



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

**RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA A *MELOIDOGYNE INCOGNITA*,  
*M. JAVANICA* E *M. ARENARIA* E VARIABILIDADE GENÉTICA COM BASE EM  
MARCADORES MOLECULARES RAPD.**

**MARCELLA ALVES TEIXEIRA**

**Brasília – DF  
2007**



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

Resistência de genótipos de bananeira a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* e variabilidade genética com base em marcadores moleculares RAPD.

**MARCELLA ALVES TEIXEIRA**

Dissertação apresentada ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial à 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, Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical e Embrapa Cerrados.

Resistência de genótipos de bananeira a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* e variabilidade genética com base em marcadores moleculares RAPD.

**MARCELLA ALVES TEIXEIRA**

**Dissertação aprovada em 23 de março de 2007 por:**

---

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

---

Prof. Jean Kleber Abreu Mattos, Doutor (Examinador)

---

Prof. Fabio Gelape Faleiro, Doutor (Examinador)

“Senhor, meu Deus, são maravilhosas as vossas inumeráveis obras  
e ninguém vos assemelha nos desígnios para conosco.  
Eu quisera anuncia-los e divulga-los,  
mas são mais do que se pode contar.”  
(Sl 39)

**DEDICATÓRIA**

**À minha amada filha Daniella, presente Divino e diário.**

**Ao meu grande companheiro, amor e amigo, Jansen.**

**Aos meus pais: origem, alicerce, princípios. AMOR.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que tem me concedido tantas bênçãos e ensinamentos, antes mesmo que eu possa pedir. Agradecimento algum jamais será suficiente.

Aos meus pais, Fernando e Ana Cleide. Com vocês aprendi a abraçar o mundo e, ao mesmo tempo, a buscar raízes.

A meu melhor amigo e grande amor, Jansen. Pelo companheirismo em todos os momentos de nossa vida. Pela ajuda fundamental na execução deste trabalho e pelos conselhos e discussões valiosos acerca do mesmo.

À minha família, pela recarga de ânimo em tantos momentos.

Ao meu querido orientador, Professor Juvenil Enrique Cares. Pela serenidade, paciência, sabedoria e palavras sempre bem colocadas. Pelas recomendações valiosas em relação a todos os questionamentos. Por exercer com maestria o papel de Orientador, de Mestre.

A Fábio Gelape Faleiro, pelo pronto auxílio na execução do experimento, estando sempre aberto a discussões e disposto a nos esclarecer dúvidas. Alguém por quem, em pouco tempo, desenvolvi grande admiração: não só pelo pesquisador, mas pela pessoa.

A Graciele Bellon, também pelo auxílio na execução do experimento e pela amizade.

A Ednalva Andrade, pela ajuda essencial em momento crucial do trabalho, fazendo com que conseguíssemos alcançar nossa meta. Pela amizade e ensinamentos.

A Vânia Moreira e Ana Paula pela disposição em ajudar mesmo com dificuldades e pela grande amizade.

A Dílson Costa pelo auxílio na execução do trabalho, ensinamentos e estímulo.

Aos professores José Carmine Dianese, Cláudio Lúcio Costa, Marisa Ferreira, Carlos Uesugi, Renato Resende; e aos pesquisadores Alice Nagata e Carlos Lopes pelos ensinamentos, paciência e disponibilidade sempre que solicitados.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, em especial a Carlos Pietrani, pelas observações acerca dos experimentos e disposição para ajudar.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical por fornecer o material vegetativo necessário para a realização do experimento.

À Embrapa Cerrados, por possibilitar a realização de parte do experimento em suas instalações.

Ao CNPQ, pela concessão de bolsa de estudos e financiamento do projeto.

## SUMÁRIO

|  |      |
|--|------|
| LISTA DE FIGURAS.....  | viii |
| LISTA DE TABELAS.....  | ix   |
| RESUMO.....  | x    |
| ABSTRACT.....  | xii  |
| INTRODUÇÃO.....  | 1    |
| REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....   | 4    |
| A importância da banana.....   | 4    |
| Origem e taxonomia da banana.....  | 5    |
| Aspectos fitossanitários .....   | 6    |
| Taxonomia, morfologia e biologia de <i>Meloidogyne</i> spp.....  | 7    |
| Práticas de controle de <i>Meloidogyne</i> spp.....  | 10   |
| Melhoramento genético de <i>Musa</i> .....   | 11   |
| Marcadores moleculares e diversidade em.....   | 14   |
| <b>CAPÍTULO 1. Resistência de genótipos de bananeira (<i>Musa</i> spp.) a três espécies do nematóide formador de galhas radiculares, <i>Meloidogyne inconita</i>, <i>M. javanica</i> e <i>M. arenaria</i>.</b> |      |
| RESUMO.....  | 17   |
| ABSTRACT.....  | 18   |
| 1. INTRODUÇÃO.....   | 19   |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....   | 21   |
| 2.1. Obtenção, caracterização e manutenção do inóculo.....   | 21   |
| 2.2. Material vegetal.....   | 22   |
| 2.3. Extração e contagem de nematóides.....  | 24   |
| 2.4. Inoculação.....   | 25   |
| 2.5. Avaliação.....  | 25   |
| 3. RESULTADOS.....   | 27   |
| 3.1. Avaliação da resistência de genótipos de bananeira a <i>Meloidogyne inconita</i> .....  | 27   |
| 3.2. Avaliação da resistência de genótipos de bananeira a <i>Meloidogyne javanica</i> .....  | 30   |
| 3.3. Avaliação da resistência de genótipos de bananeira a <i>Meloidogyne arenaria</i> .....  | 33   |
| 4. DISCUSSÃO.....  | 35   |

|  |    |
|--|----|
| 5. CONCLUSÕES.....   | 40 |
| <b>CAPÍTULO 2. Variabilidade genética de genótipos de bananeira com diferentes níveis de resistência ao nematóide de galhas com base em marcadores moleculares RAPD.</b> |    |
| RESUMO.....  | 42 |
| ABSTRACT.....  | 43 |
| 1. INTRODUÇÃO.....   | 44 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....   | 46 |
| 2.1. Material genético.....  | 46 |
| 2.2. Extração de DNA.....  | 47 |
| 2.3. Marcadores RAPD.....  | 47 |
| 2.4. Análises estatísticas.....  | 48 |
| 3. RESULTADOS.....   | 49 |
| 4. DISCUSSÃO.....  | 54 |
| 5. CONCLUSÕES.....   | 56 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....  | 57 |



## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Evolução das cultivares de banana comestíveis .....  | 12 |
| <b>Figura 2.</b> Esquema de inoculação de cada um dos genótipos, representando as quatro repetições e as três espécies de <i>Meloidogyne</i> .....  | 26 |
| <b>Figura 3.</b> Produto de amplificação de amostras de DNA genômico de 23 acessos de bananeira obtidos com o uso do “primer” decâmero OPG-05 .....   | 50 |
| <b>Figura 4.</b> Análise de agrupamento de 23 acessos de bananeira provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 224 marcadores RAPD..... | 52 |
| <b>Figura 5.</b> Dispersão gráfica de 23 acessos de bananeira provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 224 marcadores RAPD.....      | 53 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Lista dos genótipos de bananeiras provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, avaliados neste estudo e respectivos grupos genômicos e parentais..... | 23 |
| <b>Tabela 2.</b> Genitores dos genótipos avaliados no trabalho e respectivo grupo genômico.....   | 24 |
| <b>Tabela 3.</b> Classificação da resistência de bananeira segundo o percentual de inibição da reprodução de <i>Meloidogyne</i> spp. ....   | 26 |
| <b>Tabela 4.</b> Reação de 23 genótipos de bananeira a <i>M. incognita</i> após 180 dias de inoculação em condições de casa de vegetação.....   | 29 |
| <b>Tabela 5.</b> Reação de 20 genótipos de bananeira a <i>M. javanica</i> após 180 dias de inoculação em condições de casa de vegetação.....  | 32 |
| <b>Tabela 6.</b> Reação de 19 genótipos de bananeira a <i>M. arenaria</i> após 180 dias de inoculação em condições de casa de vegetação.....  | 34 |
| <b>Tabela 7.</b> Genótipos de bananeira provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com diferentes níveis de resistência a três espécies do nematóide das galhas....  | 46 |
| <b>Tabela 8.</b> “Primers” utilizados para obtenção dos marcadores RAPD e respectivos números de bandas polimórficas e monomórficas obtidas de 23 genótipos de bananeira.....                               | 49 |
| <b>Tabela 9.</b> Matriz de distância entre 23 acessos de bananeira provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, baseada em 224 marcadores RAPD.....                    | 51 |

# **Resistência de genótipos de bananeira a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* e variabilidade genética com base em marcadores moleculares RAPD.**

## **RESUMO**

Espécies do nematóide formador de galhas (*Meloidogyne* spp.) causam danos em raízes de banana em todos os locais de plantio. Existe uma grande necessidade de obter variedades melhoradas de banana, garantindo uma produção sustentável e ambientalmente segura. Uma exigência dos programas de pesquisa objetivando obter novas cultivares é a formação, caracterização e avaliação de coleções de germoplasma. Nos últimos anos, técnicas que possibilitam a caracterização diretamente em nível de DNA têm permitido identificar a variabilidade e avaliar a diversidade genética disponível em bancos de germoplasma. O objetivo deste trabalho foi estudar a reação de genótipos de banana a três espécies de nematóides formadores de galhas, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* e, analisar a diversidade genética de genótipos de banana com diferentes níveis de resistência com base em marcadores moleculares RAPD. Três experimentos, um por espécie de nematóide foram conduzidos sob condições de casa de vegetação. As plantas (uma por vaso) foram inoculadas com uma suspensão de nematóides contendo 2.500 ovos e juvenis. Em cada experimento, cada genótipo teve quatro repetições em um delineamento inteiramente casualizado. As plantas foram retiradas 180 dias depois da inoculação. Os números totais de nematóides no solo e raiz contados em cada vaso foram utilizados para calcular o fator de reprodução do nematóide (FR = população final/população inicial). Peso de raízes, nematóides por grama de raiz, número de nematóides por raiz, número de nematóides do solo e número total de nematóides também foram avaliados. De acordo com a escala de percentagem de redução do fator de reprodução, os clones 5854-03, Birmanie, 4279-06, Pisang Nangka e Jaran se comportaram como resistentes a *M. incognita*. Os clones Pipit, 4223-06, Caipira, Pisang Nangka, Tjau Lagada e Jaran foram classificados como resistentes a *M. javanica*. Os clones 4279-06 e Birmanie, além de serem resistentes a *M. incognita*, também foram resistentes a *M. arenaria*. Os clones Pisang Nangka e Jaran foram resistentes a *M. incognita* e *M. javanica*. Estes clones são promissores para programas de melhoramento visando obter cultivares de banana com resistência múltipla ao nematóide das galhas. Para avaliação da diversidade genética dos genótipos, o DNA genômico foi extraído e testado com 13 primers

decâmeros para obter marcadores RAPD. Estes foram então convertidos em uma matriz de dados binários para estimar a distância genética entre os genótipos e então avaliados com base em análises de agrupamento e de dispersão gráfica. Entre os 224 marcadores resultantes, 215 (95,98%) foram polimórficos e apenas 9 (4,02%) foram monomórficos. A distância genética entre os genótipos variou de 0,26 (entre 1319-01 e 1318-01) a 0,78 (entre Caipira e 1319-01). A distância genética entre os genótipos mostrou o alto grau de variabilidade genética nos genótipos. A análise de agrupamento separou o grupo das cultivares do grupo dos híbridos diplóides, com algumas exceções. A alta variabilidade genética observada neste trabalho confirma a importância dos diplóides de banana em programas de melhoramento.

**Palavras-chave:** diplóide, marcador molecular, *Meloidogyne*, resistência genética.

## **Resistance of banana genotypes to *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* and genetic variability based on RAPD molecular markers.**

### **ABSTRACT**

Species of the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) cause root damages everywhere bananas are planted. There is an urgent need to obtain improved varieties of banana, assuring a sustainable and environmentally safe production. Research programs aiming to obtain new cultivars require to build up, to characterize and to evaluate germplasm collections. In the last years, techniques that allow to characterize directly at DNA level have favored to identify variability and to evaluate the diversity available in germplasm banks. The aim of this work was to study host reaction of banana genotypes to three species of the root-knot nematode, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, and to analyze the genetic variability of banana genotypes with different levels of resistance based on RAPD molecular markers. Three experiments, one per nematode species were conducted under greenhouse conditions. The plants (one per pot) were inoculated with a nematode suspension containing 2.500 eggs and juveniles. For each experiment, each genotype was replicated four times in a completely randomized design. Plants were harvested 180 days after inoculation. Total numbers of soil and root nematodes counted in each pot was applied to calculate the factor of reproduction (FR = population final /population initial). Fresh root weigh, nematodes per gram of root, numbers of nematodes per root system, numbers of soil nematodes and total number o nematodes were also evaluated. According to the scale of percent reduction of the factor of reproduction, the clones 5854-03, Birmanie, 4279-06, Pisang Nangka and Jaran behaved as resistant to *M. incognita*. The clones Pipit, 4223-06, Caipira, Pisang Nangka, Tjau Lagada and Jaran were classified as resistant to *M. javanica*. The clones 4279-06 and Birmanie, behaved as resistant to *M. incognita* and to *M. arenaria*. The clones Pisang Nangka and Jaran were classified as resistant to *M. incognita* and *M. javanica*. These clones are promising genotypes for breeding programs aiming to obtain banana cultivars with multiple resistance to the root-knot nematode. Genomic DNA was extracted from all the genotypes, then tested with 13 decameric primers to obtain RAPD markers. These markers were converted into a binary data matrix to estimate genetic distance between genotypes, and further evaluated by cluster and graphic dispersion analyses. Among 224 resultant markers, 215 (95,98%) were polymorphic, and only 9 (4,02%) were monomorphic. The genetic distance between

the genotypes ranged from 0,26 (between 1319-01 and 1318-01) to 0,78 (between Caipira and 1319-01). The genetic distances between the genotypes testify the high level of genetic variability among the genotypes. With a few exception, cluster analysis split the genotypes in two groups, one comprising the cultivars, and the other one with the diploid ones. The rich genetic variability found in this work confirms the importance of improved diploids to banana breeding programs.

**Key words:** diploid, genetic resistance, *Meloidogyne*, molecular marker.

## INTRODUÇÃO

Atualmente o número de pessoas que sofrem de fome e desnutrição no mundo ultrapassa a marca de 700 milhões. O cultivo da banana contribui significativamente para a segurança alimentar, se apresentando como uma importante fonte de nutrição para mais de 400 milhões de pessoas em países tropicais (Inibap, 2006). Em termos de importância alimentar, a banana ocupa o quarto lugar em nível mundial, após o arroz, o trigo e o leite (Crouch *et al.*, 1999). Estima-se que na Oceania e África, os consumos *per capita* ao ano de banana sejam de 50 e 250 Kg, respectivamente (Inibap, 2006).

A banana é a maior planta herbácea descrita e se desenvolve em regiões quentes e úmidas, sendo constituída basicamente de água (cerca de 80%). Existem cerca de 1.000 tipos de bananas, as quais podem ser subdivididas em 50 grupos. É uma planta com grande variabilidade, sendo que na África algumas produzem frutos com mais de 50 centímetros. Atualmente, o tipo mais consumido pertence ao grupo Cavendish (Inibap, 2006).

Apesar de ser o segundo maior produtor mundial, o Brasil destina grande parte de sua produção para o consumo interno, sendo que apenas 1% de sua produção é destinada aos países do Mercosul (Souza, 2002). Na fruticultura, a cultura é superada em área plantada apenas pela cultura da laranja (IBGE, 2003).

Atualmente, a banana é cultivada, quase que exclusivamente, por pequenos agricultores e possui notável papel sócio-econômico em muitos países tropicais em desenvolvimento, sendo de importância tanto como fonte de alimento quanto como fonte de divisas para o mercado local (Souza, 2002).

Mundialmente, a cultura é afetada por diversas doenças; dentre elas, as sigatocas amarela e negra, o mal do Panamá e o moko bacteriano. Além destas, pode-se citar os fitonematóides, os quais podem causar perdas de até 100% quando seu controle não é efetuado corretamente (Silva *et al.*, 2001).

Cerca de 146 espécies de fitonematóides, distribuídas em 43 gêneros (Gowen & Quénehervé, 1990), têm sido identificadas associadas às raízes e ao solo da rizosfera de bananeiras. Entretanto, apenas *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949, *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956; *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 e *Meloidogyne* spp. são tidos como de maior importância (Bridge, 1991; Bridge *et al.*, 1997; Collingborn & Gowen, 1997; Costa *et al.*, 1998). Em geral, a presença de

fitonematóides em bananeira ocasiona atraso na maturação, redução de tamanho e peso dos cachos, pouco perfilhamento e morte das plantas (Cláudio & Davide, 1967; Davide & Marasigan, 1992; Patel *et al.*, 1996; Costa *et al.*, 1997; 1998).

Espécies do nematóide de galhas, *Meloidogyne* Goeldi, 1887 são encontradas em raízes de bananeira em todos os locais de cultivo (De Waele & Davide, 1998; Figueroa, 1990). Os primeiros sintomas da infecção pelo nematóide são a presença de galhas nas raízes primárias, seguidas por galhas nas raízes secundárias e terciárias, resultando em sintomas secundários como amarelecimento das folhas, redução de área foliar, do crescimento da planta e da produtividade, com perdas chegando a 57% (Guzmán-Piedrahita & Castaño-Zapata, 2002). Um agravante desse nematóide para a cultura da bananeira é a sua ampla gama de hospedeiras desse nematóide (De Waele & Davide, 1998).

O fato de ser expressivamente cultivada por agricultores que utilizam um baixo nível tecnológico na produção, aliado à ausência de variedades melhoradas e a práticas de manejo inadequadas, leva a grandes perdas pelo ataque de patógenos e pragas.

Atualmente, o manejo mais utilizado para o controle de patógenos é a aplicação de produtos químicos, que apresenta custos econômico e ambiental consideráveis (Frison *et al.*, 1997), além de ser responsável por resíduos químicos nos frutos, intoxicação pela exposição aos produtos, contaminações de fontes de água e destruição da biota do solo (Gomes, 1996).

Diante disso, existe uma grande necessidade de se obter variedades geneticamente melhoradas para a resistência ou tolerância a patógenos, garantindo uma produção sustentável e ambientalmente segura. Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos visando à avaliação da resistência e da susceptibilidade de genótipos de bananeira a *Meloidogyne* spp., como os realizados por Zem (1981); Lordello (1981); Patel *et al.* (1996); Frison *et al.* (1997); Costa *et al.* (1997; 1998); Vilas Boas *et al.* (2002).

A diversidade genética da banana é muito grande e a sua conservação tem sido visada por países por todo o mundo. No passado, agricultores contavam com a diversidade genética intrínseca em suas plantas que permitia uma boa adaptação a novos ambientes e climas. O sucesso da colonização humana pelo mundo dependia disso. Atualmente, os produtores e melhoristas valorizam a diversidade genética da mesma maneira. Muitas variedades melhoradas produzidas pelos programas de melhoramento atuais têm uma genealogia complexa,



envolvendo várias espécies selvagens. Por exemplo, “Calcutta 4”, uma espécie selvagem do Sudeste da Ásia, é a melhor fonte de resistência à sigatoka negra conhecida atualmente (Inibap, 2004a).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar genótipos do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical quanto à resistência a três espécies de *Meloidogyne*: *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood e *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood e avaliar a variabilidade genética desses genótipos utilizando marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### A importância da banana

A banana (*Musa ssp.*) é a fruta com maior volume comercializado internacionalmente, pois é consumida tanto em países tropicais quanto em temperados. Seu cultivo é realizado nas regiões quentes do mundo, onde é produzida durante quase todo o ano.

