

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**RESISTÊNCIA A *Radopholus similis* E DETECÇÃO DE
NEMATOIDES FITOPARASITAS EM BANANEIRAS
TRIPLOIDES E TETRAPLOIDES NO BRASIL.**

JESSICA DA MATA DOS SANTOS MONTEIRO

BRASÍLIA
2011



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

**RESISTÊNCIA A *Radopholus similis* E DETECÇÃO DE NEMATOIDES
FITOPARASITAS EM BANANEIRAS TRIPLOIDES E TETRAPLOIDES
NO BRASIL.**

JESSICA DA MATA DOS SANTOS MONTEIRO

BRASÍLIA - DF

2011

**RESISTÊNCIA A *Radopholus similis* E DETECÇÃO DE NEMATOIDES
FITOPARASITAS EM BANANEIRAS TRIPLOIDES E TETRAPLOIDES NO
BRASIL.**

JESSICA DA MATA DOS SANTOS MONTEIRO

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

BRASÍLIA - DF

2011

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 do Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – CENARGEN e Embrapa Mandioca e Fruticultura.

RESISTÊNCIA A *Radopholus similis* E DETECÇÃO DE NEMATOIDES FITOPARASITAS EM BANANEIRAS TRIPLOIDES E TETRAPLOIDES NO BRASIL.

JESSICA DA MATA DOS SANTOS MONTEIRO

Dissertação aprovada em 13 de julho de 2011 por:

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

Prof. Cleber Furlanetto, Ph. D. – (Examinador interno)

Jadir Borges Pinheiro, D.Sc. – (Examinador externo)

Á DEUS, pai de todas as coisas;

Ao meu pai, *in memoriam*, Pedro dos Santos Monteiro;

Á minha mãe, Maria da Cruz Nunes Luciano da Mata;

...pela minha existência.

DEDICO

Ao Dr. Dilson da Cunha Costa, pela doação de sua
contribuição ativa em prol da conclusão deste trabalho.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a DEUS pela vida e pelas oportunidades que me foram dadas, principalmente por ter conhecido pessoas especiais e importantes, lugares interessantes, e também por ter vivido fases muito felizes e muito difíceis, que serviram de matérias-primas para o meu aprendizado.

Agradeço também, a todos os meus familiares e agregados, que mesmo distantes foram e continuam sendo a fonte da minha força e perseverança para continuar e seguir em frente na vida acadêmica. À Dr^a Dulce Gomes e Kaló Ramos em STP, que assim como os meus familiares mesmo distantes, contribuem sempre que podem de alguma forma para que eu chegue cada vez mais perto dos meus objetivos.

Ao Dr. Dilson da Cunha Costa, agradeço por tudo! Pela prontidão com que se dispôs a me orientar durante a execução deste trabalho, com apoio, amizade, dedicação e muita paciência.

Ao estimado Professor Juvenil Enrique Cares, agradeço pela orientação, pelas palavras de encorajamento, pela sua disposição em tirar todas as dúvidas apresentadas e pela sua contribuição direta na minha formação.

Agradeço ao Professor Cleber Furlanetto que na ausência dos meus Orientadores se comportou como tal, dando sugestões e ajudas na tomada de decisões e também por esclarecer minhas dúvidas quando precisei.

Ao Dr. Jadir Borges Pinheiro por se disponibilizar em participar como membro da banca examinadora auxiliando nas correções finais do trabalho.

Ao Dr. Jansen P. Santos, agradeço pelas dicas, ajudas, sugestões, palavras de encorajamento e a boa vontade com que sempre ajudou em determinados momentos da execução deste trabalho.

A todos os professores do PPG-FIT, agradeço pelos ensinamentos, amizades, e palavras de encorajamento, e a todos os outros Professores que de forma direta ou indireta contribuíram para minha formação. Agradeço também a todos os funcionários do Departamento de Fitopatologia da UnB e da Estação Experimental de Biologia, especialmente, Sr. Fábio, Sr. Geraldo, Sr. Aldo, D. Olinda, Sr. Francisco, Sr. José César, Sr. Arlindo, e todos os outros que de forma ativa ou passiva contribuíram para o sucesso deste trabalho.

Aos Colegas e amigos do Curso do PPG-FIT, Justino Dias, Liamar dos Anjos, Pablo Oliveira, Daniel Lage, Natália Lucinda, Mikhail Leastro, Kamila Araújo pelos

momentos agradáveis de estudos e não só, pela amizade, simpatia, ajuda e companheirismo. Ao Pablo Oliveira pela importante ajuda prestada na execução deste trabalho.

Um grande agradecimento á Marli Prates, por todo apoio concedido a mim durante a execução dos trabalhos na Embrapa/Cenargen. Á Glauca Pereira agradeço enormemente pela amizade, companheirismo e toda a disponibilidade apresentada para me auxiliar em tudo e em todos os momentos que precisei. Agradeço também ao Marcus Silva pela ajuda em diferentes fases de execução dos trabalhos. Estendo os mesmos agradecimentos para Helaine Ancelmo, Rayane Araújo, Joalice Damasceno, pela colaboração dada na execução deste trabalho.

A todos os meus queridos amigos, mades, não mades, e/ou vips, que tanto amo, por simplesmente existirem, caso contrário esta fase não teria tanta graça, nomeadamente, Cecília Rodrigues, Giselle Marques, Bárbara Teixeira, Liliam Lima, Claudênia da Silva, Hugo Morreira, Renato Silva, Klênia Rodrigues, Kim Lustosa, Pablo Oliveira, Mikhail Leastro, Nayra Bomfim, Mônica Macedo, Cristina Gravina, Lusibetty Trigueiros, Anitilza Laby Tebus, Plácida Lopes, Aina Correia, e todos os outros mades e agregados, pessoas capazes de transformar tudo em festa contribuindo com carinho, amizade, amor, e esbanjar alegria por onde passam simplesmente praticando as ações consideradas madisses, seja em momentos fáceis ou difíceis.

As minhas atuais e ex-companheiras de apartamento, Klênia Rodrigues, Amanda Faria, Fabiana Brandão, Emília Braga, Fernanda Ferreira e Ana Amélia Neri, agradeço pelo companheirismo, amizade, compreensão dedicada a mim durante essa trajetória, e também pelas conversas esclarecedoras a respeito das nossas pesquisas e afins.

A Dr.^a Angela Ramos e Dr. Thalles Rocha pelo apoio na fase final deste trabalho.

Aos responsáveis pelas coletas e transferência dos materiais estudados neste projeto de diferentes regiões Brasileiras, agradeço pelo feito e por outras colaborações oferecidas.

Estimados agradecimentos á Universidade de Brasília e á Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária pela oportunidade, incentivo, espaço e estrutura para execução dos trabalhos, e ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

A TODOS, MUITO OBRIGADA!

REFLEXÃO

Aprendi... Que eu não posso exigir o amor de ninguém, posso apenas dar boas razões para que gostem de mim e ter paciência, para que a vida faça o resto.

Aprendi... Que vai demorar muito para me transformar na pessoa que quero ser, e devo ter paciência. Mas, aprendi também, que posso ir além dos limites que eu própria coloquei.

Aprendi... Que nos momentos mais difíceis a ajuda veio justamente daquela pessoa que eu achava que iria tentar piorar as coisas.

Aprendi... Que perdoar exige muita prática. Que há muitas pessoas que gostam de mim, mas não conseguem expressar isso.

Eu aprendi... Que meu melhor amigo vai me machucar de vez em quando, que eu tenho que me acostumar com isso. Que não é o bastante ser perdoado pelos outros, eu preciso me perdoar primeiro.

Aprendi que, não importa o quanto meu coração esteja sofrendo, o mundo não vai parar por causa disso.

Eu aprendi... Que as circunstâncias de minha infância são responsáveis pelo que eu sou, mas não pelas escolhas que eu faço quando adulto.

Aprendi também que diplomas na parede não me fazem mais respeitável ou mais sábio.

Aprendi que certas pessoas vão embora da nossa vida de qualquer maneira, mesmo que desejemos retê-las para sempre.

Aprendi, afinal, que é difícil traçar uma linha entre ser gentil, não ferir as pessoas, e saber lutar pelas coisas em que acredito.

Aprendi...

Charles Chaplin

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMO GERAL	iii
GENERAL ABSTRACT.....	v
INTRODUÇÃO GERAL	vii
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	ix
CAPÍTULO 1 – BANANA (<i>Musa</i> spp.)	1
IMPORTÂNCIA DA BANANA	2
CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA E TAXONOMIA DA BANANEIRA.....	3
Origem e níveis cromossômicos das cultivares	3
MELHORAMENTO GENÉTICO DE BANANEIRA DA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA	5
Diploides melhorados	6
Diploides melhorados vs. cultivares comerciais.....	7
Novas cultivares	8
PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS	9
O nematoide das lesões radiculares (<i>Pratylenchus coffeae</i>).....	10
O nematoide espiralado (<i>Helicotylenchus</i> spp.)	11
O nematoide das galhas – <i>Meloidogyne</i> spp.....	12
O nematoide cavernícola - <i>Radopholus similis</i>	14
Danos e perdas causados por nematoides.....	17
Fatores ambientais que afetam o parasitismo por nematoides em bananeira	18
Alternativas de manejo e controle de fitonematoides.....	19
Uso de cultivares resistentes.....	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO 2 - DETECÇÃO DE NEMATOIDES FITOPARASITAS ASSOCIADOS A BANANEIRAS TRIPLOIDES (AAA E AAB) E TETRAPLOIDES (AAAA E AAAB) CULTIVADAS EM ÁREAS EXPERIMENTAIS DE CINCO REGIÕES DO BRASIL Detecção de nematoides fitoparasitas associados a bananeiras triplóides (AAA e AAB) e tetraplóides (AAAA e AAAB) cultivadas em áreas experimentais de cinco regiões do Brasil.	32
RESUMO	33
ABSTRACT	34
INTRODUÇÃO.....	35
Material e Métodos	37
Coletas de amostras de raízes e de solo da rizosfera de bananeiras	37
Extração, quantificação e identificação dos fitonematoides.....	37
Identificação de espécies de <i>Meloidogyne</i> via fenótipo de esterase	39
Confecção de géis de poliacrilamida	39
Preparo das amostras e eletroforese.....	39
Retirada dos géis e revelação dos padrões isoenzimáticos.....	40
Resultados.....	42
Discussão	50
Conclusões.....	56
Referências bibliográficas	57
CAPÍTULO - SELEÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA A <i>Radopholus similis</i> EM GENÓTIPOS DE <i>MUSA</i> TRIPLOIDES (AAA e AAB) E TETRAPLOIDES (AAAB e AAAA)	62

RESUMO	63
ABSTRACT	64
Introdução	65
Material e Métodos	66
Obtenção dos genótipos de bananeira	67
Obtenção e multiplicação do inóculo de <i>Radopholus similis</i>	68
Esterilização (axenização) dos nematoides	68
Preparo dos cilindros de cenoura	68
Inoculação dos nematoides sobre os cilindros de cenoura	69
Preparo do inóculo para inoculação em mudas de bananeira	69
Inoculação de <i>Radopholus similis</i> em bananeiras	69
Avaliação	70
Delineamento experimental e análise estatística	70
Análise Prévia dos perfis proteicos dos principais genótipos contrastantes.....	71
Extração e quantificação de proteínas totais.....	71
Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)	72
Resultados.....	72
Discussão	76
Conclusão	79
Referências Bibliográficas.....	79

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – DETECÇÃO DE NEMATÓIDES FITOPARASITAS ASSOCIADOS A BANANEIRAS TRIPLOIDES (AAA E AAB) E TETRAPLOIDES (AAAA E AAAB) CULTIVADAS EM ÁREAS EXPERIMENTAIS DE CINCO REGIÕES DO BRASIL

Tabela 1 - Lista de genótipos de bananeiras triploides (AAA e AAB) e tetraploides (AAAA e AAAB), cultivados em cinco áreas experimentais do Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA).....38

Tabela 2 – Levantamento de fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAB) em área de avaliação do **Acre** do Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura / CNPMF.....42

Tabela 3 – Levantamento de fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAB) em área de avaliação de **Pernambuco** do Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura / CNPMF...43

Tabela 4 – Levantamento de fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAB) em área de avaliação do **Distrito Federal** pertencente ao Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura / CNPMF.....44

Tabela 5 – Levantamento de fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAB) em área de avaliação de **São Paulo** do Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura / CNPMF...45

Tabela 6 – Levantamento de fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAB) em área de avaliação de **Santa Catarina** do Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura / CNPMF...46

Tabela 7 – Identificação dos genótipos, regiões de procedência, espécies de *Meloidogyne* e suas porcentagens em *Musa* spp. no Brasil.....48

CAPÍTULO 3 – SELEÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA EM GENÓTIPOS DE MUSA TRIPLOIDES (AAA e AAB) E TETRAPLOIDES (AAAB e AAAA) A *RADOPHOLUS SIMILIS*.

Tabela 1 – Genótipos utilizados no ensaio de resistência a *R. similis*.....67

Tabela 2 – Tabela 2: Reação da hospedeira com base na porcentagem de redução do fator de reprodução em relação a cultivar mais suscetível.....70

Tabela 3 – Reação de genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAA e AAAB) frente ao parasitismo por *Radopholus similis*, população proveniente do Estado de Pernambuco sob condições de casa de vegetação. Universidade de Brasília, 2010.....73

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPITULO 1 – *MUSA* SPP.

Figura 1 - Evolução da banana comestível (Simmonds & Shepherd, 1955).....4

CAPITULO 2 – DETECÇÃO DE NEMATÓIDES FITOPARASITAS ASSOCIADOS A BANANEIRAS TRIPLOIDES (AAA E AAB) E TETRAPLOIDES (AAAA E AAAB) CULTIVADAS EM ÁREAS EXPERIMENTAIS DE CINCO REGIÕES DO BRASIL.

Figura 1 - Fenótipos de esterase observados em 25 populações brasileiras de *Meloidogyne* spp em *Musa* spp.(Cofcewicz *et al.*, 2004).....41

Figura 2 - Fenótipos de esterase de espécies de *Meloidogyne* identificados em associação com os genótipos de banana provenientes de cinco regiões do Brasil.....49

CAPITULO 3 – SELEÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA EM GENÓTIPOS DE *MUSA* TRIPLOIDES (AAA e AAB) E TETRAPLOIDES (AAAB e AAAA) A *RADOPHOLUS SIMILIS*.

Figura 1– Gel e gráfico comparativo dos perfis proteicos dos genótipos contrastantes75

RESUMO GERAL

Monteiro, Jessica da Mata dos Santos. Resistência a *Radopholus similis* e detecção de nematoides fitoparasitas em bananeiras triploides e tetraploides no Brasil. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade de Brasília, Brasília/DF. 2011.

A banana é a segunda fruta mais produzida no Brasil e corresponde a 15,7% de toda a fruta produzida no país, superado apenas pela laranja em 44,1%. É uma fruta de grande importância econômica e social no mundo inteiro e o Brasil é o quarto maior produtor mundial onde esta é cultivada do Norte ao Sul do país. Entre os principais fatores bióticos que afetam a produtividade da bananeira estão os fitonematoides, *Radopholus similis*, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus coffeae*, sendo o nematoide cavernícola (*Radopholus similis*) considerado o mais nocivo. O parasitismo desses nematoides causa perdas diretas (danos na planta e redução da produtividade) e indiretas (aumento de gastos com insumos, mão de obra e fertilizantes). O manejo desses nematoides através da aplicação de nematicidas tem se tornado uma prática cada vez mais prejudicial não só ao ambiente e ao homem, como ineficaz e não proporciona ao longo do tempo uma erradicação completa desses organismos. A resistência genética é entre todas as medidas de controle a mais viável de controle dos nematoides. Vários genótipos de bananeira têm sido introduzidos e/ou desenvolvidos no Brasil pelo Programa de Melhoramento da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. Avaliações em campo desses genótipos quanto à incidência e severidade das doenças fúngicas e bacterianas de importância para a cultura têm sido realizadas, entretanto, para os nematoides fitoparasitas tais informações são inexistentes, sobretudo sobre resistência a *R. similis*. Com base no exposto, este estudo teve por objetivos detectar e identificar a associação em campo, de fitonematoides com diferentes genótipos de *Musa* triploides (AAA e AAB) e tetraploides (AAAA e AAAB) melhorados e/ou recomendados, cultivados em cinco áreas experimentais do Programa de Melhoramento de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizadas nas regiões geográficas do Brasil: Norte (Acre), Nordeste (Pernambuco), Centro Oeste (Distrito Federal), Sudeste (São Paulo) e Sul (Santa Catarina) e; avaliar em casa de vegetação o comportamento de 22 genótipos triploides e tetraploides introduzidos e/ou melhorados pela Embrapa Mandioca e Fruticultura frente a *R. similis*. Para detecção e

identificação de fitonematoides em associação com raízes e solo de bananeiras, foram amostrados solos e raízes de cerca de 25 genótipos de cada região, sendo as amostras de raízes divididas em duas partes de 250 g, sendo uma delas trituradas e inoculadas em tomateiros ‘Santa Cruz’, com o objetivo de multiplicar as espécies de *Meloidogyne* presentes nas mesmas com base nos perfis de esterase. A outra parte, assim como o solo, foram submetidos à extração. Os nematoides foram mortos e fixados, para posterior preparo de lâminas semipermanentes e identificação do gênero e espécies presentes nas amostras. Para avaliação do comportamento dos genótipos em casa de vegetação, mudas micropropagadas de 22 genótipos aclimatadas em casa de vegetação durante dois meses foram inoculadas com uma suspensão de 300 nematoides (juvenis e adultos)/planta, distribuídas em experimento inteiramente casualizado com 4 repetições. Sessenta dias após a inoculação, foram avaliadas quanto ao número de nematoides nas raízes e no solo, sendo determinado o fator de reprodução ($FR = Pf/Pi$). O genótipo que permitiu a maior multiplicação dos nematoides, foi considerado padrão de suscetibilidade. Com base na percentagem de redução do fator de reprodução em relação ao padrão de suscetibilidade, foi feita a classificação da reação de resistência. Também foi realizada uma análise prévia dos perfis proteicos de quatro genótipos contrastantes. Observou-se a predominância de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* na maioria dos genótipos de todas as áreas amostradas, seguidos de *Helicotylenchus* spp., *Rotylenchulus reniformis*, *Radopholus similis*, *Scutellonema* sp. e *Criconemoides* sp. Os resultados do ensaio de resistência destacaram as cultivares Enxerto 33, Thap Maeo, Calypso, Caipira, Tropical e Maçã como moderadamente resistentes, ao contrario das cultivares Preciosa, Maravilha e Prata Anã, classificadas como altamente suscetíveis. As demais cultivares comportaram-se como suscetíveis. Análise de proteína de raízes por SDS-PAGE mostraram diferenças entre o perfil proteico de cultivares moderadamente resistentes e suscetíveis.

Palavras-chave: *Musa* spp., fitonematoides, melhoramento genético, nematoide cavernícola.

Orientador – Juvenil Enrique Cares – Universidade de Brasília

GENERAL ABSTRACT

Monteiro, Jessica Mata dos Santos. **Resistance to *Radopholus similis* and detection of plant-parasitic nematodes in triploid and tetraploid bananas in Brazil.** Dissertation (Master in Plant Pathology) - University of Brasilia, Brasilia / DF.2011.

Banana is the second fruit most produced in Brazil, accounting for 15.7% of all fruit produced in the country, surpassed only by orange with 44.1%. It is a fruit of great economic and social importance worldwide, and Brazil is the fourth largest world producer, where it is cultivated from North through South. Among major biotic factors affecting yield of banana, are the nematodes *Radopholus similis*, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Rotylenchulus reniformis* and *Pratylenchus coffeae*, and the burrowing nematode (*R. similis*) is considered the most damaging to banana. Parasitism of nematodes leads to direct (plant damage and decreased yield) and indirect losses (increased spending on supplies, labor and fertilizer). The management of these nematodes through the application of nematicides has become a practice increasingly harmful not only for the environment and man, as ineffective to provide over time a complete eradication of these organisms. Genetic resistance is among all measures the most feasible to control of plant-parasitic nematodes. Several genotypes of banana have been introduced and/or developed in Brazil by The Banana Breeding Program of Embrapa Mandioca e Fruticultura, in Cruz das Almas, Bahia. Evaluation under field conditions of these genotypes on the incidence and severity of fungal and bacterial infections of importance to the culture have been carried out, however, for plant-parasites nematodes, information are not available, especially on resistance to *R. similis*. Based on the foregoing, this study aimed to detect and identify field association of nematodes with different triploid (AAA and AAB) and tetraploid (AAAB and AAAA) genotypes of *Musa*, developed and/or recommended, for growing in five experimental areas of the Banana Breeding Program of Embrapa Mandioca e Fruticultura, located in five geographic regions of Brazil: Northern (State of Acre), Northeast (State of Pernambuco), Central west (Distrito Federal), Southeast (State of São Paulo) and South (State of Santa Catarina); and, to assess under greenhouse conditions resistance reaction of 22 triploid and tetraploid genotypes introduced and/or developed by Embrapa Mandioca e Fruticultura to *R. similis*. For detection of nematodes associated with banana roots and rhizosphere soils of approximately 25 genotypes had been sampled in

each region, and the root samples divided into two parts of 250 g each, one of them was crushed and inoculated on tomato plants 'Santa Cruz' in order to increase the number of specimens of *Meloidogyne* spp. present in the same genotype to be identified by using profiles of esterase. The second part of roots, and the soil sample were submitted to extraction of nematodes, and the nematodes were gently killed and fixed for subsequent preparation of semi-permanent slides for identification at genus and species levels, of all plant parasitic nematodes detected. To evaluate the resistance reaction of banana genotypes under greenhouse, plantlets of 22 genotypes acclimated in a greenhouse during two months were inoculated with a suspension of 300 nematodes (juveniles and adults) / plant, distributed in completely randomized design with four replications. Sixty days after inoculation, the plants were removed from soil, and the experiment evaluated on the number of nematodes in roots and soil, and determined the reproduction factor ($RF = Pf / Pi$), and based on the percentage reduction of the factor of reproduction in relation to the most susceptible genotype, the resistance reaction was ranked. Finally, there was a preliminary analysis of protein profiles of four contrasting genotypes. We observed a dominance of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* in most genotypes of all areas sampled, followed by *Helicotylenchus* spp., *Rotylenchulus reniformis*, *Radopholus similis*, *Scutellonema* sp. and *Criconemoides* sp. The results highlight cultivars Enxerto 33, Thap Maeo, Calypso, Caipira, and Tropical as moderately resistant to *R. similis*, unlike the cultivars Preciosa, Maravilha and Prata Anã, classified as highly susceptible. The other cultivars proved to be susceptible. Analysis of root proteins by SDS-PAGE showed differences between the protein profile of moderately resistant and susceptible cultivars.

Keywords: *Musa* spp. nematodes, genetic breeding, resistance, *Radopholus similis*.

Major Professor: Juvenil Enrique Cares - Universidade de Brasília.

INTRODUÇÃO GERAL

A banana é uma das frutas mais produzidas e consumidas no Brasil e no mundo, sendo cultivada na maioria dos países tropicais e subtropicais. A sua produção constitui parte importante da fonte de renda de pequenos agricultores e da alimentação das camadas mais pobres da população, principalmente no meio rural das regiões Norte e Nordeste do Brasil. É predominantemente cultivada em pequenas propriedades, sendo de grande importância para a alimentação, fixação da mão-de-obra no campo, geração de empregos, renda para as famílias e para a exportação (Cordeiro, 2000). É a segunda fruta com maior produção no Brasil, correspondendo a 15,7% da produção de frutas no País, superada apenas pela laranja que corresponde a 44,1% do total produzido, sendo os principais estados produtores: São Paulo, Bahia, Santa Catarina, Minas Gerais, Pará, e outros (IBGE, 2009).

Na maior parte das regiões produtoras, os responsáveis pela produção de banana são pequenos agricultores que na maioria das vezes são desprovidos de recursos técnicos e financeiros para adoção de medidas que promovam o aumento da produtividade. Além disso, a bananicultura é afetada também por fatores bióticos como os nematoides fitoparasitas (Carlier *et al.*, 2003), capazes de causar perdas severas à produção de bananas (Sarah, 1989; Gowen & Quénehervé, 1990). Os sintomas causados por esses organismos na parte aérea da planta podem ser erroneamente atribuídos a outras causas, como o ataque por insetos ou desbalanço nutricional. Os nematoides mais prejudiciais são aqueles envolvidos na destruição de raízes sustentadoras, com debilidade do sistema de ancoragem da planta e conseqüente tombamento da mesma. Para a bananeira, as espécies mais importantes são: *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949, *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941, *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956, *Meloidogyne* spp., e *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira, 1940. Incluindo estes, existem 146 espécies de nematoides parasitas de plantas pertencentes a 43 gêneros associados à *Musa* spp., porém, os demais além dos acima mencionados, ainda não são considerados patógenos sérios para a bananeira (Gowen & Quénehervé, 1990).

O nematoide cavernícola *R. similis* é um dos patógenos de raízes mais importantes da banana e causa severas perdas no campo em pequena e larga escala ao redor do mundo (Sarah *et al.*, 1996). Pela capacidade de migrar entre e por meio das

células do sistema radicular, causam destruição total ou parcial deste sistema, o que leva ao comprometimento das funções vitais da planta, principalmente a absorção de água e nutrientes, com reflexos também no sistema de ancoragem da planta. Os nematoides das galhas são encontrados em raízes de bananeiras em praticamente todas as regiões cultivadas (Figuerola, 1990; De Waele & Davide, 1998). A formação de galhas nas raízes primárias que atinge as secundárias e terciárias, é a expressão dos primeiros sintomas da planta devido à infecção por espécies de *Meloidogyne* Goeldi, 1887. Como reflexos do ataque do nematoide, resultam sintomas secundários como o amarelecimento das folhas, redução da área foliar, redução do crescimento da planta e da produtividade, com perdas de até 57% da produção (De Waele & Davide, 1998).

A aplicação intensiva de nematicidas químicos é a prática de controle de nematoides mais frequente em plantações comerciais, a qual tem sido altamente questionada pelo seu alto custo e contaminação do meio ambiente. A resistência genética é, entre todos os métodos de controle de nematoides, o mais promissor, constituindo-se na medida economicamente mais viável para o produtor, além de ser um método ambientalmente seguro quando comparado a outras técnicas de manejo. Cultivares resistentes têm as vantagens de inibir a reprodução do nematoide, serem cultivadas sem resíduos tóxicos, dispensarem o uso de técnicas que exigem equipamentos especiais (como no caso da aplicação de nematicidas ou agentes de controle biológico) e, não há custo adicional para o produtor (Cook & Evans, 1987; Trudgill, 1991; Boerma & Hussey, 1992). Porém, atualmente são conhecidas pouquíssimas fontes de resistência aos principais nematoides da bananeira.

Para suprir a carência de fontes de resistência a doenças, a Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia, conduz um programa de melhoramento genético de banana com o objetivo de concentrar num mesmo genótipo o maior número possível de características agronômicas favoráveis, além da resistência às principais doenças incluindo as causadas por nematoides, para posteriormente transferi-las para variedades triploides comerciais mediante síntese de tetraploides (Oliveira *et al.*, 2008). O estudo da resistência desses genótipos a diferentes espécies de nematoides e, o grau de virulência destes, principalmente *R. similis*, também é de grande importância para o programa de melhoramento genético de banana da Embrapa que visa criar e selecionar cultivares de bananeira resistentes a nematoides.

Portanto, esta pesquisa teve como objetivos: identificar fitonematoides associados a diferentes genótipos de bananeiras triploides (AAA, AAB) e tetraploides

(AAAA, AAAB) cultivadas em áreas experimentais de cinco regiões do Brasil; e avaliar o comportamento de 22 genótipos de bananeiras triploides e tetraploides em relação a *R. similis* em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APPEL, H.M. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. **Journal of Chemical Ecology** 19, 1521–52. 1993

BOERMA, H.R; HUSSEY, RS. Breeding plants for resistance to nematodes. **Journal of Nematology** 24(2): 242-252. 1992.

CARLIER, J.; DE WAELE, D; ESCALANT, JV. Global evaluation of *Musa* germoplasm for resistance to *Fusarium* wilt, *Mycosphaerella* leaf spot diseases and nematodes. In: vézima, a. & picq, c. (eds.). **Inibap Technical Guidelines** 7. p. 22. 2003.

