

DALILA REGINA MOTA DE MELO

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO, REAÇÃO DE ACESSOS E  
HERANÇA DA RESISTÊNCIA DO MELOEIRO A *Rhizoctonia solani***

MOSSORÓ-RN  
2014

DALILA REGINA MOTA DE MELO

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO, REAÇÃO DE ACESSOS E  
HERANÇA DA RESISTÊNCIA DO MELOEIRO A *Rhizoctonia solani***

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte das exigências para obtenção do grau de Doutor em Agronomia: Fitotecnia.

**Orientador:** D. Sc. GLAUBER HENRIQUE DE SOUSA NUNES  
**Co-orientador (a):** Dra. Sc. MÁRCIA MICHELLE DE QUEIROZ AMBRÓSIO

MOSSORÓ-RN  
2014

**DALILA REGINA MOTA DE MELO**

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO, REAÇÃO DE ACESSOS E  
HERANÇA DA RESISTÊNCIA DO MELOEIRO À *Rhizoctonia solani***

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte das exigências para obtenção do grau de Doutor em Agronomia: Fitotecnia.

APROVADA EM: 04 / 08 / 2014

**BANCA EXAMINADORA**

Glauber Henrique de Sousa Nunes

---

Profº D. Sc. Glauber Henrique de Sousa Nunes/UFERSA  
Orientador

*Nascimento*

---

Profª Dra. Sc. Selma Rogéria de Carvalho Nascimento/UFERSA  
Examinadora

Hailson Alves Ferreira Preston

---

D. Sc. Hailson Alves Ferreira Preston/UFERSA - CNPq  
Examinador

*Django Jesus Dantas*

---

D. Sc. Django Jesus Dantas/UFERSA - CAPES  
Examinador

*Jean de Oliveira Souza*

---

D. Sc. Jean de Oliveira Souza/UFPB - PNPB  
Examinador

A meus pais, Juraci e Felicidade (Dadinha),  
minha irmã Priscila e meu esposo Alexandre,  
pelo carinho, paciência e amor, por  
compreenderem que muitas vezes para  
alcançarmos nossos sonhos à ausência é  
necessária.

### **Dedico**

Aos meus avós paternos (José Vieira - Dedé  
e Maria Raimunda) e maternos (Francisco e  
Francisca) - *in memoriam*, que sempre  
trabalharam no campo, dele criaram nossa  
família, e nos ensinaram dar valor à vida.

### **Ofereço**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, único digno de honra e glória, por ter me concedido mais esta conquista. Sem Ele, não estaria aqui;

À minha família, em especial meus pais Juraci Melo e Felicidade Melo (Dadinha), minha irmã Priscila Melo e meu esposo Alexandre Ferreira, pelo amor, compreensão e apoio nessa jornada;

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e ao curso de Pós-graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de cursar minha pós-graduação;

Aos professores orientadores D. Sc. Glauber Henrique Nunes e a Dra. Sc. Márcia Michelle Ambrósio, pelo apoio, ensino, paciência e amizade;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa;

Aos professores do curso de Pós-graduação em Fitotecnia, pelos ensinamentos transmitidos;

Aos funcionários da pós-graduação em Fitotecnia, da horta didática (Josevan, Josimar, Alderir e Antônio) e do laboratório de Microbiologia e Fitopatologia (Louise, Biatriz, Andréia e Maria Alice) da UFERSA. Vocês foram importantes na execução deste trabalho;

À banca examinadora (prof<sup>a</sup>. Dra. Sc. Selma Nascimento, D. Sc. Hailson Preston, D. Sc. Django Dantas e D. Sc. Jean Souza), pela disponibilidade em contribuir com o nosso trabalho;

Ao Grupo de Estudos de Recursos Genéticos e Melhoramento Vegetal-GERMEV (Isaías, Gabriel, Hamilton, Lívia, Maria Saúde, Dinara, Carlos Sherman, Rauny, Alexis, Anânkia, José Maria, Ravier, Robson, Carol, Elaine, Jean e Francisco Sidene), pela ajuda e trabalho conjunto. Sem vocês, não teria sido possível a realização deste trabalho;

À Universidade Estadual da Paraíba (Campus IV), pelo apoio e ajuda nas horas de dificuldades;

Às companheiras da “casa 10”, pelos momentos de estudo, companheirismo e descontração;

Enfim, a todos os que contribuíram de forma direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

## RESUMO

MELO, Dalila Regina Mota de. **Métodos de inoculação, reação de acessos e herança da resistência do meloeiro a *Rhizoctonia solani***. 2014. 99p. il. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

Muitos problemas ocorrem na lavoura meloeira, entre eles as enfermidades causadas pelos fungos habitantes do solo, como a *Rhizoctonia solani*. A utilização de cultivares resistentes constitui uma medida estratégica no manejo integrado de doenças. Para se obter essas cultivares, é preciso ter métodos de inoculação eficiente, identificar as fontes de resistência no germoplasma disponível e conhecer a herança genética dessa característica. Os objetivos deste trabalho foram avaliar dois métodos de inoculação, a reação de acessos e a herança da resistência do meloeiro a *R. solani*. Os experimentos foram conduzidos em estufa agrícola, horta didática e laboratório de microbiologia e fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. No primeiro experimento, foram avaliados dois métodos (areno-orgânico e palito de dente) de inoculação de *R. solani* em meloeiro. O método do palito de dente foi o mais eficiente em discriminar acessos de meloeiro resistentes e suscetíveis e os isolados de *R. solani* quanto à virulência. No segundo experimento, foi avaliada a reação de 45 acessos de melão a três isolados de *R. solani*. Os acessos C-AC-03 e ‘Olimpic’ foram identificados como medianamente resistentes. No terceiro experimento, investigou-se a herança da resistência de ‘Olimpic’ em cruzamentos com os genitores suscetíveis ‘Mabel’ e C-AC-11. A resistência do meloeiro ao fungo *R. solani* foi controlada por um gene maior de efeito aditivo e dominante e poligenes de efeitos aditivos.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, patógenos de solo, germoplasma, controle genético, poligenes.

## ABSTRACT

Métodos de inoculação, reação de acessos e herança da resistência do meloeiro a MELO, Dalila Regina Mota de. **Inoculation methods, reaction of accessions and inheritance of resistance of melon plant to *Rhizoctonia solani***. 2014. 99p. Thesis (Doctorate em Agronomy/Crop Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

Many problems occur in melon, among them the diseases caused by soil born fungi such as *Rhizoctonia solani*. The use of resistant cultivars is a strategic measure in the integrated management of diseases. In order to obtain cultivars with resistance, it is necessary to identify sources of resistance in germplasm available and know the genetic control of resistance. Objectives of this study were to evaluate two methods of inoculation, the reaction of melon accessions to *R. solani* and to study the inheritance of resistance of melon to Rhizoctonia canker. The experiments were conducted at the Rural Federal University of the Semi-arid. In the first experiment, two methods of inoculation (sandy-organic and toothpick) of *R. solani* in melon were evaluated. The method toothpick was the most efficient in discriminating the reaction of melon accessions and virulence of isolates of *R. solani*. In the second experiment, the reaction of 42 hits and 3 melon hybrids to three isolates of *R. solani* was evaluated. The C-AC-03 and 'Olympic' accessions were identified as moderately resistant. In the third experiment, we investigated the inheritance of resistance of 'Olympic' in crosses with the susceptible parents 'Mabel' and C-AC-11. A major gene with both additive and dominant effects and polygenes with additive effects controlled the resistance to Rhizoctonia canker melon.

**Key Words:** *Cucumis melo*, soil borne pathogens, germoplasm, inheritance, polygenes.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

- Figura 1. Isolados Me-242 (A), Me-243 (B) e Me-244 (C) de *R. solani*. UFERSA, Mossoró-RN, 2014..... 38
- Figura 2. Palitos de dente com suas extremidades totalmente colonizadas (A) e palitos colonizados inseridos no colo da planta (B)..... 40
- Figura 3. Escala de notas utilizada para a avaliação da reação de acessos de meloeiro ao fungo *R. solani*. UFERSA, Mossoró-RN, 2014. Adaptada de Noronha et al. (1995)..... 41

### CAPÍTULO 4

- Figura 4. Frutos dos genitores utilizados nos estudos da herança para resistência a *R. solani*. Mossoró, UFERSA, 2014..... 75

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

- Tabela 1. Valores de F obtidos conforme análise de variância (ATS) não paramétrica para severidade avaliada em acessos de meloeiro inoculados com diferentes isolados de *R. solani*. Mossoró-RN, 2014..... 43
- Tabela 2. Nota média e reação de acessos de meloeiro a três isolados de *R. solani* inoculados pelo método do substrato areno-orgânico e do palito de dente. Mossoró-RN, UFERSA, 2014..... 44
- Tabela 3. Severidade, classes de reação e estimativas do coeficiente de correlação de Spearman entre os métodos do palito de dente e substrato areno-orgânico para a inoculação de três isolados de *R. solani* em acessos de meloeiro. Mossoró-RN, 2014..... 46

### CAPÍTULO 3

- Tabela 4. Valores de F e probabilidade associada obtidos conforme análise de variância (ATS) não paramétrica para a reação (nota) de acessos de meloeiro inoculados com isolados de *R. solani*. Mossoró-RN, 2014..... 61
- Tabela 5. Nota média e reação de acessos e cultivares de meloeiro a três isolados de *R. solani* inoculados pelo método do palito. Mossoró-RN, UFERSA, 2014..... 62

### CAPÍTULO 4

- Tabela 6. Modelos de herança utilizados pelo programa Monogen. UFERSA, Mossoró-RN, 2014..... 83
- Tabela 7. Notas médias das gerações P1, P2, F1, F2, RC11 e RC12, componentes de média e grau médio de dominância (GMD)

	da reação de acessos de meloeiro a <i>R. solani</i> do cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’. UFERSA, Mossoró-RN, 2014.....	84
Tabela 8.	Variâncias das gerações P <sub>1</sub> , P <sub>2</sub> , F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , RC <sub>11</sub> e RC <sub>12</sub> , estimativas dos componentes de variância do modelo aditivo-dominante e herdabilidade no sentido amplo da reação de frutos de meloeiro a <i>R. solani</i> do cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	85
Tabela 9.	Testes de hipóteses de modelos genéticos hierárquicos para resistência de acessos de melão à <i>R. solani</i> do cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	87
Tabela 10.	Testes de hipóteses de modelos genéticos hierárquicos para resistência de acessos de melão a <i>R. solani</i> do cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	89
Tabela 11.	Variâncias das gerações P <sub>1</sub> , P <sub>2</sub> , F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , RC <sub>11</sub> e RC <sub>12</sub> , estimativas dos componentes de variância do modelo aditivo-dominante e herdabilidade no sentido amplo da reação de frutos de meloeiro a <i>R. solani</i> do cruzamento C-AC-11 x ‘Olimpic’. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	90
Tabela 12.	Testes de hipóteses de modelos genéticos hierárquicos para resistência de acessos de melão a <i>R. solani</i> do cruzamento C-AC-11 x ‘Olimpic’. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	91

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	13
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	16
2.1 IMPORTÂNCIA DO MELOEIRO.....	16
2.2 ORIGEM E VARIABILIDADE GENÉTICA DO MELOIRO.....	16
2.3 RIZOCTONIOSE DO MELOEIRO.....	18
2.4 RECURSOS GENÉTICOS.....	21
2.5 MÉTODOS DE INOCULAÇÃO.....	23
2.6 REAÇÃO DE MELOEIRO A <i>R. solani</i> .....	24
2.7 HERANÇA DA RESITÊNCIA DO MELOEIRO A <i>R. solani</i> .....	24
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26
<b>CAPÍTULO 2 - MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE <i>Rhizoctonia solani</i></b> <b>EM MELOEIRO (<i>Cucumis melo</i>)</b> .....	33
<b>RESUMO</b> .....	33
<b>ABSTRACT</b> .....	34
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	35
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	37
2.1 ÁREA EXPERIMENTAL.....	37
2.2 GERMOPLASMA.....	37
2.3 ISOLADOS DE <i>Rhizoctonia solani</i> .....	37
2.4 MÉTODO DE INOCULAÇÃO COM SUBSTRATO ARENO- ORGÂNICO.....	38
2.5 MÉTODO DE INOCULAÇÃO USANDO PALITO DE DENTE.....	39
2.6 TIPO DE SOLO E SEMEADURA.....	40
2.7 AVALIAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	41
2.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	42
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	43
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	49
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	50
<b>CAPÍTULO 3 - REAÇÃO DE ACESSOS DE MELOEIRO A</b> <b><i>Rhizoctonia solani</i></b> .....	53
<b>RESUMO</b> .....	53
<b>ABSTRACT</b> .....	54
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	55
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	57
2.1 ÁREA EXPERIMENTAL.....	57
2.2 GERMOPLASMA.....	57

2.3 ISOLADO E PREPARAÇÃO DO INÓCULO.....	57
2.4 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO E AVALIAÇÃO.....	58
2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS...	60
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	61
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	66
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	67

**CAPITULO 4 - HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE PLANTAS DE MELOEIRO A *R. solani*.....**

<b>RESUMO</b> .....	70
<b>ABSTRACT</b> .....	71
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	72
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	74
2.1 ÁREA EXPERIMENTAL.....	74
2.2 GERMOPLASMA.....	74
2.3 MANUTENÇÃO DO ISOLADO.....	75
2.4 AVALIAÇÃO DA REAÇÃO NAS POPULAÇÕES.....	77
2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	77
2.5.1 Estimação de parâmetros genéticos e fenotípicos.....	78
2.5.2 Testes de modelos genéticos utilizando a verossimilhança.....	80
<b>3 RESULTADOS</b> .....	84
3.1 Cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’ .....	84
3.2 Cruzamento C-AC-11 x ‘Olimpic’ .....	88
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	93
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	97
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	98

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do meloeiro (*Cucumis melo* L.) tem grande expressão econômica no Brasil. As exportações de melões frescos são responsáveis por grandes incrementos na economia brasileira, sendo as condições climáticas de temperaturas elevadas, altos níveis de insolação, reduzida precipitação na maior parte do ano, além do alto nível tecnológico da lavoura meloeira as principais razões do destaque nacional do estado potiguar.

Apesar de o meloeiro apresentar excelente adaptação às condições edafo-climáticas predominantes na região Nordeste, alguns fatores têm contribuído para a queda da produtividade e da qualidade dos frutos, entre os quais se destaca a ocorrência de doenças. Dentre as enfermidades, a Rizoctoniose, causada por *Rhizoctonia solani* Kuhn (ANDRADE et al., 2005b), vem se destacando com o aumento da incidência e severidade. As plantas infectadas por *R. solani* apresentam sintomas de morte de plântulas, cancro nos talos, podridão de raízes e sementes, tombamento ou *damping-off*, tendo como consequência a morte prematura da planta e/ou a redução da produtividade (BRUTON, 1998; GARCIA-JIMENEZ et al., 2000).

Considerando que o fungo *R. solani* é habitante do solo, apresenta estrutura de resistência e ampla gama de hospedeiros, é extremamente difícil realizar seu controle (BRUTON, 1998). Desta forma, a utilização de cultivares resistentes constitui uma medida estratégica no manejo integrado de doenças. O uso da resistência genética é de fácil adoção pelo produtor e não agride o meio ambiente e o próprio homem, sendo, portanto, uma alternativa extremamente interessante no controle de diversas enfermidades.

Assim, a primeira ação é identificar fontes de resistência no germoplasma existente, sendo o método de inoculação o primeiro aspecto a ser considerado na avaliação da resistência. O método de inoculação precisa ser eficiente na discriminação de genótipos resistentes e suscetíveis, de fácil execução, baixo custo e fácil avaliação em curto período de tempo.

No caso específico do patossistema *R. solani* - meloeiro, o método de inoculação utilizando o substrato areno-orgânico foi utilizado com sucesso por Michereff et al. (2008). Todavia, existem métodos mais simples, como o método do palito, que tem sido muito utilizado com patógenos habitantes do solo, como *R. solani* e *Macrophomina phaseolina* em beterraba (MAHMOUDI; GHASHGHAIE, 2012). Em estudos preliminares, o método do palito foi utilizado com sucesso para avaliar a reação a *Dydmella bryoniae* de diversas cucurbitáceas candidatas a porta-enxertos de melão rendilhado (ITO et al., 2009). No entanto, não foram identificados relatos da aplicação do método do palito para inocular *R. solani* em meloeiro.

Com relação às fontes de resistência, existem poucos estudos sobre o tema. Michereff et al. (2008) avaliaram 20 híbridos comerciais inoculados com dois isolados e encontraram fontes promissoras de resistência à *R. Solani*, devendo ser preferidos para plantio em áreas infestadas pelo patógeno. Salari et al. (2012), ao avaliar a reação de 18 cultivares a um isolado de *Rhizoctonia solani*, identificaram as cultivares ‘Sfidak khatdar’ e ‘Sfidak bekhat’ como moderadamente resistentes. Considerando que não há registro de fontes de resistência ao referido fungo dentro dos materiais empregados pelos pequenos produtores do Nordeste e em relação aos acessos contidos no Banco de Germoplasma de Cucurbitáceas da UFERSA, são salutares ações de pesquisa para a identificação de materiais com este fenótipo.

Outro aspecto importante em um programa de melhoramento genético que busca a resistência a determinado patógeno é a herança genética. Com relação à rizoctoniose, não há relatos na literatura de estudo envolvendo o tema. Assim, para auxiliar na escolha do método de melhoramento e na estratégia de seleção de genótipos resistentes, são importantes informações sobre o controle genético dessa enfermidade.

Diante do exposto, considerando as hipóteses de que haja diferença na eficiência dos métodos de inoculação com palito de dente e substrato areno-orgânico, de que existem acessos resistentes nas *landraces* utilizadas pelos pequenos agricultores nordestinos e de que a herança da resistência a rizoctoniose é simples, o presente trabalho teve os seguintes objetivos: a) avaliar dois métodos de

inoculação; b) avaliar a reação de acessos de meloeiro a *R. solani* e c) estudar a herança da resistência de plantas de meloeiro a rizoctoniose.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 IMPORTÂNCIA DO MELOEIRO

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma espécie comercialmente importante no mundo inteiro, sendo os frutos consumidos *in natura*, como ingrediente de saladas e na forma de suco (ROCHA et al., 2010). No ano de 2013, foram produzidas 191.412,6 t, rendendo 147.579.929 milhões de dólares, e no ano de 2014, de janeiro a julho, foram produzidas 47.001,12 t, gerando 36.065.199 milhões de dólares (ALICE WEB/MDIC, 2014). A cultura não é importante apenas para o agronegócio, mas para o fator socioeconômico da região e país no qual está inserida, gerando emprego e renda, resultando na melhoria de vida das pessoas.

A região nordeste tem se destacado nas últimas três décadas como a maior produtora de melão do Brasil em razão das condições propícias ao desenvolvimento da cultura, como: alta temperatura e baixa precipitação pluviométrica, aliadas aos altos investimentos do setor produtivo. Os estados do Ceará e do Rio Grande do Norte são os principais produtores, totalizando mais de 95% da produção nacional nos últimos dez anos (BUENO; BACCARIN, 2012).

