

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MELOEIRO PARA OBTENÇÃO  
DE LINHAGENS COM RESISTÊNCIA À *Didymella bryoniae***

**Lucas da Silva Santos  
Engenheiro Agrônomo**

**2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MELOEIRO PARA OBTENÇÃO  
DE LINHAGENS COM RESISTÊNCIA À *Didymella bryoniae***

**Lucas da Silva Santos**

**Orientadora: Profa. Titular Leila Trevisan Braz**

**Coorientadora: Profa. Dra. Margarete Camargo**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

**2016**

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MELOEIRO PARA OBTENÇÃO DE LINHAGENS COM RESISTÊNCIA À *Didymella bryoniae*

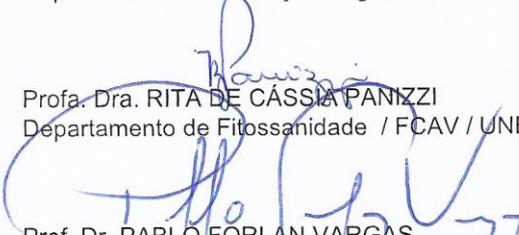
AUTOR: LUCAS DA SILVA SANTOS

ORIENTADORA: LEILA TREVISAN BRAZ

COORIENTADORA: MARGARETE CAMARGO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LEILA TREVISAN BRAZ  
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. RITA DE CÁSSIA PANIZZI  
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. PABLO FORLAN VARGAS  
Departamento de Engenharia Agrícola / UNESP - Câmpus Registro/SP



Prof. Dr. JOSÉ BRANCO DE MIRANDA FILHO  
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA / ESALQ / USP - PIRACICABA, SP



Prof. Dr. DILERMANDO PERECIN  
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 24 de maio de 2016.

S237s Santos, Lucas da Silva  
Seleção de genótipos de meloeiro para obtenção de linhagens com resistência à *Didymella bryoniae* / Lucas da Silva Santos. -- Jaboticabal, 2016  
iv, 91 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientador: Leila Trevisan Braz

Banca examinadora: Rita de Cássia Panizzi, Pablo Forlan Vargas, José Branco de Miranda Filho, Dilermando Perecin  
Bibliografia

1. *Cucumis melo*. 2. Acessos. 3. Cancro-da-haste. 4. Dialelo parcial. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.52:635.61

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**LUCAS DA SILVA SANTOS** - nascido na cidade de Arapiraca - Alagoas, em 27 de outubro de 1986, o autor residiu na Zona Rural, do município de Coité do Nóia até 18 anos. Filho de Antônio Soares dos Santos e Francisca Venâncio da Silva, graduou-se em Agronomia, em 31 de julho de 2010, pela Universidade Federal de Alagoas. Durante a graduação foi por três vezes bolsista de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), no período de 2007 a 2010. Em agosto de 2010, ingressou no curso de mestrado em Melhoramento Genético de Plantas na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Desenvolveu durante 24 meses o projeto de dissertação, intitulado, “Seleção de linhagens F<sub>5</sub> de tomateiro em dois sistemas de cultivo sob temperaturas elevadas”, como bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Em agosto de 2012, iniciou o curso de doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal (UNESP-FCAV), como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), cuja tese é apresentada a seguir:

1 "Eu sou a videira verdadeira, e meu Pai é o agricultor. 2 Todo ramo que, estando em mim, não dá fruto, ele corta; e todo que dá fruto ele poda, para que dê mais fruto ainda. 3 Vocês já estão limpos, pela palavra que tenho falado. 4 Permaneçam em mim, e eu permanecerei em vocês. Nenhum ramo pode dar fruto por si mesmo se não permanecer na videira. Vocês também não podem dar fruto se não permanecerem em mim. 5"Eu sou a videira; vocês são os ramos. Se alguém permanecer em mim e eu nele, esse dará muito fruto; pois sem mim vocês não podem fazer coisa alguma. 6 Se alguém não permanecer em mim, será como o ramo que é jogado fora e seca. Tais ramos são apanhados, lançados ao fogo e queimados. 7 Se vocês permanecerem em mim, e as minhas palavras permanecerem em vocês, pedirão o que quiserem, e será concedido. 8 Meu Pai é glorificado pelo fato de vocês darem muito fruto; e assim serão meus discípulos.

(João 15, 1-8)

Aos meus pais, Antônio e Francisca, que são a razão de eu existir e anjos em  
minha vida, sendo este trabalho, resultado de todo esforço, trabalho e educação a  
mim concedidos!

**DEDICO**

Aos meus queridos irmãos, Fran e Silas pela força, ajuda e, por em hipótese  
alguma, deixarem de acreditar em mim.

**OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida, pelas oportunidades, pelos momentos de dificuldades e sacrifícios, que me fizeram ter força e fé para crescer como ser humano e acreditar no sentido da vida.

Aos meus pais, Antônio e Francisca, que trabalharam incessantemente para eu ter uma boa educação, deixando de lado suas vidas, em prol dos meus sonhos. Amo vocês!

Aos meus irmãos Fran e Silas, pelo companheirismo, amor, conselhos e incentivo a buscar sempre algo melhor para o futuro de nossa família.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES, pela concessão da bolsa que me permitiu realizar o curso de doutorado.

À Profa. Titular Leila Trevisan Braz, minha orientadora e exemplo de ser humano, pela confiança e valiosa amizade, oportunidade e ensinamentos durante a realização do doutorado. Serei sempre imensamente grato.

À Profa. Dra. Margarete Camargo, pela valiosa coorientação, pelos ensinamentos, suporte nos experimentos e pela amizade e confiança.

À Profa. Dra. Eliana Lemos, pela disponibilidade, pelos conhecimentos passados e pelo exemplo de profissional.

Ao Prof. Dr. Paulo Vanderlei Ferreira e ao Prof. Dr. Dimas Menezes, pelos ensinamentos e companheirismo, que também me fizeram chegar até aqui. E que, junto a Profa. Leila, serão meus eternos orientadores.

Aos Professores, Dilermando Perecin, José Branco de Miranda Filho, Pablo Forlan Vargas e Rita de Cássia Panizzi, membros da minha banca de defesa, pela grande contribuição, paciência, disponibilidade e ensinamentos, pois, ler e contribuir na correção de uma tese é uma tarefa bastante árdua.

À Profa. Dra. Renata Castoldi, pela valiosa amizade, pelos conselhos e companheirismo e por dedicar um pouco do seu tempo a nos ajudar.

À Dra. Letícia Akemi, pela amizade e pronta disponibilidade em ajudar o nosso grupo de pesquisa.

À Rosane e Mônica, secretárias do Departamento de Produção vegetal, pela paciência, competência, atenção dada e constantes ajudas fornecidas.

Aos Professores do Programa de Genética e Melhoramento de Plantas Alessandro Varani, Antônio Goes, Dilermando Perecin, Gustavo Moro, Leila Trevisan, Luciana Rossini, Jackson Marcondes, Maria Inês, Rinaldo de Paula, Sandra Uneda-Trevisoli e do Programa de Genética e Melhoramento Animal, Danisio Munari, João Ademir, Sandra Aidar, pelos ensinamentos e contribuição na minha formação.

Aos grandes amigos do Núcleo de Estudos e Melhoramento de Olerícolas (NEON) – Rafaelle Fazzi, Renata Castro, Marcus Vinícius, Guilherme Diniz, Hudson Rabelo, Willame Cândido, Lucas Gaion, Dora Tobar, Edgard Henrique, Renato Soares, Carol Franco e Heloisa Borges. Agradeço a oportunidade de conviver com pessoas maravilhosas como vocês, pela agradável companhia e ajuda oferecida.

Aos funcionários do Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais, Inauro, Reinaldo e Cláudio, pela ajuda durante a realização dos experimentos.

Aos grandes amigos e colegas de doutorado Alisson Esdras, Alysson Jales, Carlos Eduardo, Gustavo Hugo, Ivanildo Ramalho, Marília Gabriela, Samuel, Silvan Brito, Tamires Kempner, pela agradável companhia e aprendizado.



## SUMÁRIO

Página

<b>RESUMO</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Diversidade e recursos genéticos do meloeiro .....	4
2.2 Cancro-da-haste .....	5
2.3 Reação de genótipos de meloeiro à <i>Didymella bryoniae</i> .....	7
2.4 Métodos e tempos de avaliação da resistência de meloeiro à <i>Didymella bryoniae</i> .	7
2.5 Seleção de genitores com base em dialelos parciais .....	9
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>11</b>
<b>CAPÍTULO 2 - REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MELOEIRO À <i>Didymella bryoniae</i></b> .	<b>16</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>16</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>17</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>200</b>
2.1 Localização dos experimentos .....	20
2.2 Reação de genótipos de meloeiro à <i>D. bryoniae</i> – Ensaios I e II .....	200
2.3 Validação da resistência de acessos de meloeiro à <i>D. bryoniae</i> – Ensaio III .....	24
2.4 Análises estatísticas .....	25
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
3.1 Reação de genótipos de meloeiro à <i>D. bryoniae</i> .....	27
3.2 Validação da resistência de acessos de meloeiro à <i>D. bryoniae</i> .....	30
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>36</b>
<b>CAPÍTULO 3 - MÉTODOS E TEMPOS DE AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MELOEIRO À <i>Didymella bryoniae</i></b> .....	<b>39</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>39</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>40</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>44</b>
2.1 Localização dos experimentos .....	44
2.2 Métodos de avaliação da resistência .....	44
2.2.1 Método I - proposto por Verzignassi et al. (2004) .....	44
2.2.2 Método II - proposto por Santos et al. (2013) .....	46

2.3 Tempos de avaliação da resistência de genótipos de meloeiro à <i>D. bryoniae</i> .....	47
2.4 Análises estatísticas.....	47
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>48</b>
3.1 Métodos de avaliação da resistência.....	48
3.2 Tempos de avaliação da resistência de genótipos de meloeiro à <i>D. bryoniae</i> .....	50
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>55</b>
<b>CAPÍTULO 4 – CRUZAMENTOS DIALÉLICOS NA SELEÇÃO DE GENITORES DE MELOEIRO VISANDO LINHAGENS COM RESISTÊNCIA À <i>Didymella bryoniae</i>...</b>	<b>58</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>58</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>59</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>62</b>
2.1 Local e período do experimento.....	62
2.2 Obtenção de sementes híbridas .....	62
2.3 Condução do experimento .....	63
2.4 Análises estatísticas.....	65
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>67</b>
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>74</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>75</b>

## SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MELOEIRO PARA OBTENÇÃO DE LINHAGENS COM RESISTÊNCIA À *Didymella bryoniae*

**RESUMO** – Dentre as doenças que acometem a cultura do meloeiro, o cancro-da-haste, causado por *Didymella bryoniae*, atualmente, é considerada a principal doença para a cultura, provocando perdas econômicas substanciais. Nesse contexto, o uso de cultivares resistentes aparece como medida ideal e estratégica no manejo integrado dessa doença. Para se obterem cultivares resistentes, é preciso identificar as melhores fontes de resistência, ter um método de avaliação da resistência eficiente, rápido e prático, e conhecer a herança genética dessa característica. Para tanto, o trabalho teve os seguintes objetivos: a) avaliar a reação de acessos de meloeiro a *D. bryoniae*; b) testar métodos e tempo (dias após a inoculação) para a avaliação da reação de genótipos de meloeiro ao referido patógeno e c) determinar os valores das capacidades geral (CGC) e específica de combinação (CEC) de seis genótipos de meloeiro, a fim de avaliar o potencial desses como genitores para uso em programas de melhoramento, visando obtenção de linhagens com resistência a *D. bryoniae*. O trabalho dividiu-se, portanto, em três etapas, sendo a primeira o estudo da reação dos genótipos, a segunda a avaliação de métodos e dias após a inoculação, na severidade do cancro-da-haste nos genótipos e a terceira estudar o potencial de genitores para uso em programas de melhoramento, visando obtenção de linhagens com resistência a *D. bryoniae*. Os experimentos foram conduzidos no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitossanidade, na Faculdade de Ciências Agrárias (UNESP-FCAV) – Câmpus de Jaboticabal. Pela reação, observou-se que os acessos AC-29, C160, Charentais Fom 1, PI 420145, PI 482398 e PI 532830 são resistentes a *D. bryoniae*, constituindo-se como importantes fontes de genes, visando o desenvolvimento de cultivares resistentes. Em relação aos métodos de avaliação, pela maior rapidez, praticidade e eficiência, o método II pode ser uma ótima alternativa na avaliação da resistência, a avaliação pode ser feita em oito dias após a inoculação. Quanto ao estudo da determinação dos valores das capacidades geral e específica de combinação de seis genótipos de meloeiro, os acessos PI 420145 e PI 482398 apresentaram estimativas negativas e significativas de CGC. Os cruzamentos JAB-11 x PI 420145, JAB-11 x PI 482398, JAB-20 x PI 140471, JAB-20 x PI 420145 e JAB-20 x PI 482398 apresentaram as melhores estimativas de CEC e podem resultar em linhagens altamente resistentes ao cancro-da-haste.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, acessos, cancro-da-haste, dialelo parcial.

