



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA

Caracterização de genótipos de *Musa* com base na reação a *Radopholus similis* e de genótipos contrastantes para resistência com base em marcadores moleculares RAPD.

JANSEN RODRIGO PEREIRA SANTOS

Brasília – DF

2007



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UNB
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA**

Caracterização de genótipos de *Musa* com base na reação a *Radopholus similis* e de genótipos contrastantes para resistência com base em marcadores moleculares RAPD.

JANSEN RODRIGO PEREIRA SANTOS

Dissertação apresentada ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial a obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

Brasília, DF

2007

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do **Professor Juvenil Enrique Cares**, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPQ e Embrapa-Cerrados e Embrapa-Mandioca e Fruticultura Tropical.

Caracterização de genótipos de *Musa* com base na reação a *Radopholus similis* e de genótipos contrastantes para resistência com base em marcadores moleculares RAPD.

JANSEN RODRIGO PEREIRA SANTOS

Dissertação aprovada em 16 de março de 2007 por:

Prof. Juvenil Enrique Cares, Ph. D. - (Orientador - Presidente)

Prof. Adalberto Corrêa Café Filho, Ph.D - (Examinador)

Dr. Fabio Gelape Faleiro, Doutor - (Examinador)

DEDICATÓRIA

"À minha eterna namorada Marcella, amada, amiga e leal. A Daniella, filha querida que o Senhor nos deu. Ao meu pai, José Célio, que ensinou-me o valor da honestidade e do trabalho. À minha avó, Francisca, que me criou como filho. Aos meus familiares que sempre estiveram ao meu lado."

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por toda força que dele obtive para seguir em frente neste caminho.

Ao meu pai José Célio dos Santos pelo exemplo de carácter, dedicação e por tudo que fez por mim.

À minha fiel companheira Marcella Alves Teixeira, a qual sempre esteve ao meu lado e ajudou no desenvolvimento deste trabalho, auxiliando com idéias e participando diretamente na execução das atividades. Sua visão positiva com relação às coisas, muitas vezes me confortou e me deu força para finalizar cada etapa do trabalho.

A todos os meus familiares e entes queridos que sempre estiveram ao meu lado e me apoiaram em todos os momentos.

Meu grande agradecimento ao meu orientador, presente e amigo, Juvenil Enrique Cares por toda sua paciência e atenção. Sua orientação foi fundamental ao meu desenvolvimento profissional e ao meu aprendizado. Grande é o meu respeito e admiração por sua pessoa e seu profissionalismo.

A Fábio Gelape Faleiro, o qual me orientou e teve grande participação para o desenvolvimento do segundo capítulo deste trabalho. Participação que foi importante para o meu enriquecimento profissional, pois me despertou para um novo campo de trabalho.

A Dílson da Cunha Costa por ter cooperado com o projeto, compartilhando a sua experiência adquirida em outros trabalhos, pelo seu entusiasmo e toda ajuda prestada.

À Ednalva Patrícia de Andrade por ter me ajudado, principalmente com a multiplicação dos inóculos, entre outras coisas.

À Graciele Bellon por toda sua presteza, cordialidade e ajuda na execução do trabalho laboratorial realizado na Embrapa-Cerrados.

À Vânia Freitas pela sua amizade e por disponibilizar sua ajuda.

A Adalberto C. Café Filho, Cláudio L. Costa e demais professores do Programa de Pós-graduação em Fitopatologia da UnB que sempre estiveram presentes e dispostos a ajudar. Sinto-me honrado de ter em minha formação acadêmica, os ensinamentos de profissionais de tão alto nível.

Aos funcionários do Laboratório de Fitopatologia e da Estação Biológica da UnB, que no desempenho de suas funções, possibilitaram a realização deste trabalho.

Agradeço a Universidade de Brasília, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária pelo incentivo e ao CNPQ pela concessão de bolsa de estudos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
A importância da banana.....	4
Botânica, origem e distribuição geográfica.....	5
Aspectos fitossanitários da bananeira.....	7
Doenças fungicas.....	8
Doenças bacterianas.....	9
Viroses.....	9
Nematoses	10
Taxonomia, morfologia e biologia de <i>Radopholus similis</i> :.....	10
Práticas de controle de <i>Radopholus similis</i> :.....	13
Melhoramento genético da bananeira.....	17
A variabilidade genética da bananeira e uso de marcadores moleculares de DNA.....	21
CAPÍTULO 1. Caracterização e seleção de genótipos de <i>Musa</i> para resistência a <i>Radopholus similis</i>.....	23
RESUMO.....	24
ABSTRACT.....	25
1. INTRODUÇÃO.....	26
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.1. Material Vegetal.....	28
2.2. Obtenção e multiplicação de inóculo de <i>Radopholus similis</i> :.....	31
2.3. Inoculação de <i>Radopholus similis</i> em bananeira.....	32
2.4. Avaliação.....	32
2.5. Delineamento experimental e análise estatística.....	33
3. RESULTADOS.....	34
4. DISCUSSÃO.....	38
5. CONCLUSÕES.....	41

CAPÍTULO 2. Caracterização molecular e variabilidade genética de genótipos de bananeira contrastantes para resistência a <i>Radopholus similis</i>, com base em marcadores RAPD.....	42
RESUMO.....	43
ABSTRACT.....	44
1. INTRODUÇÃO.....	45
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	48
2.1. Material genético.....	48
2.2. Extração de DNA.....	48
2.3. Amplificação do DNA e obtenção de marcadores RAPD.....	49
2.4. Análises estatísticas.....	49
3. RESULTADOS.....	50
4. DISCUSSÃO.....	55
5. CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Evolução das cultivares de bananas comestíveis.....	6
Figura 2. Padrão de marcadores gerados pelo “primer” OPE-16 nos sete acessos de bananeira.....	52
Figura 3. Análise de agrupamento de sete acessos de bananeira com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 521 marcadores RAPD.....	53
Figura 4. Dispersão gráfica de sete acessos de bananeira com base na matriz de distância genética calculada utilizando-se 521 marcadores RAPD...	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Genótipos de bananeiras estudados, provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical.....	29
Tabela 2. Genitores dos genótipos de bananeiras estudados, provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical.....	30
Tabela 3. Reação da hospedeira com base na percentagem de redução do fator de reprodução em relação a cultivar mais suscetível.....	33
Tabela 4. Reação de 26 genótipos de bananeira a <i>Radopholus similis</i> após 120 dias da inoculação em casa de vegetação.....	36
Tabela 5. Correlação das variáveis pela análise de correlação de Pearson.....	37
Tabela 6. Acessos de bananeira analisados e fenótipo de resistência ou suscetibilidade a <i>Radopholus similis</i> com base no fator de reprodução.....	48
Tabela 7. “Primers” relacionados para obtenção dos marcadores RAPD e respectivos números de bandas polimórficas e monomórficas e promissores para trabalhos de mapeamento genético da resistência ao nematóide <i>Radopholus similis</i>	51
Tabela 8. Matriz de distâncias entre sete acessos de bananeiras suscetíveis e resistentes ao nematóide <i>Radopholus similis</i> , baseada em 521 marcadores RAPD.....	52
Tabela 9. Número de marcadores moleculares promissores para o mapeamento genético entre os cruzamentos de acessos suscetíveis e resistentes de bananeiras ao nematóide <i>Radopholus similis</i>	54

Caracterização de genótipos de *Musa* com base na reação a *Radopholus similis* e de genótipos contrastantes para resistência com base em marcadores moleculares RAPD.

RESUMO

A bananeira é uma ótima hospedeira de vários nematóides importantes, sendo os principais, *Radopholus similis* e *Helicotylenchus multicinctus*. Um método eficiente, de baixo custo para o produtor e que tem mostrado grande potencial para o controle de fitonematóides é a resistência genética. Uma etapa importante do melhoramento genético é a avaliação da variabilidade genética da planta hospedeira. Neste trabalho objetivou-se avaliar e caracterizar 26 genótipos de bananeira com relação à resistência ao nematóide cavernícola, *Radopholus similis* e, caracterizar sete genótipos contrastantes para os fenótipos de resistência e suscetibilidade a *R. similis* utilizando marcadores moleculares RAPD. As plantas (uma por vaso) foram inoculadas, em de casa de vegetação, com uma suspensão contendo 100 juvenis, machos e fêmeas do nematóide. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições e os genótipos foram avaliados 120 dias após a inoculação. Foram avaliados número de nematóides por grama de raiz, em todo o sistema radicular, no solo e o número total de nematóides. Além destes, o fator de reprodução (FR = população final/população inicial) e seu índice de redução foram calculados para determinação da reação dos genótipos a *R. similis*. De acordo com essa variável, observou-se que os genótipos Borneo, Grande Naine e 1304-06 se comportaram como suscetíveis e os genótipos 4249-05, 0337-02, 0323-03 e 4279-06, como resistentes a *R. similis*. Amostras de DNA genômico de cada um destes materiais foram extraídas e amplificadas via PCR utilizando 36 primers decâmeros para a obtenção de marcadores RAPD. Um total de 521 marcadores foram obtidos e convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas distâncias genéticas entre os genótipos. Análises de agrupamento e dispersão gráfica dos genótipos foram realizadas. Dos 521 marcadores obtidos, 420 (81%) foram polimórficos e 140 (27%) mostraram-se promissores para trabalhos de mapeamento genético da resistência a *R. similis*, uma vez que estiveram presentes em acessos avaliados como resistentes e ausentes em todos os suscetíveis. As distâncias genéticas entre os genótipos variaram entre 0,106 e 0,455. A maior distância genética (0,455) foi observada entre a cultivar Borneo e o genótipo 4279-06 que se apresentaram como genótipos altamente

suscetível e resistente, respectivamente. Os acessos mais contrastantes para a resistência (Borneo e 4249-05) apresentaram uma distância de 0,374 e um total de 114 bandas polimórficas e úteis para o mapeamento genético. Os “primers” OPE-15, OPH-17 e OPG-09 foram os que apresentaram maior número de bandas promissoras para mapeamento (12, 8 e 8, respectivamente), destacando-se dentre os demais.

Palavras-chave: nematóide cavernícola, melhoramento genético, RAPD, resistência genética, caracterização molecular

Characterization of *Musa* genotypes based on their reaction to *Radopholus similis* and of resistance contrasting genotypes based on RAPD molecular markers.

ABSTRACT

Banana is a suitable host to various important nematodes. *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multincinctus* are considered the most destructive ones to banana root system. Genetic resistance is a potentially efficient and low cost method of nematode control on bananas. For a breeding program, an important step is the evaluation of genetic variability of the host. This work had as objectives: to evaluate and to characterize 26 banana genotypes in relation to resistance and susceptibility to the burrowing nematode *Radopholus similis*, and to characterize seven banana contrasting genotypes for the phenotypes of resistance and susceptibility to *R. similis* with molecular markers of RAPD. Plant materials were obtained from a working collection of bananas maintained by Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. The plants (one per pot) were inoculated with a nematode suspension containing 100 juveniles, males and females. The experiment followed a completely randomized design with four replicates. The genotypes were evaluated 120 days after inoculation. Nematodes per gram of root, numbers of nematodes per root system, numbers of soil nematodes and total number of nematodes were also evaluated. Moreover, the reproduction factor ($FR = \text{final population} / \text{initial population}$) and its reduction index were calculated to determine the reaction of the genotypes to *R. similis*. According to this variable, the genotypes Borneo, Grand Naine and 1304-06 behaved as susceptible and the genotypes 4249-05, 0337-02, 0323-03 and 4279-06, as resistant to *R. similis*. Genomic DNA was extracted from each of these genotypes, and tested with 36 decameric primers to obtain RAPD markers. A total of 521 markers were converted into a binary data matrix, from which the genetic distances between genotypes were estimated, and further evaluated by cluster and graphic dispersion analyses. Among 521 resultant markers, 420 (81%) were polymorphic, and 140 (27%) were considered promising markers to be used in studies for genetic mapping of resistance to *R. similis* in banana genotypes, for they were present on the genotypes evaluated as resistant and absent in all the susceptible ones. The genetic distances between genotypes were in the range of 0.106 to 0.455. The largest genetic distance was observed between cv. Borneo and '4279-06', respectively, a

highly susceptible and a resistant genotype to *R. similis*. The highest contrast, as resistance is concerned, occurred between 'Borneo' and '4249-05', comprising a genetic distance of 0.374 and a total of 114 polymorphic bands with potential for genetic mapping of the resistance. The primers OPE-15, OPH-17 and OPG-09 were the ones allowing more promising bands for genetic mapping of resistance to the nematode (12.8 and 8, respectively).

Key words: burrowing nematode, genetic breeding, genetic resistance, molecular characterization, RAPD.

INTRODUÇÃO

A banana é uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo produzida na maioria dos países tropicais. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de banana, porém quase toda a produção destina-se ao mercado interno, cuja preferência se dá por cultivares do grupo AAB subgrupo, 'Prata'.

No Brasil, a cultura se destaca em segundo lugar após a laranja em relação à área plantada de frutíferas (IBGE, 2004), com produção de 6.602.750 toneladas de banana, em uma área de 484.981 hectares (FAO, 2004). A banana é uma das frutas mais populares entre os brasileiros, presente em 90% dos domicílios. Está disponível em todos os meses do ano, cabendo-lhe o papel fundamental no âmbito socioeconômico, como importante fonte de alimentação e fixação de mão-de-obra rural (Costa, 2004), sobretudo na agricultura familiar. Estima-se que um hectare da cultura emprega cerca de seis pessoas por ano (Alves, 1985).

Dentre os patógenos que atacam a cultura da banana, os nematóides se destacam pela sua ampla disseminação em todo o mundo. As perdas causadas são altas, com valores estimados de 20% (Sasser & Freckman, 1987), chegando a 100%, quando não é efetuado o controle apropriado. Os nematóides atacam a região radicular, afetando, dessa forma, o crescimento e produção da planta, influenciando negativamente as funções mecânica (ancoragem) e fisiológica (absorção de nutrientes) do sistema radicular (Speijer & De Waele, 1997).

A bananeira é uma ótima hospedeira de vários nematóides importantes, sendo os principais o nematóide cavernícola, *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949, *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956; *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941, *Meloidogyne* spp. e o nematóide reniforme, *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940. Segundo Zem & Lordello (1983), os nematóides cavernícola e espiralado (*Helicotylenchus multicinctus*) são considerados fatores limitantes à produção de banana em várias partes do mundo, apresentando oneroso e difícil controle.

Quando o controle dos nematóides pelo uso de material de plantio e solos livres de inóculo não é eficaz, o manejo de nematóides é baseado principalmente em rotação de culturas e controle químico (Gowen & Quénéhervé, 1990). No entanto, em áreas onde o cultivo da banana é contínuo, a rotação de culturas não pode ser praticada e o custo de produtos químicos é muito alto para a maioria dos produtores.

Além disso, os nematocidas são nocivos ao meio ambiente, podendo causar a contaminação de lençóis freáticos.

Um método eficiente, de baixo custo para o produtor e que tem mostrado grande potencial é a resistência genética, que tem sido estudada por diferentes pesquisadores (Wehunt *et al.*, 1978; Fallas & Marbán-Mendoza, 1994; Fogain & Gowen, 1997; Marin *et al.*, 1998; Elsen *et al.*, 2002; Costa, 2004). A busca da resistência genética depende da variabilidade genética da planta hospedeira e da variabilidade existente entre as populações dos nematóides.

A agressividade de uma população de nematóides sobre dada hospedeira é conseqüência da capacidade reprodutiva (comparação da velocidade de multiplicação de diferentes populações em uma determinada hospedeira) (Shaner *et al.* 1992) e virulência do patógeno, que é a capacidade de infectar e se reproduzir na hospedeira (Andrison, 1993).

As populações mais agressivas de nematóides se reproduzem rapidamente, causando danos severos nas raízes. No entanto, em trabalho realizado por Costa (2004), não houve correlação positiva entre a população final de nematóides com redução do crescimento e de pesos da parte aérea e da raiz de bananeiras cultivadas em vasos, em casa de vegetação. Dessa forma, os resultados mostraram que os danos causados por *R. similis* em bananeiras não dependem somente do tamanho da população, mas também do poder elicitor do nematóide. Quando a interação nematóide-hospedeira é fortemente incompatível, o dano inicial à raiz é suficientemente grande para impedir o desenvolvimento da planta com conseqüente impedimento da multiplicação do nematóide, garantindo o status de planta intolerante em relação ao nematóide. Porém, ao contrário, se a planta responde fracamente quando elicitada pode tolerar números altos de nematocidas sem uma redução significativa no desenvolvimento. Situação intermediária ocorre com plantas suscetíveis, que apesar de reagir com lesões radiculares que comprometem o desenvolvimento da planta, esta é capaz de suportar em níveis diferenciados a multiplicação do nematóide. Diferenças no grau de resistência encontrados em material propagativo multiplicado em cultura de tecido sugerem que essas são devidas à variação somaclonal e à influência ambiental (Costa, 2004).

A base genética da resistência a *R. similis* em bananeira ainda não foi estabelecida, apesar da existência de estudos que demonstram que a resistência é controlada por um ou poucos genes (Pinochet *et al.*, 1998). Para os programas de melhoramento é de grande importância o entendimento da herança e dos

mecanismos da resistência ao nematóide em acessos resistentes (Giebel, 1982). A realização destes estudos deve ser apoiada por trabalhos que buscam definir o grau de resistência, ou de tolerância ao patógeno, bem como por trabalhos que utilizam marcadores moleculares que são empregados na caracterização e na avaliação da variabilidade genética de bananeiras (Bhat e Jarret, 1995; Pillay *et al.*, 2000).

Bhat & Jarret (1995) demonstraram a utilidade dos marcadores RAPD na caracterização do germoplasma de *Musa* spp., tendo sido possível diferenciar clones que se mostravam morfologicamente idênticos.

Neste trabalho objetivou-se avaliar genótipos de *Musa* spp. em relação à resistência ao nematóide cavernícola (*R. similis*); caracterizar genótipos contrastantes para os fenótipos de resistência e suscetibilidade utilizando marcadores moleculares RAPD e identificar “primers” e marcadores RAPD promissores para futuros trabalhos de mapeamento genético da resistência ao nematóide *R. similis* em bananeiras.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A importância da banana

A produção de banana é concentrada em países tropicais, onde existem condições adequadas para o desenvolvimento da planta. Em 2004, um total de 130 países produziu banana, mas a produção é concentrada em poucos países. Os dez países maiores produtores foram responsáveis por 75% e Índia, Equador, Brasil e China por 50 % da produção daquele ano (FAO, 2004).

No Brasil, segundo dados do IBGE, a cultura foi a segunda frutífera mais cultivada em 2004, sendo superada apenas pela laranja. A área colhida foi de aproximadamente 492 mil hectares, com uma produção de 6,6 milhões de toneladas de frutos, o que correspondeu a um volume de negócios superior a R\$ 2,3 bilhões. Os principais Estados produtores em 2004 foram São Paulo, Bahia, Santa Catarina, Minas Gerais e Pará. Estes cinco estados somaram 56% da produção nacional.

No Brasil o consumo per capita de frutas, de 31 kg/ano, equivale ao triplo do consumo per capita do europeu e do norte-americano (7 e 13 kg/ano, respectivamente) (FAO, 2003). O mercado interno consome 99% da produção de banana, sendo que cada região tem preferência por um determinado grupo de variedades.

A escolha da cultivar de bananeira a ser implantada é fortemente determinada pelo mercado. O mercado interno é dividido em vários nichos, sendo que em alguns, a demanda por bananas tipo 'Prata' é predominante e em outros, há preferência por bananas do tipo 'Nanica'. Ainda existe um mercado reduzido que consome frutos para cozimento (*plátanos*).