### 2.2 ORIGEM E VARIABILIDADE GENÉTICA DO MELOIRO

*Cucumis melo* L. ( $2n = 2x = 24$ ) é uma espécie diplóide que pertence à família *Cucurbitaceae*. Em relação à sua origem, há discordância entre os autores; a maioria relata que a forma selvagem ancestral do meloeiro é originária da África, de vez que seu número básico de cromossomos ( $x = 12$ ) é o mesmo das demais espécies de cucurbitáceas deste gênero de origem africana (KERJE; GRUM, 2000; AKASHI et al., 2001).

Segundo Pitrat et al. (2000), a partir do estudo conduzido por mais de 25 anos pelo Instituto de Indústria Vegetal da antiga União Soviética, com 4500 acessos de melões coletados em diferentes partes do mundo, o melão é originário de diferentes regiões, como o Irã, Ásia menor e Índia. Mais recentemente, a Índia

tem sido apontada como local de origem do meloeiro a partir da espécie *Cucumis callosus* (Rottle) Cogn. et Harms (SEBASTIAN et al., 2010; JOHN et al., 2012).

A variabilidade genética vegetal é um requisito essencial em um programa de melhoramento de plantas, viabilizando o emprego de técnicas que possibilitam a identificação de genótipos superiores (PEREIRA et al., 2010). O meloeiro é uma espécie altamente polimórfica (KARCHI, 2000), sendo a mais variável do gênero *Cucumis* e, mesmo entre os vegetais, a grande diversidade de forma e tamanho de frutos, proporciona possibilidades infinitas para o melhoramento genético (BURGER et al, 2006). Este está distribuído em todo o mundo, sendo que a maior parte da variação é observada nos frutos (LUAN et al., 2010). A grande variação fenotípica observada no meloeiro levou os botânicos a propor uma classificação intraespecífica.

A classificação sugerida por Robinson; Decker-Walters (1997) divide a espécie *Cucumis melo* em seis variedades ou grupos botânicos: *cantaloupensis*, *inodorus*, *conomon*, *dudaim*, *flexuosus* e *momordica*.

No entanto, existe uma classificação mais atual, que foi feita por Pitrat (2008). Neste caso, as variedades ou grupos botânicos são subdivididos nas subespécies *melo* e *agrestis*. Compõem a subespécie *melo* as seguintes variedades botânicas: *adana*, *ameri*, *cantalupensis*, *chandalak*, *reticulatus*, *inodorus*, *dudaim*, *chate*, *flexuosus* e *tibish*; e as variedades *acidulus*, *conomon*, *momordica*, *makuwa* e *chinensis* compõem a subespécie *agrestis*.

No Brasil os melões mais comercializados são do tipo: Amarelo, Honey Dew, Pele de sapo, Cantaloupe, Gália e Charentais. Os três primeiros tipos pertencem à variedade botânica *inodorus* e se caracterizam por frutos sem aroma, boa resistência ao transporte e elevada conservação pós-colheita. Os melões do tipo Cantaloupe (americano) e Charentais (europeu) são aromáticos, têm elevados valores de sólidos solúveis e baixa conservação pós-colheita (NUNES et al., 2006). As diferentes características fenotípicas dos tipos de melão podem ser combinadas e exploradas nos programas de melhoramento dessa cultura, possibilitando a produção de genótipos superiores (PITRAT et al., 2000).

### 2.3 RIZOCTONIOSE DO MELOEIRO

O cultivo intenso do melão no Nordeste brasileiro, sem o manejo adequado para renovação dos recursos naturais, tem contribuído para o aumento na incidência e severidade de diversas doenças, entre elas as causadas por patógenos habitantes do solo, resultando em perdas econômicas devido à queda da produtividade e qualidade dos frutos (MAIA et al., 2013). Entre as causas que contribuem para o incremento dessas doenças estão as mudanças nas práticas culturais, tais como: introdução de cultivares suscetíveis, uso de cobertura plástica, transplântio, irrigação em alta frequência, aumento de densidades populacionais e ausência de rotações de cultura apropriadas (BRUTON, 1998).

Dentre as doenças causadas por fungos habitantes do solo, a Rizoctoniose do meloeiro, causada por *Rhizoctonia solani* Kuhn, vem se destacando com o aumento de incidência e severidade (SANTOS et al., 2000; ANDRADE et al., 2005a). A associação da habilidade de competição saprofítica com uma ampla gama de hospedeiros torna o fungo *R. solani* uma espécie fitopatogênica relevante para a cultura do meloeiro (BLANCARD et al., 1991).

O gênero *Rhizoctonia* foi descrito pela primeira vez pelo micologista francês De Candolle, em 1815, como um fungo não esporulante que ataca, preferencialmente, raízes e que produz filamentos de hifas a partir de escleródios (SNEH et al., 1991). Classificado como Agonomycetos, por não produzir conídios, também conhecido como *Mycelia sterilia*; Filo Basidiomycota, porque possui hifas regularmente septadas e Ordem Cantharellales (AMORIM et al., 2011; ZAMBOLIM et al., 2012). Este fungo ocorre exclusivamente na forma micelial, não produzindo esporos durante seu ciclo de vida e sobrevivendo no solo por meio de microescleródios, sua estrutura de resistência (AMORIM et al., 2011).

Seu micélio é caracterizado pela ramificação em ângulo reto com septação imediatamente após o ramo, constrição na base da ramificação e septo dolíporo. A fase sexuada deste fungo é *Thanatephorus cucumeris*, classificado no reino Fungi, filo Basidiomycota, ordem Ceratobasidiales, Ceratobasidiaceae (BUTLER; BOLKAN, 1973, ANDERSON, 1982; ADAMS, 1988).

O microrganismo *R. solani* sobrevive tanto saprofiticamente no solo como infectando plantas de forma ativa ou em estágio de dormência, por meio de micélio e escleródios, respectivamente. Esses propágulos são detectados no solo com relativa facilidade, sendo, porém, de difícil quantificação. Geralmente, encontram-se nas camadas superficiais do perfil do solo, principalmente nos primeiros 10 centímetros, devido à dependência de oxigênio (CARDOSO, 1994).

O critério de classificação de *Rhizoctonia* spp. está baseado na citomorfologia da hifa, morfologia da cultura, morfologia do teleomorfo, e o padrão de anastomose ou não de hifas (SNEH et al., 1991). Embora *R. solani* seja um organismo muito importante, no Brasil informações sobre características dos isolados desse fitopatógeno, associado a várias culturas, são escassas. Caracterizado por ser extremamente polífago e apresentar grande capacidade saprofítica no solo, pode penetrar as raízes das plantas, causando podridão e levando até a morte. Os escleródios são abundantemente produzidos na natureza, quando há uma fase de alta umidade seguida de um período seco (NEWMAN LUZ, 1978). O micélio do fungo constitui o inóculo primário, disseminado localmente pelo vento, chuva, homem, animais e implementos agrícolas (GALINDO et al., 1983).

A penetração desse fungo nas plantas ocorre por meio das paredes celulares da epiderme da raiz ou hipocótilo, com a subsequente invasão e colonização dos tecidos da planta, que acabam degradados pela ação de enzimas ou toxinas sintetizadas pelo patógeno (KRUGNERT, 1980).

As plantas infectadas por *R. solani* apresentam sintomas de podridão de raízes, frutos e sementes, tombamento de plântulas ou *damping-off*, cancro nos talos e ainda a queima de folhagem, tendo como consequência a morte prematura da planta ou a redução da produtividade (BRUTON, 1998; GARCIA-JIMENEZ et al., 2000; AMORIM et al., 2011).

Há na população do patógeno variabilidade quanto à severidade, conforme comprovado por Andrade et al. (2005a), os quais observaram que a severidade da doença no cultivar Frevo de melão amarelo variou de 12,8 a 57,8%, revelando heterogeneidade no grupo dos dez isolados considerados. Os isolados RS-02, RS-

06, RS-09 e RS-10 foram os mais virulentos, pois induziram severidade em níveis superiores a 45%.

Outro aspecto importante é a influência da densidade de inóculo sobre a severidade da doença. Andrade et al. (2005b) estudaram a influência da densidade de inóculo de dois isolados (RS-09 e RS-10) de *R. solani* sobre a severidade da doença no híbrido Frevo de melão amarelo. Os autores verificaram que, considerando conjuntamente os dois isolados, densidades de inóculo de 5, 10 e 25 mg.kg<sup>-1</sup> produziram níveis moderados de severidade, variando de 12,2 a 47,2%, ao passo que elevadas densidades (50 a 200 mg.kg<sup>-1</sup>) produziram níveis de severidade variando de 58,3 a 81,7%.

Com relação ao controle do fungo, em razão da complexidade dos fatores envolvidos no ciclo das relações patógeno - hospedeiro, o controle da Rizoctoniose do meloeiro é extremamente difícil (BRUTON, 1998). Desta forma, a abordagem mais apropriada é aquela baseada no manejo integrado da doença, caracterizada pela adoção de princípios e medidas visando ao patógeno, hospedeiro e ambiente, pela redução ou eliminação do inóculo inicial, redução da taxa de progresso da doença e manipulação do período de tempo em que a cultura permanece exposta ao patógeno em condições de campo (MICHEREFF et al., 2005). Em se tratando de patógeno habitante do solo, as medidas mais recomendadas são: evitar plantio em áreas infectadas pelas informações do seu histórico, tratamento de sementes, cuidado no manejo da cultura para evitar injúrias, manejo adequado da irrigação, controle químico e uso de cultivares resistentes. Ressalta-se que o uso de químicos para controle é difícil em razão da dificuldade que o fungicida tem de alcançar a superfície desejada (BRUTON, 1996).

Outros métodos de controle, como a associação da incorporação dos materiais vegetais (mandioca, brócolos, eucalipto e mamona) com a solarização do solo, demonstraram inativação da ação dos patógenos habitantes do solo, como *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* raça 2, *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani*. No entanto, cada material vegetal comporta-se diferentemente em relação aos patógenos estudados, necessitando de pesquisas para determinar os

compostos letais gerados por esses materiais orgânicos em cada fitopatógeno (AMBRÓSIO et al., 2008).

Portanto, a utilização de cultivares resistentes constitui uma medida estratégica no manejo integrado de doenças; porém, apesar de sua relevância, existem poucos estudos sobre a avaliação da resistência de meloeiro ao fitopatógeno em questão.

## 2.4 RECURSOS GENÉTICOS

Os recursos genéticos vegetais constituem a base para o estabelecimento de um programa de melhoramento genético, sendo, portanto, matéria prima do melhorista. Estes definem o grau de sucesso nos procedimentos de melhoramento. Quanto maior a disponibilidade de material genético, maiores as possibilidades de sucesso neste procedimento (PEREIRA et al., 2010).

Uma das fontes de germoplasma são as variedades tradicionais mantidas por pequenos produtores. As variedades tradicionais, também denominadas *landraces* ou variedades crioulas, são definidas como variedades tradicionais de plantas cultivadas, adaptadas aos locais e culturas onde se desenvolveram, estando presentes nos bancos de sementes de muitos agricultores, principalmente em países em desenvolvimento, justamente por se constituírem como garantia de plantio no ano seguinte (DOMINGUEZ et al., 2000).

Apesar de o meloeiro ter seus centros de origem, domesticação primária e secundária em regiões distantes do Brasil, a cultura possui variedades tradicionais adaptadas às diferentes condições edafoclimáticas. As variedades tradicionais de meloeiro, introduzidas desde o século XVI pela imigração, ainda existem devido aos trabalhos de seleção realizados por vários ciclos por pequenos agricultores. Os referidos acessos têm sido coletados na agricultura de subsistência de vários estados do Nordeste brasileiro (TAVARES, 2002), bem como em outros estados (DELWING et al., 2007).

O uso de recursos genéticos e as atividades de rotina em bancos de germoplasma são de importância incontestável (VALLS, 1998); todavia, a

utilização de acessos dos bancos de germoplasma ainda é restrita no Brasil. A alternativa mais promissora para conectar recursos genéticos vegetais e os programas de melhoramento é a intensificação das atividades relacionadas ao pré-melhoramento, conjunto de atividades visando à identificação de caracteres e/ou genes de interesse, presentes em materiais não adaptados ou que não foram submetidos a qualquer processo de melhoramento, e sua posterior incorporação nos materiais adaptados de elevado valor produtivo (NASS; PATERNIANI, 2000).

Segundo Nass e Nishkawa (2001), as principais contribuições dos programas de pré-melhoramento são: síntese de populações base, identificação de genes potencialmente úteis, identificação de padrões heteróticos, melhor conhecimento dos acessos e em cruzamentos (dialelos) e formação de coleções nucleares.

Com relação ao melhoramento visando à resistência a doenças, o primeiro passo é identificar fontes de resistência. No entanto, é necessária a avaliação dentro do grupo de materiais utilizados pelo pequeno agricultor, a qual pode servir como importante fonte de alelos de resistência à enfermidade tratada no presente trabalho.

Após a coleta do germoplasma, a caracterização e a avaliação são tarefas importantes a ser realizadas em um banco de germoplasma, permitindo conhecer qualidades e potencialidades do germoplasma.

No caso específico do Banco de Germoplasma de Cucurbitáceas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, a caracterização morfológica e molecular de acessos de melão coletados no Nordeste brasileiro foi realizada por Dantas (2011a).

Em relação aos programas de melhoramento genético, as informações geradas na caracterização de acessos podem auxiliar o melhorista na identificação de genitores com fenótipos desejáveis, como resistência ao patógeno, alto teor de sólidos solúveis e longa vida pós-colheita. Em meloeiro, um exemplo de sucesso no melhoramento genético é a utilização de acessos de melão indiano, *snampelo*, pertencentes ao grupo *momordica* (Roxb.) Duthie et Fuller, como fonte de

resistência ao fungo *Podosphaera xanthii*, agente causal do oídio (DHILLON et al., 2007).

A avaliação de acessos do Banco de Germoplasma de Cucurbitáceas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido foi realizada para a reação de acessos de meloeiro a *Myrothecium roridum* (DANTAS, 2011b) e reação de acessos de meloeiro coletados no Nordeste a *Macrophomina phaseolina* utilizando diferentes métodos de inoculação (MEDEIROS, 2013).

## 2.5 MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

O desenvolvimento de metodologias de inoculação visando a uma precoce avaliação da resistência de materiais vegetais a patógenos consiste numa importante etapa na seleção de genótipos superiores em programas de melhoramento (SIVIERO et al., 2002). Neste sentido, a inoculação eficiente de um patógeno é fundamental para avaliar métodos de manejo e cultivares resistentes.

Alguns métodos são utilizados na tentativa de multiplicar *R. solani* artificialmente. O inóculo é cultivado em substratos com arroz (MICHEREFF et al., 2008), substrato com aveia (GOULART, 2002), substrato areno-orgânico (FENILLE; SOUZA, 1999), palito de dente (VERZIGNASSI, 2004). Os estudos também apresentaram modificações na forma como o solo foi infestado, diferindo nas densidades e na distância do inóculo à semente (MICHEREFF FILHO et al., 1996).

Em meloeiro, o método usando substrato areno-orgânico foi utilizado com sucesso por Michereff et al. (2008) e Salari et al. (2012) na avaliação da reação de cultivares a *R. solani*, além de outros fungos habitantes do solo, como *Myrothecium roridum* (NORONHA et al., 2006).

O método do palito foi utilizado com sucesso para avaliar a reação a *Dydmyella bryoniae* de diversas cucurbitáceas candidatas a porta-enxertos de melão rendilhado (ITO et al., 2009). O método também foi eficiente para identificar genótipos resistentes a *Macrophomina phaseolina* em acessos de meloeiro (MEDEIROS, 2013).

## 2.6 REAÇÃO DE MELOEIRO A *R. solani*

São poucos os trabalhos realizados visando à identificação de fontes de resistência de meloeiro a *R. solani*. Um dos primeiros trabalhos foi realizado por Michereff et al. (2008). Os autores avaliaram 20 híbridos comerciais inoculados com dois isolados de *R. solani*. Observou-se grande variação entre os cultivares dentro de cada um dos isolados. Quando considerados os dois isolados do patógeno simultaneamente, os genótipos Sancho, AF-1805, Athenas, AF-682, Torreón e Galileo comportaram-se como altamente resistentes. Os genótipos Sancho e AF-1805 apresentaram os menores índices de severidade da rizoctoniose em relação ao isolado RS-9 e o genótipo Gold Pride, em relação a RS-10. Esses genótipos diferiram significativamente dos demais, considerando cada isolado do patógeno e, portanto, segundo os autores, constituem fontes promissoras de resistência a *R. solani*, devendo ser preferidos para plantio em áreas infestadas pelo patógeno. Esses resultados evidenciam que há variabilidade no germoplasma do meloeiro. Um fato positivo é que foram identificados materiais resistentes dentro de cultivares comerciais.

No Irã, Salari et al. (2012), ao avaliar a reação de 18 cultivares de meloeiro a um isolado de *R. solani*, identificaram as cultivares ‘Sfidak khatdar’ e ‘Sfidak bekhat’ como moderadamente resistentes.

## 2.7 HERANÇA DA RESISTÊNCIA DO MELOEIRO A *R. solani*

A resistência em plantas pode ser considerada de dois tipos: resistência vertical ou específica, também chamada de resistência total (herança monogênica) e a resistência horizontal ou inespecífica, também chamada de parcial (herança poligênica). Uma das dificuldades encontradas na aquisição da resistência vertical é o surgimento de novas raças fisiológicas que apresentam diferentes níveis de virulência, as quais frequentemente “quebram” a resistência. Essas raças se originam de uma intensa pressão de seleção devido à exploração da monocultura

(SILVA; BISOGNIN, 2004), assim como o uso repetido e exclusivo de fungicidas com o mesmo grupo químico, dentre outros.

Desta forma, pode-se afirmar que a resistência vertical não é durável. Algumas estratégias usadas para aumentar o tempo de “quebra” desta resistência podem ser realizadas por meio de: melhoramento baseado numa seleção estabilizadora e direcional, piramidação de genes, rotação de genes, desenvolvimento de multilinhas e distribuição geográfica de genes (DESTRO; MOLTOVÁN, 1999).

A resistência horizontal apresenta variação contínua de graus de resistência, indo desde extrema suscetibilidade até a extrema resistência. A resistência pode ser controlada tanto por genes nucleares como por genes extranucleares ou citoplasmáticos, sendo eles dominantes ou recessivos, podendo ser expressos isoladamente ou por meio de interação. O conhecimento destas interações é de fundamental importância para os programas de melhoramento (DESTRO; MOLTOVÁN, 1999).

O controle genético da resistência de plantas é um aspecto importante em um programa de melhoramento genético a determinado patógeno. Com relação a *R. solani*, não há relatos na literatura. Assim sendo, para auxiliar na escolha do método de melhoramento e na estratégia de seleção de genótipos resistentes, são importantes informações sobre o controle genético desse patógeno.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, G. C. Thanatephorus cucumeris (*Rhizoctonia solani*), a species complex of wide host range. **Advances in Plant Pathology**, Londres, v. 6, p. 535-552, 1988.

ALICEWEB/MDIC - **Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior/Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior**. Disponível em: <<http://aliceweb.mdic.gov.br//index/home>> Acesso em: 12 ago. 2014.

AMBRÓSIO, M. M. Q.; BUENO, C. J.; PADOVANI, C. R.; SOUZA, N. L. Controle de fitopatógenos do solo com materiais vegetais associados à solarização. **Summa Phytopathology**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 354-358, 2008.