## SELECTION OF MELON GENOTYPES FOR DEVELOPMENT OF LINES WITH RESISTANCE TO *Didymella bryoniae*

**ABSTRACT** - Among the diseases that affect the melon crop, the gummy stem blight, caused by *Didymella bryoniae*, is currently considered the most important and causal agent of substantial losses. In this context, the use of resistant appears as an advisable strategy in the integrated management of the disease. In the process to obtain resistant cultivars, it is necessary primarily to identify reliable sources of resistance and use an appropriate method to effectively evaluate the plant-pathogen interaction; the methodology must be fast, convenient and compatible with the genetic inheritance of this characteristic. Under this viewpoint, the present work had the following objectives: a) evaluation of melon accesses for resistance to *D. bryoniae*. b) adjustment of methodology, including the appropriate time (days after inoculation) to evaluate the reaction of melon genotypes to the pathogen; c) estimation of the effects of general combining ability (GCA) and specific combining ability (CEC) in a diallel cross among six lines of muskmelon to provide basic information for their use as parents in breeding programs toward the development of line with resistance to *D. bryoniae*. The experiments were conducted in the Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e no Laboratório do Departamento de Fitossanidade, na Faculdade de Ciências Agrárias (UNESP-FCAV) – Câmpus de Jaboticabal. The results regarding the reaction to gummy stem blight identified the access AC-29, C160, Charentais Fom 1, PI 420145, PI 482398 and PI 532830 as resistant to *D. bryoniae* and thus indicated as important sources of genes for the development of resistant cultivars. Considering the two methods of evaluation and their particularities (expended time, convenience and efficiency), Method II was considered the most indicated to evaluate the resistance reaction; it allows the removal of plants from the humid chamber three days after inoculation. Results from the diallel analysis showed the accesses PI 420145 and PI 482398 with negative and significant estimates of GCA; the crosses JAB-11 x PI 420145, JAB-11 x PI 482398, JAB-20 x PI 140471, JAB-20 x PI 420145 and AB-20 x PI 482398 showed the best estimates of CEC. Negative estimates of both GCA and CEC are in the desirable direction of resistance.

**Keywords:** *Cucumis melo*, access, gummy stem blight, partial diallell

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma espécie olerícola muito consumida e de grande popularidade no mundo. A China configura-se como o maior produtor de melão, com 14.336.814 toneladas, seguido da Turquia (1.699.550), Irã (1.507.411), Egito (1.020.679) e Índia (1.000.000) (FAO, 2016). O Brasil é o 11º maior produtor, tendo em 2013, produziu 565.900 toneladas, o que representa menos de 1% da produção mundial. Contudo, a produção vem crescendo, substancialmente, entre os anos de 2000 e 2013, este crescimento representa mais de 400% (FAO, 2016).

A cultura vem ganhando destaque, principalmente, em virtude das exportações, haja visto, que essas em se tratando de melões frescos são responsáveis por grandes incrementos na economia brasileira. Atualmente, o Brasil exporta 34% do total produzido, sendo os principais destinos do melão brasileiro os Países Baixos, a Espanha, o Reino Unido e a Itália (AGRIANUAL, 2016).

Embora, alguns fatores têm dificultado maior expansão da cultura e contribuído para a queda de produtividade e qualidade dos frutos, entre os quais, se destaca a ocorrência do cancro-da-haste. Essa doença tem como agente causal o fungo *Didymella bryoniae*, uma das mais destrutivas doenças em cucurbitáceas, especialmente, em melão, em todo o mundo (KEINATH, 2011; SANTOS et al., 2013).

O controle desse patógeno é difícil de ser realizado, tendo em vista que é um microrganismo habitante natural do solo, onde pode estar presente por até dois anos, sobreviver em restos de cultura e em outras cucurbitáceas, além das sementes (GASPAROTTO et al., 2009). A principal forma de controle utilizada pelos produtores tem sido o controle químico, que mesmo o uso de produtos químicos registrados tem mostrado problemas como pouca eficácia e resistência do patógeno a vários grupos químicos (KEINATH, 2015).

O uso de porta-enxertos resistentes (ITO et al., 2009; SILVA et al., 2012) e, principalmente, cultivares resistentes, constituem-se como medidas de controle estratégicas para o manejo integrado da doença, por não agredir o meio ambiente e o próprio homem. Para isso, faz-se necessário, inicialmente, avaliar a reação e identificar as melhores fontes de resistência a partir do germoplasma disponível, para posterior utilização em programas de melhoramento genético.

No processo de avaliação e identificação das melhores fontes de resistência são fundamentais o desenvolvimento, adaptação e a padronização de metodologias que permitam a seleção segura de fontes de resistência. Siviero et al. (2002) relataram que métodos rápidos de avaliação da resistência consistem em importante etapa da seleção de genótipos superiores nos programas de melhoramento genético.

No caso específico do patossistema *D. bryoniae* – meloeiro, alguns métodos de avaliação têm sido utilizados para estudar o comportamento dessa interação planta-patógeno. Inicialmente, os principais estudos utilizavam para inoculação a metodologia à base de suspensão de esporos, que muitas vezes se mostrou ineficiente em discriminar plantas resistentes e suscetíveis à *D. bryoniae* (MAHMOUDI; GHASHGHAIE, 2012).

Verzignassi et al. (2004) adaptaram o método do palito de dente, desenvolvido por Siviero e Menten (1995), para avaliação do cancro-da-haste (*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*) em soja e para inoculação de *D. bryoniae* em melão rendilhado e pepino-japonês. Os resultados foram satisfatórios, já que os sintomas evoluíram em curto espaço de tempo e caracterizam, eficientemente, os genótipos quanto aos sintomas típicos da doença.

Esse método tem sido utilizado com sucesso na avaliação da reação a *D. bryoniae* em diversas espécies de cucurbitáceas candidatas a porta-enxertos de melão rendilhado (ITO et al., 2009; SILVA et al., 2012), genótipos comerciais e selvagens de melão (SANTOS et al., 2009b).

Para o desenvolvimento de cultivares resistentes, além de boas fontes de resistência e metodologias que permitam a seleção segura de fontes de resistência, é necessário selecionar adequadamente os genitores que formarão a variabilidade a ser explorada. Uma forma bastante empregada de obter essa variabilidade, é por hibridação dos genitores com as características que se deseja incorporar.

Os cruzamentos devem gerar populações segregantes com suficiente variabilidade para a seleção de linhagens superiores em relação aos caracteres de interesse. Na escolha eficiente de genitores, destacam-se os cruzamentos dialélicos (CRUZ et al., 2012), que representam uma técnica de grande importância para o melhoramento de plantas, tendo em vista que possibilita a recombinação da variabilidade genética disponível, permitindo a obtenção de novos genótipos (HAYMAN, 1954; GRIFFING, 1956).

Tais esquemas de cruzamentos podem fornecer informações sobre o tipo de ação gênica predominante, permitem avaliar o potencial heterótico de híbridos e, principalmente, fornecem as estimativas da capacidade geral e específica de combinação dos genitores. Essas informações auxiliam o melhorista na escolha das populações segregantes mais promissoras, bem como da estratégia de seleção mais adequada, visando à extração de linhagens superiores.

Diante do exposto, objetivou-se com o trabalho: a) avaliar a reação de acessos de meloeiro à *D. bryoniae*; b) avaliar métodos e tempo (dias após a inoculação) para a avaliação da resistência de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae* e c) determinar os valores das capacidades geral e específica de combinação de seis genótipos de meloeiro, a fim de avaliar o potencial desses como genitores para uso em programas de melhoramento, visando obtenção de linhagens com resistência à *D. bryoniae*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Diversidade e recursos genéticos do meloeiro

O meloeiro, *Cucumis melo* L., pertence à família Cucurbitaceae e seu centro de origem, que era dado como do leste africano, vem sendo ponto de discussão entre pesquisadores. Um dos motivos reside no fato de uma maior diversidade de cultivares crioulas (*landraces*) serem encontradas na Ásia (AKASHI et al., 2002; DWIVEDI et al., 2010). Sebastian et al. (2010) com base na análise de DNA mitocondrial e nuclear de vários acessos africanos, asiáticos e australianos apontam a Índia como possível centro de origem, e se deu, a partir da espécie *Cucumis callosus* (Rottle) Cogn. et Harms (SEBASTIAN et al., 2010).

A domesticação ocorreu, inicialmente, devido à composição nutricional de suas sementes e posterior dos frutos. O meloeiro sofreu intenso processo de diversificação, produzindo centros de diversidade, sendo os principais localizados na bacia do Mar Mediterrâneo (desde o Sudeste europeu até a Turquia), na Ásia Central (Irã, Iraque e Uzbequistão), na Índia e na Ásia oriental, em países como China, Japão e Coréia (WHITAKER; DAVIS, 1962).

O meloeiro possui grande diversidade morfológica em toda a planta, com destaque para os frutos, sendo considerada a espécie mais polimórfica do gênero *Cucumis* (LUAN et al., 2010). Charles Naudin (1859) foi o primeiro a subdividir essa grande variabilidade. Para isso, ele utilizou uma coleção de 2.000 acessos e dividiu a espécie *C. melo* em 16 variedades botânicas. O trabalho pioneiro de Naudin serviu de base para as classificações subseqüentes. A última delas põe os grupos botânicos *acidulus*, *conomon*, *momordica*, *makuwa*, *chinensis* à subespécie *agrestis*; enquanto *chate*, *flexuosus*, *tibish*, *adana*, *ameri*, *cantalupensis*, *chandalak*, *reticulatus*, *inodorus* e *dudaim* à subespécie *melo* (PITRAT, 2008; BURGER et al., 2010).

Existem ainda tipos dentro dos grupos botânicos, que foram melhorados. Os mais comercializados no Brasil são o melão amarelo, o Honey Dew e o Pele de sapo, que pertencem ao grupo *inodorus*, além do tipo Charentais, que pertence ao grupo *Cantalupensis* e os tipos Cantaloupe e Gália, que são do grupo *reticulatus*.

O Brasil dispõe de diversificado Banco de Germoplasma de Cucurbitáceas mantido pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN). A Universidade Federal Rural do Semi-Árido-UFERSA também mantém rica Coleção de

Germoplasma de Cucurbitáceas, principalmente de cultivares crioulas ou *landraces*, coletadas no nordeste brasileiro.

Devido aos trabalhos de seleção realizados por vários ciclos por pequenos agricultores brasileiros, o país apresenta grande variabilidade em variedades crioulas, que tem sido coletada junto a esses agricultores de vários estados brasileiros (TAVARES, 2002; DELWING et al., 2007).

O meloeiro apresenta grande variabilidade de recursos genéticos, que estão disponíveis ao melhorista e constituem a base para o estabelecimento de um programa de melhoramento genético. Quanto maior a diversidade e disponibilidade de material genético, maiores as possibilidades de sucesso neste procedimento (PEREIRA; SILVA; PEREIRA, 2010).

Segundo Nass et al. (2007), as principais contribuições dos bancos de germoplasma para os programas de melhoramento são: a identificação de genes potencialmente úteis, identificação de padrões heteróticos, melhor conhecimento dos acessos em cruzamentos (dialelos) e formação de coleções nucleares.

Com relação ao melhoramento visando resistência às doenças, o primeiro passo é identificar fontes de resistência. No entanto, é necessário o estudo da herança da resistência desses genes, a caracterização morfológica e a viabilidade da transferência para linhagens elite ou cultivares. Com essas informações geradas o melhorista pode identificar genitores para cruzamentos e transferência da(s) característica(s) de interesse. Em meloeiro, um exemplo de sucesso no melhoramento genético é a utilização de acessos de melão indiano, *snappmelo*, pertencentes ao grupo *momordica* (Roxb.) Duthie et Fuller, como fonte de resistência ao fungo *Podosphaera xanthii*, agente causal do oídio (DHILLON et al., 2007).

## 2.2 Cancro-da-haste

Conhecida como cancro-da-haste, crestamento gomoso do caule, podridão gomosa e podridão de *Mycosphaerella*, essa doença é causada pelo ascomiceto *Didymella bryoniae* (Auersw) Rehn, um parasita necrotrófico facultativo de plantas da família Cucurbitaceae (SVEDELIUS, 1990). Atualmente, a fase teleomórfica recebe a denominação de *Didymella bryoniae* (Auersw) Rehn, sinonímia de *Mycosphaerella melonis* (Pass.) (KUROZAWA et al., 2005).

Na fase perfeita produz, geralmente, oito ascósporos em asco. Esses esporos são hialinos, monoseptados com leve constrição na região do septo e extremidades arredondadas, com a célula de cima mais larga que a de baixo. Os ascos são produzidos em tecido estromático, que é escuro (SITTERLY; KEINATH, 2000).

Como anamorfo corresponde a *Phoma cucurbitacearum* (sin. *Ascochyta*) (KUROZAWA et al., 2005). Nessa fase, produz conídios hialinos, cilíndricos com extremidades arredondadas. Os conídios são produzidos em corpos de frutificação denominados picnídios (SITTERLY; KEINATH, 2000). As colônias do fungo apresentam micélio aéreo branco e micélio verde oliva quando o substrato utilizado é o batata-dextrose-ágar (BDA). Foi descrita pela primeira vez em 1881, na França, Itália e Estados Unidos (SITTERLY; KEINATH, 2000). No Brasil, foi relatado pela primeira vez em Campinas-SP, em 1954, infectando plantas de melão do grupo Cantaloupe (TSUTSUMI, 1995). Atualmente, tem grande importância em melão, pepino e melancia. É uma das mais relevantes doenças na cultura do meloeiro no Brasil, chegando a limitar o plantio em algumas regiões, até mesmo no cultivo protegido e vem ocasionando elevados prejuízos nas regiões Sul e Sudeste (GASPAROTTO et al., 2011).

O patógeno sobrevive em restos de cultura, em sementes e no solo (GASPAROTTO et al., 2009). Os conídios e ascósporos são dispersos pela água, a curta distância e pelo vento, a longas distâncias (KUROZAWA et al., 2005). A temperatura ótima para a infecção é de 20°C em melão e 24-25°C, no pepino e melancia. A umidade é mais importante para o desenvolvimento da doença do que a temperatura.

Os sintomas aparecem na parte aérea das plantas em qualquer estágio de desenvolvimento. As lesões iniciam-se no colo da planta e avançam para os ramos, que exibem encharcamento com exsudação gomosa parda a cinza, envolvendo todo o caule e promovendo seca do ramo na região situada acima da lesão. Nas folhas aparecem manchas pardas ou marrons, de formato circular (SITTERLY; KEINATH, 2000; KUROZAWA et al., 2005) que se iniciam nos bordos e crescem em direção à nervura principal. Em frutos as lesões são menos frequentes, mostrando-se pardacentas, circulares e profundas. Em estágios mais avançados da doença é possível observar pequenas pontuações escuras e circulares no exsudado gomoso ou lesões, que correspondem aos corpos de frutificação do patógeno (ZITTER, 2004; KUROZAWA et al., 2005).

