentes e viáveis por anos no solo (Warman; Aitken, 2018; Stover, 1972; Ploetz, 2006).

Não há medidas de controle de agente químico eficaz que possam ser usados para controlar a doença, contudo estudos vêm sendo realizados com base em agentes biológicos (Pegg *et al.*, 2019; Dita *et al.*, 2018). Nesse contexto, tornar-se importante o desenvolvimento de estratégias, como desenvolvimento de cultivares resistentes em conjunto com manejo de solo e uso de biocontrole (Blomme *et al.*, 2024).

Nesse sentido, a biotecnologia, especialmente na cultura de tecidos vegetais, é uma ferramenta eficaz no melhoramento de plantas. Os programas de melhoramento na cultura da banana visam o desenvolvimento de cultivares resistentes por meio de cruzamentos para a obtenção de variedades híbridas. Estratégias como edição genética, indução de variação somaclonal e mutagênese também tem sido empregadas (Ahmar *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2022). A banana, de grande importância global, enfrenta dificuldades devido as cultivares serem estéreis, partenocárpicas, triploides e, portanto, propagadas clonalmente, o que resultou em uma base genética estreita e resiliência limitada a estresses bióticos e abióticos (Datta *et al.*, 2018). Nesse cenário, o uso de ferramentas de melhoramento genético, como a mutagênese, é empregado na cultura das bananas propagadas *in vitro* com finalidade de introduzir novos alelos e ampliar a diversidade genética (Datta *et al.*, 2018).

A mutagênese é uma técnica que expõe materiais biológicos a mutagênicos, aumentando a frequência de mutações no DNA além da taxa natural. A extensão das mutações depende do tipo de mutagênico, material vegetal, duração e concentração da exposição. Ela envolve a indução artificial de mutações no genoma de propágulos vegetais por métodos físicos ou químicos (Kashtwari *et al.*, 2022).

Os métodos físicos de mutagênese aleatória envolvem a exposição de partes da planta a radiações que quebram a fita de DNA, resultando na perda de um ou mais nucleotídeos. Os raios gama são a radiação mais utilizada em projetos de melhoramento de plantas (Kashtwari *et al.*, 2022). A radiação ionizante causa danos diretos e indiretos nas plantas. O dano direto ocorre quando a energia da radiação é transferida diretamente para o DNA, resultando

em danos celulares, morte celular e indução de anomalias. Já o dano indireto é causado pelas espécies reativas de oxigênio (ROS), formadas pela radiólise da água, o que leva ao estresse oxidativo (Esnault; Legue; Chenal, 2010; Desouky; Ding; Zhou, 2015).

Os danos no DNA podem causar substituições de bases ou quebras nas fitas, simples (SSBs) ou duplas (DSBs). Esses danos levam à inserção ou deleção de bases. Enquanto as SSBs geralmente são reparadas pelas DNA ligases, as DSBs são reparadas por recombinação homóloga (HR) ou junção de extremidades não homólogas (NHEJ), processos propensos a erros que podem resultar em substituições de bases, inserções, deleções ou rearranjos cromossômicos (Lomax; Folkes; O'Neill, 2013; Kitamura; Satoh; Oono, 2022).

As variações nas sequências de DNA podem ser identificadas por meio de marcadores moleculares, os quais têm desempenhado um papel fundamental no melhoramento da mutagenese. Esses marcadores possibilitam a detecção precisa de mutantes reais, além de permitir a eliminação de plantas não mutadas nas etapas iniciais dos experimentos (Xi *et al.*, 2012). Além disso, eles são ferramentas eficazes para esclarecer as relações genéticas entre os mutantes e as plantas-mãe originais (Kang *et al.*, 2013). Marcadores baseados na detecção de polimorfismo em microssatélites e retrotransposons são utilizadas em estudos de diversidade no gênero *Musa* L. (Wen *et al.*, 2023; Kalendar *et al.*, 2011; Sankar; Moore, 2001).

Portanto, este trabalho tem por objetivos: 1) Avaliar e selecionar mutantes desenvolvidos por meio da radiação gama, que demonstraram resistência ao isolado CNPMF 229A em casa de vegetação; 2) Avaliar o processo infeccioso do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* nas raízes dos mutantes de banana em nível histológico e histoquímico e 3) Selecionar, a nível molecular, os mutantes caracterizados como resistentes utilizando marcadores moleculares em termos de sua diversidade genética. Esses dados contribuirão para o desenvolvimento de cultivares de bananeira resistentes à murcha de *Fusarium* e ampliarão o conhecimento sobre os mecanismos envolvidos de interação envolvidos.

REFERÊNCIAS

AHMAR, S.; GILL, R. A.; JUNG, K. H.; FAHEEM, A.; QASIM, M. U.; MUBEEN, M.; ZHOU, W. Conventional and molecular techniques from simple breeding to speed breeding in crop plants: recent advances and future outlook.