AMORIM, L., REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**. 4. ed. Piracicaba: Agronomia Ceres, 2011. 704 p.: il.

ANDERSON, N. A. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 20, p. 329-344, 1982.

ANDRADE, D. E. G. T.; MICHEREFF, S. J.; BIONDI, C. M.; NASCIMENTO, C. W. A.; SALES JÚNIOR, R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 4, p. 327-333, 2005a.

ANDRADE, D. E. G. T.; SILVA, C. F. B.; SILVA, L. G. C.; MICHEREFF, S. J.; SALES JÚNIOR, R.; ASSIS, T. C. Influência da densidade do inóculo e de isolados de *Rhizoctonia solani* na severidade da rizoctoniose do meloeiro. **Caatinga**, Mossoró, v. 18, n. 3, p. 164-168, 2005b.

AKASHI, R. E.; WINTER, D. F.; GREUTER, E. On morphology and taxonomy of the genera *Cucumis* L. and *Melo* Mill. **Feddes Repertorium**, Weinheim, v. 106, n.1, p. 155-159, 2001.

BLANCARD, D.; LECOQ, H.; PITRAT, M. **Enfermedades de las Cucurbitáceas**. Madrid: Mundi-Prensa, 1991.

BUENO, G.; BACCARIN, J. G. Participação das principais frutas brasileiras no comércio internacional: 1997 a 2008. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 424-434, 2012.

BRUTON, B. D. Crater rot. In: ZITTER, T. A.; HOPKINS, D. L.; THOMAS, C. E. (org.). **Compedium of Cucurbit Diseases**. St. Paul: APS Press, 1996. p. 49-50.

BRUTON, B. D. Soil born diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: McCREIGHT, J. (org.). **Cucurbitaceae 98**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, 1998 p. 143-166.

BURGER, Y.; SA'AR, U.; PARIS, H. S.; LEWINSOHN, E.; KATZIR, N.; TADMOR, Y.; SCHAFFER, A. A. Genetic variability for valuable fruit quality traits in *Cucumis melo*. **Israel Journal of Plant Sciences**, Jerusalém, v. 54, n. 3, p. 233-242, 2006.

BUTLER, E. E; BOLKAN, H. A medium for heterokaryon formation in *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 63, p. 542-543, 1973.

CAMPOS, G. A. **Influência do descarte de descritores no manejo de banco de germoplasma de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. 2006. 118f.: il. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2006.

CARDOSO, J. E. Podridões radiculares, In: SARTORATO, A.; RAVA, A. (org.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p. 151-164.

DANTAS, A. C. A. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de melão coletados no nordeste brasileiro**. Mossoró, 2011a. 64f.: il. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia: Área de concentração: Melhoramento genético de plantas) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação.

DANTAS, D. A. **Reação de acessos de meloeiro a *Myrothecium roridum***. Mossoró, 2011b. 50f.: il. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia. Área de concentração: Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

DELWING, A. B.; FRANKE, L. B.; BARROS, I. B. I. Qualidade de sementes de acessos de melão crioulo (*Cucumis melo* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 187-194, 2007.

DESTRO, D.; MONTALVÁN, R. **Melhoramento genético de plantas**. Londrina: Editora UEL, 1999.

DHILLON, N. P. S.; RANJANA, R.; SINGH, K.; EDUARDO, I.; MONFORTE, A. J.; PITRAT, M.; DHILON, N. L.; SINGH, P. P. Diversity among landraces of Indian Snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*). **Genetics Resources Crop Evolution**, Holanda, v. 54, n. 6, p. 1267-1283, 2007.

DOMINGUEZ, O.; PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; BAUDET, L. **Sistema informal de sementes: causas, conseqüências e alternativas**. Pelotas: UFPEL, 2000.

FENILLE, R.; SOUZA, N. L. Efeitos de materiais orgânicos e da umidade do solo na patogenicidade de *Rhizoctonia solani* Kuhn GA-4 HGI ao feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 10, p. 1959-1967, 1999.

GALINDO, J. J.; ABAWI, G. S.; THURSTON, H. D.; GALVEZ, G. Sources of inoculums and development of bean web-blight in Costa Rica. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, p. 1021, 1983.

GARCIA-JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J.; SALES, R.; JORDÁ, C.; BRUTON, B. D. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 30, n. 2, p. 169-173, 2000.

GOULART, A. C. P. Efeito do tratamento de sementes de algodão com fungicidas no controle do tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 399-402, 2002.

ITO, L. A.; BRAZ, L. T.; CAMARO, M. Comparação entre métodos de inoculação de *Didymella bryoniae* para seleção de porta-enxertos de melão rendilhado. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2 (Suplemento CD ROM), 2009.

JOHN, K. J.; SCARIAH, S.; NISSAR, V. A. M.; LATHA, M.; GOPALAKRISHNAN, S.; YADAV, S. R.; BHAT, K. V. On the occurrence, distribution, taxonomy and genepool relationship of *Cucumis callosus* (Rottler) Cogn, the wild progenitor of *Cucumis melo* L. from India. **Genetic Resources Crop Evolution**, Holanda, v. 59, n. 1, p. 1-10, 2012.

KARCHI, Z. Development of melon culture and breeding in Israel. Proceedings of 7<sup>th</sup> EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. **Acta Horticulture**, Bélgica, v. 510, p. 13-17, 2000.

KERJE, T.; GRUM, M. The origin of melon, *Cucumis melo*: A review of the literature. **Acta Horticulture**, Bélgica, v. 510, n. 1, p. 34–37, 2000.

KRUGNERT, L. Doenças do eucalipto - *Eucaliptus* spp. In: GALLI, F. (org.). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. p. 275-296.

LUAN, F.; SHENG, Y.; WANG, Y.; STAUB, J. E. Performance of melon hybrids derived from parents of diverse geographic Origins. **Euphytica**, Holanda, v. 173, n. 1, p. 1-16, 2010.

MAHMOUDI, S. B.; GHASHGHAIE, S. Reaction of sugar beet S1 lines and cultivars to different isolates of *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani* AG-2-2IIIB. **Euphytica**, Holanda, v. 175, n. 11, p. 10-16, 2012.

MAIA, L. K. R.; LIMA, R., E. M.; LIMA, J. S. Importância do meloeiro e aspectos relacionados à resistência a *Rhizoctonia solani*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 9, n. 17, p. 1609-1622, 2013.

MEDEIROS, A. C. **Reação de acessos de meloeiro a *Macrophomina phaseolina* utilizando diferentes métodos de inoculação**. 2013. 47p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

MENEZES, J. B. **Qualidade pós-colheita de melão tipo Gália durante a maturação e o armazenamento.** 1996. 157 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

MICHEREFF FILHO, M.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, E. B.; ANDRADE, D. E. G. T.; ANTUNES SOBRINHO, S.; NORONHA, M. A.; MARIANO, R. L. R. Influência de tipos de solo do estado de Pernambuco na intensidade da doença induzida por *Rhizoctonia solani* em feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 19-25, 1996.

MICHEREFF, S. J.; PERUCH, L. A. M.; ANDRADE, D. E. G. T. Manejo integrado de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (org.) **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais.** Recife: Imprensa Universitária da UFRPE, 2005. p. 367-388.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; SALES JÚNIOR, R. Reaction of melon genotypes to *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 401-404, 2008.

NASS, L. L.; PATERNIANI, E. Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 581-587, 2000.

NASS, L. L.; NISHIRAWA, M. A. N. Pré-melhoramento de germoplasma vegetal. In: GOES, M. (org.). **Tópicos em recursos genéticos.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001.

NEWMAN LUZ, E. D. M. **Principais enfermidades do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) no estado do Acre.** I - Microrregião do Alto Purus. Rio Branco: 1978. 23p. (Comunicado Técnico, 1).

NORONHA, M. A.; MICHEREFF, S. J.; XAVIER FILHA, M. S.; MOREIRA, P. A. A.; REIS, A.; SALES JR., R. Avaliação da resistência a *Myrothecium roridum* em genótipos de meloeiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 495-498, out. 2006.

NUNES, G. H. S.; MADEIROS, A. E. S.; GRANGEIRO, L. C.; SANTOS, G. M.; SALES JÚNIOR, R. Estabilidade fenotípica de híbridos de melão amarelo

avaliados no Pólo Agroindustrial Mossoró-Assu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 9, p. 57-67, 2006.

PEREIRA, M. G.; SILVA, F.; PEREIRA, T. N. S. Recursos genéticos vegetais e o melhoramento de plantas. In: PEREIRA, T. N. S. **Germoplasma: conservação, manejo e uso no melhoramento de plantas**. – Viçosa, MG: Arca, 2010. 250p.

PITRAT, M.; HANELT, P.; HAMER, K. Some comments on intraspecific classification of cultivars of melons. Proceedings of 7<sup>th</sup> EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. **Acta Horticulture**, Bélgica, v. 510, p. 29-36, 2000.

PITRAT, M. Some comments on infra specific classification of cultivars of melon. **Acta Horticulture**, Bélgica, v. 510, p. 29-36, 2008.

ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. **Cucurbits**. CAB International, Oxon (GB). 1997.

ROCHA, R. H. C.; SILVA, EBENÉZER O.; SALOMÃO, L. C. C.; VENTRELLA, M. C. Caracterização morfoanatômica do melão Gália no ponto de colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 2, p. 375-385, jun. 2010.

SALARI, M.; PANJEHKEH, N.; NASIRPOOR, Z.; ABKHOO, J. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi: Academic Journals, v. 11, n. 87, p. 15324-15329, 2012.

SANTOS, A. A.; SILVA, M. J. F.; HEITOR, G. G. **Doenças do meloeiro em áreas irrigadas do Estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 11p. (Boletim de pesquisa, 35).

SEBASTIAN, P.; SCHAEFERB, H.; TELFORD, I. R. H.; RENNER, S. S. Cucumber (*Cucumis sativus*) and melon (*C. melo*) have numerous wild relatives in Asia and Australia, and the sister species of melon is from Australia. **Proceedings National Academy Science USA**, v. 107, p. 14269–14273, 2010.

SILVA, A. L. L.; BISOGNIN, D. A. RESISTÊNCIA A DOENÇAS EM *Solanum tuberosum* L. –SOLANACEAE. **Caderno de Pesquisa Série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 16, n. 2, p. 117-129, jul./dez. 2004.

SIVIERO, E. L. A.; FURTUNADO, L. P.B.; BARBASSO, D. V.; MACHADO, M. A. Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasítica* em plântulas e plantas jovens de citrus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 6, p. 574-580, nov./dez. 2002.

SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of Rhizoctonia species**. Minnesota: USA. APS Press, 1991.

TAVARES, S. H. C. C. **Melão: produção**. Aspectos técnicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 87p.

VALLS, J. F. M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., Jaboticabal, 1988. **Anais...**, Jaboticabal, FCAV/UNESP, 1988. p. 106-128.

VERZIGNASSI, J. R.; VIDA J. B.; GASPAROTTO, F.; CORTEZ, G. L. S.; LORENZETTI, E. R.; FARIA, G. S.; TESSMANN, D. J.; SEVERINO, J. J. 2004. Método do palito para inoculação de *Didymella bryoniae* em melão nobre e pepino “japonês”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29 (suplemento), p. 5154.

WALTER, B. M. T. **Manual de curadores de germoplasma – Vegetal: coleta de germoplasma**. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 15p. – (Documentos/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 309).

ZAMBOLIM, L. JESUS JÚNIOR, W. C. PEREIRA, O. L. **O essencial da fitopatologia: agentes causais**. Volume 1. Viçosa, MG: UFV, DFP, 2012, 346 p.; il.

## CAPÍTULO 2

### MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Rhizoctonia solani* EM MELOEIRO

#### RESUMO

MELO, Dalila Regina Mota de. **Métodos de inoculação de *Rhizoctonia solani* em meloeiro**. 2014. 99p. il. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2014.

A utilização de métodos de inoculação constitui uma medida estratégica no estudo de resistência genética em cucurbitáceas. O objetivo deste trabalho foi avaliar dois métodos de inoculação de *Rhizoctonia solani* em meloeiro, visando ao estudo de resistência genética. O experimento foi conduzido em estufa agrícola e no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semiárido, em Mossoró-RN. Foram avaliados cinco acessos de melão (C-AC-09, C-AC-16, C-AC-18, C-AC-22 e C-AC-33) e dois métodos de inoculação (substrato areno-orgânico e palito de dente). Os isolados utilizados foram: Me-242, Me-243 e Me-244 de *R. Solani*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Os acessos de meloeiro foram avaliados quanto à severidade da doença por meio de uma escala de nota de 0 a 4. O método do palito de dente foi o mais eficiente em discriminar a reação dos acessos de melão e a virulência dos isolados de *R. solani*.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, patógenos de solo, resistência, germoplasma.

### ABSTRACT

MELO, Dalila Regina Mota de. **Methods of inoculation of *Rhizoctonia solani* in melon plant**. 2014. 99p. il. Thesis (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, Brazil, 2014.

The use of methods of inoculation is a strategic measure in the study of genetic resistance in cucurbits. The objective of this study was to evaluate two methods of inoculation of *Rhizoctonia solani* in melon, for the study of genetic resistance. The experiment was led in in agricultural greenhouse and in the laboratory of Microbiology and Phytopathology of the Rural Federal University of the Semi-arid, in Mossoró - RN. Five melon accessions (CA-09, CA-16, CA-18, CA-22 and CA-33) and two methods of inoculation (sandy-organic and toothpick) were evaluated. The isolates of *R. Solani* used were Me-242, Me-243 and Me-244. We used a completely randomized design with five replications. Melon accessions were evaluated for disease severity by a scale from 0 to 4. The method using toothpick was the most efficient in discriminating the reaction of melon accessions and virulence of isolates of *R. solani*.

**Keywords:** *Cucumis melo*, soil borne pathogens, resistance, germplasm.

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do meloeiro tem grande expressão econômica no Brasil, onde as condições geográficas, edáficas e climáticas são favoráveis à exploração tecnológica intensa, visando aos mercados interno e externo. No ano de 2013, foram produzidas 191.412,6 t, rendendo 147.579.929 milhões de dólares e no ano de 2014, de janeiro a julho, foram produzidas 47.001,12 t, gerando 36.065.199 milhões de dólares (ALICE WEB/MDIC, 2014). Esses dados comprovam a importância socioeconômica para a região nordeste, principalmente porque esta é responsável pela maior parte da produção do país.

O cultivo intenso, inadequadas práticas culturais, dentre outras, do meloeiro no Nordeste brasileiro tem contribuído para o aumento na incidência e severidade de diversas doenças, dentre elas as causadas por patógenos habitantes do solo, causando, portanto, perdas econômicas devido à queda da produtividade e qualidade dos frutos.

Dentre os problemas fitossanitários, destaca-se a Rizoctoniose do meloeiro, causada por *Rhizoctonia solani* Kuhn (ANDRADE et al., 2005), a qual vem se destacando com o aumento de incidência e severidade. As plantas infectadas com esse patógeno apresentam sintomas de morte de plântulas, cancro nos talos, podridão de raízes e sementes, tombamento ou *damping-off*, tendo como consequência a morte prematura da planta ou a redução da produtividade (BRUTON, 1998; GARCIA-JIMENEZ et al., 2000).

A utilização de cultivares resistentes constitui uma medida estratégica no manejo integrado de doenças, porém, apesar de sua relevância, existem poucos estudos sobre a avaliação da resistência de meloeiro ao fungo em questão. Algumas pesquisas buscam a obtenção de fontes de resistência a *R. solani* em acessos e cultivares comerciais de melão (MICHEREFF et al., 2008, SALARI et al., 2012) e, segundo os autores, fontes promissoras de resistência para futuros programas de melhoramento têm sido encontradas nessas pesquisas.

Ao se avaliar germoplasma em busca de fontes de resistência a patógeno, métodos uniformes e eficientes de inoculação das plântulas com isolados

patogênicos e virulentos do patógeno são requisitos essenciais. Alguns métodos de inoculação, em condições controladas, têm sido empregados com sucesso em diversas culturas (TOLÊDO-SOUZA; COSTA, 2003), tais como a multiplicação de *R. solani* artificialmente, em substratos com arroz (MICHEREFF et al., 2008), aveia (GOULART, 2002), areno-orgânico (FENILLE; SOUZA, 1999) e o método do palito de dente (VERZIGNASSI, 2004).

Neste processo, são fundamentais o desenvolvimento e a padronização de metodologias que permitam a seleção segura dessas fontes de resistência e a determinação da reação, de resistência ou suscetibilidade dos genótipos avaliados.

Em face da importância da cultura do meloeiro para o Nordeste brasileiro e das perdas de produção inerentes ao ataque deste fungo radicular e com a hipótese de que haja diferença na eficiência entre os métodos de inoculação com palito de dente e substrato areno-orgânico na discriminação dos acessos, este trabalho teve como objetivo avaliar dois métodos de inoculação de *Rhizoctonia solani* em meloeiro.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 ÁREA EXPERIMENTAL

Os experimentos foram conduzidos em estufa agrícola e no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), no município de Mossoró-RN, no período de agosto a novembro de 2012. As condições experimentais na estufa agrícola foram: temperatura média do ar de 34,5°C, com umidade média do ar de 38,4%.

O trabalho consistiu de dois experimentos, com duas metodologias de inoculação, todos realizados no mesmo local. Os métodos de inoculação utilizados foram substrato areno-orgânico e palito de dente.

### 2.2 GERMOPLASMA

Foram utilizados cinco acessos de melão do Banco de Germoplasma de Cucurbitáceas da UFERSA: C-AC-09, C-AC -16, C-AC-18, C-AC-22 e C-AC-33. As sementes foram submetidas a um processo de seleção, onde as que apresentaram algum dano (rachaduras, furos, entre outras.) foram descartadas. Posteriormente, foram desinfestadas com NaClO a 1,5% por dois minutos (MICHEREFF et al., 2008), lavadas em água corrente e postas para secar sobre papel absorvente por 24 horas em temperatura ambiente ( $\pm 28$  °C). Esse processo foi realizado para cada acesso separadamente.

### 2.3 ISOLADOS DE *Rhizoctonia solani*

Foram utilizados três isolados de *R. solani*, Me-242, Me-243 e Me-244 (Figura 1), todos isolados de meloeiro amarelo infectados com sintomas de podridão de raiz e colo, além de teste de patogenicidade comprovado (+). O Me-242 foi proveniente de uma área produtora de melão da empresa Agrícola Famosa e os isolados Me-243 e Me-244 foram coletados em épocas e locais diferentes na

horta didática da UFERSA. Estes isolados apresentaram micélios com colorações distintas.

Os isolados foram armazenados na coleção de culturas de fungos do laboratório de Fitopatologia do setor de Fitossanidade da UFERSA.