### **2.3 Reação de genótipos de meloeiro à *Didymella bryoniae***

Tem-se observado poucos trabalhos que estudaram a reação de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*. Em um destes, Zhang et al. (1997), avaliaram a resistência de 32 acessos de meloeiro, quanto a inoculação nas folhas e no caule das plântulas e observaram que o PI 255478 e o PI 511890 mostraram alto nível de resistência.

Wolukau et al. (2007) avaliaram germoplasmas proveniente de 42 países, com isolado patogênico e observam acessos com bom nível de resistência, que são promissores para utilização em programas de melhoramento.

Santos et al. (2009a) avaliaram em condições de casa de vegetação a resistência de 86 genótipos de meloeiro à infecção por *D. bryoniae*. Esses autores, relataram que houve variação significativa nos níveis de resistência entre os genótipos. Observaram, ainda, que cinco genótipos apresentaram as menores médias de comprimento de lesão, no entanto, observaram comprimento médio de lesão de 1,4 cm nestes acessos, sendo considerado como nível de resistência intermediário.

### **2.4 Métodos e tempos de avaliação da resistência de meloeiro à *Didymella bryoniae***

Quando se pretende avaliar germoplasma em busca de fontes de resistência a patógenos, métodos que discriminem bem os sintomas da doença, que sejam efetivos na inoculação e avaliação dos genótipos são requisitos fundamentais para o sucesso do programa de melhoramento. Siviero et al. (2002), explicam que o desenvolvimento de metodologias de inoculação e reação, visando avaliação precoce da resistência de genótipos a patógenos, consiste numa importante etapa na seleção de genótipos superiores em programas de melhoramento.

No caso específico do patossistema *D. bryoniae* – meloeiro, alguns métodos de inoculação e avaliação têm sido utilizados para estudar o comportamento dessa interação planta-patógeno. Inicialmente, os principais estudos utilizavam a metodologia de inoculação à base de suspensão de esporos (ajustada para  $5 \times 10^5$  esporos/mL) em plantas transplantadas em vasos (ZUNIGA et al., 1999; FRANTZ; JAHN, 2004; WOLUKAU et al., 2007; WOLUKAU; ZHOU; CHEN, 2009). Embora, esse método tenha sido utilizado, muitas vezes se mostrou ineficiente em discriminar plantas resistentes e suscetíveis (MAHMOUDI; GHASHGHAIE, 2012).

Siviero e Menten (1995) utilizaram palito de dente colonizado com o micélio do fungo (*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*) causador do cancro-da-haste em soja e comprovaram a eficiência do método em reduzir o trabalho e o espaço de tempo para a avaliação da resistência de genótipos. A partir desse trabalho, Verzignassi et al. (2004), adaptaram esse método para inoculação de *D. bryoniae* em melão rendilhado e pepino-japonês, obtendo resultados satisfatórios, já que os sintomas evoluíram em curto espaço de tempo e caracterizam, eficientemente, os genótipos quanto, aos sintomas típicos da doença. O método foi utilizado com sucesso para avaliar a reação a *D. bryoniae* em diversas cucurbitáceas candidatas a porta-enxertos de melão rendilhado (ITO et al., 2009; SILVA et al., 2012) e em melão (SANTOS et al., 2009b).

Esse método tem como importantes vantagens: 1) o inóculo é colocado em contato direto com o tecido hospedeiro, assim, reduz-se, consideravelmente, a possibilidade de contaminação com outro patógeno; 2) garantia de contato do patógeno com o hospedeiro, reduzindo a possibilidade de escape.

No tocante aos dias após a inoculação em que devem ser feitas as avaliações, Trionfetti-Nisini et al. (2000) objetivando selecionar porta-enxertos de cucurbitáceas resistentes à *D. bryoniae*, para uso em meloeiro, avaliaram a resistência aos 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias após a inoculação (DAI), em caule e folhas. Embora, os autores não terem comparado as avaliações entre si, observa-se que a média de notas de sintomas foi similar em todas as avaliações. Já Silva et al. (2012), estudaram a resistência de meloeiro rendilhado à *D. bryoniae*, em função da enxertia e concentrações de potássio, realizando avaliação aos 7, 14, 21, 28, 37, 42, 49 e 56 DAI em caule. Também foi observado que as médias de notas foram similares em todas as avaliações, tanto para os mais suscetíveis quanto para os mais resistentes.

Outros trabalhos avaliaram a reação uma única vez e aos três DAI, como no trabalho de Ito et al. (2009), em avaliação de cucurbitáceas para porta-enxertos. Também se verifica avaliação em meloeiro aos quatro DAI (SANTOS et al., 2009a; SANTOS et al., 2009b); aos sete DAI (ZHANG et al., 1997); aos 21 DAI (FRANTZ; JAHN, 2004) e também em melancia (SANTOS et al., 2013) e em cucurbitáceas para porta-enxertos (CHINÒ, 2007).

Há ainda trabalhos que avaliam a severidade mais de uma vez e, em seguida, é feita a média das avaliações, como no estudo de Zuniga et al. (1999), em que a

resistência foi avaliada aos 7 e 21 DAI, e o de Wolukau, Zhou e Chen (2009) que avaliaram aos 7, 14 e 21 DAI.

## **2.5 Seleção de genitores com base em dialelos parciais**

Apresentado por HAYMAN (1954) e GRIFFING (1956), os cruzamentos dialélicos representam uma técnica de grande importância para o melhoramento de plantas, tendo em vista que possibilita a recombinação da variabilidade genética disponível, permitindo a obtenção de novos genótipos.

No melhoramento vegetal, análise de cruzamentos dialélicos é um método comumente utilizado e tem origem a partir dos conceitos de capacidade geral (CGC) e específica de combinação (CEC) (SPRAGUE; TATUM, 1942).

A CGC é a medida do comportamento relativo de uma linhagem em uma série de cruzamentos e está associada a efeitos genéticos aditivos. A CEC representa o desvio de um determinado cruzamento para melhor ou pior, tomando por base a média da CGC dos pais. Esse é o resultado dos efeitos de dominância, epistasia e vários tipos de interações gênicas (CRUZ et al., 2012).

Quando há interesse apenas em cruzar um conjunto de genótipos com um ou mais genitores específicos, deve-se utilizar o cruzamento dialélico parcial. O esquema em dialelo parcial é um delineamento genético fatorial que permite o cruzamento entre os grupos e não dentro de grupos (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992; MIRANDA FILHO; GORGULHO, 2001).

Esta forma de cruzamento se baseia em adaptações a Gardner e Eberhart (1966), como sugerido por Miranda Filho e Geraldi (1984) e, principalmente, no método 2, modelo I, proposto por GRIFFING (1956), sugerido por Geraldi e Miranda Filho (1988), em que os genitores e híbridos  $F_1$ 's são incluídos na análise e o material experimental é considerado um conjunto fixo de linhagens (CRUZ et al., 2012).

As metodologias de dialelos parciais distinguem-se das demais porque são avaliados os  $F_1$ 's ou  $F_1$ 's e genitores em dois grupos de genitores. Isso permite prever o potencial das populações segregantes, oriundas das plantas  $F_1$ 's entre os grupos e, assim, maximizar a exploração dos cruzamentos entre genitores que são complementares em relação a fenótipos desejáveis de caracteres de interesse (CRUZ et al., 2012).

O uso de dialelos parciais na identificação de genitores e combinações híbridas que reúnam caracteres de resistência e produção tem sido relatado por diversos autores em várias espécies. Guimarães et al. (2009), avaliaram a severidade da mancha branca em híbridos de milho, obtidos a partir de dialelos parciais 6x6, concluindo que estas podem ser utilizadas em programas de obtenção de híbridos ou de seleção recorrente para melhoramento de populações.

Pádua et al. (2010) avaliaram a CGC e CEC de linhagens de tomateiro, com hábito de crescimento determinado e resistência múltipla à espécies dos gêneros *Begomovirus* e *Tospovirus*, a partir de 14 híbridos obtidos do cruzamento de sete linhagens femininas (grupo I) com duas linhagens masculinas (grupo II), em um dialelo parcial. Observaram que, um dos híbridos apresentou as maiores estimativas de CGC e CEC para produção total, produção precoce e meia-vida da firmeza, sendo, portanto, o mais promissor.

## REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL 2016: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio. 2016. 485 p.
- AKASHI, Y.; FUKUDA, N.; WAKO, T.; MASUDA, M.; KATO, K. Genetic variation and phylogenetic relationships in East and South Asian melons, *Cucumis melo* L., based on the analysis of five isozymes. **Euphytica**, Wageningen, v. 125, n. 3, p. 385-396, 2002.
- BURGER, Y.; PARIS, H. S.; COHEN, R.; KATZIR, N.; TADMOR, Y.; LEWINSOHN, E.; SCHAFFER, A. A. Genetic diversity of *Cucumis melo*. **Horticulture Reviews**, Hoboken, v. 36, n. 1, p. 165–198, 2010.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4.ed. Viçosa, MG: UFV, 2012. v. 1, 514 p.
- CHINÒ, P. evaluation of rootstock resistance to fusarium wilt and gummy stem blight and effect on yield and quality of a grafted 'inodorus' melon. **HortScience**, Alexandria, v. 45, n. 3, p. 521-525, 2007
- 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**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 187-194, 2007.
- 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**, Netherlands, v. 54, n. 6, p. 1267-1283, 2007.
- DWIVEDI, N. K.; DHARIWAL, O. P.; KRISHNAN, S. G.; BHANDARI, D. C. Distribution and extent of diversity in *Cucumis* species in the Aravalli ranges of India. **Genetic Resources Crop Evolution**, Netherlands, v. 57, n. 3, p. 443-452, 2010.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). **Food and Agricultural commodities production / Countries by commodity**. Rome, 2013. Disponível em: <[http://faostat3.fao.org/browse/rankings/countries\\_by\\_commodity/E](http://faostat3.fao.org/browse/rankings/countries_by_commodity/E)>. Acesso em: 16 abr. 2016.
- FRANTZ, J. D.; JAHN, M. M. Five independent loci each control monogenic resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 108, n. 6, p. 1033-1038, 2004.
- GARDNER, C. O.; EBERHART, A. S. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**, Chichester, v. 22, p. 439-452, 1966. doi.org/10.2307/2528181. PMID:5970549

GASPAROTTO, F.; VIDA, J. B.; TESSMANN, D. J.; ALVES, T. C. A. Infecção latente de *Didymella bryoniae* em meloeiro nobre. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 62-64, 2011.

GASPAROTTO, F.; VIDA, J. B.; TESSMANN, D. J.; BONALDO, S. M.; AGUIAR, R. L.; PENHARBEL, M. P. Eficiência de métodos para detecção de *Didymella bryoniae* associado a sementes de híbridos de meloeiros nobres. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 397-402, 2009.

GERALDI, I. O.; MIRANDA-FILHO, J. B. Adapted models for the analysis of combining ability of varieties in partial diallel crosses. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 11, p. 419-430, 1988.

GUIMARÃES, P. S.; ZAGATTO PATERNIANI, M. E. A. G.; DUDIENAS, C.; LÜDERS, R. R.; GALLO, P. B. Capacidade combinatória para resistência à mancha branca em linhagens endogâmicas de milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 4, p. 282-287, 2009.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal Biology Science**, East Melbourne, v. 9, p. 463-493, 1956.

HAYMAN, B. I. The theory and analysis of diallel crosses. **Genetics**, Baltimore, v. 39, n. 6, p. 789-809, 1954.

ITO, L. A.; BRAZ, L. T.; CASTOLDI, R.; CHARLO, H. C. O.; CAMARGO, M. Seleção de portas enxertos resistentes ao Cancro-da-haste e seus efeitos na produtividade de melão 'Bônus 2'. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 262-267, 2009.

KEINATH, A. P. From native plants in Central Europe to cultivated crops worldwide: the emergence of *Didymella bryoniae* as a cucurbit pathogen. **HortScience**, Alexandria, v. 46, n. 4, p. 532-535, 2011.

KEINATH, A. P. Baseline sensitivity of *Didymella bryoniae* to cyprodinil and fludioxonil and field efficacy of these fungicides against isolates resistant to pyraclostrobin and boscalid. **Plant Disease**, St. Paul, v. 99, n. 6, p. 815-822, 2015.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A.; REZENDE, J. A. M. Doenças das cucurbitáceas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 293-310.

LUAN, F.; SHENG, Y.; WANG, Y.; STAUB, J. E. Performance of melon hybrids derived from parents of diverse geographic Origins. **Euphytica**, Wageningen, 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**, Wageningen, v. 175, n. 3, p. 10-16, 2012.

MIRANDA FILHO, J. B.; GORGULHO, E. P. Cruzamentos com testadores e dialelos. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento**: plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 650-671.

MIRANDA FILHO, J. B.; GERALDI, I. O. An adapted model for the analysis of partial diallel crosses. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 4, p. 677-88, 1984.

NAUDIN, C. Essais d'une monographie des especes et des varietes du genre Cucumis. **Annual Science Natural Botanical**, [S.l.], v. 4, p. 5-87, 1859.

NASS, L. L.; NISHIRAWA, M. A. N.; FÁVARO, A. P.; LOPES, M. A. Pré-melhoramento de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 683-716.

PÁDUA, T. R. P. de; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; CARVALHO FILHO, J. L. S. de; GONÇALVES NETO, A. C.; ANDRADE, M. C. Capacidade combinatória de híbridos de tomateiro de crescimento determinado, resistentes a Begomovirus e Tospovirus. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 8, p. 818-825, 2010.

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. p. 85-116.