A cultura é produzida em mais de 120 países, sendo mundialmente o quarto produto mais importante em países em desenvolvimento, após arroz, trigo e milho, com cerca de 90% de sua produção originada de pequenos produtores para subsistência e consumo local (Inibap, 2004a).

O Brasil é o segundo produtor mundial e a banana representa a segunda maior produção de frutas do Brasil, superada apenas pela cultura da laranja. Apesar do grande volume produzido, apenas 1% é exportado, sendo destinado a países do Mercosul. Apesar de responder por aproximadamente 10% da produção mundial, o Brasil tem uma participação de apenas 0,5% no comércio internacional da fruta. Isto se deve, em grande parte, ao alto consumo interno do produto (Souza, 2002). No entanto, segundo Pizzol & Eleutério (2000), mesmo que houvesse excedente para a exportação, os frutos produzidos não possuiriam qualidade suficiente para conquistar o mercado externo.

A baixa qualidade da fruta nacional é resultado, em parte, da forma de produção predominante no país. Como grande parte da banana é cultivada por produtores pouco tecnificados, a cultura é exposta ao ataque de diversos patógenos. Com a ausência de cultivares resistentes, produtos químicos têm sido usados na busca e torna a única forma de controle eficiente dos mesmos. No entanto, questões como alto custo financeiro e/ou ambiental podem inviabilizar a utilização de químicos no controle econômico e sustentável dos patógenos.

## Origem e taxonomia da banana

A banana se originou no sudeste da Ásia, sendo então disseminada pelo homem por todo o mundo. Já em 1915, a Europa importava mais de 100.000 toneladas de banana da Jamaica. Até então, a principal variedade cultivada era a “Gros Michel”. No entanto, em 1940 o Mal do Panamá dizimou as plantações e essa variedade desapareceu gradualmente. A partir de 1960, foi substituída por variedades do grupo Cavendish, que são mais resistentes a doenças (Inibap, 2006). A produção de bananas dessa variedade é a mais expressiva em todo o mundo, sendo a mais explorada comercialmente.

O gênero *Musa* L. pertence à família Musaceae L. Esta é uma das seis famílias da Ordem Zingiberales Grisebach, a qual inclui cerca de 1.000 espécies. Além do gênero *Musa*, a família também abriga o gênero *Ensete* Horaninow (Inibap, 2004b).

O gênero *Musa* possui plantas herbáceas de grande porte com pseudocaule formado pelos pecíolos das folhas. O gênero é dividido em quatro seções (Cheesman, 1947): Callimusa, Australimusa, Eumusa e Rhodochlamys. Callimusa e Rhodochlamys englobam plantas ornamentais e não produzem frutos comestíveis. Australimusa possui uma espécie (*Musa textilis* Née) muito importante para a produção de fibra, que é utilizada na indústria pesqueira (Inibap, 2004b).

A seção Eumusa contém todas as variedades cultivadas de bananas. Esta é a maior seção do gênero e a que se encontra mais amplamente distribuída, com espécies que vão da Índia ao Pacífico. A seção contém aproximadamente 11 espécies, mas a maioria das cultivares se originou de apenas duas, *Musa acuminata* Colla (Genoma A) e *Musa balbisiana* Colla (Genoma B) (Inibap, 2004b).

A produção de frutos do diplóide *M. acuminata* (AA) sem sementes e comestíveis se originou como resultado de mutações. Posteriormente, o cruzamento natural entre esses diplóides comestíveis e plantas selvagens resultou na formação de híbridos estéreis, comestíveis, com o genoma AB, AAA, AAB, ABB, AAAB, etc. Estes genomas formam a diversidade das bananas comestíveis existentes atualmente (Inibap, 2004b).

## Aspectos fitossanitários

As doenças são a razão principal pela qual programas de melhoramento foram estabelecidos em Trindade, Jamaica, Honduras e Nigéria (Ploetz, 2004). As doenças da bananeira são de grande importância em todo o mundo, sendo que afetam todas as partes da planta, de diferentes formas.

As doenças causadas por fungos são as mais comuns (Jones, 2000). A sigatoka negra é causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet e ocorre em condições de alta umidade, tendo uma ampla gama de hospedeiras, que inclui o subgrupo Cavendish (AAA) e plátanos (AAB).

A murcha de *Fusarium*, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Smith) Snyder & Hansen também é um problema dessa cultura e se encontra amplamente disseminado (Ploetz & Pegg, 2000). Essa doença devastou as exportações, que, até 1960, dependiam da cultivar 'Gros Michel' (AAA). 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).

Bactérias causam diversos tipos de doenças, sendo que as mais significativas são as murchas vasculares (Thwaites *et al.*, 2000). A murcha bacteriana ou moko é causada pela raça 2 de *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* tendo sido detectada no Brasil desde 1976 (Tokeshi & Duarte, 1976), podendo ser disseminada por insetos voadores por meio de material propagativo, por instrumentos de tratos culturais e de colheita. Menos importante, mas amplamente disseminada, *Erwinia* spp. causam podridão do rizoma e do pseudocaule (Thwaites *et al.*, 2000).

Existem quatro doenças importantes da bananeira que são causadas por vírus (Jones, 2000; Ploetz *et al.*, 2003). A mais importante é causada pelo *Banana bunchy top virus* (BBTV). Outras viroses, menos destrutivas, são as causadas pelo *Banana streak virus* (BSV) e pelo *Cucumber mosaic virus* (CMV), que estão presentes na maioria dos locais onde a banana é plantada. Destes, apenas BBTV é listado como praga quarentenária A1, sendo que BSV e CMV têm ocorrência no Brasil (Cordeiro, 2003).

Os nematóides são os patógenos de solo mais importantes da banana (Ploetz, 2004) e, dependendo da localização geográfica e do ambiente, quatro espécies podem causar danos significativos (Gowen & Quénehervé, 1990). Apenas

*R. similis*, *H. multincinctus*, *P. coffeae* e *Meloidogyne* spp. são tidos como de maior importância (Bridge, 1991; Bridge *et al.*, 1997; Collingborn & Gowen, 1997; Costa *et al.*, 1998). Entre eles, *H. multincinctus* e *Meloidogyne* spp. são os fitonematóides mais disseminados e encontrados em maior abundância nas raízes de bananeiras (Adiko & N'Guessan, 2001).

Em locais de baixa infestação, a presença do nematóide é observada quando as plantas apresentam redução na longevidade, queda no vigor, diminuição da produção com menor massa nos cachos; ou seja, os sintomas se manifestam a longo prazo. Onde ocorrem grandes 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 *Meloidogyne* spp**

O gênero *Meloidogyne* foi nomeado inicialmente por Cornu, em 1879, como *Anguillula*, para diferenciar dos nematóides do gênero *Heterodera* (Schmidt, 1871). Em 1887 Göldi, descreveu um nematóide formador de galhas infectando café e o nomeou *Meloidogyne exigua*. Esse trabalho não foi observado pelos demais estudiosos naquele momento, sendo que o gênero foi ainda nomeado *Caconema* e *Heterodera*, antes que Chitwood diferenciasse *Meloidogyne* e *Heterodera* (Hirschmann, 1985).

Os nematóides de galhas estão distribuídos mundialmente infectando muitas culturas economicamente importantes. Pelo menos cinco espécies identificadas foram descritas associadas a *Musa* spp. nas regiões tropicais ou subtropicais ou em condições particulares, como em Marrocos, onde as bananas são produzidas em casas de vegetação. As espécies mais encontradas associadas com banana são *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* (Stoffelen *et al.*, 2000). Diferentes espécies podem ser encontradas na mesma galha (Pinochet, 1977). Segundo Fargette (1987), 18 – 25% das infecções de raízes na África são resultantes de misturas de espécies.

As espécies do gênero *Meloidogyne* caracterizam-se por acentuado dimorfismo sexual; sendo que a fêmea imóvel apresenta o corpo globoso, piriforme ou em forma de saco, e o macho tem corpo de formato vermiforme.

O ciclo de vida do nematóide, a histopatologia e a etiologia da doença não difere significativamente entre bananas e outras culturas (Bird, 1979). A fase infectante corresponde ao juvenil de segundo estágio. O juvenil de *Meloidogyne* penetra a base do cilindro vascular e se move intercelularmente após a penetração da raiz, migrando pelo córtex até a ponta da raiz (Wyss *et al.*, 1992).

Os juvenis estabelecem um sítio de alimentação permanente na zona de diferenciação da raiz através da indução de divisão celular sem que ocorra citocinese nas células hospedeiras (Huang & Maggenti, 1969). Este processo origina células grandes, multinucleadas, denominadas células gigantes.

As células localizadas próximas ao sítio de alimentação se dividem, levando à formação das galhas (Christie, 1936). O nematóide ingere o conteúdo citoplasma das células gigantes, atuando como drenos metabólicos que desviam os recursos vegetais para o nematóide parasita.

Feito isso, o juvenil torna-se sedentário, passando por três ecdises até atingir a fase adulta. Os ovos que a fêmea lança para o exterior permanecem unidos por meio de uma matriz gelatinosa secretada pela própria fêmea durante a oviposição. Em raízes primárias, massas de ovos podem não aparecer na superfície da raiz e múltiplos ciclos podem se completar na mesma raiz, dependendo da longevidade da raiz e da severidade da necrose (Cordeiro, 1999).

Os danos causados pelos fitonematóides nos cultivos de banana são diretamente proporcionais ao aumento de suas populações. O incremento ou o decréscimo de determinada população irá, entretanto, depender de fatores ambientais que atuem direta ou indiretamente sobre o nematóide ou sobre a hospedeira, bem como de fatores inerentes à biologia do próprio nematóide (Cordeiro, 1999). Alguns autores têm sugerido que o impacto de *Meloidogyne* spp. na produção pode ser maior sob condições de estresse de água ou nutrientes. (Stanton & Cobon, 2000).

Com relação aos fatores ambientais, o teor de umidade no solo é considerado como o de maior importância, seguido de outros, tais como as condições edáficas, a situação fisiológica da planta e a presença de outros organismos (fungos, bactérias, outros nematóides, etc.) no mesmo nicho. Tem-se observado maiores danos a bananeiras plantadas em solo arenosos, onde causam reduções de produção superiores a 20% (Pinochet *et al.*, 1998).

Entre os fatores diretamente associados à biologia dos nematóides que podem afetar a dinâmica populacional pode-se incluir a ação da densidade

populacional da própria espécie regulando o tamanho da população. Outro fator endógeno que afeta a dinâmica populacional é a presença de variações patogênicas dentro das espécies (Cordeiro, 1999).

O nematóide tem uma ampla gama de hospedeiras, especialmente em plantas dicotiledôneas, que estão normalmente presentes na maioria dos solos onde a banana é cultivada. A sobrevivência e disseminação também ocorrem com material de plantio ou raízes infectadas (Quénéhervé & Cadet, 1985), além de equipamentos utilizados nos tratamentos culturais.

As plantas atacadas apresentam redução do crescimento e atraso no florescimento. As margens das folhas se tornam ressecadas e fendilhadas e, os cachos produzidos são pequenos, com frutos subdesenvolvidos (Patel *et al.*, 1996).

A característica morfológica mais confiável para a identificação de fêmeas de *Meloidogyne* spp. é o padrão perineal, localizado na região posterior do corpo (Hirschmann, 1985). O método utilizado para a identificação de espécies pela análise das configurações perineais é o de Hartman & Sasser (1985). Entretanto, existe certa variabilidade dentro de populações de uma mesma espécie (Eisenback, 1985), tornando a identificação uma tarefa árdua, mesmo para um nematologista especializado no gênero *Meloidogyne* (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990). Nos últimos anos, estudos bioquímicos utilizando proteínas solúveis têm sido utilizados para diferenciação de várias espécies de nematóide das galhas, gerando fenótipos enzimáticos através de eletroforese em géis de poliacrilamida (Carneiro, 2001).

Inicialmente, os estudos utilizando enzimas de nematóides para identificação de espécies eram feitos coletando-se extratos de diversos indivíduos (Dickson *et al.*, 1971; Hussey *et al.*, 1972). Estudos posteriores chegaram à uma técnica que permite a extração de material para eletroforese de enzimas a partir de um único indivíduo (Dalmaso & Bergé, 1978).

Observou-se que as esterases são as enzimas mais precisas para identificação das espécies, sendo as malato desidrogenases utilizadas nos casos em que não é possível a diferenciação apenas pelas esterases. A identificação de espécies de *Meloidogyne* pela técnica da eletroforese foi adaptada por Carneiro & Almeida (2001), tornando-a mais simples e com menor custo.

## **Práticas de controle de *Meloidogyne* spp.**

Nematicidas podem ser utilizados para o controle de nematóides em plantios comerciais de banana. Na busca da eficiência no controle, a frequência de aplicação chega a ser maior que três vezes por ano (Gowen, 1995). Tais produtos são caros e não podem ser custeados por produtores descapitalizados e pouco tecnificados. Além disso, são inapropriados para a maioria destes, pois eles não têm o devido treinamento para a aplicação e para o uso de equipamento de proteção individual.

Práticas alternativas ao controle químico incluem rotação de cultura, períodos de pousio e uso de produtos orgânicos. A rotação de culturas amplamente usada é efetiva na redução da multiplicação de nematóides e dos danos quando comparada ao cultivo contínuo de culturas suscetíveis (Kokalis-Burelle *et al.*, 2005). No entanto, o controle por rotação de culturas é mais difícil para o controle de nematóides com ampla gama de hospedeiras, como *M. incognita*, para a qual a escolha de culturas não hospedeiras pode ser limitada e economicamente inviável. O controle por rotação de culturas também é difícil em áreas onde ocorrem populações misturadas de nematóides (McSorley & Dickson, 1995).

Fazer pousio reduz significativamente as populações de nematóides das galhas (Johnson & Campbell, 1977; Johnson *et al.*, 1997; Weaver *et al.*, 1995), apesar de não eliminar completamente os nematóides de solos infestados. No entanto, existem diversas desvantagens em realizar o pousio, incluindo a perda de produção e aumento da erosão do solo (Whitehead, 1998).

A adição de matéria orgânica ao solo pode reduzir a doença causada por *Meloidogyne* de duas formas: diretamente, alterando as propriedades do solo e indiretamente, melhorando o desenvolvimento da planta, alterando a fisiologia da raiz, aumentando a população de microorganismos antagonistas e induzindo resistência à doença (Van Loon *et al.*, 1998).

O uso de variedades resistentes é a forma mais barata, eficiente e ecologicamente correta de controle de doenças. No caso da resistência a *Meloidogyne*, nenhuma fonte de resistência foi encontrada entre 26 acessos de banana do Vietnã, oriundos do genoma AA, AAA, AAB, ABB e AB, além de alguns acessos selvagens (Van den Bergh *et al.*, 2002a). No entanto, já existem relatos de resistência a *Meloidogyne megadora* Whitehead, 1968 em seis genótipos de banana (Almeida & Santos, 2002). Em trabalho realizado por Costa *et al.* (1998) todas as



cultivares avaliadas se comportaram como moderadamente resistentes, se diferenciando da cultivar Nanicão. No entanto, três cultivares estudadas neste trabalho se mostraram suscetíveis em um ensaio feito a campo por Zem & Lordello (1981). Patel *et al.* (1996) também observaram reações de alta e moderada suscetibilidade em genótipos de bananeiras em relação a uma mistura de *M. incognita* e *M. javanica*.

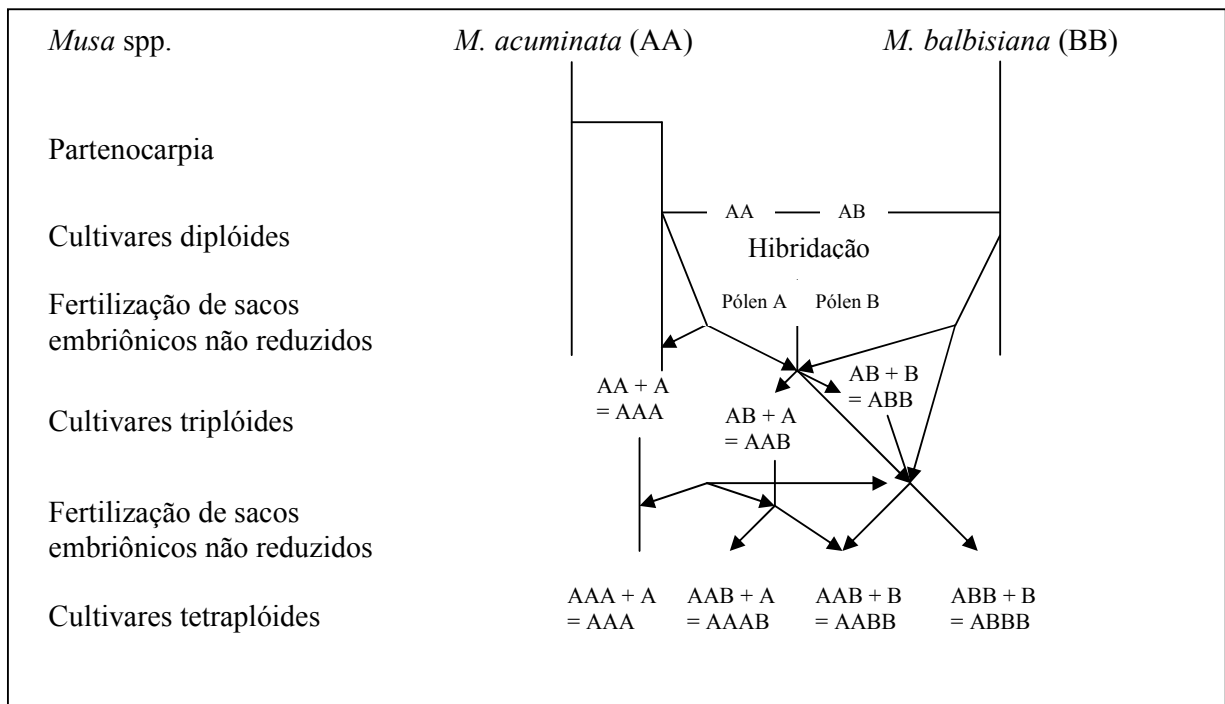
### **Melhoramento genético de *Musa*.**

O mal do Panamá, nas cultivares existentes até então, motivou o início do processo de melhoramento da bananeira em 1922, no Colégio Imperial de Agricultura Tropical (Rowe, 1985; Dantas *et al.*, 1997). Um programa de melhoramento iniciado em 1959 pela United Fruit Company foi posteriormente repassado (em 1984) à Fundação Hondurenha de Investigação Agrícola (FHIA). No entanto, a busca por germoplasma de banana já havia se iniciado, a partir de 1976, em países asiáticos. O objetivo era estabelecer um sistema de hibridação para o melhoramento da cultura. O melhoramento genético da bananeira no Brasil começou em 1982, na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, visando obter variedades resistentes a pragas e doenças (Dantas *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 1998). Atualmente, esta instituição mantém o maior banco ativo de germoplasma de banana do Brasil.

A evolução de grande parte das cultivares de banana ocorreu na Ásia, a partir das espécies selvagens *M. acuminata* (genoma A) e *M. balbisiana* (Genoma B). Com as combinações, originaram-se variedades de níveis cromossômicos diplóides, triplóides e tetraplóides (22, 33, 44 cromossomos, respectivamente) (Figura 1).