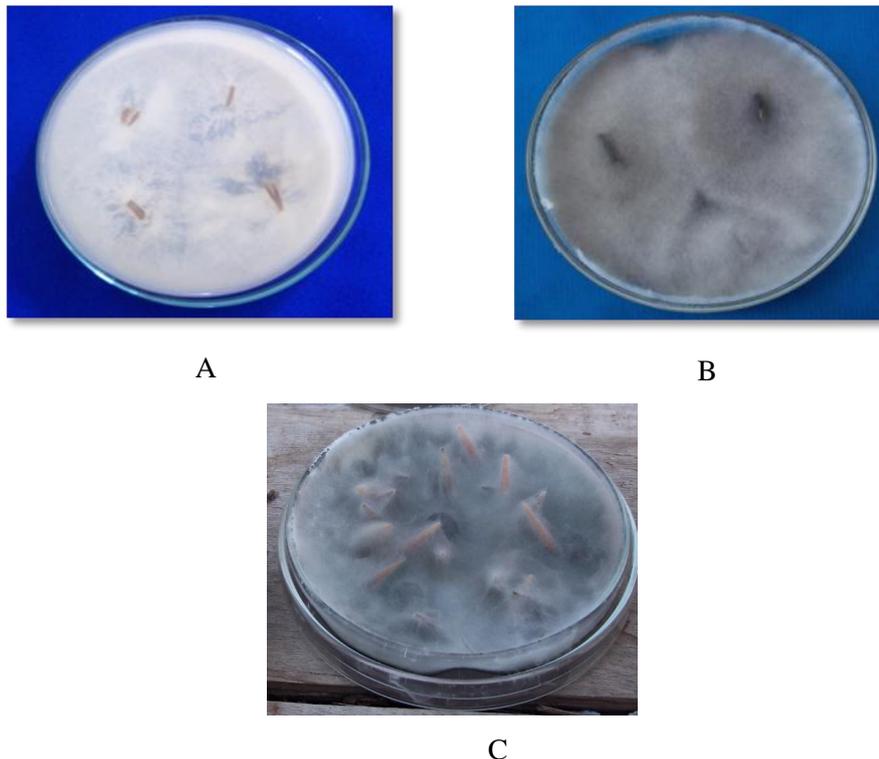


Figura 1. Isolados Me-242 (A), Me-243 (B) e Me-244 (C) de *R. solani*. UFERSA, Mossoró-RN, 2014.

#### 2.4 MÉTODO DE INOCULAÇÃO COM SUBSTRATO ARENO-ORGÂNICO

A multiplicação dos isolados foi realizada repicando-se separadamente os para placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) + tetraciclina (0,05g/L) e incubados por cinco dias a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , em estufa tipo B.O.D. (Biochemistry Oxygen Demand).

O inóculo de cada isolado foi cultivado em frascos contendo substrato areno-orgânico (LEFÈVRE; SOUZA, 1993), composto de três partes de esterco curtido, uma parte de areia lavada e 2% de aveia (v/p), ao que foram adicionados 20 mL de água destilada para cada 100 mL de substrato. Esse substrato foi autoclavado duas vezes, em intervalos de 24 horas, durante uma hora a 120°C.

Em câmara asséptica, foram transferidos três discos de 5 mm de diâmetro retirados das bordas das colônias dos isolados de *R. solani* para os frascos contendo o substrato areno-orgânico devidamente esterilizado. Esses foram mantidos em estufa tipo B.O.D. a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , no escuro, por quinze dias, sendo periodicamente agitados com o objetivo de homogeneizar a infestação; também foi mantido um frasco sem o fungo, nas mesmas condições dos frascos contendo as estruturas do patógeno, servindo como testemunha de possíveis contaminações.

A infestação do solo ocorreu no dia da semeadura, pela distribuição homogênea do inóculo do fungo até 10 cm de profundidade, na proporção de 3% da capacidade do vaso (0,4 kg) (FENILLE; SOUZA, 1999). Para termos de comparação, foi deixada a testemunha sem o inóculo.

## 2.5 MÉTODO DE INOCULAÇÃO USANDO PALITO DE DENTE

Os isolados foram previamente repicados, separadamente, para meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) + tetraciclina (0,05 g/L) e mantidos em estufa tipo B.O.D. a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  por 7 dias até serem usados no preparo do inóculo.

No preparo do inóculo, foram utilizadas pontas de palitos de dente (1,5 cm), inseridas verticalmente em um disco de papel filtro com o mesmo diâmetro interno da placa de Petri. Depois de colocados dentro das placas, com a parte afilada dos palitos voltada para cima, estes foram esterilizados a 121 °C em autoclave, por 30 minutos (YORINORI, 1996). Posteriormente, verteu-se meio de cultura BDA, deixando expostos cerca de 2 mm da extremidade dos palitos. Após a solidificação do meio de cultura, foram repicados três discos de 0,5 mm de diâmetro com estruturas do fungo (micélio), distribuídos equidistantes e incubados por cerca de oito dias, em estufa tipo B.O.D. a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  para a completa

colonização dos palitos. Por ocasião da inoculação, os palitos estavam com suas extremidades totalmente colonizadas pelo fungo (Figura 2A) e esta ocorreu aos 15 dias após a sementeira, onde as pontas do palito de dente foram inseridas no colo da planta, na altura de  $\pm 0,05$ mm do solo (Figura 2B). Os palitos sem o inóculo, também esterilizados em autoclave, foram inoculados nas plantas testemunhas.



A



B

Figura 2. Palitos de dente com suas extremidades totalmente colonizadas (A) e palitos colonizados inseridos no colo da planta (B).

## 2.6 TIPO DE SOLO E SEMEADURA

Foram semeadas três sementes em vaso plástico com 0,4 kg de capacidade, sendo mantida uma planta após o desbaste, este contendo uma mistura de solo e substrato comercial. O solo utilizado foi um areno-argiloso, coletado de área nativa da UFERSA, comum nas fazendas produtoras de meloeiro. O substrato utilizado foi o Tropstrato<sup>®</sup> HT Hortaliças nos experimentos, numa proporção de 2:1 (Duas de solo e uma de substrato). A mistura solo + substrato foi devidamente esterilizada. Posteriormente, foram infestados, de acordo com as metodologias descritas no itens 2.4 e 2.5, com os três isolados, conforme citado anteriormente.

## 2.7 AVALIAÇÃO DO EXPERIMENTO

Em ambos os experimentos, os acessos foram avaliados quanto à incidência e severidade da doença, que ocorreu aos trinta dias após a inoculação, no método do substrato areno-orgânico, devido ao período de que o patógeno precisa para se estabelecer no solo, colonizá-lo e infectar a planta; e após cinco dias no método do palito de dente, no qual o inóculo teve contato imediato com a planta, os sintomas surgiram a partir do segundo dia de inoculação.

A escala de notas adotada foi a de Noronha et al. (1995), adaptada, onde 0: ausência de sintomas; 1: hipocótilo com pequenas lesões; 2: hipocótilo com grandes lesões sem constrição; 3: hipocótilo totalmente constricto, mostrando tombamento e 4: sementes não germinadas e/ou plântulas não emergidas (Figura 3).



Figura 3. Escala de notas utilizada para a avaliação da reação de acessos de meloeiro ao fungo *R. solani*. UFERSA, Mossoró-RN, 2014. Adaptada de Noronha et al. (1995).

A severidade média da doença foi utilizada para agrupar os acessos em classes de resistência. A associação da classe de resistência com a nota da escala diagramática é feita da seguinte forma, 0: imune; 0,1 a 1,0: altamente resistente;

1,1 a 2,0: moderadamente resistente; 2,1 a 3,0: suscetível e 3,1 a 4,0: altamente suscetível (NORONHA et al., 1995).

Depois de realizada a avaliação, em ambos os experimentos, as plantas que obtiveram notas diferentes de zero foram levadas para o Laboratório a fim de confirmar a presença do fungo nas lesões. Para isso, foram efetuados pequenos cortes na região de transição da lesão e procedeu-se à desinfestação superficial em álcool 70% durante 30 segundos e em hipoclorito de sódio a 2,0% por um minuto, sendo em seguida lavados em água destilada esterilizada (ADE) e enxugados em papel filtro esterilizados. Os fragmentos desinfestados foram plaqueados em meio de cultura BDA + tetraciclina (0,05g/L). Assim, foi confirmada a identidade do fungo pela sua caracterização morfológica por meio de microscopia óptica.

## 2.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O delineamento utilizado em cada um dos experimentos foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída de um vaso plástico com 0,4 kg de capacidade, com uma planta. Os vasos foram mantidos em estufa agrícola com temperatura média de 33 °C e irrigação diária por aspersão com três turnos de rega, com 10 minutos cada.

As análises estatísticas foram realizadas pela macro SAS F1\_LD\_F1 para realizar a análise de variância (ATS), que testou o efeito de métodos de inoculação, acessos e a interação entre esses fatores. As estimativas do efeito relativo de tratamentos e ordenamento médio (Rank médio) foram obtidas pelas macro LD\_CI. As macros foram obtidas no *website* do Professor Edgard Brunner, da Universidade de Gotting. A descrição das análises realizadas no presente trabalho está detalhada no artigo de Shan e Madden (2004). Em todas as análises, foram utilizadas o nível nominal de significância de 5% de probabilidade ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação aos métodos de inoculação, ficou evidente a diferença entre as duas formas de inocular o fungo em meloeiro com relação à severidade da doença. O método do palito de dente proporcionou maior severidade do patógeno quando comparado ao do substrato areno-orgânico, independentemente do isolado utilizado na inoculação (Tabelas 1 e 2). Uma provável explicação está no fato de a metodologia de infestar o solo com o patógeno ser menos severa e exigir maior período de tempo para o surgimento de sintomas, de vez que o patógeno precisa se estabelecer no solo para poder colonizar e efetuar a infecção.

Tabela 1. Valores de F obtidos conforme análise de variância (ATS) não paramétrica para severidade avaliada em acessos de meloeiro inoculados com diferentes isolados de *R. solani*. Mossoró-RN, 2014.

FV	Anova – (ATS) <sup>1</sup>		
	Isolados - <i>R. solani</i>		
	Me-242	Me-243	Me-244
Métodos (M)	18,12 <sup>**</sup>	30,78 <sup>**</sup>	26,67 <sup>**</sup>
Acessos (A)	0,97 <sup>ns</sup>	1,46 <sup>ns</sup>	1,76 <sup>ns</sup>
A x M	2,91 <sup>*</sup>	2,87 <sup>*</sup>	2,75 <sup>*</sup>

<sup>\*\*</sup>: F Significativo a 0,01 e 0,05 por Anova – (ATS)<sup>1</sup>

Tabela 2. Nota média e reação de acessos de meloeiro a três isolados de *R. solani* inoculados pelo método do substrato areno-orgânico e do palito de dente. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Acesso	Método do substrato areno-orgânico					
	Me-242		Me-243		Me-244	
	Média	Reação	Média	Reação	Média	Reação
C-AC-09	0,6	MR	0	I	0	I
C-AC-16	0	I	0,25	MR	0	I
C-AC-18	0,4	MR	0	I	0,4	MR
C-AC-22	0	I	0	I	0	I
C-AC-33	0,6	MR	0	I	0,4	MR
Método do palito						
C-AC-09	1,4	MR	3,0	S	2,4	S
C-AC-16	2,6	S	1,8	MR	1,8	MR
C-AC-18	2,2	S	3,0	S	3,0	S
C-AC-22	1,6	MR	2,0	MR	3,0	S
C-AC-33	3,0	S	3,0	S	3,0	S

Significativo pelo teste de Kruskal-Wallis a 1% de probabilidade. I: Imune [0,0]; AR: altamente resistente [0,1-1,0]; MR: medianamente resistente [1,1-2,0]; S: suscetível [2,1-3,0]; AS: altamente suscetível [3,1-4,0].

Observou-se também interação entre os fatores métodos e acessos, para todos os isolados (Tabela 1). A interação é caracterizada pelo comportamento diferencial dos acessos em função dos métodos de inoculação. Em outras palavras, há acessos que se comportam de maneira diferente em função do método de inoculação empregado, ou seja, a reação do acesso depende do método, o que é muito importante para o melhorista no momento da escolha do método de inoculação a ser empregado para identificar materiais resistentes.

Bruton; Wann (2004) comentam que em cucurbitáceas trepadoras, a podridão das raízes causadas por *R. solani* coincide com a senescência da planta. Como consequência, a aplicação do substrato areno-orgânico para avaliar grande número de acessos teria como principais desvantagens o maior tempo para avaliação e a maior quantidade de solo, de vez que recipientes maiores seriam

necessários para que a planta atingisse a senescência. No método do palito, o patógeno é introduzido no tecido vegetal, facilitando a infecção e a colonização dos tecidos.

A severidade causada pelos isolados inoculados por meio do método do palito permitiu a discriminação de materiais em várias classes de reação, fato não observado no método utilizando o substrato areno-orgânico, que não permitiu a identificação de materiais suscetíveis (Tabelas 2). Tomando-se a perspectiva do melhorista de plantas, pode-se afirmar que o método do palito foi eficiente para que o objetivo fundamental de qualquer trabalho de pré-melhoramento buscando a identificação de fontes de resistência fosse alcançado, considerando que permitiu diferenciar genótipos resistentes e suscetíveis em função da virulência do isolado do patógeno.

Além de discriminar a reação dos genótipos do hospedeiro, um método de inoculação deve diferenciar os isolados dos patógenos quanto à virulência (TOLÊDO-SOUZA; COSTA, 2003). Nesse aspecto, apenas o método do palito foi capaz de evidenciar a heterogeneidade fitopatogênica dos isolados utilizados no presente estudo (Tabelas 2). O conhecimento da variabilidade fitopatogênica é fundamental porque permite o estudo da estabilidade da resistência de genótipos do hospedeiro frente aos isolados do patógeno. Por outro lado, a falta de informações sobre a estrutura populacional do patógeno é um dos fatores limitantes para o sucesso de um programa de melhoramento genético, de vez que não permite o estudo de uma possível interação entre genótipos e isolados (MAHMOUDI; GHASHGHAIE, 2012).

De uma forma mais prática, o conhecimento da variabilidade do patógeno interfere na identificação de fontes de resistência no hospedeiro. Pelos resultados observados, constata-se variabilidade entre os isolados quando se considera o método do palito. A variabilidade fitopatogênica em *R. solani* foi relatada no Brasil por Almeida et al. (2003) em isolados originários de diferentes hospedeiros, como soja, sorgo, girassol, caupi, milho, trigo e de duas amostras de solo de áreas virgens. Os resultados mostraram que isolados mais divergentes (ou seja, mais virulentos) são oriundos de áreas com monocultura e demonstraram a existência de

variabilidade genética entre os isolados brasileiros. Todavia, não existem informações entre os isolados coletados em meloeiro. Com relação a *R. solani*, também é de conhecimento na literatura que se trata de um fungo de população extremamente variável, inclusive com grupos de anastomose.

As principais vantagens do método do palito são as seguintes: a) uma quantidade relativamente constante de inóculo é colocada em contato direto com o tecido hospedeiro, reduzindo a possibilidade de contaminação com outro patógeno; b) conhecimento do tempo de inoculação, ou seja, contato do hospedeiro com o patógeno, permitindo o acompanhamento do progresso da doença e c) menor possibilidade de escape.

A principal crítica feita ao método do palito de dente, bem como a outros métodos que introduzem o inóculo no caule da planta, é quanto à sua agressividade. Os pesquisadores argumentam que a aplicação do palito causa ruptura da parede celular, que pode ser um componente de resistência estrutural da planta, acarretando a não seleção de genótipos com um nível mediano de resistência (EDMUNDS et al., 1964).

Entretanto, convém ressaltar que o método do palito tem sido amplamente utilizado em programas de melhoramento para avaliar a reação de genótipos a diversos patógenos, inclusive *R. solani*. O referido método foi usado com sucesso em culturas como a beterraba (MAHMOUDI; GHASHGHAIE, 2012), sorgo (KAVITHA, 2007), citros (SIVIERO et al., 2002) e a cenoura (PRYOR et al., 2000). No caso do meloeiro, o método foi utilizado com sucesso para avaliar a reação a *Didymella bryoniae* de diversas cucurbitáceas, candidatas a porta-enxertos de melão rendilhado (ITO et al., 2009).

Embora o método da inoculação com substrato areno-orgânico no solo não tenha sido eficiente em discriminar plantas resistentes e suscetíveis no presente estudo, há relatos da aplicação dessa metodologia para inocular patógenos radiculares (*R. solani*) (LEFÈVRE; SOUZA, 1993; AMBROSIO et al., 2008). Em meloeiro, Michereff et al. (2008) verificaram que a inoculação de *R. solani* com substrato areno-orgânico foi eficiente para selecionar cultivares comerciais resistentes. No entanto, o método apresenta a desvantagem do não conhecimento

do período de incubação, o que exige maior período para o aparecimento dos sintomas e trata-se de uma avaliação mais trabalhosa, considerando a necessidade da retirada do solo das raízes (MAHMOUDI; GHASHGHAIE, 2012), bem como a lavagem cuidadosa para observação dos sintomas.

Os dois métodos utilizados foram discordantes com relação aos resultados de severidade e, por consequência, na classificação das reações dos acessos avaliados. Enquanto no método do palito foi possível discriminar os genótipos em várias classes de reação dos acessos dependendo do isolado, no método utilizando substrato areno-orgânico praticamente todos os acessos foram moderadamente resistentes (Tabelas 2) em razão do baixo nível de severidade da doença. A discordância dos métodos pode ser verificada ao se observarem os valores reduzidos não significativos da correlação de Spearman (Tabela 3).

Tabela 3. Severidade, classes de reação e estimativas do coeficiente de correlação de Spearman entre os métodos do palito de dente e substrato areno-orgânico para a inoculação de três isolados de *R. solani* em acessos de meloeiro. Mossoró-RN, 2014.

Isolado	Severidade		Classes de reação		Estimativa ( $r_s$ )
	Palito	Areno-orgânico	Palito	Areno-orgânico	
Me-242	2,2	0,3	MR, S	MR, I	0,08 ( $p > 0,05$ )
Me-243	2,6	0,1	MR, S	MR, I	-0,39 ( $p > 0,05$ )
Me-244	2,6	0,2	MR, S	MR, I	-0,34 ( $p > 0,05$ )

AR: altamente resistente; R: resistente; MR: medianamente resistente; S: suscetível; AS: altamente suscetível.  $r_s$ : Coeficiente de correlação de Spearman.

Considerando a baixa severidade observada no método do substrato areno-orgânico e a pouca discriminação dos acessos, serão discutidos os resultados das reações dos acessos ao fungo, produzidas pelo método do palito. Considerando a variabilidade fitopatogênica, é útil a identificação de genótipos com resistência genética estável. No entanto, no presente trabalho não foi possível identificar acessos resistentes a todos os isolados. Os resultados indicam que é difícil a

identificação de genótipos com estabilidade na resistência. Esse fato foi verificado por Salari et al. (2012) ao avaliar 18 cultivares a um isolado de *Macrophomina phaseolina* (Tassi), *Monosporascus cannonballus* (Pollack e Uecker) e *Rhizoctonia solani*. Foram identificadas as cultivares ‘Sfidak khatdar’ e ‘Sfidak bekhat’ como moderadamente resistentes. Assim, estas cultivares de melão são promissoras fontes de resistência a estes patógenos estudados.

Portanto, diante dos resultados do presente trabalho, aceita-se a hipótese de que há diferença na eficiência entre os métodos de inoculação com palito de dente e substrato areno-orgânico na discriminação dos acessos.

Deve-se ressaltar que o trabalho é contínuo e devem ser feitas futuras avaliações com outros acessos presentes no banco de germoplasma para avaliar a reação aos diversos isolados do fungo estudado. Em caso de identificação de fontes de resistência, esses acessos podem ser utilizados em programas de melhoramento do meloeiro.