A demanda por banana tipo 'Prata' (subgrupo Prata) é predominante no Sudeste (exceto São Paulo), Norte e Nordeste. O maior volume percentual comercializado de banana do tipo 'Nanica' (subgrupo Cavendish) encontra-se na Ceasa de São Paulo, Curitiba, Porto Alegre e Brasília. Há alguns mercados com características específicas, indicando nichos para algumas cultivares, como Salvador e Vitória, onde grande parte da banana comercializada é de cultivares do tipo 'Terra' (subgrupo Terra) (Toda Fruta, 2006).

As bananas dos tipos 'Prata' e 'Nanica' são bem aceitas pelo consumidor, no entanto, essas variedades apresentam algumas desvantagens agrônomicas, como suscetibilidade às sigatoka-amarela causada pelo fungo *Mycosphaerella musicola* e

negra por *Mycosphaerella fijiensis*, a nematóides (especialmente *R. similis*), à broca-do-rizoma (*Cosmopolites sordidus* (Germ.) e, no caso da 'Prata', ao mal-do-Panamá pelo fungo *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Estes problemas fitossanitários têm representado grandes prejuízos para o produtor, chegando a inviabilizar o cultivo em algumas situações.

Um fato importante é a crescente preocupação do consumidor brasileiro em relação à presença de resíduos químicos sobre os alimentos. Na bananicultura, essa preocupação já chegou aos tradicionais centros produtores de frutas para exportação, aumentando a busca por plantio de variedades resistentes a determinadas doenças, que dispensem uso de agrotóxicos, possibilitando, desta forma, a oferta ao mercado de produtos com o diferencial de qualidade desejado pelos consumidores.

Botânica, origem e distribuição geográfica

O centro de origem das bananas é a região tropical que vai desde a Índia até Nova Guiné, incluindo a Malásia e Indonésia. Nesta região, alguns diplóides, possivelmente híbridos, adquiriram a capacidade de produzir mais polpa e se tornaram progressivamente sem semente. A intervenção humana teve um papel fundamental na geração de bananas comestíveis, sendo que as bananeiras sem sementes só poderiam ter chegado a outras partes do mundo através do transplante de mudas pelo homem. Dessa forma, a história das variedades de banana está intimamente ligada a das populações humanas (De Langhe, 1996).

As bananeiras são plantas pertencentes ao gênero *Musa* L., família *Musaceae* L., sendo esta uma das seis famílias da ordem Zingiberales Grisebach.

A família *Musaceae* é dividida em dois gêneros: *Musa* e *Ensete* Horaninow. O Gênero *Musa* é dividido em quatro seções (Cheesman, 1947): *Callimusa*, *Australimusa*, *Eumusa* e *Rhodochlamys*. As espécies que fazem parte das seções *Callimusa* e *Rhodochlamys* são apenas plantas de interesse ornamental, não produzindo frutos comestíveis. A *Australimusa* apresenta espécies de importância industrial, pois destas são retiradas fibras têxteis para confecção de redes para pesca. Teoricamente, todas as bananeiras cultivadas são originárias das espécies pertencentes a seção *Eumusa*, que possui cerca de 11 espécies. Entretanto, a grande maioria das cultivares é resultante de duas espécies, *Musa acuminata* Colla (genoma A) e *Musa balbisiana* Colla (genoma B) (Inibap, 2004).

As bananeiras são monocotiledôneas tropicais cujas espécies de importância econômica, *M. acuminata* e *M. balbisiana* apresentam número básico de cromossomos igual a 11. Atualmente a maioria das variedades são híbridas destas duas espécies (Figura 1).

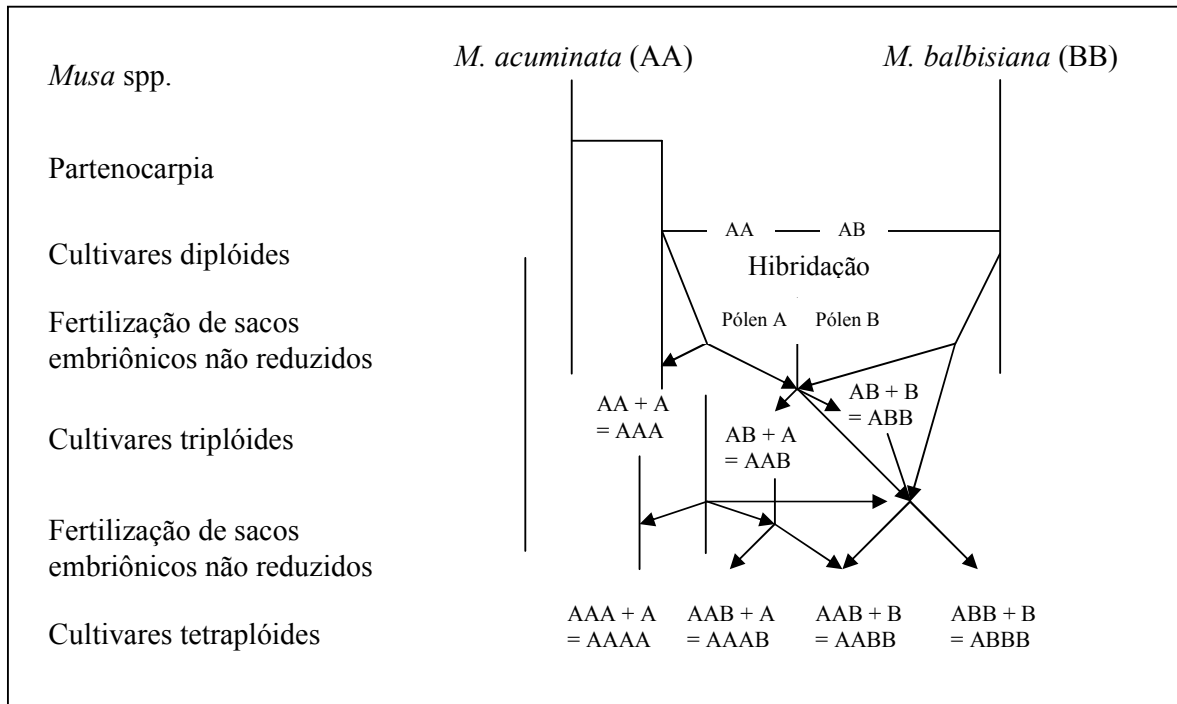


Figura 1. Evolução das cultivares de bananas comestíveis (Simmonds & Shepherd, 1955)

As raízes da bananeira são fasciculadas ou em cabeleira e bastante superficiais. O caule é subterrâneo, denominado de rizoma, onde estão localizadas a gema apical e as gemas laterais que dão origem aos perfilhos. O pseudocaule, denominado de tronco, é formado pelo conjunto das bainhas das folhas sobrepostas a partir do rizoma até a roseta, onde as folhas se abrem. As folhas se compõem de pecíolo e limbo foliar com as nervuras.

Quando ocorre a diferenciação floral da gema apical, forma-se no rizoma o "palmito", que cresce no interior do pseudocaule emergindo na roseta. No momento da diferenciação floral já são estabelecidos os números de pencas e de dedos por penca. A partir do momento que o palmito atinge a roseta e se exterioriza (parição), passa a ser denominado "engaço", possuindo flores masculinas e femininas a ele aderidas e protegidas por brácteas.

O cacho é um rácimo, constituído pelo engaço e também por ráquis, pencas (almofadas e dedos) e botão floral (coração ou mangará). Os frutos são de desenvolvimento partenocárpico, sendo que algumas variedades apresentam algumas sementes viáveis, utilizadas em programas de melhoramento genético.

As primeiras bananas cultivadas foram diplóides: a maioria das bananeiras produtoras de frutos comestíveis originou-se a partir da hibridação intra e interespecífica das espécies selvagens, *M. acuminata* (genoma A) e *M. balbisiana* (genoma B) (Simmonds & Shepherd, 1955).

Formas triplóides passaram a ocorrer como resultado de hibridações entre diplóides parcialmente estéreis com formas macho-férteis e, por serem mais produtivos, mais vigorosos e produzirem frutos maiores, foram selecionados em preferência aos diplóides, substituindo-os em muitos locais (Sharrock, 1998). Naturalmente, nos locais onde ocorreram encontros entre as duas espécies, surgiram os triplóides AAB e ABB (INIBAP, 2004). Grande parte das cultivares é triplóide, sendo que diplóides e tetraplóides ocorrem com menor frequência. Os tetraplóides podem se originar também a partir de hibridização natural, porém eles são mais raros que os triplóides. No entanto, alguns tetraplóides foram produzidos por programas de melhoramento, como os híbridos FHIA (Fundação Hondurenha de Investigação Agrícola) (Inibap, 2004). O intercruzamento de espécies e subespécies levou ao aparecimento de esterilidade, uma característica selecionada pelo homem juntamente com partenocarpia e propagação vegetativa (Simmonds, 1995). No entanto, os diplóides são indispensáveis ao melhoramento genético, pois são fontes potenciais de genes de resistência a fatores bióticos e abióticos adversos (Silva *et al.*, 1999).

Aspectos fitossanitários da bananeira

A bananicultura brasileira, salvo algumas áreas de produção, caracteriza-se pelo baixo nível técnico dos cultivos. Isto conduz ao fato de que, em geral, bananais mal cuidados são comumente afetados, com grande intensidade, por problemas fitossanitários, dentre os quais se destacam as doenças bióticas. Estas, por sua vez, contribuem decisivamente para a baixa produtividade e qualidade dos frutos que são produzidos em nosso país (Cordeiro, 1997).

Doenças fúngicas

A Sigatoka-amarela, também conhecida por cercosporiose da bananeira ou mal de Sigatoka, tem por agente causal o fungo *Mycosphaerella musicola*, Leach (forma perfeita)/ *Pseudocercospora Musae* (Zimm) Deighton (forma imperfeita) (Ploetz & Pegg, 2000; Cordeiro, 1997; 2006). A doença foi observada pela primeira vez na Ilha de Java, em 1902, tendo sua primeira ocorrência de importância na Ilha de Fiji, em 1913. No Brasil, seu primeiro relato foi em 1944, no Amazonas (Kimati & Galli, 1980), local com chuvas freqüentes e temperaturas acima de 25°C. Em condições ideais, os prejuízos causados pelo patógeno podem chegar a 100%, uma vez que os frutos produzidos sem nenhum controle da doença não apresentam valor comercial. Ocorre morte precoce das folhas e enfraquecimento da planta: diminuição do número de pencas por cacho, redução do tamanho e maturação precoce dos frutos e perfilhamento lento (Cordeiro, 2006).

A Sigatoka-negra é causada pelo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (fase perfeita)/*Paracercospora fijiensis* (Morelet) Deighton (fase imperfeita). A primeira observação da doença foi em 1963, em Fiji (Rhodes, 1964); sendo constatado no Brasil apenas em 1998, no Estado do Amazonas. Seu desenvolvimento e disseminação são fortemente influenciados por fatores ambientais, como umidade, temperatura e vento (Cordeiro, 2006). Esta é na atualidade, a mais grave doença da bananeira, implicando em aumento significativo de perdas, que podem chegar a 100% onde o controle não é realizado. Onde essa doença é introduzida, a sigatoka-amarela perde sua importância, podendo desaparecer em cerca de três anos. Ataca severamente as variedades tradicionais de banana, incluindo as do tipo Prata e Cavendish (Cordeiro, 2006).

Conhecida por mal-do-Panamá ou murcha-de-fusário, a doença causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Sn & Hansen é disseminada principalmente por contato dos sistemas radiculares de plantas sadias com esporos liberados por plantas doentes e, em muitas áreas, o uso de material de plantio contaminado. O fungo também é disseminado por água, pelo homem, animais e equipamentos agrícolas contaminados (Cordeiro, 2006). O fungo sobrevive no solo por longos períodos na ausência do hospedeiro, fato que provavelmente se deve à formação de estruturas de resistência (clamidósporos) (Cordeiro & Matos, 2000). Em variedades altamente suscetíveis, como a banana 'Maçã', provoca perdas de 100% na produção. Já nas variedades tipo 'Prata', que apresentam um grau de

suscetibilidade bem menor do que a 'Maçã', a doença causa em torno de 20% de perdas (Cordeiro, 2006).

Doenças bacterianas

No Brasil, a presença do moko ou murcha bacteriana é conhecida desde 1976 (Tokeshi & Duarte, 1976) e, atualmente se encontra em todos os Estados da região Norte, com exceção do Acre. Em Sergipe e Alagoas vem sendo mantida sob controle mediante erradicação dos focos que têm surgido periodicamente. A doença é causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum* Smith. A disseminação é feita pelo uso de ferramentas contaminadas, ocorrendo também contaminação de raiz para raiz ou do solo para a raiz. Insetos como abelhas (*Trigona* spp.), vespas (*Polybia* spp.) e mosca-das-frutas (*Drosophyla* sp.), visitantes de inflorescência, são outros veículos de disseminação.

Outra doença bacteriana de menor expressão é a podridão mole, causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Bergey et al.). As plantas afetadas por essa doença entram em colapso devido à murcha seguida de podridão causada pela bactéria (Cordeiro, 2006).

Viroses

A cultura é afetada pelos vírus: *Banana streak vírus* (Bsv), *Cucumber mosaic vírus* (CMV) e *Banana Bunchy Top Vírus* (BBTV) (Praga quarentenária A1). O primeiro é transmitido por cochonilha e mudas infectadas, enquanto a transmissão do segundo é realizada por afídeos. O CMV está presente nas principais áreas produtoras de bananeira, podendo provocar perdas elevadas em plantios novos, especialmente quando eles são estabelecidos em áreas com elevada incidência de trapoeraba (*Commelina diffusa*) e alta população de pulgões (Ploetz et al., 2003; Cordeiro, 2006).

Nematoses

A bananeira é hospedeira de várias espécies importantes de nematóides. Os nematóides são o maior problema da produção de banana no Caribe e o segundo maior na África e América Latina, sendo superado apenas pela Sigatoka negra (Persley & De Langhe, 1987; Pinochet, 1992; Fogain & Gowen, 1997).

As espécies de nematóides mais importantes são aquelas envolvidas na destruição das raízes primárias, danificando o sistema de fixação e resultando em tombamento das plantas (Gowen & Quénéhervé, 1990). Os mais citados são: o nematóide cavernícola, *R. similis*, o nematóide espiralado, *H. multincinctus*, o nematóide de lesões, (*Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941; o nematóide de galha (*Meloidogyne* spp.) e o nematóide reniforme, *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940. Até o momento, muitas outras espécies de 43 gêneros já foram encontradas associadas à cultura (Gowen & Quénéhervé, 1990).

Segundo Zem & Lordello (1983), os nematóides cavernícola e espiralado são considerados fatores limitantes à produção de banana em várias partes do mundo, apresentando oneroso e difícil controle. *Radopholus similis* se destaca quanto aos danos causados e pela sua ampla distribuição nas principais regiões produtoras de banana do mundo (Vilardebo, 1981; Tarté & Pinochet, 1981; Zem, 1982).

Quando há pouco inóculo, a presença do nematóide só é observada a longo prazo, quando as plantas apresentam redução na longevidade, queda no vigor, diminuição da produção com menor massa nos cachos. Com altas infestações, as plantas não se desenvolvem, as folhas ficam pequenas, o cacho não atinge a massa ideal, o sistema radicular apresenta-se pobre em raízes e as mesmas são curtas permitindo o tombamento da planta ocasionado por ventos fortes ou pela massa do cacho.

Taxonomia, morfologia e biologia de *Radopholus similis*

Cobb observou pela primeira vez *R. similis* em raízes de banana em Fiji, em 1891 (Gowen & Quénéhervé, 1990). O gênero *Radopholus* Thorne, 1949 pertence ao filo *Nematoda* Potts, 1932, à classe *Secernentea* von Linstow, 1905, à ordem *Tylenchida* Thorne, 1949, à subordem *Tylenchina* (Thorne, 1949) Chitwood, 1950, à

superfamília *Tylenchoidea* Örley, 1880, à família *Pratylenchidae* Thorne, 1949, e à subfamília *Pratylenchinae* Thorne, 1949.

Etimologicamente, o nome genérico *Radopholus* surgiu do prefixo latino *radix* = raiz e do sufixo grego *philéin* = gostar. Este gênero foi criado para abrigar nematóides com aparência de *Pratylenchus*, Filipjev, 1934, mas com dois ovários (Sher, 1968). O fato das 23 espécies válidas de *Radopholus* terem sido encontradas na Oceania e em parte da Ásia, indica que o gênero teve sua origem na Australásia (Siddiqi, 2001) e que a distribuição mundial de *R. similis* se deve ao trânsito de hospedeiras contaminadas (Cares & Andrade, 2006).

Atualmente, o nematóide se encontra na América Central, Norte e Sul, Ilhas do Pacífico e Caribe, Europa, Ásia, África e Austrália (Araya, 1995a). De todos os países produtores de banana, apenas Israel, as Ilhas Canárias, Chipre, China e Creta não documentaram sua presença (Gowen, 1977; Tarté, 1980; Román, 1986; Gowen & Quénéhervé, 1990; Araya, 1995a).

A ampla disseminação do patógeno se deve à troca da variedade 'Gros Michel' (susceptível ao mal do Panamá) por clones Cavendish (resistente ao mal do Panamá, mas suscetível ao nematóide), no período de 1958 a 1970 (Blacke, 1972; López, 1976; Tarté *et al.*, 1981).

Radopholus similis apresenta uma longa lista de espécies hospedeiras entre as de interesse agrícola e ornamental, porém o maior impacto de seu parasitismo ocorre em bananeiras e citros (Cares & Andrade, 2006). É a espécie mais importante para a cultura da banana e foi descoberta no Brasil, em 1959, pelo Dr. Jair Carvalho do Instituto Biológico (Carvalho, 1959) a partir de mudas oriundas do litoral de São Paulo. Mais de 40 anos após esse relato, ainda continua a disseminação do parasita para outras regiões produtoras.

É um nematóide endoparasita migratório, ou seja, penetra as raízes da bananeira e migra pelos tecidos radiculares, podendo chegar até o rizoma. O ato de migrar internamente nas raízes ocasiona a desintegração dos tecidos, formando cavidades. Assim se originou o nome comum do nematóide (nematóide cavernícola). Os tecidos necrosados, inicialmente de coloração parda, após a colonização de fungos, tornam-se enegrecidos e podem coalescer originando extensas necroses. Essa destruição do sistema radicular favorece o tombamento das plantas por ventos fortes ou pelo peso do cacho. Com a evolução desse processo, o parasita pode voltar ao solo a procura de novas raízes ou permanecer em pedaços de rizoma no

campo. Sem alimento, ele pode sobreviver pouco menos do que seis meses com reservas de seu próprio organismo (Rossi, 2006).

A penetração ocorre na região próxima à ponta da raiz, mas o nematóide pode invadir a raiz em toda a superfície. Depois de invadirem as raízes da banana, os nematóides ocupam uma posição intercelular no parênquima cortical, se alimentando do citoplasma das células adjacentes, formando cavidades que coalescem formando túneis. O sintoma mais evidente do ataque de *R. similis* é o tombamento das plantas, especialmente daquelas produzindo frutos. Mas podem haver sintomas mais fracos, como aumento do ciclo vegetativo e redução do peso dos cachos. No interior das raízes, surgem diversas lesões avermelhadas, sendo que lesões adjacentes podem coalescer e o tecido cortical se tornar enegrecido (Gowen & Quénéhervé, 1990).

Como *R. similis* é essencialmente um endoparasita, pode completar seu ciclo de vida no interior das raízes e qualquer fator que influencie o tamanho da população está diretamente relacionado a alterações na fisiologia da hospedeira (Gowen, 1979).