COOK, R. & EVANS, K. Resistance and tolerance. In: Brown, R.H. ; Kerry, B. (Eds.). **Principles and practice of Nematode control in crops** 179-231. 1987

CORDEIRO, Z.J.M (org). Banana. Fitossanidade. Brasília: Embrapa **Comunicação de Transferência de Tecnologia**. 2000.

DE WAELE, D. & DAVIDE, R. Nematodes moduladores 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. 40. 1998.

FIGUEROA, M. Dinâmicas de cuatro gêneros de nematoides parasitos em plátano (*Musa* AAB, Subgrupo Plátano cv. Currare). **Asbana** 14:15-7. 1990

GIEBEL J, 1982. Mechanisms of resistance to plant nematodes. **Annual Review of Phytopathology** 20, 257–79.

GOWEN, S. & QUÉNÉHERVÉ, P. Nematode parasites of bananas, plantains and abaca. In: Luc, M., Sikora, R.A., . & Bridge, J. (eds.) **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture** 431-60. 1990.

IBGE - Produção Agrícola Municipal., 2009. Disponível em: http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Banana_Brasil_2008.pdf.

NICHOLSON, R.L; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology** 30, 369–89. 1992.

OLIVEIRA, S.S; AMORIM, E.P; . & SANTOS-SEREJO, J. A. Estratégias para o melhoramento genético da bananeira. **XII Simpósio de Atualização em genética e Melhoramento de Plantas**. 2008.

SARAH, J.L.; PINOCHET, J & STANTON, J. The burrowing nematode of bananas, *Radopholus similis* Cobb, 1913. **Musa Pest Fact Sheet N° 1**. Inibap, Montpellier, France. 1996.

SARAH, J.L. Banana nematodes and their control in Africa. **Nematropica** 19:199-216. 1989.

TRUDGILL D.L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology** 29: 167-192. 1991.

WUYTS, N. WUYTS,.; LOGNAY, G.; VERSCHEURE, LOGNAY; M. VERSCHEURE,; MARLIER, M. MARLIER,; DE WAELE, D. DE WAELE AND SWENNEN. Potential physical and chemical barriers to infection by the burrowing nematode *Radopholus similis* in roots of susceptible and resistant banana (*Musa* spp.). In: **Plant Pathology** 56: 878-890. 2007.

WUYTS, N. Interactions between plant parasitic nematodes and plant secondary metabolism, with emphasis on phenylpropanoids in roots. PhD thesis submitted in May 2006 to the Faculty of Bioscience Engineering, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium. In: **InfoMusa** – Vol. 15 No.(1-2),. June-December 2006.

CAPÍTULO 1 – BANANA (*Musa* spp.)

IMPORTÂNCIA DA BANANA

A banana (*Musa spp.*) é uma das frutas mais importantes para o mundo, tanto em produção como em comercialização. Para muitos países, além de ser um alimento complementar da dieta da população, a banana é de grande importância social e econômica e serve como fonte de renda para muitas famílias de agricultores com geração de postos de emprego no campo e na cidade, e também contribui para o desenvolvimento das regiões envolvidas em sua produção.

A produção mundial de banana em 2008 superou 90 milhões de toneladas, sendo que a produção brasileira foi de aproximadamente 7 milhões. Esta produção fez do Brasil o quarto maior produtor mundial, sendo superado pela Índia (25,6 milhões de toneladas), Filipinas (9,6 milhões de toneladas) e China (8,9 milhões de toneladas) (IBGE, 2008).

Nas terras altas de Uganda, o consumo *per capita* de banana chega a 200 kg por ano, e a fruta serve como fonte de parte significativa das necessidades diárias de carboidratos, vitaminas A, B6 e C, potássio, fósforo e cálcio (Ploetz, 1999). No Brasil, principalmente no Estado do Amazonas, a banana é a fruta mais consumida, constituindo-se em alimento básico da população carente (Cordeiro *et al.*, 1998). Na Costa Rica, a produção de banana é uma atividade que gera aproximadamente 40.000 empregos diretos e 100.000 indiretos; na província de Limón é a principal fonte de trabalho para 93% da população economicamente ativa e gera o sustento básico para mais de 500.000 pessoas (Corbana, 2000).

Para outros países, ela é um produto de exportação responsável por parte significativa dos ingressos relativos à exportação agrícola. Os mercados mais importantes são os da União Européia, Estados Unidos e Japão, responsáveis pela importação de aproximadamente 70% do volume e 79% do valor mundialmente comercializados (FAO, 2003). De acordo com Manica (1997), o grande volume de banana comercializado nos mercados mundiais pode ser explicado por vários fatores, entre os quais se destacam: a possibilidade de produção contínua durante todo o ano, o elevado rendimento por hectare e ciclo reduzido da cultura, a facilidade de manejo e armazenamento da fruta verde e a facilidade e rapidez de amadurecimento.

CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA E TAXONOMIA DA BANANEIRA

As bananeiras produtoras de frutos comestíveis são plantas monocotiledôneas, da ordem Scitaminales, família Musaceae, subfamília Musoideae e do gênero *Musa*. Este constituído por quatro séries ou seções: *Australimusa*, *Callimusa*, *Rhodochlamys* e *Eumusa* (Simmonds, 1973).

As espécies pertencentes às seções *Callimusa* e *Rhodochlamys* são plantas de interesse ornamental e não produzem frutos comestíveis, enquanto que a seção *Australimusa* apresenta espécies de importância industrial, pois são utilizadas para produção de fibras têxteis para confecção de redes de pesca. A seção *Eumusa* apresenta a maior dispersão geográfica e inclui 11 espécies conhecidas (Tezenas du Montcell, 1988). Todas as bananeiras comestíveis cultivadas são teoricamente originárias das espécies pertencentes à seção *Eumusa* e, grande maioria das cultivares é resultante do cruzamento entre as duas espécies: *Musa acuminata* (constituída pelo genoma A) e *Musa balbisiana* (constituída pelo genoma B) (Inibap, 2004b).

Origem e níveis cromossômicos das cultivares

A Banana tem como centro de origem a região tropical que vai desde a Índia até a Nova Guiné, incluindo Malásia e Indonésia. Nessa região, alguns diploides possivelmente híbridos adquiriram a capacidade de produzir mais polpa e progressivamente se tornaram sem sementes. A intervenção humana teve um papel fundamental na geração de bananas comestíveis, pois, as bananeiras que produzem frutos sem sementes só poderiam ter chegado a outras partes do mundo por meio de transplante de mudas pelo homem. Dessa forma, a história das variedades de banana está intimamente ligada à das populações humanas (De Langhe, 1996). Outros centros de origem secundários de variedades ocorrem na África Oriental, em algumas ilhas do Pacífico e uma considerável diversidade genética ocorre na África Ocidental (Champion, 1967). As cultivares encontradas nessas regiões evoluíram de espécies selvagens e apresentam três níveis cromossômicos, existindo diploides com 22 cromossomos (2x), triploides com 33 (3x) e tetraploides com 44 cromossomos (4x), que são múltiplos do número básico ($n=11$), sendo que a origem de triploides a partir de

diploides e de tetraploides a partir dos triploides é facilmente constatada por meio de cruzamentos experimentais (Shepherd, 1984).

Cruzamentos interespecíficos entre *M. acuminata* (genoma A, $2n=2x=22$) e *M. balbisiana* (genoma B, $2n=2x=22$), deram origem à maioria dos genótipos de bananeiras atualmente em uso para alimentação, razão pela qual as plantas geradas destes cruzamentos apresentam características das duas espécies (Simmonds, 1973).

O cruzamento entre espécies e subespécies pode ter levado ao aparecimento de esterilidade, uma característica selecionada pelo homem em conjunto com a partenocarpia, o que permite a produção de frutos comestíveis. Hoje, são encontrados os seguintes grupos genômicos: diploides (AA e AB); triploides (AAA, AAB e ABB); e tetraploides (AAAA, AAAB, AABB e ABBB) (Figura 1), sendo esta classificação adotada em todo o mundo (Dantas *et al.*, 1997).

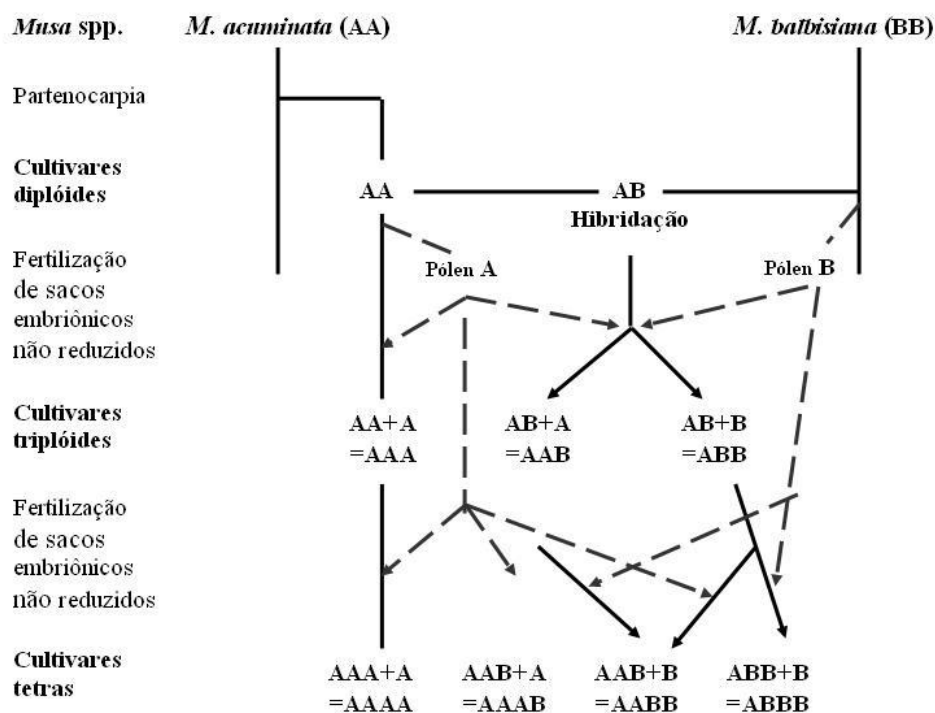


Figura 1. Processo de evolução da banana comestível (Simmonds & Shepherd, 1955)

Vale ressaltar que todos esses grupos foram constatados por avaliação taxonômica das cultivares exploradas em todo o mundo, à exceção do grupo AAAA, que só foi obtido por cruzamentos experimentais (Shepherd, 1984a).

MELHORAMENTO GENÉTICO DE BANANEIRA DA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA

As primeiras tentativas de pesquisa na área de melhoramento genético de bananeira ocorreram no final da década de 1920, em Honduras, Trinidad e Jamaica, motivadas pela murcha de *Fusarium* (mal-do-panamá) (Shepherd, 1992). No início da década de 1930 foi sintetizado o primeiro tetraplóide a partir do cruzamento de uma cultivar triploide AAA (Gros Michel) com um diploide AA (selvagem). Desta forma, iniciou-se um sistema de hibridação que permite o melhoramento de algumas cultivares triploides de banana e também de diploides (AA), que continua sendo universalmente usado com resultados satisfatórios.

O melhoramento convencional tem sido dificultado pela ausência de sementes nas cultivares de bananeira, fator este que resulta da inexistência de pólen viável ou, talvez, de polinizadores naturais eficientes. As cultivares que não produzem sementes quando polinizadas ou aquelas que as produzem em pequena quantidade podem ser tanto diploides quanto triploides. A ausência de sementes pode estar relacionada à intensa seleção agrônômica para este fator e deve ser, portanto, reflexo do processo de domesticação da espécie (Shepherd *et al.*, 1986).

Cultivares do subgrupo Cavendish não produzem sementes quando polinizadas com diploides, enquanto na ‘Maçã’, as poucas sementes produzidas não germinam. Para contornar problemas desta natureza, técnicas não convencionais de melhoramento, tais como, mutação, hibridação somática e duplicação do número de cromossomos dos diploides vêm sendo utilizados (Ganry, 1993).

O objetivo do melhoramento do germoplasma de banana AA é concentrar, em um mesmo genótipo, o maior número possível de características favoráveis como partenocarpia, elevado número de dedos e pencas, maior comprimento de dedos, boa formação de cachos e resistência às pragas e aos patógenos incluindo os nematoides, para posteriormente transferi-las às variedades triploides comerciais, mediante a síntese de tetraploides (Dantas *et al.*, 1993b; Silva *et al.*, 1996; Silva *et al.*, 1997a; Silva *et al.*, 1997b; Silva *et al.*, 1998a).

O melhoramento genético da bananeira, conduzido na Embrapa Mandioca e Fruticultura objetiva desenvolver bananas resistentes às Sigatokas amarela e negra e ao mal-do-panamá, com porte e ciclo reduzidos e mais produtivas, mediante cruzamentos de diploides (AA) melhorados com triploides comerciais e avaliar e selecionar estas

novas variedades tetraploides em diferentes regiões produtoras de banana do País. Avaliações para resistência a nematoides e broca do rizoma também são efetuadas nos novos híbridos produzidos (Silva *et al.*1998a).

Diploides melhorados

O programa de melhoramento genético de bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura iniciou-se em 1983, em Cruz das Almas/BA, com a produção e avaliação de diploides, onde, na sua fase inicial, que foi do ano 1983 a 1987, dispunham-se basicamente da espécie silvestre *M. acuminata* (subespécies *banksii*, *burmanica*, *malaccensis*, *microcarpa* e *zebrina*) e de algumas cultivares como ‘Heva’, ‘Lidi’, ‘Sinwobogi’, ‘Tjau Lagada’ e ‘Tuu Giae’. Os primeiros híbridos foram originários de cruzamentos entre estes genótipos e, atualmente todos os diploides usados no programa de melhoramento da banana são híbridos melhorados que visam à produtividade e resistência a doenças.

Nesse processo têm-se gerado cultivares produtivas e com resistência a pragas e patógenos da cultura, entre elas destacam as cultivares Caipira, Thap Maeo, FHIA 18, Prata Graúda, Prata Baby (Nam), Pacovan Ken, Japira, Vitória, Preciosa, Tropical, Maravilha, Caprichosa, Garantida e Princesa.

O melhoramento de bananeiras diploides consiste no cruzamento de parentais selecionados para características desejáveis e que apresentam gametas, masculino e ou feminino férteis obtendo-se assim híbridos também diploides (primários). Associado à falta de resistência às principais doenças e pragas, a maioria das variedades comerciais é pouco produtiva e tem porte alto. Assim, com o melhoramento da banana, espera-se também, a obtenção de variedades de porte mais baixo que venha contribuir para reduções de perdas por tombamento de plantas e do custo de produção por dispensar o escoramento e permitir o uso de maior densidade de plantio e conseqüentemente, obter maior rendimento.

Diploides melhorados vs. cultivares comerciais

Mesmo sendo um dos maiores produtores mundiais de banana, as exportações brasileiras são irrisórias quando comparadas com outros países produtores, como o Equador. O baixo volume de exportação está diretamente relacionado à numerosa população do país, com elevado consumo *per capita*, à falta de técnicas adequadas para o cultivo, e os problemas fitossanitários, como doenças e pragas, que podem ocasionar perdas de até 100 % da lavoura (Silva *et al.*, 2002a).

A falta de cultivares comerciais de banana que sejam produtivas, com porte adequado, resistentes às principais pragas e doenças, adaptadas a diferentes ecossistemas e aceitas pelos consumidores, constituem-se em fatores limitantes à expansão da cultura (Silva *et al.*, 2000; Donato *et al.*, 2006). Uma das estratégias para suplantar estas limitações é o desenvolvimento de novas cultivares, mediante programas de melhoramento genético. Esses novos genótipos, na sua maioria, são tetraploides, oriundos de cruzamentos entre triploides (variedades comerciais) e diploides melhorados ou selvagens (Silva *et al.*, 2005).

Na fase inicial de produção de tetraploides na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em 1983, foram utilizados, como genitores masculinos, diploides silvestres e cultivares diploides disponíveis. Entre estas, a mais utilizada foi a ‘Lidi’, pela melhor eficiência do pólen. Posteriormente, uma série de híbridos promissores em tamanho e qualidade de frutos foi gerada a partir do genitor masculino M53. Atualmente, as hibridações têm sido feitas com os 27 híbridos selecionados, usando-se preferencialmente nos cruzamentos com plantas altas (‘Pacovan’ e ‘Prata’ Comum) os diploides, que possuem porte de médio a baixo; e nos cruzamentos com ‘Prata Anã’, aqueles que apresentam elevado número de frutos por cacho independente do porte.

Na bananeira, a variabilidade genética importante para os programas de melhoramento localiza-se nos diploides (Shepherd *et al.*, 1986; Silva *et al.*, 2002). Portanto, a avaliação agrônômica destes, pode disponibilizar informações úteis, tanto para a escolha de genitores para cruzamentos entre diploide divergentes, quanto para cruzamento destes com triploides, para obtenção de novos híbridos tetraploides (Amorim *et al.*, 2008).

Novas cultivares

O Programa de melhoramento genético da bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura (PMG), em parceria ou não com outras instituições, tem recomendado nos últimos anos uma série de novas cultivares, como a Caipira, Thap Maeo, Pacovan Ken, Fhia 18, Prata Baby, Prata Graúda, Tropical, Preciosa e Maravilha (Oliveira *et al.*, 2008).

A cultivar Caipira conhecida internacionalmente como ‘Yangambi km 5’, é uma cultivar de banana de mesa, pertencente ao grupo genômico AAA, de porte médio- alto, frutos pequenos e muito doces. Foi selecionada a partir de avaliações realizadas em vários locais e destaca pelo seu vigor vegetativo, resistência às sigatokas negra e amarela e ao mal-do-Panamá, além de resistência à broca do rizoma evidenciada por baixos índices de infestação pela praga.

A cultivar Thap Maeo, introduzida da Tailândia e selecionada pela Embrapa Mandioca e Fruticultura, pertence ao grupo AAB, semelhante à ‘Mysore’, diferenciando desta por não apresentar altas infestações pelo *Banana streak vírus* (BSV). Apresenta porte médio-alto, frutos pequenos, resistência às sigatokas negra e amarela e ao mal-do-Panamá, baixa incidência da broca do rizoma e nematoides. Possui rusticidade em solos de baixa fertilidade, onde a produtividade média é de aproximadamente 25 t/ha/ano e sob condições de solos com boa fertilidade a sua produtividade média é de aproximadamente 35 t/ha/ano.

A ‘Fhia 18’ é um híbrido da cv. ‘Prata Anã’ de porte médio, com frutos semelhantes aos desta cultivar, embora com sabor mais doce. Foi introduzida de Honduras, avaliada em vários locais e selecionada. É um tetraploide do grupo AAAB e, o seu principal atrativo é a resistência à sigatoka negra.

A ‘Pacovan Ken’ é um híbrido tetraploide do grupo AAAB, porte alto, resultante do cruzamento da cultivar Pacovan com o híbrido diploide (AA) M53, gerado pelo PMG da bananeira em Cruz das Almas, BA. Apresenta número, tamanho dos frutos e produtividade superiores aos da ‘Pacovan’. Os frutos são mais doces e apresentam resistência ao despencamento, semelhantes aos da ‘Pacovan’ e também apresenta resistência às sigatokas negra e amarela e ao mal-do-Panamá.

A cultivar Preciosa é um híbrido tetraploide do grupo AAAB, de porte alto, resultante do cruzamento da ‘Pacovan’ com o híbrido diploide (AA) M53, gerado pelo PMG da bananeira (PV42-85), em Cruz das Almas, BA. A nova cultivar é rústica, tem

porte alto e frutos grandes que são mais doces que os da ‘Pacovan’ e como os desta cultivar, apresentam resistência ao despencamento. A ‘Preciosa’ além de resistente à sigatoka negra, também apresenta resistência ao mal-do-Panamá, sendo recomendada inicialmente para o estado do Acre, onde a sigatoka negra constitui grande problema para as bananeiras.

A ‘Maravilha’ é um híbrido tetraploide (AAAB) resultante do cruzamento entre ‘Prata Anã’ (AAB) x SH 3142(AA), de porte médio que foi introduzido de Honduras com o nome de Fhia 01, avaliado em vários locais e selecionado pela Embrapa Mandioca e Fruticultura para a região de Rio Branco, Acre. Os frutos e a produtividade são maiores e a polpa mais ácida que os da ‘Prata Anã’. Apresenta resistência à sigatoka negra e ao mal-do-Panamá.

A ‘Tropical’, híbrido tetraploide do grupo AAAB, resultante do cruzamento da cv. Yangambi n.º 2 com o híbrido diploide (AA) M53, de porte médio a alto, criado pela Embrapa Mandioca e Fruticultura (YB42-21) em Cruz das Almas, BA. Os frutos são maiores, mais grossos e com sabor semelhante aos da cv. Maçã. A ‘Tropical’ além de resistente à sigatoka amarela é também tolerante ao mal-do-Panamá. Todavia não é resistente à sigatoka negra. Seu plantio será direcionado principalmente às regiões produtoras de banana Maçã.

PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS

Além das doenças fúngicas, bacterianas e viróticas a bananeira enfrenta também ataques por fitonematoides que são considerados um dos principais grupos de patógenos por serem capazes de limitar o seu desenvolvimento e produtividade.

Diversas espécies de fitonematoides têm sido identificadas associadas às raízes e ao solo da rizosfera de bananeiras e plátanos. Segundo Gowen e Quénéhervé (1990), 146 espécies de fitonematoides pertencentes a 43 gêneros já foram relatadas associados à *Musa* spp. no mundo. Entretanto, *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949, *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956, *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 e *Meloidogyne* spp., principalmente *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 e *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 são as espécies tidas como de maior importância (Costa *et al.*, 1998). Além destas espécies, no

Brasil tem sido detectado também *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940 e *H. dihystra* (Cobb, 1893) Sher, 1961 (Souza *et al.*, 1999; Dias & Ribeiro Júnior, 2001). Essas espécies são consideradas importantes em países tropicais e subtropicais, não só pelos danos causados, mas, principalmente, devido à grande variabilidade na interação com diferentes cultivares de bananeiras e também pela dificuldade de obter-se um controle efetivo.

Plantas afetadas por nematoides têm a capacidade de absorção de água e nutrientes reduzida, o que pode resultar no atraso da floração e, conseqüentemente na redução do tamanho dos cachos e frutos. A ancoragem da planta também é afetada e como consequência as plantas são facilmente derrubadas, especialmente na fase de enchimento dos frutos (Stover e Simmonds, 1987). Contudo, os sintomas causados por nematoides podem ser mascarados por problemas de ordem fisiológica, como deficiência nutricional, estresse hídrico ou ocorrência de pragas e doenças de origem virótica, bacteriana ou fúngica. Por isso, para a diagnose se faz necessária amostragem de solo e raízes.

O nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus coffeae*)

O nome vulgar das espécies de *Pratylenchus* (nematoide das lesões radiculares) é alusivo aos sintomas causados nas plantas hospedeiras, que são as conspícuas lesões necróticas nas raízes (Ferraz & Monteiro, 1995; Agrios, 1997).

Observado pela primeira vez por Cobb, em 1919, em raízes de plátanos na América Central, *P. coffeae* foi inicialmente descrito como *Tylenchus musicola*. Provavelmente nativo de países do Pacífico, disseminou-se por meio de material de plantio e hoje se encontra distribuído mundialmente, entretanto de forma mais restrita do que *R. similis* (Gowen e Quénehervé, 1990; Bridge *et al.*, 1997). Já foram associadas à *Musa*, oito espécies de *Pratylenchus*, dentre elas *P. coffeae* e *P. goodey* são as mais disseminadas e conhecidas como importantes para a bananeira (Gowen e Quénehervé, 1990). *Pratylenchus coffeae* é considerada o principal patógeno de bananas em locais onde ocorre e causa danos similares aos provocados por *R. similis* (Bridge *et al.*, 1997). É um parasita migrador durante todo o ciclo de vida e movimenta-se ativamente no solo até atingir o sistema radicular da planta hospedeira, onde penetra e passa a migrar no córtex da mesma, podendo retornar ao solo. É um nematoide importante pelos danos

causados à cultura, embora muito menos disseminado que o nematoide cavernícola (Gowen e Quénéhervé, 1990).

As lesões radiculares causadas por *P. coffeae* e *P. goodeyi* estão geralmente associadas a infecções fúngicas por *Fusarium oxysporum*, f.sp *redolens*, *F. sambucium*, *Nigropsora musae* e *Rhizoctonia solani* (Bridge *et al.*, 1997).

O ciclo de vida de *Pratylenchus* spp. é relativamente rápido, geralmente ocorre várias gerações em único ciclo da hospedeira. Altas populações podem ser detectadas nas raízes infectadas logo no início do ciclo da cultura, mas essas populações tendem a diminuir especialmente na ausência da hospedeira (Loof, 1991). A fêmea deposita os ovos no interior das raízes ou no solo próximo à superfície das mesmas sem formação de massa de ovos, em média de 80 a 150 ovos por fêmea durante o ciclo, que se completa em média, entre 3 e 4 semanas, tempo este que varia com fatores ambientais como temperatura, umidade, espécie hospedeira e do patógeno (Ferraz & Monteiro, 1995; Tihohod, 1997; Castillo & Vovlas, 2007). A temperatura ideal para o desenvolvimento de *P. coffeae* fica entre 25 e 30°C (Gowen, 2000).

O nematoide espiralado (*Helicotylenchus* spp.)

Depois de *R. similis*, *H. multincinctus* é provavelmente o nematoide mais prejudicial para a bananeira. Segundo Blake (1969), as primeiras observações de perdas de produção em bananeiras causadas por *H. multincinctus* foram feitas em Israel, em áreas nas quais *R. similis* era ausente.

Geralmente, *H. multincinctus* e *R. similis* ocorrem juntos em regiões nas quais as condições climáticas são consideradas ótimas para a produção da cultura. Sob condições favoráveis, *H. multincinctus* pode ser considerado o principal nematoide para a cultura e ocorre frequentemente associado a *M. javanica* e *M. incognita* (McSorley e Parrado, 1986).

Ovos e todos os estádios, machos e fêmeas de *H. multincinctus* foram observados dentro de raízes de bananeira, o que mostra que certamente o nematoide pode completar todo o seu ciclo dentro das raízes, migrando para o solo com o desenvolvimento da necrose dos tecidos (Blake, 1969). As lesões nas raízes são semelhantes a pequenas pontuações ou traços de cor marrom-avermelhada a preta e, geralmente, menores, menos profundas e mais superficiais do que as causadas por *R. similis*. Na presença de

elevadas populações, ou em fases mais avançadas, as lesões podem coalescer e causar necrose na camada externa do córtex (McSorley e Parrado, 1986; Gowen e Quénéhervé, 1990). As raízes absorventes podem apresentar deterioração progressiva com debilidade e morte das mesmas e consequente tombamento da planta. A vida reprodutiva da planta é bastante reduzida, com quedas de produção dois a três anos após o plantio (McSorley e Parrado, 1986). Além das raízes, *H. multicinctus* pode, também, infectar o rizoma da planta (Blake, 1969; Gowen e Quénéhervé, 1990). Poucas informações a respeito da sobrevivência de *H. multicinctus* na ausência de hospedeiros suscetíveis estão disponíveis. Raízes e rizomas vivos de bananeira garantem a sobrevivência do nematoide espiralado (Gowen e Quénéhervé, 1990).

Além de *Musa* spp., *H. multicinctus* apresenta ampla gama de hospedeiros, tendo sido associado a plantas daninhas como o caruru, trapoeraba e beldroega (Gowen e Quénéhervé, 1990). No Brasil, já foi também associado a picão-roxo, cebola, caju, commelina, citros, café, tiririca, beldroega, grumixama, soja, bananeira ornamental, joá, manga, cana-de-açúcar, sorgo, cacau, trigo e milho (Embrapa, 2002).

O nematoide das galhas – *Meloidogyne* spp.