#### 4 CONCLUSÕES

O método do palito de dente é mais eficiente em discriminar acessos de meloeiro em resistentes e suscetíveis e quanto à virulência dos isolados de *R. solani*.

O método de inoculação do substrato areno-orgânico não mostrou eficiência na discriminação dos acessos de melão em resistentes ou suscetíveis e quanto à virulência dos isolados *R. solani*, apesar de representativo de como a infecção ocorre em campo.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. M. R.; ABDELNOOR, R. V.; ARIAS, C. A. A.; CARVALHO, V. P.; JACOUD FILHO, D. S.; MARIN, S. R. R.; BENATO, L. C.; PINTO, M. C.; CARVALHO, C. G. P. Genotypic diversity among brazilian isolates of *Macrophomina phaseolina* revealed by RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 279-285, 2003.

AMBROSIO, M. M. Q.; BUENO, C. J.; PADOVANI, C. R.; SOUZA, N. L. trole de fitopatógenos do solo com materiais vegetais associados à solarização. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 354-358, 2008.

ANDRADE, D. E. G. T.; MICHEREFF, S. J.; BIONDI, C. M.; NASCIMENTO, C. W. A.; SALES JÚNIOR, R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 4, p. 327-333, 2005.

BRUTON, B. D.; WANN, R. Podredumbre de carbón. In: ZITTER, T. A.; HOPKINS, D. L.; THOMAS, C. E. (org.). **Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas**. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 2004. p. 9-11.

BRUTON, B. D. Soilborn diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: McCREIGHT, J. (org.). **Cucurbitaceae 98**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, 1998. p. 143-166.

EDMUNDS, L. K.; VOIGT, R. L.; CARASSO, F. M. Use of Arizona climate to induce charcoal rot in grain sorghum. **Plant Disease Reporter**, Saint Paul, v. 48, p. 300-302, 1964.

FENILLE, R.; SOUZA, N. L. Efeitos de materiais orgânicos e da umidade do solo na patogenicidade de *Rhizoctonia solani* Kuhn GA-4 HGI ao feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 10, p. 1959-1967, 1999.

GARCIA-JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J.; SALES, R.; JORDÁ, C.; BRUTON, B. D. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 30, n. 2, p. 169-173, 2000.

GOULART, A. C. P. Efeito do tratamento de sementes de algodão com fungicidas no controle do tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 399-402, 2002.

ITO, L. A.; BRAZ, L. T.; CAMARO, M. Comparação entre métodos de inoculação de *Didymella bryoniae* para seleção de porta-enxertos de melão rendilhado. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2 (Suplemento CD ROM), 2009.

KAVITHA, T. R. **Morphological and genetic variability and host resistance response of sorghum recombinant inbred lines (rils) to a virulent isolate of *Macrophomina Phaseolina* (Tassi) Goid.** 2007. 62p. Thesis (Master of Science – Plant Pathology) - University of Agricultural Sciences, Dharwad, 2007.

LEFÈVRE, A. F.; SOUZA, N. L. Determinação da temperatura letal para *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* e efeito da solarização sobre a temperatura do solo. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 19, n. 2, p. 107-112, 1993.

MAHMOUDI, S. B.; GHASHGHAIE, S. Reaction of sugar beet S1 lines and cultivars to different isolates of *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani* AG-2-2IIIB. **Euphytica**, Holanda, v. 175, n. 11, p. 10-16, 2012.

MICHEREFF FILHO, M.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, E. B.; ANDRADE, D. E. G. T.; ANTUNES SOBRINHO, S.; NORONHA, M. A.; MARIANO, R. L. R. Influência de tipos de solo do estado de Pernambuco na intensidade da doença induzida por *Rhizoctonia solani* em feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 19-25, 1996.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; SALES JÚNIOR, R. Reaction of melon genotypes to *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 401-404, 2008.

NORONHA, M. A.; MICHEREFF S. J.; MARIANO R. L. R. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 174-178, 1995.

PRYOR, B. M.; DAVIS, R. M.; GILBERTSON, R. L. A Toothpick Inoculation Method for Evaluating Carrot Cultivars for Resistance to *Alternaria radicina*. **Horts Cience**, v. 35, n. 6, p. 1099–1102, 2000.

SALARI, M.; PANJEHKEH, N.; NASIRPOOR, Z.; ABKHOO, J. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. **African Journal of Biotechnology**, Nairobo: Academic Journals, v. 11, n. 87, p. 15324-15329, 2012.

SHAN, D. A.; MADDEN, L. V. Nonparametric Analysis of Ordinal Data in Designed Factorial Experiments. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 9, n. 1, p. 33-43. 2004.

SIVIERO, A.; FURTADO, E. L.; BOAVA, L. P.; BARBASSO, D. V.; MACHADO, M. A. Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasita* em plântulas e plantas jovens de citrus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 6, p. 574-580, 2002.

TOLÊDO-SOUZA, E. D.; COSTA, E. J. L. S. Métodos de inoculação de plântulas de feijoeiro para avaliação de germoplasma quanto a resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 2, n. 33, p. 57-63, 2003.

VERZIGNASSI, J. R.; VIDA, J. B.; GASPAROTTO, F.; CORTEZ, G. L. S.; LORENZETTI, E. R.; FARIA, G. S.; TESSMANN, D. J.; SEVERINO, J. J. 2004. Método do palito para inoculação de *Didymella bryoniae* em melão nobre e pepino “japonês”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29 (suplemento), p. 5154.

YORINORI, J. T. **Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle**. Londrina: Embrapa Soja. 1996. 75p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 14).

### CAPÍTULO 3

#### REAÇÃO DE ACESSOS DE MELOEIRO A *Rhizoctonia solani*

##### RESUMO

MELO, Dalila Regina Mota de. **Reação de acessos de meloeiro a *Rhizoctonia solani***. 2014. 99p. il. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2014.

Com o cultivo sucessivo do meloeiro no semi-árido, muitos problemas fitossanitários relacionados a patógenos habitantes do solo têm se intensificado nos últimos anos, dentre eles a rizoctoniose do meloeiro, causada por *Rhizoctonia solani*. A utilização de cultivares resistentes constitui uma medida estratégica no manejo integrado de doenças. O objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de acessos de meloeiro coletados no Nordeste brasileiro a diferentes isolados do fungo *R. solani*. Os experimentos foram conduzidos em estufa agrícola e no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semiárido, em Mossoró-RN. Foram avaliados 45 acessos de meloeiro em delineamento inteiramente ao acaso com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída por um vaso com uma planta. O método de inoculação utilizado foi o palito de dente. Utilizaram-se três isolados de *R. solani*, identificados como Me-242, Me-243 e Me-244. Na reação aos três isolados de *R. solani*, pode-se identificar o acesso C-AC-03 e ‘Olimpic’ como medianamente resistentes, sendo os demais (95,55%) acessos suscetíveis a no mínimo um dos isolados. O híbrido ‘Olimpic’ é ideal fonte de resistência a *R. solani* e possui qualidade comercial desejável.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, patógenos de solo, germoplasma, resistência.

### ABSTRACT

MELO, Dalila Regina Mota de. **Reaction of accesses of melon to the *Rhizoctonia solani***. 2014. 99p. il. Thesis (Doctorate in Agronomy/Phytotechny) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN-Brazil, 2014.

The *Rhizoctonia* canker of melon caused by *Rhizoctonia solani* has increased in incidence and severity in the production fields of melon. The use of resistant cultivars is a strategic measure in the integrated management of diseases. The objective of this work was to evaluate the reaction of melon plant accesses collected in the Brazilian Northeast the different ones isolated of the mushroom *R. solani*. The experiments were led in agricultural greenhouse and in the laboratory of Microbiology and Phytopathology of the Rural Federal University of the Semi-arid, in Mossoró-RN. They were entirely appraised 45 melon plant accesses in randomized design with five repetitions. The experimental unit was constituted by a vase with a plant. The inoculation method used it was the toothpick. We used three isolated of *R. solani*, identified as Me-242, Me-243 and Me-244. In the reaction to the three solated of *R. solani*, it can be identified the accessions C-AC-03 and 'Olimpic' as middling resistant, being the others (95,55%) susceptible accesses at least to one of the isolated. The hybrid 'Olimpic' is an ideal resistance source to *R. solani* and it possesses desirable commercial quality.

**Keywords:** *Cucumis melo*, soil borne pathogens, germoplasm, resistance.

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a cultura do meloeiro se destaca entre as principais do país, gerando emprego e renda. No ano de 2013, foram produzidas 191.412,6 t de melão, rendendo 147.579.929 milhões de dólares, e no ano de 2014, de janeiro a julho, foram produzidas 47.001,12 t, gerando 36.065.199 milhões de dólares (ALICE WEB/MDIC, 2014).

A região Nordeste tem se destacado nas últimas três décadas como a maior produtora de melão do Brasil em razão das condições propícias para o desenvolvimento da cultura, como alta temperatura e baixa precipitação pluviométrica, aliadas aos altos investimentos do setor produtivo. A produção nordestina está concentrada em uma área de clima semiárido do Agropolo Mossoró-Assu, no Rio Grande do Norte, e Baixo Jaguaribe, no Ceará (NUNES et al., 2011).

Em razão do cultivo sucessivo do meloeiro no semiárido, praticamente durante quase todo o ano, muitos problemas fitossanitários relacionados a patógenos habitantes do solo têm se intensificado nos últimos anos, acarretando redução na produção e qualidade dos frutos. Dentre eles, cita-se a rizoctoniose do meloeiro, causada por *Rhizoctonia solani* Kuhn (ANDRADE et al., 2005), que vem se destacando com o aumento de incidência e severidade. As plantas infectadas por *R. solani* apresentam sintomas de morte de plântulas, cancro nos talos, podridão de raízes e sementes, tombamento ou *damping-off*, tendo como consequência a morte prematura da planta ou a redução da produtividade (BRUTON, 1998; GARCIA-JIMENEZ et al., 2000).

Como este patógeno apresenta ampla gama de hospedeiros e estruturas de resistência (microescleródios) que garantem sua sobrevivência no solo por vários anos, seu controle torna-se difícil (BLANCARD et al., 1991; CARDOSO, 1994). Dentre as medidas de controle para patógenos de solo, citam-se rotação de cultura e aração profunda para diminuir o inóculo perto da superfície do solo e a promoção da rápida decomposição dos resíduos infestados. No entanto, essas medidas são ineficientes no controle destes patógenos. Uma das alternativas viáveis de controle

destes patógenos é o uso de cultivares resistentes, que apresenta a vantagem de ser seguro ao meio ambiente e de fácil adoção. Nesse sentido, uma das primeiras ações é identificar fontes de resistência no germoplasma disponível.

O Brasil possui variedades tradicionais adaptadas às diferentes condições edafoclimáticas nacionais, embora esteja distante dos centros de origem, de domesticação primária e secundária do meloeiro. As variedades tradicionais de meloeiro, introduzidos provavelmente por imigrantes e escravos, ainda existem devido aos trabalhos de seleção realizados durante vários ciclos por pequenos agricultores. As referidas variedades têm sido coletadas na agricultura de subsistência de vários estados do Nordeste brasileiro, bem como em outros estados (DELWING et al., 2007).

O referido germoplasma pode ser útil para programas de melhoramento como fontes de resistência a diversos patógenos. Todavia, ainda são poucas as ações de pesquisa com o intuito de caracterizar o germoplasma nacional considerando aspectos morfológicos, agronômicos, moleculares e de reação aos principais patógenos. No caso específico da reação a *R. solani*, há poucos relatos na literatura sobre possíveis fontes de resistência (MICHEREFF et al., 2008). Com relação ao germoplasma cultivado por pequenos produtores brasileiros, não foram identificados relatos sobre a reação ao referido patógeno, sendo, portanto, relevante a identificação de materiais promissores para futuros programas de melhoramento e para o manejo dessa doença. Salari et al. (2012), ao avaliar 18 cultivares iranianas a um isolado de *R. solani*, identificaram as cultivares ‘Sfidak khatdar’ e ‘Sfidak bekhat’ como moderadamente resistentes.

Com a hipótese de que há fontes resistente ao patógeno habitante do solo citado anteriormente, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar a reação de acessos de meloeiro coletados no Nordeste brasileiro a diferentes isolados do fungo *R. solani*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 ÁREA EXPERIMENTAL

Os experimentos foram conduzidos em estufa agrícola e no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) no município de Mossoró-RN. As condições experimentais em estufa agrícola foram: temperatura média do ar de 33,6 °C e umidade média do ar 39,8%.

### 2.2 GERMOPLASMA

Para avaliação da reação a *R. solani*, foram utilizados e avaliados 45 materiais de meloeiro: C-AC-01, C-AC-02, C-AC-03, C-AC-04, C-AC-05, C-AC-06, C-AC-07, C-AC-08, C-AC-09, C-AC-11, C-AC-12, C-AC-13, C-AC-14, AC-15, C-AC-16, C-AC-17, C-AC-18, C-AC-19, C-AC-22, C-AC-23, C-AC-24, C-AC-25, C-AC-26, C-AC-27, C-AC-28, C-AC-29, C-AC-30, C-AC-31, C-AC-32, C-AC-33, C-AC-34, C-AC-35, C-AC-36, C-AC-37, C-AC-39, C-AC-41, C-AC-42, C-AC-43, C-AC-44, C-AC-45; ‘Vereda’; ‘Mabel’; ‘Olimpic’; MR1 e PI 414723.

### 2.3 ISOLADOS E PREPARAÇÃO DO INÓCULO

Foram utilizados os isolados patogênicos Me-242, Me-243 e o Me-244 de *R. solani* (Figura 1 do item 2.3 no Capítulo II, p. 38), coletados de raízes de melão amarelo com podridão de raiz e colo da planta. O Me-242 foi oriundo de uma área produtora de melão da empresa Agrícola Famosa e os isolados Me-243 e Me-244 foram coletados em épocas e locais diferentes na horta didática da UFERSA, sendo que estes isolados apresentam coloração do micélio diferente.

Os isolados foram previamente repicados, separadamente, para meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) + antibiótico (tetraciclina - 0,05 g L<sup>-1</sup>) e mantidos em estufa tipo B.O.D. a 28 °C ± 2 por cinco dias.

O inóculo foi preparado da mesma forma que foi citado no capítulo II, onde foram utilizadas pontas de palitos de dente (1,5 cm), inseridas verticalmente em um disco de papel de filtro com o mesmo diâmetro interno da placa de Petri. Depois de colocados dentro das placas, com a parte afilada dos palitos voltada para cima, estes foram esterilizados a 121°C em autoclave por 30 minutos (YORINORI, 1996). Posteriormente, verteu-se meio de cultura BDA + antibiótico deixando expostos cerca de 2 mm da extremidade dos palitos. Em seguida, foram repicados três discos de 0,5 mm de diâmetro do meio de cultura contendo estruturas do fungo (micélio), distribuídos equidistantemente e incubados por oito dias, em estufa tipo B.O.D. a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  para a completa colonização dos palitos. Por ocasião da inoculação, os palitos estavam com suas extremidades totalmente colonizadas (Figura 2A do item 2.5 no Capítulo II, p. 40). Isto ocorreu aos 20 dias após a semeadura, onde os palitos colonizados foram inseridos no colo da planta, na altura de  $\pm 0,05\text{mm}$  do solo (Figura 2B do item 2.5 do Capítulo II, p. 40). Os palitos sem o inóculo, também esterilizado em autoclave, foram utilizados nas plantas testemunhas.

#### 2.4 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO E AVALIAÇÃO

O experimento foi realizado no período de abril a julho de 2012 em estufa agrícola. As sementes foram selecionadas, eliminando-se aquelas que apresentavam algum dano (rachaduras, furos, entre outros). Em seguida, desinfestadas submergindo-as em uma solução de NaClO a 1,5% por dois minutos e lavadas em água corrente (MICHEREFF et al., 2008) e postas para secar sobre papel absorvente por 24 horas em temperatura ambiente ( $\pm 28^\circ\text{C}$ ).

O semeio foi realizado diretamente em vaso plástico de 0,4 kg de capacidade contendo uma mistura de solo e substrato comercial (Tropstrato<sup>®</sup> HT Hortaliças), numa proporção de 2:1. O solo utilizado foi um areno-argiloso, coletado de área nativa da UFERSA, comum nas fazendas produtoras de meloeiro. A mistura solo + substrato comercial foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C, por dois dias consecutivos, sendo uma hora por dia. Foram semeadas três

sementes de cada acesso por vaso, sendo mantida apenas uma planta após o desbaste.

A inoculação foi realizada 20 dias após a semeadura, com a inserção no colo das plantas, de uma ponta do palito de dente devidamente colonizado. Para testemunha, foi inserido o palito de dente esterilizado sem a presença de inóculo (YORINORI, 1996).

Os acessos foram avaliados quanto à severidade da doença, cinco dias após a inoculação, utilizando a seguinte escala de notas, adaptada de Noronha et al. (1995): 0: ausência de sintomas; 1: hipocótilo com pequenas lesões; 2: hipocótilo com grandes lesões sem constrição; 3: hipocótilo totalmente constricto, mostrando tombamento e 4: sementes não germinadas e/ou plântulas não emergidas (Figura 3 do item 2.7 no Capítulo II, p. 41). A severidade média da doença foi utilizada para agrupar os acessos em classes de resistência. A associação da classe de resistência com o intervalo de notas da escala diagramática foi a seguinte: imune [0], altamente resistente [0,1 a 1,0], moderadamente resistente [1,1 a 2,0], suscetível [2,1 a 3,0] e altamente suscetível [3,1 a 4].

Depois de realizada a avaliação, as plantas que obtiveram notas diferentes de zero foram levadas ao Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFERSA para confirmação da presença do fungo nas lesões. Para isso, foram efetuados pequenos cortes na região de transição da lesão e procedeu-se à desinfestação superficial em álcool 70% durante 30 segundos e em hipoclorito de sódio a 2,0% por um minuto, sendo, em seguida, lavados em água destilada esterilizada (ADE) e secados em papel de filtro esterilizado. Os fragmentos desinfestados foram plaqueados em meio de cultura BDA + antibiótico tetraciclina ( $0,05 \text{ g L}^{-1}$ ) de forma asséptica em câmara de fluxo laminar. Desta forma, foi confirmada a identidade do fungo pela sua caracterização morfológica por meio da observação das estruturas em microscópio óptico.

## 2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída por um vaso com uma planta.

A análise de variância (ATS) testou o efeito de isolados, acessos e a interação entre esses fatores foi realizada pela macro SAS F1\_LD\_F1. As estimativas do efeito relativo de tratamentos e ordenamento médio (Rank médio) foram obtidas pelas macro LD\_CI. As macros foram obtidas no *website* do Professor Edgard Brunner, da Universidade de Gotting. A descrição das análises realizadas no presente trabalho está detalhada no artigo de Shan e Madden (2004). Em todas as análises, foi utilizado o nível nominal de significância de 5% de probabilidade ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se efeito significativo para reação de acessos e isolados de *R. solani*, indicando heterogeneidade entre os acessos avaliados, bem como entre os isolados inoculados (Tabela 4).

Tabela 4. Valores de F e probabilidade associada obtidos conforme análise de variância (ATS) não paramétrica para a reação (nota) de acessos de meloeiro inoculados com isolados de *R. solani*. Mossoró-RN, 2014.