No início da década de 1930, foi sintetizado o primeiro tetraplóide a partir do cruzamento de uma cultivar triplóide – AAA (Gros Michel) com um diplóide – AA (selvagem). Dessa forma, iniciou-se um sistema de hibridação que permite o melhoramento de cultivares triplóides de banana e também de diplóides (AA).

No melhoramento de bananeira, o germoplasma diplóide contribui com resistência às diversas doenças e com outras características desejáveis. O objetivo do melhoramento do germoplasma diplóide 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.



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

Uma vez identificada a fonte de resistência, o segundo passo é incorporar genes para a resistência em cultivares comerciais triplóides, o que é um grande obstáculo (Pinochet, 1988). O melhoramento efetua-se pela produção de gerações sucessivas de híbridos diplóides e pela seleção contínua dos melhores genótipos resultantes de todos os cruzamentos colocados em campo. Devem ser realizados vários tipos de cruzamentos, envolvendo diferentes fontes de variabilidade, 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 característica de ausência de sementes em cultivos comerciais é uma conseqüência da inexistência de pólen viável ou, talvez, de polinizadores naturais mais eficientes. As cultivares que se apresentam sem sementes quando polinizadas, ou que as produzam 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 é a causa mais importante da esterilidade feminina em bananeiras cultivadas (Shepherd *et al.*, 1986).

Os tetraplóides resultantes de cruzamentos de triploides com diplóides têm a recombinação originária apenas do genitor diplóide masculino. Uma cultivar triploide com um pouco de fertilidade feminina pode produzir embriões e híbridos com 22 a 33 cromossomos, dependendo do desequilíbrio da meiose; *além de* embriões e híbridos com 44 ou 77 cromossomos. Na prática, entretanto, são os híbridos tetraplóides com 44 cromossomos que têm potencial para serem utilizados como cultivares comerciais. É importante ressaltar que o pólen contribui com apenas  $\frac{1}{4}$  do novo genótipo, em cada fertilização deste tipo e, portanto, é basicamente um processo de implantação de características adicionais, sem provocar outras grandes alterações. Assim, o híbrido tetraploide sempre apresenta as características do parental feminino triploide, inclusive as relacionadas ao sabor do fruto (Dantas *et al.*, 1993).

O Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Banana da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) está situado no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMPF) e conta 280 acessos classificados, havendo 232 já caracterizados e avaliados com o uso de 107 descritores botânico-agronômicos. Dentre esses acessos, 86% são cultivares e 14% são espécies silvestres. As espécies mais freqüentes são *M. acuminata* (AA) e *M. balbisiana* (BB), enquanto as espécies *Musa ornata* Roxburgh, *M. velutina* H. Wendl. & Drude, *M. laterita* Cheesman, *M. basjoo* Von Siebold e *M. beccari* estão presentes com apenas um acesso. O grupo genômico AAB, cujos representantes mais importantes no Brasil são as cultivares Prata, Maçã e Mysore, é o que ocorre com maior freqüência (36%). Em seguida vem o grupo AA (24%), usado como genitor masculino no início do programa de melhoramento. O grupo AAA apresenta também alta ocorrência (24%), e os demais grupos ocorrem com menor freqüência (Silva & Shepherd, 1991).

Como resultado dos programas de melhoramento de banana, a maioria das bananas cultivadas são triploides. Apesar da triploidia conferir um certo vigor à planta, também contribui para a esterilidade que limita grandemente o uso de hibridização no melhoramento da banana e constitui um desafio aos métodos de melhoramento convencionais. Diferente dos triploides, os diplóides são muito férteis e contêm considerável diversidade genética; podem ser selvagens, semi-selvagens ou partenocárpicas, geralmente com uma ou mais fontes de resistência (ou tolerância) a doenças (Tomekpe *et al.*, 2004).

Mesmo com a existência de um grande número de cultivares, a baixa produtividade dos clones e a falta de resistência a fatores bióticos e abióticos 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 ao ataque de patógenos e pragas e que, na ausência de variedades resistentes, o uso de pesticidas é a única forma eficiente de controle (Frison *et al.*, 1997).

### **Marcadores moleculares e diversidade em *Musa*.**

A diversidade de bananas é maior na Ásia, de onde se originou. O gênero *Musa* compreende mais de 30 espécies de banana, que em seu estado selvagem, são encontradas desde a Austrália e Pacífico até o Norte da Índia. Existe pouco conhecimento sobre a diversidade geral das bananas, sendo os estudos concentrados nas espécies cultivadas, *M. acuminata* e *M. balbisiana* (Daniells *et al.*, 2001).

A diversidade genética de banana é grande e a sua conservação tem sido visada por países de todo o mundo (Inibap, 2004a). No passado, agricultores contavam com a diversidade genética intrínseca em suas plantas que permitia uma boa adaptação a novos ambientes e climas. O sucesso da colonização humana pelo mundo dependia disso. Atualmente, os produtores e melhoristas valorizam a diversidade genética da mesma maneira. Muitas variedades melhoradas produzidas pelos programas atuais têm uma genealogia complexa, envolvendo várias espécies selvagens. Por exemplo, “Calcutta 4”, uma espécie selvagem do Sudeste da Ásia, é a melhor fonte de resistência à sigatoka negra conhecida atualmente.

A caracterização morfológica das bananas tem sido a ferramenta mais utilizada para classificação das cultivares de banana em diferentes grupos genômicos (Rekha *et al.*, 2001). Recentemente, marcadores moleculares têm sido usados para estudar a diversidade nas plantas, animais e outros organismos (Thu *et al.*, 2002) e têm se mostrado poderosas ferramentas na compreensão das relações genéticas entre cultivares e espécies de *Musa*.

Os marcadores genético-moleculares facilitam a seleção dos parentais e auxiliam no desenvolvimento de novas estratégias de melhoramento. Como podem ser utilizados em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, têm outra grande vantagem em relação a outros marcadores genéticos (Ford-Lloyd *et al.*, 1996).

Avanços consideráveis têm sido obtidos na compreensão da base genética de características de importância agrícola em banana (Ortiz, 1995). Entretanto, para que maiores avanços sejam alcançados no melhoramento desta cultura, existe uma necessidade urgente de se obter progressos similares na compreensão da estrutura genômica e das relações genéticas existentes entre os acessos depositados nos bancos de germoplasma (Crouch *et al.*, 1999).

A caracterização de genótipos pode auxiliar o mapeamento genético, identificação de variabilidade e separação entre espécies de plantas. Pequenos níveis de variação induzidos por manipulação *in vitro* de plantas também podem ser identificados e quantificados. Os mesmos métodos podem ser usados para estudar a quantidade de variação no germoplasma de plantas e fazer comparações entre diferentes acessos ou grupos de acessos em coleções para auxiliar o uso do material conservado (Ford-Lloyd *et al.*, 1996).

O desenvolvimento e aplicação de tecnologias baseadas em marcadores moleculares fornecem ferramentas únicas, capazes de revelar polimorfismos em nível de seqüências de DNA, suficientes para discriminar a variação genética existente entre indivíduos e dentro de populações (Kresovich *et al.*, 1995).

A técnica de RAPD, que utiliza amplificação por PCR (Polymerase Chain Reaction) com *primers* de sequência conhecida e arbitrária de nucleotídeos, foi desenvolvida por Williams *et al.* (1990) e Welsh & McClelland (1990) para produzir marcadores moleculares para análise genética e é uma maneira fácil de obter informação acerca da variação genética (Williams *et al.*, 1990; Welsh & McClelland, 1990) existente em diferentes plantas.

Swennen *et al.* (1995) estudaram o padrão de variabilidade entre plátanos africanos. Os estudos de variabilidade e divergência genética entre bananas indianas foram conduzidos por Valsalakumari *et al.* (1993). Simmonds *et al.* (1990) relataram a relação entre bananas cultivadas com base em taxonomia numérica. Estudos foram feitos por Gawel & Jarret (1991); Gawel *et al.* (1992); Jarret *et al.* (1992, 1993), Kaemmer *et al.* (1992), Howell *et al.* (1994) e Bhat *et al.* (1994) observando a variabilidade genética entre espécies e cultivares de *Musa*.

# CAPÍTULO 1

---

---

RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA (*MUSA* SPP.) A TRÊS ESPÉCIES DO NEMATÓIDE FORMADOR DE GALHAS RADICULARES, *MELOIDOGYNE INCOGNITA*, *M. JAVANICA* E *M. ARENARIA*.

**Resistência de genótipos de bananeira (*Musa* spp.) a três espécies do nematóide formador de galhas radiculares, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*.**

**RESUMO**

Espécies do nematóide de galhas (*Meloidogyne* spp.) são encontradas causando danos em raízes em todos os locais de cultivo da bananeira. Existe uma grande necessidade de se obter variedades geneticamente melhoradas, garantindo uma produção sustentável e ambientalmente segura. O objetivo deste trabalho foi estudar a resistência de genótipos de bananeira a três espécies do nematóide formador de galhas, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. Três experimentos, um por espécie de nematóide foram conduzidos sob condições de casa de vegetação. As plantas (uma por vaso) foram inoculadas com uma suspensão de nematóides contendo 2.500 ovos e juvenis. Em cada experimento, cada genótipo foi replicado quatro vezes em um delineamento inteiramente casualizado. As plantas foram avaliadas 180 dias após a inoculação. O número total de nematóides no solo e raiz contados em cada vaso foi utilizado para calcular o fator de reprodução (FR = população final/população inicial). Peso de raiz, nematóides por grama de raiz, número de nematóides por raiz, número de nematóides no solo e número total de nematóides também foram avaliados. De acordo com a escala de percentagem de redução do fator de reprodução, os clones 1304-04, Borneo, 1304-06 e 4252-03 se comportaram como suscetíveis a *M. incognita*, enquanto os genótipos 5854-03, Birmanie, 4279-06, Pisang Nangka e Jaran se comportaram como resistentes a esta espécie. Os clones Borneo e 8694-15 foram classificados como suscetíveis e, Pipit, 4223-06, Caipira, Pisang Nangka, Tjau Lagada e Jaran foram classificados como resistentes a *M. javanica*. Os clones 1304-04 e 8694-15 se comportaram como suscetíveis a *M. arenaria* e, 4279-06 e Birmanie se comportaram como resistentes a esta espécie. Os clones 4279-06 e Birmanie foram resistentes a *M. incognita* e *M. arenaria*, enquanto os clones Pisang Nangka e Jaran foram resistentes a *M. incognita* e *M. javanica*. Estes quatro clones são considerados promissores para os programas de melhoramento visando obter cultivares de banana com resistência múltipla aos nematóides formadores de galhas.

**Palavras-chave:** diplóide, *Meloidogyne*, *Musa*, resistência genética.

## **Resistance of banana genotypes (*Musa* spp.) to three species of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria*.**

### **ABSTRACT**

Species of the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) cause root damages everywhere bananas are planted. There is an urgent need for obtaining improved varieties of banana, assuring a sustainable and environmentally safe production. The aim of this work was to study resistance of banana genotypes to three species of the root-knot nematode, *M. incognita*, *M. javanica*, *M.arenaria*. Three experiments, one per nematode species were conducted under greenhouse conditions. The plants (one per pot) were inoculated with a nematode suspension containing 2.500 eggs and juveniles. For each experiment, each genotype was replicated four times in a completely randomized design. Plants were harvested 180 days after inoculation. Total numbers of soil and root nematodes counted in each pot was used to calculate the factor of reproduction ( $FR = \text{population final} / \text{population initial}$ ). Fresh root weigh, nematodes per gram of root, numbers of nematodes per root system, numbers of soil nematodes, and total numbers of nematodes were also evaluated. According to the scale of percent reduction on the factor of reproduction, the clones 1304-04, Borneo, 1304-06 and 4252-03 behaved as susceptible to *M. incognita*, while the genotypes 5854-03, Birmanie, 4279-06, Pisang Nangka and Jaran behaved as resistant to this species. The clones Borneo and 8694-15 were classified as susceptible, and Pipit, 4223-06, Caipira, Pisang Nangka, Tjau Lagada and Jaran were classified as resistant to *M. javanica*. The clones 1304-04 and 8694-15 behaved as susceptible to *M. arenaria*, and 4279-06 and Birmanie behaved as resistant to this species. The clones 4279-06 and Birmanie were resistant to *M. incognita* and to *M. arenaria*, while the clones Pisang Nangka and Jaran were resistant to *M. incognita* and *M. javanica*. These four clones are considered promising genotypes for breeding programs aiming to obtain banana cultivars with multiple resistance to the root-knot nematode.

**Key words:** diploid, genetic resistance, *Meloidogyne*, *Musa*.



## 1. INTRODUÇÃO

Mundialmente, a cultura da banana é afetada por diversas doenças; dentre elas, as sigatokas amarela e negra, o mal-do-Panamá e o moko bacteriano. Além destas, pode-se citar os fitonematóides, os quais podem causar perdas de até 100% quando seu controle não é efetuado corretamente (Silva *et al.*, 2001).

Espécies de *Meloidogyne* são encontradas em raízes de bananeira em todos os locais de cultivo (De Waele & Davide, 1998; Figueroa, 1990). Os seus danos em cultivos de banana são diretamente proporcionais ao aumento de suas populações, podendo também ser influenciados pela fertilidade e tipo de solo, resultando na redução do tamanho, peso e atraso na maturação dos cachos, pouco perfilhamento e morte das plantas (Davide & Marasigan, 1992; Patel *et al.*, 1996; Costa *et al.*, 1997). Entre as espécies encontradas em diferentes regiões produtoras de banana, *M. incognita* e *M. javanica* são as de ocorrência mais ampla (Gowen & Quénéhervé, 1990).

Atualmente, o manejo mais utilizado para o controle de patógenos é a aplicação de produtos químicos, que em muitos casos é inviabilizada pelo alto custo econômico e ambiental, além de ser responsável por resíduos químicos nos frutos, intoxicação pela exposição aos produtos, contaminações de fontes de água e alteração da microflora do solo (Gomes, 1996).

Dessa forma, existe uma grande necessidade de se obter variedades geneticamente melhoradas, com resistência a patógenos e às condições ambientais adversas, garantindo uma produção sustentável e ambientalmente segura. Diversos trabalhos (Davide & Marasigan, 1992; Patel *et al.*, 1996; Costa *et al.*, 1997, 1998; Pinochet *et al.*, 1998; Van Den Bergh *et al.*, 2000, 2002a, 2002b; Stoffelen *et al.*, 2000; Almeida & Santos, 2002; Vilas Boas *et al.*, 2002; Cofcewicz *et al.*, 2004; Guedira *et al.*, 2004; Moens *et al.*, 2005; Pinto *et al.*, 2005) vêm sendo desenvolvidos visando a avaliação da resistência de genótipos de bananeira a *Meloidogyne* spp.

No Brasil as espécies *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *Meloidogyne* spp. foram detectadas em 32,2%; 61,7%; 4,3% e 1,8% das amostras analisadas, respectivamente. Das 25 áreas levantadas, 20 apresentaram espécies misturadas e as outras cinco, espécies puras, com predomínio de *M. javanica* e *M. incognita* (Cofcewicz *et al.*, 2004a).

Existem poucas informações sobre a existência de fontes de resistência e tolerância aos nematóides formadores de galhas em *Musa* (Van Den Bergh *et al.*,

2002b). No entanto, diversas instituições de pesquisa vêm buscando resistência a nematóides nas bananeiras, como o é o caso do Centro de Cooperação Internacional em Pesquisa Agronômica pelo Desenvolvimento (CIRAD – FLHOR) e a Fundação Hondurenha de Investigação Agrícola (FHIA). No Brasil, o Programa de Melhoramento Genético da banana realizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical tem se destacado no desenvolvimento de híbridos diplóides e tetraplóides com boas características agrônômicas e resistentes a diversas doenças.

A busca por resistência a nematóides em clones de bananeira foi também relatada por Zem (1981); Lordello (1981); Zem & Lordello (1981); Davide & Marasigan (1992); Patel *et al.* (1996); Frison *et al.* (1997); Costa *et al.* (1997; 1998); Pinochet *et al.* (1998); Van den Bergh *et al.* (2000, 2002a); Vilas Boas *et al.* (2002); Guedira *et al.* (2004) e Pinto *et al.* (2005).

O presente trabalho tem como objetivo a avaliação da resistência de genótipos provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical a três espécies do nematóide formador de galhas (*Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção, caracterização e manutenção do inóculo

Três espécies de *Meloidogyne* (*M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*) foram utilizadas a partir de populações obtidas de bananeiras por Costa (2004) e mantidas em tomateiros 'Santa Cruz – Kada' em uma coleção de trabalho na Estação Experimental do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

Visando certificar a pureza do inóculo, as três espécies foram inoculadas em mudas de tomateiro, permanecendo nestas, durante 45 dias, para obtenção de fêmeas em estágio de desenvolvimento ideal para a identificação de espécies pela preparação de configurações perineais (Hartman & Sasser, 1985). Devido à possibilidade de variação da morfologia da região perineal de fêmeas de *Meloidogyne* spp. (Hartman & Sasser, 1985), esta identificação foi confirmada pela técnica de eletroforese de proteínas, segundo a metodologia usada por Carneiro & Almeida (2001), adaptada a partir da metodologia de Esbenshade & Triantaphyllou (1990).

Para facilitar a observação das massas de ovos e, conseqüentemente, das fêmeas encontradas nas raízes, aquelas foram coradas utilizando fucsina ácida (método modificado de Silva *et al.*, 1988). As raízes foram lavadas em água corrente e mergulhadas em solução contendo fucsina ácida (3,5 g de fucsina ácida, 250 ml de ácido acético glacial e 750 ml de água destilada) por cinco minutos. Após esse período, as raízes foram levemente enxaguadas para retirada do excesso do corante. As massas de ovos ficaram coloridas de vermelho, de fácil visualização (Silva *et al.*, 1988).

Como permaneceram por muito tempo em tomateiro, as populações foram transferidas para mudas de bananeira 'Grande Naine' onde permaneceram durante o período de 90 dias, para que as mesmas pudessem recuperar a patogenicidade à bananeira e para a produção de inóculo para a realização do experimento.

## 2.2. Material vegetal

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, em condições de casa de vegetação, no período de Maio a Novembro de 2006.

Os genótipos de bananeiras avaliados (Tabela 1) foram obtidos a partir do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, onde foram multiplicados por micropropagação em Laboratório de Biotecnologia. As plântulas foram transplantadas para vasos de 1,5 l, contendo mistura autoclavada de latossolo vermelho e areia, na proporção de 3:1.

Transcorridos 15 dias após o transplântio, as mudas foram submetidas à adubação de cobertura, com 8,3 g de NPK (4:14:8) por vaso, sendo então aclimatadas em casa de vegetação pelo período de 30 dias.

Conforme mostra a Tabela 1, cada genótipo foi identificado por um código numérico de seis números, sendo os dois primeiros correspondentes ao genitor feminino, os dois seguintes ao masculino e os dois últimos, separados por hífen, correspondentes ao número da seleção efetuada após o cruzamento. A Tabela 2 apresenta os genitores dos diplóides avaliados no trabalho.