Em condições favoráveis, o nematóide pode produzir novas gerações em cerca de três semanas (Loos, 1962). Em temperaturas de 24 ° C, o ciclo biológico se completa em 21 dias, podendo haver variação de 20 a 25 dias (Sarah *et al.*, 1996) em decorrência de fatores ligados as planta hospedeira ou ao ambiente. A reprodução ocorre por anfimixia (Van Weerd, 1960; Rivas & Román, 1985) ou partenogênese (Brooks & Perry, 1962; Huettel & Dickson, 1981). A temperatura ótima de reprodução ocorre aos 30°C, sendo que abaixo de 16°C e acima de 33°C não é observada reprodução ou esta é reduzida (Fallas & Sarah, 1995; Sarah *et al.*, 1996; Elbadri, 2000). As fêmeas fazem a postura de quatro a cinco ovos por dia num período de duas semanas. A eclosão de juvenis ocorre depois de cinco a sete dias em cultura de tecidos, e de sete a oito dias em raízes de bananeira (Costa, 2004).

Além das altas infestações de *R. similis* resultarem em baixa produção, frutos de pequeno peso e tombamento da planta (Murray, 1980; Gowen, 1990), as lesões ocasionadas pelo nematóide nas raízes, também proporcionam porta de entrada para fungos patogênicos (Stover, 1966), os quais provavelmente aceleram a destruição dos tecidos. A destruição de raízes e rizomas por *R. similis* reduz a absorção de água e nutrientes minerais, enfraquece o sistema radicular e aumenta a suscetibilidade da planta ao tombamento, especialmente de plantas que estão produzindo frutos (Pinochet & Ventura, 1977; Gowen, 1979). Como consequência do

parasitismo, há redução da produção, pouca resposta à fertilização, proliferação de plantas filhas raquíticas e maior suscetibilidade da planta a outros patógenos de solo e a estresses abióticos (Araya *et al.*, 1995).

Perdas mundiais atribuídas à ação do nematóide foram estimadas em \$178.049.979,00, o equivalente a 19,7% da produção mundial de banana (Sasser & Freckman, 1987). Perdas drásticas devido à presença de *R. similis* foram relatadas por Rajendran *et al.* (1979) na Índia. Na Colômbia (Gómez, 1980), foram relatadas perdas de 30 a 60%; no México (Román, 1986; Gomes, 1996), de até 68% e no Brasil, de 80 a 100% na cultivar Nanicão (AAA) (Zem & Alves, 1981). Em alguns estudos são relatadas perdas de 12,5 ton/ha/ano (O'Bannon, 1977; MacGowan, 1977) a 18 ton/ha/ano (Román, 1986).

Práticas de controle de *Radopholus similis*

A comunidade de fitonematóides está intimamente relacionada com a hospedeira e é mais afetada por esta que pelas condições do solo. A hospedeira é o fator regulador mais importante no estabelecimento de uma população, uma vez que os nematóides interagem a hospedeira (Araya, 1995b).

Um dos métodos mais eficientes de controle disponível são os nematicidas, mas estes apresentam alto custo e são muito tóxicos. Além disso, podem contribuir para alterações da comunidade microbiana, do pH, contaminação do ambiente, incluindo lençóis freáticos (Peoples *et al.*, 1980; Zaki *et al.*, 1982; Wixted *et al.*, 1987; Davies *et al.*, 1991; Araya, 1995b; Daneel *et al.*, 1998).

Freqüentemente, uma única medida de controle não é suficiente para controlar os nematóides. Sugere-se então, a integração de diferentes métodos de controle para que o produtor possa chegar a um manejo sustentável dos nematóides em sua plantação (Robinson *et al.*, 1998). Apesar da recomendação de diversas medidas de controle, o manejo integrado geralmente é executado apenas pelos produtores mais tecnicados. A maioria dos pequenos produtores não utiliza esse tipo de manejo, tanto pela falta de informações básicas sobre como aplicar a tecnologia, quanto pela falta de recursos financeiros para utilizá-las (Fogain, 1998a).

Visando um manejo integrado de nematóides adequado, deve-se reduzir o inóculo no solo ou no material de propagação antes do plantio ou promover o desenvolvimento saudável e vigoroso da raiz (Robinson *et al.*, 1998). Ao buscar reduzir o inóculo no solo antes do plantio, o uso de solo virgem se torna o cenário

ideal para o plantio. Caso o solo já esteja infestado, técnicas como o pousio, a rotação de culturas e a remoção de restos culturais auxiliam na tentativa de retirar possíveis fontes de alimento dos nematóides.

Existem relatos de sobrevivência de *R. similis* em tecido do rizoma por períodos superiores a seis meses (Stanton, 1994). Alguns estudos mostram que solos infestados submetidos a pousio por 06 a 12 meses, mantidos livres de hospedeiras, apresentaram redução considerável de populações de *R. similis* (Fogain *et al.*, 1998a). Na África do Sul, pousio de 10 meses não evitou reinfecção de plantas, apesar de não se detectar o nematóide em amostras de solo (Keetch *et al.*, 1975). Resultados semelhantes foram obtidos no Panamá, onde um período de 18 meses de pousio não erradicou *R. similis* (Salas *et al.*, 1976). É certo que hospedeiras alternativas devem ser evitadas por ao menos um ano. Apesar de ocasionar apenas redução do inóculo, um decréscimo no nível de infestação proporciona a redução do número de aplicações de nematicidas e uma recuperação mais lenta da população do nematóide (Sarah, 1983).

O material propagativo é uma das mais importantes fontes de disseminação de nematóides. Rizomas limpos e desinfestados são recomendados para garantir que os nematóides não sejam introduzidos no campo. Em plantações comerciais, os rizomas são submetidos ao escalpamento e mergulhados em uma mistura nematicida antes do plantio. Outros métodos como tratamento com água quente para desinfecção do material propagativo não são comumente adotados pelos produtores. Em plantações de pequena escala, os produtores simplesmente limpam o material e nenhum outro tratamento é feito antes do plantio (Fogain, 1998a).

Material de plantio proveniente de cultura de tecidos é totalmente livre de nematóides. Quando plantas provenientes de cultura de tecido são usadas após o pousio, populações muito pequenas de *R. similis* são recuperadas dois anos após o plantio. Isso se deve ao fato de que quando a população inicial é muito pequena, leva mais tempo para aumentar sua população até ultrapassar o nível de dano econômico (Fogain, 1998a). No entanto, é essencial que este material seja plantado em solo livre do patógeno. Em solo já infestado, o uso de mudas oriundas de cultura de tecidos deve ser evitado, por que as plantas, apesar de vigorosas, não têm reservas para superar danos radiculares severos logo após o plantio. Neste caso, torna-se mais conveniente utilizar rizomas escalpelados, inspecionando o tecido do rizoma em busca de lesões que indiquem a presença do nematóide. É um método

fácil e de baixo custo, apesar de que rizomas aparentemente limpos não são uma garantia de que não estejam infectados (Fogain, 1998a; Robinson *et al.*, 1998).

O tratamento por solarização se mostra mais eficaz se feito juntamente com o escalpeamento. Mbwana & Seshu-Reddy (1995) submeteram rizomas de bananeiras a tratamento com solarização e observaram a presença de *Pratylenchus goodeyi* Sher & Allen, 1953 após 650 dias de crescimento. Em plantas que foram apenas submetidas à escalpeamento, haviam 5.027 *P. goodeyi* por 100 g de raízes, enquanto que em plantas que não foram submetidas ao escalpeamento haviam 29.767 *P. goodeyi* / 100 g de raiz. Quando estes rizomas foram também submetidos à solarização, a contagem foi de apenas 542 *P. goodeyi* / 100 g de raízes. Isso indica o efeito benéfico do uso integrado dos dois tratamentos. O tratamento do material propagativo com água quente também pode destruir os nematóides sem prejudicar o rizoma. Essa prática, associada ao uso de fertilizantes aumenta significativamente a produção (Mbwana & Seshu-Reddy, 1995).

A prática de inundação por cinco a sete meses (Sarah, 1983) reduz a população do nematóide. Aparentemente, as alterações nos níveis de oxigênio no solo têm grande influência na atividade e sobrevivência de *R. similis* (Gowen, 1979). Segundo Jacq & Fortuner upud Sarah (1989) a causa da redução na população de nematóide, após inundação, se deve à redução de sulfato por bactérias do solo sob condições anaeróbias.

Segundo Musabyimana & Saxena (1999), o uso de torta de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) a 100 g por rizoma no plantio, a 4 e 8 meses após o plantio, reduziu a incidência de *P. goodeyi* e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 em níveis similares aos encontrados quando se aplica Furadan®.

Um solo bem preparado promove o desenvolvimento de raízes em maior número e tamanho, quando comparado a solos compactados. Segundo Quénéhervé (1988), solos com altos níveis de matéria orgânica apresentam menor população de *R. similis*, enquanto o contrário ocorre com *H. multicinctus*. O uso de esterco ajuda a reduzir o nível populacional de nematóides fitoparasitas a longo prazo, mas grandes quantidades são necessárias para que haja a expressão de propriedades nematicidas. Como efeito secundário, observa-se o aumento do vigor da raiz. A alta quantidade de nitrogênio presente em esterco, principalmente de aves, parece inibir os nematóides e estimular a microbiota, a qual reduz, indiretamente, a densidade populacional de nematóides (Quénéhervé, 1988).

Segundo Daneel *et al.* (1998), o uso de cobertura morta (“mulching”) pode auxiliar as plantas a se tornarem mais fortes e saudáveis, se tornando mais tolerantes a nematóides e outros fatores de estresse. Também pode auxiliar a reconstrução de um ambiente natural para a planta, reduzindo significativamente o número de nematóides. O uso de “mulching” aumenta a matéria orgânica do solo, bem como melhora sua estrutura e a infiltração de água, reduzindo as flutuações de temperatura, o crescimento de plantas daninhas, à erosão do solo pelo vento e pela água, a compactação do solo e a perda de água por evaporação; além de promover um crescimento vigoroso das raízes.

Em plantações comerciais, nematicidas são utilizados sistematicamente em plantios antigos. Em locais de plantio recente, as populações de nematóides são monitoradas mensalmente e as aplicações de nematicidas são efetuadas somente quando as populações de *R. similis* são maiores que 7.000 indivíduos /100g de raiz (Fogain *et al.*, 1996). No entanto, segundo Davide (1985), populações de 1.000; 2.000 e 3.000 nematóides / planta reduziram o peso dos frutos em 14,3%; 40,3%; 60%, respectivamente.

Vários princípios nematicidas estão disponíveis (aldicarb, fosthiazate, terbufós, carbofuram, fenamifos, ethoprophos) (Fogain *et al.*, 1996), sendo que existem relatos de incremento na produção variando de 5 a 263%, quando houve aplicação de nematicidas para controle de diversas espécies de nematóides em *Musa* AAA em diferentes países (Araya, 1995a). No entanto, não existe um nematicida ideal que deveria exercer um efeito sistêmico, ser absorvido pela folhagem e transportado pelo floema até o sistema radicular em concentrações suficientes que ocasionassem a eliminação dos nematóides ao redor das raízes do cultivo, protegendo a planta por um longo período, sendo os nematóides controlados em todos os seus estados morfológicos (Johnson, 1985; Johnson & Feldmesser, 1987). A atividade dos nematicidas disponíveis é grandemente afetada pelas condições físico-químicas do solo, condições climáticas e outros pesticidas (Schmitt & Nelson, 1987), com um efeito residual geralmente curto, inferior a 90 dias em condições tropicais (Araya, 1995b).

Na década de 1980, produtores e pesquisadores perceberam que houve uma redução na eficácia de fenamifos (Sarah, 1989), quando este era o único produto aplicado por certo período de tempo. Estudos mostraram o surgimento de microrganismos especializados capazes de realizar rápida degradação deste princípio ativo em solos tratados por longos períodos por este composto (Anderson,

1988; Anderson & Wybou upud Sarah, 1989). O mesmo fenômeno também foi observado com carbofuran em outras culturas (Felsot *et al.*, 1982; Harris *et al.*, 1984; Read, 1987). A ocorrência de degradação biológica de nematicidas também foi observada por Stirling *et al.* (1992) e Davis *et al.* (1993). Isso mostra a importância da rotação de produtos químicos em produções de grande escala de banana (Anderson, 1988; Anderson & Wybou upud Sarah, 1989; Sarah, 1989).

Atualmente, a tendência global na produção agrícola é a manutenção ou melhoria dos rendimentos com uso mais eficiente dos recursos e conservação do meio ambiente (Araya *et al.*, 1995). Como a maioria dos produtores não aplica às estratégias de manejo integrado e, considerando o alto custo do controle de nematóides a partir do uso de produtos químicos, a resistência da planta hospedeira certamente trará grande benefício a partir de um pequeno investimento. Desde 1989, mais de 200 acessos de diferentes grupos genômicos tem sido estudados pelo CRBP (Centre de Recherches Régionales sur Bananiers et Plantains) em busca de fontes de resistência e baixa suscetibilidade a *R. similis*. Os resultados indicaram que todas as plantas pertencentes ao grupo Cavendish são suscetíveis aos nematóides (Fogain 1998b). Yangambi Km5, clones do subgrupo Ibota, um clone do subgrupo Pisang Jarí Buaya e um clone diplóide Kunnan (*Musa AB*) (Costa, 2004) são resistentes a *R. similis*. Selangor, Calcutta 4 e a maioria das cultivares de *Musa balbisiana* são significativamente menos suscetíveis que as do subgrupo Cavendish. Alguns desses clones resistentes ou tolerantes já estão sendo usados em programas de melhoramento (Fogain, 1998b).

Melhoramento genético da bananeira

A resistência genética obtida pelo melhoramento é uma forma eficiente, barata e ecologicamente correta de controle de nematóides. Os altos custos das aplicações de nematicidas e as conseqüências negativas que resultam da acumulação de resíduos no ambiente somada aos perigos de manter culturas importantes como a banana em uma base genética reduzida, são razões suficientes para encorajar a busca por fontes de resistência e ações de melhoramento genético (Gowen, 1979).

Na produção de banana, a busca por resistência a pragas e doenças é criticamente importante para os produtores, mas é mais importante ainda por causa do alto custo e inacessibilidade dos produtos químicos e pelo fato de que bananas

formam a base alimentar de populações de baixo poder aquisitivo. Dessa forma, práticas culturais são as únicas medidas disponíveis para pequenos produtores para o controle de pragas e doenças, além do uso de cultivares resistentes.

Embora exista um grande número de cultivares, a baixa produtividade dos clones, bem como a falta de resistência a fatores bióticos e abióticos adversos constituem os maiores entraves da bananicultura no país (Silva *et al.*, 1999). Sabe-se que em todo o mundo a cultura da banana tem enfrentado uma série de problemas relacionados a patógenos e pragas, para os quais, na ausência de variedades resistentes, o uso de pesticidas é a única forma de controle (Frison *et al.*, 1997).

Em se tratando do controle de nematóides, a busca de resistência genética é talvez a área de pesquisa mais complexa. A complexidade genética da banana constitui provavelmente o maior obstáculo para a produção de cultivares resistentes (Pinochet, 1988; Stover & Buddenhagen, 1986).

Avanços obtidos no melhoramento genético têm demonstrado o potencial da hibridação no desenvolvimento de novas cultivares (Ortiz *et al.*, 1998). Assim, híbridos tetraplóides promissores têm sido obtidos a partir do cruzamento de um genitor diplóide cultivado, melhorado ou selvagem, portador da característica de interesse, com uma cultivar triplóide estabelecida (Crouch *et al.*, 1999). Entretanto, no melhoramento genético, os ganhos genéticos obtidos envolvendo manipulações poliplóides são altamente dependentes da utilização adequada dos recursos genéticos disponíveis (Ortiz *et al.*, 1998).

O melhoramento da bananeira foi iniciado em 1922 no Colégio Imperial de Agricultura Tropical, em Trindad (Rowe, 1985; Dantas *et al.*, 1997), motivado pelo mal do Panamá (Shepherd, 1992). Após breve tentativa de melhorar as bananeiras nos anos 30, a United Fruit Company começou um programa de melhoramento genético da bananeira em Honduras, em 1959. Em 1984, esse programa foi doado à Fundação Hondurenha de Investigação Agrícola (FHIA). A partir de 1976 teve início uma série de coletas de germoplasma de banana em países asiáticos, com o objetivo de estabelecer um sistema de hibridação para o melhoramento da cultura. Em 1982, na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical – CNPMF foi iniciado um programa de melhoramento genético da bananeira, tendo como objetivo a obtenção de variedades resistentes a pragas e doenças (Dantas *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 1998).

O pré-requisito básico dos programas de pesquisa objetivando produzir novas cultivares tem sido a formação, caracterização e avaliação de amplas coleções de germoplasma. Uma preocupação imprescindível na coleta de germoplasma do exterior é evitar a introdução de novas doenças e/ou pragas, efetuando-se o cultivo de meristemas *in vitro* antes ou depois da chegada das mudas na estação de quarentena.

A principal coleção de germoplasma de banana (Banco Ativo de Germoplasma – BAG) no Brasil está instalada no CNPMF – Embrapa, tendo sido enriquecida e ampliada mediante coletas em âmbito nacional e internacional. Esse BAG inclui espécies e subespécies silvestres, variedades, cultivares e híbridos que são mantidos sob condições de campo.

Na bananeira, a variabilidade genética de interesse se encontra entre as diversas formas selvagens da espécie *M. acuminata* e nas cultivares do grupo AA (Shepherd *et al.*, 1986). O objetivo do melhoramento do germoplasma AA é concentrar, em um mesmo genótipo, o maior número de características desejáveis, tais como partenocarpia, bom número de pencas, dedos compridos, cachos bem formados, resistência a pragas, doenças e nematóides, para posteriormente tentar transferi-las aos tetraplóides (Dantas *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 1996; Silva *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 1998).

Viaene *et al.* (1998), avaliando genótipos do programa de melhoramento da FHIA, identificaram cinco genótipos resistentes (SH-3142, SH-3362, SH-3723, SH-3624 e FHIA-18) e outros cinco parcialmente resistentes (SH-3437, SH-3648, FHIA-01, FHIA-01, FHIA-23) a *R. similis*. Em 1997, Fogain & Gowen, avaliando os danos radiculares em *Musa* confirmaram estudos anteriores (Fallas & Marbán-Mendoza, 1994) que mostravam resistência da cultivar Yangambi (AAA). Wehunt; Hutchinson & Edwards (1978) avaliaram 64 diplóides experimentais e, de todos estes clones, os diplóides de ‘Pisang Jari Buaya’ (AA) mostraram-se os mais promissores para programas de inserção de resistência a *R. similis*. Um clone diplóide de Kunnan (AB) também se mostrou resistente ao nematóide (Collingborne & Gowen, 1997).

A ausência de sementes em plantios comerciais é uma consequência da inexistência de pólen viável ou, talvez, de polinizadores naturais eficientes. As cultivares que se apresentam sem sementes quando polinizadas, ou que as produzem em quantidades pequenas, podem ser tanto diplóides quanto triplóides. Sem dúvida, a ausência total de sementes está relacionada à intensa seleção humana contra a presença de sementes, e o estado triplóide por si só,

provavelmente, não seja a causa principal da esterilidade feminina em bananeiras cultivadas (Shepherd *et al.*, 1986).

Uma vez estabelecida a fonte de resistência, o próximo passo é a incorporação de genes para a resistência em cultivares comerciais triplóides, e é um outro obstáculo (Pinochet, 1988). Efetua-se o melhoramento pela produção de gerações sucessivas de híbridos diplóides e pela seleção contínua dos melhores genótipos resultantes de todos os cruzamentos colocados em campo. São realizados cruzamentos, envolvendo espécies selvagens, cultivares e híbridos, visando à obtenção de parentais masculinos melhorados, os quais são utilizados no melhoramento de triplóides ou tetraplóides. Na prática, é importante que se disponha de acessos diplóides básicos com boa capacidade de combinação (Dantas *et al.*, 1997).