FV	Gl	Anova – (ATS)	
		F	P
Isolado (I)	2	33,24*	0,0001
Acesso (A)	44	2,31*	0,0001
A x I	88	1,60*	0,0003

\*\*\*: F Significativo a 0,01 e 0,05 por Anova – (ATS)<sup>1</sup>.

A variabilidade entre os isolados corrobora com outros trabalhos realizados que apontam grande variabilidade morfológica e molecular na população de *R. solani* (LIU et al., 1993; SARTORATO et al., 2006; CASTRO et al., 2009).

Também se verificou interação significativa entre acessos e isolados de *R. solani* (Tabela 4). A interação no presente estudo pode ser enfocada com os valores das notas e a partir da classificação da reação dos acessos. No primeiro enfoque, o aspecto é meramente estatístico e evidencia a inconsistência de ordenamento dos acessos em função dos isolados ou vice-versa. Em outras palavras, a interação é caracterizada pelo comportamento diferencial dos acessos em função do isolado inoculado, ou seja, a severidade da enfermidade avaliada no acesso depende do isolado inoculado.

O segundo enfoque, associado à biologia do patossistema considerado, pode ser interpretado a partir da classificação da reação dos acessos (Tabela 5). As diferentes reações dos acessos em função dos isolados poderiam indicar, ao menos

em princípio, a presença de raças nas populações de *R. solani*. Contudo, sabe-se que para a identificação de raças em uma população do patógeno é necessária a determinação de um conjunto de cultivares constituintes de genes que permitam a identificação de raças, como tem sido utilizado nas populações de *Podosphaera xanthii* e *Golovinomyces cichoracearum*, agentes causais do oídio em todo o mundo, inclusive no Brasil (KUZUYA et al., 2006), bem como em *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (RISSER et al., 1976). Para o caso do patógeno *R. solani*, serão necessários estudos que comprovem a presença de genes de resistência em determinadas cultivares.

Tabela 5. Nota média e reação de acessos e cultivares de meloeiro a três isolados de *R. solani* inoculados pelo método do palito. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Acesso	Me-242			Me-243			Me-244		
	ERT	Nota	Reação	ERT	Nota	Reação	ERT	Nota	Reação
C-AC-01	0,46	2,2	S	0,46	2,2	S	0,34	1,6	MR
C-AC-02	0,44	2,0	MR	0,46	2,2	S	0,53	2,4	S
C-AC-03	0,36	1,8	MR	0,44	2,0	MR	0,44	2,0	MR
C-AC-04	0,49	2,4	S	0,46	2,2	S	0,46	2,2	S
C-AC-05	0,36	1,8	MR	0,49	2,4	S	0,49	2,4	S
C-AC-06	0,41	1,8	MR	0,56	2,6	S	0,56	2,6	S
C-AC-07	0,36	1,8	MR	0,66	3,0	S	0,46	2,2	S
C-AC-08	0,56	2,6	S	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S
C-AC-09	0,31	1,4	MR	0,66	3,0	S	0,49	2,4	S
C-AC-11	0,46	2,2	S	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S
C-AC-12	0,26	1,4	MR	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S
C-AC-13	0,66	3,0	S	0,56	2,6	S	0,66	3,0	S
C-AC-14	0,36	1,8	MR	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S
C-AC-15	0,17	1,0	AR	0,66	3,0	S	0,59	2,8	S
C-AC-16	0,56	2,6	S	0,36	1,8	MR	0,36	1,8	MR
C-AC-17	0,59	2,8	S	0,56	2,6	S	0,46	2,2	S
C-AC-18	0,46	2,2	S	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S
C-AC-19	0,36	1,8	MR	0,63	2,8	S	0,49	2,4	S

Tabela 5 - Continuação...

Tabela 5 - Continuação...

C-AC-22	0,29	1,6	MR	0,39	2,0	MR	0,66	3,0	S
C-AC-23	0,44	2,0	MR	0,53	2,4	S	0,66	3,0	S
C-AC-24	0,24	1,2	MR	0,56	2,6	S	0,56	2,6	S
C-AC-25	0,24	1,2	MR	0,31	1,4	MR	0,56	2,6	S
C-AC-26	0,25	1,6	MR	0,44	2,0	MR	0,59	2,8	S
C-AC-27	0,34	1,6	MR	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S
C-AC-28	0,17	1,0	MR	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S
C-AC-29	0,34	1,6	MR	0,49	2,4	S	0,56	2,6	S
C-AC-30	0,26	1,4	MR	0,46	2,2	S	0,59	2,8	S
C-AC-31	0,24	1,2	MR	0,59	2,8	S	0,66	3,0	S
C-AC-32	0,44	2,0	MR	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S
C-AC-33	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S	0,66	3,0	S
C-AC-34	0,21	1,0	AR	0,41	1,8	MR	0,66	3,0	S
C-AC-35	0,36	1,8	MR	0,56	2,6	S	0,53	2,4	S
C-AC-36	0,66	3,0	S	0,46	2,2	S	0,56	2,6	S
C-AC-37	0,29	1,6	MR	0,52	2,6	S	0,49	2,4	S
C-AC-39	0,66	3,0	S	0,59	2,8	S	0,59	2,8	S
C-AC-41	0,52	2,6	MR	0,46	2,2	S	0,46	2,2	S
C-AC-42	0,59	2,8	MR	0,44	2,0	MR	0,66	3,0	S
C-AC-43	0,46	2,2	MR	0,56	2,6	S	0,52	2,6	S
C-AC-44	0,56	2,6	MR	0,53	2,4	S	0,14	0,8	AR
C-AC-45	0,56	2,6	MR	0,66	3,0	S	0,59	2,8	S
'MR-1'	0,66	3,0	MR	0,56	2,6	S	0,99	4,0	AS
PI 414723	0,36	1,8	MR	0,56	2,6	S	0,34	1,6	MR
'Vereda'	0,24	1,2	MR	0,46	2,2	S	0,56	2,6	S
'Olimpic'	0,26	1,4	MR	0,46	2,2	MR	0,17	1,0	AR
'Mabel'	0,26	1,4	MR	0,56	2,6	S	0,46	2,2	S
Média	0,40	2,0		0,54	2,5		0,55	2,6	

I: Imune [0,0]; AR: altamente resistente [0,1-1,0]; MR: medianamente resistente [1,1-2,0]; S: suscetível [2,1-3,0]; AS: altamente suscetível [3,1-4,0]; ETR: efeito relativo de tratamento.

Por outro lado, a resposta diferencial dos acessos aos isolados observada no presente trabalho tem um aspecto prático fundamental para programas de

melhoramento visando à obtenção de cultivares resistentes ao patógeno considerado, qual seja a dificuldade em se identificar genótipos com resistência a todos os isolados do patógeno. Assim sendo, considerando a reação a *R. solani*, verificou-se que a maioria dos acessos (71,11%) com o isolado Me-242 apresentava-se como medianamente resistente, sendo os acessos C-AC-15 e C-AC-34 classificados como altamente resistentes (Tabela 5). Para o isolado Me-243, apenas oito acessos (17,77%) foram classificados como medianamente resistentes, sendo os demais suscetíveis.

Observou-se menor discriminação entre os acessos inoculados com o isolado Me 243 (Tabela 5). Os acessos C-AC-03, C-AC-16, C-AC-22, C-AC-25, C-AC-26, C-AC-34, C-AC-42 e ‘Olimpic’ foram classificados como medianamente resistentes, ao passo que os demais acessos foram suscetíveis, evidenciando maior virulência do referido isolado.

Para o isolado Me-244, destacaram-se os acessos C-AC-44 e ‘Olimpic’ como altamente resistentes e os acessos C-AC-01, C-AC-03, C-AC-16 e ‘PI 414723’ (8,89%) como medianamente resistentes, ao passo que o acesso ‘MR-1’ foi altamente suscetível. Os demais acessos foram suscetíveis. Apenas o acesso C-AC-03 foi medianamente resistente a todos os isolados, ao passo que o híbrido ‘Olimpic’ foi medianamente resistente a Me-242 e Me-243 e altamente resistente ao isolado Me-244 (Tabela 5).

O acesso C-AC-03 pertence à variedade botânica *momordica*, tem coloração do mesocarpo salmão e apresenta resistência de campo ao fungo *P. xanthii*. Mesmo sendo um promissor genitor para programas de melhoramento genético a *R. solani*, possui como principal desvantagem a baixa qualidade dos seus frutos, isto é, teor de sólidos solúveis reduzido (<5° Brix), reduzida firmeza do mesocarpo (< 10 N) e pequena espessura do mesocarpo (< 2,0 cm). O híbrido ‘Olimpic’ pertence à variedade *cantaloupensis*, tipo Cantaloupe, possui mesocarpo de coloração salmão, elevado teor de sólidos solúveis (>11°Brix) e resistência às raças 0 e 1 de *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*. Portanto, o ‘Olimpic’ é ideal fonte de resistência e possui qualidade comercial desejável.

Atendendo à grande variação observada no germoplasma do meloeiro, deve ser ressaltado que o trabalho é contínuo e devem ser feitas futuras avaliações com outros acessos presentes no banco de germoplasma para reação ao patógeno do presente estudo. Além disso, estudos das variações nas populações do patógeno e herança devem ser realizados com as fontes de resistência identificados com o intuito de iniciar a identificação de um grupo de cultivares diferenciadoras e, por conseguinte, raças do patógeno.

Diante dos resultados obtidos no presente trabalho, aceita-se a hipótese de que há fontes resistentes ao fungo *R. solani* no germoplasma avaliado.

#### 4 CONCLUSÕES

Na reação aos três isolados de *R. solani*, pode-se identificar os acessos C-AC-03 e 'Olimpic' como medianamente resistentes, sendo os demais (95,55%) acessos suscetíveis a no mínimo um dos isolados.

O híbrido 'Olimpic' é ideal fonte de resistência a *R. solani* e possui qualidade comercial desejável.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE D. E. G. T.; MICHEREFF S. J.; BIONDI C. M.; NASCIMENTO C. W. A.; SALES JÚNIOR R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 31, p. 327-333, 2005.

BLANCARD, D.; LECOQ, H.; PITRAT, M. **Enfermedades de las Cucurbitáceas**. Madrid: Mundi-Prensa, 1991. 301p.

BRUTON, B. D. Soil born diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: McCREIGHT, J. (org.). **Cucurbitaceae**. 98. Alexandria: International Society of Horticultural Science, p. 143-166, 1998.

CARDOSO, J. E. Podridões radiculares, In: SARTORATO, A.; RAVA, A. (org.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p. 151- 164.

CASTRO, C. V. B.; MIRANDA, V. S.; BRIOSO, P. S. T.; POLTRONIERI, L. S.; REIS, I. N. R. S. Variabilidade genética de isolados de *Rhizoctonia solani*, de parte aérea, analisadas por meio de marcadores RAPD. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, PA, n. 52, p. 179-187, jul./dez. 2009.

DELWING, A. B.; FRANKE, L. B.; BARROS, I. B. I. Qualidade de sementes de acessos de melão crioulo (*Cucumis melo* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 187-194, 2007.

GARCIAC-JIMENEZ, J. et al. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 30, n. 2, p. 169-173, 2000.

KUZUYA, M.; YASHIRO, K.; TOMITA, K.; EZURA, H. Powdery mildew (*Podosphaera xanthii*) resistance in melon is categorized into two types based on inhibition of the infection processes. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 57, n. 9, p. 2093-2100, 2006

LIU, Z. L.; DOMIER, L. L.; SINCLAIR, J. B. ISG-specific ribosomal DNA polymorphism of the *Rhizoctonia solani* species complex. **Mycologia**, Stanford, v. 85, p. 795-800, 1993.

LUAN, F.; SHENG, Y.; WANG, Y.; STAUB, J. E. Performance of melon hybrids derived from parents of diverse geographic Origins. **Euphytica**, Holanda, v. 173, n. 1, p. 1-16, 2010.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; SALES JÚNIOR, R. Reaction of melon genotypes to *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 401-404, set. 2008.

NORONHA, M. A.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 174-178, 1995.

NUNES, G. H. S.; MELO, D. R. M.; DANTAS, D. J.; ARAGÃO, F. A. S.; NUNES, E. W. L. P. Divergência genética entre linhagens de melão do grupo *Inodorus*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 448-456, 2011.

RISSER G., BANIHASHEMI Z., DAVIS D. W. A proposal nomenclature of *Fusarium oxysporum* f.sp. melonis races and resistance genes in Cucumis melo. **Phytopathology**, Saint Paul, n. 66, p. 1105-1106, 1976.

SALARI, M.; PANJEHKEH, N.; NASIRPOOR, Z.; ABKHOO, J. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. **African Journal of Biotechnology**, Nairo: Academic Journals, v. 11, n. 87, p. 15324-15329, 2012.

SARTORATO, A.; NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Diversidade genética de isolados de *Rhizoctonia solani* coletados em feijão-caupi no estado de Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, mai./jun. 2006.

SHAN, D. A.; MADDEN, L. V. Nonparametric Analysis of Ordinal Data in Designed Factorial Experiments. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 9, n. 1, p. 33-43. 2004.

YORINORI, J. T. **Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle**. Londrina: Embrapa Soja. 1996. 75p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 14).

## CAPÍTULO 4

### HERANÇA DA RESISTÊNCIA DO MELOEIRO A *Rhizoctonia solani*

#### RESUMO

MELO, Dalila Regina Mota de. **Herança da resistência do meloeiro a *Rhizoctonia solani***. 2014. 99p. il. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2014.

A rizoctoniose causada por *Rhizoctonia solani* pode afetar diferentes partes do meloeiro, causando apodrecimento de sementes, raízes e frutas, tombamento e cancro da haste. Todas estas doenças conduzem à morte prematura de plantas e / ou diminuição do rendimento. O uso de cultivares resistentes é uma medida de controle de alternativa e complementar. Neste estudo, investigou-se pela primeira vez a herança da resistência presente no híbrido ‘Olimpic’ em cruzamentos com os genitores suscetíveis ‘Mabel’ e C-AC-11. A resistência do meloeiro ao fungo *R. solani* é controlada por um gene maior de efeito aditivo e dominante e poligenes de efeitos aditivos.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, rizoctoniose, controle genético, poligenes.

### ABSTRACT

MELO, Dalila Regina Mota de. **Inheritance of resistance of melon to *Rhizoctonia solani***. 2014. 99p. il. Thesis (Doctorate em Agronomy/Crop Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

The Rhizoctonia canker caused by *Rhizoctonia solani* can damage different parts of the melon plant, causing seed, root and fruit rots, damping-off and stem canker. All these diseases lead either to premature plant death and/or decreased yield. The use of resistant cultivars is a control measure alternative and complementary. In this study, we investigated for the first time the inheritance of this resistance in hybrid 'Olympic' in crosses with the susceptible parents 'Mabel' and C-AC-11. A major gene with both additive and dominant effects and polygenes with additive effect control the resistance of the melon to the fungus *R. solani*.

**Key words:** *Cucumis melo*, *Rhizoctonia canker*, genetic control, polygenes.

## 1 INTRODUÇÃO

Apesar do esforço das empresas produtoras de melões em melhorar a qualidade e quantidade dos frutos produzidos, inúmeros problemas fitossanitários têm dificultado essas iniciativas. Dentre eles, a ocorrência de pragas e doenças constitui ainda um dos maiores entraves ao desenvolvimento desta cultura, sendo capaz de prejudicar investimentos que poderiam gerar capital e trabalho.

Diversos patógenos produzem doenças no meloeiro. Dentre as ocasionadas por fungos, a rizoctoniose, ocasionada por *Rhizoctonia solani* Kuhn, é uma das mais incidentes. O referido fungo afeta todas as partes da planta, porém o sintoma mais comum observado no Agropolo Mossoró-Assu é o cancro no caule, ocasionando, em muitas situações, a morte prematura da planta ou a redução da produtividade (BRUTON, 1998).

As estratégias de controle de *R. solani* como rotação de culturas e aplicação de fungicidas têm se mostrado pouco eficientes, motivo pelo qual a utilização de cultivares resistentes constitui uma medida estratégica no manejo integrado da doença. As principais vantagens do método são a fácil adoção por parte do produtor, a associação com outros métodos de controle e a não agressão ao meio ambiente.

Todo programa de melhoramento genético visando à resistência a determinado patógeno é iniciado pela identificação de fontes de resistência promissoras no germoplasma disponível. Todavia, apesar da importância desta enfermidade, poucos estudos sobre avaliação da resistência em meloeiro a esse patógeno foram realizados. Um dos poucos trabalhos encontrados na literatura referentes à avaliação de cultivares resistentes a esse patógeno foi o de Michereff et al. (2008). Os autores avaliaram 20 híbridos comerciais inoculados com dois isolados e encontraram fontes promissoras de resistência à *R. Solani*, devendo ser preferidos para plantio em áreas infestadas pelo patógeno.

Para o aproveitamento das fontes de resistência identificadas nos programas de melhoramento visando obter materiais resistentes a *R. solani*, é importante o conhecimento do controle genético envolvido na resistência. No

entanto, não foram identificados trabalhos abordando o referido tema na literatura consultada. A ausência de informações motivou a realização deste trabalho com o objetivo de estudar herança da resistência do meloeiro a *R. solani*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 ÁREA EXPERIMENTAL

Os experimentos foram conduzidos na Horta Didática, estufa agrícola e Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Os experimentos foram conduzidos no período de novembro de 2012 a novembro de 2013. Na estufa agrícola, o primeiro experimento foi realizado em 12/02/2013 a 17/03/2013, ao passo que o segundo ocorreu entre 24/09/2013 e 06/11/2013. Os dados de temperatura média e umidade relativa do ar foram 26,73°C e 67,12%, respectivamente, no primeiro experimento, ao passo que no segundo experimento foram 32,02°C e 27,54%, respectivamente.

### 2.2 GERMOPLASMA

O híbrido ‘Olimpic’ (P<sub>2</sub>) foi utilizado como genitor resistente, ao passo que o híbrido ‘Mabel’ (P<sub>1</sub>) e o acesso C-AC-11 (P<sub>1</sub>) foram utilizados como genitores suscetíveis (Figura 4). O híbrido ‘Olimpic’ pertence à variedade botânica *cantaloupeensis*. É comumente cultivada no Agropolo Mossoró-Assu e possui frutos do tipo Cantaloupe de forma arredondada (IF = 1,0), mesocarpo de coloração salmão e elevado teor de sólidos solúveis (> 11°Brix).

O híbrido ‘Mabel’ é do tipo Pele de Sapo e pertence à variedade botânica *inodorus*. O seu fruto tem massa média de 2,5 kg, forma alongada (IF=1,6), mesocarpo de coloração branca e elevado teor de sólidos solúveis (> 12°Brix).

O acesso C-A-11 foi coletado em Pernambuco e possui frutos elípticos (IF = 1,2), exocarpo e mesocarpo de coloração branca e baixo teor de sólidos solúveis. A variedade botânica do referido acesso não foi definida.