Os nematoides formadores de galhas nas raízes do gênero *Meloidogyne*, estão entre os patógenos mais disseminados no mundo e limitantes a produtividade agrícola (Sasser & Carter, 1985). Plantas de climas frios e quentes, utilizadas como fonte de alimento em todo mundo são suscetíveis à infecção por estes nematoides (Taylor & Sasser, 1978). Em raízes de bananeiras e plátanos, os nematoides das galhas ocorrem em qualquer região onde estas culturas estejam presentes (De Waele e Davide, 1998). As espécies *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 e *M. hapla* Chitwood, 1949 são as mais comumente associadas a *Musa* spp. (Gowen e Quénéhervé, 1990; Stoffelen *et al.*, 2000), sendo que populações mistas podem ocorrer em bananais infestados (Cofcewicz *et al.*, 2004a; Cofcewicz *et al.*, 2005).

São endoparasitos sedentários, cuja fêmea produz em média, 500 ovos em matriz gelatinosa e forma uma massa de ovos, na maioria das vezes, externamente à raiz. Após o desenvolvimento embrionário, o juvenil de primeiro estágio (J1) passa pela primeira ecdise, dando origem ao juvenil de segundo estágio (J2), que emerge do ovo. Ao migrar para o solo, o J2 que é a fase infectante, inicia a procura de raiz para se alimentar,

penetra na ponta da raiz, atinge a região do parênquima vascular e estabelece o seu sítio de alimentação (células gigantes multinucleadas) nas células do parênquima vascular precedidas pela injeção de secreções de substâncias provenientes das glândulas esofagianas. O nematoide ingere o conteúdo citoplasmático das células gigantes, atuando como drenos metabólicos que desviam os nutrientes da planta para o nematoide. A injeção de secreções culmina em hipertrofia e hiperplasia de células acompanhadas geralmente pelo alargamento das raízes com formação das galhas. Durante esse processo, o juvenil tem a sua largura aumentada e passa por novas ecdises com formação dos estádios juvenis J3 e J4 e finalmente os adultos, macho ou fêmea. A reprodução é na maioria das vezes partenogenética e alta percentagem de machos é produzida em condições adversas (Whitehead, 1997).

O corte longitudinal das raízes pode revelar fêmeas de corpo dilatado típicas do gênero em vários estádios de maturação, inclusive visíveis a olho nú. Pode ser observada também, a presença de um halo enegrecido ao redor da fêmea no interior da raiz (câmara da fêmea) (Zem, 1982b). Diferentes espécies de *Meloidogyne* podem ser observadas na mesma galha em raízes de bananeiras e também podem colonizar as camadas externas do rizoma (De Waele e Davide, 1998; Cofcewicz *et al.*, 2004b).

Para os nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp., os sintomas mais evidentes são as nodulações ou galhas de tamanhos variados que ocorrem nas raízes infectadas. Essas galhas podem ser diminutas ou atingir diâmetro superior a 15 mm e, algumas vezes podem ocorrer a formação de galhas no ápice das raízes. Segundo De Waele e Davide (1998), *M. javanica* causa amarelecimento e estreitamento das folhas, redução do crescimento das plantas e da produção de frutos.

Embora essas espécies sejam de hábito sedentário, sua permanência no solo dificulta muito o manejo. Apesar dos danos causados serem menos notáveis do que os causados por nematoides migradores, as espécies *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*, mostraram-se altamente prejudiciais à bananeira, que apresentou alta hospedabilidade a estas espécies, o que não ocorreu com *M. hapla* (Jonathan *et al.*, 1999).

A dificuldade em estabelecer-se o nível de dano para cada espécie de *Meloidogyne* em bananeiras em campo é devido à ocorrência conjunta de várias espécies no mesmo campo e até mesmo em uma mesma planta. Contudo, sabe-se que diferentes tipos de solos e práticas culturais podem influenciar a importância desse nematoide na cultura. Costa (1997), em solos de textura leve e baixa fertilidade na

região de Petrolina, PE, verificou que densidades elevadas de *M. incognita* causaram a morte das raízes e impediram a absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente os cachos não atingiram a maturação, ou esta foi atrasada com amadurecimento desuniforme dos frutos, além disso, os cachos eram pequenos, de baixo peso, com menor número de frutos, menor peso de pencas e baixo rendimento por área, quando comparados com valores médios obtidos para a cultura.

Espécies de *Meloidogyne* geralmente ocorrem associadas a outras espécies de nematoides parasitas de plantas, como *R. similis* e *P. coffeae* por exemplo, os quais tendem a ser mais numerosos e, as vezes, substituir as populações dos nematoides das galhas, já que os sítios de alimentação estabelecidos estes são incompatíveis com os danos causados por nematoides migradores. Na ausência do nematoide cavernícola e do nematoide das lesões radiculares, os danos por *Meloidogyne* spp., tendem a ser mais evidentes (De Waele e Davide, 1998). No estado de São Paulo, Dinardo-Miranda e Teixeira (1996) observaram altas populações de *M. arenaria* em oito cultivares de bananeira dos Grupos AAA e AAB. Os autores salientaram que embora sejam considerados de importância secundária, os nematoides das galhas podem atingir densidades populacionais elevadas e tornarem-se limitantes à produção de banana em áreas infestadas.

Geralmente endêmicos em áreas de bananais (Zem, 1982b), o nematoide das galhas parasitas de bananeiras possuem entre os seus hospedeiros diversas plantas daninhas de ocorrência comum nas áreas cultivadas com banana (Gowen e Quénehervé, 1990).

O nematoide cavernícola - *Radopholus similis*

Radopholus similis (Cobb, 1893) Thorne 1949 foi inicialmente observado em raízes de bananeira nas Ilhas Fiji, em 1891, e identificado pela primeira vez no Brasil em 1959, em Juquiá, SP parasitando raízes de bananeira 'Nanica' (Carvalho, 1959). Atualmente encontra-se disseminado em vários estados brasileiros. O nematoide cavernícola é considerado o principal nematoide da bananeira e, ocorre na maioria das regiões produtoras do mundo, porém ainda não foi relatado em alguns cultivos de regiões da África, América Central, Àsia e Mediterrâneo (O'bannon, 1977; Gowen, 1979; Gowen e Quénehervé, 1990; Sarah *et al.*, 1996). Marin *et al.* (1998) relataram a

ocorrência de *R. similis* em mais de 80 países com maior dispersão nas zonas tropicais e subtropicais em que se cultiva banana, sendo considerado o nematoide mais nocivo às espécies de *Musa* (Stover & Simmonds, 1987; Sarah *et al.*, 1996).

Acredita-se que a distribuição do nematoide cavernícola em todo o mundo resultou da distribuição de material propagativo infectado (Gowen, 1993; Bridge, 1996; O'Bannon, 1977; Hahn *et al.*, 1996a; Price, 2000; Cares & Andrade, 2006). Possivelmente, a introdução de cultivares do subgrupo Cavendish, que substituiu a cultivar mais susceptível ao mal-do-Panamá (Gros Michel), contribuiu para a dispersão mundial desse nematoide (Gowen e Quénehervé, 1990).

As plantas infectadas apresentam-se amareladas, o lançamento do cacho pode ser abortado e, quando ocorre, os frutos não desenvolvem completamente. O sistema radicular é reduzido, e na superfície do rizoma são observadas necroses castanho-avermelhadas. Plantas suscetíveis infectadas com altas populações do nematoide tombam devido à destruição do sistema radicular, pela ação migratória do nematoide e por infecções posteriores por fungos e bactérias oportunistas. Ocasionalmente, os nematoides podem também migrar para o rizoma e causar lesões escuras e contínuas ao redor do mesmo.

R. similis é uma espécie endoparasita migradora, capaz de completar seu ciclo de vida dentro do córtex das raízes. Juvenis e fêmeas adultas são formas ativas móveis, que em condições adversas podem sair das raízes e posteriormente invadir raízes sadias (Sarah *et al.*, 1996). A penetração dos juvenis (J2, J3, J4) e da fêmea adulta ocorre próximo às extremidades das raízes, mas podem penetrar ao longo de todo comprimento da raiz. Após penetrar nas raízes, migram intracelularmente no parênquima cortical onde se alimentam do citoplasma de células parenquimáticas e levar à formação de cavidades às quais coalescem dando um aspecto de canais, sendo assim denominado “nematoide cavernícola”. O nematoide fica restrito ao córtex, mas algumas vezes pode atingir o cilindro central. Dentro dos tecidos infectados, as fêmeas depositam 4 a 5 ovos por dia, por duas semanas (Blake, 1972). O ciclo de vida completo de ovo a ovo é de 20 a 25 dias nas raízes e rizomas (Sarah *et al.*, 1996). A reprodução ocorre pela fertilização cruzada (anfimítica) (Van Weerd, 1960; Rivas & Román, 1985) ou partenogênica (Brooks & Perry, 1962; Huettel & Dickson, 1981). Kaplan e Opperman (2000) relataram que a autofertilização pode ocorrer 50 a 60 dias após a quarta ecdise em fêmeas que não tenham cruzado com um macho. As fêmeas são parasitas, em contraste com os machos que têm o sistema digestivo degenerado e são considerados não

parasitas. Este nematoide não possui em seu ciclo de vida nenhuma fase resistente às condições adversas ou adaptação especial que permita sua sobrevivência na ausência de hospedeiros. Entretanto, sendo uma espécie altamente polífaga, pode sobreviver por longos períodos em uma área agrícola. A sobrevivência de *R. similis* em solos de bananais, depende da presença do hospedeiro, podendo sobreviver nos rizomas e raízes vivas por um longo período tempo. A infecção e reprodução são favorecidas por temperaturas que variam entre 24 e 32 °C, sendo que a temperatura ideal para reprodução é em torno de 30 °C e não reproduz em temperaturas abaixo de 16 °C, nem acima de 33° C (Sarah *et al.*, 1996).

R. similis possui cerca de 300 espécies hospedeiras e, de acordo com Holdeman (1986) citado por Costa (2003), entre as de importância econômica estão o abacate, açafraão, banana, café, cana-de-açúcar, chá, citros, coqueiro, fruta-do-conde, gengibre, goiaba, palmeiras, pimenta-do-reino e pinha. No Brasil tem sido encontrado principalmente em banana e esporadicamente em alguns outros hospedeiros, como anonáceas e gengibre. Entretanto, pesquisas de reação de plantas da mesma espécie ao nematoide cavernícola apresentaram resultados discordantes sendo, portanto, sugerido que nas pesquisas de hospedabilidade a *R. similis* considere-se a cultivar da planta utilizada e, que devido à variabilidade do nematoide, as pesquisas sejam feitas em cada localidade com populações locais de *R. similis* (Inomoto, 1994).

A diversidade biológica entre populações de *R. similis* tem sido demonstrada por estudos morfológicos, citogenéticos, gama de hospedeiras, reprodução e potencial de danos (Du Charme & Birchfield, 1956; Ayala & Román, 1963; Wehunt & Edwards, 1968; Edwards & Wehunt, 1971; Pinochet & Ventura, 1977; Román, 1978; Huettel & Dickson, 1981a,b; Tarté *et al.*, 1981; Huettel *et al.*, 1982a,b; Rivas & Román, 1981, 1985; Fogain & Gowen, 1995; Elbadri, 2000).

Vários termos têm sido usados para descrever variantes intraespecíficas dos nematoides, por exemplo, biótipo, patótipo, raça e estirpe. O uso do termo patótipo foi recomendado (Dropkin, 1988). Triantaphyllou (1987) sugeriu que o termo biótipo seja utilizado para caracterizar nematoides, em função de suas capacidades parasíticas. Sturhan (1971) utiliza o termo 'raça', para populações que diferenciam nas características morfológicas, ecológicas, fisiológicas e principalmente na sua gama de hospedeiras. Trudgill (1991) descreveu a patogenicidade como a capacidade de causar doenças ou danos e, a virulência como a capacidade de superar / suprimir genes de resistência.

Variações morfológicas, reprodutivas e patogênicas, indicam a existência de diferentes biótipos ou patótipos entre isolados de populações de *R. similis* (Pinochet & Rowe, 1979; Tarté *et al.*, 1981; Sarah *et al.*, 1993; Fallas *et al.*, 1995; Costa, 2003). Testes realizados entre três isolados de *R. similis* provenientes de bananais de Cuba, Brasil e Costa Rica, na cultivar ‘Grande Naine’, demonstraram que o isolado de Cuba possui uma capacidade reprodutiva maior do que o da Costa Rica, enquanto que o brasileiro ocupou posição intermediária (Costa *et al.*, 2003a). Costa *et al.* (2005a) observaram maior velocidade de reprodução e agressividade nas populações de Cuba, Bahia e Minas Gerais comparando com da Costa Rica, a qual necessitou de um nível populacional bem maior para induzir sintomas e danos. Na cultivar ‘Grande Naine’, populações provenientes da Bahia e Cuba foram mais agressivas do que aquelas provenientes de Santa Catarina, São Paulo e Austrália (Costa, 2004).

Danos e perdas causados por nematoides

A destruição dos tecidos das raízes das plantas afeta a absorção de água e nutrientes e enfraquece o sistema de ancoragem da planta. Em geral, os danos por fitonematoides em bananais são diretamente proporcionais ao tamanho das populações e ocorreu redução do tamanho, peso e atraso na maturação dos cachos, pouco perfilhamento e morte das plantas (Costa *et al.*, 1998), porém pouco se conhece sobre os danos econômicos relacionados à maioria dos nematoides parasitas de plantas. Entretanto, sabe-se que o nível populacional da espécie do nematoide, a suscetibilidade da cultivar utilizada, o tipo de solo e as condições climáticas, determinam o nível do dano econômico.

Quanto a *Radopholus similis*, além das perdas quantitativas e qualitativas, perdas indiretas são registradas, como por exemplo, maiores gastos com fertilizantes para compensar a redução do crescimento das plantas; maiores investimentos com outros insumos e mão de obra para evitar o tombamento de plantas e perda da produção. Dentre estas perdas, a considerada mais significativa é a limitação do uso da terra em áreas infestadas, quando medidas rigorosas são adotadas para viabilizar a formação de nova cultura produtiva como o pousio, aquisição de mudas sadias, tratamento químico das covas, etc. (Ferraz, 1995).

De acordo com Gowen & Quénéhervé (1990), não existe um limiar populacional de *R. similis* comum que leve a dano econômico em bananeiras. No Brasil, os níveis populacionais são semelhantes aos de Honduras, Panamá, Equador, Costa Rica e outros países, onde níveis de 20.000 nematoides/100 g de raízes, ou maiores, são determinados com frequência (Zem *et al.*, 1982; Jaehn, 1993), o que torna elevada a expectativa de danos severos e conseqüentemente perdas econômicas.

R. similis não só ataca diretamente as raízes e rizomas de bananeiras e causa necroses dos tecidos, como também provoca rachaduras que facilitam a entrada de microrganismos secundários como fungos e bactérias, entre os quais *Cylindrocarpon musae*, *Acremonium stromaticum* e *Fusarium* spp. são comuns (Blacke, 1969; Booth & Stover, 1974; Sarah *et al.*, 1996). Fungos do gênero *Cylindrocladium* em bananeiras têm causado sintomas semelhantes aos de *R. similis* no oeste da Índia, o que indica uma associação sinérgica destes dois patógenos com aumento da severidade dos danos (Sarah *et al.*, 1996).

Fatores ambientais que afetam o parasitismo por nematoides em bananeira

Em bananeiras que se desenvolvem sob condições tropicais e subtropicais úmidas, as populações de nematoides são afetadas por fatores abióticos tais como o tipo de solo e a temperatura e, bióticos como o hospedeiro, estágio fenológico da planta, competição com outras espécies de nematoides e outros patógenos e pragas.

O parasitismo no sistema radicular da bananeira é diferente, quando comparado com o parasitismo de outras plantas perenes, devido ao hábito de crescimento das bananeiras, onde uma sucessão de novas raízes, revitalizadas e de vida curta é produzida. A combinação de solo pobre e nematoide pode resultar em nematoides e raízes concentradas na camada superficial do solo e dano mais severo. Na Costa do Marfim, relatou-se que, em solo orgânico, *H. multicinctus* é a espécie predominante, enquanto que em solo mineral predomina *R. similis* (Gowen e Quénéhervé, 1990).

Alternativas de manejo e controle de fitonematoides

Em geral, o manejo de nematoides é difícil, pois uma vez introduzidos em uma área agrícola é praticamente impossível a sua erradicação. Assim, a forma mais segura de controle é a adoção de medidas para evitar a introdução dos nematoides nas áreas de plantio o que pode ser feito por meio de mudas sadias produzidas em laboratório de biotecnologia com idoneidade técnica e comercial comprovada. Em adição, o plantio dessas mudas em solos nunca utilizados para o cultivo de bananeiras, ou em áreas de renovação onde práticas de pousio ou rotação de culturas são aplicadas por períodos de 6 a 12 meses. A utilização de mudas convencionais tratadas pela combinação de métodos de controle físicos e químicos é menos segura, porque não elimina totalmente o nematoide (Inomoto & Monteiro, 1991). Entretanto reduz a população dos nematoides, principalmente os endoparasitas, por ser um método fácil e de baixo custo.

Para a cultura da bananeira, o método de controle mais frequentemente usado é o químico, onde se utiliza principalmente nematicidas organofosforados e carbamatos, registrados pelo Ministério da Agricultura e cadastrados nas Secretarias Estaduais de Agricultura. É recomendada a alternância de diferentes produtos (Sarah et al, 1996), porque o uso repetido das mesmas formulações na superfície do solo leva a aceleração natural da biodegradação dos nematicidas, com conseqüente decréscimo na eficiência de controle de nematoides (Araya e Lakhi, 2004). Uma metodologia de aplicação de nematicida sistêmico em bananeira foi desenvolvida por Moreira (1981), que consiste na abertura de buracos com o uso de um desbastador “Lurdinha” nos perfilhos eliminados e também na base do pseudocaulo da planta recém-colhida. Os nematicidas são na maioria das vezes controladores razoáveis de nematoides em bananeiras, mas são onerosos, altamente tóxicos e podem causar danos ao homem e ao meio ambiente.

Até o momento, o controle biológico dos nematoides em bananeira não tem recebido a devida atenção por parte dos pesquisadores. No entanto, algumas pesquisas têm demonstrado o potencial de microrganismos, como fungos predadores, fungos endofíticos, rizobactérias e da bactéria *Pasteuria penetrans*, no controle de nematoides em bananeira (Aalten et al., 1998; Ribeiro et al., 2003; Stolf, 2006). Apesar da existência desses parasitas e predadores dos nematoides, esta prática tem encontrado pouca aplicabilidade em campo devido à dificuldade da produção em massa desses organismos (Reyes & Davide, 1979).

Uso de cultivares resistentes

Cultivares e/ou híbridos resistentes á fitonematoides é dentre todos os métodos de controle uma estratégia promissora para controle de nematoides (Speijer e Waele, 1997) por ser a medida mais econômica e viável para o produtor (Stover & Buddenhagen, 1986; Buddenhagen, 1987; Pinochet, 1988). Esta abordagem inclui a identificação de fontes de resistência que podem então ser utilizadas em programas de melhoramento genético clássico (Gowen, 1976).

Resistência a nematoides endoparasitos sedentários (*Meloidogyne*, *Heterodera* e *Globodera*) vem sendo identificada com maior frequência, onde a relação planta-patógeno é mais especializada (Cook & Evans, 1987; Roberts, 1992; De Waele, 1996).

A resistência genética de *Musa* spp. a *Radopholus similis* é relatada em alguns diploides e triploides de banana “Pisang Jari Buaya” (*Musa* AA) (Pinochet & Rowe, 1978), Yangambi km 5 (*Musa ibiota* AAA) (Sarah *et al.* 1992; Fogain & Gowen, 1997) e Kunnan (*Musa* AB) (Collingborne & Gowen, 1997). A maioria dos cultivares comerciais é suscetível aos nematoides da bananeira, mas, segundo Costa (1998), fontes de resistência a *R. similis* foram encontradas nos genótipos ‘Niyarma Yik’, ‘NBA-14’, ‘Malbut’, ‘Cici’, ‘Mambee Thu’, ‘Yangambi Km 5’, ‘F3P4’, ‘Fako Fako’, ‘Jambi’, ‘Nº 118’, ‘PA Songkla’, ‘Thap Maeo’, ‘FHIA-18’, ‘FHIA-1’ e ‘Pacovan Ken’, quando desenvolvia um trabalho em busca de fontes de resistência a *R. similis* no banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Barker (1993) dá uma visão geral das diferentes terminologias relativas à resistência e tolerância. Um genótipo suscetível aos nematoides permite-os reproduzir livremente e resulta em danos à sua hospedeira. Trudgill (1991) descreve a resistência como os efeitos de genes de plantas que restringem ou impedem a multiplicação do nematoide que conseqüentemente não resulta em danos à hospedeira. Tolerância é independente da resistência e se relaciona com a capacidade de uma planta hospedeira para resistir ou recuperar dos efeitos nocivos do ataque do nematoide. A planta hospedeira pode suprimir (resistência) ou permitir (susceptibilidade) o desenvolvimento e reprodução do nematoide, ou podem sofrer danos mínimos (tolerância), mesmo quando completamente infectadas com nematoides, ou podem sofrer muitos danos (intolerância), mesmo quando forem relativamente pouco afetadas por nematoides.

Dentro de uma estratégia de manejo integrado de pragas, resistência de plantas parece ser o componente mais eficaz para reduzir as perdas de rendimento a baixo custo para o agricultor (Vuylsteke, 2000). Pinochet (1988a) também identificou resistência da planta hospedeira como a estratégia mais importante no controle de nematoides. Cultivares resistentes têm as vantagens da reprodução do nematoide ser inibida, serem produzidas sem resíduos tóxicos, sem aplicação de técnicas ou exigências de equipamentos especiais (como poderia ser o caso de aplicação de nematicidas ou controle biológico) e não há custo adicional para o produtor, o que não acontece se as cultivares não forem resistentes (Cook & Evans, 1987; Trudgill, 1991; Boerma & Hussey, 1992).

Cultivares resistentes a nematoides são geralmente desenvolvidas pela seleção de plantas com reduzidas taxas de reprodução do nematoide (Starr *et al.*, 2002). Contudo, a resistência é uma característica muito específica e só poderia ser eficaz contra uma espécie de nematoide ou um mesmo patótipo. A resistência não pode ser duradoura se as espécies de nematoides-alvo tiverem um alto grau de variabilidade genética (Starr *et al.*, 2002).

Fitonematoides ocorrem em comunidades multiespecíficas, geralmente com uma espécie dominante. Problemas encontrados com o uso em longo prazo de cultivares resistentes incluem mudanças na composição de espécies de nematoides, quando diversas espécies ocorrem juntas no mesmo campo (Fassuliotis, 1987; Young, 1992). Portanto, é desejável a resistência a várias espécies de nematoides.

Bananas e plátanos cultivados como cultura de subsistência nas regiões tropicais são portadoras de grande diversidade genética e, portanto com maiores possibilidades de encontrar cultivares resistentes (Bridge, 2000). Como as exigências de qualidade dos consumidores locais nos países tropicais produtores de banana são menores em comparação com as exigências do mercado de exportação, as chances de sucesso no melhoramento para resistência a nematoides são maiores nos países tropicais (Ortiz *et al.*, 1995; Gowen, 1996).

A resistência pode ser monogênica (um único gene), oligogênica (poucos genes) ou poligênica (vários genes). Vanderplanck (1963) fez uma distinção entre a resistência vertical, que é a resistência ao patótipo específico e horizontal, que é eficaz contra todas as variantes do patógeno. Resistência vertical é controlada por poucos genes (1-3) e é identificada como interação planta-patógeno, gene-a-gene. Resistência horizontal é geralmente poligênica com vários genes menores com efeitos aditivos que dão um nível

quantitativo de resistência. Resistência quantitativa tende a ser mais durável (Roberts, 2002). Durabilidade é a capacidade de uma cultivar resistente permanecer resistente mesmo durante o cultivo generalizado por um longo período em um ambiente favorável ao patógeno (De Waele, 1996). A baixa durabilidade de uma cultivar resistente muitas vezes resulta do manejo inadequado.

A busca da resistência depende da variabilidade genética da planta hospedeira e da variabilidade existente entre as populações dos nematoides. A base genética da resistência a *R. similis* em bananeira ainda não foi estabelecida, no entanto, há estudos que demonstram que a resistência de alguns genótipos de *Musa* a *R. similis* é controlada por um ou poucos genes (Pinochet *et al.*, 1998). Moens *et al.* (2002) avaliando a progênie resultante do cruzamento de ‘Pinsang Berlin’ e ‘Calcutta 4’, observaram que existe segregação em relação à resistência á nematoides. Dochez *et al.*, (2004) constataram que a resistência era controlada por dois genes dominantes A e B, ambos com efeitos aditivos e interativos, por meio do qual o recessivo bb suprime o dominante A, quando avaliaram a progênie dos híbridos diploides TMB2 x 6142-1 e TMB2 x 8075-7.

A caracterização molecular da diversidade genética pode fornecer dados úteis para os programas de melhoramento, com possibilidade de cruzamento de materiais divergentes com finalidade de recombinações gênicas mais favoráveis (Teixeira, 2007). Os marcadores moleculares, além de outras finalidades, são utilizados para a obtenção de mapas genéticos (Carrel, 1999; Lagoda, 1999) e identificação de marcadores úteis para seleção indireta de características de interesse (Milach, 1998).

Santos (2011), através do uso de marcadores moleculares SSR e RAPD, caracterizou 11 genótipos em nível molecular para os fenótipos de resistência aos nematoides *R. similis*, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, e verificou que ambos os marcadores RAPD e SSR mostraram variabilidade genética entre os acessos de bananeira estudados, abrindo assim uma boa perspectiva para futuros trabalhos de mapeamento genético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AALTEN, PM; VITOUR, D; BLANVILLAIN, D; GOWEN, SR; SUTRA, L. Effect of rhizosphere fluorescent *Pseudomonas* strains on plant-parasitic nematodes *Radopholus similis* and *Meloidogyne* spp. **Letters in Applied Microbiology** 27: 357-361. 1998.

AGRIOS, GN. **Plant pathology**. San Diego: Academic Press. 635 p. 1997.

AMORIM, EP, REIS, RV, AMORIM, VBO, SANTOS-SEREJO, JA; SILVA, SO. Variabilidade genética estimada entre diploides de banana por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 43:1045-1052. 2008.

ARAYA, M; LAKHI, A. Response to consecutive nematicide applications using the same preproduct in *Musa* AAA cv. Grande Naine originated from in vitro propagative material and cultivated in virgin soil. **Nematologia Brasileira** 28: 55-61. 2004.

AYALA, A; ROMÁN, J. Distribution and host range of the burrowing nematode in Puerto Rican soils. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico** 47: 28-37. 1963.

BARKER, KR. Resistance/tolerance and related concepts/terminology in plant nematology. **Plant Disease** 77: 111-113. 1993.

BLAKE, CD. Nematode diseases of banana plantations. In: Webster (Ed), **Economic nematology** 245-267. 1972.

BLAKE, CD. Nematodes of bananas and their control. Pp. 109-132 in *Nematodes of tropical crops* (Peachey JD, ed.). **Technical Commonwealth Bureau**, St. Albans, Herts, England. 1969.

BOERMA, HR; HUSSEY, RS. Breeding plants for resistance to nematodes. **Journal of Nematology** 24: 242-252. 1992.

BOOTH, C; STOVER, RH. *Cylindrocarpon musae* sp. Nov., commonly associated with burrowing nematode *R. similis* lesions on bananas. **Transaction of British Mycological Society** 63: 503-507. 1974.

BRIDGE, J; FOGAIN, R; SPEIJER, P. The root lesion nematodes of banana, *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipje e Schu., 1941 and *Pratylenchus goodeyi* Sher e Allen, 1953. **Musa Pest Fact Sheet** n° 2.1997.

BRIDGE, J. Nematodes of bananas and plantains in Africa: research trends and management strategies relating to small-scale farmer. In: Craenen K, Ortiz R, Karamura EB & Vuylsteke DR (Eds). Proceedings of the First International Conference on Banana and Plantain for Africa. **Acta Horticulturae** 540: 391-408. 2000.

BROOKS, TL; PERRY, VG. Apparent parthenogenetic reproduction of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne. **Soil Crop Science of Society of Floride** 22: 160-162. 1962.

BUDDENHAGEN, IW. Disease susceptibility and genetics in relation to breeding of bananas and plantains. In: Persley GJN & De Langhe EA. (Ed.). Banana and plantain breeding strategies: Proceedings of an International Workshop Held at Cairns, Australia: **ACIAR Proceedings** 95-109. 1986

CARES, JE; ANDRADE, EP. Taxonomia do gênero *Radopholus*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, 14: 113-149. 2006.