PITRAT, M. Melon. In: PROHENS, J.; NUEZ, F. **Handbook of plant breeding**. New York: Springer, 2008. p. 283-315.

SANTOS, G. R.; CASTRO NETO, M. D.; RAMOS, L. N.; CAFÉ-FILHO, A. C.; REIS, A.; MOMENTÉ, V. G.; PELÚZIO, J. M.; IGNÁCIO, M. Reaction of melon genotypes to the gummy stem blight and the downy mildew. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 160-165, 2009a.

SANTOS, G. R.; FERREIRA, M. A. S. V.; PESSOA FILHO, M. A. C. P.; FERREIRA, M. E.; CAFÉ-FILHO, A. C. Host specificity and genetic diversity of *Didymella bryoniae* from Cucurbitaceae in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Saint Paul, v. 157, n. 5, p. 265-273, 2009b.

SANTOS, G. R.; LEÃO, E. U.; GARCIA, M. M. V.; MALUF, W. R.; CARDON, C. H.; GONÇALVES, C. G.; NASCIMENTO, I. R. Reação de genótipos experimentais de melancia ao crestamento gomoso do caule. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 31, n. 4, p. 540-548, 2013.

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**, Boston, v. 107, n. 32, p. 14269-14273, 2010.

SILVA, E. S.; PALANGANA, F. C.; GOTO, R.; FURTADO, E. L.; FERNANDES, D. M. Net melon resistance to *Didymella bryoniae* according to grafting and potassium levels. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 2, p. 139-143, 2012.

SITTERLY, W. R.; KEINATH, A. P. **Gummy stem blight**. [S.l.: s.n.], 2000. Disponível em: <<http://www.apsnet.org/online/feature/pumpkin/gummy.html>>. Acessado em: 5 fev. 2016.

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, DF, v. 27, n. 6, p. 574-580, 2002.

SIVIERO, A.; MENTEN, J. O. M. Uso do método do palito para inoculação de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* em soja. **Summa Pytopathologica**, Jaguariúna, v. 21, n. 1, p. 259-260, 1995.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, Madison, v. 34, n. 10, p. 923-932, 1942.

SVEDELIUS, G. Effects of environmental factors and leaf age on growth and infectivity of *Didymella bryoniae*. **Mycological Research**, London, v. 97, n. 7, p. 885-889, 1990.

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

TRIONFETTI-NISINI, P.; BUZI, A.; GRANATI, E.; CHILOSI, G.; CRINO, P.; MAGRO, P. Screening for resistance to *Didymella bryoniae* in rootstocks of melon. **OEPP Bulletin**, Paris, v. 30, n. 2, p. 231-234, 2000

TSUTSUMI, C. Y. **Triagem de populações de melão (*Cucumis melo* L.) para resistência à *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm**. 1995. 79 f. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1995.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VERZIGNASSI, J. R.; VIDA, J. B.; GASPAROTTO, F.; CORTEZ, G. L. S.; LORENZETTI, E. R.; FARIA, G. S. F.; TESSMANN, D. J.; SEVERINO, J. J. Método do palito para inoculação de *Didymella bryoniae* em melão-nobre e pepino-“japonês”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 154, 2004. Suplemento.

WHITAKER, T. W.; DAVIS, G. N. **Cucurbits**: botany, cultivation, and utilization. London: [s.n.], 1962. 249 p.

WOLUKAU, J. N.; ZHOU, X.; CHEN, J. Identification of amplified fragment length polymorphism markers linked to gummy stem blight (*Didymella bryoniae*) resistance in melon (*Cucumis melo* L.) PI 420145. **HortScience**, Alexandria, v. 44, n. 1, p. 32-34, 2009.

WOLUKAU, J. N.; ZHOU, X.; LI, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, J. Resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm and inheritance of resistance from plant introductions 157076, 420145, and 323498. **HortScience**, Alexandria, v. 42, n. 2, p. 215-221, 2007.

ZHANG, Y.; KYLE, M.; ANAGNOSTOU, K.; ZITTER, T. A. Screening melon (*Cucumis melo*) for resistance to gummy stem blight in the greenhouse and field. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 1, p. 117-121, 1997.

ZITTER, A. T. Cucurbit disease update. [In: ZITTER, T. A. **Seminario de actualización técnica**: nuevas opciones para el control de enfermedades en Cucurbitáceas, Tomate y Morrón], 2004. Disponible em: <[http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/lb/ad/2004/ad\\_352.pdf](http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/lb/ad/2004/ad_352.pdf)>. Acceso em: 05 fev. 2016.

ZUNIGA, T. L.; JANTZ, J. P.; ZITTER, T. A.; JAHN, M. K. Monogenic dominant resistance to gummy stem blight in two melon (*Cucumis melo*) accessions. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, n. 12, p. 1105-1107, 1999.

## CAPÍTULO 2 - REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MELOEIRO À *Didymella bryoniae*

**RESUMO** - O ambiente existente em casa de vegetação, após o cultivo do meloeiro, tem contribuído para o aumento na incidência de doenças fúngicas, principalmente o cancro-da-haste, causado por *Didymella bryoniae*. Essa doença é considerada, atualmente, a principal doença para a cultura, provocando o tombamento das plântulas e formação de cancrios no caule, nas hastes e nos frutos; reduzindo a produtividade e a qualidade dos frutos. Considerando a importância desta doença, o objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*. No estudo foram utilizados 68 genótipos, sendo 29 acessos provenientes da EMBRAPA Hortaliças, 19 acessos do Banco de Germoplasma da EMBRAPA Clima Tropical e 12 da Coleção de Germoplasma da Universidade Federal Rural do Semiárido-UFERSA, além dos acessos PI 140471, PI 157082, PI 482398 e PI 420145, cedidos pelo North Central Regional Plant Introduction Station (USDA), que contêm genes de resistência a *D. bryoniae*. Ainda foram utilizadas as linhagens JAB-11, JAB-20 e os híbridos comerciais Fantasy F<sub>1</sub> e Louis F<sub>1</sub>. Foram realizados dois ensaios de fenotipagem quanto a resistência à doença e, posteriormente, foi realizado um novo ensaio para validação da resistência dos acessos selecionados nas etapas anteriores. A inoculação nas plantas foi realizada dois dias após o transplante das mudas para vasos, por meio do método do palito e a avaliação da resistência foi realizada por escala de notas. Foram utilizadas classes de reação e o teste de agrupamentos de médias, para discriminar o nível de resistência dos genótipos. As linhagens JAB-11 e JAB-20 mostraram-se suscetíveis ao patógeno, assim como, os híbridos comerciais Louis F<sub>1</sub> e Fantasy F<sub>1</sub>. Dos quatro PI's relatados como resistentes, o PI 157082 mostrou-se medianamente resistente nos três ensaios. Já o PI 140471, que foi altamente resistente nos ensaios I e II, foi medianamente resistente no Ensaio III, ambos conforme a classe de reação. O comportamento observado em PI 157082 e PI 140471 pode ser indicativo da variabilidade genética e das condições ambientais afetando os isolados empregados. Os acessos AC-29, C160, Charentais Fom 1, PI 420145, PI 482398 e PI 532830 são resistentes a *D. bryoniae*, constituindo-se como importantes fontes de genes visando o desenvolvimento de cultivares resistentes.

**Palavras-chave:** Acessos, *Cucumis melo*, fenotipagem, cancro-da-haste.

## CHAPTER 2 - REACTION OF MELON GENOTYPES TO *Didymella bryoniae*

**ABSTRACT** - The environment existing in greenhouses, for melon crops, has contributed to the increase of the occurrence of fungal diseases, mainly the gummy stem blight caused by *Didymella bryoniae*. This is considered the main disease of the melon crop in current days, that causes dumping off in seedlings and formation of protuberances in stems and fruits, leading to a decrease in productivity and fruit quality. Then, considering the importance of that disease, the purpose of this study was to evaluate the reaction of melon genotypes to *D. bryoniae*. The basic sample comprised 66 genotypes, from which 29 originated from EMBRAPA - Hortaliças, 19 from the Germplasm Bank of EMBRAPA – Clima Tropical, 12 from the Germplasm Collection of UFERSA (Universidade Federal Rural do Semiárido) plus 4 accessions (PI 140471, PI 157082, PI 482398 and PI 420145) provided by the North Central Regional Plant Introduction Station (USDA); all the above mentioned genotypes carry genes for resistance to *D. bryoniae*. The local lines JAB-11, JAB-20 and the commercial hybrids (F<sub>1</sub>) Fantasy and Louis were also used. Two phenotyping procedures were used for the first measurement of disease resistance and, then, a new test was applied to validate the resistance of accesses previously selected. Two days after transplanting seedlings to pots, the inoculation process was applied by using the toothpick method and the evaluation of resistance was based on a scale of disease severity. The reaction classes and the observed means and test for grouped means were used to discriminate the genotypes of the respective classes. Lines JAB-11 and JAB-20 and the hybrids Fantasy and Louis were classified as susceptible to the pathogen. From the four PI accesses reported as resistant, PI 157082 was moderately resistant in the three tests; PI 140471 that was highly resistant in tests I and II, was moderately resistant in test III. Some genetic variability and environment conditions affecting the reaction of these isolates should be considered. The access AC-29, C160, Charentais Form 1, PI 420145, PI 482398, and PI 522830 are resistant to *D. bryoniae* and can be considered as important sources of genes for the development of resistant cultivars.

**Keywords:** Access, *Cucumis melo*, screening, gummy stem blight.

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do meloeiro (*Cucumis melo* L.), vem ganhando destaque em relação às olerícolas produzidas no Brasil, principalmente em virtude das exportações. Os principais destinos do melão brasileiro são os Países Baixos, a Espanha, o Reino Unido e a Itália (AGRIANUAL, 2016). Em 2014, o país teve aumento nas exportações, em relação a 2013, de 3,0%, sendo exportado 34% do total produzido (AGRIANUAL, 2016).

O estado de São Paulo se destaca pelo elevado consumo de melão. Do total comercializado no Brasil em 2014, mais de 22% foram comercializados na CEAGESP-SP (AGRIANUAL, 2016). No entanto, a produção dessa olerícola no estado ainda é incipiente frente à demanda, necessitando de maiores investimentos na cultura.

Os produtores no estado de São Paulo têm dado preferência ao cultivo do melão em casa de vegetação, com predominância de cultivo dos melões nobres, como o melão rendilhado. O estado tem mostrado mercado promissor para esse tipo de melão, com capacidade de consumo além do que é produzido.

A expansão do cultivo de meloeiro na região sudeste, tem contribuído para o aumento na incidência de doenças fúngicas, como o oídio, *Podosphaera xanthii* (Schlechtet Fr.) Poll e, principalmente, o cancro-da-haste ou crestamento gomoso do caule, causado por *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. Este último é o agente causal da principal doença fúngica, tanto nos cultivos em campo aberto, quanto em ambiente protegido, na cultura do melão (TSUTSUMI; SILVA, 2004; ITO et al., 2009) e da melancia (SANTOS et al., 2013).

Gasparotto et al. (2011), relataram que o cancro-da-haste é a doença mais devastadora em meloeiros nobres (*Cucumis melo* var. *reticulatus* e *Cucumis melo* var. *cantalupensis*), em cultivo protegido no estado do Paraná, podendo causar danos de até 100%. No estado de São Paulo não é diferente, visto que a doença também tem causado perdas substanciais na cultura. Frantz e Jahn (2004) também relataram que *D. bryoniae* é um dos mais relevantes patógenos, no mundo, para a cultura do meloeiro, causando importantes perdas econômicas, sendo essas na ordem de 30% a 60%.

O cancro-da-haste é uma doença de difícil controle, onde a aplicação de produtos químicos, além de não ser muito efetiva, pode ocasionar impactos negativos ao meio ambiente e exercer pressão de seleção, que pode contribuir para a resistência

do patógeno a fungicidas. Há relatos do aparecimento de resistência do patógeno a fungicidas sistêmicos a base de benzimidazóis e tiofanatos, pirimidinas-carboxamidas, metoxi-carbamatos, que são utilizados no controle de *D. bryoniae* em várias cucurbitáceas, principalmente em melões e melancias (SANTOS et al., 2006; KEINATH, 2015).

A utilização de porta-enxertos resistentes é outra alternativa. No entanto, os custos da técnica e a falta de produtores de mudas que a adotem são entraves para sua utilização. Além do mais, havendo a possibilidade da introgressão de genes de resistência por cruzamentos em linhagens de melão, o uso de cultivares resistentes é o método mais eficaz é também, ambientalmente, sustentável e mais barato.

Embora, não existam no mercado cultivares resistentes à *D. bryoniae*, alguns trabalhos relatam a existência de fontes de resistência com potencialidade para o uso em programas de melhoramento. Frantz e Jahn (2004) observaram que os acessos PI 140471, PI 157082, PI 511890 e PI 482398 possuem resistência condicionada por um gene dominante, enquanto no acesso PI 482399 a resistência é monogênica recessiva, sendo reportados, então, cinco genes independentes, nomeados como *Gsb-1*, *Gsb-2*, *Gsb-3*, *Gsb-4*, e *gsb-5*, respectivamente.

Wolukau et al. (2007), relataram que a resistência ao cancro-da-haste no acesso PI 420145 também é conferida por um único gene dominante, sendo este nomeado *Gsb-6* (BI et al., 2015), cujo nível de resistência é igual ou mesmo superior aos dos cinco acessos acima relatados.

Dessa forma, avaliar o comportamento desses Plant Introduction (PI's) com isolados de *D. bryoniae* provenientes do estado de São Paulo, como também, avaliar a reação de acessos oriundos das principais coleções de Germoplasmas de Instituições públicas, torna-se fundamental para uso nos programas de melhoramento do meloeiro.