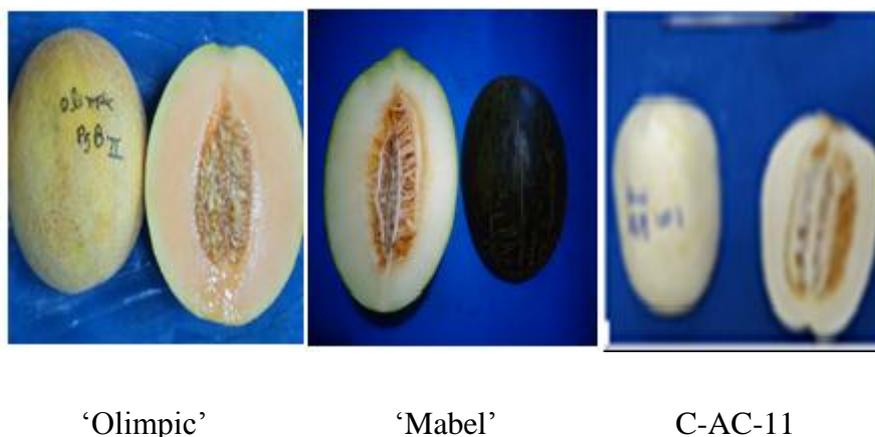


Figura 4. Frutos dos genitores utilizados nos estudos da herança para resistência a *R. solani*. Mossoró, UFERSA, 2014.

### 2.3 MANUTENÇÃO DO ISOLADO

Foi utilizado o isolado patogênico Me-244 (Figura 1C do item 2.3 no Capítulo II, p. 38) de *R. solani*, coletado de meloeiro amarelo com podridão de raiz e colo na horta didática da UFERSA, por se mostrar mais virulento em relação aos isolados Me 242 e Me 243, como foi visto no capítulo III.

Nos dois experimentos, o isolado foi previamente repicado para meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) e mantido em estufa tipo B.O.D. a  $28^{\circ}\text{C} \pm 2$  até ser usado no preparo do inóculo.

No preparo do inóculo, foram utilizadas pontas de palitos de dente (1,5 cm), inseridas verticalmente em um disco de papel filtro com o mesmo diâmetro interno da placa de Petri. Depois de colocados dentro das placas, com a parte afilada dos palitos voltada para cima, estes foram esterilizados a  $121^{\circ}\text{C}$  em autoclave por 30 minutos (YORINORI, 1996). Ver-teu-se, então, o meio de cultura BDA, deixando expostos cerca de 2 mm da extremidade dos palitos. Em seguida, foram repicados três discos de 0,5 mm de diâmetro do meio de cultura contendo estruturas do fungo (micélio), distribuídos de forma equidistante e incubados por cerca de oito dias, em estufa tipo B.O.D. a  $28^{\circ}\text{C} \pm 2$  para a completa colonização

dos palitos. Por ocasião da inoculação, os palitos estavam com suas extremidades totalmente colonizadas, o que ocorreu aos 20 dias após a semeadura, quando os palitos colonizados foram inseridos no colo da planta (Figura 2B do item 2.5 do Capítulo II, p. 40), na altura de  $\pm 0,05$ mm do solo. Os palitos sem o inóculo, também esterilizados em autoclave, foram utilizados nas plantas testemunha.

#### 2.4 AVALIAÇÃO DA REAÇÃO NAS POPULAÇÕES

Nos dois experimentos, as sementes dos genitores contrastantes, a geração  $F_1$ ,  $F_2$  e os retrocruzamentos foram selecionados, eliminando-se aquelas com algum dano (rachaduras, furos, etc.). As sementes foram desinfestadas, submergindo-as em uma solução de NaClO a 1,5% por dois minutos e lavadas em água corrente (MICHEREFF et al., 2008) e postas para secar sobre papel absorvente por 24 horas em temperatura ambiente ( $\pm 28^\circ\text{C}$ ).

O semeio foi realizado diretamente em vaso plástico de 0,4 kg de capacidade contendo uma mistura de solo e substrato comercial (Tropstrato<sup>®</sup> HT Hortaliças), numa proporção de 2:1. O solo utilizado foi um areno-argiloso, coletado de área nativa da UFERSA, comum nas fazendas produtoras de meloeiro. A mistura solo + substrato comercial foi previamente esterilizado em autoclave a  $121^\circ\text{C}$  durante dois dias consecutivos, sendo uma hora por dia. Foram semeadas três sementes de cada população por vaso, sendo mantida apenas uma planta após o desbaste, realizado 10 dias após o plantio.

A inoculação foi realizada 20 dias após o plantio, com a inserção da ponta dos palitos de dente colonizados com os isolados no colo das plantas. Para testemunha, os palitos esterilizados sem a presença de inóculo foram inseridos na plantas (YORINORI, 1996).

As populações foram avaliadas quanto à severidade da doença, cinco dias após a inoculação, utilizando a seguinte escala de notas (Figura 3 do item 2.7 no Capítulo II, p. 41), adaptada de Noronha et al. (1995): 0: ausência de sintomas; 1: hipocótilo com pequenas lesões; 2: hipocótilo com grandes lesões sem constrição; 3: hipocótilo totalmente constricto, mostrando tombamento e 4: sementes não

germinadas e/ou plântulas não emergidas. A severidade média da doença foi utilizada para agrupar as populações em classes de resistência. A associação da classe de resistência com o intervalo de notas da escala diagramática foi a seguinte: imune [0], altamente resistente [0,1 a 1,0], moderadamente resistente [1,1 a 2,0], suscetível [2,1 a 3,0] e altamente suscetível [3,1 a 4].

Depois de realizada a avaliação, as plantas que obtiveram notas diferentes de zero foram conduzidas para o Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFERSA, para confirmação da presença do fungo nas lesões. Para isso, foram efetuados pequenos cortes na região de transição da lesão e procedeu-se à desinfestação superficial em álcool 70% durante 30 segundos e em hipoclorito de sódio a 2,0% por um minuto, sendo, em seguida, lavados em água destilada esterilizada (ADE) e sacados em papel filtro esterilizado. O material foi plaqueado em meio de cultura BDA + antibiótico tetraciclina ( $0,05 \text{ g L}^{-1}$ ) em condições assépticas em câmara de fluxo laminar. Desta forma, foi confirmada a identidade do fungo pela sua caracterização morfológica por meio de microscopia óptica.

## 2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dois experimentos realizados em estufa agrícola foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída por um vaso com uma planta.

### 2.5.1 Estimação de parâmetros genéticos e fenotípicos

Foram utilizadas as notas da severidade de sintomas apresentados pelas plantas para obtenção das variâncias das populações  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $RC_{11}$  e  $RC_{12}$ .

Com essas variâncias, foram obtidas as variâncias genéticas ( $\hat{\sigma}_G^2$ ), ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ), fenotípica ( $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ ), aditiva ( $\hat{\sigma}_A^2$ ) e de dominância ( $\hat{\sigma}_D^2$ ), bem como as herdabilidades no sentido amplo ( $\hat{h}_g^2$ ) e restrito ( $\hat{h}_a^2$ ).

As expressões das estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos (MATHER; JINKS, 1984) estão a seguir:

$$\hat{\sigma}_E^2 = [\hat{\sigma}_{P_1}^2 * \hat{\sigma}_{P_2}^2 * \hat{\sigma}_{F_1}^2]^{1/3}$$

$$\hat{\sigma}_{F_2}^2 = \hat{\sigma}_G^2 + \hat{\sigma}_E^2$$

$$\hat{\sigma}_G^2 = \hat{\sigma}_{F_2}^2 - \hat{\sigma}_E^2$$

$$\hat{\sigma}_G^2 = \hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2$$

$$\hat{\sigma}_A^2 = 2\hat{\sigma}_{F_2}^2 - [\hat{\sigma}_{RC11}^2 - \hat{\sigma}_{RC12}^2]$$

$$\hat{\sigma}_D^2 = \hat{\sigma}_G^2 + \hat{\sigma}_A^2$$

$$\hat{h}_g^2 = \hat{\sigma}_G^2 / \hat{\sigma}_{F_2}^2$$

$$\hat{h}_a^2 = \hat{\sigma}_A^2 / \hat{\sigma}_{F_2}^2$$

Em que:

$\hat{\sigma}_{P_1}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro de P<sub>1</sub> ;

$\hat{\sigma}_{P_2}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro de P<sub>2</sub>;

$\hat{\sigma}_{F_1}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro de F<sub>1</sub>;

$\hat{\sigma}_{F_2}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro de F<sub>2</sub>;

$\hat{\sigma}_{RC11}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro de RC<sub>11</sub>;

$\hat{\sigma}_{RC12}^2$  : estimativa da variância entre plantas dentro de RC<sub>12</sub>;

$\hat{h}_g^2$  : herdabilidade no sentido amplo;

$\hat{h}_a^2$  : herdabilidade no sentido restrito.

Os efeitos aditivos [a] e não aditivos [d] do(s) gene(s) que controla(m) a característica foram estimados a partir das médias das gerações, pelo método dos quadrados mínimos ponderados (MATHER; JINKS, 1984).

$$\overline{P}_1 = m - [a]$$

$$\overline{P}_2 = m + [a]$$

$$\overline{F}_1 = m + [d]$$

$$\overline{F}_2 = m + 0,5.[d]$$

$$\overline{RC}_{12} = m - 0,5.[a] + 0,5.[d]$$

$$\overline{RC}_{11} = m + 0,5.[a] + 0,5.[d]$$

$$GMD = [d]/[a]$$

$$\eta = \frac{R^2 (1 + 0,5GMD^2)}{8\hat{\sigma}_G^2}$$

Em que:

$R^2$ : amplitude total da geração  $F_2$ ;

$\overline{P}_1$ ,  $\overline{P}_2$ ,  $\overline{F}_1$ ,  $\overline{F}_2$ ,  $\overline{RC}_{11}$  e  $\overline{RC}_{12}$  são as médias estimadas das gerações  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,

$RC_{11}$  e  $RC_{12}$ , respectivamente;

m: média dos genitores  $P_1$  e  $P_2$ ;

[a]: efeito gênico aditivo;

[d]: efeito gênico de dominância.

Foi utilizado o programa GENES (CRUZ, 2013) para o processamento de todas as análises estatísticas.

### 2.5.2 Testes de modelos genéticos utilizando a verossimilhança

Foram utilizadas as seguintes equações para cada população envolvida no estudo da herança:

$$P_1 : f_1(y_{i1}) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} \exp \left\{ -\frac{(y_{i1} - \mu + [a] + A)^2}{2\sigma^2} \right\},$$

$$P_2 : f_2(y_{i2}) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} \exp \left\{ -\frac{(y_{i2} - \mu - [a] - A)^2}{2\sigma^2} \right\},$$

$$F_1 : f_3(y_{i3}) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} \exp \left\{ -\frac{(y_{i3} - \mu - [a] - D)^2}{2\sigma^2} \right\},$$

$$RC_{11} : f_4(y_{i4}) = \frac{1}{2} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sqrt{\sigma^2 + \frac{V_A}{2} + V_D - S_{AD}}} \exp \left\{ -\frac{(y_{i4} - \mu - \frac{[a]}{2} - \frac{[d]}{2} + A)^2}{2(\sigma^2 + \frac{V_A}{2} + V_D - S_{AD})} \right\} +$$

$$\frac{1}{2} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sqrt{\sigma^2 + \frac{V_A}{2} + V_D - S_{AD}}} \exp \left\{ -\frac{(y_{i4} - \mu + \frac{[a]}{2} - \frac{[d]}{2} + D)^2}{2(\sigma^2 + \frac{V_A}{2} + V_D - S_{AD})} \right\}$$

$$\begin{aligned}
RC_{12} : f_5(y_{i5}) &= \frac{1}{2} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sqrt{\sigma^2 + \frac{V_A}{2} + V_D + S_{AD}}} \\
&\exp \left\{ -\frac{(y_{i5} - \mu - \frac{[a]}{2} - \frac{[d]}{2} + A)^2}{2(\sigma^2 + \frac{V_A}{2} + V_D - S_{AD})} \right\} + \\
&+ \frac{1}{2} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sqrt{\sigma^2 + \frac{V_A}{2} + V_D - S_{AD}}} \exp \left\{ -\frac{(y_{i5} - \mu + \frac{[a]}{2} - \frac{[d]}{2} + D)^2}{2(\sigma^2 + \frac{V_A}{2} + V_D - S_{AD})} \right\} \\
F_2 : f_6(y_{i6}) &= \frac{1}{4} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sqrt{\sigma^2 + V_A + V_D}} \exp \left\{ -\frac{(y_{i6} - \mu - \frac{[d]}{2} + A)^2}{2(\sigma^2 + V_A + V_D)} \right\} \\
&+ \frac{1}{2} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sqrt{\sigma^2 + V_A + V_D}} \exp \left\{ -\frac{(y_{i6} - \mu - \frac{[d]}{2} - D)^2}{2(\sigma^2 + V_A + V_D)} \right\} \\
&+ \frac{1}{4} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \frac{1}{\sqrt{\sigma^2 + V_A + V_D}} \exp \left\{ -\frac{(y_{i6} - \mu - \frac{[d]}{2} - A)^2}{2(\sigma^2 + V_A + V_D)} \right\}
\end{aligned}$$

Em que:

$\mu$ : constante de referência;

A: efeito aditivo de gene de efeito maior;

D: efeito de dominância do gene de efeito maior;

[a]: componente poligênico aditivo;

[d]: componente poligênico de dominância;

$V_A$ : variância aditiva;

$V_D$ : variância atribuída aos desvios de dominância dos efeitos poligênicos;

$S_{AD}$ : componente da variação relativa aos produtos dos efeitos poligênicos aditivos pelos efeitos poligênicos de dominância;

$\sigma^2$ : variância ambiental.

As funções de densidade para  $RC_1$  e  $RC_2$  são constituídas pela mistura de duas densidades normais e  $F_2$ , por uma mistura de três distribuições normais, de modo que em cada componente da mistura os componentes de média e de variância dos poligenes não mudam, mudando apenas os efeitos do gene de efeito maior.

Na construção do modelo genético, considerou-se como o modelo mais geral aquele que apresenta a existência de gene de efeito maior mais poligenes com efeitos aditivos e de dominância e variâncias ambientais iguais em todas as gerações (Tabela 6). Admitiram-se ainda genes independentes (tanto poligenes como de efeito maior).

A partir das funções de verossimilhança para cada modelo, foi possível compor testes de interesse, considerando diferentes hipóteses. Os testes de verossimilhança foram realizados por meio da estatística LR. De maneira geral, a estatística LR é dada por:

$$LR = -2 \ln \frac{L(M_i)}{L(M_j)},$$

Sendo que  $L(M_i)$  e  $L(M_j)$  são as funções de verossimilhança dos modelos  $i$  e  $j$ ; em que o modelo  $i$  deve estar hierarquizado ao modelo  $j$ .

Os testes foram realizados utilizando o *software* estatístico Monogen v.0.1, desenvolvido por Silva (2003).

Tabela 6. Modelos de herança utilizados pelo programa Monogen. UFERSA, Mossoró-RN, 2014.

Modelo	Parâmetros
1 - gene maior com efeitos aditivo e de dominância + poligenes com efeitos aditivos e de dominância	$\mu, A, D, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
2 - gene maior com efeitos aditivo e de dominância + poligenes com efeitos aditivos	$\mu, A, D, [a], V_A, \sigma^2$
3 - gene maior com efeito aditivo + poligenes com efeitos aditivos e de dominância	$\mu, A, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
4 - gene maior com efeito aditivo + poligenes com efeito aditivo	$\mu, A, [a], V_A, \sigma^2$
5 - poligenes com efeitos aditivos e de dominância	$\mu, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
6 - poligenes com efeito aditivo	$\mu, [a], V_A, \sigma^2$
7 - gene maior com efeitos aditivo e de dominância	$\mu, A, D, \sigma^2$
8 - gene maior com efeito aditivo	$\mu, A, \sigma^2$
9 - apenas efeito do ambiente	$\mu, \sigma^2$

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’

A nota do genitor ‘Mabel’ foi superior àquela observada para o genitor ‘Olimpic’ (Tabela 7). Todavia, os genitores ‘Mabel’ (suscetível) e ‘Olimpic’ (resistente) foram pouco contrastantes quanto à reação ao fungo. A média da geração  $F_1$  foi próxima da média do genitor resistente, ao passo que as médias dos dois retrocruzamentos estavam mais próximas da média do genitor suscetível.

Tabela 7. Notas médias das gerações  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $RC_{11}$  e  $RC_{12}$ , componentes de média e grau médio de dominância (GMD) da reação de acessos de meloeiro a *R. solani* do cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’. UFERSA, Mossoró-RN, 2014.

Gerações	Média
( $P_1$ ) ‘Mabel’	1,86
( $P_2$ ) ‘Olimpic’	1,00
$F_1$	0,93
$F_2$	1,62
$RC_{11}$	1,52
$RC_{12}$	1,10
$m^1$	1,53*
$[a]^2$	0,47*
$[d]^3$	-0,29*
GMD <sup>4</sup>	0,91
$\eta^5$	3,10

<sup>1/</sup>m: média dos homozigotos; <sup>2/</sup>[a]: efeito aditivo dos genes; <sup>3/</sup>[d]: efeito do desvio de dominância; <sup>4/</sup>GMD: grau médio de dominância; <sup>5/</sup> $\eta$ : número de genes. \*: Significativo pelo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).

Os três parâmetros ([m], [a] e [d]) que compõem os componentes de média do modelo aditivo-dominante foram significativos ( $p < 0,05$ ), indicando a presença de efeitos aditivo e de dominância no controle genético do caráter (Tabela 7). O

valor negativo de [d] evidencia dominância no sentido de reduzir a reação a *R. solani* (menores notas).

O grau médio de dominância, obtido a partir dos componentes de variância, foi próximo à unidade (1,0), indicando a presença de dominância completa.

O número de genes estimados no controle genético da reação do meloeiro a *R. solani* foi de 3,10, indicando herança oligogênica.

Com relação aos componentes de variância, as estimativas estão de acordo com o esperado, isto é, maiores variâncias das populações segregantes ( $F_2$  e os retrocruzamentos), sendo a variância da geração  $F_2$  superior às demais (Tabela 8).

A variância aditiva foi superior à variância de dominância, ao passo que a herdabilidade no sentido restrito foi inferior à herdabilidade no sentido amplo, fato esperado, de vez que a herdabilidade no sentido restrito contém apenas a contribuição da variância genética aditiva.

Tabela 8. Variâncias das gerações  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $RC_{11}$  e  $RC_{12}$ , estimativas dos componentes de variância do modelo aditivo-dominante e herdabilidade no sentido amplo da reação de frutos de meloeiro a *R. solani* do cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Gerações	Variâncias
( $P_1$ ) ‘Mabel’	0,55
( $P_2$ ) ‘Olimpic’	0,14
$F_1$	0,50
$F_2$	0,91
$RC_{11}$	0,72
$RC_{12}$	0,74
$\hat{\sigma}_E^2$	0,40
$\hat{\sigma}_G^2$	0,51

Tabela 8 - Continuação...

Tabela 8 - Continuação...

$\hat{\sigma}_A^2$	0,36
$\hat{\sigma}_D^2$	0,15
$\hat{h}_r^2$	39,86
$\hat{h}_a^2$	56,35

---

$\hat{\sigma}_E^2$ : variância ambiental;  $\hat{\sigma}_G^2$ : variância genética;  $\hat{\sigma}_A^2$ : variância aditiva;  $\hat{\sigma}_D^2$ : variância de dominância;  $\hat{h}_r^2$ : herdabilidade no sentido restrito;  $\hat{h}_a^2$ : herdabilidade no sentido amplo.