A fertilização de sacos embrionários com número cromossômico maternal duplicado pode conduzir a sementes viáveis, mas não a plantas úteis. A fertilização de sacos não reduzidos diplóides ou triplóides favorece a obtenção de resultados desejáveis em programas de hibridação, visando a novos genótipos triplóides ou tetraplóides, seja diretamente ou por cruzamentos secundários posteriores (Dantas *et al.*, 1997). Segundo estes autores, podem ser consideradas as quatro classes de hibridação a seguir: 1. Os triplóides resultantes de cruzamento de diplóides com diplóides, com a recombinação originária apenas do parental diplóide masculino. Foi dessa maneira que as cultivares triplóides supostamente evoluíram, sendo esta a principal opção para a produção artificial de novas cultivares triplóides; 2. Os tetraplóides resultantes de cruzamentos de triplóides com diplóides, com a recombinação originária apenas do parental diplóide masculino. É importante ressaltar que o pólen contribui com apenas um quarto do novo genótipo, em cada fertilização deste tipo. Portanto, é basicamente um processo de implantação de características adicionais, sem provocar maiores alterações fenotípicas. Assim, o híbrido tetraplóide apresenta as características do parental feminino triplóide, inclusive aquelas relacionadas ao sabor do fruto; 3. Os tetraplóides resultantes de cruzamentos entre tetraplóides, com segregação nos dois parentais; 4. Os triplóides resultantes de cruzamentos entre tetraplóides e diplóides, também com segregação nos dois parentais. Utilizando-se o pólen A de diplóides é freqüentemente possível obter bons rendimentos de sementes e, conseqüentemente, híbridos secundários triplóides.

Os resultados de um programa de melhoramento, independentemente dos seus objetivos (produção de triploídes ou tetraploídes), dependem basicamente da qualidade dos parentais diplóides utilizados na geração dos híbridos desejáveis, por seu papel fundamental na incorporação de características de valor agrônômico. Na prática, o germoplasma diplóide básico consiste de formas selvagens e cultivares férteis do grupo AA, abrangendo uma variabilidade útil muito grande, suficiente para satisfazer todos os objetivos atuais do melhoramento (Dantas *et al.*, 1997).

A variabilidade genética da bananeira e uso de marcadores moleculares de DNA

A variabilidade genética do germoplasma de *Musa* tem sido amplamente estudada. Inicialmente, a avaliação se baseava basicamente em descritores morfotaxonômicos, sendo que recentemente foram definidos 119 descritores como norma de descrição do germoplasma de *Musa* (Ipgr, 1999). Limitações para essa forma de avaliação são os fatores ambientais que influenciam as características vegetativas utilizadas nesses casos. Além disso, existem características de *Musa* que se expressam apenas na fase adulta. Dessa forma, os descritores morfotaxonômicos podem não refletir a real diversidade existente (Lima *et al.*, 2002).

No entanto, existem marcadores bioquímicos utilizados para identificação e classificação do germoplasma de *Musa*. Seu uso está até o momento limitado à identificação de clones e estimativa da variabilidade genética pelo grau de polimorfismo obtido (Gawel & Jarret, 1991; Carvalho, 1998).

Outros autores têm utilizado técnicas que possibilitam detectar melhor o polimorfismo do DNA, gerando grande número de marcadores moleculares para análises genéticas (Jeffreys *et al.*, 1985; Gawel & Jarret, 1991; Gawel *et al.*, 1992; Howell *et al.*, 1994; Jarret *et al.*, 1992; Kaemmer *et al.*, 1992; Fauré *et al.*, 1994; Pillay *et al.*, 2000; Creste *et al.*, 2004).

A técnica de RAPD vem sendo utilizada para caracterização de germoplasma. Por exemplo, Bhat & Jarret (1995), conseguiram diferenciar clones que se mostravam idênticos sob o ponto de vista morfológico. RAPD foi uma das técnicas utilizadas por Jesus *et al.* (2006) para diferenciação molecular de cultivares de banana. Gomes *et al.* (2004) utilizaram a técnica para correlacionar a diversidade existente em genótipos de bananeira e a resistência ao estresse salino. Dessa forma, observa-se a viabilidade em correlacionar a resposta de genótipos a

condições de estresse com a caracterização molecular realizada por meio da técnica de RAPD.

CAPÍTULO 1

**CARACTERIZAÇÃO E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE *MUSA* PARA
RESISTÊNCIA A *RADOPHOLUS SIMILIS*.**

Caracterização e seleção de genótipos de *Musa* para resistência a *Radopholus similis*

RESUMO

Os danos causados por fitonematóides estão entre os principais problemas fitossanitários da bananicultura brasileira, sendo que perdas causadas por tais parasitas podem chegar a 100% quando o seu controle não é efetuado corretamente. O uso de cultivares resistentes a pragas, doenças e condições adversas do ambiente é a estratégia ideal do ponto de vista econômico e de preservação do meio ambiente. O objetivo deste trabalho foi estudar a reação de clones de bananeira em relação ao nematóide cavernícola, *Radopholus similis*, sob condições de casa de vegetação. As plantas (uma por vaso) foram inoculadas com uma suspensão de 100 juvenis, machos e fêmeas do nematóide. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os genótipos foram avaliados após 120 dias de inoculação. O número de nematóides no solo e nas raízes foi determinado. Este dado foi utilizado para calcular o fator de reprodução ($FR = \text{população final} / \text{população inicial}$). Foram avaliados número de nematóides por grama de raiz, na raiz total, no solo e número total de nematóides. A escala de redução do fator de reprodução mostrou que os clones Borneo, Grande Naine e 1304-06 se comportaram como suscetíveis e os genótipos 4249-05, 0337-02, 0323-03 e 4279-06 como resistentes a esta população de *R. similis*. Estes genótipos mostraram-se com potencial para serem utilizados em programas de melhoramento visando obter cultivares com resistência ao nematóide cavernícola.

Palavras-chave: banana, fator de reprodução, melhoramento genético, nematóide cavernícola.

Characterization and selection of genotypes of *Musa* for resistance to *Radopholus similis*

ABSTRACT

Damages caused by plant nematodes are among the main constraints for banana production. Losses attributed to these parasites can reach 100% when they are not properly controlled. The use of cultivars resistant to pests, diseases and to adverse environmental conditions is the ideal strategy, from the economic point of view and to environment preservation. The objective of this work was to study the host reaction of banana genotypes to the burrowing nematode, *Radopholus similis*, under greenhouse conditions. The plants (one per pot) were inoculated with a nematode suspension containing 100 juveniles, males and females. The experiment was planned in an entirely randomized design with four replications. The genotypes were evaluated 120 days after inoculation. Total number of soil and root nematodes counted in each pot was applied to calculate the factor of reproduction (FR = population final / population initial). Numbers of nematodes per gram of root, numbers of nematodes per root system, number of soil nematodes and total numbers of nematodes were also evaluated. According to the scale of percent reduction of the factor of reproduction, the clones Borneo, Grande Naine and 1304-06 behaved as susceptible, while the genotypes 4249-05, 0337-02, 0323-03, and 4279-06 expressed resistant reaction to this population of *R. similis*. These genotypes are considered promising for the breeding programs aiming to obtain banana cultivars resistant to the burrowing nematode.

Key words: banana, burrowing nematode, factor of reproduction, genetic breeding.

1. INTRODUÇÃO

Em todo o mundo, a cultura da banana tem enfrentado uma série de problemas relacionados à patógenos e pragas. Além das doenças de etiologia fúngica, bacteriana e viral, a cultura da banana é também suscetível ao ataque de nematóides. Os nematóides parasitam o sistema radicular e o rizoma das plantas, sendo responsáveis por expressivas quedas de produção em decorrência da existência de condições que favorecem o desenvolvimento de altas populações, como solos arenosos e úmidos, com altas temperaturas (Norton, 1978).

Já foram relatadas 146 espécies de nematóides associadas ao cultivo da bananeira, distribuídas em 43 gêneros (Gowen & Quénéhervé, 1990). No Brasil, diversas espécies desses gêneros estão presentes nos bananais, tanto nas raízes como na rizosfera da planta. Além do nematóide *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949, considerado até então a espécie causadora dos maiores danos à cultura, outras espécies como *Helicotylenchus multincinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956; *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven e *Meloidogyne* ssp, ocorrem com frequência, causando danos expressivos na cultura (Ferraz, 1995; Costa *et al.* 1997; Gonzaga, 1997).

Os danos causados por fitonematóides estão entre os principais problemas fitossanitários da bananicultura brasileira, sendo que perdas causadas por tais parasitas podem chegar a 100% quando o seu controle não é efetuado corretamente (Silva *et al.*, 2001). Em condições tropicais, os danos se mostram mais severos devido à ausência de alterações climáticas fortes que regulem as populações de nematóides. O monocultivo da banana favorece a multiplicação dos nematóides a níveis prejudiciais e permitem o desenvolvimento de ambientes com a predominância de parasitas radiculares (Araya *et al.*, 1995). Os nematóides comprometem a absorção e o transporte de água e nutrientes pelo sistema radicular, provocam o tombamento de plantas e as predispõem ao ataque de outros microrganismos (Dias & Ribeiro Júnior, 2001).

Radopholus similis apresenta uma ampla distribuição pelo mundo e é capaz de causar extensivas necroses e galerias nas raízes, razão pela qual é denominado vulgarmente de “nematóide cavernícola”. É considerado o nematóide mais importante da cultura (Luc & Vilardebo, 1961; Fallas & Marbán-Mendoza, 1994). O nematóide migra nos tecidos até o ponto de emissão de raízes e causa intensa destruição do sistema radicular e necroses do rizoma. O parasitismo pelo nematóide

pode ocasionar o atraso na emissão floral, formação de cachos menores, menor peso dos cachos e menor rendimento por área (Zem *et al.*, 1982; Jaehn, 1993).

Para redução da população de fitonematóides, existem vários métodos de controle, sendo que durante a condução do bananal, o método mais empregado é o químico. No entanto, este apresenta alto custo e pode comprometer a qualidade do ambiente.

Dentre as medidas de controle de *R. similis*, o uso de cultivares resistentes tem-se mostrado promissor (Stover & Buddenhagen, 1986; Buddenhagen, 1987; Pinochet, 1988). O uso de cultivares resistentes a pragas, doenças e condições adversas do ambiente é a estratégia ideal do ponto de vista econômico e de preservação do meio ambiente, principalmente para regiões onde a bananicultura é caracterizada pelo baixo nível de adoção de tecnologias e com baixo retorno econômico.

São poucos os relatos sobre resistência genética de bananeiras a nematóides, provavelmente pela dificuldade de obtenção de fontes de resistência a nematóides endoparasitas migratórios. Algumas fontes de resistência têm sido relatadas em alguns genótipos, como “Pisang Jari Buaya” (*Musa AA*) (Pinochet & Rowe, 1978), Yangambi Km 5 (*Musa Ibiota AAA*) (Sarah *et al.*, 1992; Fogain & Gowen, 1997) e um clone diplóide Kunnan (*Musa AB*) (Collingborne & Gowen, 1997). Além dessas fontes de resistência várias outras têm sido divulgadas (Wehunt *et al.*, 1978; Fallas & Marbán-Mendoza, 1994; Marin *et al.*, 1998; Elsen *et al.*, 2002).

Costa (2004) avaliando a reação de diplóides, triplóides e tetraplóides de bananeiras, obteve como fonte de resistência os genótipos PA Songkla, N118, Jambi, Falo Fako, F3P4, Yangambi Km 5, Mambee Thu, Cici, Malbut, NBA-14, Thap Maeo, FHIA-1, FHIA-18.

Tendo em vista que o princípio de resistência de plantas a doenças constitui uma das medidas de controle mais compatíveis com a sustentabilidade agrícola e que a identificação de fontes de resistência é uma das etapas básicas de um programa de melhoramento, estabelecemos como objetivo deste trabalho a seleção de genótipos diplóides (AA), triplóides (AAA, AAB) e tetraplóide (AAAB) provenientes do banco de germoplasma da Embrapa-Mandioca e Fruticultura Tropical (Embrapa - CNPMF) resistentes a uma população virulenta de *R. similis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, em condições de casa de vegetação.

Os genótipos (Tabela 1) foram obtidos a partir do banco de germoplasma da Embrapa - CNPMF, onde mudas foram produzidas por micropropagação e aclimatadas por três semanas em câmara de crescimento (27-28 °C) com 12 horas de fotoperíodo. As plântulas foram transplantadas para vasos de 1,5 l, contendo mistura autoclavada de latossolo vermelho e areia, na proporção de 3:1. Após o transplante, as mudas foram mantidas em casa de vegetação pelo período de 30 dias. Depois de 15 dias do transplante foi realizada uma adubação de cobertura com 8,3g de adubo NPK (4:14:8) por vaso.

A denominação adotada pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical para os genótipos híbridos estudados consiste de seis números, sendo os dois últimos separados por hífen. O primeiro par de números corresponde ao genitor feminino, enquanto os dois seguintes ao masculino. Os números separados por hífen correspondem ao número da seleção efetuada após o cruzamento (Tabela 2).

Tabela 1. Genótipos de bananeiras estudados, provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical.

Genótipos	Grupo genômico	Parentais
0323-03	AA (H)	Calcutta X S/Nº 2
0337-02	AA (H)	Calcutta X Galeo
1304-04	AA (H)	Malaccensis-FHIA X Madang
1304-06	AA (H)	Malaccensis-FHIA X Madang
1318-01	AA (H)	Malaccensis-FHIA X Sinwobogi
1319-01	AA (H)	Malaccensis-FHIA X Tjau Lagada
4223-06	AA (H)	M53 X S/Nº 2
4249-05	AA (H)	M53 X M48
4252-03	AA (H)	M53 X Kumburg
4279-06	AA (H)	M53 X 2803-01
4285-02	AA (H)	M53 X 1503-01
5854-03	AA (H)	0305-01 X 0104-01
8694-15	AA (H)	0337-02 X SH3263
Birmanie	AA (DS)	Naturais
Borneo	AA (DS)	Naturais
Caipira	AAA (C)	Naturais
Calcutta	AA (DS)	Naturais
Grand Naine	AAA (C)	Naturais
Jaran	AA (C)	Naturais
N118	AA (DS)	Naturais
Pa Rayong	AA (DS)	Naturais
Pipit	AA (C)	Naturais
Pisang Nangka	AA (DS)	Naturais
Thap Maeo	AAB (C)	Naturais
Tjau Lagada	AA (C)	Naturais
Vitória	AAAB (C)	Pacovan (AAB) X M53

(C) cultivares (H) híbridos (DS) diplóides simples

Tabela 2. Genitores dos genótipos de bananeira estudados, provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical.

Nº	Genitor	Grupo genômico
01	Borneo = <i>Musa acuminata</i> ssp. microcarpa	diplóide simples
03	Calcutta = <i>Musa acuminata</i> ssp. burmanica	diplóide simples
04	Madang = <i>Musa acuminata</i> ssp. banksii	diplóide simples
05	Pahang = <i>Musa acuminata</i> ssp. malaccensis	diplóide simples
13	Malaccensis (FHIA)	diplóide simples
15	Madu	cultivar
18	Sinwobogi	cultivar
19	Tjau Lagada	cultivar
23	Cultivar sem nome (2)	cultivar
28	Tuu Gia	cultivar
37	Galeo	cultivar
42	M 53	híbrido
49	M 48	híbrido
52	Kumburg	cultivar
54	0104-01	híbrido
59	Birmanie = híbridos da <i>M. a.</i> ssp. burmannica	diplóide simples
60	Pa Rayong = <i>Musa acuminata</i> ssp. siamea	diplóide simples
64	Pipit	cultivar
72	N 118	diplóide simples
78	Jaran	cultivar
79	2803-01	híbrido
85	1503-01	híbrido
86	0337-02	híbrido
94	SH3263 (Híbrido FHIA)	híbrido

2.2 Obtenção e multiplicação do inóculo de *Radopholus similis*

A população de *R. similis* usada na avaliação é originária de Pernambuco, proveniente de bananeiras da cultivar Pacovan e vinha sendo mantida em plantas da cultivar Grande Naine. Esta população foi escolhida por ter se mostrado a mais agressiva de acordo com Costa (2004).

Os nematóides foram extraídos de raízes que foram picadas em pedaços de aproximadamente 2 cm e trituradas em liquidificador em velocidade máxima, por 15 segundos. A suspensão foi passada em peneiras de 140 e 400 mesh. A suspensão recuperada na peneira de 400 mesh foi transferida para Funil de Baermann modificado, onde foi mantida por aproximadamente 24 horas com aeração com auxílio de uma bomba de aquário. Os espécimes obtidos pelo funil de Baermann foram então coletados em peneira de 400 mesh.

Os nematóides extraídos foram então multiplicados em cultura de tecidos de discos de cenoura (*Daucus carota* L.) (O'Bannon & Taylor, 1968; Fallas & Sarah, 1994). Antes da transferência dos nematóides para os discos de cenoura, eles foram submetidos à desinfestação superficial. Os espécimes (machos, fêmeas e juvenis) foram então colocados em placa siracusa contendo 0,5 ml de água destilada e transferidos para tubos eppendorf de 1,5 ml, sendo realizada uma centrifugação a 3.000 rpm por três minutos e descartado o sobrenadante. Aos tubos com o concentrado de nematóides foi adicionada uma solução de cloreto de mercúrio (0,01%), novamente centrifugados a 3.000 rpm por três minutos e, novamente descartado o sobrenadante. Foi adicionada então uma solução de sulfato de estreptomicina (0,02%), novamente centrifugados a 3.000 rpm por três minutos e descartado o sobrenadante. Foram realizadas duas lavagens em água destilada esterilizada sob o mesmo regime de centrifugação e descartado o sobrenadante.

As cenouras, provenientes de cultivo orgânico, foram pulverizadas com álcool comercial e flambadas em câmara de fluxo laminar, sendo cortadas rodela de 2 cm de comprimento e, com auxílio de um perfurador, retirados os discos centrais. Frascos de vidro com tampas escuras foram preenchidos com 10 ml de meio agar-água 1% e autoclavados. Os discos centrais das cenouras foram equilibrados transversalmente no meio dos frascos e deixados em repouso à temperatura ambiente por quatro dias para seleção apenas dos frascos sem contaminações.

Após a axenização dos nematóides, a suspensão concentrada de nematóides foi recolhida com pipeta e transferida para a superfície dos discos de cenoura e os frascos vedados com plástico adesivo. Os frascos foram mantidos em 'fitotron' Percival Scientific® com temperatura constante de 28°C com ausência de fotoperíodo por aproximadamente 20 dias, no Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Brasília.

2.3 Inoculação de *Radopholus similis* em bananeiras

Decorrido o período de aclimação, as mudas foram inoculadas com o nematóide *R. similis*. A extração dos nematóides dos discos de cenoura combinou as metodologias de peneiramento e funil de Baermann modificado. A parede interna dos frascos contendo os discos de cenoura com nematóides foi lavada com água esterilizada e a suspensão resultante da lavagem foi passada em peneiras de 140 e 500 mesh, sendo recolhida da última peneira a suspensão que foi depositada em béqueres que, a seguir, foram vedados com peneiras de nylon e papel absorvente, sob oxigenação por 24 horas. O inóculo recolhido dos béqueres foi calibrado para 100 nematóides/ml. Dois orifícios opostos foram abertos ao redor das mudas expondo as raízes e a suspensão de nematóides (1 ml) depositada sobre as raízes.

2.4 Avaliação

Após 120 dias, os nematóides foram extraídos das raízes e do solo das bananeiras, sendo submetidos à contagem. Os níveis populacionais de *R. similis* nas raízes e no solo foram avaliados após a extração pelos métodos modificados de Coolen & D'Herde (1972) e de Jenkins (1964), respectivamente.