**Tabela 1.** Lista dos genótipos de bananeiras provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, avaliados neste estudo e respectivos grupos genômicos e parentais

| <b>Genótipos</b> | <b>Grupo Genômico</b> | <b>Parentais</b>               |
|------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 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/ N°2                   |
| 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               |
| Caipira          | AAA (C)               | selvagem                       |
| Jaran            | AA (C)                | selvagem                       |
| Ra Rayong        | AA (DS)               | selvagem                       |
| Thap Maeo        | AAB (C)               | selvagem                       |
| N 118            | AA (DS)               | selvagem                       |
| Tjau Lagada      | AA (C)                | selvagem                       |
| Pisang Nangka    | AA (DS)               | selvagem                       |
| Calcutta         | AA (DS)               | selvagem                       |
| Borneu           | AA (DS)               | selvagem                       |
| Vitoria          | AAAB (C)              | Pacovan (AAB) x M53            |
| Birmanie         | AA (DS)               | selvagem                       |
| Pipit            | AA (C)                | selvagem                       |
| Grand Naine      | AAA (C)               | nativa                         |

(C) Cultivares, (H) Híbridos, (DS) Diplóide Simples

**Tabela 2.** Genitores dos genótipos diplóides avaliados no trabalho e respectivos grupos genômicos

| <b>Nº</b> | <b>Genitor</b>          | <b>Grupo genômico</b> |
|-----------|-------------------------|-----------------------|
| 04        | Madang (= ssp. banksii) | DS                    |
| 13        | Malaccensis (FHIA)      | DS                    |
| 18        | Sinwobogi               | C                     |
| 19        | Tjau Lagada             | C                     |
| 23        | Cultivar sem nome (2)   | C                     |
| 37        | Galeo                   | C                     |
| 42        | M 53                    | H                     |
| 52        | Kumburg                 | C                     |
| 54        | 0104-01                 | H                     |
| 79        | 2803-01                 | H                     |
| 85        | 1503-01                 | H                     |
| 86        | 0337-02                 | H                     |
| 94        | SH3263 (híbrido FHIA)   | H                     |

### **2.3. Extração e contagem de nematóides**

Os juvenis e ovos foram extraídos das raízes pela metodologia de Hussey & Barker (1973), modificada por Bonetti & Ferraz (1981). As raízes de bananeira “Grande Naine” com galhas e massas de ovos foram lavadas cuidadosamente para retirar o solo aderido.

As raízes foram, então, picadas em pedaços de aproximadamente 2 cm de comprimento e trituradas em liquidificador por 15 segundos em velocidade máxima. Para que os ovos fossem liberados da massa de ovos, foi adicionada solução de hipoclorito de sódio a 0,5% nas raízes, até cobri-las.

A suspensão resultante foi recolhida e passada em peneira de 140 Mesh, sendo que os ovos foram recolhidos em peneira de 500 mesh, lavando o excesso de hipoclorito de sódio sob água de torneira.

Como a suspensão obtida se apresentou muito suja, foi ainda submetida a um processo de clarificação, utilizando a metodologia de Coolen & D’Herde (1972) modificada.

A suspensão foi então submetida à contagem de ovos e juvenis sob microscópio estereoscópio. Foram feitas três contagens e calculada a média presente em um mililitro. Esse valor foi multiplicado pelo volume total, determinando o número disponível de ovos e juvenis para inoculação.

## 2.4. Inoculação

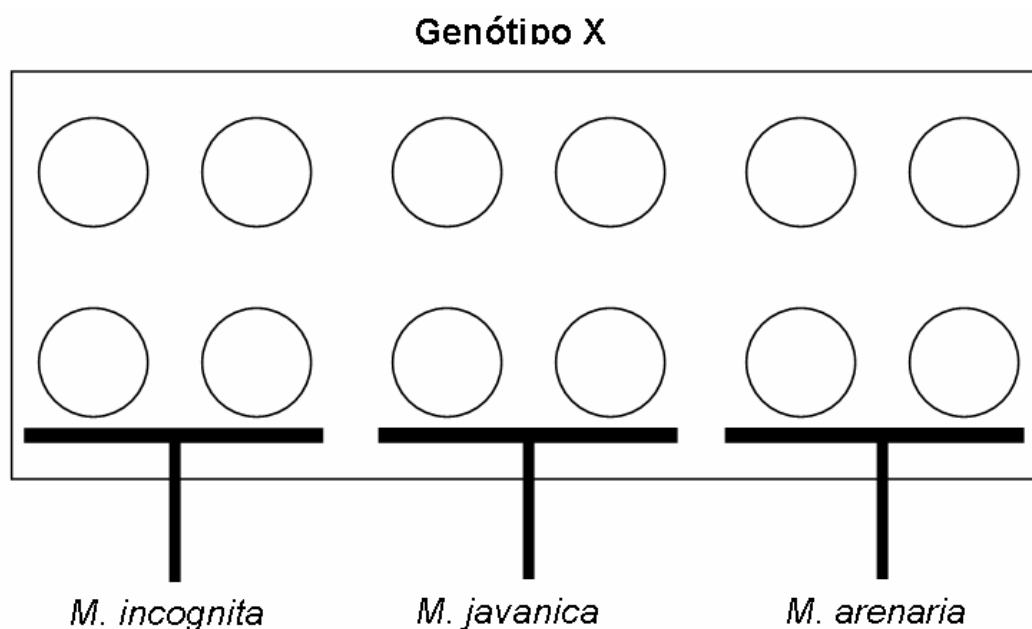
Após a contagem e calibração, foram inoculados 2.500 ovos e juvenis de cada uma das três espécies em cada vaso contendo uma muda de bananeira. O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado, sendo que quatro vasos de cada genótipo foram inoculados com cada espécie do nematóide, totalizando-se quatro repetições. Dessa forma, 12 plantas de cada genótipo foram inoculadas com as três espécies do nematóide (Figura 2). A cultivar 'Grand Naine' foi incluída com o intuito de servir como padrão de suscetibilidade, em caso de um entre os genótipos testados não mostrar-se mais suscetível que esta cultivar.

## 2.5. Avaliação

Após 180 dias, as populações do nematóide foram extraídas das raízes segundo a técnica de Hussey & Barker (1973) e do solo, pela metodologia de flutuação, peneiramento (Flegg & Hooper, 1970) e centrifugação (Jenkins, 1964); sendo submetidas à contagem. O Fator de Reprodução do nematóide (FR) foi estabelecido para cada repetição [ $FR = Pf/Pi$ , sendo Pf = População final e Pi = População inicial] (Seinhorst, 1967).

O genótipo que apresentou o mais alto índice de reprodução do nematóide foi tomado como o padrão de suscetibilidade para cada espécie do nematóide. Logo após, comparou-se, sucessivamente, o índice de reprodução do padrão com os dos demais genótipos, calculando-se o percentual de redução de cada um.

As plantas foram classificadas quanto ao nível de resistência segundo Sasser *et al.* (1987) modificado por Moura & Régis (1987), analisando a percentagem de inibição da reprodução (Tabela 3). Visando melhor interpretação dos resultados obtidos, foram avaliados peso de raiz, número de nematóides por grama de raiz, número total de nematóides na raiz, número de nematóides no solo e número total de nematóides na raiz e no solo.



**Figura 2.** Esquema de inoculação de cada um dos genótipos, representando as quatro repetições e as três espécies de *Meloidogyne*.

**Tabela 3.** Classificação da resistência de bananeira segundo o percentual de inibição da reprodução de *Meloidogyne* spp. (Moura & Régis, 1987).

| (%) de inibição | Nível de resistência       | Designação |
|-----------------|----------------------------|------------|
| 0 – 25          | Altamente Suscetível       | AS         |
| 26 – 50         | Suscetível                 | S          |
| 51 – 75         | Pouco Resistente           | PR         |
| 76 – 95         | Moderadamente Resistente   | MR         |
| 96 – 99         | Resistente                 | R          |
| 100             | Altamente Resistente/Imune | AR / I     |

Os dados foram submetidos à análise estatística, sendo realizado o teste de homogeneidade de variâncias de acordo com Cochran & Cox (1957), com o objetivo de verificar a necessidade de transformação dos dados para realizar as análises de variância. Os dados originais foram então transformados em  $\log(x + 1)$  e as médias agrupadas pelo teste de Scott Knott, a 1% de probabilidade, com o auxílio do Programa Genes (Cruz, 2006).



### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Avaliação da resistência de genótipos de bananeira a *Meloidogyne incognita*.

Os genótipos apresentaram pesos de raízes (Tabela 4) variando de 16,52g ('Jaran') a 142,56g ('Borneo'). Os 23 genótipos foram separados em três grupos de acordo com o teste de Scott Knott a 1% de probabilidade.

Dentro do grupo com maior peso de raiz, os genótipos Borneo, Thap Maeo e 1304-04 tiveram os maiores valores de pesos de raiz. Desses, 'Borneo' e '1304-04' se mostraram suscetível e altamente suscetível a *M. incognita*, respectivamente, e 'Thap Maeo', moderadamente resistente. 'Jaran', 'Pisang Nangka' e 'Birmanie' tiveram os menores pesos de raiz, porém, todas se mostraram resistentes ao nematóide. Os genótipos resistentes apresentaram diferentes pesos de raiz, havendo representantes de todos os três grupos definidos pelo teste de Scott Knott.

O número de nematóides por grama de raiz variou de 10,85 ('Birmanie') a 232,65 ('8694-15'), sendo os genótipos separados em dois grupos pelo teste de Scott Knott a 1% de probabilidade. A cultivar Grande Naine apresentou o terceiro maior número de nematóides por grama de raiz (156,41).

A cultivar Borneo teve os maiores números de nematóides na raiz (20.669,07) e total na planta (35.110,32). Comportamento contrário foi observado em 'Jaran', que teve o menor número total de nematóides na planta (698,42) e no solo (277,50) e o terceiro menor número de nematóides na raiz (420,92). Esses genótipos foram classificados como suscetível e resistente, respectivamente.

Quanto ao número de nematóides na raiz, os genótipos foram divididos em dois grupos. Por outro lado, considerando o número de nematóides no solo e o número total de nematóides na planta, os genótipos foram separados em quatro grupos pelo teste de Scott Knott a 1% de probabilidade.

Os fatores de reprodução (FR) variaram entre 21,96 ('1304-04') e 0,28 ('Jaran'). O primeiro genótipo foi classificado como altamente suscetível e último, como resistente. Deste modo, o genótipo 1304-04 assumiu o padrão de suscetibilidade a *M. incognita* nesta avaliação.

Entre os genótipos avaliados, 60,87% foram classificados como pouco ou moderadamente resistentes, 21,74% como resistentes e 17,39%, como altamente suscetíveis ou suscetíveis.

'Borneo', '1304-06' e '4252-03' mostraram-se suscetíveis. A cultivar Grande Naine apresentou FR 4,22, sendo classificada como moderadamente resistente, juntamente com os genótipos 'Caipira', 'N118', '1318-01', 'Thap Maeo', 'Calcutta', 'Tjau' e '4223-06'.

Os genótipos '8694-15', 'Vitoria', 'PA Rayong', '4285-02', '1319-01' e 'Pipit' foram classificados como pouco resistentes. Já os genótipos '5854-03', 'Birmanie', '4279-06' e 'Pisang Nangka', assim como 'Jaran', foram classificados como resistentes.

**Tabela 4.** Reação de 23 genótipos de bananeira a *Meloidogyne incognita* após 180 dias da inoculação em casa de vegetação

| GENÓTIPOS     | Peso da raiz <sup>1</sup> (g) | Nematóides/g de raiz <sup>1</sup> | Nematóides na raiz <sup>1</sup> | Nematóides no solo <sup>1</sup> | Total de nematóides <sup>1</sup> | FR    | (%) de inibição | Reação |
|---------------|-------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------|-----------------|--------|
| 1304-04       | 128,50 a                      | 194,03 a                          | 25.863,09 a                     | 29.036,25 a                     | 54.899,34 a                      | 21,96 | 0,00            | AS     |
| Borneo        | 142,56 a                      | 171,15 a                          | 20.669,07 a                     | 14.441,25 a                     | 35.110,32 a                      | 14,04 | 36,05           | S      |
| 1304-06       | 103,50 a                      | 111,13 a                          | 11.494,35 a                     | 18.476,25 a                     | 29.970,60 a                      | 11,99 | 45,41           | S      |
| 4252-03       | 103,36 a                      | 107,64 a                          | 11.350,49 a                     | 17.043,75 a                     | 28.394,24 a                      | 11,36 | 48,28           | S      |
| 8694-15       | 72,77 a                       | 232,65 a                          | 17.013,56 a                     | 8.831,25 a                      | 25.844,81 a                      | 10,34 | 52,92           | PR     |
| Vitoria       | 94,64 a                       | 118,21 a                          | 11.344,47 a                     | 13.312,50 a                     | 24.656,97 a                      | 9,86  | 55,09           | PR     |
| Pa Rayong     | 95,06 a                       | 98,38 a                           | 9.095,87 a                      | 15.202,50 a                     | 24.298,37 a                      | 9,72  | 55,74           | PR     |
| 4285-02       | 84,83 a                       | 125,14 a                          | 10.683,64 a                     | 9.086,25 a                      | 19.769,89 a                      | 7,91  | 63,99           | PR     |
| 1319-01       | 76,20 a                       | 100,11 a                          | 6.215,40 a                      | 11.415,00 a                     | 17.630,40 b                      | 7,05  | 67,89           | PR     |
| Pipit         | 38,73 b                       | 157,35 a                          | 6.087,56 a                      | 8.081,25 b                      | 14.168,81 b                      | 5,67  | 74,19           | PR     |
| Caipira       | 89,41 a                       | 73,63 a                           | 6.632,57 a                      | 6.097,50 b                      | 12.730,07 b                      | 5,09  | 76,81           | MR     |
| N118          | 49,25 b                       | 84,75 a                           | 4.117,50 a                      | 6.948,75 b                      | 11.066,25 b                      | 4,43  | 79,84           | MR     |
| Grand Naine   | 31,87 b                       | 156,41 a                          | 5.777,05 a                      | 4.785,00 b                      | 10.562,05 b                      | 4,22  | 80,76           | MR     |
| 1318-01       | 102,65 a                      | 34,90 b                           | 2.970,60 b                      | 5.280,00 b                      | 8.250,60 c                       | 3,30  | 84,97           | MR     |
| Thap Maeo     | 124,05 a                      | 15,80 b                           | 1.996,00 b                      | 4.361,25 b                      | 6.357,25 c                       | 2,54  | 88,42           | MR     |
| Calcutá       | 51,36 b                       | 21,49 b                           | 1.231,36 b                      | 4.252,50 b                      | 5.483,86 c                       | 2,19  | 90,01           | MR     |
| Tjau Lagada   | 32,99 b                       | 14,39 b                           | 590,26 b                        | 2.988,75 c                      | 3.579,01 c                       | 1,43  | 93,48           | MR     |
| 4223-06       | 64,97 a                       | 15,43 b                           | 1.102,74 b                      | 2.295,00 c                      | 3.397,74 c                       | 1,36  | 93,81           | MR     |
| 5854-03       | 68,51 a                       | 18,75 b                           | 1.292,49 b                      | 847,50 c                        | 2.139,99 d                       | 0,86  | 96,10           | R      |
| Birmanie      | 31,09 c                       | 10,85 b                           | 388,06 b                        | 1.335,00 c                      | 1.723,06 d                       | 0,69  | 96,86           | R      |
| 4279-06       | 37,17 b                       | 22,75 b                           | 823,32 b                        | 847,50 c                        | 1.670,82 d                       | 0,67  | 96,96           | R      |
| Pisang Nangka | 21,99 c                       | 16,50 b                           | 338,29 b                        | 1.065,00 c                      | 1.403,29 d                       | 0,56  | 97,44           | R      |
| Jaran         | 16,52 c                       | 26,28 b                           | 420,92 b                        | 277,50 d                        | 698,42 d                         | 0,28  | 98,73           | R      |
| <b>CV%</b>    | 8,85                          | 19,75                             | 12,45                           | 7,46                            | 6,02                             |       |                 |        |
| <b>Fcal.</b>  | 11,29 **                      | 7,15 **                           | 8,75 **                         | 14,02 **                        | 20,59 **                         |       |                 |        |

<sup>1</sup> 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 ficaram agrupadas pelo teste de Scott Knott a 1% (\*\*). (AS) altamente suscetível; (S) suscetível; (PR) pouco resistente e (R) resistente; (Fcal.) valor de F calculado na análise estatística; (CV%) coeficiente de variação; (FR) fator de reprodução.

### 3.2. Avaliação da resistência de genótipos de bananeira a *Meloidogyne javanica*.

De acordo com a variável 'peso de raiz', os 20 genótipos inoculados com *M. javanica* foram separados em 3 grupos pelo teste de Scott Knott a 1% de probabilidade (Tabela 5). Dentro do grupo das maiores médias, os genótipos '1318-01' (133,50g) e 'Borneo' (130,18g) apresentaram médias de peso de raiz superiores a 100 g. 'Pisang Nangka' (13,59g) e Jaran (20,29) foram os que apresentaram as menores médias de peso de raiz..

Considerando a variável 'nematóides por grama de raiz', o teste de Scott Knott a 1% de probabilidade separou os genótipos em quatro grupos. As maiores médias foram observadas nos genótipos 'Borneo' (789,23) e '8694-15' (648). O oposto foi observado em 'Caipira' (13), 'Jaran' (13,79), 'Tjau Lagada' (21,06) e 4223-06 (28,71).

Pela variável "nematóides no solo" foi possível separar os genótipos em dois grupos, enquanto que pelas variáveis "nematóides na raiz" e "total de nematóides na planta" os genótipos foram divididos em quatro grupos pelo teste de Scott Knott a 1% de probabilidade. 'Jaran' teve as menores médias para as variáveis "nematóides na raiz" (311), "nematóides no solo" (1.125) e "total de nematóides na planta" (1.430,19). 'Borneo' e '8694-15' apresentaram as maiores médias para "nematóides na raiz" (104.482,11 e 63.915,91, respectivamente). Estes genótipos também apresentaram altas médias para a variável "total de nematóides na planta" (112.567,11 e 70.905,92, respectivamente).

Os valores calculados do fator de reprodução variaram entre 0,57 (Jaran) e 45,03 (Borneo); sendo que estes genótipos foram classificados respectivamente, como resistente e altamente suscetível. Deste modo, a cultivar Borneo passou a ser considerada padrão de suscetibilidade. A cultivar Grand Naine apresentou FR igual a 8,06. Os genótipos 'Borneo', '8694-15' e '1304-04' foram classificados respectivamente, como altamente suscetível, suscetível e pouco resistente. Os genótipos '1319-01', '1304-06', '1318-01', 'N118', 'Grande Naine', 'Vitoria', '4285-02', '4252-03', 'Birmanie', 'Thap Maeo' e '4279-06' comportaram-se como moderadamente resistentes e, 'Pipit', '4223-06', 'Caipira', 'Pisang Nangka', 'Tjau Lagada' e 'Jaran', como resistentes.

Sessenta por cento dos genótipos foram classificados como pouco ou moderadamente resistentes, 30% como resistentes e 10%, como altamente suscetíveis ou suscetíveis.