Diante disso, objetivou-se com esse trabalho avaliar a reação de genótipos de meloeiro ao fungo *D. bryoniae*, causador do cancro-da-haste.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Localização dos experimentos

Foram realizados três ensaios, sendo dois deles para avaliar a reação dos genótipos e outro para validação da resistência à *D. bryoniae*. Esses foram conduzidos no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitossanidade, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP-FCAV) – Câmpus de Jaboticabal, cujas coordenadas geográficas são: latitude 21°15'22" S, longitude 48°18'58" W e altitude de 595 metros.

### 2.2 Reação de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae* – Ensaios I e II

Para o estudo da reação à *D. bryoniae* foram utilizados 66 genótipos, sendo 29 acessos provenientes da EMBRAPA Hortalças, 19 acessos do Banco de Germoplasma da EMBRAPA Clima Tropical e 12 da Coleção de Germoplasma da Universidade Federal Rural do Semiárido-UFERSA, além dos acessos PI 140471, PI 157082, PI 482398 e PI 420145, obtidos junto ao North Central Regional Plant Introduction Station (USDA), que contém genes de resistência à *D. bryoniae* (Tabela 1). Ainda foram utilizadas as linhagens JAB-11 e JAB-20 (Tabela 1), desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético do meloeiro da UNESP-FCAV, as quais apresentam boa capacidade geral de combinação (CGC), principalmente para as características massa do fruto (kg/fruto) e produção de frutos (kg/m<sup>2</sup>), e que, quando combinadas, resultaram em um híbrido F<sub>1</sub> de alta produtividade (VARGAS et al., 2010).

A reação dos genótipos à *D. bryoniae* foi avaliada por meio da realização de dois ensaios para otimização do espaço disponível, principalmente, na câmara úmida, tendo em vista o grande número de genótipos utilizados. No Ensaio I, foram utilizados 40 genótipos e no Ensaio II 33, sendo JAB-11, JAB-20, Flexuosos "M-2791", PI 140471, PI 157082, PI 482398 e PI 420145, utilizados em ambos. As sementes dos genótipos foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido contendo 128 células, utilizando substrato comercial Bioplant®. Em seguida, foram acondicionados em casa de vegetação para produção de mudas. As mudas foram transplantadas para os vasos quando apresentaram duas folhas totalmente desenvolvidas.

**Tabela 1.** Origem e classificação taxonômica de acessos de meloeiro (*Cucumis melo* L), avaliados quanto à resistência à *Didymella bryoniae*. UNESP-FCAV, Jaboticabal - SP, 2016.

Acessos	Grupo botânico <b>Embrapa Hortaliças</b>	Origem	Acessos	Grupo botânico <b>Embrapa Clima Tropical</b>	Origem	Acessos	Grupo botânico <b>UFERSA</b>	Origem
Anô#2	-	Japão	C67	Indet. landrace	Brasil	AC-01	<i>C. melo</i> var. <i>momordica</i>	Brasil
Catucho	-	Brasil	C68	Indet. landrace	Brasil	AC-07	Indet. landrace	Brasil
Charentais Fom 1	-	França	C70	Indet. landrace	Brasil	AC-11	<i>C. melo</i> var. <i>conomom</i>	Brasil
Cinco	-	EUA	C71	Indet. landrace	Brasil	AC-12	<i>C. melo</i> var. <i>conomom</i>	Brasil
Flexuosos "M-2791"	<i>C. melo</i> var. <i>flexuosus</i>	Israel	C72	Indet. landrace	Brasil	AC-17	Indet. landrace	Brasil
Irene	-	Brasil	C88	Indet. landrace	Brasil	AC-23	<i>C. melo</i> var. <i>momordica</i>	Brasil
Kallósemjém	-	Hungria	C160	Indet. landrace	Brasil	AC-24	Indet. landrace	Brasil
Melão Eldorado 300	-	Brasil	C163	Indet. landrace	Brasil	AC-25	Indet. landrace	Brasil
Melão Gaúcho	-	Brasil	C189	Indet. landrace	Brasil	AC-28	<i>C. melo</i> var. <i>momordica</i>	Brasil
Melão verdadeiro	-	Brasil	C190	Indet. landrace	Brasil	AC-29	<i>C. melo</i> var. <i>momordica</i>	Brasil
Mi Tang Ting	-	Japão	C194	Indet. landrace	Brasil	AC-30	Indet. landrace	Brasil
Perlita	-	ONI	C246	Indet. landrace	Brasil	AC-32	Indet. landrace	Brasil
PI 124111	<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>	Índia	C265	Indet. landrace	Brasil			
PI 124112	<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>	Índia	C272	Indet. landrace	Brasil			
PI 140472	<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>	EUA	C327	Indet. landrace	Brasil			
PI 164320	-	EUA	C329	Indet. landrace	Brasil			
PI 313970	<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>	Índia	C359	Indet. landrace	Brasil			
PI 414723	<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>	Índia	C384	Indet. landrace	Brasil			
PI 420149	<i>C. melo</i> var. <i>conomon</i>	EUA						
PI 420150	<i>C. melo</i> var. <i>conomon</i>	China						
PI 532283	<i>C. melo</i> var. <i>conomon</i>	China						
PI 140471	<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>	EUA						
PI 157082	<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>	China						
PI 420145	<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>	Japão						
PI 482398	<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>	Zimbabwe						
PMR-45	-	EUA						
Solarking	Tipo gália	ONI						
TM-001	-	Japão						

ONI: Origem não identificada.

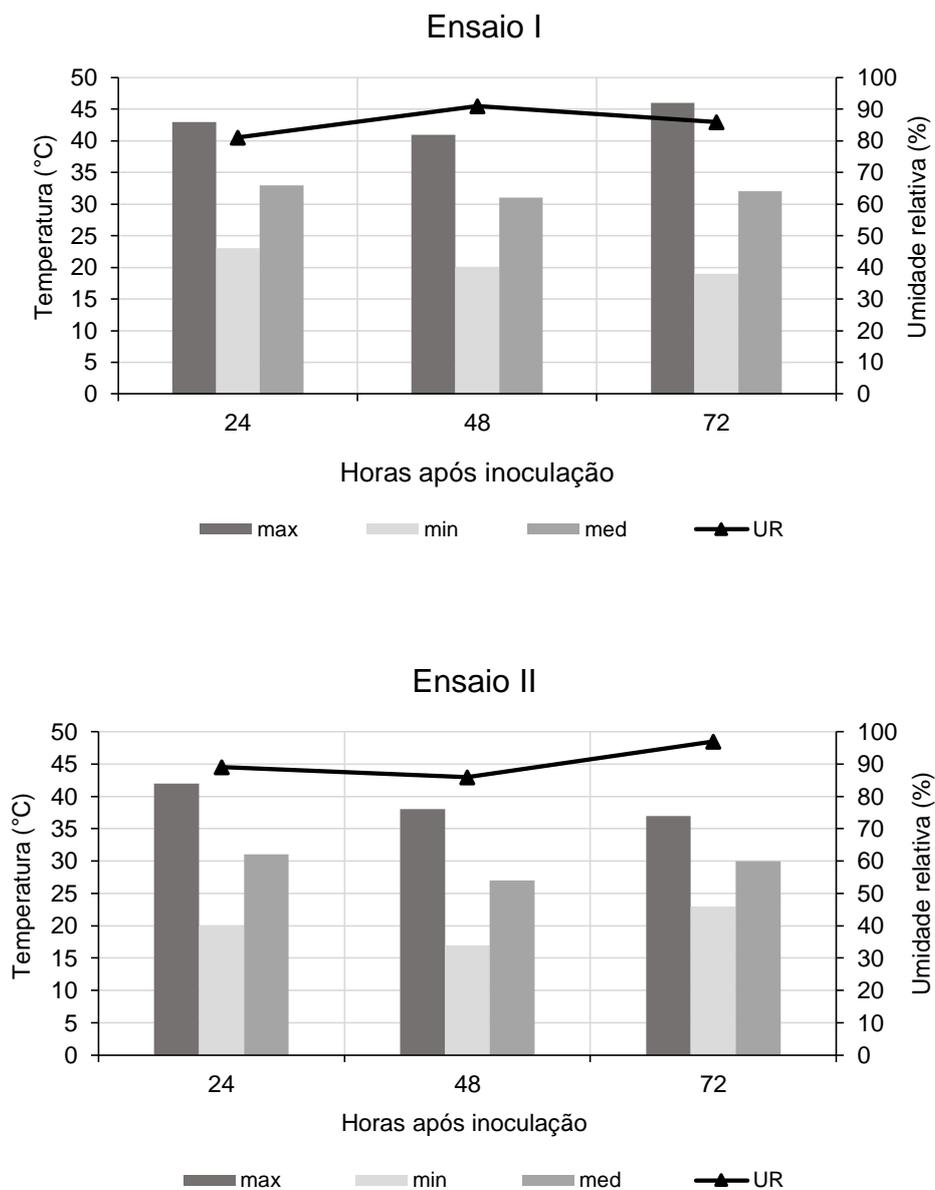
Os ensaios foram realizados em casa de vegetação no período de agosto/2013 a janeiro/2014. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo cada parcela representada por dois vasos com quatro plantas, e em um desses as plantas foram inoculadas com isolado de *D. bryoniae* e o outro vaso utilizado como testemunha, onde foram colocados nas plantas apenas os discos do meio de cultura (BDA).

Foram utilizados vasos de cerâmica, com capacidade para cinco litros, com espaçamento de 1,0 m entre fileiras e 0,5 m entre os vasos, preenchidos com a mistura de terra argilosa, areia e esterco curtido, na proporção 3:1:1. A mistura foi peneirada e autoclavada, previamente, a 120°C e 1 atm, durante 45 minutos.

O patógeno em sua fase anamorfa (*Phoma cucurbitacearum*) foi isolado de plantas de melão cultivadas em casa de vegetação, no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais, pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP-FCAV), Câmpus de Jaboticabal-SP. O isolamento do patógeno foi realizado por meio da técnica direta, retirando-se picnídios formados nas lesões das plantas com sintomas típicos do cancro-da-haste. Após a obtenção da cultura pura do fungo, foi realizada a repicagem para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), de onde após 20 dias foram retirados fragmentos de meio, com 5 mm de diâmetro, contendo micélio do fungo, que foram utilizados para inoculação.

A inoculação nas plantas foi realizada dois dias após o transplântio das mudas para os vasos, por meio do método do palito. A inoculação consistiu da inserção direta de palitos, previamente, autoclavados com o disco de meio contendo culturas do fungo no caule da planta, próximo às folhas cotiledonares (SIVIERO; MENTEN, 1995; VERZIGNASSI et al., 2004). Após a inoculação, as plântulas permaneceram em câmara úmida por 72 horas no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e, em seguida, foram dispostos na casa de vegetação no mesmo Setor, no delineamento citado anteriormente.

As médias de temperatura e umidade relativa na câmara úmida, durante o período de condução dos Ensaios I e II, podem ser visualizadas na Figura 1.



**Figura 1.** Médias da temperatura e umidade relativa do ar, às 24, 48 e 72 horas após a inoculação de *Didymella bryoniae* em plântulas de meloeiro, em câmara úmida. UNESP-FCAV, Jaboticabal-SP, 2016.

As plantas foram fertirrigadas com solução nutritiva, recomendada para a cultura por Castellane e Araújo (1994), fornecida via gotejamento em oito programações diárias de cinco minutos de duração cada, nas quais em cada 1.000 litros de água continham 805 g de nitrato de cálcio, 277 g de nitrato de potássio, 238 g cloreto de potássio, 155 g de MAP, 240 g de sulfato de magnésio, 36,6 g de Tenso-iron (Fe), 2,54 g de sulfato de manganês, 1,90 g de bórax, 1,15 g de sulfato de zinco, 0,12 g de sulfato de cobre, 0,12 g de molibdato de sódio.

A avaliação de severidade foi realizada sete dias após a inoculação, com escala de notas, adaptadas de Dusi et al. (1994), variando de 0 a 4 (0 = ausência de sintomas visíveis; 1 = lesão encharcada na haste da planta até 1 cm de diâmetro; 2 = lesão encharcada na haste da planta com mais de 1 cm de diâmetro; 3 = lesão parcialmente necrosada na haste com murcha parcial da planta e 4 = necrose da haste com murcha total e morte da planta).

Conforme, a nota de cada planta, individualmente, em cada vaso e nas quatro repetições foi obtida a média de cada genótipo. Esse valor foi utilizado para discriminar os genótipos em quatro classes de reação: 0,1-1,0= altamente resistente (AR); 1,1-2,0= medianamente resistente (MR); 2,1-3,0= suscetível (SU); 3,1-4,0= altamente suscetível (AS), adaptada de Noronha et al. (2006).

### **2.3 Validação da resistência de acessos de meloeiro à *D. bryoniae* – Ensaio III**

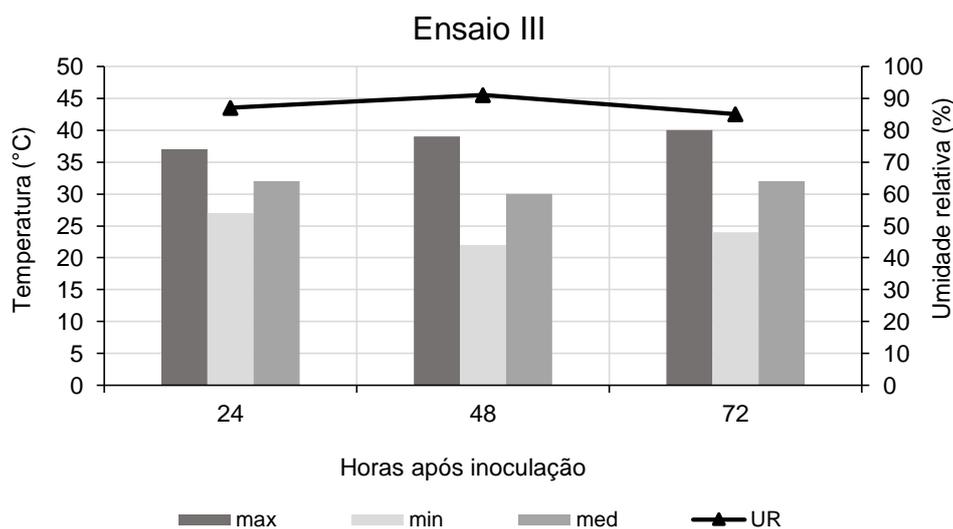
O terceiro ensaio (Ensaio III), foi realizado de janeiro a março/2014, para confirmar a resistência dos acessos que apresentaram as menores notas de sintomas da doença nos ensaios anteriores. Para isso, utilizou-se a metodologia de avaliação de resistência em bandejas, proposta por Santos et al. (2013).