A resistência e a suscetibilidade das mudas de bananeira a *R. similis* foi avaliada conforme o Fator de Reprodução (Seinhorst, 1967) estimado para cada repetição ($FR = \text{população final} / \text{população inicial}$), sendo que a população final corresponde ao total de nematóides encontrados no solo e na raiz. O experimento foi realizado no período de Abril a Agosto/2006 em vasos, em casa de vegetação, localizada na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília.

A reação dos genótipos seguiu a escala de percentagem de redução do fator de reprodução (FR) (Tabela 3) (Sasser *et al.*, 1987). A cultivar que apresentou

o mais alto índice de reprodução do nematóide foi considerada como padrão de suscetibilidade. (Moura e Régis, 1987).

Variáveis como o número de nematóides por grama de raiz, número de nematóides por sistema radicular, número de nematóides no solo e número total de nematóides foram também avaliadas.

Tabela 3. Reação da hospedeira com base na percentagem de redução do fator de reprodução em relação a cultivar mais suscetível.

% de redução do FR	Reação da cultivar
0 - 25	Altamente suscetível (AS)
26 - 50	Suscetível (S)
51 - 75	Baixa resistência (BR)
76 - 95	Parcialmente Resistente (PR)
96 - 99	Resistente (R)
100	Altamente Resistente (AR) ou Imune (I)

2.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições.

Foram realizados testes de homogeneidade de variâncias de acordo com Cochran & Cox (1957). Sendo verificada a necessidade de transformação dos dados para realizar as análises de variância, os dados originais foram transformados em $\log(x + 1)$ e as médias agrupadas pelo teste de Scott Knott a 1%, com o auxílio do Programa Genes: Genética quantitativa e estatística experimental, versão 2006.4.1 (Cruz, 2006).

3. RESULTADOS

O número de nematóides por grama de raiz (Tabela 4) variou de 0,01 no diplóide 4249-05 a 18,26 na cultivar Borneo. As médias foram separadas em quatro grupos pelo teste de Scott Knott a 1% de probabilidade. Estes genótipos também tiveram, respectivamente, o menor e o maior número de nematóides encontrados na raiz. No entanto, os grupos obtidos com o número de nematóides na raiz total não foram equivalentes aos obtidos com o número de nematóides por grama de raiz.

As menores quantidades de nematóides encontradas no solo (Tabela 4) foram observadas nos diplóides 4249-05, 0337-02, 0323-03 e 4279-06 (0; 7,5; 26,25 e 37,50 nematóides, respectivamente). Esse comportamento também foi observado quanto ao número total de nematóides encontrado em cada genótipo (Tabela 4). Já as maiores quantidades de nematóides encontradas no solo foram observadas nos genótipos 1304-06; 5854-03 e Borneo (450; 412,5 e 288,75; respectivamente). O número total de nematóides não seguiu o mesmo comportamento, sendo que os genótipos Borneo, Grande Naine e 1304-06 tiveram os maiores valores entre todos os genótipos analisados. O número de nematóides no solo permitiu dividir os genótipos em três grupos pelo teste de Scott Knott a 1% de probabilidade. Já o número total de nematóides permitiu separá-los em quatro grupos pelo mesmo teste.

O número de nematóides encontrados nas raízes variou entre 0,75 (4249-05) e 1.842,50 (Borneo). A variável permitiu separar os genótipos em quatro grupos pelo teste de Scott Knott a 1% de probabilidade. A cultivar Grand Naine apresentou 864 espécimes em toda a raiz.

Com base na percentagem de redução do FR, dos 26 genótipos avaliados, um genótipo foi classificado como altamente suscetível, dois como suscetíveis, três com baixa resistência, 16 como parcialmente resistentes, três resistentes e um altamente resistente.

O maior fator de reprodução (Tabela 4) encontrado foi de 21,31; na cultivar Borneo; seguido por Grand Naine (com 11,30) e 1304-06 (com 11). Os menores fatores de reprodução foram encontrados nos diplóides 4249-05 (0,01), 0337-02 (0,11), 0323-03 (0,40) e 4279-06 (0,41). A reação dos genótipos, baseada na percentagem de redução do fator de reprodução (Tabela 4) com relação à cultivar Borneo, mostrou que este genótipo se comportou como altamente suscetível; 1304-06 como suscetível e os genótipos 4249-05, 0337-02, 0323-03 e 4279-06 foram altamente resistentes. Os genótipos Pipit, 5854-03, 1318-01, 4285-02, N118, Tjau

Lagada, Calcutta, 1319-01, Pa Rayong, Birmanie, Vitória, Pisang Nangka, Thap Maeo, 4223-06, Jaran, Caipira, 4279-06 foram classificados como parcialmente resistentes.

Pela análise de Correlação de Pearson as variáveis que mostraram as maiores correlações foram “nematóides na raiz” com “número total de nematóides” (0,916) e, “nematóides na raiz” com “nematóides/ g de raiz”. A menor correlação foi encontrada entre as variáveis “nematóides/g na raiz” e “nematóides no solo” (Tabela 5).

Tabela 4. Reação de 26 genótipos de bananeira a *Radopholus similis* após 120 dias da inoculação em casa de vegetação.

GENÓTIPOS	Nematóides por g de raiz ¹	Nematóides na raiz ¹	Nematóides no solo ¹	Total de nematóides ¹	FR	% de redução do FR	Reação
Borneo	18,26 a	1842,50 a	288,75 a	2131,25 a	21,31	0,00	AS
Grand Naine	18,14 a	864,00 a	266,25 a	1130,25 a	11,30	46,97	S
1304-06	6,06 b	649,75 a	450,00 a	1099,75 a	11,00	48,40	S
4252-03	7,18 b	554,75 a	217,50 a	772,25 a	7,72	63,77	BR
8694-15	5,02 b	481,50 a	277,50 a	759,00 a	7,59	64,39	BR
1304-04	3,40 b	325,75 b	285,00 a	610,75 a	6,11	71,34	BR
Pipit	9,68 a	379,50 a	112,50 a	492,00 a	4,92	76,91	PR
5854-03	1,08 c	34,25 c	412,50 a	446,75 a	4,47	79,04	PR
1318-01	2,12 c	249,50 b	123,75 a	373,25 a	3,73	82,49	PR
4285-02	2,62 c	280,25 b	67,50 a	347,75 b	3,48	83,68	PR
N118	4,68 b	213,25 b	112,50 a	325,75 b	3,26	84,72	PR
Tjau Lagada	4,79 b	215,75 b	108,75 a	324,50 b	3,25	84,77	PR
Calcutta	4,22 b	210,50 b	105,00 a	315,50 b	3,16	85,20	PR
1319-01	2,85 b	170,50 b	78,75 a	249,25 b	2,49	88,30	PR
Pa Rayong	1,02 c	109,50 b	135,00 a	244,50 b	2,45	88,53	PR
Birmanie	8,28 b	172,25 b	67,50 a	239,75 b	2,40	88,75	PR
Vitória	1,40 c	87,50 b	142,50 a	230,00 b	2,30	89,21	PR
Pisang Nangka	2,68 b	87,00 b	93,75 a	180,75 b	1,81	91,52	PR
Thap Maeo	0,65 d	62,25 b	90,00 a	152,25 b	1,52	92,86	PR
4223-06	0,49 d	32,75 c	116,25 a	149,00 b	1,49	93,01	PR
Jaran	0,32 d	4,25 d	105,00 a	109,25 b	1,09	94,87	PR
Caipira	0,61 d	38,00 c	67,50 a	105,50 b	1,06	95,05	PR
4279-06	0,14 d	3,75 d	37,50 b	41,25 c	0,41	98,06	R
0323-03	0,20 d	13,50 c	26,25 b	39,75 c	0,40	98,13	R
0337-02	0,07 d	3,25 d	7,50 c	10,75 c	0,11	99,50	R
4249-05	0,01 d	0,75 d	0,00 c	0,75 d	0,01	99,96	AR
CV%	38,24	21,11	27,1	17,06			
Fcal.	13,6 **	15,71 **	6,14 **	13,08 **			

¹ Os dados são médias de quatro repetições. Para análise os dados originais foram transformados em log (x + 1) e médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 1% (**). (AS) altamente suscetível; (S) suscetível; (BR) baixa resistência; (PR) parcialmente resistente; (R) resistente e (AR) altamente resistente; (Fcal.) valor de F calculado na análise estatística; (CV%) coeficiente de variação; (FR) fator de reprodução.

Tabela 5. Correlação das variáveis pela análise de Correlação de Pearson.

	Nematóide/ g de raiz	Nematóides na raiz	Nematóides no solo	Total de nematóides
Nematóide/ g de raiz	1**			
Nematóide na raiz	0,9032**	1		
Nematóides no solo	0,5477**	0,6853**	1	
Total de nematóides	0,7962**	0,9162**	0,9008**	1

** : Significativa a 1% de probabilidade pela correlação de Pearson.

4. DISCUSSÃO

Os genótipos Borneo, Grand Naine e 1304-06 tiveram maiores valores do fator de reprodução (FR), caracterizando-as como plantas suscetíveis. Estes três genótipos apresentaram maior contagem total de nematóides, com a maior parte dos nematóides presentes no interior das raízes e menos nematóides no solo, mostrando que tais genótipos são boas hospedeiras do nematóide cavernícola. Borneo e Grand Naine apresentaram o maior número de *R. similis* por grama de raiz. Já o diplóide 1304-06 não ficou agrupado com os outros dois genótipos com relação à quantidade de nematóides por grama de raiz, mas teve uma quantidade alta. Portanto este três genótipos destacam-se como boas hospedeiras e foram consideradas suscetíveis. Em trabalho realizado por Costa (1998), o genótipo 1304-06 teve reação de suscetibilidade com o fator de reprodução de 28,54, superior ao encontrado neste trabalho (11,00), embora a reação ao nematóide tenha sido a mesma.

No caso da cultivar Grand Naine sabe-se que as raízes são altamente afetadas pelo nematóide. Segundo Fallas & Marbán-Mendonza (1994), a cultivar Grand Naine apresentou altos níveis de lesões radiculares incidindo diretamente na redução do peso fresco da raiz.

De acordo com Wehunt *et al.* (1978) a espécie silvestre Borneo (*Musa acuminata* spp. *microcarpa*) se comportou como uma boa hospedeira a *R. similis*. No atual estudo, observou-se o mesmo padrão de comportamento.

O genótipo 1304-04, relatado por Costa (1998) como suscetível (FR=1,53), teve um comportamento de baixa resistência (FR=6,11) neste experimento. Esta diferença pode estar relacionada a fatores ambientais, tempo de avaliação, diferença na quantidade de inóculo (no trabalho citado foram utilizados 170 espécimes) e na agressividade da população do nematóide, além de possíveis erros experimentais.

Dentre os 26 genótipos avaliados podemos destacar 16 que foram classificados como parcialmente resistentes. No entanto, somente trabalhos futuros em condições de campo poderão atestar o valor desta resistência parcial a *R. similis* ou da tolerância, quando presente. Podemos destacar os acessos Caipira (Yangambi Km 5), N118, Thap Maeo, 1318-01, 1319-01 e 4223-06 os quais já foram relatadas como parcialmente resistentes por Costa (1998, 2004).

Wehunt e colaboradores (1978) classificaram a cultivar Tjau Lagada como suscetível, contrastando com os resultados do presente trabalho, onde este diplóide teve comportamento de parcial resistência. Os autores acima avaliaram o grau de resistência tendo como critério a taxa de lesão radicular. Já neste trabalho, de acordo com a percentagem de redução do fator de reprodução, o genótipo foi classificado como parcialmente resistente.

O híbrido 1318-01, um cruzamento de Malaccensis-FHIA com Sinwobogi, foi classificado como um acesso parcialmente resistente a *R. similis*. Provavelmente esta resistência moderada tenha sido herdada da planta mãe (*Musa acuminata* spp. *malaccensis*) a qual foi classificada com resistente por Wehunt *et al.* (1978). O mesmo pode ter ocorrido com o acesso 1319-01, um cruzamento de 'Malaccensis-FHIA' com 'Tjau Lagada'. Este último, assim como 'Sinwobogi', foi classificado como suscetível pelos mesmos autores.

A baixa resistência e suscetibilidade demonstradas pelos genótipos 1304-04 e 1304-06, respectivamente, podem ter ocorrido pelo fato deles se originarem do cruzamento de Malaccensis-FHIA com Madang (*Musa acuminata* spp. *banksii*). *Musa acuminata* spp. *banksii* foi classificada como suscetível por Wehunt *et al.* (1978), fazendo com que '1304-04' e '1304-06' não sejam genótipos promissores para a obtenção de plantas com resistência a *R. similis*.

Gowen (1976) verificou que os genótipos Pahang e M48 não são bons hospedeiros de *R. similis* nem de *H. multincinctus*. Então, possivelmente o genótipo M48 tenha transferido genes de resistência ao híbrido 4249-05, o que mostrou o mais elevado nível de resistência neste trabalho. O mesmo deve ter ocorrido com o genótipo 5854-03 (parcialmente resistente), que tem em seu genoma participação do genótipo Pahang.

Os genótipos M48 e M53 são híbridos oriundos do Equador, os quais estão sendo utilizados como fonte de resistência a diversos patógenos (Silva *et al.*, 1998). Dois dos genótipos considerados resistentes (4249-05 e 4279-06) tem estes híbridos como parentais e podem ter herdado genes de resistência. O híbrido 4249-05 (M53 X M48) apresentou a menor quantidade de nematóides no solo e na raiz, sendo caracterizado como altamente resistente. Além disso, este híbrido obteve a maior redução do fator de reprodução com relação a 'Borneo'. O híbrido 4279-06 também considerado resistente, além de ter o acesso M53 como parental feminino, tem como ancestral paterno o genótipo Calcutta, classificado como parcialmente resistente neste estudo. Carlier *et al.*, (2003) descreveu o diplóide Calcutta como

fonte de resistência a fitopatógenos, incluindo nematóides. Este fato provavelmente justifica a resistência observada neste trabalho nos genótipos 0337-02 (Calcutta X Galeo) e 0323-03 (Calcutta X S/Nº 2). Estes genótipos foram classificados por Costa (1998) como altamente suscetível e suscetível respectivamente; mas foram avaliados tomando como padrão de suscetibilidade a cultivar Nanicão, diferindo deste experimento que classificou os genótipos utilizando Borneo como padrão de suscetibilidade.

Deve-se ressaltar que o diplóide 0323-03 diferiu estatisticamente dos outros genótipos resistentes quanto ao número de nematóides presentes na raiz. Este fato demonstra que este diplóide pode não ser um mau hospedeiro.

O diplóide 4249-05 destacou-se estatisticamente tendo a menor quantidade total de nematóides presentes. Já os genótipos 4249-05, 0337-02, 0323-03 e 4279-06 (classificados como resistentes), junto aos genótipos Caipira, Jaran, 4223-06 e Thap Maeo foram os que obtiveram a menor quantidade de nematóides por grama de raiz e por isso merecem ser consideradas em futuros trabalhos visando resistência ao nematóide. Os genótipos 4249-05 e 0337-02 foram os que tiveram a menor quantidade de nematóides no solo, o que pode ser atribuído à sua forma de resistência.

O experimento demonstrou o potencial de utilização dos genótipos de bananeira do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical para programas de melhoramento visando o controle de *R. similis*. Este fato é confirmado pela grande percentagem observada de genótipos resistentes e parcialmente resistentes ao nematóide de 76,94%.

A Correlação de Pearson mostrou claramente a correlação positiva entre todas as variáveis analisadas. Os maiores valores de correlação foram encontrados entre “nematóides na raiz” e “número total de nematóides” e entre “nematóides/ g de raiz” e “nematóides na raiz”, o que já era esperado, já que para o cálculo de número total de nematóides, utiliza-se a soma do número de nematóides na raiz e no solo. Da mesma forma, para o cálculo do número de nematóides/g de raiz utiliza-se o número de nematóides na raiz.

5. CONCLUSÕES

O banco de germoplasma de banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical contém genótipos de importância como fonte de resistência ao nematóide cavernícola, sendo que dos 26 genótipos testados, 76,94% tiveram reação de resistência ou de resistência parcial a *R. similis*.

Os genótipos 4249-05, 0337-02, 0323-03 e 4279-06 cultivados em vasos, em condições de casa de vegetação foram considerados resistentes a *R. similis*.

As variáveis número de nematóides por grama de raiz, número de nematóides no sistema radicular, número de nematóides no solo e número total de nematóides tiveram resultados consistentes com o fator de reprodução dos nematóides.

CAPÍTULO 2

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E VARIABILIDADE GENÉTICA DE
GENÓTIPOS DE BANANEIRA CONTRASTANTES PARA
RESISTÊNCIA A *RADOPHOLUS SIMILIS*, COM BASE EM
MARCADORES RAPD.

Caracterização molecular e variabilidade genética de genótipos de bananeira contrastantes para resistência a *Radopholus similis*, com base em marcadores RAPD

RESUMO

O pré-requisito dos programas de pesquisa objetivando produzir novas cultivares tem sido a formação, caracterização e avaliação de amplas coleções de germoplasma. Vários métodos têm sido empregados para investigar a variabilidade genética presente no germoplasma de *Musa*, como os marcadores RAPD, que, além de serem utilizados para a caracterização de germoplasma, vêm sendo utilizados como ferramenta auxiliar em trabalhos de melhoramento genético. Neste trabalho objetivou-se fazer a caracterização molecular de sete acessos de bananeira contrastantes para a resistência ao nematóide *Radopholus similis*. Estes acessos foram selecionados a partir de uma coleção de trabalho de 26 genótipos de bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com base na avaliação do fator de reprodução (FR) do nematóide. O DNA genômico dos sete acessos foi extraído, sendo utilizados 36 “primers” decâmeros para a obtenção de marcadores RAPD. Os marcadores obtidos foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os acessos e realizadas análises de agrupamento e de dispersão gráfica. Um total de 521 marcadores RAPD foram gerados, sendo que 420 (81%) foram polimórficos e 140 (27%) mostraram-se promissores para trabalhos de mapeamento genético da resistência a *R. similis* por estarem presentes em acesso resistente e ausente em todos os suscetíveis. Os “primers” OPE-15, OPH-17 e OPG-09 foram os que apresentaram maior número de bandas promissoras para mapeamento (12, 8 e 8, respectivamente). As distâncias genéticas entre os acessos variaram entre 0,106 e 0,455. A maior distância genética foi observada entre a cultivar Borneo e o genótipo 4279-06; que se apresentaram como os acessos altamente suscetível e resistente, respectivamente. Os acessos mais contrastantes para a resistência (Borneo e 4249-05) apresentaram uma distância de 0,374 e um total de 114 bandas polimórficas e úteis para o mapeamento.

Palavras-chave: banana, diversidade genética, marcador molecular, nematóide cavernícola.

Molecular characterization and genetic variability of banana genotypes contrasting for resistance to *Radopholus similis*, based on RAPD markers

ABSTRACT

The requirements for research programs aiming to obtain new cultivars are to build up, to characterize and to evaluate germplasm collections. Various methods have been used to study the genetic variability in *Musa* germplasm, like RAPD markers, which have been used to characterize the germplasm and as a assistance tool in genetic breeding studies. The present study objective was to analyze seven contrasting banana genotypes for susceptibility and resistance to the nematode *Radopholus similis*. These banana genotypes were previously selected among 26 genotypes, from a working collection of bananas maintained by Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Susceptibility and resistance to the nematode were evaluated taking in account the factor of reproduction of *R. similis*. Genomic DNA was extracted from the seven genotypes, then tested with 36 decameric primers to obtain RAPD markers. These markers were converted into a binary data matrix to estimate genetic distance between genotypes, further evaluated by cluster and graphic dispersion analyses. Among 521 resultant markers, 420 (81%) were polymorphic, and 140 (27%) of them were present only in resistant genotypes, but absent in all the susceptible ones, therefore being promising markers to be used in studies for genetic mapping of resistance to *R. similis* in banana genotypes. The primers OPE-15, OPH-17 and OPG-09 were the ones allowing more promising bands for genetic mapping of resistance to the nematode (12.8 and 8, respectively). The genetic distances between genotypes were in the range of 0.106 to 0.455. The longest genetic distance was observed between cv. Borneo and '4279-06', respectively, a highly susceptible and a resistant genotype to *R. similis*. The highest contrast, as resistance is concerned, occurred between 'Borneo' and '4249-05', comprising a genetic distance of 0.374 and a total of 114 polymorphic bands with potential for genetic mapping of the resistance.