**Tabela 5.** Reação de 20 genótipos de bananeira a *Meloidogyne javanica* após 180 dias de inoculação em condições de casa de vegetação

| GENÓTIPOS     | Peso da raiz <sup>1</sup> (g) | Nematóides/g de raiz <sup>1</sup> | Nematóides na raiz <sup>1</sup> | Nematóides no solo <sup>1</sup> | Total de nematóides <sup>1</sup> | FR    | (%) de inibição | Reação |
|---------------|-------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------|-----------------|--------|
| Borneo        | 130,18 a                      | 789,23 a                          | 104.482,11 a                    | 8.085,00 a                      | 112.567,11 a                     | 45,03 | 0,01            | AS     |
| 8694-15       | 94,14 a                       | 648,00 a                          | 63.915,91 a                     | 6.990,00 a                      | 70.905,91 a                      | 28,36 | 37,01           | S      |
| 1304-04       | 80,64 a                       | 322,59 b                          | 25.155,22 b                     | 14.362,50 a                     | 39.517,72 a                      | 15,81 | 64,90           | PR     |
| 1319-01       | 82,90 a                       | 211,15 b                          | 16.781,22 b                     | 8.497,50 a                      | 25.278,72 b                      | 10,11 | 77,54           | MR     |
| 1304-06       | 72,76 a                       | 295,33 b                          | 14.538,22 b                     | 10.696,75 a                     | 25.234,97 b                      | 10,09 | 77,58           | MR     |
| 1318-01       | 133,50 a                      | 106,11 c                          | 14.821,04 b                     | 7.548,75 a                      | 22.369,79 b                      | 8,95  | 80,13           | MR     |
| N118          | 59,42 a                       | 238,13 b                          | 14.390,02 b                     | 7.822,50 a                      | 22.212,52 b                      | 8,89  | 80,27           | MR     |
| Grand Naine   | 29,26 b                       | 412,55 b                          | 15.307,39 b                     | 4.833,75 a                      | 20.141,14 b                      | 8,06  | 82,11           | MR     |
| Vitoria       | 90,30 a                       | 110,90 c                          | 10.041,25 b                     | 9.982,50 a                      | 20.023,75 b                      | 8,01  | 82,21           | MR     |
| 4285-02       | 51,16 a                       | 241,00 b                          | 12.154,51 b                     | 3.417,50 b                      | 15.572,01 b                      | 6,23  | 86,17           | MR     |
| 4252-03       | 43,27 b                       | 109,35 c                          | 5.555,91 c                      | 8.318,75 a                      | 13.874,66 b                      | 5,55  | 87,68           | MR     |
| Birmanie      | 51,83 a                       | 75,98 c                           | 3.906,50 c                      | 8.335,25 a                      | 12.241,75 b                      | 4,90  | 89,13           | MR     |
| Thap Maeo     | 95,54 a                       | 69,06 c                           | 6.358,98 b                      | 4.800,00 a                      | 11.158,98 b                      | 4,46  | 90,09           | MR     |
| 4279-06       | 32,17 b                       | 89,65 c                           | 2.331,37 c                      | 3.316,25 b                      | 5.647,62 c                       | 2,26  | 94,98           | MR     |
| Pipit         | 36,22 b                       | 56,91 c                           | 2.353,26 c                      | 1.983,75 b                      | 4.337,01 c                       | 1,73  | 96,15           | R      |
| 4223-06       | 68,67 a                       | 28,71 d                           | 2.011,37 c                      | 2.246,25 b                      | 4.257,62 c                       | 1,70  | 96,22           | R      |
| Caipira       | 79,14 a                       | 13,00 d                           | 1.064,33 d                      | 2.962,50 b                      | 4.026,83 c                       | 1,61  | 96,42           | R      |
| Pisang Nangka | 13,59 c                       | 61,16 c                           | 971,21 d                        | 1.641,50 b                      | 2.612,71 d                       | 1,05  | 97,68           | R      |
| Tjau Lagada   | 30,63 b                       | 21,06 d                           | 632,61 d                        | 1.365,00 b                      | 1.997,61 d                       | 0,80  | 98,23           | R      |
| Jaran         | 20,29 c                       | 13,79 d                           | 311,19 d                        | 1.125,00 b                      | 1.436,19 d                       | 0,57  | 98,72           | R      |
| <b>Cv %</b>   | 9,77                          | 14,7                              | 10,2                            | 8,05                            | 6,06                             |       |                 |        |
| <b>F cal.</b> | 10,32 **                      | 11,62 **                          | 12,89 **                        | 5,56 **                         | 17,94 **                         |       |                 |        |

<sup>1</sup> 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 ficaram agrupadas pelo teste de Scott Knott a 1% (\*\*). (AS) altamente suscetível; (S) suscetível; (PR) pouco resistente e (R) resistente; (Fcal.) valor de F calculado na análise estatística; (CV%) coeficiente de variação; (FR) fator de reprodução.

### 3.3. Avaliação da resistência de genótipos de bananeira a *Meloidogyne arenaria*

As médias de peso de raiz variaram de 24,09g (Birmanie) a 87,44g (1304-04); genótipos estes, classificados respectivamente como resistente e altamente suscetível. Pelo teste de Scott Knott a 1% de probabilidade, as médias de peso de raiz, permitiram a separação dos genótipos em dois grupos. 'Borneo' foi o genótipo com o segundo maior valor de média de peso de raiz (80,94g).

O genótipo '8694-15', classificado como suscetível, foi o que apresentou maior número de nematóides por grama de raiz (678,50); ficando no mesmo grupo com '1304-04' (533,34) e 'Grand Naine' (400,89). As menores médias dessa variável foram encontradas nos genótipos '4279-06' (8,83) e 'Birmanie' (22,29), os dois únicos genótipos classificados como resistentes a *M. arenaria*.

Pelo teste de Scott Knott a 1% de probabilidade, os genótipos foram separados em três grupos com base na variável "nematóides na raiz"; em dois grupos, com base na de "nematóides no solo" e em quatro grupos, com base na do "número total de nematóides na planta".

O genótipo '1304-04' teve os maiores valores de número de nematóides na raiz (46.714,90), no solo (13.875) e total na planta (60.589,90). O genótipo '8694-15' apresentou o segundo maior número de nematóides na raiz (40.706,78) e total na planta (44.685,53). Já o genótipo '4279-06' apresentou o menor número de nematóides na raiz (264,48) e o segundo menor número total de nematóides na planta (2.386,98). O menor número de nematóides na planta foi observado em 'Birmanie'.

Os valores do fator de reprodução variaram entre 0,82 (Birmanie) e 24,24 ('1304-04'). A cultivar Grand Naine apresentou valor de 5,91.

Entre os genótipos avaliados, 78,95% foram classificados como pouco ou moderadamente resistentes, 10,53% como resistentes e a mesma quantidade, como altamente suscetível ou suscetível. Apenas dois genótipos comportaram-se como resistentes, sendo '4279-06' e 'Birmanie'. Os demais genótipos classificados como moderadamente resistentes foram: 'Pipit', 'Borneo', 'Vitoria', 'Calcutá', 'Pisang Nangka', 'N 118', 'Thap Maeo', 'Tjau Lagada', '1319-0', '4285-02', '1304-06', '4252-03', e '4223-06'.

**Tabela 6.** Reação de 19 genótipos de bananeira a *Meloidogyne arenaria* após 180 dias de inoculação em condições de casa de vegetação

| GENÓTIPOS     | Peso da raiz <sup>1</sup> (g) | Nematóides/g de raiz <sup>1</sup> | Nematóides na raiz <sup>1</sup> | Nematóides no solo <sup>1</sup> | Total de nematóides <sup>1</sup> | FR    | (%) de inibição | Reação |
|---------------|-------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------|-----------------|--------|
| 1304-04       | 87,44 a                       | 533,34 a                          | 46.714,90 a                     | 13.875,00 a                     | 60.589,90 a                      | 24,24 | 0,02            | AS     |
| 8694-15       | 61,56 a                       | 678,50 a                          | 40.706,78 a                     | 3.978,75 b                      | 44.685,53 a                      | 17,87 | 26,26           | S      |
| 1318-01       | 72,13 a                       | 139,01 b                          | 9.961,46 b                      | 11.790,00 a                     | 21.751,46 b                      | 8,70  | 64,11           | PR     |
| Grand Naine   | 26,65 b                       | 400,89 a                          | 9.967,28 b                      | 4.796,25 b                      | 14.763,53 b                      | 5,91  | 75,64           | PR     |
| Pipit         | 41,98 b                       | 222,85 b                          | 10.513,89 b                     | 3.000,00 b                      | 13.513,89 b                      | 5,41  | 77,70           | MR     |
| 1319-01       | 69,66 a                       | 124,66 b                          | 8.805,66 b                      | 2.850,00 b                      | 11.655,66 b                      | 4,66  | 80,77           | MR     |
| 4285-02       | 73,15 a                       | 91,58 c                           | 5.414,40 b                      | 6.202,50 a                      | 11.616,90 b                      | 4,65  | 80,83           | MR     |
| Borneo        | 80,94 a                       | 132,50 b                          | 10.461,36 b                     | 930,00 b                        | 11.391,36 b                      | 4,56  | 81,20           | MR     |
| 1304-06       | 58,87 a                       | 76,95 c                           | 5.921,65 b                      | 4.818,75 a                      | 10.740,40 b                      | 4,30  | 82,28           | MR     |
| Vitoria       | 68,31 a                       | 99,04 c                           | 6.672,47 b                      | 4.020,00 b                      | 10.692,47 b                      | 4,28  | 82,36           | MR     |
| 4252-03       | 69,94 a                       | 76,30 c                           | 4.911,57 b                      | 5.002,50 a                      | 9.914,07 b                       | 3,97  | 83,64           | MR     |
| Calcutta      | 47,69 a                       | 122,58 c                          | 5.972,46 b                      | 3.202,50 b                      | 9.174,96 b                       | 3,67  | 84,86           | MR     |
| N118          | 27,36 b                       | 201,75 b                          | 5.728,39 b                      | 3.052,50 b                      | 8.780,89 c                       | 3,51  | 85,51           | MR     |
| Pisang Nangka | 33,33 b                       | 132,49 b                          | 5.015,07 b                      | 2.898,75 b                      | 7.913,82 c                       | 3,17  | 86,94           | MR     |
| 4223-06       | 50,23 a                       | 83,38 c                           | 4.036,81 b                      | 2.520,00 b                      | 6.556,81 c                       | 2,62  | 89,18           | MR     |
| Thap Maeo     | 79,75 a                       | 46,28 c                           | 3.561,38 b                      | 2.325,00 b                      | 5.886,38 c                       | 2,35  | 90,29           | MR     |
| Tjau Lagada   | 25,27 b                       | 67,00 c                           | 1.532,09 c                      | 1.732,50 b                      | 3.264,59 d                       | 1,31  | 94,61           | MR     |
| 4279-06       | 28,40 b                       | 8,83 d                            | 264,48 c                        | 2.122,50 b                      | 2.386,98 d                       | 0,95  | 96,06           | R      |
| Birmanie      | 24,09 b                       | 22,29 d                           | 540,47 c                        | 1.500,00 b                      | 2.040,47 d                       | 0,82  | 96,63           | R      |
| <b>CV %</b>   | 9,92                          | 15,81                             | 10,13                           | 9,27                            | 7,3                              |       |                 |        |
| <b>F Cal</b>  | 5,8 **                        | 7,87 **                           | 8,7 **                          | 3,13 **                         | 6,33 **                          |       |                 |        |

<sup>1</sup> 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 ficaram agrupadas pelo teste de Scott Knott a 1% (\*\*). (AS) altamente suscetível; (S) suscetível; (PR) pouco resistente e (R) resistente; (Fcal.) valor de F calculado na análise estatística; (CV%) coeficiente de variação; (FR) fator de reprodução.



#### 4. DISCUSSÃO

A maioria dos genótipos de bananeira estudados se comportaram como pouco ou moderadamente resistentes a *M. incognita* (14 genótipos, 60,87%), *M. javanica* (12 genótipos, 60%) e a *M. arenaria* (15 genótipos, 78,95%). A prevalência deste tipo de reação sobre as demais está de acordo com Vilas Boas *et al.* (2002), que estudando 10 genótipos, observaram uma média de 80% de genótipos com comportamento classificado como pouco ou moderadamente resistente. Costa *et al.* (1998) também observaram comportamento de reação intermediária ou moderadamente resistente em 88,23% dos genótipos (15) em relação a *M. incognita*. Já Patel *et al.* (1996) encontraram alta e moderada suscetibilidade em genótipos de bananeira em relação a uma população mista de *M. incognita* e *M. javanica*, mas não encontraram nenhuma cultivar resistente ou moderadamente resistente. Moens *et al.* (2005) encontraram diferentes níveis de suscetibilidade, mas nenhuma fonte de resistência a *M. incognita*.

Pinto *et al.* (2005) observaram alta suscetibilidade a *M. incognita* no genótipo 'Caipira' e moderada suscetibilidade na cultivar 'Grand Naine'. Os mesmos genótipos foram classificados, respectivamente, como resistente e suscetível por Vilas Boas *et al.* (2002). No presente estudo, a cultivar 'Grand Naine' se comportou como moderadamente resistente a *M. incognita* e a *M. javanica* e pouco resistente a *M. arenaria*. Já 'Caipira' se comportou como moderadamente resistente a *M. incognita* e resistente a *M. javanica*. Os dados contrastam com o resultado encontrado por Cofecwicz *et al.* (2004b), onde Caipira foi caracterizada como boa hospedeira das duas espécies, com FR de 7,29 e 10,36 respectivamente. Este genótipo tem significativa importância para o programa de melhoramento da bananeira, pois é o único triplóide conhecido com fonte de resistência às duas espécies de nematóides endoparasitas migratórios (*P. goodeyi* e *R. similis*).

Para a espécie *M. incognita*, os diplóides 'Birmanie' e '4279-06' exibiram um grande número de nematóides no solo, quando comparado ao número de nematóides encontrados nas raízes. Em relação a *M. javanica*, os três diplóides que se mostraram mais resistentes ('Jaran', 'Tjau Lagada' e 'Pisang Nangka') tiveram o mesmo comportamento. O mesmo ocorreu em relação a *M. arenaria*, com os genótipos 'Pisang Nangka' e 'Birmanie'. Isto mostra que os genótipos avaliados como resistentes às três espécies, apesar de não possibilitarem boa multiplicação, podem permitir a sobrevivência do nematóide. Esta observação também foi feita por

Costa *et al.* (1998), em trabalho no qual o diplóide '1319-01' apresentou população de *M. incognita* no solo maior que a população da raiz. Vilas Boas *et al.* (2002) também observaram a manutenção da capacidade de multiplicação dos nematóides pela maioria dos clones estudados. Seguindo o mesmo raciocínio, foi possível notar o favorecimento da multiplicação das três espécies do nematóide, especialmente nos genótipos 'Borneo', '8694-15' e '1319-01'. Estes apresentaram médias de nematóides na raiz muito superiores às médias de nematóides no solo. O genótipo '1319-01' teve comportamento oposto em trabalho desenvolvido por Costa *et al.* (1998).

O diplóide 'Borneo' foi classificado como suscetível, altamente suscetível e moderadamente resistente a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, respectivamente, sugerindo a necessidade de um estudo buscando avaliar a sua tolerância a altas populações do nematóide em suas raízes.

Pinochet *et al.* (1998) não encontraram resistência a *M. incognita* em nenhuma das 15 cultivares estudadas, observando apenas diferentes graus de susceptibilidade. Uma das cultivares estudadas foi 'Yangambi Km 5', denominada no presente trabalho, 'Caipira'. Também Guedira *et al.* (2004) observaram alta sensibilidade a *M. incognita* em 'Grand Naine' e 'Caipira'.

No presente trabalho esta 'Caipira' foi caracterizada como resistente e moderadamente resistente a *M. javanica* e a *M. incognita*, respectivamente. O mesmo tipo de reação foi observado em estudo realizado por Vilas Boas *et al.* (2002). Aqui também, 'Grand Naine' teve classificação diferente da daquela obtida por Guedira *et al.* (2004), se comportando como moderadamente ou pouco resistente. As discrepâncias quanto ao tipo reação podem ser atribuídas às diferenças entre as populações de *M. incognita* utilizadas em cada experimento, bem como ao nível de inoculo e condições de temperatura, que são importantes fatores no desenvolvimento das galhas. Além disso, nos dois experimentos citados, a cultivar 'Grand Naine' foi utilizada como padrão de suscetibilidade para os cálculos do fator de reprodução. Neste trabalho observou-se genótipos que se mostraram mais suscetíveis que 'Grand Naine', como 'Borneo' para *M. javanica* e '1304-04' para *M. incognita* e *M. arenaria*, sendo estes tomados como respectivos padrões de suscetibilidade para estes nematóides.

Neste estudo, os genótipos '4279-06,' classificado como resistente a *M. arenaria* e a *M. incognita* e '4223-06', considerado resistente a *M. javanica*, têm como parental o genótipo M 53, proveniente do Equador, que tem sido utilizado

como fonte de resistência a patógenos, como as Sigatokas amarela e negra e o mal-do-Panamá (Silva *et al.*, 1998). Assim, esses dois genótipos podem ter herdado pelo menos parte de sua resistência de 'M 53'.

Os genótipos 1318-01; 1319-01; 1304-06 e Thap Maeo se comportaram em trabalho realizado por Costa *et al.* (1998) como sendo de resistência intermediária ou moderadamente resistentes. Destes, '1318-01' e 1319-01' se comportaram como pouco resistentes a *M. arenaria* e *M. incognita*, respectivamente. O genótipo '1304-06 se comportou como suscetível a *M. incognita* e todos os demais citados foram caracterizados como moderadamente resistentes às três espécies.

Em geral, quando se analisa a variável 'peso de raiz', os genótipos tiveram valores de média próximos ao comparar as três espécies, sendo que os menores valores de peso de raiz foram observados nos genótipos inoculados com *M. arenaria*. Já os menores valores dessa variável foram observados nos genótipos inoculados com *M. incognita*. Visualmente as raízes se encontravam mais prejudicadas por aquela espécie (dado não avaliado). Ainda em relação a esta variável, os genótipos 'Pipit', 'Grand Naine', '4223-06' e '4279-06' tiveram médias de pesos de raiz similares entre as três espécies. Apesar disso, seus comportamentos quanto à resistência foram diferentes, variando de pouca resistência a resistência.

Já para a variável 'nematóides/g de raiz', em geral as menores médias foram observadas em plantas inoculadas com *M. incognita*. Para as outras espécies os valores de média encontrados foram visivelmente maiores. O mesmo padrão foi observado para a variável 'nematóides na raiz'. *Meloidogyne arenaria* apresentou as menores médias de 'nematóides no solo' e o comportamento inverso foi observado por *M. incognita*. Pode-se dizer, comparando as duas espécies, que os genótipos favoreceram a sobrevivência da última e a reprodução da primeira. Os mesmos genótipos que se comportaram de forma semelhante quanto ao peso de raiz (8694-15, 1319-01, 4223-06, 4279-06, Vitoria, Pipit, Caipira, Grand Naine, Tjau Lagada, Birmanie, Pisang e Jaran) apresentaram médias discrepantes para as demais variáveis, com grande diferença entre seus valores. Isso ressalta a importância de um estudo de tolerância às três espécies dos genótipos avaliados, já que diferentes densidades populacionais aparentemente influenciaram de forma semelhante o peso da raiz.

Apesar de apresentar valores de peso de raiz aproximados, o genótipo Calcutta apresentou grande diferença no número de nematóides por grama de raiz quando inoculada com *M. incognita* e *M. arenaria*. Mesmo assim o genótipo se

comportou como moderadamente resistente às duas espécies. Isso se deve à repetição deste comportamento pelo genótipo '1304-04', altamente suscetível a ambas espécies e tomado por padrão de suscetibilidade para determinação da reação de resistência.

Um padrão que se destaca é aquele observado nos genótipos '1304-04', '1304-06', '4252-03' e 'Borneo'. Estes genótipos receberam classificação de suscetível e altamente suscetível quando suas raízes apresentavam os maiores valores e, de pouco e moderadamente resistente quando suas raízes apresentavam os menores valores. Isso é facilmente visualizado nos genótipos '1304-06' e '4252-03', que tiveram maiores pesos de raiz e maior número total de nematóides quando inoculados com *M. incognita*. O contrário se observa em 'Borneo' e '1304-06', que tiveram os menores valores de peso de raiz e número total de nematóides quando inoculados com *M. arenaria*. Isso pode ser explicado pela maior oferta de alimento (quantidade de raiz) fornecida pelas plantas aos nematóides.