CARVALHO, JC. O nematóide cavernícola e o seu aparecimento em São Paulo. **Biológico** 25: 195-198. 1959.

CHAMPION, J. Les bananiers et leur culture. **Botanique et genetique**. Tome I. FAC, Paris. p. 214. 1967.

COFCEWICZ, ET; CARNEIRO, RMDG; CATAGNONE-SERENO, P; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotype and genetic diversity of root-knot nematode parasitizing *Musa* in Brazil. **Nematology** 6: 85-95. 2004a.

COFCEWICZ, ET; CARNEIRO, RMDG; CORDEIRO, CMT; QUÉNÉHERVÉ, P; FARIA, JLC. Reação de cultivares de bananeira a diferentes espécies de nematóides das galhas. **Nematologia Brasileira** 28: 11-22. 2004b.

COFCEWICZ, ET; CARNEIRO, RMDG; RANDIG, O; CHABRIER, C; QUÉNÉHERVÉ, P. Diversity of *Meloidogyne* spp. on *Musa* in Martinique, Guadeloupe and French Guiana. **Journal of Nematology** 37: 313-322. 2005.

COLLINGBORN, FMB; GOWEN, SR. Screening of banana cultivars for resistance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae*. International Network for Improvement in Bananas and Plantains. Montpellier: **Infomusa** 6: 3. 1997.

COOK, R; EVANS, K. Resistance and tolerance. In: Brown RH & Kerry B. (Eds.). Orlando: Academic Press. **Principles and practice of Nematode Control in crops** 179-231. 1987.

CORBANA - Corporación Bananera Nacional. Realidad bananera en Costa Rica. Disponível em: <<http://www.corbana.co.cr>>. 2000.

CORDEIRO, ZJM. Sigatoka negra no Brasil. **Informativo SBF** 17: 8-10, 1998.

COSTA, DC, CARES, JE, GOMES, AC; SHARMA, RD. Reprodução e patogenicidade de *Radopholus similis* em *Musa* spp. e *Citrus latifolia*. **Fitopatologia Brasileira** 30: 174-174. 2005.

COSTA, DC; SILVA, SO; ALVES, FR. Reação de genótipos de bananeira (*Musa* sp.) a *Radopholus similis* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira** 22: 49-56. 1998.

COSTA, DC; SILVA, SO; ALVES, FR; SANTOS, AC. Avaliação de danos e perdas à bananeira cv. Nanica causadas por *Meloidogyne incognita* na região de Petrolândia-PE. **Nematologia Brasileira** 21. p. 21, 1997.

COSTA, DC. Variabilidade patogênica e genética de *Radopholus similis* em genótipos de bananeira (*Musa* spp.) no Brasil. In: **Anais do 5º Simpósio Brasileiro de Bananicultura**. 114-121. 2003.

COSTA, DC. Variabilidade patogênica e genética de *Radopholus similis* em bananeira no Brasil. **Tese (Doutorado)**. Universidade de Brasília. 2004.

DANTAS, JLL; SHEPHERD, K; SILVA, SO; SOARES FILHO, WS. Classificação botânica, origem, evolução e distribuição geográfica. In: Alves, E.J. (Org.). **A cultura da banana, aspectos técnicos sócioeconômicos e agroindustriais**. EMBRAPA-CNPMF, Brasília. 1997.

DANTAS, JLL; SHEPHERD, K; SOARES FILHO, WS; CORDEIRO, ZJM; SILVA, SOE; SOUZA, AS. Citogenética e melhoramento genético da bananeira (*Musa* spp). **Documentos** nº 48. EMBRAPA-CNPMF. p. 61. 1993.

DE LANGHE, E. Banana and Platain: The earliest Fruit crops. In: **Inibap annual report** 6-8. 1996.

DE WAELE, D; DAVIDE, RG. The root-knot nematodes of banana, *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949, and *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. **Musa Pest Fact Sheet** nº 3. 1998.

DE WAELE, D. Plant resistance to nematodes in other crops: relevant research that may be applicable to *Musa*. In: Friston EA & Horry JP. New frontiers in resistance breeding for nematode. Fusarium and Sigatoba. **Proceedings of the Workshop Held in Kuala Lumpur** 108-115, 1996.

DIAS. MSC; RIBEIRO JÚNIOR. PM. Nematóides na Bananicultura. In: **Resumos do simpósio Norte Mineiro sobre a cultura da banana**. p. 279. 2001.

DINARDO-MIRANDA LL, TEIXEIRA LAJ. Hospedabilidade de oito cultivares de bananeira a fitonematóides. In: **Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura**. p. 72. 1996.

DONATO, SLR; SILVA, SO; LUCA, FO; LIMA, MB; DOMINGUES, H; ALVES, JS. Comportamento de variedades e híbridos de banana (*Musa* spp.), em dois ciclos de produção no sudoeste da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura** 28: 139-144.2006.

DROPKIN, V. The concept of race in *phytonematology*. **Annual Review of Phytopathology** 26: 145-161.1988.

DUCHARME, EP; BIRCHFIELD, W. Physiologic races of the burrowing nematode. **Phytopathology** 46: 615-616. 1956.

EDWARDS, DI; WEHUNT, EJ. Host range of *Radopholus similis* from banana areas of Central America with indications races. **Plant Diseases Reporter** 55:415-418.1971.

ELBADRI, GA. Diversity of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) (Nematoda: *Tylenchida*) **Tese**. University of Gent. p. 146. 2000.

EMBRAPA. Distribuição Geográfica de Nematóides no Brasil. 2002. Disponível em: <<http://icewall2.cenargen.embrapa.br:83/nemweb/nemhtml/nmbd02a.asp>>.

FALLAS, GA; SARAH, JL. Effect of temperatures of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. **Fundamental and Applied Nematology** 18: 445-449. 1995.

FAO. Food Agriculture Organization, Agricultural production; agriculture & food trade. 2003. Disponível em: <<http://www.fao.org>>.

FAO. Food and Agriculture Organization, 2010. Disponível em : <http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Mamao_Mundo_2008.pdf>

FASSULIOTIS, G. Genetic basis of plant resistance to nematodes. In: Veech JA & Dickson DW (Eds). Maryland: **Vistas on Nematology**. Society of Nematologists. 364-371. 1987.

FERRAZ, LCB. *Radopholus similis* em banana no Brasil: considerações gerais sobre o problema com ênfase aos danos causados à cultura. In: **Anais Congresso Internacional de Nematologia Tropical** 176 –185. 1995.

FERRAZ, LCCB; MONTEIRO, AR. Nematóides. In: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo. Agronômica Ceres. 168-201. 1995.

FOGAIN, R; GOWEN, SR. Damage to roots of Musa cultivars by *Radopholus similis* with and without protection of nematicides. **Nematropica** 27:27-32. 1997.

FOGAIN, R; GOWEN, SR. Pathogenicity on maize and banana among isolates of *Radopholus similis* from four producing countries of Africa and Asia. **Fruits** 50: 5-9. 1995.

GANRY, J. The STD project for improvement of bananas for local and export market. Pp. 11-19 in: CIRAD-FLHOR Breeding Banana and Plantain for Resistance to Diseases and Pests. **Proceedings of the international symposium on genetic improvement of bananas for resistance to diseases and pests**, p.7-9 1993.

GOWEN, SR; QUÉNÉHERVÉ, P. Nematode parasites of bananas, plantains and abaca. In: Luc M, Sikora RA & Bridge J. (Eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**, p.431-460. 1990.

GOWEN, SR. Nematode pathogens: Root-lesion nematodes. In: Jones DR (Ed.). **Diseases of banana, abacá and enset**, p.303-306. 2000.

GOWEN SR. Some considerations of problems associated with the nematode pests of bananas. **Nematropica** 9: 79-81. 1979.

GOWEN, SR. The sources of nematode resistance, the possible mechanism and potential for nematode tolerance in *Musa*. Pp. 45-49. In: New frontiers in resistance breeding for nematodes, *Fusarium* and Sigatoka. **Proceedings of the Workshop held in Kuala Lumpur**. 1996.

GOWEN, SR. Varietal Responses and prospects for breeding nematode resistant banana varieties. **Nematropica** 6: 45. 1976.

HAHN, ML; SARAH, JL; BOISSEAU, M; VINES, NJ; WRIGHT, DJ; BURROWS PR. Reproductive fitness and pathogenicity of selected *Radopholus* populations on two banana cultivars. **Plant Pathology** 45: 1-9. 1996.

HOLDEMAN, QL. The Burrowing Nematode: The Citrus Pathovar. **A report prepared for Division of Plant Industry, CDFa and Agricultural Commissioners of California**. p. 70. 1986.

HUETTEL, RN; DICKSON, DW. Karyology and oogenesis of *Radopholus similis* (Coob) Thorne. **Journal of Nematology** 13:16-20. 1981a.

HUETTEL, RN; DICKSON, DW. Parthenogenesis in the two races of *Radopholus similis* from Florida. **Journal of Nematology** 13:13-15. 1981b.

HUETTEL, RN; DICKSON, DW; KAPLAN, DT ; APT, WJ. Identification of the citrus and banana races of *Radopholus similis* from Hawaii. **Journal of Nematology** 14. p.466. 1982a.

HUETTEL, RN; DICKSON, DW; KAPLAN, DT. Sex attraction and behaviour in two races of *Radopholus similis*. **Nematologica** 28:360-369. 1982b.

INIBAP. International Network for the Improvement of Banana and Plantain. **Banana taxonomy**. 2004.

INOMOTO, MM; MONTEIRO, AR. Tratamento químico de mudas de bananeira "Nanicão" visando à erradicação de nematóides fitoparasitos. **Nematologia Brasileira** 15:85-93. 1991.

INOMOTO, MM. Reação de dez plantas ao nematóide cavernícola, *Radopholus similis*. **Nematologia Brasileira** 18: 21-27. 1994.

JAEHN, A. Controle de *Radopholus similis* em bananeira cv. Nanicão através de nematicidas. In: **Encontro de Bananicultores de Registro**. p. 21. 1993.

JONATHAN, EI; BARKER, KR; ABDEL-ALEEM, FF. Host status of banana for four major species and host races of *Meloidogyne*. **Nematologia Mediterranea** 27: 123-125. 1999.

KAPLAN, DT; OPPERMAN, CH. 2000. Reproductive strategies and karyotype of the burrowing nematode, *Radopholus similis*. **Journal of Nematology** 32: 126-133.

LOOF, PAA. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. In: **Manual of Agricultural Nematology**: 363-421. 1991.

MANICA, I. **Fruticultura tropical 4-Banana**. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 485 1997.

MARIN, DH; SUTTON, TB; BARKER, KR. Dissemination of bananas in Latin America and the Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radopholus similis*. **Plant Disease** 82: 964-974. 1998.

MCSORLEY, R; PARRADO, JL. *Helicotylenchus multicinctus* on bananas: Na international problem. **Nematropica** 16:73-91. 1986.

MOREIRA, RS. Combate à broca e aos nematóides de bananeiras. **O Agrônomo** 33:101-108. 1981.

O'BANNON, JH. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. **Journal of Nematology** 9: 16 – 25. 1977.

OLIVEIRA, SS; AMORIM, EP; SANTOS-SEREJO, JA. Estratégias para o melhoramento genético da bananeira. **XII Simpósio de Atualização em genética e Melhoramento de Plantas**. 2008.

ORTIZ, R; FERRIS, RSB; VUYLSTEKE, DR. Banana and plantain breeding. In: Gowen S. (Ed). **Bananas and Plantains**, p.110-146. 1995.

PINOCHET, J; ROWE, P. Reaction of two banana cultivars to three different nematodes. **Plant Disease Reporter** 62: 727-729. 1978.

PINOCHET, J; ROWE, PR. Progress in breeding for resistance to *Radopholus similis* on bananas. **Nematropica** 9: 76-77. 1979.

PINOCHET, J; VENTURA, O. Plant parasitic nematode nematodes associated with banana in Belize. **Tropical Agriculture** 54: 349-352. 1977.

PINOCHET, J. Nematode problems in *Musa* spp.: Pathotypes of *Radopholus similis* and breeding for resistance. Inibap Publication, 1987. In: Nematodes and the borer weevil in bananas. **Actes d'un séminaire tenu à Bujumbura** 66-70. 1988.

PLOETZ, R. **La más importante enfermedad de la fruta más importante; la sigatoka negra del banano**. 1999.

.

PRICE, NS. The biogeography of the banana nematodes *Radopholus similis* and *Pratylenchus goodeyi*. In: Craenen K, Ortiz R, Karamura EB and Vuylsteke DR (Eds). Proceedings of the First International Conference on Banana and Plantain for Africa. **Acta Horticulturae** 540: 431-440. 2000.

- REYES, TT; DAVIDE, RG. Fungi for biological control of plant parasitic nematodes. **Phillipines Phytopathology Society Bulletin** nº3. p. 53, 1979.
- RIBEIRO, RCF; RODRIGUES, TTMS; XAVIER, AA; GOMES, LIS. Ocorrência de fungos predadores de Nematóides sob solos de bananais, no norte de Minas Gerais. **Unimontes Científica** 5: 1-8. 2003.
- RIVAS, X; ROMAN, J. Caracterización de una población de *Radopholus similis* de Puerto Rico mediante estudios biológicos, morfológicos y citológicos. **Nematropica** 11: 89 - 99. 1981.
- RIVAS, X; ROMAN J. Investigations on the host range of a population of *Radopholus similis* from Puerto Rico. **Nematropica** 15: 165-170. 1985.
- ROBERTS, PA. Concepts and consequences of resistance. In: Starr JL, Cook R & Bridge J. (Eds). **Plant resistance to parasitic nematodes**, p. 23-41. 2002.
- ROBERTS, PA. Current status of the availability, development and use of host plant resistance to nematodes. **Journal of Nematology** 24: 213-227. 1992.
- ROMÁN, J. Nematodos del bananero y el platanero. In: Fitonematología Tropical. Mayaguez: **Estación Experimental de Rio Piedras** 93-111. 1978.
- SARAH, JL; PINOCHET, J; STANTON, J. The burrowing nematode of bananas, *Radopholus similis* Cobb, 1913. **Musa Pest Fact Sheet Nº 1**. Inibap, France. 1996.
- SARAH, JL; SABATINI, C; BOISSEAU, M. Differences in pathogenicity to banana (*Musa* sp., cv. Poyo) among isolates of *Radopholus similis* from different production areas of the world. **Nematropica** 23: 74-79. 1993.
- SASSER, JN; CARTER, CC. Overview of the international *Meloidogyne* Project (1975-1984). In: SASSER JN & CARTER CC. (Eds.). **An Advanced Treatise on Meloidogyne** 1: 19-24. 1985.
- SHEPHERD, K; DANTAS, JLL; ALVES, EJ. Melhoramento genético da bananeira. **Informe Agropecuário** 12: 11-19. 1986.
- SHEPHERD, K. Banana: taxonomia e morfologia. **Anais do 1º Simpósio Brasileiro Sobre Bananicultura**, p.50-74. 1984
- SHEPHERD, K. History and methods of banana breeding. In: **Report of the First External Program and Management Review of the International Network for the Improvement of Banana and Plantain** 108-110. 1992.
- SILVA, MCA; TARSITANO, MAA; BOLIANI, AC. Análises técnica e econômica da cultura da bananeira “maçã” (*Musa* spp.), na região noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura** 27:139-142.2005.
- SILVA, SO ALVES, EJ; LIMA, MB; SILVEIRA, JRS. Bananeira. In: Bruckner, CH. (Ed.). **Melhoramento de Fruteiras Tropicais**, p.101-157. 2002.

- SILVA, SO; MATOS, AP; ALVES, EJ. Melhoramento genético da bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 33: 693-703. 1998.
- SILVA, SO; MELLO VÉRAS, S; GASPAROTTO, L; MATOS, AP; CORDEIRO, ZJM; BOHER, B. Evaluation of *Musa spp.* For resistance to Moko disease (*Ralstonia solanacearum*, race 2). **Infomusa** 9: 10-20. 2000.
- SILVA, SOE; SHEPHERD, K; DANTAS, JLL; SOUZA, AS; CARNEIRO, MS. Germoplasma de banana. p.61-84. In: Alves, E.J. (Ed.). **A cultura da banana. Aspectos técnicos socioeconômicos e agroindustriais**. EMBRAPA-SPI, Brasília. 1997.
- SILVA, SOE; SHEPHERD, K; DANTAS, JLL; ALVES, EJ; BORGES, AL; FANCELLI, M; OLIVEIRA, SL; ALMEIDA, MA. Avanços do programa de pesquisa em *Musa* no CNPMF. **Documentos**, nº 65, Embrapa. 37p. 1996.
- SIMMONDS, NW. **Los platanos**. Barcelona: Blume, p. 539. 1973.
- SOUZA, JT; MAXIMINIANO, C; CAMPOS, VP. Nematóides associados a plantas frutíferas em alguns estados brasileiros. **Ciência e Agrotecnologia** 23: 353-357. 1999.
- SPEIJER, PR; DE WAELE, D. Screening of *Musa* germplasm for resistance and tolerance to nematodes. **Inibap Technical Guidelines**. p. 47. 1997.
- STARR, JL; BRIDGE, J; COOK, R. Resistance to plant-parasitic nematodes: history, current use and future potential. In: Starr JL, Cook R & Bridge J (Eds). **Plant resistance to parasitic nematodes**, p.1-22. 2002.
- STOFFELEN, R. Early screening of *Eumusa* and *Australimusa* bananas against root lesion and root-knot nematodes. **Dissertationes de Agricultura** N° 426. Katholieke Universiteit Leuven, Belgium. p.170. 2000.
- STOLF, EC. Efeito de re-inoculações de fungos endofíticos sobre o controle do nematóide cavernícola da bananeira (*Radopholus similis*). Universidade Federal de Santa Catarina. **Turrialba**. p. 50. 2006.
- STOVER, RH; BUDDENHAGEN, IW. Banana breeding: ploidy, disease resistance and productivity. **Fruits** 41:175-191. 1986.
- STOVER, RH, SIMMONDS, NW. **Bananas**. 3 Ed. USA. p. 468 . 1987.
- STURHAN, D. Biological races. In: Zuckerman BMBM, Mai WF, Rhode RA. (Ed.). New York : **Plant Parasitic nematodes**, p.51-71. 1971.
- TARTE, R; PINOCHET, J; GABRIELLI, C; VENTURA, O. Differences in population increase, host preferences and frequency of morphological variants among isolates of banana race *Radopholus similis*. **Nematropica** 11: 43-52. 1981.

TAYLOR, AL; SASSER, JN. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 111p. 1978.

TEZENAS, DU; MONTCEL, H. *Musa acuminata* subsp. *banksii* status and diversity. In: **Proceedings of Workshop on identification of genetic diversity in the genus *Musa***. INIBAP. p. 12. 1988.

TRANTAPHYLLOU, AC. Genetics of nematode parasitism of plants. In: Veech JA, Dickson DW. (Ed.). **Vistas on nematology** 354-363. 1987.

TRUDGILL, DL. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology** 29: 167-192. 1991.

VAN WEERDT, LG. Studies on the biology of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949. In: II. Embriology and post-embryonic development. **Nematologica** 5: 43-51. 1960.

VANDERPLANCK, JE. **Plant diseases: Epidemics and control**. Academic Press, New York, p.349. 1963.

VUYLSTEKE, D. Breeding bananas and plantain: from intractability to feasibility. In: Craenen K, Ortiz R, Karamura EB & Vuylsteke DR (Eds). Proceedings of the First International Conference on Banana and Plantain for Africa. **Acta Horticulturae** 540: 149-156. 2000.

WEHUNT, EJ; EDWARDS, EI. *Radopholus similis* and other species on bananas. In: Smart, GC & Perry VG. (Ed.). **Tropical Nematology Center for Tropical Agriculture**, p.1-19. 1968.

WHITEHEAD, AG. Sedentary Endoparasites of Roots and Tubers (*Meloidogyne* e *Nacobbus*). **Plant Nematode Control**, p.209-260. 1997.

YOUNG, LD. Problems and strategies associated with long-term use of nematode resistant cultivars. **Journal of Nematology** 24: 228-233. 1992.

ZEM, AC, RODRIGUES, JAS; ALVES, EJ; LORDELLO, LGE. Efeitos de nematicidas nas populações de nematóides e produção da bananeira "Nanicão". **Sociedade Brasileira de Nematologia** 6: 57-70. 1982.

ZEM, AC. Problemas nematológicos em bananeiras (*Musa* spp.) no Brasil (Contribuição ao seu conhecimento e controle). Piracicaba, 140 f. **Tese (Doutorado)**. Universidade de São Paulo (ESALQ). 1982.

CAPÍTULO 2

DETECÇÃO DE NEMATOIDES FITOPARASITAS ASSOCIADOS A BANANEIRAS TRIPLOIDES (AAA E AAB) E TETRAPLOIDES (AAAA E AAAB) CULTIVADAS EM ÁREAS EXPERIMENTAIS DE CINCO REGIÕES DO BRASIL

Detecção de nematoides fitoparasitas associados a bananeiras triplóides (AAA e AAB) e tetraplóides (AAAA e AAAB) cultivadas em áreas experimentais de cinco regiões do Brasil.

RESUMO

Vários genótipos de bananeira têm sido introduzidos e/ou desenvolvidos no Brasil pelo Programa de Melhoramento da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. Avaliações em campo desses genótipos quanto à incidência e severidade de doenças fúngicas e bacterianas de importância para a cultura têm sido realizadas, entretanto, para os nematoides fitoparasitas são inexistentes tais informações. Baseado no exposto, este trabalho teve por objetivo, detectar e identificar a associação natural de fitonematoides a diferentes genótipos de *Musa* triplóides (AAA e AAB) e tetraplóides (AAAA e AAAB) melhorados e/ou recomendados, cultivados em cinco áreas experimentais do Programa de Melhoramento de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizadas nas cinco regiões geográficas do Brasil: Região Norte (Acre), Região Nordeste (Pernambuco), Região Centro Oeste (Distrito Federal), Região Sudeste (São Paulo) e Região Sul (Santa Catarina). Em cada uma das regiões foram realizadas amostragens de solo e de raízes de aproximadamente 25 genótipos de bananeiras. As amostras de raízes foram divididas em duas partes. De uma parte das raízes, assim como do solo, foram extraídos os fitonematoides, os quais foram mortos, fixados e montados em lâminas semipermanentes para a identificação do gênero e espécies presentes. As raízes da outra parte foram trituradas e inoculadas em tomateiros 'Santa Cruz', com o objetivo de multiplicar o número de fêmeas de espécies de *Meloidogyne* presentes nas mesmas. Quarenta e cinco dias após a inoculação, as plantas de tomateiro foram retiradas dos vasos e seus sistemas radiculares lavados e corados com solução de floxina B, para melhor visualização das massas de ovos e extração de fêmeas individuais para a identificação de espécie de *Meloidogyne* via fenótipo de esterase. Observou-se a predominância de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* na maioria dos genótipos de todas as áreas amostradas, seguidos de *Helicotylenchus* spp., *Rotylenchulus reniformis*, *Radopholus similis*, *Scutellonema* sp. e *Criconemoides* sp.

Palavras-chave: *Musa*, *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria*.

Detection of plant-parasitic nematodes associated with bananas triploid (AAA and AAB)and tetraploid (AAAAandAAAB)grown in experimental plots in five regions of Brazil.

ABSTRACT

Several banana genotypes have been introduced and/or developed in Brazil by the Banana Breeding Program of Embrapa Mandioca e Fruticultura, in Cruz das Almas, Bahia. Field-level assessments of these genotypes on the incidence and severity of fungal and bacterial diseases of importance to the culture have been conducted, however, to plant-parasitic nematodes is lacking such information. Based on the foregoing, this study aimed to detect natural association of nematodes to different genotypes of *Musa* triploid (AAA and AAB) and tetraploid (AAAB and AAAA) cross bred and/or recommended by Embrapa, grown in plots of five experimental areas of the Banana Breeding Program of Embrapa Mandioca e Fruticultura, located in five geographic regions of Brazil: Northern Region (Acre State), Northeastern (Pernambuco State), Mid-western Region (Distrito Federal), Southeastern (São Paulo State) and Southern (Santa Catarina State).

From each region soil and roots were sampled of approximately 25 banana genotypes. Root samples were divided into two parts. From one part, plant-parasitic nematodes were extracted, and from soil as well. After nematode death and fixation, semi-permanent slides were mounted for identification at genus and species level. The roots of the second parte were crushed and inoculated on root system of tomato ‘Santa Cruz’, aiming to increase the number of females of *Meloidogyne* species present in those areas. Forty-five days after inoculation, tomato plants were removed from the pots, their root systems washed and stained with floxin B solution, for better visualization of egg masses and individual females extraction for identification of *Meloidogyne* species by esterase phenotype.

For most genotypes of all sampled areas there was a dominance of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*, followed by *Helicotylenchus* spp., *Rotylenchulus reniformis*, *Radopholus similis*, *Scutellonema* sp. and *Criconemoides* sp.

Keywords: *Musa*, *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria*.

INTRODUÇÃO

A detecção de nematoides fitoparasitas em culturas de importância econômica, é fundamental para o planejamento de medidas integradas de controle, levando em conta as particularidades de cada região e de cada cultura (Roese *et al.*, 2001). Na cultura da bananeira, as principais espécies fitoparasitas são *Radopholus similis* (Cobb, 1919) Goodey, 1933, diversas espécies de *Meloidogyne* spp. *Helicotylenchus* spp., *Pratylenchus* spp. e *Rotylenchulus reniformis* (Gowen & Quénehervé, 1990). As perdas causadas por nematoides em bananeiras são elevadas e podem atingir até 100% em áreas muito infestadas e sem emprego de medidas adequadas de controle (Zem, 1981, 1982).

Os nematoides das galhas são descritos dentro do gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1987 que compreende mais de 80 espécies. Algumas delas se associam às raízes de bananeira e levam a perdas na cultura, com destaque para *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, que estão amplamente distribuídas nas áreas de produção (Cordeiro, 1995; Cofecewicz *et al.*, 2004) e são capazes de invadir as raízes de bananeiras e plantas daninhas em campos cultivados (Gowen e Quénehervé, 1990; De Waele, 2000).

A caracterização de espécies é baseada principalmente nas características morfológicas dos machos, dos juvenis de segundo estádio, e das fêmeas (Eisenback & Hirschmann, 1979; Eisenback *et al.*, 1980). Informações a respeito da gama de hospedeiras e especificidade de hospedeiras também são incluídas na descrição original de algumas espécies.

Em fêmeas adultas, uma das principais técnicas utilizadas mundialmente para a identificação de espécies de *Meloidogyne* é a configuração do padrão perineal (Ferraz e Monteiro, 1995), região esta que consiste da estrutura formada pelas dobras cuticulares da fêmea em volta do ânus e da vulva, característico e diferente para cada espécie (Carneiro e Almeida, 2001). Essa técnica foi utilizada pela primeira vez num trabalho desenvolvido por Chitwood em 1949, onde foram identificadas cinco novas espécies de *Meloidogyne*, e estas foram posteriormente confirmadas por Sasser em 1954 por meio da mesma técnica. No entanto, caracterização e identificação com base em métodos morfológicos como este, podem ser dificultadas pela considerável variação dos caracteres entre indivíduos de uma mesma espécie como ocorre em *Meloidogyne* spp. (Carneiro & Almeida, 2001), pois, dentro de uma mesma espécie ocorre uma série de

variações nas configurações dos padrões perineais, o que sugere à aplicação de outras ferramentas que auxiliem na identificação e caracterização desses organismos. Além disso, a precisão e confiabilidade da identificação por meio da descrição das características morfológicas de espécies de *Meloidogyne* constitui uma tarefa árdua mesmo para os taxonomistas qualificados com especialidade no gênero (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990).

Nos últimos 30 anos, vários estudos bioquímicos com proteínas solúveis já foram realizados, e tem mostrado que várias espécies de nematoides das galhas podem ser diferenciadas pelos fenótipos enzimáticos obtidos através de eletroforese em gel de poliacrilamida (Bergé & Dalmaso, 1975; Janati *et al.*, 1982; Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; Fargette, 1987; Pais & Abrantes, 1989; Carneiro *et al.*, 1996; Carneiro & Almeida, 2001).