Key words: banana, burrowing nematode, genetic diversity, molecular marker.

1. INTRODUÇÃO

Vários métodos têm sido empregados para investigar a variabilidade genética presente no germoplasma de *Musa*. Os descritores morfotaxonômicos foram os primeiros a serem desenvolvidos e aperfeiçoados para as bananeiras e, recentemente, 119 descritores foram definidos como norma de descrição do germoplasma de *Musa* (Ipgri, 1999). Entretanto, muitas características vegetativas são influenciadas por fatores ambientais, apresentam variação contínua e alto grau de plasticidade, podendo muitas vezes não refletir a real diversidade existente (Lima *et al.*, 2002). Ademais, em *Musa*, alguns caracteres são expressos somente na fase adulta, podendo ser avaliados somente após longo tempo de plantio no campo (Pillay *et al.*, 2000). Análises genéticas baseadas em caracteres morfológicos e citológicos conduzidos por Simmonds e Weatherup (1990) revelaram alta heterogeneidade dentro da seção *Eumusa*, refletida pelo baixo nível de consistência entre os caracteres. Tal fato levou os autores a dividir a seção *Eumusa* em duas subseções informais: “*Eumusa 1*” e “*Eumusa 2*”.

Marcadores bioquímicos (isoenzimas) foram testados para identificação e classificação de germoplasma de *Musa*, o baixo grau de polimorfismo obtido limitaram sua utilidade na identificação de clones e estimativa da diversidade genética (Gawell & Jarret, 1991; Carvalho, 1998).

O advento de técnicas possibilitando detectar polimorfismos em nível de DNA tem gerado um grande número de marcadores moleculares para análises genéticas e “fingerprinting” dos indivíduos (Jeffreys *et al.*, 1985). Recentemente, marcadores moleculares foram empregados na caracterização e na avaliação da variabilidade genética em *Musa*, incluindo RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Gawel *et al.*, 1992; Fauré *et al.*, 1994), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Kaemmer *et al.*, 1992; Howell *et al.*, 1994; Bhat e Jarret, 1995; Pillay *et al.*, 2000); AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (Loh *et al.*, 2000) e microssatélites ou SSRs (*Simple Sequence Repeats*) (Lagoda *et al.*, 1998; Crouch *et al.*, 1998; Kaemmer *et al.*, 1997; Grapin *et al.*, 1998).

Recentemente, técnicas de citometria de fluxo e hibridação *in situ* também têm sido empregadas em complementação aos marcadores moleculares, na determinação da composição dos clones de banana (Osuji *et al.*, 1997; Lysak *et al.*, 1998; D’Hont *et al.*, 2000; Kamaté *et al.*, 2001).

Kaemmer *et al.* (1992) utilizaram seqüências de minissatélites e amplificação aleatória (RAPD) na avaliação do polimorfismo de quinze espécies e cultivares representativas do gênero *Musa*, compreendendo genótipos AA, AAA, AAAA, AAB, ABB e BB, tendo sido possível identificar bandas específicas de genoma A e B. A identificação de marcadores de genoma A e B é de grande interesse para o melhoramento, pois permite que a definição da composição genômica de um híbrido seja feita ainda em estágio de plântula ou *in vitro*, contornando os problemas que envolvem a lenta propagação da planta, o longo ciclo da cultura (18 – 24 meses) e o grande espaço requerido. Pillay *et al.* (2000) identificaram marcadores RAPD específicos de genoma A e B, o que permitiu aos autores redefinirem a composição genômica de alguns clones, previamente classificados pelos descritores morfológicos. Howell *et al.* (1994) também identificaram marcadores RAPD específicos a nove genótipos de *Musa*, representados pelos genomas AA, AAA, AAB, ABB e BB.

O potencial do uso de marcadores RAPDs para identificação precoce de variantes somaclonais aliado à caracterização desses clones tem sido avaliado em *Musa*. Kaemmer *et al.* (1992) identificaram em bananeira o polimorfismo de RAPD entre um mutante induzido ('GN 60') de 'Grande Naine' e a planta original. Mais recentemente, Damasco *et al.* (1996) avaliaram 57 plantas normais e 59 plantas anãs de bananeira Cavendish utilizando 66 "primers" arbitrários e identificaram um primer (OPJ 04) capaz de amplificar um fragmento de 1500 pares de bases presente apenas nas plantas normais. Ford-Lloyd *et al.* (1992) avaliaram a instabilidade genética em germoplasma de *Musa* mantido *in vitro*, empregando marcadores RAPD. Bhat & Jarret (1995) demonstraram a utilidade dos marcadores RAPD na caracterização do germoplasma de *Musa*, tendo sido possível diferenciar clones que se mostravam idênticos sob o ponto de vista morfológico.

Jesus *et al.* (2006) trabalhando com as técnicas de microssatélite e de RAPD obtiveram respostas semelhantes nas duas técnicas, em relação à separação dos genótipos de acordo com o grupo genômico e origem dos híbridos. Isso mostra que a técnica de RAPD tem confiabilidade considerável, pois repete resultados gerados por outras técnicas. Este fato justifica a utilização da técnica de RAPD para a obtenção de marcadores que podem conduzir ao mapeamento de genes de resistência. Além disso, para a necessária saturação de mapas genéticos é interessante a utilização de diferentes tipos de marcadores moleculares, incluindo o RAPD.

Neste trabalho, objetivou-se utilizar marcadores moleculares RAPD, para realizar a caracterização molecular de sete genótipos de *Musa* contrastantes para os fenótipos de resistência ao nematóide *R. similis*, visando identificar “primers” e marcadores RAPD promissores para futuros trabalhos de mapeamento genético da resistência.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material genético

Após a avaliação do fator de reprodução dos 26 acessos de bananeira realizada em casa de vegetação (capítulo 1 desta dissertação), foram selecionados sete genótipos contrastantes em relação à suscetibilidade/resistência ao nematóide *R. similis* (Tabela 6). Os três genótipos que se mostraram, pelo fator de reprodução, mais suscetíveis foram Borneo, Grand Naine e 1304-06. Os quatro genótipos que apresentaram menor fator de reprodução, indicando um fenótipo de resistência, foram 4279-06, 0323-03, 0337-02, 4249-05.

Tabela 6. Acessos de bananeira analisados e fenótipo de resistência ou suscetibilidade a *Radopholus similis* com base no fator de reprodução.

Nº	Acesso	Fator de reprodução	Fenótipo
1	Borneo	21,31	AS
2	Grand Naine	11,30	S
3	1304-06	11,00	S
4	4249-05	0,01	AR
5	0337-02	0,11	R
6	0323-03	0,40	R
7	4279-06	0,41	R

2.2 Extração de DNA

Amostras de DNA genômico dos sete acessos de bananeira foram extraídas utilizando o método do CTAB (Doyle & Doyle, 1990) com algumas modificações (Faleiro *et al.*, 2003). Após a extração, a concentração do DNA foi estimada por espectrofotometria a 260 nm e 280 nm (Sambrook *et al.*, 1989). O aspecto visual das bandas de DNA genômico total separadas por eletroforese em gel de agarose 0,8% foi usada como indicador da integridade e da pureza do DNA extraído. Após a quantificação, todas as amostras de DNA foram diluídas para a concentração de 10ng/μL.

2.3 Amplificação do DNA e obtenção de marcadores RAPD

Foram testados um total de 48 “*primers*” pertencentes aos Kits OPD, OPE, OPF, OPG e OPH (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA). As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 uL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 uM de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 uM de um “*primer*” (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima Taq polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA.

As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 35 °C e 90 segundos a 72 °C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72 °C, e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C.

Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µL de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. As amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio (0,2 ug/mL), submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM) para separação dos fragmentos microssatélites. A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 85 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

2.4 Análises estatísticas:

Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas distâncias genéticas entre cada par de acesso, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li (1979), com o auxílio do Programa Genes (Cruz, 1997) (Tabela 8).

A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de agrupamento por meio de dendrograma utilizando-se o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) como critério de agrupamento, e a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS (1989) e Statistica (1999).

3. RESULTADOS

Entre os 48 “primers” testados, foram selecionados 36 que geraram marcadores moleculares nítidos e polimórficos. Os 36 “primers” decâmeros (Tabela 7) geraram um total de 521 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 14,5 marcadores por “primer”. Como exemplo, podemos destacar o padrão de amplificação gerado pelos *primer* OPE-16 e OPH-17, sendo possível observar com nitidez a presença de marcadores polimórficos originados.

Dentre os “primers” utilizados apenas dois (OPH-04 e OPF-20) não geraram bandas presentes nos genótipos resistentes e ausentes em todos os suscetíveis. Portanto, 96 % dos “primers” geraram ao menos uma banda promissora para o mapeamento genético. Os “primers” OPE-15, OPH-17 e OPG-09 foram os que apresentaram um maior número de bandas promissoras (12, 8 e 8, respectivamente), destacando-se dentre os demais (Tabela 7).

Dos 521 marcadores, 101 (19 %) foram monomórficos, 420 (81%) foram polimórficos e 140 (27%) se mostraram promissores para trabalhos de mapeamento genético da resistência a *R. similis*.

As distâncias genéticas entre os acessos variaram entre 0,106 e 0,455 (Tabela 8). As menores distâncias genéticas (0,106) foram obtidas entre os genótipos 0337-02 e 4279-06, que se apresentaram resistentes ao ataque do patógeno; seguida por aquela observada entre os genótipos Borneo e Grande Naine (0,287), que se comportaram como as mais suscetíveis. A maior distância genética (0,455) foi observada entre a cultivar Borneo e o genótipo 4279-06, que se apresentaram como altamente suscetível e resistente, respectivamente.

A análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas permitiu dividir os sete acessos em pelo menos três grupos de similaridade genética a uma distância genética relativa de 0,327 (Figura 3). As distâncias entre os acessos e a distribuição dos mesmos nos grupos de similaridade também podem ser observadas no gráfico de dispersão (Figura 4). Os acessos mais contrastantes para a resistência (Borneo e 4249-05) apresentaram uma distância de 0,374 e um total de 114 bandas polimórficas e úteis para o mapeamento (Tabelas 8 e 9). O cruzamento de Borneo com os genótipos resistentes (4279-06, 0337-02 e 0323-03) também forneceu um alto número de bandas polimórficas (104, 111 e 106, respectivamente), assim como o cruzamento de 4279-06 com Borneo e 1304-06 e desta com 0323-03 (Tabela 9).

De acordo com a figura 5, a análise de dispersão realizada com base nas distâncias genéticas permitiu a separação dos acessos resistentes dos suscetíveis.

Tabela 7. “Primers” selecionados para obtenção dos marcadores RAPD e respectivos número de bandas polimórficas, monomórficas e promissoras para trabalhos de mapeamento genético da resistência ao nematóide *Radopholus similis*.

“primers”	Sequência 5'→ 3'	Nº de bandas polimórficas	Nº de bandas monomórficas	Nº de bandas promissoras
OPE-18	GGA CTGCAGA	6	6	1
OPF-08	GGGATATCGG	14	2	4
OPF-14	TGCTGCAGGT	4	6	1
OPG-05	CTGAGACGGA	15	1	3
OPG-09	CTGACGTCAC	17	1	8
OPH-04	GGAAGTCGCC	8	2	0
OPH-12	ACGCGCATGT	14	3	2
OPH-17	CACTCTCCTC	18	1	8
OPF-19	CCTCTAGACC	15	1	7
OPG-13	CTCTCCGCCA	6	4	2
OPD-11	AGCGCCATTG	9	2	1
OPH-02	TCGGACGTGA	11	0	4
OPG-18	GGCTCATGTG	9	1	1
OPH-06	ACGCATCGCA	7	2	1
OPH-08	GAAACACCCC	8	4	3
OPH-15	AATGGCGCAG	14	0	7
OPE-19	ACGGCGTATG	6	4	4
OPE-15	ACGCACAACC	19	0	12
OPE-16	GGTGACTGTG	15	4	6
OPE-17	CTACTGCCGT	4	4	2
OPF-03	CCTGATCACC	9	1	1
OPF-12	ACGGTACCAG	10	5	3
OPF-20	GGTCTAGAGG	9	3	0
OPG-08	TCACGTCCAC	10	6	2
OPE-07	AGATGCAGCC	12	2	7
OPG-12	CAGCTCACGA	14	6	4
OPG-17	ACGACCGACA	15	2	4
OPG-15	ACTGGGACTC	10	5	3
OPG-11	TGCCCGTCGT	16	3	5
OPE-09	CTTCACCCGA	12	3	4
OPE-05	TCAGGGAGGT	12	3	5
OPE-02	GGTGCGGGAA	11	4	5
OPE-11	GAGTCTCAGG	16	5	5
OPD-01	ACCGCGAAGG	18	1	7
OPD-02	GGACCCAACC	17	1	4
OPD-05	TGAGCGGACA	10	3	4
Total		420	101	140

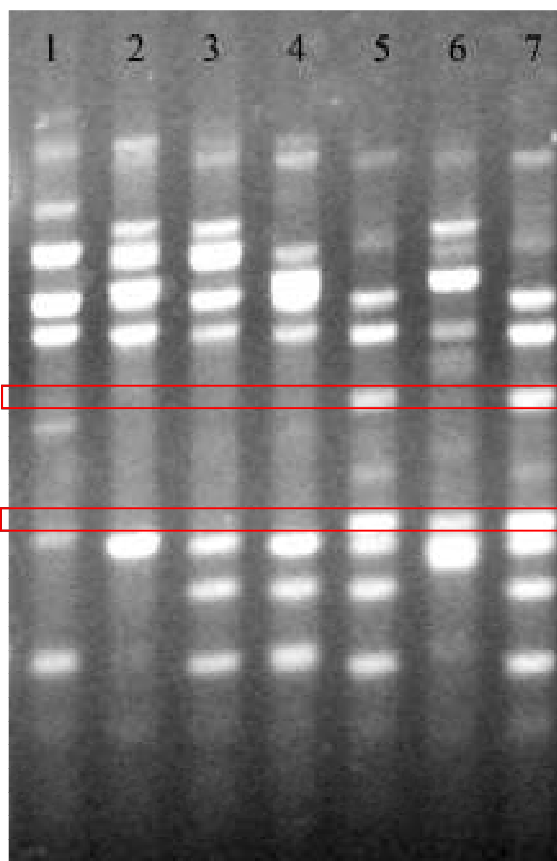


Figura 2. Padrão de marcadores gerados pelo “primer” OPE-16 nos sete acessos de bananeira. Os marcadores destacados indicam marcadores promissores para trabalhos de mapeamento genético. (1) Borneo; (2) Grand Naine; (3) 1304-06; (4) 4249-05; (5) 0337-02; (6) 0323-03; (7) 4279-06.

Tabela 8. Matriz de distâncias entre sete acessos de bananeiras suscetíveis e resistentes ao nematóide *Radopholus similis*, baseada em 521 marcadores RAPD.

	Borneo	G. Naine	1304-06	4249-05	0337-02	0323-03	4249-06
Borneo	0						
G. Naine	0,28712	0					
1304-06	0,31168	0,32579	0				
4249-05	0,37369	0,31954	0,33595	0			
0337-02	0,44034	0,37355	0,35080	0,36078	0		
0323-03	0,45089	0,39903	0,39256	0,37074	0,31006	0	
4279-06	0,45494	0,40758	0,38843	0,39271	0,10655	0,31049	0

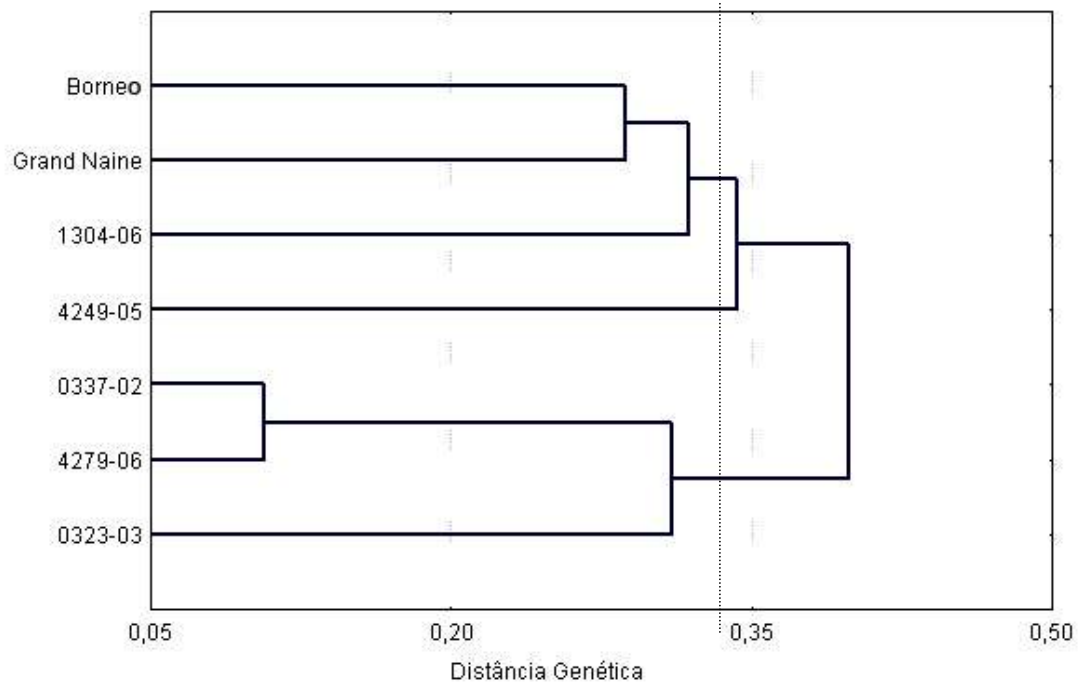


Figura 3. Análise de agrupamento de sete acessos de bananeira com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 521 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

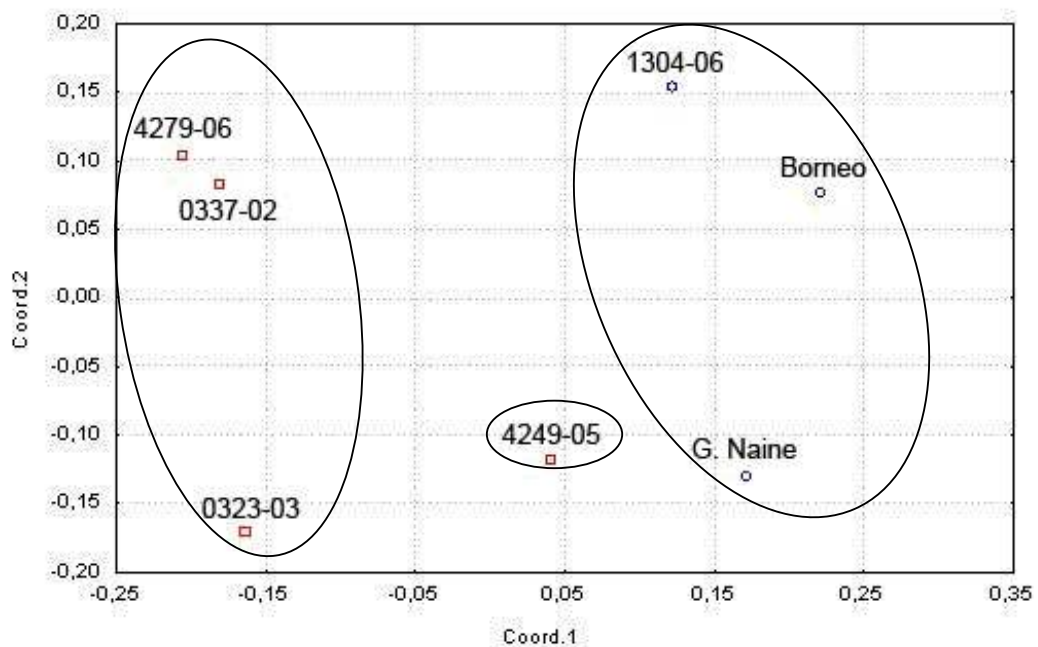


Figura 4. Dispersão gráfica de sete acessos de bananeira com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 521 marcadores RAPD.