A classificação dos genótipos para resistência a *M. javanica* e *M. incognita* têm em comum a classificação de 'Jaran' e 'Pisang Nangka' como resistentes. 'Borneo' mostrou-se suscetível às duas espécies, mas em diferentes graus. Já '1304-04', que se mostrou altamente suscetível a *M. incognita*, foi pouco resistente a *M. javanica*. Este genótipo apresentou para *M. arenaria*, o mesmo comportamento que apresentou para *M. incognita*. Já o genótipo '8694-15' foi classificado como suscetível a *M. arenaria*, assim como foi suscetível a *M. javanica*.

Observou-se, portanto, que houve resposta diferencial das plantas de bananeira em relação aos efeitos das diferentes espécies de *Meloidogyne*. O mesmo já foi observado por Cofcewicz *et al.* (2004b). Como no Brasil ocorrem populações misturadas de *Meloidogyne* (Cofcewicz *et al.*, 2004a) e existe resposta diferencial das plantas às diferentes espécies, é importante que os diplóides utilizados em programas de melhoramento tenham resistência a mais de uma espécie do nematóide.

O genótipo 'Caipira' vem sendo descrito como resistente a *R. similis* (Fogain & Gowen, 1998) e se comportou da mesma forma em relação a *M. javanica*. No entanto, o mesmo genótipo já foi classificado como pouco resistente a *R. similis* (Santos, comunicação pessoal) e, neste trabalho, mostrou-se moderadamente resistente a *M. incognita*. A utilização deste genótipo como fonte de resistência a nematóides deve ser melhor estudada.

Para futuros trabalhos de melhoramento visando resistência a nematóides, o genótipo '4279-06' merece atenção, devido a resistência observada a duas espécies de *Meloidogyne* (*M. incognita* e *M. arenaria*) e ao nematóide cavernícola, *R. similis* (Santos, comunicação pessoal). Além deste genótipo, Jaran, Birmanie e Pisang se mostraram resistentes a duas das três espécies estudadas, revelando seu valor como fonte de resistência múltipla em programas de melhoramento. Já foi observada reação de pouca resistência a *R. similis* nos mesmos genótipos (Santos, comunicação pessoal). O genótipo '4223-06', apesar de mostrar-se resistente a apenas uma das espécies (*M. javanica*) merece atenção por ter um parental em comum com '4279-06', sendo que já foi classificada como pouco resistente a *R. similis* (Santos, comunicação pessoal).

'Borneo' já foi classificada como altamente suscetível a *R. similis* (Santos, comunicação pessoal) e, neste trabalho, foi suscetível e altamente suscetível a *M. incognita* e *M. javanica*, mostrando não ser uma boa alternativa para inserção de resistência a nematóides em bananeira.

## 5. CONCLUSÕES

1. Entre os genótipos de bananeira estudados existem fontes promissoras de resistência ao nematóide das galhas.
2. Existe resposta diferencial dos genótipos estudados em relação às três espécies de *Meloidogyne* (*M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*).
3. Se mostraram como fonte de resistência a duas das três espécies estudadas, os seguintes genótipos: Birmanie , 4279-06 (*M. incognita* e *M. arenaria*), Pisang Nangka e Jaran (*M. incognita* e *M. javanica*).
4. Os genótipos 4223-06 e Tjau Lagada se comportaram como resistentes a *M. javanica* e moderadamente resistentes a *M. incognita* e *M. arenaria*.

# CAPÍTULO 2

---

---

VARIABILIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE DE GALHAS COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES RAPD.

## **Variabilidade genética de genótipos de bananeira com diferentes níveis de resistência ao nematóide de galhas com base em marcadores moleculares 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. Nos últimos anos, técnicas que possibilitam fazer-se a caracterização diretamente em nível de DNA têm permitido identificar a variabilidade e avaliar a diversidade disponível em bancos de germoplasma. A técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tem-se mostrado eficiente na identificação da variabilidade genética em diversos grupos de plantas. O objetivo deste estudo foi analisar a diversidade genética de 23 genótipos de banana do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, com diferentes níveis de resistência ao nematóide de galhas com base em marcadores RAPD. O DNA genômico foi extraído de todos os genótipos e então 13 primers decâmeros foram utilizados para obter marcadores RAPD. Estes marcadores foram convertidos em uma matriz de dados binários para estimar a distância genética entre os genótipos. As distâncias genéticas foram utilizadas para as análises de agrupamento e de dispersão gráfica. Entre os 224 marcadores resultantes, 215 (95,98%) foram polimórficos e apenas 9 (4,02%) foram monomórficos. A maior distância genética foi observada entre os genótipos Caipira e 1319-01 (0,78) e a menor foi observada entre 1319-01 e 1318-01 (0,26). A distância genética entre os genótipos mostrou o alto grau de variabilidade genética da coleção de trabalho estudada. A análise de agrupamento separou o grupo de cultivares do grupo dos diplóides, com algumas exceções. A alta variabilidade genética observada neste trabalho confirma a importância dos diplóides em programas de melhoramento da banana.

**Palavras-chave:** diploide, marcador molecular, *Musa*, RAPD, resistência, variabilidade genética



**Genetic variability among banana genotypes with different levels of resistance to the root-knot nematode based on RAPD molecular markers.**

**ABSTRACT**

The requirements for research programs aiming to obtain new cultivars are to build up, to characterize and to evaluate germplasm collections. In the last years, techniques that allow to characterize directly at DNA level have favored to identify the variability and to evaluate the diversity available in germplasm banks. RAPD technique (Random Amplified Polymorphic DNA) has shown to be efficient to identify the genetic variability in groups of plants. The objective of this study was to analyze the genetic variability of 23 banana genotypes from the germoplasm collection of Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, with different levels of resistance to the root-knot nematode, based on RAPD markers. Genomic DNA was extracted from all the genotypes, then 13 decameric primers were used to obtain RAPD markers. These markers were converted into a binary data matrix to estimate genetic distance between genotypes, and further evaluated by cluster and graphic dispersion analyses. Among 224 resultant markers, 215 (95,98%) were polymorphic, and only 9 (4,02%) were monomorphic. The genetic distance between the genotypes ranged from 0,26 (between 1319-01 and 1318-01) to 0,78 (between Caipira and 1319-01). The genetic distances between the genotypes testify the high level of genetic variability among the genotypes from the working collection studied. With a few exception, cluster analysis split the genotypes in two groups, one comprising the cultivars, and the other one with the diploid ones. The rich genetic variability found in this work confirms the importance of improved diploids to banana breeding programs.

**Key words:** diploid, genetic variability, molecular marker, *Musa*, RAPD, resistance.

## 1. INTRODUÇÃO

A banana (*Musa ssp.*) é a base alimentar de milhões de pessoas nas regiões tropicais (Onguso *et al.*, 2004), sendo cultivada em mais de 100 países, com produção anual superior a 64 milhões de toneladas (Gomes *et al.*, 2005).

A cultura se originou do sudeste da Ásia, sendo então disseminada pelo mundo. Já em 1915, a Europa importava mais de 100.000 toneladas de banana da Jamaica. Até então, a principal variedade cultivada era a “Gros Michel”. No entanto, a partir de 1940 o Mal do Panamá dizimou as plantações e essa variedade desapareceu gradualmente. Já em 1960, a ‘Gros Michel’ passou a ser substituída por variedades do grupo Cavendish, que são resistentes a algumas doenças (Inibap, 2006), como o Mal do Panamá (Blacke, 1972; López, 1976; Tarté *et al.*, 1981), mas suscetível a outros patógenos importantes.

O interesse pelo melhoramento genético de banana, começou a partir de 1922, sendo que, em 1976, iniciou-se a coleta de germoplasma visando estabelecer um sistema de hibridação para melhoramento da cultura (Dantas *et al.*, 1997). A principal coleção de germoplasma de banana (Banco Ativo de Germoplasma – BAG) no Brasil está instalada no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMT) da Embrapa, tendo sido enriquecida e ampliada mediante coletas em âmbito nacional e internacional. Esse BAG conta com espécies e subespécies silvestres, variedades, cultivares e híbridos que são mantidos sob condições de campo. O pré-requisito básico dos programas de pesquisa objetivando produzir novas cultivares tem sido a formação, caracterização e avaliação de amplas coleções de germoplasma.

Tradicionalmente, a caracterização e classificação de bananas tem sido feita pelo uso de descritores morfológicos (Stover & Simmonds, 1962). Este método envolve a comparação de material genético com base em fenótipos visíveis, como cor do fruto, ou em características mensuráveis, como peso do cacho. Apesar dessas características fenotípicas clássicas continuarem sendo de grande utilidade, a eficiência da identificação pode ser reduzida pela idade, estágio de desenvolvimento ou efeitos ambientais (Bhat *et al.*, 1995).

Nos últimos dez anos, técnicas que possibilitam fazer-se distinção diretamente em nível de DNA têm permitido que se identifique a variabilidade genética dentro do estoque gênico de espécies cultivadas e avaliar a diversidade disponível em bancos de germoplasma.

A técnica que se baseia na detecção de polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD), usando-se oligonucleotídeos decâmeros (dez bases), desenvolvida por Williams *et al.* (1990) e Welsh & Mc Clelland (1990) tem-se mostrado eficiente na identificação da variabilidade genética em diversos grupos de plantas, motivo pelo qual vem sendo usada como ferramenta auxiliar em programas de melhoramento. Esta técnica é também aplicada para obtenção de mapas genéticos (Carrel, 1999; Lagoda, 1999) e identificação de marcadores moleculares úteis na seleção (Milach, 1998).

As vantagens do uso da tecnologia de marcadores RAPD residem no fato de existir um número praticamente ilimitado desses marcadores, os quais não estão sujeitos a efeitos ambientais, apresentando, assim, vantagens em relação a outros marcadores, como os morfológicos; além de poderem ser determinados em qualquer tipo de tecido ou estágio de desenvolvimento da planta (Gomes *et al.*, 2005).

A caracterização molecular da diversidade genética pode fornecer dados úteis ao melhorista para a seleção de indivíduos em programas de melhoramento possibilitando cruzamentos de materiais divergentes, objetivando-se a maximização da distância genética com a finalidade de recombinar genes, ou complexos gênicos, reunindo-os em novas combinações gênicas favoráveis. Marcadores RAPD foram usados por Gawel & Jarret (1991); Bhat & Jarret (1995), Carneiro (1997) e Paz (2000), entre outros autores, com vistas a se detectar variabilidade genética entre grupos genômicos de *Musa* spp.

No presente trabalho objetivou-se utilizar marcadores moleculares RAPD obtidos por amplificação de DNA via PCR, com iniciadores (“primers”) decâmeros, para avaliar a variabilidade genética entre 23 genótipos de banana (*Musa* spp.) provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com diferentes níveis de resistência ao nematóide de galhas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material genético

O Trabalho foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados, sendo analisados 23 acessos de bananeira provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com diferentes níveis de resistência a três espécies de nematóide de galhas (Tabela 7).

**Tabela 7.** Genótipos de bananeira provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com diferentes níveis de resistência a três espécies de *Meloidogyne*

| Nº | Genótipo      | Grupo Genômico | Reação a <i>M. incognita</i> | Reação a <i>M. javanica</i> | Reação a <i>M. arenaria</i> |
|----|---------------|----------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1  | Tjau Lagada   | AA(C)          | MR                           | R                           | MR                          |
| 2  | Pipit         | AA(C)          | PR                           | R                           | MR                          |
| 3  | Calcutta      | AA(DS)         | MR                           | MR                          | MR                          |
| 4  | Thap Maeo     | AAB(C)         | MR                           | MR                          | MR                          |
| 5  | Jaran         | AA(C)          | R                            | R                           | MR                          |
| 6  | Birmanie      | AA(DS)         | R                            | MR                          | R                           |
| 7  | Pisang Nangka | AA(DS)         | R                            | R                           | MR                          |
| 8  | Vitoria       | AAAB(C)        | PR                           | MR                          | MR                          |
| 9  | Borneo        | AA(DS)         | S                            | AS                          | MR                          |
| 10 | G. Naine      | AAA(C)         | MR                           | MR                          | PS                          |
| 11 | Pa Rayong     | AA(DS)         | PR                           | MR                          | MR                          |
| 12 | Caipira       | AAA(C)         | MR                           | R                           | MR                          |
| 13 | 0337-02       | AA (H)         | -*                           | -                           | -                           |
| 14 | 1304-06       | AA(H)          | S                            | MR                          | MR                          |
| 15 | 5854-03       | AA(H)          | R                            | MR                          | MR                          |
| 16 | 4279-06       | AA(H)          | R                            | MR                          | R                           |
| 17 | 4285-02       | AA(H)          | PR                           | MR                          | MR                          |
| 18 | 1319-01       | AA(H)          | PR                           | MR                          | MR                          |
| 19 | 1318-01       | AA(H)          | MR                           | MR                          | PS                          |
| 20 | 4223-06       | AA(H)          | MR                           | R                           | MR                          |
| 21 | 8694-15       | AA(H)          | PR                           | S                           | S                           |
| 22 | 1304-04       | AA(H)          | AS                           | PR                          | AS                          |
| 23 | 4252-03       | AA(H)          | S                            | MR                          | MR                          |

\* - = Não avaliado

## 2.2 Extração de DNA

Amostras de DNA genômico de uma folha jovem de cada um dos 23 genótipos 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). Bandas de DNA genômico total separadas por eletroforese em gel de agarose 0,8% foram usadas como indicadoras 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 Marcadores RAPD

Foram utilizados um total de 13 *primers* pertencentes aos Kits OPE, OPF, OPG e OPH (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA). As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 μL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, 100 μM de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 μM de um iniciador (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. 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), utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997).

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 (SAS Institute, 1989) e Statistica (Statsoft Inc., 1999).

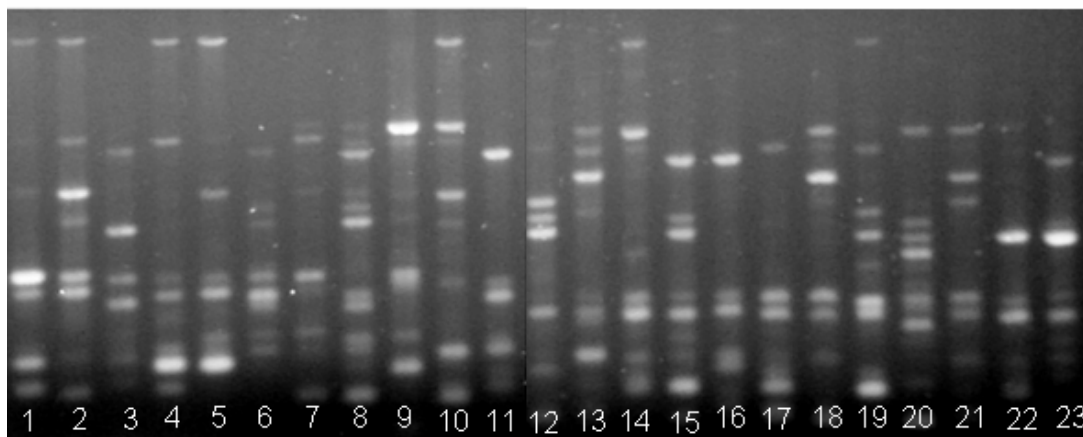
### 3. RESULTADOS

Os 13 iniciadores decâmeros (Tabela 8) geraram um total de 224 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 17,23 marcadores por iniciador. A Figura 3 ilustra o padrão de amplificação de amostras de DNA gerado pelo *primer* OPG 5.

Do total de 224 marcadores, 215 (95,98%) foram polimórficos e apenas 9 (4,02%) foram monomórficos. A alta média de marcadores polimórficos e a baixa percentagem de marcadores monomórficos evidenciam a alta variabilidade genética dos acessos analisados.

**Tabela 8.** “Primers” utilizados para obtenção dos marcadores RAPD e respectivos números de bandas polimórficas e monomórficas obtidas de 23 genótipos de bananeira

| “Primers” | Sequência 5' →<br>3' | Nº de bandas<br>polimórficas | Nº de bandas<br>monomórficas |
|-----------|----------------------|------------------------------|------------------------------|
| OPE-02    | GGTGCGGGAA           | 23                           | 0                            |
| OPE-09    | CTTCACCCGA           | 20                           | 1                            |
| OPE-11    | GAGTCTCAGG           | 16                           | 1                            |
| OPE-16    | GGTGA CTGTG          | 14                           | 0                            |
| OPF-08    | GGGATATCGG           | 14                           | 0                            |
| OPG-05    | CTGAGACGGA           | 19                           | 0                            |
| OPG-08    | TCACGTCCAC           | 13                           | 3                            |
| OPG-09    | CTGACGTCAC           | 20                           | 0                            |
| OPG-11    | TGCCCGTCGT           | 20                           | 0                            |
| OPG-12    | CAGCTCACGA           | 19                           | 0                            |
| OPG-17    | ACGACCGACA           | 7                            | 3                            |
| OPH-12    | ACGCGCATGT           | 17                           | 0                            |
| OPH-17    | CACTCTCCTC           | 13                           | 1                            |
|           | <b>Total</b>         | <b>215</b>                   | <b>9</b>                     |



**Figura 3.** Produto de amplificação de amostras de DNA genômico de 23 genótipos de bananeira obtidos com o uso do “primer” decâmero OPG-05. (1) Tjau Lagada, (2) Pipit, (3) Calcutta, (4) Thap Maeo, (5) Jaran, (6) Birmanie, (7) Pisang Nangka, (8) Vitoria, (9) Borneo, (10) Grand Naine, (11) Pa Rayong, (12) Caipira, (13) 1304-06, (14) 5854-03, (15) 4279-06, (16) 4285-02, (17) 1319-01, (18) 1318-01, (19) 4223-06, (20) 8694-15, (21) 1304-04, (22) 4252-03, (23) 0337-02.

As distâncias genéticas entre os acessos variaram entre 0,255 e 0,776 (Tabela 9). A menor distância genética foi obtida entre os genótipos 1318-01 e 1319-01 (0,255). A maior distância genética (0,776) foi observada entre a cultivar Caipira e o genótipo 1318-01.