International Journal of Molecular Sciences, Basel, v. 21, n. 7, p. 2590, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21072590>.

CZISLOWSKI, E.; FRASER-SMITH, S.; ZANDER, M.; O'NEILL, W. T.; MELDRUM, R. A.; TRAN-NGUYEN, L. T. T.; BATLEY, J.; AITKEN, E. A. B. Investigation of the diversity of effector genes in the banana pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, reveals evidence of horizontal gene transfer. **Molecular plant pathology**, Chichester, v. 19, n. 5, p. 1155-1171, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/mpp.12594>.

DATTA, S.; JANKOWICZ-CIESLAK, J.; NIELEN, S.; INGELBRECHT, I.; TILL, B. J. Induction and recovery of copy number variation in banana through gamma irradiation and low-coverage whole-genome sequencing. **Plant biotechnology journal**, Chichester, v. 16, n. 9, p. 1644-1653, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbi.12901>.

DE LANGHE, E.; VRYDAGHS, L.; DE MARET, P.; PERRIER, X.; DENHAM, T. Why bananas matter: an introduction to the history of banana domestication. **Ethnobotany Research & Applications**, Honolulu, v. 7, p. 165-178, 2009. DOI: <https://doi.org/10.17348/era.7.0.165-177>.

DESOUKY, O.; DING, N.; ZHOU, G. Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, Amsterdam, v. 8, n. 2, p. 247-254, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.03.003>.

DITA, M.; BARQUERO, M.; HECK, D.; MIZUBUTI, E. S.; STAVER, C. P. Fusarium wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. **Frontiers in plant science**, Lausanne, v. 9, p. 1468, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01468>.

ESNAULT, M. A.; LEGUE, F.; CHENAL, C. Ionizing radiation: advances in plant response. **Environmental and Experimental Botany**, Lausanne, v. 68, n. 3, p. 231-237, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.01.007>.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. FAOSTAT: dados de comércio. Roma: FAO, 2025. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 22 jan. 2025, 14:19.

FOURIE, G.; STEENKAMP, E. T.; GORDON, T. R.; VILJOEN, A. Evolutionary relationships among the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* vegetative compatibility groups. **Applied and environmental microbiology**, Washington, v. 75, n. 14, p. 4770-4781, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00370-09>.

GORDON, T. R. *Fusarium oxysporum* and the Fusarium wilt syndrome. **Annual review of phytopathology**, Palo Alto, v. 55, n. 1, p. 23-39, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>.

HESLOP-HARRISON, J. S.; SCHWARZACHER, T. Domestication, genomics and the future for banana. **Annals of botany**, Oxford, v. 100, n. 5, p. 1073-1084, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcm191>.

KANG, E. J.; LEE, Y. M.; SUNG, S. Y.; HA, B. K.; KIM, S. H.; KIM, D. S.; KIM, J. B.; KANG, S. Y. Analysis of the genetic relationship of gamma-irradiated in vitro mutants derived from standard-type chrysanthemum cv. Migok. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, Suwon, v. 54, p. 76-81, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13580-013-0124-9>.

KASHTWARI, M.; MANSOOR, S.; WANI, A. A.; NAJAR, M. A.; DESHMUKH, R. K.; BALOCH, F. S.; ABIDI, I.; ZARGAR, S. M. Random mutagenesis in vegetatively propagated crops: opportunities, challenges and genome editing prospects. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 49, n. 6, p. 5729-5749, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06650-0>.

KITAMURA, S.; SATOH, K.; OONO, Y. Detection and characterization of genome-wide mutations in M1 vegetative cells of gamma-irradiated *Arabidopsis*. **PLoS Genetics**, San Francisco, v. 18, n. 1, p. e1009979, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009979>.

LOMAX, M. E.; FOLKES, L. K.; O'NEILL, P. Biological consequences of radiation-induced DNA damage: relevance to radiotherapy. **Clinical oncology**, Philadelphia, v. 25, n. 10, p. 578-585, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clon.2013.06.007>.

MA, L. J.; GEISER, D. M.; PROCTOR, R. H.; ROONEY, A. P.; O'DONNELL, K.; TRAIL, F.; GARDINER, D. M.; MANNERS, J.M.; KAZAN, K. Fusarium pathogenomics. **Annual review of microbiology**, Palo Alto, v. 67, n. 1, p. 399-416, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650>.

MOSTERT, D.; WICKER, E.; DE JAGER, M. M.; AL KAABI, S. M.; O'NEILL, W. T.; PERRY, S.; LI, C.; GANYUN, Y.; PEGG, K. G.; MOSTERT, L.; VILJOEN, A. A polyphasic approach reveals novel genotypes and updates the genetic structure of the banana Fusarium wilt pathogen. **Microorganisms**, Basel, v. 10, n. 2, p. 269, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020269>.