Foram avaliados 14 genótipos: PI 420150, PI 532283, Charentais Fom 1, C160 e AC-29; novamente, os quatro PI's (PI 482398, PI 140471, PI 420145 e PI 157082); as linhagens JAB-11 e JAB-20 e os híbridos comerciais Louis F<sub>1</sub> e Fantasy F<sub>1</sub>; e o acesso Flexuosos "M-2791", acrescido como testemunha suscetível.

Foram semeadas duas sementes de cada genótipo por alvéolo, nas bandejas de 128 células. Posteriormente, realizou-se o desbaste, deixando-se apenas uma plântula em cada célula. Foi utilizada a mistura de terra de subsolo, esterco curtido e substrato comercial Bioplant<sup>®</sup>, na proporção 1:2:1, para o preenchimento das bandejas. Este, anteriormente, também foi peneirado e esterilizado em autoclave a 120°C e 1 atm, durante 45 minutos.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com três repetições e 14 tratamentos, sendo estes os genótipos citados anteriormente. Cada parcela composta por oito plântulas em uma linha de oito células da bandeja. Para evitar o microclima, o adensamento das plântulas e facilitar a inoculação das plântulas, as parcelas foram intercaladas entre si por uma fileira de células vazias da bandeja.

A inoculação nas plantas foi realizada com o mesmo isolado, anteriormente empregado nos Ensaios I e II, também pelo método do palito (SIVIERO; MENTEN, 1995; VERZIGNASSI et al., 2004), quando as plantas apresentavam a segunda folha definitiva totalmente expandida. Em seguida, as bandejas foram acondicionadas em câmara úmida e, deixadas por 72 horas. Posteriormente transferidas para a casa de vegetação para produção de mudas. As médias de temperatura e umidade relativa, na câmara úmida, durante o período de condução do Ensaio III, podem ser visualizadas na Figura 2.



**Figura 2.** Médias da temperatura e umidade relativa do ar, às 24, 48 e 72 horas após a inoculação de *Didymella bryoniae* em plântulas de meloeiro, em câmara úmida. UNESP-FCAV, Jaboticabal-SP, 2016.

A avaliação foi feita sete dias após a inoculação, por meio de escala de notas, conforme descrito por Dusi et al. (1994) e adotada nos ensaios anteriores. Posteriormente, obteve-se a média dos dados, a partir das notas de sintomas, seguida da discriminação dos genótipos, segundo as classes de reação, adaptadas de Noronha et al. (2006).

#### 2.4 Análises estatísticas

Para atender às pressuposições básicas da análise de variância (independência dos erros, homogeneidade de variâncias e distribuição normal), os valores médios da escala de notas foram transformados em raiz ( $x+1$ ) e submetidos à análise de

variância. Após esse procedimento as médias de cada genótipo foram comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o software estatístico AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agronômicos, versão 1.1.0.712, rev 77 (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2015).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Reação de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*

Conforme, os resultados da análise de variância para a média das notas dos sintomas à *D. bryoniae*, houve diferença, estatística, entre os genótipos nos Ensaio I e II. Verificou-se ainda, que nesses ensaios, a média geral das notas de severidade dos sintomas, assim como os coeficientes de variação CV (%), tiveram valores muito próximos em ambos os ensaios conduzidos, ainda que separados, para os dados não-transformados e transformados (Tabelas 2 e 3).

O isolado de *D. bryoniae* utilizado mostrou-se patogênico às plântulas de meloeiro, cujos sintomas mostraram-se presentes já nas primeiras 24 horas após a inoculação. Após 72 horas da inoculação foi possível visualizar sintomas típicos do cancro-da-haste, com ampla variação na severidade, no que se refere ao tamanho das lesões, aspecto encharcado e exsudação de goma no caule, murcha, até o tombamento de plantas.

As testemunhas não apresentaram sintomas da doença, tampouco outras eventuais alterações, mostrando que, tanto o meio quanto o palito não influenciaram no comportamento das plantas em relação a suscetibilidade ao patógeno.

Conforme, as classes de reação, dos 40 genótipos avaliados no Ensaio I (Tabela 2), um foi altamente suscetível, 13 foram suscetíveis, 16 foram medianamente resistentes e 10 foram altamente resistentes. Já no Ensaio II (Tabela 3), dois foram altamente suscetíveis, 10 suscetíveis, nove medianamente resistentes e 12 altamente resistentes, dos 33 avaliados.

Com o teste de agrupamento de Scott-Knott foi possível classificar as médias dos genótipos em três grupos, sendo 22 suscetíveis, 13 medianamente resistentes e cinco genótipos altamente resistentes, no Ensaio I. Para o Ensaio II foram formados quatro grupos, sendo cinco altamente suscetíveis, 11 suscetíveis, 13 medianamente resistentes e quatro altamente resistentes.

**Tabela 2.** Severidade de cancro-da-haste em genótipos de meloeiro, inoculados com *Didymella bryoniae*. Ensaio I, UNESP-FCAV, Jaboticabal - SP, 2016.

Genótipos	Nota média <sup>1</sup>	Reação <sup>2</sup>	Nota transformada <sup>3</sup>
Flexuosus "M-2791"	3,31	AS	2,08 a <sup>4</sup>
AC-11	2,81	SU	1,95 a
C246	2,62	SU	1,89 a
PI 414723	2,56	SU	1,87 a
C68	2,50	SU	1,85 a
C67	2,50	SU	1,86 a
JAB-11	2,88	SU	1,83 a
C4	2,31	SU	1,81 a
JAB-20	2,29	SU	1,81 a
PI 180280	2,25	SU	1,79 a
Solarking	2,25	SU	1,80 a
C70	2,18	SU	1,78 a
PI 420149	2,06	SU	1,74 a
AC-30	2,06	SU	1,74 a
C88	2,00	MR	1,73 a
C329	1,81	MR	1,66 a
AC-24	1,81	MR	1,67 a
PI 157082	1,75	MR	1,62 a
C384	1,69	MR	1,64 a
C163	1,62	MR	1,61 a
C265	1,56	MR	1,60 a
C190	1,44	MR	1,55 a
AC-17	1,34	MR	1,48 b
C194	1,31	MR	1,52 b
AC-23	1,31	MR	1,51 b
C71	1,25	MR	1,50 b
PI 482398	1,18	MR	1,48 b
C189	1,12	MR	1,45 b
PI 124111	1,06	MR	1,43 b
C327	1,06	MR	1,42 b
Kallósemjém	0,94	AR	1,39 b
AC-32	0,88	AR	1,35 b
C359	0,81	AR	1,32 b
AC-28	0,75	AR	1,30 b
AC-24	0,62	AR	1,26 b
PI 140471	0,19	AR	1,08 c
AC-29	0,19	AR	1,08 c
PI 420145	0,00	AR	1,00 c
PI 532830	0,00	AR	1,00 c
PI 420150	0,00	AR	1,00 c
CV (%)	43,26		12,85
Média Geral	1,45		1,53
Teste F	6,32**		7,29**

<sup>1</sup> Média de notas atribuídas– Nota: 0 – ausência de sintomas visíveis; 1 – lesão encharcada na haste da planta até 1cm de diâmetro; 2 – lesão encharcada na haste da planta com mais de 1cm de diâmetro; 3 – lesão parcialmente necrosada na haste com murcha parcial da planta e 4 – necrose da haste com murcha total e morte da planta;

<sup>2</sup> Classes de reação: 0,0-1,0= altamente resistente (AR); 1,1-2,0= medianamente resistente (MR); 2,1-3,0= suscetível (SU); 3,1-4,0= altamente suscetível (AS), adaptada de Noronha et al. (2006).

<sup>3</sup> Médias transformadas em raiz quadrada de (x + 1);

<sup>4</sup> Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F de Snedecor.

**Tabela 3.** Severidade de cancro-da-haste em genótipos de meloeiro, inoculados com *Didymella bryoniae*. Ensaio II, UNESP-FCAV, Jaboticabal - SP, 2016.

Genótipos	Nota média <sup>1</sup>	Reação <sup>2</sup>	Nota transformada <sup>3</sup>
Flexuosus “M-2791”	3,67	AS	2,16 a <sup>4</sup>
Melão verdadeiro	3,06	AS	2,01 a
PI 224786	2,92	SU	1,97 a
JAB-20	2,39	SU	1,96 a
Anô n.º 2	2,75	SU	1,92 a
Melão Eldorado 300	2,50	SU	1,85 b
PI 124112	2,50	SU	1,85 b
Cinco	2,37	SU	1,83 b
PMR-45	2,31	SU	1,81 b
Perlita	2,25	SU	1,80 b
TM-001	2,15	SU	1,77 b
JAB-11	2,15	SU	1,77 b
AC-01	1,81	MR	1,67 b
PI 179680	1,69	MR	1,64 b
PI 313970	1,62	MR	1,61 b
PI 157082	1,56	MR	1,60 b
Melão Gaúcho	1,44	MR	1,55 c
PI 179923	1,44	MR	1,55 c
C272	1,44	MR	1,53 c
PI 164320	1,31	MR	1,51 c
C72	1,31	MR	1,52 c
Mi-Tang-Ting	0,94	AR	1,38 c
PI 140472	0,94	AR	1,36 c
AC-12	0,87	AR	1,35 c
PI 140471	0,81	AR	1,33 c
Irene	0,81	AR	1,33 c
PI 224769	0,75	AR	1,31 c
AC-07	0,75	AR	1,30 c
Catucho	0,62	AR	1,26 c
PI 482398	0,50	AR	1,22 d
Charentais Fom 1	0,06	AR	1,03 d
C160	0,06	AR	1,03 d
PI 420145	0,00	AR	1,00 d
CV (%)	40,18		12,71
Média Geral	1,58		1,56
Teste F	9,38**		9,74**

<sup>1</sup> Média de notas atribuídas– Nota: 0 – ausência de sintomas visíveis; 1 – lesão encharcada na haste da planta até 1cm de diâmetro; 2 – lesão encharcada na haste da planta com mais de 1cm de diâmetro; 3 – lesão parcialmente necrosada na haste com murcha parcial da planta e 4 – necrose da haste com murcha total e morte da planta;

<sup>2</sup> Classes de reação: 0,0-1,0= altamente resistente (AR); 1,1-2,0= medianamente resistente (MR); 2,1-3,0= suscetível (SU); 3,1-4,0= altamente suscetível (AS), adaptada de Noronha et al. (2006).

<sup>3</sup> Médias transformadas em raiz quadrada de (x + 1);

<sup>4</sup> Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F de Snedecor.

O acesso Flexuosus “M-2791” foi altamente suscetível à *D. bryoniae*, independentemente, dos ensaios avaliados (Tabelas 2 e 3). As linhagens JAB-

11 e JAB-20, mostraram-se suscetíveis à *D. bryoniae* pela classe de reação nos dois ensaios (Tabelas 2 e 3).

A cultivar Eldorado 300 foi suscetível à *D. bryoniae*, pela classe de reação (Tabela 3). Quando avaliada com o teste de agrupamento de Scott-Knott, foi, altamente, suscetível, não diferindo, estatisticamente, de Flexuosus “M-2791”, Melão verdadeiro, PI 224786 e JAB-20. Tsutsumi e Silva (2004) avaliaram a cultivar Eldorado 300, em túnel plástico e casa de vegetação e a sugeriram como testemunha suscetível, este fato também foi observado neste trabalho.

A cultivar Mi-Tang-Ting foi altamente resistente à *D. bryoniae*, pelas classes de reação, apesar de, pelo teste de agrupamento de Scott-Knott ser agrupada como medianamente resistente (Tabela 3). Takada (1982), relata que esse acesso em cruzamento com acessos suscetíveis apresenta resistência intermediária, condicionada por dois ou três genes. A cultivar Anô n.º 2, que é derivada de Mi-Tang-Ting, foi suscetível, tanto pelas classes de reação, como pelo teste de Scott-Knott (Tabela 3).

Dentre os PI's 140471, 157082, 420145 e 482398, tidos como resistentes em outros estudos, observou-se que o PI 157082 foi medianamente resistente nos Ensaios I e II (Tabelas 2 e 3). Houve também variação no PI 482398, sendo, medianamente resistente no Ensaio I e altamente resistente no Ensaio II. Os PI's 140471 e 420145 foram altamente resistentes nos dois ensaios.

Utilizando as classes de reação e o teste Scott-Knott, conjuntamente, para selecionar os mais resistentes, podem ser considerados resistentes no Ensaio I: PI 140471, AC-29, PI 420145, PI 532830 e PI 420150 (Tabela 2); e no Ensaio II: PI 482398, Charentais Fom 1, C160, PI 420145 (Tabela 3). Vale ressaltar que o PI 420145 apresentou as menores notas nos dois ensaios, em relação aos demais.

### **3.2 Validação da resistência de acessos de meloeiro à *D. bryoniae***

A fim de comprovar os resultados obtidos nos Ensaios I e II, foi realizado o Ensaio III para verificar a estabilidade da resistência dos genótipos que apresentaram as menores notas de sintomas ao cancro-da-haste, nos Ensaios I e II. Para tanto, foi realizada análise de variância e aplicado também o teste de

agrupamento de médias de Scott-Knott, onde foi observado diferença estatística ( $p < 0,05$ ), nas médias (Tabela 4).