Muitas técnicas moleculares têm sido identificadas como ferramentas valiosas para identificação de espécies e caracterização isolada do nematoide das galhas (Hyman, 1996). Em 1971, foram desenvolvidas pela primeira vez pesquisas com emprego de isoenzimas na sistemática de nematoides das galhas, onde foram identificadas cerca de 30 enzimas em várias espécies de *Meloidogyne*. No entanto, apenas as enzimas Esterase, Malato Desidrogenase, Superóxido dismutase e Glutamato oxaloacetato transaminase despertaram interesse do ponto de vista taxonômico, e espécies como *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* apresentam fenótipos isoenzimáticos que possibilitam a sua diferenciação entre si (Charchar, 1997).

Vários genótipos de bananeira tem sido introduzidos e/ou desenvolvidos no Brasil pelo Programa de Melhoramento da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. Avaliações em campo desses genótipos quanto à incidência e severidade das doenças fúngicas e bacterianas de importância para a cultura têm sido realizadas, entretanto, para os nematoides fitoparasitas são inexistentes tais informações. Baseado no exposto, este trabalho teve como objetivo, detectar e identificar a associação natural dos fitonematoides a diferentes genótipos de *Musa* triploides (AAA e AAB) e tetraplóides (AAAA e AAAB) melhorados e/ou recomendados, cultivados em cinco áreas experimentais do Programa de Melhoramento de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizadas em estados das cinco regiões geográficas do Brasil: Norte (Acre), Nordeste (Pernambuco), Centro Oeste (Distrito Federal), Sudeste (São Paulo) e Sul (Santa Catarina).

Material e Métodos

Aproximadamente 25 genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAA e AAAB) plantados em delineamento em blocos casualizados com três repetições, encontram-se distribuídos em 20 localidades em todo o país em fase final de avaliação pelo Programa de melhoramento genético da banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cinco áreas experimentais foram selecionadas para a avaliação quanto a associação com fitonematoides em campo (Tabela 1), localizadas em estados das cinco regiões geográficas do Brasil: Norte (Acre), Nordeste (Pernambuco), Centro Oeste (Distrito Federal), Sudeste (São Paulo) e Sul (Santa Catarina).

Coletas de amostras de raízes e de solo da rizosfera de bananeiras

Amostras simples de raízes e solo foram coletadas a uma profundidade de 20 cm em quatro pontos ao redor das plantas de cada genótipo de bananeira em cada bloco. Após a coleta, com uma mistura dessas amostras foi obtida uma amostra composta de raízes (500 g) e uma de solo (300 cc) e encaminhadas ao Laboratório de Nematologia/LQV da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia localizado em Brasília/DF.

Extração, quantificação e identificação dos fitonematoides

Para a extração dos nematoides das amostras de raízes, estas foram divididas em partes iguais de 250 g, sendo que uma parte foi triturada em liquidificador (Coolen & D'Herde, 1972) e a suspensão obtida foi inoculada em plantas de tomateiro “Santa Cruz”, para multiplicação e posterior identificação via perfil enzimático de esterase das espécies de *Meloidogyne* associadas aos diferentes genótipos. A outra parte das amostras de raízes (250 g) e solo (100 cc) procedeu-se a extração de nematoides seguindo as metodologias de Coolen & D' Herde (1972) e Jenkins (1964) respectivamente. Os nematoides foram mortos a 70 °C durante 1 minuto e fixados com FAA 4% .

A quantificação da população total dos fitonematoides foi realizada com auxílio de câmara de Peters, procedendo-se a contagem dos fitonematoides em 1 ml de amostra

por duas vezes, sendo obtida a média de fitonematoides por ml, extrapolada para o volume total da suspensão. Para a contagem e identificação dos espécimes de cada táxon sob microscópio estereoscópio, foram montadas lâminas semipermanentes, e então calculado o número e a porcentagem de indivíduos de cada táxon presentes em 2 ml da suspensão e estimando o total para cada amostra de raízes e solo. A identificação dos espécimes foi realizada de acordo com Mai e Mullin (1996).

Tabela 1. Genótipos de bananeiras triplóides (AAA e AAB) e tetraplóides (AAAA e AAAB), cultivados em cinco áreas experimentais do Programa de melhoramento genético da bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Região/município/UF	Genótipos
Norte/Rio Branco/Acre	YB 4217, PV 7934, YB 4247, Enxerto 33, YB 4203, JV 42135, FHIA 17, Prata Anã, Maçã, Bucanero, Calypso, FHIA 23, PA 9401, Pacovan Ken, FHIA 18, Garantida, PA 4244, Maravilha, Thap Maeo, Tropical, Caipira, FHIA 02, Grande Naine, Princesa e Japira
Nordeste/Petrolina/Pernambuco	FHIA 17, PA 9401, Maravilha, Prata Anã, FHIA 18, Calypso, FHIA 02, Princesa, Grande Naine, Caipira, JV42-135, Tropical, Bucanero, Thap Maeo, FHIA 23, Maçã, PA42-44, Pacovan, Japira, Garantida, YB42-03, Pacovan Ken, PV79-34, PA42-44 e PV79-34.
Centro- Oeste/Planaltina/Distrito Federal	Prata Anã, FHIA 18, Pacovan, Thap Maeo, YB 4207, PV 7934, Pacovan Ken, Caipira, Maravilha, PV 9401, YB 4203, PA 4442, Vitória, Maçã, Garantida, Japira, FHIA 17, Tropical, FHIA 02, Bucanero, Grande Naine e PA 9401.
Sudeste/Palmital/São Paulo	Tropical, Bucanero, Garantida, YB 4203, Pacovan, Pacovan Ken, PV 4253, PA 9401, FHIA 18, Maravilha, Prata Anã, Caipira, PA 4244, FHIA 17, YB 4207, PV 9401, Japira, PV 42142, Grande Naine, Thap Maeo e FHIA 02.
Sul/Luis Alves/Santa Catarina	PA 4244, Pacovan, Japira, FHIA 17, FHIA 02, Maravilha, FHIA 18, Tropical, YB 4207, Grande Naine, Prata Anã, Bucanero, Thap Maeo, BRS Conquista, PA 9401, PV 9401, Caipira, Garantida, YB 4203 e Pacovan Ken.

Identificação de espécies de *Meloidogyne* via fenótipo de esterase (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990).

Mudas do tomateiro do tipo ‘Santa Cruz’ mantidas em casa de vegetação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foram inoculadas com as suspensões de nematoides obtidas dos diferentes genótipos de bananeiras provenientes das cinco localidades. Quarenta e cinco dias após a inoculação, estas foram colhidas e seus sistemas radiculares lavados em água corrente. Para a visualização e retirada das fêmeas mono-específicas, todo o sistema radicular foi corado em floxina B. Cultivos mono-específicos de *M. javanica* foram utilizados como padrão.

Confeção de géis de poliacrilamida

Géis de poliacrilamida (acrilamida 1,42 g + bisacrilamida 0,075 g + solução C [1 parte da solução A (Hidróxido de Lítio 1,2 g + Ácido Bórico 11,89g + H₂O Destilada 1 l) + 9 partes da solução B (Tris 6,2 g + Acido Cítrico P.A. monohidratado 1,6g + H₂O Destilada - 1l)] 30 ml + temed 0,03 ml + persulfato de amônio 1% 0,3 ml), foram preparados (Carneiro *et al.*, 1996; 2000) e imediatamente transferidos para as formas de cubas BioRad[®] para teste de isoenzimas pelo método vertical com capacidade para quatro géis por corrida. Os pentes (cada um com 10 lojas) foram alocados na superfície dos géis, e estes guardados em geladeira para polimerização durante 3 a 5 minutos. Logo após, os géis foram retirados da geladeira e as formas com os géis já polimerizados foram retiradas dos suportes e colocadas sobre a bancada. Os pentes foram retirados e o excesso de líquido sugado com auxílio de fitas de papel filtro e, os poços deixados pelos pentes preenchidos com solução tampão do eletrodo (Tris-base 1,5g + Glicina 7,1g + H₂O destilada 1 L).

Preparo das amostras e eletroforese

Inicialmente, 36 fêmeas adultas de *Meloidogyne* de coloração branca leitosa de cada amostra, foram coletadas das raízes de tomateiros sob microscópio estereoscópico

com auxílio de agulhas histológicas e, individualmente transferidas para tubos microhematócritos (Alfenas *et al.*, 1991) contendo 5 µL de solução extratora (sacarose 2 g, Triton X-100 200 µL e água destilada 7,8 mL), sob condições de baixas temperaturas (balde de gelo). Os tubos foram dispostos em caixas Gerbox almofadadas com isopor (uma caixa para cada amostra) e guardadas em freezer. No momento de preparo das amostras, com auxílio do êmbolo da seringa de Hamilton, as fêmeas foram maceradas, uma de cada vez, dentro de cada tubo com a solução extratora e, sugadas com a seringa e depositadas em cada poço deixado pelos pentes, tomando-se todos os cuidados de assepsia (lavagem da seringa entre as macerações), para evitar contaminação de espécies (Carneiro *et al.*, 1996; 2000; 2001).

Por fim, as formas já com o material biológico foram transferidas para a cuba de eletroforese conforme as instruções do fabricante, e a cuba foi preenchida com a solução tampão até a medida indicada na cuba para corrida de quatro géis e, esta levada para geladeira, conectada à fonte de corrida durante 60 minutos a 117 volts.

Retirada dos géis e revelação dos padrões isoenzimáticos

Decorrido o tempo de corrida, os géis foram retirados da cuba e, depositados em potes plásticos ou caixas Gerbox contendo 25 ml da solução corante Fast blue RR Salt (0,01 g) + tampão fosfato de potássio (100 ml) [agitado por 40 minutos, no escuro] + filtração + α -naphthyl acetate (0,05g) + acetona (1 ml), 1 gel para cada pote e, estes foram levados para estufa por cerca de 15 minutos a 37°C. Logo após, estes foram retirados da estufa e drenada a solução corante, sendo que neles foram acrescentados 25 ml da solução descorante [H₂O destilada (650 ml) + etanol (300 ml) + ácido acético glacial (50 ml)] e deixados à temperatura ambiente por no mínimo uma hora.

Decorrido o tempo de descoloração, os géis foram retirados da solução descorante e submetidos à secagem: Em uma bandeja lisa, molhou-se as duas faces de um pedaço de papel celofane poroso (aproximadamente 25 x 35 cm) com a solução secadora contendo glicerol (24 ml) + 400 mL etanol + H₂O destilada (600 ml) e este foi estendido sobre um pedaço de vidro transparente (aprox. 20 x 30 cm) sobre a bancada e, nele colocado os quatro géis separados um do outro na distância de aprox. 2 cm. Em seguida um outro pedaço de papel da mesma medida foi igualmente molhado com a solução secadora e com cuidado colocado sobre os géis, esticados, e as pontas

dos pedaços de papel celofone foram presos nas laterais do vidro e este exposto para secagem à temperatura ambiente por 24 horas.

Passadas às 24 horas, os pedaços de papel com os géis foram separados do vidro e os géis foram cortados entre os pedaços de papel celofane, ficando com aspecto de uma folha de papel, que foram armazenadas em uma pasta com as devidas identificações.

A caracterização bioquímica das diferentes populações de *Meloidogyne* spp., foi feita com a utilização dos padrões de esterase baseados na Mobilidade Relativa (Rm) das bandas polimórficas de cada fêmea individual em relação às bandas de *M. javanica* utilizada como padrão (Rm: 1,0; 1,25; 1,4). Os fenótipos foram identificados pela letra inicial da espécie identificada acompanhada de um número correspondente ao número de bandas expresso pela enzima (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; 1990; Esbenshade & Triantaphyllou, 1990; Carneiro *et al.*, 2000; Carneiro & Almeida, 2001; Cofcewicz *et al.*, 2004; Carneiro & Cofcewicz, 2008) (Figura 1).

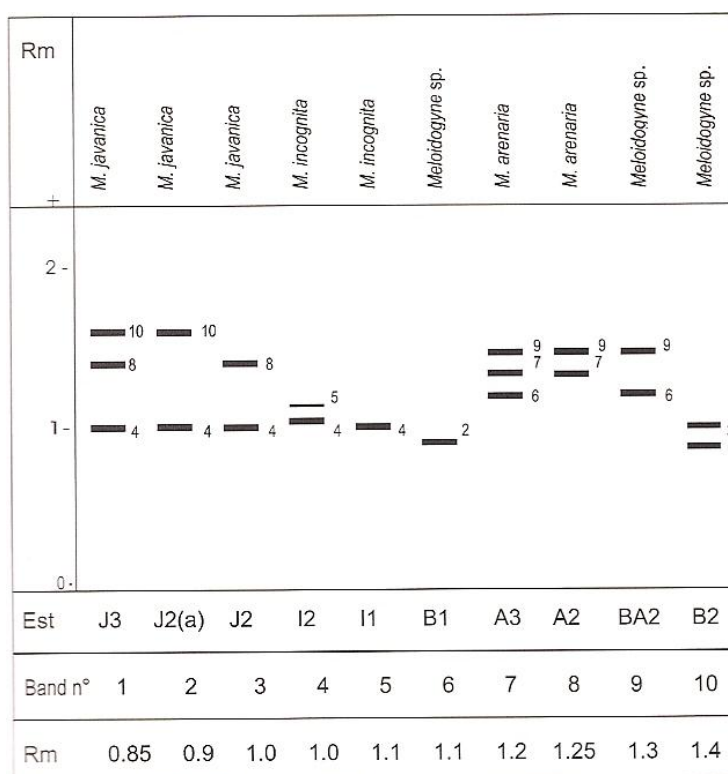


Figura 1. Fenótipos de esterase observados em 25 populações brasileiras de *Meloidogyne* spp. em *Musa* spp. (Cofcewicz *et al.*, 2004).

Resultados

Foram detectados, quantificados e identificados dos diferentes gêneros e espécies de fitonematoides naturalmente associados às raízes e solos dos genótipos de bananeiras por região (Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6). Entre os fitonematoides detectados em associação com os genótipos de bananeiras em todas as áreas amostradas, foi constatada a predominância em ordem de frequência de ocorrência: *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *H. multicinctus*, *Rotylenchulus reniformis*, *Radopholus similis*, *Scutellonema* sp. e *Criconemoides* sp.

No município de Rio Branco (AC), observou-se em amostras de raízes (250 g) e solo (100cc) a presença dos fitonematoides dos gêneros *Meloidogyne* spp., *H. multicinctus* e *Radopholus similis*, com destaque à infestação natural pelos nematoides das galhas. O nematoide *R. similis* foi detectado em amostras de solo das cultivares Garantida, Thap Maeo, Tropical, Grande Naine e no híbrido FHIA 02. *Helicotylenchus multicinctus*, a segunda espécie de maior frequência associada a bananeiras foi constatada em amostras de solo da rizosfera da maioria dos genótipos e em raízes apenas das cultivares Enxerto 33, Garantida e Princesa, em baixas populações.

Tabela 2: Fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAA, AAAB) em área de avaliação do estado do Acre do Programa de Melhoramento Genético da Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Genótipos	Composição genômica	<i>Meloidogyne</i> spp.		<i>Helicotylenchus multicinctus</i>		<i>Radopholus similis</i>	
		Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹
YB 4217	AAAB (H)	-	18	-	11	-	-
PV 7934	AAAB (H)	-	21	-	7	-	-
YB 4247	AAAB (H)	11	-	-	18	-	-
Enxerto 33	AAB (C)	4	25	4	17	-	-
YB 4203	AAAB (H)	-	4	-	11	-	-
JV 42135	AAAB (H)	-	11	-	7	-	-
FHIA 17	AAAA (H)	-	-	-	-	-	-
Prata Anã	AAB (C)	-	4	-	-	-	-
Maçã	AAB (C)	-	11	-	-	-	-
Bucanero	AAAA (H)	-	7	-	7	-	-
Calypso	AAAA (C)	-	25	-	4	-	-
Fhia 23	AAAA (H)	4	46	-	7	-	-
PA 9401	AAAB (H)	8	24	-	8	-	-
Pacovan Ken	AAAB (C)	-	18	-	4	-	-
FHIA 18	AAAB (H)	7	53	-	4	-	-
Garantida	AAAB (H)	-	21	28	46	-	4
PA 4244	AAAB (H)	-	4	-	7	-	-

Maravilha	AAAB (C)	-	32	-	14	-	-
Thap Maeo	AAB (C)	-	32	-	11	-	21
Tropical	AAAB (C)	14	11	-	25	-	4
Caipira	AAA (C)	-	4	-	11	-	-
FHIA 02	AAAA (H)	4	18	-	7	-	4
Grande Naine	AAA (C)	18	39	-	7	-	28
Princesa	AAAB (H)	4	35	4	4	-	-
Japira	AAAB (H)	4	35	-	-	-	-

¹Os dados são médias de três repetições. Os valores foram obtidos de amostras de raízes (250 g) e solo (100 cc).

No município de Petrolina (PE) (Tabela 3), os nematoides formadores de galhas foram dominantes. *Rotylenchulus reniformis* outra espécie de importância econômica para bananeiras foi detectada também em altas populações na rizosfera de plantas de todos os genótipos avaliados, porém nas amostras de raízes, somente nos híbridos melhorados PA 4244 e YB 4203 tais nematoides estiveram presentes em baixa densidade.

Tabela 3: Fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAA, AAAB) em área de avaliação em **Pernambuco** do Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura .

Genótipos	Composição genômica	<i>Meloidogyne</i> spp.		<i>Rotylenchulus reniformis</i>	
		Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹
FHIA 17	AAAA (H)	74	14	-	56
PA 4901	AAAB (H)	105	37	-	34
Maravilha	AAAB (C)	98	81	-	11
Prata anã	AAB (C)	95	35	-	49
FHIA 18	AAAB (H)	95	35	-	11
Calypso	AAAA (C)	88	7	-	49
FHIA 02	AAAA (H)	148	48	-	101
Princesa	AAAB (H)	105	40	-	62
Grande Naine	AAA (C)	84	60	-	13
Caipira	AAA (C)	74	11	-	41
JV 42135	AAAB (H)	77	49	-	53
Tropical	AAAB (C)	93	49	-	72
Bucanero	AAAA (H)	81	66	-	28
Thap Maeo	AAB (C)	91	42	-	32
FHIA 23	AAAA (H)	77	46	-	49
Maçã	AAB (C)	88	12	-	90
PA 4244	AAAB (H)	126	102	4	14
Pacovan Ken	AAAB (C)	98	32	-	28
Japira	AAAB (H)	95	3	-	84
Garantida	AAAB (H)	63	53	-	11
YB 4203	AAAB (H)	42	14	4	84
Pacovan	AAB (C)	77	81	-	11
PV 7934	AAAB (H)	63	56	-	42

PA 4244	AAAB (H)	91	63	-	21
PV 7934	AAAB (H)	105	74	-	35

¹/Os dados são médias de três repetições. O valores foram obtidos de amostras de raízes (250 g) e solo (100 cc); (C) Cultivar; (H) Híbrido.

Em Planaltina (DF), todos os genótipos mostraram-se altamente infectados pelos nematoides das galhas (Tabela 4). Entretanto, outros fitonematoides também foram detectados em baixas densidades, tanto no solo como nas raízes de plantas de alguns genótipos, entre eles *Helicotylenchus* spp., *R. reniformis* e *Criconemoides* sp.

Tabela 4: Fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAA, AAAB) em área de avaliação do **Distrito Federal** pertencente ao Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Genótipos	Composição genômica	<i>Meloidogyne</i> spp.		<i>Helicotylenchus</i> spp.		<i>R. reniformis</i>		<i>Criconemoides</i> sp.	
		Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹
Garantida	AAAB (H)	5	45	-	-	-	-	-	-
Bucanero	AAAA (H)	-	25	-	-	-	-	-	-
FHIA 18	AAAB (H)	20	80	-	-	-	-	-	-
PA 9401	AAAB (H)	5	35	-	-	-	-	-	-
Vitória	AAAB (C)	20	35	-	-	-	-	-	5
Maravilha	AAAB (C)	55	10	-	-	-	-	-	-
Thap Maeo	AAB (C)	5	65	-	5	-	-	-	-
Pacovan	AAB (C)	-	110	-	-	-	-	-	-
Grande Naine	AAA (C)	60	35	-	15	-	-	-	-
Pacovan Ken	AAAB (C)	30	70	-	-	-	-	-	5
Caipira	AAA (C)	20	55	-	-	-	-	-	-
Prata Anã	AAB (C)	30	70	-	-	-	-	-	-
YB 4203	AAAB (H)	30	25	-	-	-	-	-	5
Japira	AAAB (H)	5	-	-	-	-	-	-	-
PV 7934	AAAB (H)	5	30	15	-	-	10	-	-
Tropical	AAAB (C)	10	15	-	-	-	-	-	-
YB 4207	AAAB (H)	-	35	-	-	-	-	-	-
FHIA 17	AAAA (H)	-	75	-	-	-	-	-	-
FHIA 02	AAAA (H)	10	75	-	-	-	-	-	-
PA 4244	AAAB (H)	5	70	-	-	-	-	-	-
PV 9401	AAAB (H)	-	5	-	-	-	-	-	-
Maçã	AAB (C)	-	30	-	5	-	-	-	-

¹/Os dados são médias de três repetições. O valores foram obtidos de amostras de raízes (250 g) e solo (100 cc).

Em Palmital (SP), de acordo com os dados observados (Tabela 5), foram confirmadas as tendências observadas para as anteriormente comentadas, com

predominância em todos os genótipos dos nematoides formadores de galhas, seguidos de *Helicotylenchus* spp. Algumas cultivares tais como Tropical, Garantida, FHIA 18, Prata Anã, Grande Naine, Bucanero e híbridos melhorados como PA 4244, PV 9401 e YB 4203 evidenciaram um parasitismo maior por *R. reniformis*, enquanto que *R. similis* foi detectada somente nas amostras de solo das cultivares Garantida e FHIA 02. *Scutellonema* sp. foi detectada em baixa densidade associada a poucos genótipos.

Tabela 5: Fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAAA, AAB, AAAB) em área de avaliação de **São Paulo** do Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Genótipos	Composição genômica	<i>Meloidogyne</i> spp.		<i>Helicotylenchus</i> spp.		<i>R. reniformis</i>		<i>Scutellonema</i> sp.		<i>Radopholus similis</i>	
		Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹
Tropical	AAAB (C)	11	7	11	28	7	14	-	-	-	-
Garantida	AAAB (H)	14	25	4	18	4	-	-	-	-	1
Pacovan	AAB (C)	17	21	1	7	4	-	-	-	-	-
FHIA 18	AAAB (H)	21	14	1	-	1	-	-	-	-	-
Prata Anã	AAB (C)	11	25	1	4	1	11	-	-	-	-
PA 4244	AAAB (H)	14	7	-	4	5	-	-	-	-	-
PV 9401	AAAB (H)	6	33	9	3	10	-	-	-	-	-
Grande Naine	AAA (C)	21	11	11	1	4	-	-	-	-	-
Bucanero	AAAA (H)	-	1	9	7	4	-	-	-	-	-
YB 4203	AAAB (H)	5	32	4	11	1	-	-	-	-	-
Pacovan Ken	AAAB (C)	10	15	26	3	-	-	-	-	-	-
PA 9401	AAAB (H)	39	49	11	-	-	-	-	-	-	-
Maravilha	AAAB (C)	32	51	4	-	-	-	-	-	-	-
Caipira	AAA (C)	8	37	7	7	-	-	1	-	-	-
FHIA 17	AAAA (H)	27	65	1	1	-	-	-	-	-	-
YB 4207	AAAB (H)	35	50	12	3	-	-	-	-	-	-
Japira	AAAB (H)	10	25	11	31	-	-	1	-	-	-
Thap Maeo	AAB (C)	12	14	7	17	-	-	-	-	-	-
FHIA 02	AAAA (H)	54	48	7	4	-	-	-	-	-	15

¹/Os dados são médias de três repetições. O valores foram obtidos de amostras de raízes (250 g) e solo (100 cc).

Em área avaliada em Luis Alves, estado de Santa Catarina (Tabela 6), os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e os nematoides espiralados (*Helicotylenchus* spp.) também dominaram, entretanto com maior destaque nas amostras de solo, estando algumas vezes ausentes tanto no solo como nas raízes de plantas de alguns genótipos.

Tabela 6: Fitonematoides associados a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAA, AAAB) em área de avaliação de **Santa Catarina** do Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Genótipos	Composição genômica	<i>Meloidogyne</i> spp.		<i>Helicotylenchus</i> spp.	
		Raiz ¹	Solo ¹	Raiz ¹	Solo ¹
PA 4244	AAAB (H)	18	32	-	7
Pacovan	AAB (C)	46	70	-	-
Japira	AAAB (H)	42	46	-	11
FHIA 17	AAAA (H)	11	28	14	7
FHIA 02	AAAA (H)	-	25	-	11
Maravilha	AAAB (C)	4	46	14	11
FHIA 18	AAAB (H)	-	28	-	14
Tropical	AAAB (C)	4	18	7	14
YB 4207	AAAB (H)	-	11	-	11
Grande Naine	AAA (C)	-	32	-	11
Prata Anã	AAB (C)	-	56	-	11
Bucanero	AAAA (H)	18	53	-	-
Thap Maeo	AAB (C)	-	42	7	18
BRS Conquista	AAB (C)	-	-	4	11
PA 9401	AAAB (H)	-	67	18	7
PV 9401	AAAB (H)	4	46	-	-
Caipira	AAA (C)	-	56	-	-
Garantida	AAAB (H)	4	63	-	14
YB 4203	AAAB (H)	-	60	-	-
Pacovan Ken	AAAB (C)	7	28	7	14

¹Os dados são médias de três repetições. Os valores foram obtidos de amostras de raízes (250 g) e solo (100 cc).

As espécies de *Meloidogyne* identificadas com base no fenótipo de esterase e suas respectivas percentagens de ocorrência em cada região encontram-se representadas na Tabela 7. Entre as espécies de *Meloidogyne*, foram identificadas apenas três, *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*.

Meloidogyne javanica e *M. incognita* foram identificadas em todas as regiões estudadas, no entanto, houve uma predominância de *M. javanica* na maioria dos genótipos de todas as regiões, com exceção de Luis Alves (SC), onde ambas espécies foram observadas na mesma proporção. Porém, em Rio Branco (AC) foi observada a predominância de *M. incognita*.

Meloidogyne arenaria foi identificada somente nas áreas da Embrapa Cerrados (Planaltina/DF) Rio Branco (AC), e Palmital (SP), porém em baixas porcentagens associada às cultivares FHIA 23, Bucanero, Maça, Maravilha, Prata Anã e híbrido melhorado PV 7934.

Na área experimental de Rio Branco por ordem de maior proporção destacou-se, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* respectivamente, sendo observada uma maior competitividade entre *M. incognita* e *M. javanica* na cultivar Bucanero. Porém, nas cultivares Calypso, Enxerto 33, Japira, Maçã, Maravilha, Prata Anã, Princesa, Thap Maeo, Tropical e os híbridos FHIA 23, PA 9401 e PV 7934, houve a predominância de *M. incognita* em relação a *M. javanica*. Somente no híbrido FHIA 23 foi verificada a ocorrência de *M. arenaria*.

Em Petrolina, ao contrário de Rio Branco, em ordem de proporção houve a predominância de *M. javanica* seguido de *M. incognita*. Em termos de competição *M. javanica* predominou sobre *M. incognita* em quase todos os genótipos, com exceção na cultivar Garantida e no híbrido FHIA 17 onde *M. incognita* foi predominante.

Na Embrapa Cerrados, Planaltina, ocorreu a maior infestação mista pelas três espécies, e em ordem de proporção, *M. javanica* superou *M. incognita* seguida por *M. arenaria*. A maioria dos genótipos foram parasitados por *M. javanica* com exceção da cultivar Caipira e do híbrido PA 4244 onde prevaleceu *M. incognita*. A cultivar Maçã foi parasitada em maior grau por *M. arenaria*, que foi menos prevalente nas cultivares Bucanero, Maravilha, Prata Anã, Thap Maeo e no híbrido PV 7934.

No município de Palmital, SP, *M. javanica* predominou em quase 100% dos genótipos avaliados com exceção na cultivar Pacovan e no híbrido YB 4203 onde *M. incognita* demonstrou ser a mais competitiva, equanto que *M. arenaria* foi observada somente na cultivar Pacovan em baixa percentagem.