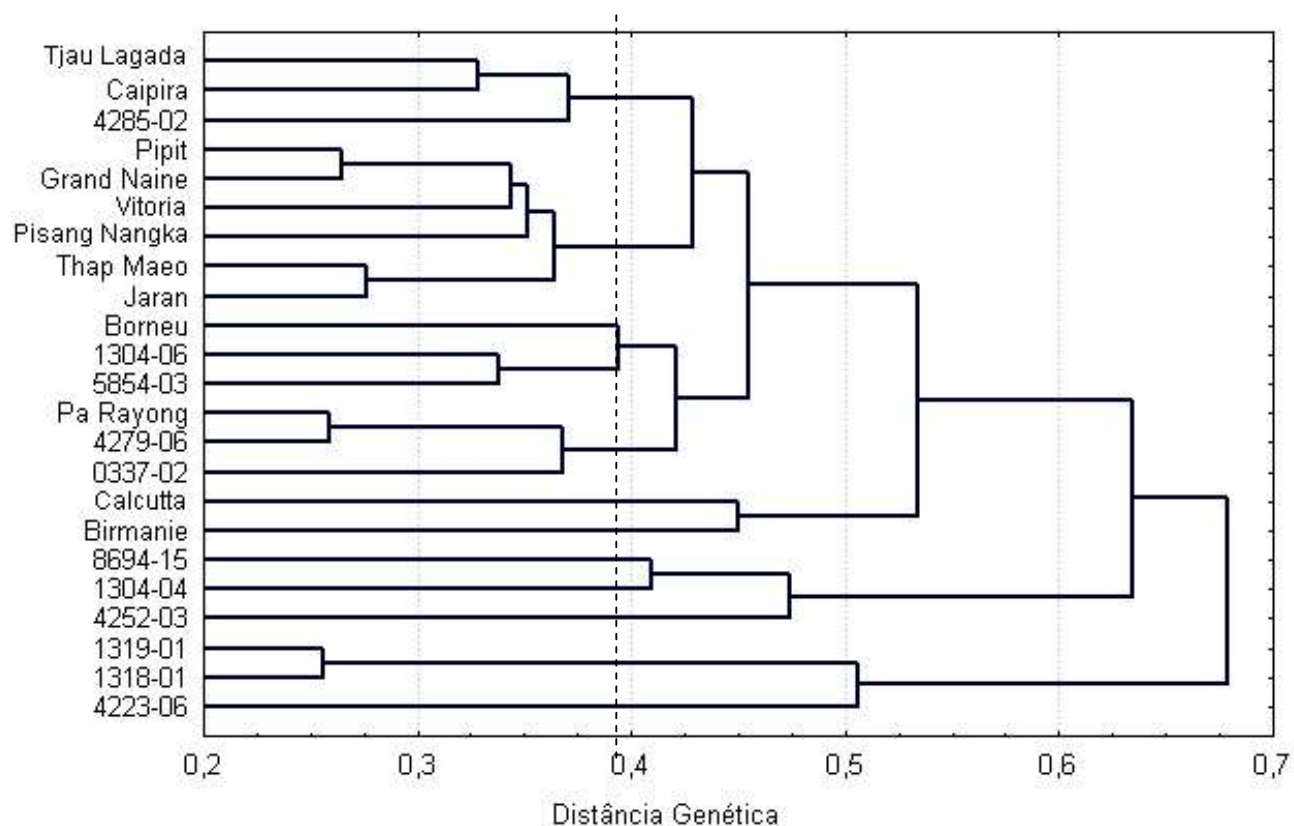
A análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas permitiu dividir os 23 acessos em pelo menos 11 grupos de similaridade genética a uma distância genética relativa de 0,4 (Figura 4). As distâncias entre os acessos e a distribuição dos mesmos nos grupos de similaridade também podem ser observadas no gráfico de dispersão (Figura 5).



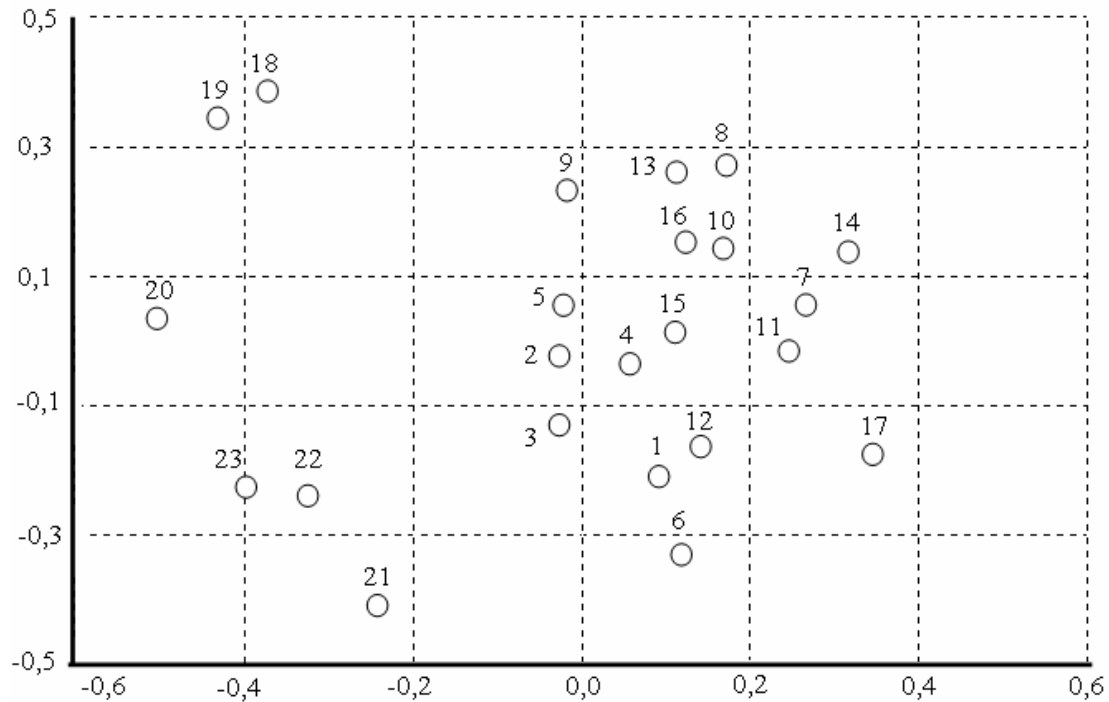
**Tabela 9.** Matriz de distâncias entre 23 acessos de bananeira provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, baseada em 224 marcadores RAPD

|    | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    | 14    | 15    | 16    | 17    | 18    | 19    | 20    | 21    | 22    | 23 |  |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|--|
| 1  | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 2  | 0,312 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 3  | 0,518 | 0,455 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 4  | 0,354 | 0,333 | 0,621 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 5  | 0,333 | 0,318 | 0,610 | 0,277 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 6  | 0,519 | 0,531 | 0,450 | 0,581 | 0,548 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 7  | 0,411 | 0,397 | 0,549 | 0,338 | 0,381 | 0,517 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 8  | 0,495 | 0,405 | 0,589 | 0,393 | 0,419 | 0,533 | 0,364 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 9  | 0,492 | 0,407 | 0,593 | 0,404 | 0,439 | 0,519 | 0,387 | 0,424 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 10 | 0,422 | 0,265 | 0,538 | 0,347 | 0,381 | 0,620 | 0,293 | 0,282 | 0,343 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 11 | 0,532 | 0,448 | 0,429 | 0,503 | 0,537 | 0,467 | 0,455 | 0,559 | 0,471 | 0,455 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 12 | 0,328 | 0,328 | 0,524 | 0,384 | 0,403 | 0,488 | 0,417 | 0,480 | 0,396 | 0,333 | 0,387 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 13 | 0,550 | 0,433 | 0,579 | 0,497 | 0,439 | 0,571 | 0,383 | 0,422 | 0,437 | 0,356 | 0,407 | 0,427 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 14 | 0,467 | 0,469 | 0,547 | 0,468 | 0,458 | 0,531 | 0,455 | 0,422 | 0,343 | 0,355 | 0,490 | 0,466 | 0,373 | -     |       |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 15 | 0,481 | 0,447 | 0,416 | 0,474 | 0,528 | 0,484 | 0,451 | 0,348 | 0,444 | 0,386 | 0,373 | 0,401 | 0,408 | 0,338 | -     |       |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 16 | 0,559 | 0,481 | 0,475 | 0,568 | 0,484 | 0,470 | 0,464 | 0,476 | 0,485 | 0,485 | 0,259 | 0,496 | 0,329 | 0,425 | 0,329 | -     |       |       |       |       |       |       |    |  |
| 17 | 0,346 | 0,528 | 0,647 | 0,524 | 0,487 | 0,545 | 0,512 | 0,543 | 0,528 | 0,450 | 0,492 | 0,395 | 0,443 | 0,419 | 0,431 | 0,504 | -     |       |       |       |       |       |    |  |
| 18 | 0,733 | 0,609 | 0,700 | 0,667 | 0,662 | 0,770 | 0,671 | 0,698 | 0,659 | 0,683 | 0,701 | 0,776 | 0,655 | 0,681 | 0,692 | 0,664 | 0,709 | -     |       |       |       |       |    |  |
| 19 | 0,679 | 0,640 | 0,699 | 0,667 | 0,648 | 0,730 | 0,693 | 0,701 | 0,629 | 0,664 | 0,738 | 0,683 | 0,678 | 0,701 | 0,714 | 0,732 | 0,721 | 0,255 | -     |       |       |       |    |  |
| 20 | 0,643 | 0,633 | 0,739 | 0,664 | 0,645 | 0,688 | 0,679 | 0,695 | 0,650 | 0,667 | 0,721 | 0,667 | 0,639 | 0,716 | 0,621 | 0,690 | 0,723 | 0,508 | 0,504 | -     |       |       |    |  |
| 21 | 0,561 | 0,571 | 0,616 | 0,532 | 0,597 | 0,658 | 0,603 | 0,705 | 0,600 | 0,603 | 0,684 | 0,618 | 0,660 | 0,648 | 0,622 | 0,685 | 0,667 | 0,750 | 0,725 | 0,546 | -     |       |    |  |
| 22 | 0,627 | 0,603 | 0,600 | 0,634 | 0,603 | 0,664 | 0,664 | 0,620 | 0,550 | 0,620 | 0,649 | 0,576 | 0,615 | 0,631 | 0,528 | 0,619 | 0,640 | 0,669 | 0,683 | 0,533 | 0,410 | -     |    |  |
| 23 | 0,596 | 0,625 | 0,731 | 0,610 | 0,632 | 0,604 | 0,678 | 0,688 | 0,655 | 0,736 | 0,717 | 0,583 | 0,630 | 0,724 | 0,672 | 0,709 | 0,667 | 0,676 | 0,664 | 0,531 | 0,492 | 0,456 | -  |  |

(1) Tjau Lagada, (2) Pipit, (3) Calcutta, (4) Thap Maeo, (5) Jaran, (6) Birmanie, (7) Pisang Nangka, (8) Vitoria, (9) Borneo, (10) Grand Naine, (11) Pa Rayong, (12) Caipira, (13) 1304-06, (14) 5854-03, (15) 4279-06, (16) 4285-02, (17) 1319-01, (18) 1318-01, (19) 4223-06, (20) 8694-15, (21) 1304-04, (22) 4252-03, (23) 0337-02.



**Figura 4.** Análise de agrupamento de 23 acessos de bananeira provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 224 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.



**Figura 5.** Dispersão gráfica de 23 acessos de bananeira provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 224 marcadores RAPD. (1) Tjau Lagada, (2) Pipit, (3) Calcutta, (4) Thap Maeo, (5) Jaran, (6) Birmanie, (7) Pisang Nangka, (8) Vitoria, (9) Borneo, (10) Grand Naine, (11) Pa Rayong, (12) Caipira, (13) 1304-06, (14) 5854-03, (15) 4279-06, (16) 4285-02, (17) 1319-01, (18) 1318-01, (19) 4223-06, (20) 8694-15, (21) 1304-04, (22) 4252-03, (23) 0337-02.

#### 4. DISCUSSÃO

O alto grau de polimorfismo detectado com os marcadores de RAPD está de acordo com os observados por Shepherd *et al* (1986), Gawel & Jarret (1991), Howell *et al.* (1994), Carneiro (1997) e Paz (2000).

A análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas permitiu dividir os acessos de forma que as cultivares apresentaram menor diversidade entre si, encontrando-se mais agrupadas em relação aos diplóides. Isso mostra o grande potencial desses diplóides na ampliação da base genética de cultivares, inserindo resistência a patógenos e a condições adversas de cultivo.

Jarret & Gawell (1995), usando a técnica de RAPD na caracterização de clones de plátanos e na avaliação da diversidade genética entre dois diplóides de *M. acuminata* concluíram que esta técnica pode disponibilizar informações sobre vários aspectos da diversidade genética em germoplasma de bananeira.

De acordo com a análise de agrupamento, os genótipos '1318-01' e '1319-01' ficaram próximos. Isso pode ter ocorrido pelo fato de terem o mesmo genitor feminino. Sabe-se que esse é responsável pela maior parte do material genético transferido em cruzamentos. Da mesma forma, 'Tjau Lagada', parental masculino de '1319-01', foi separado do último por uma distância genética de 0,346. Por ser parental masculino, sua contribuição no genoma de '1319-01' foi menor que a contribuição do parental feminino.

No entanto, os genótipos '4252-03', '4223-06', '4285-02' e '4279-06' ficaram distantes entre si, com o genótipo '4285-02' sendo encontrado entre as cultivares. Isso pode ter ocorrido, pois a técnica analisa todo o genoma da planta, que pode variar inclusive na progênie, separando plantas provenientes dos mesmos parentais em grupos bem distintos, como ocorreu com os diplóides '1304-04' e '1304-06'.

Apesar de terem pouca distância genética entre si, '1318-01' e '1319-01' ficaram bem distantes de '1304-06' e '1304-04', demonstrando a alta variabilidade resultante dos cruzamentos entre diplóides.

As cultivares 'Vitoria' (AAAB) e 'Thap Maeo' (AAB) ficaram próximas de acordo com a análise de agrupamento. Isso pode ter ocorrido pelo fato de as duas terem, em seu genoma, participação de *Musa balbisiana* (B). No mesmo grupo dessas, encontramos apenas cultivares, exceto por 'Pisang Nangka', um diplóide simples. Isso revela a menor variabilidade entre as cultivares estudadas.

A grande variabilidade genética observada neste trabalho condiz com experimento realizado utilizando os mesmos “primers”, dentre outros, que geraram marcadores capazes de separar um grupo de sete genótipos contrastantes quanto a resistência ao nematóide cavernícola, *R. similis* (Jansen, R. P. Santos, comunicação pessoal).

Os genótipos ‘Borneo’ e ‘1304-06’ ficaram no mesmo grupo pela análise de agrupamento. Provavelmente isso mostra a origem comum dos dois genótipos. Borneo (*Musa acuminata microcarpa*) é originária da Indonésia e 1304-06 tem como parental *M. acuminata banksii*, proveniente de Papua Nova Guiné. Pisang Nangka também tem sua origem na Indonésia, estando separada de Borneo pela distância genética de 0,387.

Considerando a importância de uma ampla base genética em programas de melhoramento e os diferentes níveis de resistência dos genótipos analisados quanto à resistência a três espécies do nematóide de galhas, o grande número de marcadores RAPD polimórficos entre os diferentes genótipos abre boas perspectivas para futuros trabalhos de mapeamento genético buscando correlacionar os marcadores encontrados e a resistência de genótipos contrastantes às três espécies de *Meloidogyne* estudadas. Tais estudos podem permitir o melhoramento assistido por marcadores moleculares, útil para a redução do tempo na seleção dos genótipos resistentes oriundos de cruzamentos entre os materiais de interesse e para viabilizar trabalhos de piramidação de diferentes genes visando a resistência múltipla.

## **5. CONCLUSÕES**

1. A variabilidade genética dos genótipos de bananeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical é ampla e tem grande potencial para o estudo visando fontes de resistência a pragas, patógenos e condições ambientais adversas.
2. A técnica de RAPD se mostrou eficiente na separação de material genético e para o estudo da relação entre genótipos de bananeira.
3. Em geral, as cultivares apresentaram-se mais agrupadas que os diplóides melhorados, mostrando o grande potencial dos diplóides na ampliação da base genética das cultivares para inserção de resistência a fatores bióticos e abióticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADIKO, A. & N'GUESSAN, A. B. Evolution of the nematofauna of plantain, *Musa* AAB, in Côte d'Ivoire. *Infomusa* 10: 26 - 27. 2001.
- ALMEIDA, A. & SANTOS, N. Resistance and host-response of selected plants to *Meloidogyne megadora*. *Journal of Nematology* 34: 140 – 142. 2002.
- 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.
- BHAT, K. V.; JARRET, R. L. & LIU, Z. W. RFLP characterization of Indian *Musa* germplasm for clonal identification and classification. *Euphytica* 80: 95 – 103. 1994.
- BHAT, K. V.; JARRET, R. L.; & RANA, R. S. DNA profiling of banana and plantain cultivars using random amplified polymorphic DNA (RAPD) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Electrophoresis* 16: 1736 – 1745. 1995.
- BIRD, A. F. Morphology and ultrastructure. p. 59 – 83. LAMBERTI, F. & TAYLOR, C. E. (eds.). *Root-knot nematodes (Meloidogyne species): Systematics, biology and control*. London: Academic Press. 1979.
- BLACKIE, C. D. Nematode diseases of banana plantations. In: WEBSTER, J. M. *Economic Nematology*, London, Academic Press, p. 245-267. 1972
- BONETTI, J. I. S. & FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 6: 553.1981.
- BRIDGE, J. Worldwide distribution of the major nematode parasites of banana and plantains. *Proceedings of a research coordination meeting on biological and integrated control of highland banana and plantain pests and diseases*. Cotonou, Benin, p. 185 – 198. 1991.
- BRIDGE, J.; FOGAIN, R. & SPEIJER, P. The root lesion nematodes of banana, *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) and *Pratylenchus goodeyi* Sher & Alen, 1953. Montpellier, France Inibap *Musa* Pest Fact Sheet. 4 p. 1997.
- CROUCH, J. H.; CROUCH, H. K.; CONSTANDT, H.; VAN GYSEL, A.; BREYNE, P.; VAN MONTAGU, M.; JARRET, R. L. & ORTIZ, R. Comparison of PCR-based molecular marker analyses of *Musa* breeding populations. *Molecular Breeding* 5: 233 – 244. 1999.

- CAETANO-ANOLLÉS, G.; BASSAM, B. J. & GRESSHOFF, P. M. High resolution DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Bio Technology* 9: 553 – 557. 1991.
- CARNEIRO, M. S. Aplicabilidade de marcadores “Random Amplified Polymorphic DNA” (RAPD) para monitoramento da variação somaclonal em bananeira do subgrupo Cavendish. Cruz das Almas: UFBA.61 p. Dissertação de Mestrado. 1997.
- CARNEIRO, R. M. D. G & ALMEIDA, M. R. A. Electrophoretic technique used in the study of root-knot nematode enzymes for species identification. *Nematologia Brasileira* 25: 35 – 44. 2001.
- CARREL, F. Genome mapping and genetic analysis of the black leaf streak resistance in bananas. *Infomusa* 8: 20 – 22. 1999.
- CHEESMAN E. E. Classification of the bananas. II. The genus *Musa* L. *Kew Bulletin* 2: 106-117. 1947.
- CHRISTIE, J. The development of root knot nematode galls. *Phytopathology* 26: 1 – 22. 1936.
- CLAUDIO, M. Z. & DAVIDE, R. G. Pathogenicity and identity of root-knot nematodes on five varieties of banana. *The Philippine Agriculturist* 51: 241 – 251. 1967.
- COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M. D. G.; CASTAGNONE-SERENO, P. & QUÉNEHERVÉ, P. Enzyme phenotupe and genetic diversity of root-knot nematodes parasitizing Musa in Brasil. *Nematology* 6: 85 – 95. 2004a.
- COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M. D. G.; CORDEIRO, C. M. T.; QUÉNEHERVÉ, P. & FARIA, J. L. C. Reação de cultivares de bananeira a diferentes espécies de nematóides das galhas. *Nematologia Brasileira* 28: 11 – 22. 2004b.
- COLLINGBORN, F. M. B. & GOWEN, R. Screening of banana cultivars for resistance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae*. *Infomusa* 6: 3. 1997.
- COOLEN, W. A. & D’HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. State Agriculture Research Center, Ghent. 77 p. 1972.
- CORDEIRO, Z. J. M. Doenças da bananeira. In: ZAMBOLIN, L & MONTEIRO, A, J. A. (Eds.): 3º Encontro de Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa. p. 145. 1999.