Verificou-se que a média geral do ensaio foi maior em relação aos ensaios anteriores (Tabela 4), indicando maior variação e severidade nos sintomas da doença. Assim como nos Ensaios I e II, 72 horas após a inoculação foi possível distinguir que muitos dos genótipos apresentaram lesões com aspecto encharcado no caule, indicando assim, que todos os materiais avaliados foram infectados pelo isolado de *D. bryoniae*, diferindo, porém, quanto ao tamanho da lesão (Tabela 4). As plantas inoculadas apenas com o meio em palito estéril não apresentaram sintomas da doença e nem foram afetadas pelo fermento.

**Tabela 4.** Comportamento de genótipos de meloeiro, inoculados com *Didymella bryoniae*, em termos de severidade de doença, expresso quanto ao nível de resistência. Ensaio III, UNESP-FCAV, Jaboticabal - SP, 2016.

Genótipos	Nota média <sup>1</sup>	Reação <sup>2</sup>	Nota transformada <sup>3</sup>
Flexuosus "M-2791"	3,29	AS	2,07 a <sup>4</sup>
Louis F <sub>1</sub>	2,79	SU	1,94 a
Fantasy F <sub>1</sub>	2,79	SU	1,94 a
JAB-11	2,55	SU	1,88 a
PI 420150	2,39	SU	1,84 a
JAB-20	2,39	SU	1,84 a
PI 157082	1,92	MR	1,68 a
PI 140471	1,71	MR	1,64 a
AC-29	0,63	AR	1,43 b
PI 5322830	0,92	AR	1,38 b
C160	0,71	AR	1,31 b
Charentais Fom 1	0,67	AR	1,29 b
PI 482398	0,50	AR	1,22 b
PI 420145	0,36	AR	1,16 b
CV (%)	59,06		18,79
Média Geral	1,72		1,60
Teste F	3,06**		3,17**

<sup>1</sup> Média de notas atribuídas– Nota: 0 – ausência de sintomas visíveis; 1 – lesão encharcada na haste da planta até 1 cm de diâmetro; 2 – lesão encharcada na haste da planta com mais de 1 cm de diâmetro; 3 – lesão parcialmente necrosada na haste com murcha parcial da planta e 4 – necrose da haste com murcha total e morte da planta;

<sup>2</sup> Classes de reação: 0,0-1,0= altamente resistente (AR); 1,1-2,0= medianamente resistente (MR); 2,1-3,0= suscetível (SU); 3,1-4,0= altamente suscetível (AS), adaptada de Noronha et al. (2006).

<sup>3</sup> Médias transformadas em raiz quadrada de  $x + 1$ ;

<sup>4</sup> Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott. \*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F de Snedecor.

De acordo com a classe de reação, como medida de análise da resistência, um genótipo foi altamente suscetível, cinco foram suscetíveis, dois foram medianamente resistentes e seis foram altamente resistentes. Pelo teste de

agrupamento de Scott-Knott, a partir das médias transformadas, foram formados apenas dois grupos, com oito suscetíveis e seis resistentes (Tabela 4). Destaca-se que os genótipos considerados altamente resistentes foram os mesmos dos discriminados pela classe de reação.

Nenhum genótipo mostrou-se imune ao patógeno, já que nesse ensaio os acessos PI 420145, PI 420150 e PI 532830 não apresentaram nota zero, porém, foi possível distinguir níveis diferenciados de resistência. Em melancia, Santos et al. (2013), assim como, Santos e Café Filho (2005), também observam que nenhum dos genótipos por eles avaliados foi imune ao patógeno e que também foi possível diferenciar níveis de resistência.

O acesso Flexuosus "M-2791", mostrou estabilidade em seu padrão de suscetibilidade. Com base nisso, este poderá ser utilizado em trabalhos de avaliação de resistência à *D. bryoniae*, como controle de suscetibilidade (testemunha suscetível), como também, para se avaliar os níveis de patogenicidade dos isolados.

As linhagens JAB-11 e JAB-20 mostraram-se suscetíveis ao patógeno (Tabela 4). As médias verificadas foram similares aquelas dos Ensaio I e II, cujo padrão de suscetibilidade mostrou-se similar em todos os ensaios. Os híbridos comerciais Louis F<sub>1</sub> e Fantasy F<sub>1</sub>, também foram suscetíveis à *D. bryoniae*, não diferindo, significativamente, entre si, pelo teste de Scott-Knott (Tabela 4).

O acesso PI 420150 com bom nível de resistência observado no Ensaio I, mostrou-se suscetível no Ensaio III. Tal acesso, pode ter sofrido maior influência das condições ambientais no Ensaio III. Dos quatro PI's avaliados, PI 157082 mostrou-se medianamente resistente. Já, PI 140471, que foi altamente resistente nos Ensaio I e II, foi medianamente resistente no Ensaio III (Tabela 4).

Santos et al. (2009a), a partir da seleção de um isolado fitopatogênico, avaliaram em condições de casa de vegetação a resistência de 86 genótipos de meloeiro à infecção por *D. bryoniae*. Esses autores, relataram que houve variação significativa nos níveis de resistência entre os genótipos avaliados. No entanto, observaram que cinco genótipos apresentaram as menores médias de comprimento de lesão (1,4 cm). Confrontando essa informação com a escala adotada no presente trabalho. Nota-se que, as plantas que apresentaram comprimento da lesão > 1,0 cm, enquadram-se entre medianamente resistentes.

Em outros trabalhos de fenotipagem, com os PI's 140471, 157082, 420145, e 482398 utilizados nesse estudo, Zang et al. (1997), avaliaram a resistência desses materiais à *D. bryoniae* e verificaram que todos foram resistentes. Wolukau et al. (2007), avaliando a resistência dos PI's 420145, 140471 e 157082, observaram que todos apresentaram comprimento de lesão  $\leq 1$  cm, sendo também considerados resistentes. No entanto, nesses estudos, os autores fizeram inoculações nas plantas utilizando suspensões de  $\approx 5 \times 10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>, método esse, que tem se mostrado pouco efetivo no surgimento de sintomas. Em virtude da pouca aplicabilidade desse método, têm-se preconizado o uso da inserção direta de palito, com disco de colônia contendo o fungo, no caule da planta e próximo às folhas cotiledonares (ITO et al., 2009; SANTOS et al., 2009a; SILVA et al., 2012).

Nesse trabalho, a identificação de novas fontes de resistência à *D. bryoniae*, como também a confirmação da resistência de alguns PI's e cultivares, vislumbra boas perspectivas quanto ao manejo dessa doença, e pode subsidiar programas de melhoramento genético dessa cultura.

Quanto à definição dos padrões de reação ao cancro-da-haste, a maioria dos trabalhos que avaliam a resistência de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*, utilizam testes de média, a partir de notas do comprimento de lesão ou a própria medida da lesão, para discriminar a reação desses genótipos. Alguns utilizam apenas a média de notas e consideram resistentes aqueles com nota média de 1 à 2, e suscetíveis aqueles com notas de 3 à 4. No entanto, não há relato de trabalhos que utilizaram uma escala de reação completa. Por isso, o presente estudo indica uma escala adaptada, que é utilizada em estudos com outros patógenos de solo, como *Myrothecium roridum* (NORONHA et al, 2006), *Rhizoctonia solani* (MICHEREFF; ANDRADE; SALLES JÚNIOR, 2008) e *Macrophomina phaseolina* (AMBRÓSIO et al., 2015).

Analisando a resistência dos genótipos pela classe de reação e pelo teste de média de Scott-Knott, observa-se que o teste de média foi rigoroso na formação de subgrupos de genótipos altamente resistentes, dentre aqueles com altos níveis de resistência. Com base nisso, o teste de média foi utilizado para selecionar os melhores dentro desse grupo para o ensaio de avaliação da estabilidade da resistência.

O fato do PI 157082 ter sido medianamente resistente nos três ensaios e PI 140471 medianamente resistente no terceiro ensaio, pode ser indicativo de diferenças na agressividade do isolado empregado ou das condições ambientais. Alguns autores relatam influência das condições ambientais e diferenças na agressividade de isolados (TSUTSUMI; SILVA, 2004; SANTOS et al., 2009b; SANTOS et al., 2013).

Os acessos AC-29, PI 532830, C160, Charentais Fom 1, PI 482398 e PI 420145 foram considerados altamente resistentes, tendo em vista que apresentaram as menores notas nos ensaios de fenotipagem e no ensaio de confirmação da resistência, evidenciando maior estabilidade da resistência em relação aos demais acessos, assim, são boas opções como fontes de resistência à *D. bryoniae* em meloeiro.

As linhagens JAB-11 e JAB-20 foram suscetíveis à *D. bryoniae*. Desta forma, há necessidade de introgridir genes de resistência visando obtenção de híbridos produtivos e resistentes, uma vez que essas possuem alta capacidade específica de combinação (VARGAS et al., 2010). Assim, os genes de resistência presentes nos acessos AC-29, PI 532830, C160, Charentais Fom 1, PI 482398 e PI 420145 podem ser utilizados no desenvolvimento de cultivares ou híbridos com genes de resistência à *D. bryoniae* a partir das linhagens JAB-11 e JAB-20 do programa de melhoramento genético do meloeiro da UNESP-FCAV.

#### 4 CONCLUSÃO

Os acessos de meloeiro AC-29, C160, Charentais Fom 1, PI 420145, PI 482398 e PI 532830 são resistentes à *Didymella bryoniae*, constituindo-se em alternativa importante como fonte de genes, visando o desenvolvimento de cultivares resistentes ao cancro-da-haste.

## REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL 2016: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio. 2016. 485 p.
- AMBRÓSIO, M. M. Q.; DANTAS, A. C. A.; MARTÍNES-PEREZ, E.; MEDEIROS, A. C.; NUNES, G. H. S.; PICÓ, M. B. Screening a variable germplasm collection of *Cucumis melo* L. for seedling resistance to *Macrophomina phaseolina*. **Euphytica**, Wageningen, v. 206, n. 2, p. 287-300, 2015.
- BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **Experimentação Agronômica & AgroEstat**: Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agronômicos. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2015. 396 p.
- BI, Y. F.; XU, B.; QIAN, C.; GUO, J.; ZHANG, Y.; YI, H.; CHEN, J. Pyramiding disease resistance genes and variety improvement by molecular marker-assisted selection in melon (*Cucumis melon* L.). **Scientia Agricultura Sinica**, Beijing, v. 48, n. 3, p. 523-533, 2015.
- CASTELLANE, P. D.; ARAÚJO, J. A. C. **Cultivo sem solo**: hidroponia. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 43 p.
- DUSI, A. N.; TASAKI, S.; VIEIRA, S. V. Metodologia para avaliação de resistência à *Didymella bryoniae* em melão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 12, p. 43-44, 1994.
- FRANTZ, J. D.; JAHN, M. M. Five independent loci each control monogenic resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 108, n. 6, p. 1033-1038, 2004.
- GASPAROTTO, F.; VIDA, J. B.; TESSMANN, D. J.; ALVES, T. C. A. Infecção latente de *Didymella bryoniae* em meloeiro nobre. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 62-64, 2011.
- ITO, L. A.; BRAZ, L. T.; CASTOLDI, R.; CHARLO, H. C. O.; CAMARGO, M. Seleção de portas enxertos resistentes ao Cancro-da-haste e seus efeitos na produtividade de melão 'Bônus 2'. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 262-267, 2009.
- KEINATH, A. P. Baseline sensitivity of *Didymella bryoniae* to cyprodinil and fludioxonil and field efficacy of these fungicides against isolates resistant to pyraclostrobin and boscalid. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 99, n. 6, p. 815-822, 2015.
- KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A.; REZENDE, J. A. M. Doenças das cucurbitáceas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 293-310.

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

NORONHA, M. A.; MICHEREFF, S. J.; XAVIER FILHA, M. S.; MOREIRA, P. A. A.; REIS, A.; SALES JUNIOR, R. Reação de genótipos de meloeiro a *Myrothecium roridum*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 24, n. 4, p. 495-498, 2006.

SANTOS, G. R.; CAFÉ-FILHO, A. C. Reação de genótipos de melancia ao crestamento gomoso do caule. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 4, p. 945-950, 2005.

SANTOS, G. R.; CASTRO NETO, M. D.; RAMOS, L. N.; CAFÉ-FILHO, A. C.; REIS, A.; MOMENTÉ, V. G.; PELÚZIO, J. M.; IGNÁCIO, M. Reaction of melon genotypes to the gummy stem blight and the downy mildew. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 160-165, 2009a.

SANTOS, G. R.; FERREIRA, M. A. S. V.; PESSOA-FILHO, M. A. C. P.; FERREIRA, M. E.; CAFÉ-FILHO, A. C. Host specificity and genetic diversity of *Didymella bryoniae* from cucurbitaceae in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Saint Paul, v. 157, n. 5, p. 265-273, 2009b.

SANTOS, G. R.; LEÃO, E. U.; GARCIA, M. M. V.; MALUF, W. R.; CARDON, C. H.; GONÇALVES, C. G.; NASCIMENTO, I. R. Reação de genótipos experimentais de melancia ao crestamento gomoso do caule. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 31, n. 4, p. 540-548, 2013.

SILVA, E. S.; PALANGANA, F. C.; GOTO, R.; FURTADO, E. L.; FERNANDES, D. M. Net melon resistance to *Didymella bryoniae* according to grafting and potassium levels. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 2, p. 139-143, 2012.

SIVIERO, A.; MENTEN, J. O. M. Uso do método do palito para inoculação de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. meridionalis em soja. **Summa Pytopathologica**, Botucatu, v. 21, n. 1, p. 257-260, 1995.

TAKADA, K. Breeding methods of disease-resistance of melon, and development of new lines with combined resistance. **Japan Agricultural Research Quarterly**, Ibaraki, v. 16, n. 2, p. 94-104, 1982.