Na área experimental de Luis Alves, SC, por ordem de proporção, *M. incognita* se destaca seguido por *M. javanica*, ocorrendo uma interação entre as duas espécies no híbrido PV 9401.

Tabela 7: Espécies de *Meloidogyne* associadas a genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAAA, AAAB) e respectivos percentuais de ocorrência em áreas de avaliação do Programa de Melhoramento Genético de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura nas cinco regiões geográficas do Brasil.

Genótipos	Composição genômica	Região Norte (AC)			Região Nordeste (PE)			Região Centro-Oeste (DF)			Região Sudeste (SP)			Região Sul (SC)		
		Mj	Mi	Ma	Mj	Mi	Ma	Mj	Mi	Ma	Mj	Mi	Ma	Mj	Mi	Ma
BRS Conquista	AAB (C)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	-	100	-
Bucanero	AAAA (H)	44,4	55,6	-	67,9	32,1	-	69,4	27,8	2,8	100	-	-	-	100	-
Caipira	AAA (C)	s/f	s/f	s/f	100	-	-	11,1	88,9	-	100	-	-	16,7	83,3	-
Callypson	AAAA (H)	-	100	-	60,7	39,3	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Enxerto 33	AAB (C)	-	100	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
FHIA 02	AAAB (H)	s/f	s/f	s/f	64,3	35,7	-	100	-	-	100	-	-	94,4	5,6	-
FHIA 17	AAAB (H)	s/f	s/f	s/f	35,7	64,3	-	47,2	52,8	-	100	-	-	-	100	-
FHIA 18	AAAB (H)	s/f	s/f	s/f	60,7	39,3	-	83,3	16,7	-	100	-	-	s/f	s/f	s/f
FHIA 23	AAAB (H)	-	66,7	33,3	100	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Garantida	AAAB (H)	s/f	s/f	s/f	28,6	71,4	-	100	-	-	100	-	-	72,2	27,8	-
Grande Naine	AAA (C)	s/f	s/f	s/f	67,9	32,1	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-
Japira	AAAB (H)	11,1	88,9	-	89,3	10,7	-	100	-	-	100	-	-	-	100	-
JV 42135	AAAB (H)	s/f	s/f	s/f	57,1	42,9	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Maçã	AAB (C)	11,1	88,9	-	78,6	21,4	-	25	30,6	44,4	*	*	*	*	*	*
Maravilha	AAAB (C)	-	100	-	85,7	14,3	-	97,2	-	2,8	100	-	-	11,1	88,9	-
PA 4244	AAAB (H)	s/f	s/f	s/f	85,7	14,3	-	19,4	80,6	-	100	-	-	s/f	s/f	s/f
PA 9401	AAAB (H)	-	100	-	46,4	56,6	-	100	-	-	100	-	-	s/f	s/f	s/f
Pacovan	AAB (C)	*	*	*	71,4	28,6	-	91,7	8,3	-	5,6	88,8	5,6	s/f	s/f	s/f
Pacovan Ken	AAAB (C)	s/f	s/f	s/f	57,1	42,9	-	83,3	16,7	-	100	-	-	-	100	-
Prata Anã	AAB (C)	-	100	-	60,7	39,3	-	83,3	8,3	8,3	100	-	-	66,7	33,3	-
Princesa	AAAB (H)	-	100	-	85,7	14,3	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*
PV 7934	AAAB (H)	-	100	-	78,6	21,4	-	91,7	5,6	2,7	*	*	*	*	*	*
PV 9401	AAAB (H)	*	*	*	*	*	*	94,4	5,6	-	100	-	-	50	50	-
Thap Maeo	AAB (C)	-	100	-	67,9	32,1	-	88,9	2,8	8,3	100	-	-	-	100	-
Tropical	AAAB (H)	-	100	-	100	-	-	97,2	2,8	-	100	-	-	100	-	-
Vitória	AAAB (C)	*	*	*	*	*	*	91,7	8,3	-	*	*	*	*	*	*
YB 4203	AAAB (H)	s/f	s/f	s/f	92,9	7,1	-	88,9	11,1	-	37,5	62,5	-	-	100	-
YB 4207	AAAB (H)	*	*	*	*	*	*	77,8	22,2	-	100	-	-	100	-	-
YB 4217	AAAB (H)	s/f	s/f	s/f	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
YB 4247	AAAB (H)	s/f	s/f	s/f	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

(*) cultivares e híbridos melhorados não testados; (s/f) genótipos avaliados, mas fêmeas ausentes; (-) ausência; Ma = *Meloidogyne arenaria*, Mi = *M. incognita*, Mj = *M. javanica*

Cinco padrões ou perfis de bandas para atividade de esterase foram identificados neste estudo nas espécies de *Meloidogyne* encontradas em associação com os genótipos de *Musa* spp. nas cinco regiões geográficas do Brasil (Figura 2). *Meloidogyne javanica* foi identificada neste estudo apresentando três padrões ou fenótipos específicos da espécie (J3, J2 e J2'). O fenótipo espécie específico J3 (Rm: 1,0; 1,25; 1,4) foi detectado em genótipos presentes em todas as áreas experimentais avaliadas, o J2 (Rm: 1,0; 1,4) foi identificado apenas em alguns genótipos cultivados na área experimental do município de Rio Branco e o J2' (Rm: 1,0; 1,25) foi identificado em alguns genótipos avaliados na área experimental cultivada com *Musa* spp. na Embrapa Cerrados, Planaltina.

Meloidogyne incognita foi identificada em todas as áreas experimentais avaliadas expressando apenas uma banda no perfil de Esterase II (Rm: 1,0).

Meloidogyne arenaria foi identificada em parte dos genótipos plantados na área experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina e, em apenas um genótipo cultivado nas áreas experimentais de Palmital e Rio Branco, todas apresentando apenas o perfil com duas bandas A2 (Rm: 1,2; 1,3).

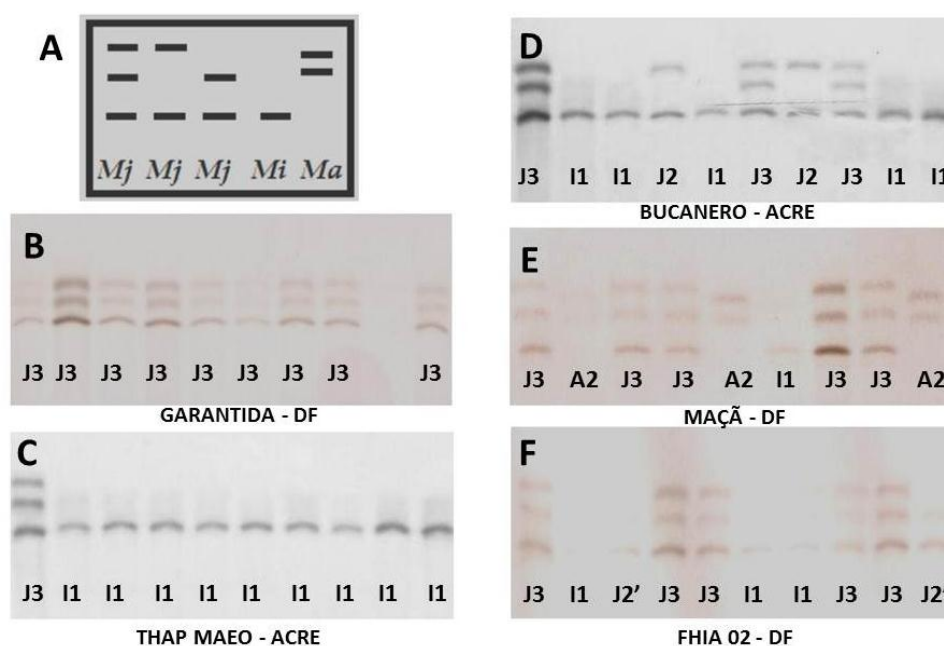


Figura 2. (A) Fenótipos de esterase em gel de poliacrilamida de espécies de *Meloidogyne* identificados em associação com genótipos de banana em cinco regiões geográficas do Brasil. (B) Padrão de esterase de *M. javanica* no genótipo Garantida no Distrito Federal (com três bandas). (C) Padrão de esterase de *M. incognita* no genótipo Thap Maeo em no Estado do Acre (com uma banda). (D) Padrão de esterase de *M.*

javanica (com três bandas e duas bandas), *M. incognita* (uma banda) no genótipo Bucanero no Estado do Acre. (E) Padrão de esterase de *M. javanica* (com três bandas), *M. arenaria* (com duas bandas) e *M. incognita* (com uma banda) no genótipo Maça no Distrito Federal. (F) Padrão de esterase de *M. javanica* (com três e duas bandas), *M. incognita* (com uma banda) no genótipo FHIA 02 no Distrito Federal.

Discussão

Numa análise geral, além da detecção dos nematoides das galhas (*Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*), foram encontrados em menor frequência outros nematoides fitoparasitas como *Helicotylenchus* spp., *Rotylenchulus reniformis*, *Radopholus similis*, *Scutellonema* sp., e *Criconemoides* sp.

Radopholus similis, o nematoide de maior importância econômica para a cultura da bananeira (Blake, 1972; Stover, 1972; O'Bannon, 1977; Gowen, 1979; Tarte & Pinochet, 1981) foi identificado no presente estudo em amostras provenientes das áreas experimentais dos estados do Acre e São Paulo. A espécie foi relatada pela primeira vez no Brasil em bananais do litoral paulista (Carvalho, 1959). Depois disso foi relatado em áreas do Distrito Federal (Zem, 1982); nos estados da Bahia (Sharma, 1974 a, b; Zem, 1978, Zem & Alves, 1978 e Zem, 1982); Ceará (Zem *et al.*, 1980); Espírito Santo (Sharma, 1978; Zem, 1982); Maranhão (Huang *et al.*, 1982); Mato Grosso do Sul (Zem, 1982); Paraíba (Zem, 1982); Pernambuco (Zem & Lordello, 1983); Rio Grande do Norte (Zem, 1982); Rio de Janeiro (Lordello, 1973; Goes *et al.*, 1982); São Paulo (Pereira *et al.*, 1960; Lordello, 1962; Zem *et al.*, 1979; Curi *et al.*, 1979; Bona *et al.*, 1980; Curi & Silveira, 1981); Santa Catarina (Zem, 1982) e no Rio Grande do Sul na cultura do trigo (Luz, 1982).

Desses estados, somente em São Paulo (Zem *et al.*, 1979) e Rio de Janeiro (Goes *et al.*, 1981) o nematoide mostrou-se abundante e amplamente disseminado em lavouras comerciais. Nos demais estados, as ocorrências foram esporádicas e limitadas a poucas propriedades e municípios, ou então às áreas experimentais de diversos órgãos de pesquisa (Zem, 1982).

Alguns anos depois *R. similis* foi relatado também nos estados de Minas Gerais e Bahia (Lima & Goulart, 1986). Mais recentemente o nematoide cavernícola relatado em outros estados como Paraná (Pereira *et al.*, 2006).

Na área experimental de Rio Branco (Acre) foi observada a ocorrência de nematoides fitoparasitas de três gêneros importantes para a cultura da bananeira, sendo eles, *Meloidogyne* spp., *H. multicinctus* e *R. similis*, mas com a maior parte dos espécimes concentrada nas amostras do solo. Este fato pode ser explicado pelas condições avançadas de apodrecimento das amostras de raízes, em que os nematoides deixam os tecidos das raízes e migram para o solo.

Neste estudo, na área experimental de Rio Branco, *Radopholus similis* foi identificada na rizosfera de cinco genótipos e bananeira (Garantida, Thap Maeo, Tropical, FHIA 02 e Grande Naine). Dados de levantamentos realizados por Cavalcante *et al.* (2002; 2005) em cultivares e diploides melhorados de bananeira no município de Rio Branco (AC) onde não foi registrada a presença de *R. similis* contrastaram com os dados observados neste estudo quanto à presença de *R. similis*. Um fato a ser levado em consideração é que Cavalcante *et al.* (2002; 2005) avaliaram genótipos diferentes daqueles avaliados no presente estudo, ou as áreas experimentais avaliados naquela época nunca haviam sido plantadas com bananeiras, enquanto que segundo informação pessoal da mesma pesquisadora a área avaliada neste estudo já havia sido cultivada anteriormente com bananeiras.

Na mesma área no município de Rio Branco, *H. multicinctus* aparece em baixos níveis populacionais nas raízes, com ausência na maioria das amostras, ao contrário do solo, onde a frequência é maior, estando presente em 21 dos 25 genótipos estudados. A ocorrência desse nematoide em área experimental do Acre já havia sido relatada por Cavalcante *et al.* (2002) acompanhado da espécie *H. dihystra*. Em outro levantamento realizado por Cavalcante *et al.* (2005) no mesmo Município, foi observada apenas a espécie *H. banbesae*.

O número de nematoides das galhas em raízes foi relativamente maior do que em solos da rizosfera provenientes da área experimental de Pernambuco, assim como *R. reniformis*, foram recuperados do solo em maiores números, com ausência nas raízes da maioria dos genótipos. Este fato pode ser explicado pela natureza biológica da espécie (*R. reniformis*) que completa seu ciclo no solo, e a sua ocorrência em raízes apenas dos híbridos PA 4244 e YB 4203, pode sugerir maior afinidade destes com os respectivos tetraploides.

O nematoide reniforme já havia sido relatado no estado de Pernambuco em raízes de bananeira por Moura (1972) e Zem & Lordello (1983). Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com Ritzinger *et al.* (2007) no que se refere à detecção de

Meloidogyne spp. e *R. reniformis* em levantamento de fitonematoides em bananais situados nos perímetros irrigados nos municípios de Petrolina-PE e Juazeiro-BA, porém neste estudo não foi registrado a ocorrência de *Helicotylenchus* spp.

Em campo experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina/DF, que antes era cultivado com Maracujá, 100 % dos genótipos estavam parasitados por *Meloidogyne* spp., e além disso, houve também a presença de baixas populações de *Helicotylenchus* sp., *R. reniformis* e *Criconemoides* sp. na rizosfera de alguns genótipos. Provavelmente, esses nematoides já se encontravam no solo, visto que, os materiais propagativos utilizados para o estabelecimento do bananal foram mudas micropropagadas, o que descarta a hipótese dos espécimes terem sido introduzidos através de materiais infectados. Além disso, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *R. reniformis* são os principais nematoides causadores de declínio na cultura do Maracujá (Sharma *et al.*, 2003). *Rotylenchulus reniformis* foi identificado apenas na rizosfera do híbrido tetraploide melhorado PV 7934, o que pode sugerir maior afinidade entre o tetraploide e o nematoide. Essa espécie já havia sido relatada por Zem (1984) em amostras coletadas em bananeiras em pequenas propriedades da zona rural de Brazlândia e Sobradinho (DF). Além de *R. reniformis* o mesmo autor registrou a presença de, *R. similis*, *H. multicinctus*, *H. dihystra* e *M. incognita* nessas mesmas localidades.

Todos os genótipos provenientes da área experimental de Palmital (SP) foram parasitados por *Meloidogyne* sp. e *Helicotylenchus* spp. e também foi observada a presença de *R. reniformis* e *Scutellonema* sp. em amostras de raízes de alguns genótipos, fato este não comum nas outras áreas amostradas, onde *R. reniformis* foi identificado nas amostras de solo. Essa associação pode nos levar a afirmar que possivelmente existe uma interação favorável ao nematoide entre esses genótipos e *R. reniformis*. Na mesma área avaliada em São Paulo, foi constatada a presença de *R. similis* em amostras de solo de apenas dois dos 19 genótipos estudados (Garantida e FHIA 02). Neste estudo, particularmente nos estados de São Paulo e no Acre, o nematoide *R. similis* teve sua presença destacada, em áreas experimentais anteriormente cultivadas com outras culturas, inclusive banana. Esses dados estão de acordo com os diversos relatos desse nematoide que se encontra disseminado em lavouras comerciais do estado de São Paulo, possivelmente em decorrência do uso de mudas infectadas em novas áreas de plantio (Zem, 1984). Além de *R. similis*, Zem (1984) detectou também outras espécies como *H. multicinctus*, *H. dihystra*, *Meloidogyne* spp. e *R. reniformis*.

Na área avaliada no estado de Santa Catarina, foi observada a presença de *Meloidogyne* spp. em amostras de raízes de apenas 10 genótipos, porém o nematoide esteve presente nas amostras de solo da maioria dos genótipos. Além dos nematoides das galhas, *Helicotylenchus* spp. foram encontradas em amostras de raízes de 7 genótipos e nas amostras de solo da maioria dos genótipos. A situação observada em Santa Catarina foi semelhantemente à da área experimental de Rio Branco e pode ser explicada em razão do estado avançado de deterioração das raízes. Zem (1984) já havia relatado também a ocorrência desses nematoides no mesmo estado em genótipos de banana cultivados no município de Jacinto Machado (SC). Além desses nematoides foram relatados também *R. similis*, *H. multicinctus*, *H. dihystra* e *Criconemoides* sp.

A identificação das espécies de nematoides das galhas *Meloidogyne* spp. com base em fenótipos da enzima esterase confirma a ampla distribuição desse nematoide associado a bananeiras, já que neste estudo espécies do gênero foram encontradas em todas as áreas estudadas de norte a sul, inclusive em populações mistas de espécies associadas a *Musa* spp., conforme já reportado por Cofcewicz *et al.* (2004).

Neste estudo foram detectado os padrões de atividade de esterase J3, J2, J2', I1 e A2 expressos no gênero *Meloidogyne*, compatíveis com os resultados encontrados por Cofcewicz *et al.* (2004), quando estes autores ao analisarem diferentes populações de diferentes áreas comerciais de cultivos de bananeiras em várias regiões brasileiras identificaram os perfis J3, J2a, J2, I1, I2, A2, A3, B1, B2 e BA2.

O fenótipo J2' de *M. javanica* foi detectado também por Tomaszewski *et al.* (1994) em amendoim e Carneiro *et al.* (1996) em diversas culturas. Em outro estudo Carneiro *et al.* (1998) analisaram nematoides com o fenótipo J2' (Rm: 1,0 e 1,25) por meio da morfologia e estudo da gama de hospedeiros, e demonstrou que este isolado não apresentava qualquer diferenciação útil de caracteres quando comparado com os isolados J3. Castro (2001) relatou pela primeira vez este padrão em isolado na cultura da soja, e este concluiu por meio de estudos de caracteres morfológicos que o fenótipo J2 era uma variante típica de isolados de *M. javanica* (J3).

Cofcewicz *et al.* (2004), quando realizaram um estudo de identificação de espécies de *Meloidogyne* de diferentes campos cultivados com banana no Brasil, observaram, os padrões de *M. javanica* J2 e J2' (Rm: 1,0; 1,4 e Rm: 1,0 e 1,25, respectivamente) em populações mistas com *M. javanica* (J3), sendo estes considerados padrões de fenótipos atípicos, entretanto, essas populações não permaneceram estáveis por terem apresentado o fenótipo J3 depois das etapas de purificação em plantas de

tomateiro. Segundo Rajasekhar *et al.* (1990) e Carneiro *et al.* (1996), esses fenótipos podem ser estáveis ou não. As más condições fisiológicas das fêmeas individuais em raízes de banana em condições podem ser consideradas o motivo da ausência de uma banda no perfil de esterase (Rm: 1,25 e Rm: 1,4) que levou à produção dos fenótipos atípicos J2 e J2', respectivamente (Cofcewicz *et al.*, 2004).

O fenótipo I1 (*M. incognita*) identificado no presente estudo, foi observado também por Carneiro *et al.* (1996; 2000) e Cofcewicz *et al.* (2004), mas acompanhados do fenótipo I2 (Rm: 1,0 e 1,1), ausente neste estudo.

Cofcewicz *et al.* (2004), detectaram em amostras provenientes de bananeiras, *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria* e *Meloidogyne* spp. em proporções de 61,7%, 32,2%, 4,3% e 1,8%, respectivamente, num estudo em que foram avaliadas amostras de 25 áreas cultivadas com diferentes cultivares comerciais, com predominância das cultivares Grande Naine e Pacovam, cultivadas nas principais regiões produtoras de banana do Brasil, destas 25 áreas, 20 delas apresentaram mistura populacional de espécies e nas outras cinco, foram identificadas espécies únicas como *M. javanica* ou *M. incognita*. No presente estudo, foi constatada a presença das espécies citadas por Cofcewicz *et al.* (2004), porém em avaliação frente a 25 genótipos triploides e tetraploides, onde das cinco áreas avaliadas, três delas (Rio Branco, Planaltina e Palmital) apresentaram raízes de banana parasitadas por *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* em diferentes proporções independente de genótipos, confirmando a baixa frequência de *M. arenaria* na maioria dos genótipos. Enquanto que, em Luís Alves e Petrolina ocorreram apenas *M. javanica* e *M. incognita*.

A presente avaliação demonstrou que os genótipos avaliados são bons hospedeiros para os nematoides de galhas. Entretanto, essa hospedabilidade pode ter variado em função das espécies de *Meloidogyne* e condições ambientais inerentes de cada localidade dentro de cada genótipo. A área de Petrolina apresentou infestação mista por *M. javanica* e *M. incognita* na maioria dos genótipos testados, com predominância para *M. javanica*, com exceção da cultivar Caipira, Tropical e o híbrido FHIA 23 que apresentaram 100% de parasitismo por *M. javanica*, ao contrário da cultivar Garantida e dos híbridos FHIA 17 e PA 9401 onde a proporção de *M. incognita* foi superior à de *M. javanica*, o que pode-se hipotetizar que existe uma competitividade entre as espécies em determinados genótipos.

O levantamento realizado na área experimental em Luís Alves confirmou a relação diferencial entre genótipos de bananeiras e as espécies *M. javanica* e *M.*

incognita. Ambas espécies detectadas, ocorreram em proporções de 100% de parasitismo em determinados genótipos para cada espécie isoladamente, enquanto que em outros genótipos houve a presença simultânea das duas espécies com maior proporção de uma com relação à outra. No município de Rio Branco, foi detectada uma maior percentagem de parasitismo por *M. incognita* em 13 genótipos com destaque para nove genótipos onde ocorreram 100% de infestação por *M. incognita*. *Meloidogyne javanica* foi identificada em apenas 3 genótipos (Bucanero, Japira e Maçã). Já *M. arenaria* foi detectada somente no híbrido FHIA 23.

Em Planaltina houve uma maior prevalência de *M. javanica* sobre *M. incognita* foi observada, de maneira semelhante ao que ocorreu em Petrolina, com destaque para a cultivar Caipira e os híbridos FHIA 17 e PA 4244 que foram favoráveis ao parasitismo por *M. incognita*. Em apenas seis genótipos foi detectado parasitismo por *M. arenaria* em população mista com *M. incognita* e *M. javanica*.

Dos 19 genótipos avaliados na área experimental de Palmital 17 estavam infectados 100 % com *M. javanica* e houve a ocorrência apenas no híbrido YB 4203 de maior competitividade de *M. incognita* sobre *M. javanica* e na cultivar Pacovam infecção mista de *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*, com a prevalência de *M. incognita* sobre as demais.

As condições naturais de infestação observadas nesse trabalho, embora diferentes das artificiais realizadas por Cofcewicz *et al.*(2004) e com níveis pré-estabelecidos de inóculos para o estudo da interação de *M. javanica* x *M. incognita* x *M. arenaria*, confirmam que infestações isoladas e em misturas das espécies em cultivares de bananeiras permitem uma competitividade parasitaria diferencial, ou seja, as três espécies co-habitaram no sistema radicular das plantas em proporções que dependem da cultivar e das espécies do nematoide. Entretanto, sob as condições naturais avaliadas, não foi possível verificar em relação aos 25 genótipos, uma maior competitividade de *M. arenaria* e *M. javanica* afirmada nos ensaios por Cofcewicz *et al.*(2004), fato este explicado devido à baixa frequência de ocorrência de *M. arenaria* em solos e raízes de cultivos de bananeiras no Brasil. Porém, são concordantes em relação a *M. javanica* e *M. incognita*, destacando *M. javanica* como a de maior competitividade sobre as bananeiras, seguida de *M. incognita*.

Conclusões

De acordo com o levantamento de fitonematoides realizado, os diferentes genótipos triploides (AAA e AAB) e tetraploides (AAAA e AAAB) de bananeiras, desenvolvidos e/ou recomendados pelo Programa de Melhoramento da Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura, cultivados nas cinco regiões geográficas do Brasil são parasitados pelos principais nematoides fitoparasitas de importância econômica para a cultura. Entre eles, destacaram-se os nematoides das galhas, sendo as espécies *M. javanica* e *M. incognita* de maior frequência e competitividade em relação a *M. arenaria*. *Radopholus similis*, o nematoide de maior importância para a bananicultura foi detectado em poucas amostras de solo, como também foram encontradas outras espécies de importância para a cultura, como *H. multicinctus* e *R. reniformis*.

Referências bibliográficas

- ALFENAS AC, PETERS I, BRUNE W & PASSADOR GC. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos essencias florestais. Editora UFV, Viçosa, MG, Brasil, p.116. 1991.
- BERGÉ, JB; DALMASSO, A. Caractéristiques biochimiques de quelques populations de *Meloidogyne hapla* et *Meloidogyne* spp. **Cahiers ORSTOM Série Biologica** 10: 263-271. 1975.
- BLAKE, CD. Nematodes disease of banana plantations. In: Webster JM. **Economic Nematology**, p.245-267. 1972.
- BONA, A; CARVALHO, JC; CURI, SM; SILVEIRA, SGP. Ocorrência de nematoides associados à bananeira no estado de São Paulo. **O Biológico** 46 : 219-224. 1980.
- CARNEIRO MRDG, ALMEIDA MRA & QUÉNÉHERVÉ. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology** 2: 645-654. 2000.
- CARNEIRO, RMD; ALMEIDA, MRA. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécie. **Nematologia Brasileira** 25: 35-44. 2001.
- CARNEIRO, RMDG; ALMEIDA, ARA; CARNEIRO, RG. Enzyme phenotypes of Brazilian isolates of *Meloidogyne* spp. **Fundamental and Applied Nematology** 19: 555-560. 1996.
- CARNEIRO, RMDG; CARVALHO, FLC; KULCZYNSKI, SM. Seleção de plantas para o controle de *Mesocriconema xenoplax* e *Meloidogyne* spp. através de rotação de culturas. **Nematologia Brasileira** 22: 41-48. 1998.
- CARVALHO, JC. O nematoide cavernícola e seu aparecimento em São Paulo. **Biológico** 25: 195-198. 1959.
- CASTRO, JMC. Caracterização de populações de *Meloidogyne* spp. de regiões brasileiras produtoras de Soja. **Tese (Doutorado)**. Universidade de Viçosa. p. 82. 2001.
- CAVALCANTE, MJB; SHARMA, RD; CARES, JE. Nematoides associados a genótipos de bananeiras em Rio Branco. **Nematologia Brasileira** 29: 91-94. 2005.
- CAVALCANTE, MJB; SHARMA, RD; VALENTIM, JF; GONDIM, TMS. Nematoides associados ao amendoim forrageiro e à bananeira no estado do Acre. **Fitopatologia brasileira** 27: 107-107. 2002.
- CHARCHAR, JM. Nematoides associados à cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) nas principais áreas no Brasil. **Nematologia Brasileira** 21: 49-60. 1997.

COFCEWICZ, ET; CARNEIRO, RMDG; CATAGNONE-SERENO, P; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotype and genetic diversity of root-knot nematode parasitizing *Musa* in Brazil. **Nematology** 6: 85-95. 2004.

COOLEN WA & D' HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: **State Nematology and Entomology Research Station**. 77p. 1972.

CORDEIRO, ZJM. Doenças e nematoides. In: Alves EJ, Dantas JLL, Soares Filho WS, Silva SO, Oliveira MA, Souza LS, Cintra FLD, Borges AL, Oliveira AMG, Oliveira SL, Francelli M, Cordeiro ZJM & Souza JS. (eds.). Brasília: **Banana para exportação: aspectos técnicos da produção**. 1995.

CURI, SM; SILVEIRA, SGP. Detecção de nematoides parasitos da bananeira em área do litoral sul do estado de São Paulo. In: **Reunião Brasileira de Nematologia/Instituto Biológico de São Paulo**, p. 13. 1982.