O modelo aditivo superparametrizado (Modelo 1) com todos os efeitos – ou seja, efeito de gene maior com aditividade e dominância, efeito de poligenes com aditividade e dominância – não diferiu dos demais modelos, com exceção do modelo 9, que compõe apenas efeito ambiental (Tabela 9). Assim sendo, o modelo 2, com efeito de gene maior com aditividade e dominância e poligenes com aditividade, foi adotado como principal modelo para se verificar a presença de efeito de gene maior e poligenes no controle genético do caráter. Os testes significativos entre os modelos 2 e 6 indicaram a presença de poligenes com efeitos aditivos, ao passo que o teste dos modelos 2 e 7 evidenciou efeito de gene maior com aditividade e dominância (Tabela 9).

Tabela 9. Testes de hipóteses de modelos genéticos hierárquicos para resistência de acessos de melão a *R. solani* do cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Teste entre modelos	Graus de liberdade	$\chi^2_c$	Probabilidade
1 vs. 2	3	1,09	0,779
1 vs. 3	1	3,13	0,777
1 vs. 4	4	3,15	0,533
1 vs. 5	5	3,13	0,209
1 vs. 6	5	3,35	0,650
1 vs. 7	5	7,05	0,217
1 vs. 8	6	7,15	0,307
1 vs. 9	7	17,99	0,012
<b>2 vs. 4</b>	<b>1</b>	<b>7,06</b>	<b>0,041</b>
<b>2 vs. 6</b>	<b>2</b>	<b>7,77</b>	<b>0,021</b>
<b>2 vs. 7</b>	<b>2</b>	<b>10,01</b>	<b>0,007</b>
2 vs. 8	2	12,89	0,005
2 vs. 9	4	30,08	0,000
3 vs. 5	4	6,40	0,011
3 vs. 6	4	9,96	0,041
3 vs. 8	5	15,08	0,010
3 vs. 9	6	32,27	0,000
4 vs. 6	1	5,71	0,017
4 vs. 8	2	10,83	0,004

Tabela 9 - Continuação...

Tabela 9 - Continuação...

4 vs. 9	3	28,02	0,000
5 vs. 6	3	3,56	0,313
5 vs. 9	5	25,87	0,000
6 vs. 9	2	22,31	0,000
7 vs. 8	1	2,87	0,090
7 vs. 9	2	20,07	0,000
8 vs. 9	1	1,09	0,296

\* Valor negativo, talvez devido a problemas de convergência.

### 3.2 Cruzamento C-AC-11 x 'Olimpic'

Os genitores 'C-AC-11' (suscetível) e 'Olimpic' (resistente) foram pouco contrastantes quanto à reação ao fungo. A nota do genitor 'C-AC-11' foi superior àquela observada para o genitor 'Olimpic' (Tabela 10). A média da geração  $F_1$  foi próxima da média do genitor suscetível, ao passo que as médias dos dois retrocruzamentos estavam mais próximas da média do genitor resistente.

Tabela 10. Notas médias das gerações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, RC<sub>11</sub> e RC<sub>12</sub>, componentes de média e grau médio de dominância (GMD) da reação de acessos de meloeiro a *R. solani* do cruzamento C-AC-11 x ‘Olimpic’. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Gerações	Média
(P <sub>1</sub> ) ‘C-AC-11’	2,13
(P <sub>2</sub> ) ‘Olimpic’	1,33
F <sub>1</sub>	1,47
F <sub>2</sub>	1,25
RC <sub>11</sub>	1,22
RC <sub>12</sub>	1,37
m <sup>1</sup>	1,52*
[a] <sup>2</sup>	0,18*
[d] <sup>3</sup>	-0,36*
GMD <sup>4</sup>	1,84
η <sup>5</sup>	5,84

<sup>1</sup>m: média dos homozigotos; <sup>2</sup>[a]: efeito aditivo dos genes; <sup>3</sup>[d]: efeito do desvio de dominância; <sup>4</sup>GMD: grau médio de dominância; <sup>5</sup>η: número de genes. \*: Significativo pelo teste t de Student (p<0,05).

As estimativas dos parâmetros m, [a] e [d] do modelo aditivo-dominante foram significativos (p<0,05), indicando a presença de efeitos aditivo e de dominância no controle genético do caráter (Tabela 10).

O grau médio de dominância, obtido a partir dos componentes de variância, foi superior à unidade (1,84), indicando a presença de sobredominância (Tabela 10).

Foram estimados 5,84 locos envolvidos no controle genético da resistência, evidenciando, assim como no cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’, herança oligogênica.

Observam-se maiores variâncias das populações segregantes (F<sub>2</sub> e os retrocruzamentos), sendo a variância da geração F<sub>2</sub> superior às demais (Tabela 11).

A herdabilidade no sentido amplo superou a herdabilidade no sentido restrito mais de duas vezes, tendo em vista que a estimativa da variância aditiva foi quase duas vezes inferior à variância de dominância (Tabela 11).

Tabela 11. Variâncias das gerações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, RC<sub>11</sub> e RC<sub>12</sub>, estimativas dos componentes de variância do modelo aditivo-dominante e herdabilidade no sentido amplo da reação de frutos de meloeiro a *R. solani* do cruzamento C-AC-11 x ‘Olimpic’. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Gerações	Variâncias
(P <sub>1</sub> ) ‘C-AC-11’	0,70
(P <sub>2</sub> ) ‘Olimpic’	0,24
F <sub>1</sub>	0,55
F <sub>2</sub>	1,01
RC <sub>11</sub>	0,87
RC <sub>12</sub>	0,78
$\hat{\sigma}_E^2$	0,50
$\hat{\sigma}_G^2$	0,52
$\hat{\sigma}_A^2$	0,20
$\hat{\sigma}_D^2$	0,32
$\hat{h}_r^2$	19,03
$\hat{h}_a^2$	51,09

$\hat{\sigma}_E^2$ : variância ambiental;  $\hat{\sigma}_G^2$ : variância genética;  $\hat{\sigma}_A^2$ : variância aditiva;  $\hat{\sigma}_D^2$ : variância de dominância;  $\hat{h}_r^2$ : herdabilidade no sentido restrito;  $\hat{h}_a^2$ : herdabilidade no sentido amplo.

Os resultados dos testes de modelos genéticos utilizando a verossimilhança foram muito semelhantes àqueles do cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’. O modelo

2, com presença de gene maior com efeitos aditivos e de dominância e poligenes com efeitos aditivos, diferiu dos modelos 6 e 7, indicando que a herança da resistência a *R. solani* envolve efeitos de gene maior e poligenes (Tabela 12).

Tabela 12. Testes de hipóteses de modelos genéticos hierárquicos para resistência de acessos de melão a *R. solani* do cruzamento C-AC-11 x 'Olimpic'. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Testes entre modelos	Graus de liberdade	$\chi^2_c$	Probabilidade
1 vs. 2	3	4,12	0,249
1 vs. 3	1	*	*
1 vs. 4	4	4,13	0,389
1 vs. 5	5	4,78	0,092
1 vs. 6	5	10,90	0,053
1 vs. 7	5	6,81	0,235
1 vs. 8	6	14,00	0,030
1 vs. 9	7	15,17	0,034
<b>2 vs. 4</b>	<b>1</b>	<b>7,01</b>	<b>0,025</b>
<b>2 vs. 6</b>	<b>2</b>	<b>6,78</b>	<b>0,034</b>
<b>2 vs. 7</b>	<b>2</b>	<b>2,69</b>	<b>0,260</b>
2 vs. 8	2	9,88	0,020

Tabela 12. Continuação ...

Tabela 12. Continuação ...

2 vs. 9	4	11,06	0,026
3 vs. 5	4	6,06	0,014
3 vs. 6	4	12,18	0,016
3 vs. 8	5	15,28	0,009
3 vs. 9	6	16,45	0,012
4 vs. 6	1	6,78	0,009
4 vs. 8	2	9,88	0,007
4 vs. 9	3	11,05	0,011
5 vs. 6	3	6,12	0,106
5 vs. 9	5	10,39	0,065
6 vs. 9	2	4,27	0,118
7 vs. 8	1	7,19	0,007
7 vs. 9	2	8,36	0,015
8 vs. 9	1	4,12	0,042

\* Valor negativo, talvez devido a problemas de convergência.

#### 4 DISCUSSÃO

Em estudos de herança, é fundamental que a avaliação da reação dos indivíduos seja realizada com um inóculo eficiente, a fim de evitar o escape. Considerando que nos dois ensaios realizados os genitores suscetíveis ‘Mabel’ (Tabela 7) e C-AC-11 (Tabela 10) apresentaram reação abaixo da esperada, evidencia-se que o inóculo não foi tão efetivo na produção dos sintomas característicos da enfermidade estudada, mesmo com as condições ambientais, no tocante às temperaturas máxima e mínima e a umidade relativa, dentro da faixa de desenvolvimento do fungo, conforme descreve Bruton (1998). Além disso, o método de inoculação empregado mostrou-se eficiente na avaliação dos acessos, como pode ser verificado no Capítulo 2. Como consequência, os genitores não foram tão contrastantes. No entanto, este fato não invalida os resultados do presente trabalho. Ressalta-se ainda que esse é o primeiro relato do controle genético da reação de meloeiro a *R. solani* causador da rizoctoniose.

Nos dois cruzamentos estudados, o controle genético da herança a *R. solani* envolve efeito aditivo [a] e de dominância [d] (Tabelas 7 e 10). O parâmetro [a] é a medida dos efeitos de todos os genes que controlam o caráter, ao passo que [d] é a medida dos desvios de dominâncias de todos os genes que controlam o caráter. O valor negativo de [d] é explicado pelo fato de a dominância ocorrer em direção à manifestação fenotípica de menor grandeza do caráter, ou seja, a ocorrência de menor nota.

A presença de dominância é corroborada pelas estimativas do grau médio de dominância próximo à unidade no cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’ (Tabela 7). Por outro lado, a estimativa do grau médio de dominância no cruzamento C-AC-11 x ‘Olimpic’ indica sobredominância (Tabela 10). A diferença entre os dois resultados é decorrente, provavelmente, do *background* genético dos genitores envolvidos no estudo de herança. Ressalta-se que, embora esteja presente no modelo aditivo-dominante, a sobredominância não é comum em estudos de herança de caracteres quantitativos, sendo considerada por alguns como um fenômeno inexistente. De qualquer maneira, a presença de dominância ou sobredominância é um

complicador para o trabalho do melhorista, pois muitos genótipos podem ser selecionados erroneamente. Por outro lado, quando a dominância está envolvida na herança de um caráter, a heterose pode ser explorada. No caso do meloeiro, espécie de predominância alógama, a maioria das cultivares de melão no mundo são híbridos simples (GUSMINI; WHENNER, 2008). A heterose foi demonstrada em diversas características quantitativas de importância econômica (MONFORTE et al., 2005; BARROS et al., 2011), bem como em estudos de herança genética a *Podospaera xanthii* [*Sphaerotheca fuliginea* (Schlechtend.:Fr.) Pollacci] (EPINAT et al., 1993; FLORIS; ALVAREZ, 1995; FUKINO et al., 2004) e *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. e Curts) (PERCHEPIED et al., 2005). No caso de estudos com fungos habitantes do solo, Nascimento et al. (2012) verificaram a presença de dominância no controle genético da resistência de meloeiro ao fungo *Myrothecium roridum*, agente causal da podridão de cratera.

Para o referido cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’, a variância de dominância contribuiu com aproximadamente 30% da variância genotípica. No cruzamento C-AC-11 x ‘Olimpic’, a variância de dominância correspondeu a mais de 60% da variância genotípica (Tabela 11). Portanto, o processo seletivo neste cruzamento é mais sujeito a equívocos.

As estimativas de herdabilidade no sentido restrito nos dois cruzamentos foram reduzidas (Tabelas 8 e 11), especialmente no cruzamento C-AC-11 x ‘Olimpic’, devido à menor magnitude da variância aditiva deste cruzamento. A variância aditiva é um dos fatores determinantes da covariância entre parentes, sendo sua grandeza um indicativo do relacionamento entre a unidade de seleção e a unidade melhorada. A variância aditiva é toda passada para a geração filial e está diretamente relacionada ao ganho de seleção. Quanto maior for a estimativa da variância aditiva, maior será a herdabilidade no sentido restrito. Herdabilidade elevada indica maior confiança de que os valores fenotípicos representem os valores genéticos (FALCONER; MCKAY, 1996). Em outras palavras, sofre-se menor efeito ambiental. Assim sendo, a melhor condição de seleção é aquela do cruzamento ‘Mabel’ x ‘Olimpic’, sendo os ganhos com a seleção maiores neste cruzamento.

A herdabilidade no sentido amplo está relacionada à variância genotípica, que depende tanto da variância aditiva como da variância de dominância. Considerando que a variância de dominância só é explorada em espécies em que a reprodução assexuada é possível, seu valor elevado no cruzamento C-AC-11 x 'Olimpic' não é favorável, de vez que o meloeiro se reproduz de forma sexuada. Não há registros de estimativas de herdabilidade para o patossistema *Cucumis melo* - *Rhizoctonia solani*. Em outros patossistemas envolvendo meloeiro e fungos habitantes do solo, como *Monosporascus cannonballus* (DIAS et al. 2004) e *Myrothecium roridum* (NASCIMENTO et al., 2012), as estimativas no sentido amplo são próximas das observadas neste trabalho. Convém ressaltar que as comparações, embora necessárias, devem ser feitas com cautela porque a herdabilidade é uma propriedade da população e das condições ambientais nas quais foram estimadas.

Para complementar o estudo de herança clássica realizado pelos componentes de média e variâncias, realizou-se estudo com modelos que consideram efeito de um gene maior e poligenes. No presente estudo, nos dois cruzamentos, utilizou-se o modelo 2, composto por gene maior com efeito aditivo e de dominância ( $\mu, A, D$ ) e poligenes com efeito aditivo ( $[a], V_A, \sigma^2$ ) para verificar a presença dos efeitos de gene maior e poligenes na herança do caráter reação do meloeiro a *R. solani*.

A significância do teste entre os modelos 2 e 6 indica a presença de gene maior com efeitos aditivo e dominância. Por outro lado, a significância do teste entre os modelos 2 e 7 indica a presença de poligenes de efeito aditivo (Tabelas 9 e 12). Os resultados confirmam em parte aqueles verificados no estudo de gerações por componentes de média e componentes de variância. Além disso, informa que um gene maior está presente na herança da característica em ambos os cruzamentos.

Outro aspecto concordante entre as duas metodologias é a presença de mais de um gene na herança do caráter. Embora as estimativas de 3,01 e 5,84 locos nos cruzamentos estudados indiquem controle oligogênico, deve ser mencionado que tais estimativas, em razão das pressuposições assumidas para o seu cálculo, são

superestimadas, o que evidencia que mais locos devem estar envolvidos no controle do caráter estudado no presente trabalho. Além disso, os genitores não foram contrastantes, principalmente os genitores suscetíveis.

A diferença no número de locos estimados pode ser explicada pelos diferentes genitores envolvidos nos cruzamentos. Os genitores podem segregar ou não em diferentes locos, resultando em diferentes genótipos nas populações segregantes ( $F_2$  e os retrocruzamentos) para o caráter em estudo.

Do ponto de vista prático, a presença de um gene maior na herança é uma situação favorável e permite que parte da resistência possa ser transferida por processos simples, como retrocruzamentos. A presença de poligenes modificadores é uma situação desfavorável, pois quando a herança é poligênica geralmente é muito influenciada pelo ambiente, resultando em herdabilidade reduzida ou mediana, como ocorreu no presente trabalho.

O genitor 'Olimpic' é uma fonte de resistência promissora em razão de sua resistência mediana. Outra grande vantagem é sua alta qualidade de frutos, em razão do alto teor de sólidos solúveis. Pelo seu tipo de fruto, pode ser utilizada no melhoramento de qualquer tipo de melão, mas principalmente nos tipos Cantaloupe e Charentais, ambos aromáticos e de polpa salmão.

## **5 CONCLUSÕES**

A resistência do meloeiro ao fungo *R. solani*, agente causal da rizoctoniose, é controlada por um gene maior de efeito aditivo e dominante e poligenes de efeitos aditivos.

## REFERÊNCIAS

BARROS, A. K. A.; NUNES, G. H. S.; QUEIRÓZ, M. A.; PEREIRA, E. W. L.; COSTA FILHO, J. H. Diallel analysis of yield and quality traits of melon fruits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, n. 4, p. 313-319, 2011.

BRUTON, B. D. Soil borne diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: McCREIGHT, J. (org.). **Cucurbitaceae 98**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, 1998. p. 143-166.

CRUZ, C. D. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. Agronomy, v. 35, p.271-276, 2013.

DIAS, R.C. S.; PICÓ, B.; ESPINOS, A.; NUEZ, F. Resistance to melon vine decline derived from *Cucumis melo* ssp. *agrestis*: genetic analysis of root structure and root response. **Plant Breeding**, v. 123, p. 66-72, 2004.

EPINAT, C.; PITRAT, M.; BERTRAND, F. Genetic analysis of resistance of five melon lines to powdery mildews. **Euphytica**, v. 65, p. 135-144, 1993.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4.nd. Longman Edit. Malasya, 1996. 464p.

FLORIS, E.; ALVAREZ, J. M. Nature of resistance of seven melon lines to *Sphaerotheca fuliginea*. **Plant Pathology**, v. 45, p. 155-160, 1996.

FUKINO, N.; KUNIHISA, M.; MATSUMOTO, S. Characterization of recombinant inbred lines derived from crosses in melon (*Cucumis melo* L.), 'PMAR 5' x 'Harukei No. 3'. **Breeding Science**, v. 5, p. 141-145, 2004.

GUSMINI, G.; WEHNER, T. C. Fifty-five Years of Yield Improvement for Cucumber, Melon, and Watermelon in the United States. **HortTechnology**, v. 18, n. 1, p. 9-12, 2008.

MATHER K.; JINKS J. L. **Biometrical Genetics**. 3<sup>o</sup> Ed. London: Chapman and Hall, 1984. 534p.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; SALES JÚNIOR, R. Reaction of melon genotypes to *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 401-404, 2008.

MONFORTE, A. J.; EDUARDO, I.; ABAD, S.; ARUS, P. Inheritance mode of fruit traits in melon-heterosis for fruit shape and its correlation with genetic distance. **Euphytica**, v. 144, n. 1, p. 31–38, 2005.

NASCIMENTO, I. J.; NUNES, G. H. S.; SALES JUNIOR, R.; SILVA, K. J. P.; GUIMARAES, I. M.; MICHEREFF, S. J. Reaction of melon accessions to crater rot and resistance inheritance. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 459-465, 2012

NORONHA, M. A.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 174-178, 1995.

PERCHEPIED, L.; BARDIN, M.; DOGIMONT, C.; PITRAT, M. Relationship between loci conferring downy mildew and powdery mildew resistance in melon assessed by quantitative trait loci mapping. **Phytopathology**, v. 95, n. 5, p. 556–565, 2005.

SILVA, W. P. **Estimadores de máxima verossimilhança em misturas de densidades normais: uma aplicação em genética**. 2003. 60p. Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimentação Agropecuária) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

YORINORI, J. T. **Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle**. Londrina: Embrapa Soja. 1996. 75p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 14).