Tabela 9. Número de marcadores moleculares promissores para o mapeamento genético entre os cruzamentos de acessos suscetíveis e resistentes de bananeiras ao nematóide *Radopholus similis*.

Genótipos	Borneo	G. Naine	1304-06	4249-05	0337-02	0323-03	4279-06
Borneo				114	111	106	104
G. Naine				83	85	83	85
1304-06				95	81	87	80
4249-05	65	56	76				
0337-02	92	76	93				
0323-03	96	83	103				
4279-06	103	87	108				

Obs.: Os valores acima da diagonal mostra o número de marcadores presentes em genótipos resistentes e ausente em genótipos suscetíveis. Os valores abaixo da diagonal mostram o número de marcadores presentes em genótipos suscetíveis e ausentes nos resistentes.

4. DISCUSSÃO

A técnica de RAPD permitiu a obtenção de grande número de marcadores polimórficos, dos quais 140 mostraram-se promissores para trabalhos de mapeamento genético da resistência ao nematóide *R. similis*, ou seja, são presentes em acesso resistente e ausentes em todos os suscetíveis. A alta média de marcadores por *primer* e a baixa percentagem de marcadores monomórficos evidenciam a alta variabilidade genética dos acessos analisados.

O alto grau de polimorfismo, detectado com os marcadores de RAPD, está de acordo com os observados por Gomes *et. al.* (2005) e por outros autores. Jarret & Gawell (1995), usando a técnica de RAPD na caracterização de clones de plátanos e na avaliação da diversidade genética entre diplóides de *M. acuminata*, concluíram que esta técnica pode disponibilizar informações sobre vários aspectos da diversidade genética em germoplasma de bananeira.

A menor distância encontrada entre os acessos resistentes 0337-02 e 4279-06, provavelmente pode ser atribuída ao fato dos dois genótipos compartilharem o diplóide Calcutta como ascendente comum. O agrupamento formado por todos os acessos resistentes, também, deve-se ao fato de que Calcutta ser ascendente de 0323-03. O Diplóide considerado altamente resistente 4249-05, pelo método UPGMA, ficou mais próximo dos acessos suscetíveis. Provavelmente este tem parte de seu material genético similar ao dos suscetíveis. Isto é uma evidência de que a resistência a *R. similis* em bananeiras é de poucos genes, conforme postulado por Pinochet *et al.* (1998) que por meio de estudos preliminares demonstrou que a resistência a *R. similis* pode ser controlada por um ou mais genes dominantes.

O fato dos acessos mais contrastantes para a resistência (Borneo e 4249-05) apresentarem um total de 114 bandas polimórficas e úteis para o mapeamento, sugere que o cruzamento entre estes dois materiais poderia gerar progênies de interesse para o entendimento da herança da resistência a *R. similis* e para futuros trabalhos de mapeamento genético. O cruzamento do diplóide Borneo com qualquer um dos genótipos considerados resistentes (0337-02, 0323-03 ou 4279-06) seria também de grande importância, visto o alto número de marcadores promissores encontrados nestes genótipos (111, 106 e 104, respectivamente).

Outra análise promissora, considerando marcadores promissores, seria a daqueles marcadores que foram observados nos genótipos suscetíveis e não foram observados nos resistentes, em que cruzamentos entre 4279-06 (resistente) e 1304-

06 ou Borneo (suscetíveis) poderiam ser realizados. Portanto, faz-se necessário a realização de estudo mais acurado para determinar a real relação entre os marcadores observados e genes de resistência existentes nestas plantas, observando se ocorre a segregação da resistência nos cruzamentos supracitados.

As análises de agrupamento usando o método UPGMA e a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais mostraram claramente a separação de genótipos de bananeiras contrastantes para a resistência ao nematóide *R. similis*. O fato de estas ferramentas permitirem uma separação distinta entre genótipos resistentes e suscetíveis indica diferenças no background genético dos acessos. Estas diferenças genéticas abrem boa perspectiva para futuros trabalhos de mapeamento genético da resistência da bananeira a *R. similis*.

5. CONCLUSÕES

O método de RAPD gerou uma grande quantidade de marcadores polimórficos entre os genótipos contrastantes testados, os quais geraram bandas promissoras para o mapeamento genético de bananeiras.

Pela análise de dispersão foi possível separar os genótipos em dois grupos, onde as resistentes ficaram agrupadas entre si, assim como as suscetíveis também ficaram agrupadas.

Com base na variabilidade genética verificada entre os genótipos de bananeira contrastantes para a resistência a *Radopholus similis*, abre-se uma boa perspectiva para futuros trabalhos de mapeamento genético da resistência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, E.J. La industria bananeira en el Brasil. Augura, Medellín, 11: 47-54. 1985.
- ANDERSON, J. P. Accelerated microbial degradation of nematicides and other plant protection chemicals. *Nematropica* 19:1. 1988.
- ANDRIVON, D. Nomenclature for pathogenicity and virulence: The need for precision. *Phytopathology* 83: 889 – 890. 1993.
- ARAYA, M. Efecto depresivo de ataques de *Radopholus similis* en banano (*Musa AAA*). *Corbana* 20: 3-6. 1995a.
- ARAYA, M. Reflexiones sobre el uso de nematicidas en banano (*Musa AAA*). *Corbana* 20: 67-73. 1995b
- ARAYA, M; CENTENO, M. & CARILLO, W. Densidades poblacionales y frecuencia de los nematodos parasitos del banano (*Musa AAA*) em nueve cantones de Costa Rica. *Corbana* 20: 6-11. 1995.
- BHAT, K. V. & JARRET, R.L. Random amplified polymorphic DNA and genetic diversity in Indian *Musa* germplasm. *Genetic Resources and Crops Evolution* 42: 328-332. 1995.
- BLACKE, C. D. Nematode diseases of banana plantations. In: WEBSTER, J. M. *Economic Nematology*, London, Academic Press, p. 245-267. 1972.
- BROOKS, T. L. & PERRY, V. G. Apparent parthenogenetic reproduction of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne. *Soil Crop Science of the Society of Florida* 22: 160-162. 1962.
- BUDDENHAGEN, I. W. Disease susceptibility and genetics in relation to breeding of bananas and plantains. In: FRISON, E. A.; GOLD, C. S.; KARAMURA, E. B. & SIKORA, R. A. (eds). *Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa*. Inibap. 1998.
- CARES, J. E.; ANDRADE, E. P. Taxonomia do gênero *Radopholus*. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 14: 113 – 149. 2006.
- CARLIER, J.& DE WAELE, D. & ESCALANT, J.V. Global evaluation of *Musa* germplasm for resistance to *Fusarium* wilt, *Mycosphaerella* leaf spot diseases and nematodes. Performance evaluation (A. Vézina & C. Picq, eds). *Inibap Technical Guidelines* 7. p. 22. 2003.
- CARVALHO, J. C. O nematóide cavernícola e seu aparecimento em São Paulo. *Biológico* 25: 195 – 198. 1959.

- CARVALHO, R. I. N. Variabilidade em plantas jovens de aceroleira propagadas por semente. *Agropecuária Catarinense* 11: 16 – 18. 1998.
- CHEESMAN E. E. Classification of the bananas. II. The genus *Musa* L. *Kew Bulletin* 2: 106-117. 1947.
- COCHRAN, W.G. & COX, G. M. Experimental design. 2^a ed. New York, John Wiley and Sons, Inc., 611p. 1957.
- COLLINGBORNE, F. M. B. & GOWEN, S. R. Screening of banana cultivars for resistance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae*. INTERNATIONAL NETWORK FOR IMPROVEMENT IN BANANAS AND PLANTAINS. Montpellier: *InfoMusa* 6: 3. 1997.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent State Agriculture Research Centre. Belgium: Merelbeke. 77p. 1972.
- CORDEIRO, Z. J. M. Sistema de produção de banana para o Estado do Pará. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaPara/doencas.htm>. Consultado em Outubro de 2006.
- CORDEIRO, Z. J. M. Doenças. In: ALVES, E. J. (Ed.). A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: Embrapa, cap. 13, p. 353-398. 1997.
- CORDEIRO, Z. J. M. & MATOS, A. P. Doenças. In: CORDEIRO, Z. J. M. (ed.) Banana Produção: Aspectos técnicos. Embrapa, Brasília. P. 106. 2000.
- COSTA, D. da C. Variabilidade patogênica e genética de *Radopholus similis* em bananeira no Brasil. 2004. Tese (Doutorado). Universidade de Brasília, Brasília. 2004.
- COSTA, D. da C.; SILVA, S. de O.; ALVES, F. R. & SANTOS, A. C. Avaliação de danos e perdas à bananeira cv. Nanica causadas por *Meloidogyne incognita* na região de Petrolina – PE. *Nematologia Brasileira* 21: 21. 1997.
- COSTA, D. da C.; SILVA, S. de O. & ALVES, F. R. Reação de genótipos de bananeira (*Musa* sp.) a *Radopholus similis* e *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Brasileira*, 22: 49 – 56. 1998.
- CROUCH, H. K.; CROUCH, J. H.; JARRET, R. L; CREGAN, P. B. & ORTIZ, R. Segregation of microsatellite loci from haploid and diploid gametes in *Musa*. *Crop Science*, 38: 211 – 217. 1998.

- CROUCH J. H.; CROUCH, H. K.; TENKOUANO, A. & ORTIZ, R. VNTR-based diversity analysis of 2x and 4x full-sib *Musa* hybrids. *Electronic Journal of Biotechnology* 2: 99-108. 1999.
- CRUZ, C. D. Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV. 442p.1997.
- CRUZ, C. D. Programa Genes: Estatística experimental e matrizes. Viçosa (MG). 285p. 2006.
- DAMASCO, O. P.; GRAHAM, G. C.; HENRY, R. J.; ADKINS, S. W.; SMITH, M. K. & GODWIN, I. D. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) detection of dwarf off-types in micropropagated Cavendish (*Musa* spp. AAA) bananas. *Plant Cell Reports* 16: 118-123. 1996.
- DANEEL, M.; DE JAGER, K. & DE BEER, Z. IPM for nematodes on bananas in South Africa. 1998. In: FRISON, E. A.; GOLD, C. S.; KARAMURA, E. B. & SIKORA, R. A. (eds). Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa. Inibap. 1998.
- DANTAS, J. L. L.; SHEPHERD, K.; SILVA, S. O. & SOARES-FILHO, W. S. Classificação botânica, origem, evolução e distribuição geográfica. In: ALVES, E. J. (ed.). A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: Embrapa, cap. 1, p. 27-34. 1997.
- DAVIDE, R. G. Studies on the population dynamics of nematodes in relation to yield loss of banana and evaluation of banana varieties for nematode resistance. *Research Bulletin (Filipinas)* 40: 1-26. 1985.
- DAVIES, K. G.; DE LEIJ, F. A. A. M. & KERRY, B. R. Microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes in tropical agriculture. TPM Special Review. *Tropical Pest Management* 37(4): 303-320, 1991.
- DAVIS, R.F.; JOHNSON, A.W. & WAUCHOPE, R.D. Accelerated degradation of fenamiphos and its metabolites in soil previously treated with fenamiphos. *Journal of Nematology*. 25(4):679-685. 1993.
- DE LANGHE, E. Banana and plantain: The earliest Fruit crops? In: Inibap annual report 1995. Inibap: Montpellier. P 6-8. 1996.
- D'HONT, A., PAGET-GOY, A., ESCOUTE, J. & CARREEL, F. The interspecific genome structure of cultivated banana, *Musa* spp., revealed by genomic DNA in situ hybridization. *Theor. Appl. Genet.* 100: 177-183. 2000.

- DIAS, M. S. C. & RIBEIRO JÚNIOR, P. M. Nematóides na bananicultura. In: SIMPÓSIO NORTE MINEIRO SOBRE A CULTURA DE BANANA, 1., 2001, Nova Porteirinha. Anais... Montes Claros: Unimontes, p. 168-179. 2001.
- DOYLE, J. J. & DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15. 1990.
- ELBADRI, G. A. Diversity of *Radopholus similis* (cobb, 1893) (Nematoda: Tylenchida). 146 p. Thesis. Faculty of Sciences, University of Gent. 2000.
- ELSEN, A.; STOFFELEN, R.; TUYET, N. T.; BAIMEY, H.; BOULOIS, H. D. & WAELE, D. In vitro screening for resistance to *Radopholus similis* in *Musa* spp. Plant Science 163:407-416. 2002.
- FALLAS, G. & MARBÁN-MENDOZA. Respuesta de tres cultivares y un híbrido de *Musa* a *Radopholus similis* en Costa Rica. Nematropica 24: 161-164. 1994.
- FALLAS, G. A. & SARAH, J. L. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la reproducción in vitro de *Radopholus similes*. Nematropica, 24: 175 – 177. 1994.
- FALLAS, G. A. & SARAH, J. L. Effect of temperatures of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. Fundamental and Applied Nematology 18: 445-449. 1995.
- FALEIRO, F.G.; FALEIRO, A.S.G.; CORDEIRO, M.C.R. & KARIA, C.T. Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico N°92) 6p.
- FAO. Agricultural Data – FAOSTAT, 2003. Visualizado em Dezembro de 2006. Online. Disponível na Internet. <http://www.fao.org>.
- FAO. Agricultural Data – FAOSTAT, 2004. Visualizado em Dezembro de 2006. Online. Disponível na Internet. <http://www.fao.org>
- FAURÉ, S.; NOYER, J.L.; CARREEL, F.; HORRY, J. P.; BAKRY, F. & LANAUD, C. Maternal inheritance of chloroplast genome and paternal inheritance of mitochondrial genome in banana (*Musa acuminata*). Curr Genet 25:265-269. 1994.
- FELSOT, A.; WILSON, J. G.; KUHLMAN, D. E. & STEFFEY, K. E. Rapid dissipation of carbofuran as a limiting factor in corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) control in fields with histories of continuous carbofuran use. Journal of Economic Entomology 75: 1098-1103. 1982.

- FERRAZ, L. C. B. *Radopholus similis* em banana no Brasil: considerações gerais sobre o problema com ênfase aos danos causados à cultura. In: Congresso Internacional de Nematologia Tropical, 27: 176-185. 1995.
- FOGAIN, R. Nematodes and weevil of bananas and plantains in Cameroon: occurrence, importance and host susceptibility. International Journal of Pest Management. 1998a.
- FOGAIN, R. Yield loss of plantains due to nematodes. Fundamental Applied Nematology. 1998b.
- FOGAIN, R.; ACHARD, R.; KWA, M.; FERRIER, P. & SARAH, J. L. Lutte contre les nematodes des bananiers: evaluation de quelques nématicides. Fruits 51: 151-161. 1996.
- FOGAIN, R. & GOWEN, S. R. Damage to roots of *Musa* cultivars by *Radopholus similis* with and without protection of nematicides. Nematropica 27: 27-32. 1997.
- FOGAIN, R.; FOURÉ, E. & ABADIE, C. Root disease complex of bananas and plantains in Cameroon. Proceedings of the International Seminar on Plantain Production. Pp. 168 – 176. 1998a.
- FOGAIN, R. & GOWEN, S. R. “Yangambi Km 5” (*Musa* AAA, Ibiota subgroup): a possible source of resistance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus goodeyi*. Fundamental Applied Nematology, 21: 75-80. 1998b
- FORD-LLOYD, B.V.; HOWELL, E. & NEWBURY, H.J. An evaluation of random amplified polymorphic DNA (RAPD) as a tool for detecting genetic instability *Musa* germoplasm stored *in vitro*. In: SYMPOSIUM BREEDING BANANA AND PLANTAIN RESISTENCE TO DISEASES AND PETS, Montpellier, Proceedings, Montpellier. 64p. 1992.
- FRISON, E. A.; ORJEDA, G. & SHARROCK, S. L (eds). Promusa: a global programme for *Musa* improvement. Montpellier: Inibap. 64 p. 1997.
- GAWEL, N. & JARRET, R. L. Cytoplasm diversity in bananas and plantains. Euphytica 52: 19 -23. 1991.
- GAWEL, N. J.; JARRET, R. L. & WHITTEMORE, A. P. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) - based phylogenetic analysis of *Musa*. Theoretical and Applied Genetics 84: 286-290. 1992.
- GIEBEL, J. Mechanisms of resistance to plant nematodes. Annual Review Phytopathology, 20: 275 – 279. 1982.

- GOMES, J. T. Dispersion and level of root infestation by the 'burrowing nematodes *Radopholus similis* Cobb' in some banana plantations of El Oro province, Ecuador. In: XII Acorbat Meeting. 1996. Abstract. Santo Domingo: Junta Agroempresarial Dominicana. P. 88. 1996.
- GOMES, E. W. F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L.S.S.; SILVA, S. De O. & CÂMARA, T.R. Variabilidade genética de genótipos de bananeira (*Musa* spp) submetidos ao estresse salino. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 9: 171 – 177. 2005.
- GÓMEZ, T. J. Determinación de la infestación de fitonematodos em plantaciones bananeras de Urabá. Colômbia. Fitopatologia Colombiana 9: 1932. 1980.
- GONZAGA, V. Nematóides associados a bananeiras na região Norte de Minas Gerais. In: XXX Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 1997, Poços de Caldas. Fitopatologia Brasileira, 22: 326. 1997.
- GOWEN, S. R. Varietal responses and prospects for breeding nematode resistant banana varieties. Nematropica, 6: 45. 1976.
- GOWEN, S. R. Los nematodos y su control. In: UPEB: Seminário sobre identificação de lãs prioridades em la investigación del banano y plátano Panamá. Upeb, p. 50-56. 1977.
- GOWEN, S. R. Some considerations of problems associated with the nematode pests of bananas. Nematropica 9: 79-91, 1979.
- GOWEN, S. R. Bananas and Plantains. Chapman and Hall, Londres. p. 434-467. 1990.
- GOWEN, S. P. & QUENÉHERVÉ, P. Nematode parasites of bananas and abaca. Pp. 431 – 460. In: LUC, M.; SIKORA, R. A. & BRIDGE, J. (eds). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. C.A.B. International. Wallingford, U. K. 1990.
- GRAPIN, A.; NOYER, J.L.; CARREED, F.; DAMBLER, D.; BAURENS, F.C.; LANAUD, C. & LAGODA, P.J.L. Diploid *Musa acuminata* genetic diversity assayed with sequence tagged microsatellite sites. Electrophoresis 19: 1374-1380. 1998.
- HARRIS, C. R.; CHAPMAN, R. A.; HARRIS, C. & TU, C. M. Biodegradation of pesticides in soil: Rapid induction of carbamate degrading factors after carbofuran treatment. Journal of Environmental Science Health B19: 1-11. 1984.