CURI, SM; SILVEIRA, SGP; FERREIRA, S.; PESSOA, SMG; CRUZ, VR. Controle do nematoide reniforme, *Rotylenchulus reniformis*, na cultura do algodoeiro. In: **Resumos da Reunião da Sociedade Brasileira de Nematologia**, p. 41. 1979.

DE WAELE, D. Root-knot nematodes. In: Jones, DR (ed.). **Diseases of banana, abaca and enset**, p.307-314. 2000.

EISENBACK, JD; HIRSCHMANN, H; TRIANTAPHYLLOU, AC. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. **Journal of Nematology** 12:300-313. 1980.

EISENBACK, JD; HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of second stage juveniles of six populations of *Meloidogyne hapla* by SEM. **Journal of Nematology** 11:5-16. 1979.

ESBENSHADE, PR; TRIANTAPHYLLOU, AC. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology** 22: 10-15. 1990.

ESBENSHADE, PR; TRIANTAPHYLLOU, AC. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: *Tylenchida*). **Journal of Nematology** 17: 6-20. 1985.

FARGETTE, M. Use of esterase phenotype in the taxonomy of the genus *Meloidogyne* spp. by Esterase phenotypes observed in West African populations and their characterization. **Revue de Nématologie** 10:45:56. 1987.

FERRAZ, LCCB; MONTEIRO, AR. Nematoides. In: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres 168-201. 1995.

GOES, A; MALDONADO, JFM; ZEM, AC. Nematoides associados a bananeiras no estado do Rio de Janeiro. **Sociedade Brasileira de Nematologia**. Piracicaba. 5: 83-89. 1982.

GOWEN, SR. Some considerations of problems associated with the nematode pests of bananas. **Nematropica** 9: 79-91. 1979.

HUANG, CS; SILVA, CB; SILVA, GS; ARAÚJO, JCA; GARCIA, ESCB. Nematoides fitoparasitos encontrados na Ilha de São Luiz e município de Rosário do estado do Maranhão. In: Sociedade Brasileira de Nematologia. **Resumos da 6ª Reunião Brasileira de Nematologia**. Fortaleza. p. 39. 1982.

HYMAN BC. Molecular systematics and population biology of phytonematodes: some unifying principles. **Fundamental and Applied Nematology** 19:309-313. 1996.

JANATI, A, AOURAGH EH & MESKINE M. The root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. in Morocco. In: Morocco. **Proc. 3rd Res. and Planning Conf. on Root-Knot Nematodes *Meloidogyne* spp.** Coimbra, Portugal. 1982.

JENKINS, WR. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v.48, p.692, 1964.

LIMA, RD; GOULART, ACP. Nota sobre a ocorrência de *Radopholus similis* em Minas Gerais. **Nematologia Brasileira** 10: 29-30. 1986.

LORDELLO, LGE; MONTEIRO, AR; SUZUKI, O. Nova doença da fruteira do conde causada pelo nematoide *Radopholus similis*. **Revista Agricultura** 37(2): 67-71. 1962.

LORDELLO, LGE. Ocorrência do nematoide cavernícola no Rio de Janeiro. **Revista Agricultura** 48 (2-3): 94. 1973.

LUZ, WC. Nematoides fitoparasitas associados com trigo no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira** 17 (2): 215-217. 1982.

MAI, WF & MULLIN PG. **Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera**. Ithaca: Cornell University Press, 271p. 1996.

MOURA RM. Ocorrência, em Pernambuco do nematoide *Radopholus similis* (Cobb) Thorne sobre bananeiras (*Musa paradisiaca* L.) var. comprida. In: Divisão de Produção Vegetal. Recife: **Anais do 3.ª Seminário de Sementes**. p. 261-262. 1872.

O'BANNON JH. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. **Journal of Nematology** 9: 16-25. 1977.

PAIS CS & ABRANTES IM. Esterase and malate dehydrogenase phenotypes in portuguese populations of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology** 21: 342-346. 1989.

PEREIRA AM. Identificação e manejo de nematoides da bananeira no leste do estado do Paraná. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal do Paraná. 2006.

PEREIRA, HF; FIGUEIREDO JUNIOR, ER; HUSSNI, J. Nematode cavernícola nos bananais de São Paulo. **O Biológico** 26: 27-31. 1960.

RAJASEKHAR, SP; GANGULY, AK; DASGUPT, DR. Effect of some biotic and abiotic factors on the stability of esterase of *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*. **Indian Journal of Nematology** 20: 37-43. 1990.

RITZINGER, CHSP; BORGES, AL; LEDO, CAS; CALDAS, RC. Fitonematoides associados a bananais 'Pacovan' sob condição de cultivo irrigado: relação com a produção. **Revista Brasileira de Fruticultura** 29:677-680. 2007.

ROESE, AD; ROMANI, RD; FURLANETTO, C; STANGARLIN, JR; PORTZ, RL. Levantamento de doenças na cultura da soja em municípios da região oeste do estado do Paraná. **Acta Scientiarum** 23:1293-1297. 2001.

SASSER, JN. Identification and host-parasite relationships of certain root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). College Park: University of Maryland/Agricultural Experiment Station, p. 31. **Bulletin Technical A-77**. 1954.

SHARMA, RD; JUNQUEIRA, NTV; GOMES, AC. Reaction of passionfruit genotypes to the reniform nematode, *Rotylenchus reniformis*. **Nematologia Brasileira** 25: 211-215. 2003.

SHARMA, RD. Nematodes associated with avocado (*Persea Americana* Mill) in cerrado soils. Soc. Bras. **Nematologia** 3: 63-70, 1978.

SHARMA, RD. Nematóide cavernícola atacando a bananeira na Bahia. Ilhéus: **Cacau Atualidades** 2: 4-6. 1974a.

SHARMA, RD. Nematoides associados a bananeira do Recôncavo Baiano. Ilhéus: **Cacau Atualidades** 2: 27-29. 1974b.

STOVER RH. Nematode disease. In: Stover RH. Kew: **Banana Plantain and Abaca Diseases**. 15-36. 1972.

TARTE, R; PINOCHET, J. Problemas nematológicos del banano. Unión dos Países Exportadores de banano. Panamá, p.32 1981.

ZEM, AC. Problemas nematológicos em bananeiras no Brasil (*Musa* spp.) 140p. **Tese (Doutorado)**. Universidade de São Paulo (ESALQ). 1982.

ZEM AC & ALVES EJ. Nematoides associados a bananeiras no estado do Maranhão. **Ciencia e Cultura**. 30: 13. 1978.

ZEM AC & LORDELLO LGE. Estudos sobre hospedeiros de *Radopholus similis* e *Helicotylenchus multicinctus*. Soc. Bras. **Nematologia** 7: 175-188. 1983.

ZEM, AC; BARREIRA JC & TEIXEIRA LS. Nematoides associados a bananeiras no estado do Ceará. Soc. Bras. **Nematologia**, Brasília, 4: 162. 1980.

ZEM, AC; GOULART, JCT; BRANCALION, AM. Problemas causados por nematoides em bananais do litoral paulista. **Fitopatologia Brasileira** 4: 162. 1979.

ZEM, AC. Nematoides associados a plantas no Recôncavo Baiano. **Revista de Agricultura** 53: 114. 1978.

ZEM, AC. Observações sobre perdas provocadas por nematoides em bananeira (*Musa acuminata* Simm. & Shep.) cv. Nanicão. Cruz das Almas: **Boletim de Pesquisa nº 6 - EMBRAPA/CNPMPF**. 10p. 1981.

CAPÍTULO 3

SELEÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA A *Radopholus similis* EM GENÓTIPOS DE *MUSA* TRIPLOIDES (AAA e AAB) E TETRAPLOIDES (AAAB e AAAA)

SELEÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA a *Radopholus similis* EM GENÓTIPOS DE *MUSA* TRIPLOIDES (AAA e AAB) E TETRAPLOIDES (AAAB e AAAA)

RESUMO

A banana é a segunda fruta mais produzida no Brasil e corresponde a 15,7% de toda a fruta produzida no país, superado apenas pela laranja em 44,1%. Entre os principais fatores bióticos que afetam a produtividade da bananeira estão os fitonematoides, com destaque para o nematoide cavernícola (*Radopholus similis*). O manejo desses nematoides por meio da aplicação de nematicidas tem se tornado uma prática cada vez mais prejudicial não só ao meio ambiente e ao homem, como ineficaz e além disso, não proporciona longo do prazo erradicação completa desses organismos. Diante desse fato, a utilização de cultivares resistentes se mostra uma prática com maior viabilidade de aplicação. O programa de melhoramento genético de banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura tem ao longo dos anos desenvolvido e introduzido no Brasil genótipos com resistência a fungos, porém são escassas ou inexistentes a seleção de genótipos com elevados graus de resistência a nematoides, em especial a *R. similis*. Baseado no exposto, este estudo teve por objetivo, avaliar a nível de casa de vegetação o comportamento de 22 genótipos triploides (AAA e AAB) e tetraploides (AAAA e AAAB) de bananeiras introduzidos e/ou melhorados pela Embrapa Mandioca e Fruticultura frente a *R. similis*.

Mudas micropropagadas de todos os genótipos, foram aclimatadas em casa de vegetação durante dois meses. Após este período, foram inoculadas com uma suspensão de 300 nematoides (juvenis e adultos)/planta, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Sessenta dias após a inoculação, foram avaliadas quanto ao número de nematoides nas raízes e no solo, sendo determinado o fator de reprodução ($FR = Pf/Pi$) e com base na percentagem de redução do fator de reprodução em relação ao genótipo de maior suscetibilidade, classificada a reação de resistência.

Os resultados destacaram as cultivares Enxerto 33, Thap Maeo, Calypso, Caipira, Tropical e Maçã como moderadamente resistentes, ao contrário das cultivares Preciosa, Maravilha e Prata Anã, classificadas como altamente suscetíveis. Os demais genótipos comportaram-se como suscetíveis. A análise de proteína de raízes por SDS-PAGE mostraram diferenças entre o perfil proteico de cultivares moderadamente resistentes e suscetíveis.

Palavras-chave: nematoide cavernícola, melhoramento genético, fator de reprodução, bananeira.

Selection of sources of resistance to *Radopholus similis* in triploid (AAA & AAB) and tetraploid (AAAB & AAAA) *musa* genotypes

ABSTRACT

Banana is the second most produced fruit in Brazil, accounting for 15.7% of all fruit produced in the country, exceeded only by orange with 44.1% of total. Among main biotic factors affecting banana yield are plant parasitic nematodes, with emphasis on the burrowing nematode (*Radopholus similis*). Management of these nematodes by nematicide application has become more and more detrimental not only to environment and man, as ineffective for not providing a complete eradication of these organisms over time. Given this fact, the use of resistant cultivars is shown a more practical and economically feasible. Over the years, the banana breeding program of Embrapa Mandioca e Fruticultura has developed and introduced in Brazil banana genotypes with resistance to fungi, but are scarce or nonexistent selections of genotypes with high degrees of resistance to nematodes, especially to *R. similis*. Based on the foregoing, this study aimed to assess under greenhouse, reaction of 22 triploid (AAA and AAB) and tetraploid (AAAA and AAAB) banana genotypes developed and / or introduced by Embrapa Mandioca e Fruticultura front of *R. similis*.

Micropropagated plantlets of all banana genotypes were acclimated under greenhouse during two months. After this period, the plants were inoculated with a suspension of 300 nematodes (juveniles and adults) per plant, distributed in completely randomized design with four replications. At the end of 60 days they were evaluated on the number of nematodes in the roots and soil, being calculated the reproduction factor ($RF = Pf / Pi$) and the percentage reduction of reproduction factor in relation to the most susceptible genotype, then ranked the resistance reaction.

The results highlighted the cultivars Enxerto 33, Thap Maeo, Calypso, Caipira, Tropical and Maçã as moderately resistant, unlike the cultivars, Preciosa, Maravilha and Prata Anã, ranked as highly susceptible. The other genotypes behaved as susceptible.

Protein analysis of roots by SDS-PAGE showed differences between the protein profile moderately resistant cultivars and susceptible ones.

Key words: genetic improvement, reproduction factor, banana.

Introdução

A banana é a base da alimentação para muitas regiões do mundo inclusive para o Brasil, sendo considerada a segunda frutífera de maior produção no país. No Brasil, principalmente na região norte, esta assume papel importantíssimo na alimentação gerando empregos e renda para as populações carentes.

O cultivo da bananeira enfrenta diversas limitações de ordem biótica e abiótica, e dentre as limitações bióticas estão os nematoides considerados uma das mais importantes causas de perdas na cultura. Infecção por nematoides resulta em necrose e redução do sistema radicular, o que leva ao menor peso do cacho e tombamento das plantas. O nematoide mais prejudicial a bananeira é o nematoide cavernícola *Radopholus similis* (Cobb) Thorne (Gowen *et al.*, 2005), e as perdas econômicas devido ao ataque desse nematoide são superiores a 50%, com necessidade de aplicações regulares de nematicidas (Gowen, 1995).

Dentro das estratégias de manejo integrado de pragas, a resistência de plantas a nematoides parece ser a maneira mais eficaz de reduzir as perdas no rendimento causadas por esses organismos com baixo custo para o agricultor (Speijer & De Waele, 1997; Vuylsteke, 2000), pois, em larga escala de cultivo, o manejo dos nematoides tem sido por meio de repetidas aplicações de nematicidas, que além de não promover a erradicação dos nematoides, são caros e oferecem riscos de intoxicação ao meio ambiente e aos aplicadores. O passo inicial para o uso de cultivares resistentes é a identificação de fontes de resistência que podem ser usados em programas convencionais de melhoramento para o desenvolvimento de híbridos resistentes.

O processo de melhoramento com o objetivo de desenvolver cultivares resistentes pode ser acelerado na presença das características desejadas da planta, como a resistência aos nematoides que segundo Moens *et al* (2002), pode ser demonstrada ainda em estagio inicial. Uma vez conhecida a fonte de resistência, o próximo passo é a incorporação de genes para a resistência em cultivares triploides, o que segundo Pinochet (1988), constitui um obstáculo, pela complexidade genética existente dentro do gênero *Musa*. A grande maioria dos cultivares de banana pertence ao grupo dos triploides, mas são altamente suscetíveis aos nematoides.

A avaliação de germoplasma de banana mostrou que a maioria dos diploides tanto selvagens como cultivados sofreram poucos danos pelo ataque do nematoide, mas possuem baixos rendimentos (Pinochet, 1988).

O melhoramento é efetuado pela produção de gerações sucessivas de híbridos diploides e pela seleção contínua dos melhores genótipos resultantes de todos os cruzamentos colocados em campo. Os cruzamentos são feitos procedendo-se aos cruzamentos envolvendo espécies selvagens, cultivares e híbridos, visando à obtenção de parentais masculinos melhorados que serão utilizados no melhoramento de triploides e tetraploides.

Resistência em *Musa* spp. à *R. similis*, é relatada em alguns diploides e triploides de banana, "Pisang Jari Buaya" (*Musa* AA) (Pinochet & Rowe, 1978), Yangambi km 5 (*Musa* Ibota AAA) (Sarah *et al.* 1992; Fogain & Gowen, 1997) e em um clone diplóide Kunnan (*Musa* AB) (Collingborne & Gowen, 1997). Além dessas fontes de resistência várias outras tem sido divulgadas para *R. similis*, sendo necessária a confirmação (Fogain, 1996; Afreh-Nuamahet *al.*, 1996).

O programa de melhoramento da banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura tem buscado selecionar fontes de resistência a diversos patógenos da bananeira, inclusive *R. similis*, com o objetivo de posterior incorporação dessa resistência em cultivares comerciais. Com base nesse fato, diferentes genótipos pertencentes ao banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, híbridos diploides e cultivares comerciais tem sido avaliados em relação à resistência frente aos nematoides *R. similis* e *Meloidogyne* spp. Entretanto, até o momento, poucos genótipos tetraploides melhorados ou introduzidos foram avaliados em relação a esses nematoides. Em razão do exposto, o presente estudo teve como objetivo selecionar fontes de resistência a *R. similis* entre vinte e dois genótipos triploides e tetraploides de *Musa* melhorados e/ou introduzidos pela Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, em casa de vegetação, no período de outubro a dezembro de 2010.

Obtenção dos genótipos de bananeira

Os genótipos de bananeira (Tabela 1) foram obtidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas, BA, onde as mudas foram produzidas por micropropagação e aclimatadas por três semanas em câmara de crescimento (27 – 28 °C) com 12 horas de fotoperíodo. As mudas, encaminhadas à Universidade de Brasília, foram transplantadas para sacos plásticos de 3 litros, contendo uma mistura autoclavada de latossolo vermelho e areia lavada, na proporção 3:1, fertilizada com 1 parte de esterco de gado, calcário e adubo superfosfato simples (18% de P₂O₅), onde permaneceram por um período de 60 dias de aclimação. Oito dias após o transplante, cada muda foi suplementada com 50 ml da solução nitrogenada na concentração de 1,1 g de ureia/litro de água, uma vez por semana durante as três primeiras semanas. Logo após, foi feita adubação de cobertura com cerca de 8 g de adubo NPK (10:30:10) por vaso, de 2 em 2 semanas até o fim do período de aclimação.

Tabela 1: Genótipos de bananeira híbridos (H) e cultivares (C) utilizados no ensaio de resistência a *Radopholus similis*. Universidade de Brasília, 2010.

Genótipos	Origem	Composição genômica
GARANTIDA	Prata São Tomé	AAAB (H)
THAP MAEO	-	AAB (C)
MAÇÃ	-	AAB (C)
PA 9401	Prata Anã	AAAB (H)
FHIA 18	Prata Anã	AAAB (H)
PA 4244	Prata Anã	AAAB (H)
CAPIRA	-	AAA (C)
YB 4217	Yangambi	AAAB (H)
PV 7934	Pacovan	AAAB (H)
JV 42135	Prata de Java	AAAB (H)
PRECIOSA	Pacovan	AAAB (H)
TROPICAL	Yangambi Km 2	AAAB (C)
ENXERTO 33	-	AAB (C)
CALIPSO	High-Gate	AAAA (C)
JAPIRA	Pacovan	AAAB (H)
FHIA-17	Prata Anã	AAAA (H)
GRANDE NAINE	-	AAA (C)
PRATA ANÃ	-	AAB (C)
YB 1203	Yangambi	AAAB (H)
BUCANERO	High-Gate	AAAA (H)
MARAVILHA	Prata Anã	AAAB (C)
YB 4247	Yangambi	AAAB (H)

Obtenção e multiplicação do inóculo de *Radopholus similis*

A população de *R. similis* utilizada foi obtida em Pernambuco, proveniente de raízes e rizomas de bananeira (cultivar Pacovan - *Musa* AAB) que vinha sendo mantida em plantas da cultivar Grande Naine. Foi escolhida essa população por ela ter sido demonstrada a mais agressiva entre outras populações no nematoide de acordo com Costa (2004).

Os nematoides foram extraídos de raízes que foram picadas em pedaços de aproximadamente 2 cm e trituradas em liquidificador em velocidade máxima por cerca de 15 segundos. A suspensão foi passada em peneira de 250, e a suspensão recuperada em peneira de 500 mesh, a qual foi transferida para funil de Baermann modificado, onde foi mantida por cerca de 24 horas sob oxigenação. Os espécimes recuperados do funil foram lavado em peneira de 500 mesh para serem multiplicadas em cilindros de cenoura (*Daucus carota* L.) (O'Bannon & Taylor, 1968; Fallas & Sarah, 1994), de acordo com o procedimento abaixo.

Esterilização (axenização) dos nematoides

Os espécimes (machos, fêmeas e juvenis) foram colocados em placas de ciracusa contendo 0,5 ml de uma suspensão de água destilada e transferidos para tubos eppendorf de 1,5 ml, sendo realizada uma centrifugação a 3000 rpm por três minutos e descartado o sobrenadante. Aos tubos com o concentrado de nematoides foi adicionada uma solução de cloreto de mercúrio (0,01%) e, novamente centrifugados a 3000 rpm por três minutos e, novamente descartado o sobrenadante. Aos tubos com o concentrado de nematoides foi adicionada uma solução de sulfato de estreptomicina (0,02%) e novamente centrifugados a 3000 rpm por três minutos e descartado o sobrenadante. Logo após, foram realizadas duas lavagens em água destilada esterilizada sob o mesmo regime de centrifugação e descartado o sobrenadante (Mountain, 1955).

Preparo dos cilindros de cenoura

Cenouras de cultivo orgânico foram mergulhadas em solução de hipoclorito de sódio (1%), pulverizadas com álcool comercial e flambadas em câmara de fluxo laminar, sendo cortadas rodela de cerca de 2 cm de comprimento e, com auxílio de um perfurador de 1,5 cm de diâmetro, retirados os discos centrais. Frascos de vidro com

tampas escuras com capacidade de 100 ml foram preenchidos com aproximadamente 10 ml de meio ágar-água 1% autoclavados. Os cilindros centrais das cenouras foram colocados nos frascos de maneira que ficassem suspensos, apoiando as duas extremidades na lateral dos frascos contendo o meio ágar-água 1% solidificado no fundo e, deixados por quatro dias para utilização apenas dos frascos sem contaminações (O'Bannon & Taylor, 1968).

Inoculação dos nematoides sobre os cilindros de cenoura

Após a axenização dos nematoides, os pellets de nematoides foram pipetados e o conteúdo espalhado sobre os cilindros de cenoura e em seguida, os frascos vedados com plástico adesivo (zap), para em segui serem mantidos em câmaras BOD com temperatura de 28 °C sem fotoperíodo durante cerca de 20 dias, no Laboratório de Nematologia da Embrapa Cenargen, Brasília-DF.

Preparo do inóculo para inoculação em mudas de bananeira

Para a extração dos nematoides dos cilindros de cenoura combinou-se as metodologias de peneiramento e funil de Baermann modificado. Os frascos contendo os cilindros de cenoura com nematoides foram lavados com água esterilizada e a água de lavagem passada em peneiras de 100 e 500 mesh, sendo recolhida da última peneira a suspensão e depositada em béqueres com peneiras de nylon e papel absorvente sob oxigenação por 24 horas. O inóculo recolhido dos béqueres foi calibrado para 60 nematoides/ml.

Inoculação de *Radopholus similis* em bananeiras

Decorrido o período de aclimação, as mudas foram transferidas da casa de vegetação de Nematologia da Embrapa Cenargem para a casa de vegetação da Estação experimental da Biologia da Universidade de Brasília e, transplantadas para vasos com capacidade para 1,50 l com o mesmo solo utilizado na aclimação. Dois orifícios foram abertos ao redor das mudas expondo as raízes e, a suspensão de nematoides (5 ml) depositada sobre as raízes, com auxílio de uma pipeta (P5000). O experimento foi

mantido na casa de vegetação por 60 dias. A temperatura variou de 19 a 30 °C, média de 23°C. A umidade relativa do ar esteve entre 71 e 92 % com média de 83%.

Avaliação

Passados 60 dias, os nematoides foram extraídos das raízes (10 g) e do solo (50 cc) das bananeiras, sendo submetidos à contagem com auxílio da câmara de Peters. Os níveis populacionais de *R. similis* nas raízes e no solo foram avaliados após a extração pelos métodos modificados de Coolen & D'erde (1972) e de Jenkins (1964), respectivamente. A resistência e a suscetibilidade das plantas de bananeira a *R. similis* foi avaliada conforme o Fator de Reprodução estimado para cada repetição (FR = população final/ população inicial), sendo que a população final corresponde ao total de nematoides encontrados no solo e na raiz. A reação dos genótipos (Tabela 2) seguiu a escala de porcentagem da redução do fator de reprodução (FR) (Moura & Régis, 1987) modificado. O genótipo que apresentou o mais alto índice de reprodução do nematoide foi considerado como padrão de suscetibilidade (Moura & Régis, 1987). Variáveis como número de nematoides por 10 gramas de raiz, número de nematoide por planta, número de nematoides no solo e o número total de nematoides foram também avaliados.

Tabela 2: Reação da hospedeira com base na porcentagem de redução do fator de reprodução em relação a cultivar mais suscetível.

% de redução do FR	Reação da Cultivar
0-25	Altamente suscetível (AS)
26-65	Suscetível (S)
66-75	Baixa Resistência (BR)
76-95	Parcialmente Resistente (MR)
96-99	Resistente (R)
100	Altamente Resistente (AR) ou Imune (I)

Moura & Régis (1987) modificado.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições e sendo verificado a necessidade de transformação dos dados para realizar as análises de variância, os dados originais foram transformados em log (x) e as medias agrupadas pelo teste de Tukey a 1%, com auxílio do programa estatístico Sisvar 5,0 (Ferreira, 2008).

Análise Prévia dos perfis proteicos dos principais genótipos contrastantes

As plantas suscetíveis e resistentes foram comparadas previamente quanto ao perfil protéico através da separação das proteínas por eletroforese em gel de poli-acrilamida (SDS- PAGE) (Weber & Osborn, 1969; Laemmli, 1970). Para esse ensaio foram utilizadas as cultivares Caipira (MR), Enxerto 33 (MR), Grande Naine (S) e o híbrido Bucanero (Altamente suscetível).

Inicialmente foram coletados o sistema radicular das plantas (uma por genótipo) e, as raízes lavadas em água corrente, seccionando fragmentos de aproximadamente 2 cm de comprimento de raízes secundárias e terciárias, imergindo-as em nitrogênio líquido e armazenando a -80°C .

Extração e quantificação de proteínas totais

Conforme a metodologia descrita por Rocha *et al.*, (2005), as amostras de raízes foram maceradas em nitrogênio líquido e, em cerca de 0,5 g do macerado contido num tubo de Falcon, foram acrescentados 15 ml de tampão de extração [50 mM de Fosfato de sódio (monobásico F7-1; dibásico F7-2); 20 mM de Cloreto de sódio (C20); 100 mM DTT (C9); 2 mM triton X-100 (T12); pH:7,00]. O material foi agitado por 2 horas a 4°C e centrifugado a 10000 rpm por 30 minutos. Foi coletado o sobrenadante, e este centrifugado novamente a 10000 rpm por 20 minutos. Em seguida coletou-se o sobrenadante. Foi feita a quantificação das proteínas pelo método de Brad Ford (BioRad Cat. 500. 0006) mini da BioRad seguindo-se as instruções do fabricante. e, obtidos os seguintes resultados: 'Caipira': $0,202\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$; 'Enxerto 33': $0,250\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$; 'Grande Naine': $0,286\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$; 'Bucanero': $0,164\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$. Em seguida às amostras já com as proteínas quantificadas foi acrescentado TCA 10% e armazenado por 1 hora a 20°C ($900\ \mu\text{l}$ da amostra + $100\ \mu\text{l}$ de TCA). Em seguida, a mistura foi submetida a 3 ciclos de centrifugação a 13000 rpm por 5 minutos em alternância com a lavagem em acetona pura, secando-se bem o tubo eppendorf vertendo sobre a bancada com papel toalha entre as centrifugações. As amostras foram ressuspensas em $25\ \mu\text{l}$ de H_2O MiliQ + $25\ \mu\text{l}$ Tampão de amostra (2X) [20 ml de Glicerol 20%; 10 ml de B-Mercaptoetanol; 4,6 ml de SDS 4,6%; 1,5 ml de Tris 124 mM e 0,01 g de Azul de bromofenol] após a fervura.

Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

Quinze microlitros de cada amostra foram aplicadas no gel [Gel separador: 1350 ml de Tris HCl pH 8,8; 2130 ml de Acrilamida 30%; 1800 ml de H₂O MiliQ; 54 µl de Persulfato de amônio 10% e 10 µl de Temed. Gel Concentrador: 405 µl de Tris HCl pH 6,8; 243 µl de Acrilamida 30%; 90 µl de H₂O; 12 µl de Persulfato de amônio e 5 µl de Temed]. Foram utilizados 5 µl de marcador BenchMark™ Ptn Ladder da INVITROGEN (10 a 220 KDa) onde as marcas de 20 e 50 KDa são as mais fortes. As cubetas foram alocadas na cuba, onde foi acrescentado o tampão de corrida [6 ml da solução concentrada (144 g de Glicina + 30 g de Tris base + 10 g de SDS) + 54 ml de água destilada]. Finalmente, a cuba foi conectada à fonte com a voltagem inicial de 100 V (até que as proteínas atravessassem o gel separador), e depois a voltagem foi ajustada para 120 V no gel de concentração (Rocha *et al.*, 2005).