- CORDEIRO, Z. J. M. Sistema de produção de banana para o Estado do Pará. Disponível online: [www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br](http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br). Consultado em Janeiro de 2007. 2003.
- 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. Reação de genótipos de bananeiras (*Musa* spp.) a *Radopholus similis* e *Meloidogyne incognita*. Nematologia Brasileira 22: 49 – 57. 1998.
- COSTA, D. da C.; SILVA, de O. S.; ALVES, F. R. & SANTOS, A. do C. Avaliação de danos e perdas à bananeira cv. Nanica causadas por *Meloidogyne incognita* na região de Petrolina – PE. Nematologia Brasileira 21: 21. 1997.
- CROUCH, J. H.; CROUCH, H. K.; CONSTANDT, H.; VAN GYSEL, A.; BREYNE, P.; VAN MONTAGU, M.; JARRET, R. L. & ORTIZ, R. Comparison of PCR-based molecular marker analyses of *Musa* breeding populations. Molecular Breeding 5: 233 – 244. 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.
- DALMASSO, A. & BERGE, J. B. Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp.: Application to the taxonomy of *Meloidogyne*. Journal of Nematology 10: 323 – 332. 1978.
- DANIELLS, J.; JENNY, C.; KARAMURA, D. & TOMEKPE, K. Diversity in the genus *Musa*. Musalogue: a catalogue of *Musa* germplasm. International Improvement of Banana and Plantain. 2001.
- 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.

- DANTAS, J. L. L.; SHEPHERD, K. L.; SOARES FILHO, W. DOS S.; CORDEIRO, Z. J. M.; SILVA, S. de O.; SOUZA, A. da S. Citogenética e melhoramento genético da bananeira. (*Musa* spp.). Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMF. 61 p. 1993.
- DAVIDE, R. G. & MARASIGAN, L. Q. Yield loss assessment and evaluation of resistance of banana cultivars to the nematodes *Radopholus similis* and *Meloidogyne incognita*. In: DAVIDE, R. G. Studies on nematodes affecting bananas in the Philippines. Los Baños, Laguna: Philippine Agriculture and Resources Research Foundation 17 – 37; 79 – 93. 1992.
- DE WAELE, D. & DAVIDE, R. Nematodos noduladores de las raíces del banano, *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949 y *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. Plagas de *Musa*. Hoja divulgativa N. 3. 4p. 1998.
- DICKSON, D. W.; HUISINGH, D. & SASSER, J. N. Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases and esterases for chemotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera* and *Aphelenchus* spp. Journal of Nematology 3: 1 – 16. 1971.
- DOYLE, J. J. & DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13 – 15. 1990.
- EISENBACK, J. D. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: SASSER, J. N. & CARTER, C. C. (eds.). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Raleigh, North Carolina State University Graphics. V. 1, p. 95 – 112. 1985.
- ESBENSHADE, P. R. & TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. Journal of Nematology 22: 10 – 15. 1990.
- 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. (Comunicado técnico N° 92). 6 p. 2003.
- FARGETTE, M. Use of the esterase phenotype in the taxonomy of the genus *Meloidogyne*. 1. Stability of the esterase phenotype. Revue de Nématologie 10: 39 – 43. 1987.
- FIGUEROA, M. Dinámicas poblacionales de cuatro géneros de nematodos parásitos en plátano (*Musa* AAB, subgrupo plátano cv Currare). Asbana 14: 5 – 7. 1990.

- FLEGG, J. J. M. & HOOPER, D. J. Extraction of free-living stages from soil. In: J. F. SOUTHEY (ed). Laboratory Methods for work with plant and soil nematodes. London, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Technical bulletin 2: 5-22. 1970.
- FOGAIN, R. Nematodes and weevil of bananas and plantains in Cameroon: occurrence, importance and host susceptibility. International Journal of Pest Management. 1998.
- FRISON, E. A.; ORJEDA, G. & SHARROCK, S. L. 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.; JARRET, R. L. & WHITTEMORE, A. D. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) based on phylogenetic analysis of *Musa*. Theory of Applied Genetic 84: 286 – 290. 1992.
- 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.
- GOMES, J. T. Dispersion and level of root infestation by the “burrowing nematode *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.
- GOWEN, S. R. Pests. In: GOWEN, S. R. (ed.). p. 382 – 402. Chapman & Hall, London, 612 p. 1995.
- GOWEN, S. R. & QUÉNÉHÉRVÉ, 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.
- GUEDIRA, A.; RAMMAH, A.; TRIQUI, Z.; CHLYAH, H.; CLYAH, B & HAÏCOUR, R. Évaluation de la résistance à deux nematodes: *Radopholus similis* et *Meloidogyne* spp. chez quatre genotypes de bananiers au Maroc. C. R. Biologies 327: 745 – 751. 2004.
- GUZMÁN-PIEDRAHITA, O. A. & CASTAÑO-ZAPATA, J. Identification of plant parasitic nematodes of plantain ‘Dominico hartón’ (*Musa* AAB Simmonds), ‘Africa’, ‘FHIA-20’ and ‘FHIA-21’ in Colombia. In: Infomusa 11: 33 – 36. 2002.

- HARTMAN, K. M. & SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal patterns morphology. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C. & SASSER, J. N. (eds.). An advanced treatise on *Meloidogyne*: Raleigh, NCSU & USAID Coop. p. 69 – 77. 1985.
- HIRSCHMANN, H. The genus *Meloidogyne* and morphological characters differentiating its species. SASSER, J. N. & CARTER, C. G. (eds.). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. 1. Biology and Control. Raleigh, NC, USA. P. 79 – 93. 1985.
- HOWEL, E. C.; NEWBURY, H. J.; SWENNEN, R. L.; WITHERS, L. A. & FORT-LLOYD, B. V. The use of RAPD for identifying and classifying *Musa* germplasm. *Genome* 37: 328 – 332. 1994.
- HUANG, C. S. & MAGGENTI, A. R. Mitotic aberrations and nuclear changes of developing giant cells in *Vicia faba* caused by root knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Phytopathology* 59: 447 – 455. 1969.
- HUSSEY, R. S. & BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including a new technique. *Plant Disease Report* 57: 1025 – 1028. 1973.
- HUSSEY, R. S.; SASSER, J. N. & HUISING, D. Disc-electrophoretic studies of soluble proteins and enzymes of *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne arenaria*. *Journal of Nematology* 4: 183 – 189. 1972.
- Inibap. International Network for the Improvement of Banana and Plantain. Banana diversity. 2004a.
- Inibap. International Network for the Improvement of Banana and Plantain. Banana taxonomy. 2004b.
- Inibap. International Network for the Improvement of Banana and Plantain. Bananas. 2006.
- JARRET, R.L. & GAWEL, N. Molecular markers, genetic diversity and systematics in *Musa*. In: GOWEN, S. R. Bananas and plantains: London: Chapman & Hall, p.66-83. 1995.
- JARRET, R. L.; GAWEL, N.; WHITTEMORE, A. D. & SHARROCK, S. RFLP-based phylogeny of *Musa* species in Papua New Guinea. *Theory of Applied Genetic* 84: 579 – 584. 1992.
- JARRET, R. L.; VUYLSTEKE, D. R.; GAWEL, N. J.; PIMENTAL, R. B. & DUNBAR, L. J. Detecting genetic diversity in diploid banana using PCR and primers from a highly repetitive DNA sequence. *Euphytica* 62: 69 – 76. 1993.

- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48:692. 1964.
- JENNY, C.; CARREEL, F.; TOMEKPE, K.; PERRIER, X.; DUBOIS, C.; HORRY, J. P. & MONTCEL, H. T. Les bananiers. In: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement. Diversité Génétique des Plantes Tropicales, CIRAD, Montpellier. P. 113 – 129. 1999.
- JOHNSON, A. W.; BURTON, G. W.; SUMNER, D. R. & HANDOO, Z. Coastal bermudagrass rotation and fallow for management of nematodes and soilborne fungi on vegetable crops. *Journal of Nematology* 29: 710 – 716. 1997.
- JOHNSON, A. W. & CAMPBELL, G. M. Influence of cropping systems and a nematicide on *Meloidogyne* species in tomato transplant production. *Journal of Nematology* 9: 273 – 274. 1977.
- JONES, D. R. Diseases of Banana, Abacá and Enset. CABI Publishing. Wallingford, Oxon, UK. 544 p. 2000.
- KAEMMER, D.; AFRZA, R.; WEISING, K.; KHAL, G. & NOVAK, F. J. Oligonucleotide and amplification finger printing of wild species and cultivars of banana (*Musa* spp.). *Biotechnology Techniques* 10: 1030 – 1035. 1992.
- KOKALIS-BURELLE, N.; CHELLEMI, D. O. & PÉRIÈS, X. Effect of soils from six management systems on root-knot nematodes and plant growth in greenhouse assays. *Journal of Nematology* 37: 467 – 472. 2005.
- KRESOVICH, S.; SZEWC-MCFADDEN, A. K. & BLIEK, S. M. Abundance and characterization of simple – sequence repeats (SSRs) isolated from a size – fractionated genomic library of *Brassica napus* L. (Rapeseed). *Theory of Applied Genetic* 91: 206 – 211. 1995.
- LAGODA, P. Mapping and genomics. The study of the Musaceae: mapping and genomics. *Infomusa* 8: 6 – 8. 1999.
- LOPEZ, R. J. A. Los nematodos parasitos del cultivo del banano, su ecología y control. *Augura* 2: 4 – 16. 1976.
- LORDELLO, L. G. E. Nematóide das plantas cultivadas. São Paulo. Editora Nobel. 314 p. 1981.
- MCSORLEY, R. & DICKSON, D. W. Effects of tropical rotation crop on *Meloidogyne incognita* and other plant-parasitic nematodes. *Journal of Nematology* 27: 535 – 544. 1995.

- MILACH, S. C. K. Marcadores de DNA. Aplicações no melhoramento de plantas. Ed. Sandra Cristina Kothe Milach. Porto Alegre. 41 p. 1998.
- MOENS, T.; ARAYA, M.; SWEENEN, R. & DE WAELE, D. Screening of *Musa* cultivar for resistance to *Helicotylenchus multicinctus*, *Meloidogyne incognita*, *Pratylenchus coffeae* and *Radopholus similis*. Australasian Plant Pathology 34: 299 – 309. 2005.
- 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.
- 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.
- ONGUSO, J. M.; KAHANGI, E. M.; NDIRITU, D. W. & MIZUTANI, F. Genetic characterization of cultivated bananas and plantains in Kenya by RAPD markers. Scientia Horticulturae 99: 9 – 20. 2004.
- OOSTENBRINK, M. Major characteristics of relation between nematodes and plants. Mededelingen Van De landbouwhogeschool Te Wageningen 66: 1 – 46. 1966.
- ORTIZ, R. *Musa* genetics. In: GOWEN, S. (ed). Bananas and plantains. London: Chapman & Hall. p. 253 – 257. 1995.
- PATEL, B. A.; VYAS, R. V.; PATEL, D. J. & PATEL, R. S. Susceptibility of banana cultivars to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp). Infomusa 5: 26 – 27. 1996.
- PAZ, O. P. Caracterização de germoplasma de bananeira com RAPD. Cruz das Almas: UFBA. 67 p. Dissertação de Mestrado. 2000.
- PINOCHET, J. Occurrence and spatial distribution of root-knot nematodes on bananas and plantains in Honduras. Plant Disease Reporter 61: 518 – 520. 1977.
- PINOCHET, J. Comments on the difficulty in breeding bananas and plantains for resistance to nematodes. Revue de Nématologie 11: 3-5. 1988.
- PINOCHET, J.; JAIZME, M. D. C.; FERNANDEZ, C.; JAUMOT, M. & DE WAELE, D. Screening bananas for root-knot (*Meloidogyne* spp.) and lesion nematode (*Pratylenchus goodeyi*) resistance for the Canary Islands. Fundamental and Applied Nematology 21: 17 – 23. 1998.

- PINTO, A. C. B. V.; BORZUK, V.; SOUSA, A. I. M.; TENENTE, R. C. V.; NETO, S. P. S. & CARRIJO, O. A. Reação de clones de bananeira a *Meloidogyne incognita*. XXV Congresso Brasileiro de Nematologia, São Paulo. 2005.
- PIZZOL, S. J. S. & ELEUTÉRIO, R. C. Participação do Brasil no mercado externo de bananas. Preços Agrícolas, USP/ESALQ e CEPEA, nº 162, p. 41. 2000.
- PLOETZ, R. C. Diseases and pests: A review of their importance and management. Infomusa 13: 11 – 16. 2004.
- PLOETZ, R. C. & PEGG, K. G. *Fusarium wilt*. P. 143 – 159. In: JONES, D. R. (ed.). Diseases of Banana, Abacá and Enset. CABI Publishing. Wallingford, UK. 2000.
- PLOETZ, R. C.; THOMAS, J. E. & SLAUBAUGH, W. Diseases of banana and plantain. P. 73 – 134. In: PLOETZ, R. C. (ed.). Diseases of Tropical Fruit Crops. CABI Publishing. Wallingford, Oxon, UK. 2003.
- QUÉNÉHÉRVÉ, P. & CADET, P. Localisation de nematodes dans les rhizomes du bananier cv. Poyo. Revue de Nématologie 8: 3 – 8. 1985.
- REKHA, A.; RAVISHANKAR, K. V.; ANAND, L. & HIREMATCH, S. C. Genetic and genomic diversity in banana (*Musa* species and cultivars) based on D2 analysis and RAPD markers. Infomusa 10: 29 - 34. 2001.
- ROWE, P. Fitomejoramiento de bananas y plátanos. Unión Países Exportadores Banano (Upeb), Panamá, 19 p. 1985.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F. & MANIATS, T. Molecular cloning: a laboratory manual. 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 653 p. 1989.
- SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT user's guide. Version 6, 4 ed. SAS Institute, North Caroline, Cary. 1989.
- 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.
- SEINHORST, J. W. The relationships between population increase and population density in plant parasitic nematodes. II. Sedentary nematodes. Nematologica 13: 157 – 171. 1967.
- SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L. & ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. Informe Agropecuário 12: 11-19. 1986.

- SILVA, G. S. da; SANTOS, J. M. dos & FERRAZ, S. Novo método de coloração de ootecas de *Meloidogyne* sp. In: Congresso Brasileiro de Nematologia, XII. Resumos. P. 7. 1988.
- SILVA, S. O.; MATOS, A. P. & ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34: 693-703. 1998.
- SILVA, S de O.; MATOS, A. P.; ALVES, E. J. & SHEPHERD, K. Breeding diploid banana (AA) at EMBRAPA/CNPMP. Infomusa 6: 4 – 10. 1997.
- SILVA, S. de O. & SHEPHERD, K. Análise do germoplasma de banana do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical – CNPMP. Revista Brasileira de Fruticultura 3: 115 – 187. 1991.
- 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. & WEATHERUP, S. T. C. Numerical taxonomy of the cultivated bananas. Tropical Agriculture 67: 90 – 92. 1990.
- SOUZA, S. A. C. D. Avaliação da variabilidade genética em *Musa* spp. utilizando marcadores microssatélites. Tese (Doutorado), ESALQ (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”), São Paulo, Brasil. 2002.
- STANTON, J. M. & COBON, J. A. Root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) did not affect banana production in Subtropical Australia. International Journal of Nematology 10: 118 – 122. 2000.
- STATSOFT INC. Statistica for Windows [Computer program manual] Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14<sup>th</sup> Street, Tulsa. 1999.
- STOFFELEN, R.; VERLINDEN, R.; XUYEN, N. T.; SWENNEN, R. & DE WAELE, D. Host plant response of Eumusa and Australimusa bananas (*Musa* spp.) to migratory endoparasitic and root-knot nematodes. Nematology 2: 907 – 916. 2000.
- STOVER, R. H. & SIMMONDS, N. W. Bananas. 3<sup>rd</sup>. ed. Longman, New York, USA. 1962.
- SWENNEN, R.; VUYLSTEKE, D. & ORTIZ, R. Phenotypic diversity and patterns of variation in West and Central African Plantains (*Musa* spp., AAB Group, Musaceae). Economic Botany 49: 320 – 327. 1995.
- TARTE, 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.
- THU, N. X.; OANH, L. T. L. & NHI, H. H. Using RAPD technique for identifying and classifying some banana cultivars in Vietnam. *Infomusa* 11: 48 – 49. 2002.
- THWAITES, R.; EDEN-GREEN, S. J. & BLACK, R. Diseases caused by bacteria. P. 213 – 239. In: (JONES, D. R.). *Diseases of Banana, Abaca and Enset*. CABI Publishing. Wallingford, Oxon, UK. 2000.
- TOMEKPE, K.; JENNY, C. & ESCALANT, J. V. A review of conventional improvement strategies for *Musa*. *Infomusa* 13: 2 -6. 2004.
- TOKESHI, H.; DUARTE, M.L.R. Moko da bananeira no Território Federal do Amapá. *Summa Phytopathologica* 2: 224-229. 1976.
- VALSALAKUMARI, P. K. & SIVARAMAN NAIR, P. C. Genomic classification of Indian banana cultivars. *Tropical Agriculture* 70: 162 – 164. 1993.
- VAN DEN BERGH, I.; DE WAELE, D.; NHI, H. H.; NGUYET, D. T. M.; TUYET, N. T. & THANH, D. T. Screening of Vietnamese *Musa* germplasm for resistance and tolerance to root-knot and root-lesion nematodes in the greenhouse. *Infomusa* 9: 8 – 10. 2000.
- VAN DEN BERGH, I.; NGUYET, D. T. M.; TUYET, N. TN; NHI, H. H. & DE WAELE, D. Screening of Vietnamese *Musa* germplasm for resistance to root knot and root lesion nematodes in the greenhouse. *Australasian Plant Pathology* 31: 363 –371. 2002a.
- VAN DEN BERGH, I.; NGUYET, D. T. M.; TUYET, N. T.; NHI, H. H. & DE WAELE, D. Responses of Vietnamese *Musa* genotypes to *Meloidogyne* spp. under field conditions. *Nematology* 4: 917 – 923. 2002b.
- VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M. & PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 36: 453 – 483. 1998.
- VILAS BOAS, L. C.; TENENTE, R. C. V.; GONZAGA, V.; SILVA NETO, S. P. & ROCHA, H. S. Reação de clones de bananeira (*Musa* spp.) ao nematóide *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, Raça 2. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24: 690 – 693. 2002.
- WEAVER, D. B; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. & CARDEN, E. L. Comparison of crop rotation and fallow for management of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne* spp. in soybean. *Journal of Nematology* 27: 585 – 591. 1995.

- WELSH, J. & MC CLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18: 7213 – 7218. 1990.
- WHITEHEAD, A. G. *Plant nematode control*. Wallingford, UK: CAB International. 1998.
- WILLIAMS, J. K. G.; KUBELI, K. J.; RAFALSKI, J. A. & TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531 – 6535. 1990.
- WYSS, U. & GRUNDLER, F. M. V. Feeding behavior of sedentary plant parasitic nematodes. *European Journal of Plant Pathology* 98: 165 – 173. 1992.
- ZEM, A. C. Observações sobre perdas provocadas por nematóides em bananeira (*Musa acuminata* Simm. & Shep.) cv. Nanicão. Cruz das Almas. Embrapa CNPMF. *Boletim de Pesquisa*. 10 p. 1981.
- ZEM, A. C. & LORDELLO, L. G. E. Meloidoginose da bananeira: sintomas e susceptibilidade de cultivares. *Nematologia Brasileira* 38: 875 – 883. 1981.