- HOWELL, E.C.; NEWBURY, H.J.; SWENNEN, R.L.; WITHERS, L.A. & FORD-LLOYD, B.V. The use of RAPD for identifying and classifying *Musa* germplasm genome 37: 328-332. 1994.
- HUETTEL, R. N. & DICKSON, D. W. Karyology and oogenesis of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne. Journal of Nematology 13: 16 -19. 1981.
- IBGE. Produção Agrícola Municipal. Rio de Janeiro. Disponível: site. IBGE. <http://www.ibge.gov.br>. Consultado em Outubro de 2006. 2004.
- Inibap. International network for the improvement of banana and plantain. Banana diversity. October, 2004.
- IPGRI. 1999. [Online]. Descriptors for banana (*Musa* spp.). Homepage: http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf/publications/descriptors_en.pdf.
- JAEHN, A. Controle de *Radopholus similis* em bananeira cv. Nanicão através de nematicidas. In: Encontro de bananicultores de Registro, 3Q, Registro. Palestras, 21 p. 1993. (mimeografado).
- JARRET, R.L. & GAWEL, N. Molecular markers, genetic diversity and systematics in *Musa*. In: GOWEN, S. Bananas and plantains: London: Chapman & Hall, p.66-83. 1995.
- JEFFREYS, A. J.; WILSON, V. & THEIN, S. L. 1985. Hipervariable 'minisatellite' regions in human DNA. Nature 314: 67-73.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter 48:692. 1964.
- JOHNSON, A. W. The role of nematicides in nematode management. In: SASSER, J. N. & CARTER, C. C. (eds). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol I – Biology and Control. Pp. 249-267. Raleigh North Carolina State University Press, USA. 1985.
- JOHNSON, A. W. & FELDMESSER, J. Nematicides – a historical review. In: VEECH, J. A. & DICKSON, D. W. (eds). Vistas on Nematology. Pp. 448 – 454. Society of Nematologists, Inc, USA. 1987.
- KAEMMER, D.; AFZA, R.; WEISING, K.; KAHL, G.; FRANTISEK, J. & NOVAK, F.J. Oligonucleotide and amplification fingerprinting of wild species and cultivars of banana (*Musa* spp.). Biotechnology Techniques, 10: 1030 – 1035. 1992.
- KAEMMER, D.; FISCHER, D.; JARRET, R. L.; BAURENS, F.-C.; GRAPIN, A.; DAMBIER, D.; NOYER, J.-L.; LANAUD, C.; KAHL, G. & LAGODA, P. J. L.

- Molecular breeding in the genus *Musa*: a strong case for STMS marker technology. *Euphytica*, 96: 49 – 63. 1997.
- KAMATÉ, K.; BROWN, S.; DURAND, P.; BUREAU, J.M.; DE NAY, D. & TRINH, T.H. Nuclear DNA content and base composition in 28 taxa of *Musa*. *Genome* 44:622-627. 2001.
- KEETCH, D. P.; REYNOLDS, R. E. & MITCHELL, J. A. The survival and vertical distribution of the burrowing eelworm in Natal banana soils. *The Citrus and Sub-tropical Fruit Journal* 493: 15 -17. 1975.
- KIMATI, H. & GALLI, F. Doenças da bananeira *Musa* spp. In: GALLI, F. *Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2. Pg. 87-101. 1980.
- LAGODA, P.J.L.; DAMBIER, D.; GRAPIN, A.; BAURENS, F.C.; LANAUD, C. & NOYER, J. L.. Nonradioactive sequence tagged microsatellite site analyses: a method transferable to the tropics. *Electrophoresis* 19: 152-157. 1998.
- LIMA, M. L. A.; GARCIA, A. A. F.; OLIVEIRA, M. K. M.; MATSUOKA, S.; ARIZONO, H.; SOUZA-JUNIOR, C. L. & SOUZA, A. P. Analysis of genetic similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugar cane (*Saccharum* spp.). *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 30 – 38. 2002.
- LOH, J.P.; KIEW, R.; SET, O.; GAN, L.H. & GAN, Y.Y. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) fingerprinting of 16 Banana cultivars (*Musa* spp.). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 17: 360-366. 2000.
- LOOS, C. A. Studies on the life-history and habits of the burrowing nematode *Radopholus similis* the cause of black-head disease of banana. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 29: 3-52. 1962.
- LÓPEZ, R. J. A. Los nematodos parasitos del cultivo del banano, su ecología y control. *Augura* 2: 4-16. 1976.
- LUC, M. & VILARDEBO, A. Les nématodes associés aux bananiers cultivés dans l'Ouest Africain. I – Espèces parasites, dommages causés. *Fruits* 16: 205-279. 1961.
- LYSAK, M., DOLEZELOVA, M., & DOLEZEL, J. Flow cytometric analysis of nuclear genome size in *Musa* spp. In: *Plants Cytogenetics*. J. Maluszynska (ed). Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego, Katowice, Poland. pp. 178-183. 1998.

- MACGOWAN, J. B. The burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb 1893) Thorne 1949. Fia. Dept. of Agric. & Consumer Service Division of Plant Industry Nematology circular n° 27. 2p. 1977.
- MARIN, D. H., SUTTON, T. B. & BARKER, K. R. Dissemination of bananas in Latin America and the Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radopholus similis*. Plant Disease 82:964-974. 1998.
- MBWANA, A. S. S. & SESHU-REDDY, K. V. Solarisation equipment for treatment of banana planting material against endoparasitic phytonematodes. Nématologie Méditerranée 23: 195 -197. 1995.
- MOURA, R. M. & REGIS, E. M. O. Reações de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) em relação ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* (Nematoda: Heteroderidae). Nematologia Brasileira, 11: 215 – 255. 1987.
- MURRAY, D. S. Uso de nematicidas en escala commercial en plantaciones bananeras del Atlantico. Asban 4: 8 -9. 1980.
- MUSABYIMANA, T. & SAXENA, R. C. Potencial of Neem (*Azadirachta indica*) seed derivatives for the management of parasitic nematodes and the banana weevil complex. Proceedings of Conference on Bananas and Food Security held at Douala, Cameroon. 1998.
- NEI, M. & LI, W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Science, 76: 5269 – 5273. 1979.
- NORTON, H. V. Ecology of plant-parasitic nematodes. New York: John Wiley & Sons, 268 p. 1978.
- O'BANNON, J. H. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. Journal of Nematology 9: 16 -25. 1977.
- O'BANNON, J.H. & TAYLOR, A.L. Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot discs. Phytopathology 58, 385. 1968.
- ORTIZ, R.; MADSEN, S. & VUYLSTEKE, D. Classification of African plantain landraces and banana cultivars using a phenotypic distance index of quantitative descriptors. Theo Appl Genet 96: 904-911. 1998.
- OSUJI, J.O., HARRISON, G., CROUCH, J.H. & HESLOP-HARRISON, J.S. Identification of the genomic constitution of *Musa* L. genotypes (bananas, plantains and hybrids) using molecular cytogenetics. Annals of Botany 80:787-793. 1997.

- PEOPLES, S. A.; MADDY, K. T.; COSICK, W.; JACKSON, T.; COOPER, C. & FREDERICKSON, A. S. A study of samples of well water collected from selected areas in California to determine the presence of DBCP and certain other pesticide residues. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 24:611-618, 1980.
- PERSLEY, G. & DE LANGHE, E. A. Banana and plantain breeding strategies. *ACIAR Proceedings N° 21*. Canberra, Australia. 1987.
- PILLAY, M.; NWAKANMA, D. C.; TEKNOUANO, A. Identification of RAPD markers linked to A and B genome sequences in *Musa* L. *Genome*, 43: 763 – 767. 2000.
- PINOCHET, J. Breeding banana for resistance against lesion forming nematodes. Pp. 157-169. 1992. In: FOGAIN, R. & GOWEN, S. R. *Damage to roots of Musa cultivars by Radopholus similis with and without protection of nematicides*. *Nematropica* 27: 27-32. 1992.
- PINOCHET, J. Comments on the difficulty in breeding bananas and plantains for resistance to nematodes. *Revue de Nématologie* 11: 3-5. 1988.
- PINOCHET, J; CAMPRUBI, A; CALVET, C; FERNANDEZ, C & KABANA, RR. Inducing tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* by early mycorrhizal inoculation of micropropagated Myrobalan 29 C plum rootstock. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 123: 342-347. 1998.
- PINOCHET, J. & ROWE, P.R. Reaction of two banana cultivars to three different nematodes. *Plant Disease Reporter*, 62: 727 – 729. 1978.
- PINOCHET, J. & ROWE, P. R. Programme in breeding for resistance to *Radopholus similis* in banana. *Nematropica* 9: 76-78. 1979.
- PINOCHET, J. & VENTURA, O. Plant parasitic nematodes associated with bananas in Belize. *Trop. Agric.* 54: 349 -352. 1977.
- PLOETZ, R.C. & PEGG, K.G. *Fusarium* wilt. In Jones DR (ed.) *Diseases of banana, abaca and enset*. (CABI Publishing: Wallingford, UK). p.143-159. 2000.
- PLOETZ, R.C.; THOMAS, J.E. & SLABAUGH, W.R. Diseases of banana and plantain. In Ploetz RC (ed) *Diseases of tropical fruit crops*. (CABI Publishing: Wallingford, UK). Pp.73-134. 2003.
- QUÉNEHÉRVÉ, P. Populations of nematodes in soils under banana cv. Poyo in the Ivory Coast. 2. Influence of soil texture, pH and organic matter on nematode populations. *Revue de Nématologie* 11: 245-251. 1988.

- RAJENDRAN, G.; NAGANATHANM, T. G. & SIVAGAMI, V. Studies on banana nematodes. *Indian Journal of Nematology* 9: 54. 1979.
- READ, D. C. Greatly accelerated microbial degradation of aldicarb in retreated field soil, in flooded soil and in water. *Journal of Economic Entomology* 80: 15163. 1987.
- RHODES, P. H. A new banana disease in Fiji. *Commonw. Phytopathology News*, 10: 38 – 41. 1964.
- RIVAS, X. & ROMAN, J. Investigations on the host range of a population of *Radopholus similis* from Puerto Rico. *Nematropica* 15: 165-170. 1985.
- ROBINSON, J. C.; DANEEL, M. & SCHOEMAN, P. S. Cultural practices in relation to integrated pest management in bananas. 1998. In: *Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa*. Inibap. 1998.
- ROMÁN, J. Plant-parasitic nematodes of bananas, citrus, coffee, grapes and tobacco. Union Carbide Agricultural Products Company. 17p. 1986.
- ROSSI, C. E. Nematóides da bananeira. In: www.biologico.sp.gov.br_ *Consultado em Outubro de 2006*.
- ROWE, P. Fitomejoramiento de bananas y plátanos. Unión Paises Exportadores Banano (Upeb), Panamá, 19 p. 1985.
- SALAS, A.; OYUELA, R. & STOVER, R. H. Effect of fallow on the burrowing nematode (*Radopholus similis*) of bananas. *Plant Disease Reporter* 60: 68686. 1976.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F. & MANIATS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 653 p. 1989.
- SARAH, J. L. Utilisation des nématicides endotherapiques pour la lutte contre *Pratylenchus brachyurus* em culture d'ananas. IV. Effets secondaires d'applications foliaires sur le développement des plants après le traitement d'induction florale et sur la maturation des fruits. *Fruits* 38: 523-540. 1983.
- SARAH, J. L. Banana nematodes and their control in África. *Nematropica*, 19: 199-216, 1989.
- SARAH, J. L.; BLAVIGNAC, F.; SABATINI, C. & BOISSEAU, M. Differences in pathogenicity on bananas among populations of *Radopholus similis*. *Nematropica* 22: 135. 1992.
- SARAH, J. L.; PINOCHET, J. & STANTON, J. The burrowing nematode of bananas, *Radopholus similis* Cobb, 1913. *Musa Pest Fact Sheet* N° 1. Inibap, Montpellier, France. 1996.

- SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT user's guide. Version 6, 4 ed. SAS Institute, North Carolina, Cary. 1989.
- SASSER, J. N. & FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology, the role of society. In: VEECH, J. A. & DICKSON, D. W. Vistas on Nematology. Pp. 7-14. 1987.
- SASSER, J. N.; HARTMAN, K. & CARTER, C. E. Summary of preliminary crop germplasm evaluation for resistance to root-knot nematodes. Raleigh: NC State Univ., 88p. 1987.
- SCHMITT, D. P. & NELSON, L. A. Interaction of nematicides with other pesticides. In: VEECH, J. A. & DICKSON, D. W. (eds). Vistas on Nematology, pp. 455-460. Society of Nematologists, Inc, USA. 1987.
- SEINHORST, J. W. The relationships between population increase and population density in plant parasitic nematodes. II. Sedentary nematodes. *Nematologica*, 13: 157 – 171. 1967.
- SHANER, G.; STROMBERG, E.L.; LACY, G.H.; BARKER, K.R. & PIRONE, T.P. Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. *Annual Review Phytopathology* 30: 47-66. 1992.
- SHARROCK, S. Collecting the *Musa* gene pool in Papua New Guinea. In: GUARINO, L; RAO, V. R. & REID, R. (eds). Collecting plant genetic diversity. Wallingford: C.A.B International, cap. 33; p. 647-658. 1998.
- SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L. & ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. *Informe Agropecuário* 12: 11-19. 1986.
- 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, p. 108-110. 1992.
- SHER, S.A. Revision of genus *Radopholus* Thorne, 1949 (Nematoda -Tylenchoidea). *Proceedings of the Helminthological society of Washington* 35:219-37, 1968.
- SIDDIQI, M.R. Tylenchida: Parasites of Plants and Insects. 2º Ed. CABI Publishing. 864 p. 2001.
- SILVA, S. O.; ALVES, E. J.; LIMA, M. B. & SILVEIRA, J. R. S. Melhoramento genético da bananeira. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.). Melhoramento de espécies frutíferas. Viçosa: UFV, cap. 1. 1999.

- SILVA, S. O.; MATOS, A. P. & ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34: 693-703. 1998.
- SILVA, S. O.; 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, 37p. (Embrapa-CNPMF. Documentos, 65). 1996.
- SILVA, S. O.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; SOUZA, A. S. & CARNEIRO, M. S. Germoplasma. In: ALVES, E. J. (eds.) *A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais*. Brasília: Embrapa, cap. 4, pp. 61-84. 1997.
- SILVA, S. O.; SOUZA JUNIOR, M. T.; ALVES, E. J.; SILVEIRA, J. R. S. & LIMA, M. B. Banana breeding program at EMBRAPA. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 1: 399-436. 2001.
- SIMMONDS, N. W. Bananas. In: SMARTT, J. & SIMMONDS, N. W. (Eds.) *Evolution of crop plants*. Essex: Longman. pp. 370-375. 1995.
- SIMMONDS, N. W. & SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. *J. Linn Soc Bot* 55: 302-312. 1955.
- SIMMONDS, N. W. & WHEATHERUP, T. C. The taxonomy and origins of cultivated bananas (*Musa*). *New Phytologist* 115: 567-571. 1990.
- SPEIJER P.R. & DE WAELE D. Screening of *Musa* germplasm for resistance and tolerance to nematodes, INIBAP Technical Guidelines 1. Montpellier: INIBAP, 1997.
- SPEIJER, P. R.; GOLD, C. S; KARAMURA, E. B. & NASHAIJA, I. N. Banana weevil and nematode distribution patterns in Highland banana systems in Uganda: preliminary results from a diagnostic survey. *African Crop Science Conference Proceedings*. Pp. 285-289. 1994.
- STANTON J.M. Status of nematode and weevil borer problems affecting banana in Australia. In: *Banana nematodes and weevil borers in Asia and the Pacific*. R.V. Valmayor, R.G. Davide, J.M. Stanton, N.L. Treverrow & V.N. Roa (eds), pp. 48-56. Inibap/ASPNET, Los Baños, Philippines. 1994.
- STATSOFT INC. *Statistica for Windows [Computer program manual]* Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14th Street, Tulsa. 1999.

- STIRLING, A. M.; STIRING, G. R. & MACRAE, E. C. Microbial degradation of fenamiphos after repeated application to a tomato-growing soil. *Nematologica* 38: 245-254. 1992.
- STOFFELEN, R.; VERLINDEN, R.; XUYEN, N. T.; SWENNEN, R. & DE WAELE, D. Host plant response of *Eumusa* and *Australimusa* bananas (*Musa* ssp.) to migratory and root-knot nematodes. *Nematology* 2: 907-916. 2000.
- STOVER, R. H. Fungi associated with nematode and non-nematode lesions on banana roots. *Canadian Journal of Botany* 44: 1703-1710. 1966.
- STOVER, R. H. & BUDDENHAGEN, I. W. Banana breeding: polyploidy, disease resistance and productivity. *Fruits* 41: 175-191. 1986.
- TARTÉ, R. La importancia del conocimiento de la biología y comportamiento de los nematodos parásitos del banano em el desarrollo de métodos eficientes de control. *Augura* 6: 13-21. 1980.
- TARTÉ, R. & PINOCHET, J. Problemas nematológicos del banano: contribuciones recientes a su conocimiento y combate. Unión Países Exportadores Banano (UPEB), Panamá, 32 p. 1981.
- TARTÉ, R.; PINOCHET, J.; GABRIELLI, C. & VENTURA, O. Differences in population increase, host preferences and frequency of morphological variants among isolates of the banana race of *Radopholus similis*. *Nematropica* 11: 43-52. 1981.
- TODA FRUTA, disponível no site <http://www.todafruta.com.br/>, consultado em fevereiro de 2006.
- TOKESHI, H.; DUARTE, M. L. R. Moko da bananeira no Território Federal do Amapá. *Summa Phytopathologica*, 2: 224 – 229. 1976.
- VAN WEERDT, L. G. Studies on the biology of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949. In: II. Embriology and post-embryonic development. *Nematologica*, 5: 43-51. 1960.
- VIAENE, N.; DUEÑAS, J. & DE WAELE, D. Screening for resistance and tolerance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae* in banana and plantain (abstract). *Nematologica* 44: 599. 1998.
- VILARDEBO, A. Applications des résultats de recherches de lutte contre la nematose du bananier a *Radopholus similis* Cobb dans l'ouest africain. *Nematropica* 11: 193-207. 1981.

- WEHUNT, E.; HUTCHINSON, D. & EDWARDS, D. D. I. Reaction of banana cultivars to the burrowing nematode (*R. similis*). *Journal of Nematology* 10: 368-370. 1978.
- WIXTED, D. J., LPROA, R. & KOTCON, J.P. Efficacy of ethoprop on potato and the potencial for groundwater contamination. *Journal of Nematology* 19: 364-564. 1987.
- ZAKI, M. H.; MORAN, D. & HARRIS, D. Pesticides in groundwater: the aldicarb story in Suffolk county. N. Y. *American Journal of Public Health* 72: 1391-1395. 1982.
- ZEM, A. C. Problemas nematológicos em bananeiras (*Musa* spp.) no Brasil (contribuição ao seu conhecimento e controle). Piracicaba, SP: USP – ESALQ. 40p. Tese de Doutorado. 1982.
- ZEM, A. C. & ALVES, E. J. Observações sobre perdas provocadas por nematóides em bananeira (*Musa acuminata*) cultivar Nanicão. Bahia, Cruz das Almas, Brasil, EMBRAPA/CNPMF, Boletim de pesquisa Nº 6. 10 p. 1981.
- ZEM, A. C. & LORDELLO, L. G. E. Estudos sobre hospedeiros de *Radopholus similis* e *Helicotylenchus multicinctus*. *Sociedade Brasileira de Nematologia*, 7: 175-188. 1983.
- ZEM, A. C.; RODRIGUES, J. A. S. & LORDELLO, L. G. E. Efeitos de nematicidas nas populações de nematóides e produção da bananeira “Nanicão”. *Sociedade Brasileira de Nematologia* 6: 57-70. 1982.