Noventa minutos após (término da corrida), foi feita a coloração das proteínas com aplicação sobre os géis a solução Coomassie blue [450 ml de água + 100 ml de Ácido acético + 2 g de Coomassie blue], mantido sob agitação durante uma noite. Em seguida, os géis foram descoloridos com a aplicação da solução descorante [10 ml de Ácido acético + 40 ml de Metanol + 50 ml de água], deixado sob agitação cerca de 30 minutos, com troca da solução por três vezes.

A imagem digital do gel já descolorido foi processada pelo ImagemScanner III G. E. e a análise de densitometria foi realizada por meio do software ImageQuantTL (GE Healthcare Life Sciences).

Resultados

As populações finais de *Radopholus similis* (Tabela 3) variaram de 14962 na cultivar Preciosa (selecionada como padrão de susceptibilidade) a 846 nematoides na Bucanero. Houve variação no peso total do sistema radicular, entre 20,5 gramas para a cultivar Bucanero e 77,5 gramas para a cultivar Enxerto 33. A cultivar Enxerto 33 apresentou o segundo menor número de nematoides por 10 gramas de raízes (181,25 jovens e adultos), no entanto, não foi equivalente no número de nematoides em todo o sistema radicular nem na população final de nematoides (Solo+Raiz).

Tabela 3: Reação de genótipos de bananeiras (AAA, AAB, AAA e AAAB) frente ao parasitismo por *Radopholus similis* proveniente do Estado de Pernambuco sob condições de casa de vegetação. Universidade de Brasília, 2010.

Genótipos	Composição Genômica	Peso do Sistema Radicular ^{1/}	População de <i>R. similis</i> /10 g de raiz ^{1/}	População de <i>R. similis</i> no sistema radicular ^{1/}	População Final de Nematoides (Raiz + Solo) ^{1/}	Fator de Reprodução (FR) ^{1/}	% de redução do FR	Reação
ENXERTO 33	AAB (C)	77,50	181,25 b	1530,5 ab	2.422,20 abc	8,00	84,0	MR
YB 4247	AAAB (H)	76,50	303,00 ab	2075,25 ab	4.054,75 abc	13,25	73,5	BR
PA 4244	AAAB (H)	69,75	763,00 ab	5066,5 a	10.720,50 a	35,50	29,0	S
YB 4217	AAAB (H)	63,00	313,70 ab	1510,25 ab	3.841,20 abc	13,00	74,0	BR
GARANTIDA	AAAB (H)	61,25	500,00 ab	2881 ab	4.242,70 abc	14,25	71,5	BR
JAPIRA	AAAB (H)	60,00	168,66 b	926,33 ab	4.720,00 ab	16,00	68,0	BR
PA 9401	AAAB (H)	54,50	668,20 ab	3727,75 ab	5.137,50 ab	17,25	65,5	S
PRATA ANÃ	AAB (C)	51,75	1.420,20 a	7935 a	12.434,20 a	41,25	17,5	AS
YB 1203	AAAB (H)	49,33	809,60 ab	4999,33 ab	5.798,30 abc	19,33	61,3	S
FHIA 18	AAAB (H)	47,50	850,00 ab	3659,5 ab	8.399,25 ab	28,25	43,5	S
THAP MAEO	AAB (C)	44,75	197,50 ab	991 ab	1.420,20 bc	5,00	90,0	MR
CALYPSO	AAAA (H)	44,00	191,50 ab	843,5 ab	3.566,50 abc	11,50	77,0	MR
JV 42135	AAAB (H)	43,00	540,70 ab	2105 ab	4.054,70 abc	13,75	72,5	BR
MARAVILHA	AAAB (H)	41,25	1.417,50 a	6347 a	14.150,50 a	47,25	5,5	AS
FHIA 17	AAAB (H)	38,00	895,50 ab	3532,25 ab	6.492,50 ab	21,75	56,5	S
PRECIOSA	AAAB (H)	37,66	1.615,00 a	7587 a	14.962,00 a	50,00	0,0	AS
PV 7934	AAAB (H)	36,66	1.303,30 ab	6106,33 a	9.629,00 ab	32,00	36,0	S
GRANDE NAINÉ	AAA (C)	35,75	437,50 ab	1426,25 ab	5.385,50 ab	18,00	64,0	S
CAPIRA	AAA (C)	31,00	375,50 ab	989,5 ab	3.135,50 abc	10,50	79,0	MR
TROPICAL	AAAB (H)	30,75	445,50 ab	1323 ab	2.488,50 abc	8,25	83,5	MR
MAÇÃ	AAB (C)	22,75	1.117,20 ab	2316 ab	2.634,00 abc	8,75	82,5*	AS
BUCANERO	AAAA (H)	20,50	222,00 ab	476 b	846,00 c	3,00	94,0*	AS
	CV		13,14	12,31				

1/ Os dados são médias de 4 repetições. Para análise estatística os dados foram transformados em log x. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P ≤ 0,01). Legenda: AS (Altamente Suscetível); S (Suscetível); BR (Baixa Resistência); MR (Moderadamente Resistente).

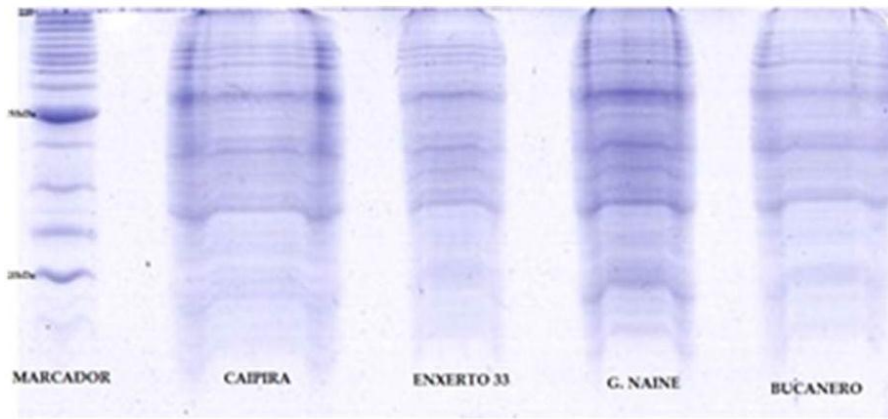
A cultivar Bucanero, embora tenha o menor peso de raiz e menor número de nematoides na população final, não teve o menor número de nematoides por 10 gramas de raiz. A cultivar Maçã, apresentou o segundo menor peso total do sistema radicular, no entanto apresentou um dos maiores índices de nematoides por 10 gramas de raiz.

O teste de Tukey a 1% separou os genótipos em três grupos com base no número de nematoides por 10 gramas de raiz (Tabela 3), tendo destacado a cultivar Enxerto 33 pelo menor número de nematoides por 10 gramas de raiz. As cultivares Prata Anã, Maravilha e Preciosa, foram separados pelo maior número de nematoides por 10 gramas de raiz (1420,2; 1417,5 e 1615, respectivamente). As cultivares Thap Maeo, Calypso, Grande Naine, Caipira e Tropical, embora tenham se agrupado às demais cultivares, obtiveram os menores índices de nematoides por 10 gramas de raiz (197,5; 191,5; 437,5; 375,5 e 445,5, respectivamente). O mesmo aconteceu à cultivar Japira (168,66 nem/10 g), no entanto, esta apresentou maiores números de nematoides no solo (dados não apresentados), e conseqüentemente obteve um dos maiores índices na população final.

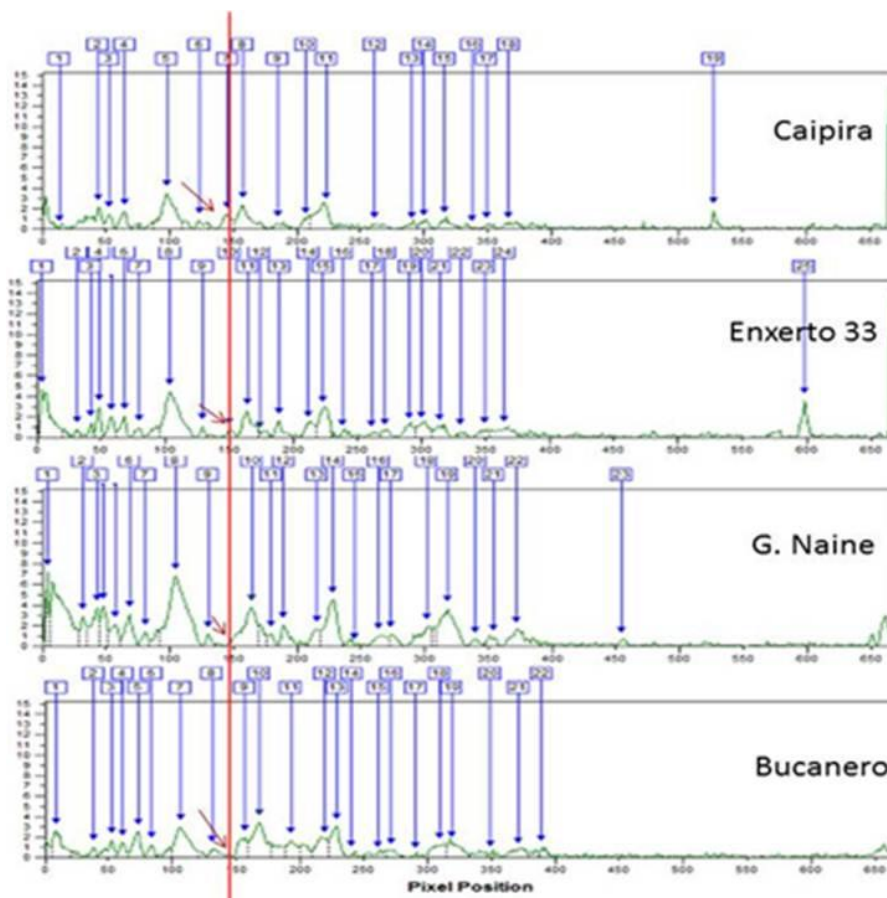
Considerando a população final de nematoides (solo+raiz), os genótipos foram separados em quatro grupos (Tabela 3), no entanto, apenas a cultivar Bucanero foi estatisticamente diferente das demais, que apesar de serem diferentes do ponto de vista numérico e de exibirem certos graus de diferenças mesmo do ponto de vista estatístico, foram todos igualados pelo teste de Tukey 1%.

A reação dos genótipos baseada na percentagem da redução do fator de reprodução ($FR=PF/PI$) em relação ao híbrido Preciosa (padrão de suscetibilidade) destacou como altamente suscetível nas cultivares Prata Anã e Maravilha; suscetível nos híbridos PA 4244, PA 9401, YB 1203, FHIA 18, FHIA 17, PV 7934 e na cultivar Grande Naine, como baixa resistência nos híbridos YB 4247, YB 4217, JV 42135 e Japira e como moderada resistência nas cultivares Enxerto 33, Thap Maeo, Calipso, Caipira, Tropical, Maçã e Bucanero.

Análise de proteína de raízes por SDS-PAGE mostraram diferenças entre o perfil proteico de cultivares moderadamente resistentes (Caipira e Enxerto 33) e suscetíveis (Grande Naine e Bucanero) (Figura 1). Uma banda com massa molecular relativa situada entre 38 e 42 kDa expressa pelas cultivares Caipira e Enxerto 33 apresentando picos de diferentes tamanhos (R_f 150) é praticamente ausente em Grande Naine e Bucanero.



A



B

Figura 1: Perfil protéico de bananeiras das cultivares Caipira, Enxerto 33, Grande Naine e Bucanero. (A) Gel SDS-Page dos perfis proteicos das cultivares. (B) Representação gráfica comparativa indicando os picos de proteínas com destaque para a Mobilidade eletroforética (Rf: 150), onde mostra a expressão de uma ou mais proteínas com o valor da massa molecular relativa situada entre 38 e 42 kDa presente nas Cultivares Caipira e Enxerto 33 (Setas vermelhas) e praticamente ausentes na Grande Naine e Bucanero. Imagens geradas pela análise de densitometria realizada utilizando ImageScan III e o software ImageQuantTL (GE Healthcare Life Sciences).

Discussão

Grande parte dos genótipos avaliados foram testados pela primeira vez a *R. similis* e, os resultados demonstraram diferentes graus de resistência a *R. similis* entre os genótipos, com destaque para as cultivares Enxerto 33 (Prata Anã original) e Thap Maeo.

O comportamento parcialmente resistente da cultivar Yangambi km 5 foi relatado por vários autores (Sarah *et al.*, 1992; Price, 1994; Fallas & Marbán-Mendoza, 1994; Gowen, 1996; Speijer & De Waele, 1997; Fogain & Gowen, 1997, 1998; Costa *et al.*, 2008). Trata-se de uma cultivar triploide batizada no Brasil como Caipira. É uma referência de fonte de resistência a *R. similis* oriunda da República Democrática do Congo, que apresentou a reação de moderada resistência mais uma vez confirmada neste estudo. Constitui em uma cultivar conhecida internacionalmente por suas características de resistência aos principais problemas fitossanitários da cultura, entretanto, não tem sido usada em melhoramento de *Musa* spp. devido à sua baixa produção e poder germinativo das sementes, além das progênies produzirem folhas anormais e/ou cachos eretos ou semieretos (Elsen *et al.*, 2002; Costa, 2004).

A cultivar Thap Maeo (AAB) atestada neste trabalho como moderadamente resistente (MR) contrasta com o resultado obtido por Costa *et al.* (1998), mas é coerente com o resultado obtido por Costa (2004) e Santos (2007) que obtiveram resposta de parcial resistência desse genótipo a *R. similis*. Além da resistência moderada a *R. similis*, trata-se de uma cultivar com relatos de resistência às Sigatokas negra e amarela e ao Mal do Panamá (Gasparotto *et al.*, 1999), rusticidade e alta produtividade mesmo em solos de baixa fertilidade (Sivieiro *et al.*, 2006), o que indica que esta cultivar possui potencial de uso na criação de novas progênies com características agronômicas desejáveis, além de tolerância a *R. similis*.

O híbrido Preciosa permitiu maior multiplicação de nematoides e consequentemente, maior fator de reprodução (FR), sendo classificada como Altamente suscetível (AS) a *Radopholus similis*, assim como o tetraploide (AAAB) Maravilha (FHIA 01). Preciosa é um híbrido da cultivar Pacovan, que respondeu com susceptibilidade no experimento realizado por Costa (1998). O tetraploide (AAAB) Japira apesar de ser também um híbrido da cultivar Pacovan, respondeu com baixo grau

de resistência neste estudo, mas, de modo geral, estes resultados mostram que os três híbridos são ótimos hospedeiros de *R. similis*.

Diferentes graus de resistência em *Musa* contra *R. similis* já foram encontrados em alguns diploides (AA) do grupo Pisang Jari Buaya e triploide (AAA) cv. Yangambi Km 5 (Pinochet & Rowe, 1979; Wehunt *et al.*, 1978; Price, 1994; Fogain & Gowen, 1998; Stoffelen *et al.*, 2000).

O uso de ‘Pisang Jari Buaya’ no Programa de Melhoramento de Banana da “Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA)” em La Lima, Honduras, resultou em um híbrido diploide SH- 3142 que se mostrou resistente a *R. similis* (Pinochet & Rowe, 1979), inclusive em avaliação *in vitro* (Elsen *et al.*, 2002). O cruzamento de SH- 3142 com a cultivar Prata Anã triploide (AAB) produziu um tetraploide (AAAB) denominado FHIA-01 denominado no Brasil como BRS FHIA Maravilha.

Neste experimento, o híbrido Maravilha (FHIA 1) respondeu como altamente suscetível a *R. similis*, concordando em parte com Costa *et al.* (1998) que obteve uma resposta de suscetibilidade desse híbrido a uma população de *R. similis* oriunda da Bahia de elevada agressividade. O mesmo híbrido mostrou uma parcial resistência (PR) à mistura de populações brasileiras de *R. similis* de maior agressividade oriundas da Bahia e Pernambuco no experimento realizado pelo mesmo autor (Costa, 2004). Segundo Stanton (1999), mudas de FHIA 01 propagadas *in vitro*, não expressaram a resistência a *R. similis*, ao menos que tivessem 28 semanas de idade no momento de inoculação. Neste trabalho, as mudas foram inoculadas com cerca de oito semanas, na fase inicial do crescimento vegetativo, o que pode confirmar a afirmativa de Stanton (1999) em relação à resposta de alta suscetibilidade do Híbrido Maravilha, que provavelmente nem todos os mecanismos de resistência foram expressos.

Similarmente, o híbrido FHIA 18 obteve a mesma resposta (PR) no experimento de Costa (2004), contrastando com o resultado de susceptibilidade (S) obtido no presente estudo. Porém, este resultado é coerente com Dochez (2004), que trabalhando com mudas submetidas à inoculação com três populações africanas de *R. similis* na Uganda, verificou que FHIA 18 (AAAB) esteve entre os genótipos que permitiu a maior multiplicação do nematoide, além de ter reduzido significativamente o peso do sistema radicular da planta, assim como a cultivar Grande Naine (AAA). A suscetibilidade da cultivar Grande Naine neste trabalho confirmou mais uma vez os resultados anteriores

obtidos em casa de vegetação e em campo (Price, 1994; Viaene *et al.*, 2003; Speijer *et al.*, 2000b; Costa, 2004; Dochez, 2004;).

O híbrido Bucanero (AAAA) apesar de ter apresentado o menor índice de reprodução de *R. similis* e conseqüentemente mais percentagem de redução do fator de reprodução foi classificado como altamente suscetível (AS) ou intolerante (I) a *R. similis*, uma vez que houve morte total de todas as plantas. Comportamento semelhante foi observado na cultivar Maçã (AAB), pois apesar de não ter havido morte total das plantas, estas se apresentaram com porte reduzido, com sistema radicular escasso, além de ter somado um número significativo de nematoides por 10 gramas de raízes, o que pode ser correlacionado com o baixo peso do sistema radicular.

As diferenças entre os resultados dos experimentos para seleção de fontes de resistência se deve muitas vezes, entre outros fatores, à população de *R. similis* que pode ser mais ou menos agressiva a determinados genótipos avaliados, além de variações nas condições do ambiente.

Fontes de resistência a nematoides podem ser identificadas dentro de um grande conjunto de genes existentes em *Musa* spp. ou entre os híbridos resultantes de cruzamentos naturais ou produzidos no mundo inteiro pelos programas de melhoramento de plantas. Os testes em campo são demorados, especialmente em culturas de grande porte como a banana (Price, 1994). Por isso, uma avaliação rápida e precoce do material vegetal para detecção da resistência a nematoides é desejável, pois, permite a seleção rápida em fase precoce de plantas candidatas potencialmente interessantes. Além disso, as diferenças de agressividade entre as populações de *R. similis* já comprovadas devem ser levadas em consideração, e sugere testes preliminares com diferentes populações para a seleção e utilização nos ensaios de resistência a populações do nematoide com o mais alto grau de agressividade (Fallas & Sarah, 1995; Stoffelen *et al.*, 1999), ou mesmo para aquelas de menor agressividade, quando o as cultivares melhoradas forem destinadas a plantios em regiões onde predominam populações menos agressivas do patógeno.

Conclusão

A redução da porcentagem do fator de reprodução destacou os genótipos triploides Caipira e Enxerto 33 como possíveis fontes de resistência, e o padrão proteico dos genótipos avaliados em SDS-PAGE nos fornece um ponto de partida para futuros ensaios moleculares visando o melhoramento de *Musa* para resistência aos nematoides.

Referências Bibliográficas

AFREH-NUAMAH, K; AHIEKPOR, EKS; ORTIZ, R; FERRIS, RSB. Advanced *Musa* yield trial at the university of Ghana Agricultural Research station, Kade. 2. Banana weevil and nematode resistance. In: Ortiz R and Akoroda MO (Eds). Plantain and banana production and research in West and Central Africa. **Proceedings of a Regional Workshop** 133-136. 1996.

COLLINGBORN, FMB; GOWEN, SR. Screening of banana cultivars for resistance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae*. International Network for Improvement in Bananas and Plantains. Montpellier: **InfoMusa** 6: 3. 1997.

COSTA, DC; FALEIRO, FG; CARES, JE; GOMES, AC. Pathogenicity and Genetic Variability of *Radopholus similis* Populations in Bananas (*Musa acuminata* AAA and AA) based on RAPD Analysis. **Nematologia Brasileira** 32: 303-316. 2008.

COSTA, DC. Variabilidade patogênica e genética de *Radopholus similis* em bananeira no Brasil. **Tese (Doutorado)**. Universidade de Brasília, Brasília. 2004.

COSTA, DC; SILVA, SO; ALVES, FR. Reação de genótipos de bananeira (*Musa* sp.) a *Radopholus similis* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira** 22:49-56. 1998.

DOCHEZ C. Breeding for resistance to *Radopholus similis* in East African highland bananas (*Musa* spp.). **Thesis (Doctor)**. Katholieke Universiteit Leuven. Uganda. 2004.

ELSEN, A; STOFFELEN, R; TUYET, NT; BAIMEY, H; BOULOIS, HD; DE WAELE, D. In vitro screening for resistance to *Radopholus similis* in *Musa* spp. **Plant Science** 163: 407-416. 2002.

FALLAS, G; MARBÁN-MENDONZA, N. Respuesta de tres cultivares y un híbrido de *Musa* a *Radophilus similis* en Costa Rica, **Nematropica** 24: 161-164. 1994.

FALLAS, GA; SARAH, JL. Effect of storage temperature on the in vitro reproduction of *Radopholus similis*. **Nematropica** 24: 175-177. 1994.

FALLAS, GA; SARAH, JL. Effect of temperatures of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. **Fundamental and Applied Nematology** 18: 445-449. 1995.

FERREIRA DF. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Symposium**, 6: 36-41. 2008.

FOGAIN, R; GOWEN, SR. Damage to roots of *Musa* cultivars by *Radopholus similis* whith and without protection of nematicides. **Nematropica** 27: 27-32. 1997.

FOGAIN, R; GOWEN, SR. Yangambi Km5 (*Musa* AAA, Iboita subgroup), a possible source of resistance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus goodeyi*. **Fundamental Applied Nematology** 21:75–80. 1998.

FOGAIN R. Screenhouse evaluation of *Musa* for susceptibility to *Radopholus similis*. In: Frison EA, Horry JP, De Waele D (eds). Evaluation of Plantains AAB and diploid AA, AB and BB. **Proceeding of the workshop on new frontiers in resistance breeding for nematode, Fusarium and Sigatoka held in Kuala Lumpur** 79–86. 1996.

GASPAROTTO, L; COELHO, AFS; PEREIRA, MCN; PEREIRA, JCR; CORDEIRO, ZJM; SILVA, SO. Thap maeo e Caipira: cultivares de bananeira resistentes à Sigatoka-negra, para o estado do Amazonas. Manaus: **Comunicado Técnico nº2 - Embrapa-CPAA**. p. 5. 1999.

GOWEN, SR. **Bananas and plantains**. Kluwer Academic Publishers, London, UK. 1995.

GOWEN, SR; QUÉNÉHERVÉ, P; FOGAIN R. Nematodes of banana and plantains. In: Luc M, Sikora R, Bridge J (eds) London: **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**, 2 ed. 611–643. 2005.

GOWEN SR. The sources of nematode resistance, the possible mechanism and potential for nematode tolerance in *Musa*. In: Frison, EA; Horry, JP; De Waele, D (eds). New frontiers in resistance breeding for nematodes, *Fusarium* and Sigatoka. Malaysia: **Proceedings of the Workshop held in Kuala Lumpur**. 1996.

JENKINS WR. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter** 48: 692. 1964.

LAEMMLI UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature** 227: 680-685. 1970

MOENS, T; LUYTEN, C; MIDDELBURG, JJ; HERMAN, PMJ; VINCX M. Tracing organic matter sources of estuarine tidal flat nematodes with stable carbon isotopes. **Marine Ecology Progress Series** 234:127–137. 2002.

MOUNTAIN, WB. A method of culturing plant parasitic nematodes under sterile conditions. **Proceeding of the Helminthological Society of Washington**, Washington, 22: 49-52, 1955.

- MOURA, RM; REGIS, EMO. Reação de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) em relação ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* Nematoda: Heteroderidae). **Nematologia Brasileira** 11:215-25. 1987.
- O'BANNON, JH; TAYLOR, AL. Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot disks. **Phytopathology** 58:385. 1968.
- PINOCHET, J; ROWE, PR. Progress in breeding for resistance to *Radopholus similis* on bananas. **Nematropica** 9:76-78. 1979.
- PINOCHET, J; ROWE, PR. Reaction of two banana cultivars to three different nematodes. **Plant Disease Reporter** 62: 727-729. 1978.
- PINOCHET, J. Comments on the difficulty in breeding bananas and plantains for resistance to nematodes. **Revue de Nématologie** 11: 3-5. 1988.
- PRICE, N. Field trial evaluation of nematode susceptibility in *Musa*. **Fundamental and Applied Nematology** 17: 391-396. 1994.
- ROCHA, TL; COSTA, PHA; MAGALHÃES, JCC; EVARISTO, RGS; VASCONCELOS, EAR; COUTINHO, MV; PAES, NS; SILVA, MCM; GROSSI-DE-SÁ, MF. Eletroferese Bidimensional e Análise de Proteomas, Brasília: **Circular Técnica n. 136** - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. p. 12. 2005.
- SANTOS, JRP. Caracterização de genótipos de *Musa* com base na reação a *Radopholus similis* e de genótipos contrastantes para resistência com base em marcadores moleculares RAPD. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade de Brasília, Brasília. 2007.
- SARAH, JL; BLAVIGNAC, F; SABATINI, C; BOISSEAU, M. Une méthode de laboratoire pour le criblage varietal des bananiers vis-a-vis de la résistance aux nematodes. **Fruits** 47:559-564. 1992.
- SEINHORST, JW. The relationships between population increase and population density in plant-parasitic nematodes. II. Sedentary nematodes. **Nematologica** 13: 157-171. 1967
- SIVIERO A, OLIVEIRA TK, PEREIRA JES, SÁ CP & SILVA SO. Cultivares de banana resistentes à sigatoka-negra recomendadas para o Acre. Rio Branco: **Circular Técnica n°49** - Embrapa Acre. p. 8. 2006.
- SPEIJER, PR; DE WAELE, D. Screening of *Musa* germoplasma for resistance and tolerance to nematodes. **Inibap Technical Guidelines** p. 47. 1997.
- SPEIJER, PR; SSANGO, F; VUYLSTEKE, D. Evaluation of host plant response to nematodes in *Musa* germplasm in Uganda. In: Craenen K, Ortiz R, Karamura BE, Vuyksteke DR (eds) Proceedings of the first international conference on banana and plantain for Africa. **Acta Horticulturae** 540:225-232. 2000.

STANTON, JM. Assessment of resistance and tolerance of in vitro propagated banana plants to burrowing nematode, *Radopholus similis*, **Australian Journal of Experimental Agriculture** 39 : 891- 895. 1999.

STOFFELEN, R; JIMENEZ, MI; DIERCKXSENS, C; TAM, VTT; SWENNEN, R; DE WAELE, D. Effect of time and inoculum density on the reproductive fitness of *Pratylenchus coffeae* and *Radopholus similis* populations on carrot disks. **Nematology**, Leiden, 1: 243-250, 1999.

STOFFELEN, R; VERLINDEN, R; XUYEN, NT; 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.

VIAENE, N; DURAN, LF; RIVERA, JM; DUEÑAS, J; ROWE, P; DE WAELE D. Responses of banana and plantain cultivars, lines and hybrids to the burrowing nematode *Radopholus similis*. **Nematology** 5: 85-98. 2003.

VUYLSTEKE, D. Breeding bananas and plantain: from intractability to feasibility. In: Craenen K, Ortiz R, Karamura EB & Vuylsteke DR. (Eds). Proceedings of the First International Conference on Banana and Plantain for Africa. **Acta Horticulturae** 540: 149-156. 2000.

WEBER, K; OSBORN, M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulphate–polyacrylamide gel electrophoresis. **The Journal of Biological Chemistry**, 224: 4406-4412. 1969.

WEHUNT, E; HUTCHINSON, D; EDWARDS, DI. Reaction of banana cultivars to the burrowing nematode (*R. similis*). **Journal of Nematology** 19: 368-370. 1978.