OYEYINKA, B. O.; AFOLAYAN, A. J. Potentials of Musa species fruits against oxidative stress-induced and diet-linked chronic diseases: In vitro and in vivo implications of micronutritional factors and dietary secondary metabolite compounds. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 21, p. 5036, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25215036>.

PANT, B.; BAI, T.; DU, C.; BAIDYA, S.; MAGAR, P. B.; MANANDHAR, S.; SHRESTHA, J.; DITA, M.; ROUARD, M.; FU, G.; ZHENG, S. J. Molecular diagnosis and vegetative compatibility group analysis of fusarium wilt of banana

in Nepal. **Journal of Fungi**, Basel, v. 9, n. 2, p. 208, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof9020208>.

PEGG, K. G.; COATES, L. M.; O'NEILL, W. T.; TURNER, D. W. The epidemiology of Fusarium wilt of banana. **Frontiers in plant science**, Lausanne, v. 10, p. 1395, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01395>.

PLOETZ, R. C. Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as Fusarium oxysporum f. sp. cubense. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 6, p. 653-656, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0653>.

PUNNIYAMOORTHY, D.; SOUFRAMANIEN, J. Gamma-rays induced genome wide stable mutations in cowpea deciphered through whole genome sequencing. **International Journal of Radiation Biology**, Oxfordshire, v. 100, n. 7, p. 1072–1084. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553002.2024.2345087>.

SIMMONDS, N. W.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 55, n. 359, p. 302-312, 1955. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1955.tb00015.x>.

STOVER, R. H. **Banana, plantain and abaca diseases**. Wallingford: Commonwealth Mycological Institute, 1972. v. 316.

STOVER, R.H. **Fusarial Wilt (Panama Disease) of bananas and other musa species**. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute, 1962. 117 p.

WAITE, B. H.; STOVER, R. H. Studies on Fusarium wilt of Bananas: VI. Variability and the cultivar concept in Fusarium oxysporum f. cubense. **Canadian Journal of Botany**, Ontario, v. 38, n. 6, p. 985-994, 1960. DOI: <https://doi.org/10.1139/b60-087>.

WARMAN, N. M.; AITKEN, E. A. B. The movement of Fusarium oxysporum f. sp. cubense (sub-tropical race 4) in susceptible cultivars of banana. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, p. 1748, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01748>.

XI, M.; SUN, L.; QIU, S.; LIU, J.; XU, J.; SHI, J. In vitro mutagenesis and identification of mutants via ISSR in lily (*Lilium longiflorum*). **Plant cell reports**, Heidelberg, v. 31, p. 1043-1051, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-011-1222-8>.

ZAKARIA, L. Fusarium species associated with diseases of major tropical fruit crops. **Horticulturae**, Basel, v. 9, n. 3, p. 322, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030322>.

ZHANG, L.; YUAN, T.; WANG, Y.; ZHANG, D.; BAI, T.; XU, S.; WANG, Y.; TANG, W.; ZHENG, S. J. Identification and evaluation of resistance to Fusarium oxysporum f. sp. cubense tropical race 4 in *Musa acuminata* Pahang.

Euphytica, Dordrecht, v. 214, p. 1-12, 2018. DOI:
<https://doi.org/10.1007/s10681-018-2185-4>.

4 CONCLUSÃO GERAL

A partir das conclusões apresentadas, pode-se afirmar que a indução de mutações por radiação gama com cobalto-60 foi eficaz no desenvolvimento de mutantes de bananeiras resistentes à murcha de *Fusarium*, um problema significativo para a produção de bananas. A dose de 20 Gy se destacou, gerando o maior número de plantas resistentes, com a presença de mecanismos de defesa como compostos fenólicos, calose e celulose, sugerindo uma resistência ativada pós-formada. Os mutantes mais divergentes geneticamente, como MV9, 38, 42 e MG2, são promissores para o aumento da diversidade genética da espécie, sendo valiosos para o melhoramento genético da bananeira. Já os mutantes com alta similaridade à cultivar comercial, como MV1, 2, 3, 4, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 e MG3, 5, 6 e 8, têm o potencial de manter as características agronômicas e o valor comercial, ao mesmo tempo que oferecem resistência à doença.

Esses resultados indicam que a mutação induzida por radiação gama é uma estratégia eficaz para o desenvolvimento de cultivares de banana resistentes à murcha de *Fusarium*, ao mesmo tempo que possibilita a ampliação da base genética da espécie. Estudos adicionais são necessários para aprofundar a compreensão das alterações genéticas dos mutantes, assim como para avaliar seu desempenho em programas de melhoramento e garantir seu potencial comercial e agronômico.