TSUTSUMI, C. Y.; SILVA, N. da. Screening of melon populations for resistance to *Didymella bryoniae* in greenhouse and plastic tunnel conditions. **Brazilian archives of Biology and technology**, Curitiba, v. 47, n. 2, p. 171-177, 2004.

VARGAS, P. F.; GALATTI, F. S.; SOUZA, J. O.; CASTOLDI, R.; CHARLO, H. C. O.; BRAZ, L. T. Avaliação de parentais e híbridos experimentais de melão rendilhado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 5, p. 1102-1108, 2010.

VERZIGNASSI, J. R.; VIDA, J. B.; GASPAROTTO, F.; CORTEZ, G. L. S.; LORENZETTI, E. R.; FARIA, G. S. F.; TESSMANN, D. J.; SEVERINO, J. J. Método do palito para inoculação de *Didymella bryoniae* em melão-nobre e pepino-“japonês”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 154, 2004. Suplemento.

WOLUKAU, J. N.; ZHOU, X.; LI, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, J. Resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm and inheritance of resistance from plant introductions 157076, 420145, and 323498. **HortScience**, Alexandria, v. 42, p. 215-221, 2007.

ZHANG, Y.; KYLE, M.; ANAGNOSTOU, K.; ZITTER, T. A. Screening melon (*Cucumis melo*) for resistance to gummy stem blight in the greenhouse and field. **HortScience**, Alexandria, v. 32, p. 117-121, 1997.

### **CAPÍTULO 3 - MÉTODOS E TEMPOS DE AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MELOEIRO À *Didymella bryoniae***

**RESUMO** - A utilização do método apropriado, eficiente e prático, assim como, o tempo ideal para a avaliação da reação de genótipos, são medidas primordiais no estudo de resistência genética à *Didymella bryoniae*. Diante disso, objetivou-se com esse trabalho avaliar dois métodos e três tempos após a inoculação, para a avaliação da reação de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*. Para tanto, foram realizados quatro experimentos, dois para cada método de avaliação, divididos em dois anos (2014 e 2015). O primeiro, com o método I de avaliação da resistência, foi constituído por nove genótipos de meloeiro, em delineamento de blocos ao acaso e quatro repetições. No segundo experimento, a partir do método II de avaliação, foram utilizados os mesmos nove genótipos, no delineamento de blocos ao acaso e três repetições. Ainda foram analisados três tempos de avaliação da resistência, com base no segundo experimento, nos dois anos. Os acessos de meloeiro foram avaliados quanto à severidade da doença, por meio de escala de notas de 0 à 4. Foi utilizada as classes de reação e teste de agrupamento de médias para avaliação da resistência. Não houve diferença estatística entre os dois métodos de avaliação, portanto discriminam similarmente a reação dos genótipos à *D. bryoniae*. No entanto, houve diferença estatística entre os tempos de avaliação. A primeira avaliação, feita aos três dias, diferiu da realizada aos sete e aos 14 dias, em 2014 e 2015, respectivamente. Já as avaliações realizadas aos sete e 14 dias, não diferiram entre si. Portanto, pela maior rapidez, praticidade e eficiência, o método II pode ser uma alternativa na avaliação da resistência e a avaliação mais segura pode ser feita a partir do oitavo dia da inoculação.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, resistência genética, reação, cancro-da-haste.

### CHAPTER 3 - METHODS AND TIMES OF ASSESSMENT OF MELON GENOTYPES WITH RESISTANCE TO *Didymella bryoniae*

**ABSTRACT** - The use of suitable, efficient and practical methodology, as well as optimum time for evaluating the reaction of genotypes, are primary requirements in the study of genetic resistance to diseases. Thus, the objective of this study was to evaluate methods and days after inoculations to assess the reaction of melon genotypes to *Didymella bryoniae*. Two experiments, one for each method of evaluation, were conducted in two years (2014 and 2015). The first experiment, representing Method I, consisted of nine genotypes of maskmelon evaluated in completely randomized blocks with four replications. The second experiment, representing Method II, involved the same nine genotypes and the same design but with three replications. In addition, three times for evaluating the resistance were used in the second experiment. The accessions were evaluated for disease severity according to a scale from 0 (resistant) to 4 (susceptible) and the results were organized in classes with tests for grouping classes. No statistical difference was detected for the difference between the two methods of evaluation of the reaction of genotypes to *D. bryoniae*. Also, there was no statistical difference between the times for evaluation. Therefore, the characteristics of short time for evaluation, practicability and efficiency suggest method II as an advisable alternative to evaluate the disease expression, noting that the evaluation can be made from eight days after inoculation.

**Keywords:** *Cucumis melo*, genetic resistance, reaction, gummy stem blight

## 1 INTRODUÇÃO

O cancro-da-haste em meloeiro é causado por *Didymella bryoniae*, patógeno invasor do solo, podendo estar presente por até dois anos, sobreviver em restos de cultura e em outras cucurbitáceas, além de sementes (GASPAROTTO et al., 2009). O controle desse patógeno é difícil, motivo pelo qual, a utilização de porta-enxertos e, principalmente, cultivares resistentes, constituem-se como medidas estratégicas para o manejo integrado da doença.

Nesse processo, são fundamentais o desenvolvimento, adaptação e a padronização de metodologias que permitam a determinação da reação e a seleção segura de fontes de resistência. Dispor de métodos rápidos de avaliação da resistência, consiste em importante etapa na seleção de genótipos superiores nos programas de melhoramento (SIVIERO et al., 2002).

No caso específico do patossistema *D. bryoniae* – meloeiro, alguns métodos de inoculação e avaliação têm sido utilizados para estudar o comportamento dessa interação planta-patógeno. Inicialmente, os principais estudos utilizavam a metodologia de inoculação à base de suspensão de esporos, que muitas vezes se mostrou ineficiente em discriminar plantas resistentes e suscetíveis (MAHMOUDI; GHASHGHAIE, 2012).

Devido a essas dificuldades, Verzignassi et al. (2004), adaptaram o método do palito proposto por Siviero e Menten (1995), para inoculação de *D. bryoniae* em melão rendilhado e pepino-japonês. Os resultados foram satisfatórios, já que os sintomas evoluíram em curto espaço de tempo e caracterizaram, eficientemente, os genótipos, quanto aos sintomas típicos da doença. Por isso, tem sido utilizado com sucesso para avaliar a reação à *D. bryoniae* em diversas cucurbitáceas candidatas a porta-enxertos de melão rendilhado (ITO et al., 2009; SILVA et al., 2012) e em melão (SANTOS et al., 2009a).

O método do palito tem mostrado muito sucesso também em trabalhos de reação a outros patógenos, não menos importantes. Como exemplos tem-se a reação de genótipos de cenoura à *Alternaria radicina* (PRYOR et al., 2000), de citros a *Phytophthora parasita* (SIVIERO et al., 2002), de beterraba à *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani* (MAHMOUDI; GHASHGHAIE,

2012), e de meloeiro à *Macrophomina phaseolina* (MELO, 2014; AMBRÓSIO et al., 2015).

Todavia, tem-se sugerido adaptações ao método do palito. Santos et al. (2013), propõem que as plantas sejam inoculadas ainda nas bandejas, postas na câmara úmida e, por fim avaliadas, sem transplante para vasos. Essa adaptação se mostrou interessante, dada a eficiência, rapidez e praticidade. No entanto, por se tratar de adaptação recente, estudos de comparação entre as metodologias podem auxiliar no estabelecimento de estratégias efetivas nas etapas de seleção de genótipos superiores em programas de melhoramento.

Outro ponto a ser considerado nas metodologias de avaliação da resistência à *D. bryoniae*, é a escolha do melhor momento de se fazer essa avaliação, no tocante ao número de dias após a inoculação em que deve ser feita. Trionfetti-Nisini et al. (2000), objetivando selecionar porta-enxertos de cucurbitáceas resistentes à *D. bryoniae*, para uso em meloeiro, avaliaram a resistência aos 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias após a inoculação (DAI), em caule e folhas. Apesar dos autores não terem comparado as avaliações entre si, observa-se que a média de notas de sintomas foi similar em todas as avaliações.

Silva et al. (2012), estudaram a resistência de meloeiro rendilhado à *D. bryoniae* em função da enxertia e concentrações de potássio, realizando avaliação aos 7, 14, 21, 28, 37, 42, 49 e 56 DAI em caule. Também foi observado que as médias de notas foram similares em todas as avaliações, tanto para os mais suscetíveis quanto para os mais resistentes.

Alguns trabalhos avaliaram a reação uma única vez aos três DAI (ITO et al., 2009), em avaliação de cucurbitáceas para porta-enxertos. Outros avaliaram aos quatro DAI (SANTOS et al., 2009a; SANTOS et al., 2009b), sete (ZHANG et al., 1997) e aos 21 DAI, em meloeiro (FRANTZ; JAHN, 2004) e em cucurbitáceas para porta-enxertos (CHINÒ, 2007). Há ainda trabalhos que avaliam mais de uma vez e fazendo-se a média das avaliações (ZUNIGA et al., 1999; WOLUKAU; ZHOU; CHEN, 2009).

Todavia, não são encontrados relatos de estudos que confrontem os métodos de avaliação e a quantidade de dias após a inoculação que são suficientes para se avaliar a resistência adequadamente.

Em face à importância de métodos simples, eficientes e práticos para caracterização da resistência de genótipos de meloeiro ao cancro-da-haste,

como também, a melhor época de fazer a avaliação dessa resistência após a inoculação, este trabalho teve como objetivo avaliar dois métodos e três tempos após a inoculação, para a avaliação da reação de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Localização dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e no Laboratório Fitopatologia do Departamento de Fitossanidade, na Faculdade de Ciências Agrárias (UNESP-FCAV) – Câmpus de Jaboticabal, cujas coordenadas geográficas são: latitude 21°15'22" S, longitude 48°18'58" W e altitude de 595 metros.

### 2.2 Métodos de avaliação da resistência

#### 2.2.1 Método I - proposto por Verzignassi et al. (2004)

Os experimentos foram realizados no período de janeiro a março de 2014 e fevereiro a abril de 2015, com nove genótipos, sendo eles: o acesso AC-29, proveniente da Coleção de Germoplasma da Universidade Federal Rural do Semiárido-UFERSA, o acesso C160, do Banco de Germoplasma da EMBRAPA Clima Tropical e os acessos Flexuosos "M-2791" e 'Charentais Fom 1', da EMBRAPA Hortaliças. Além disso, foram utilizados os acessos PI 140471, PI 157082, PI 482398 e PI 420145, obtidos junto ao North Central Regional Plant Introduction Station, os quais contêm genes de resistência à *D. bryoniae*.

Foram utilizadas, ainda, as linhagens JAB-11 e JAB-20, desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético do meloeiro da UNESP-FCAV e, que apresentam boa capacidade geral de combinação (CGC), principalmente para as características massa ( $\text{kg fruto}^{-1}$ ) e produção de frutos ( $\text{kg m}^{-2}$ ). Essas linhagens recombinadas entre si, resultaram em um híbrido  $F_1$  de alta produtividade (VARGAS et al., 2010). Também foram avaliados os híbridos comerciais Louis  $F_1$  e Fantasy  $F_1$  (Takii Seeds®) resistentes à fusariose (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, raças 0 e 2) e a oídio (*Podosphaera xanthii*).

As sementes dos genótipos foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido contendo 128 células, utilizando substrato comercial Bioplant®. Em seguida, foram acondicionados em casa de vegetação para produção de mudas.

As mudas foram transplantadas para os vasos quando apresentaram duas folhas definitivas, período correspondente aos 20 dias após a semeadura (DAS).

O experimento foi realizado em casa de vegetação, com vasos de cerâmica e capacidade para cinco litros, espaçados em 1,0 m entre fileiras e 0,5 m entre vasos. O substrato utilizado foi composto por mistura autoclavada de solo de subsuperfície, areia e esterco curtido, na proporção 3:1:1.

O patógeno foi isolado de plantas de melão cultivadas em casa de vegetação com sintomas da doença, no mesmo setor experimental. O isolamento do patógeno foi realizado por meio da técnica direta, retirando-se picnídios formados em lesões nas plantas com sintomas típicos do cancro-da-haste. Após a obtenção da cultura pura do fungo, foi realizada a repicagem para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), de onde após 20 dias foram retirados fragmentos do micélio, com 5 mm de diâmetro e utilizados para inoculação.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo cada parcela representada por dois vasos com quatro plantas. Em um dos vasos, as plantas foram inoculadas com o isolado de *D. bryoniae* e utilizado na avaliação da reação e no outro inoculado apenas discos do meio de cultura (BDA), caracterizando-se como testemunha.

A inoculação nas plantas foi realizada dois dias após o transplântio das mudas para os vasos, por meio do método do palito de dente. A técnica consiste na inserção direta no caule da planta, próximo as folhas cotiledonares, de um palito esterilizado, com disco de 5 mm de micélio contendo o fungo no caule da planta (SIVIERO; MENTEN, 1995; VERZIGNASSI et al., 2004). As plantas permaneceram em câmara úmida por 72 horas e, em seguida, foram transferidas para casa de vegetação.

A avaliação de severidade da doença foi feita sete dias após a inoculação (DAI) e escala sugerida por Dusi et al. (1994), com notas variando de 0 a 4 (0 = ausência de sintomas visíveis; 1 = lesão encharcada na haste da planta até 1 cm de diâmetro; 2 = lesão encharcada na haste da planta com mais de 1 cm de diâmetro; 3 = lesão parcialmente necrosada na haste com murcha parcial da planta e 4 = necrose da haste com murcha total e morte da planta).

Conforme, a nota de cada planta, individualmente, em cada vaso e nas quatro repetições, foi obtida a média de cada genótipo. Esse valor foi utilizado

para discriminar os genótipos em quatro classes de reação: 0,1-1,0= altamente resistente (AR); 1,1-2,0= medianamente resistente (MR); 2,1-3,0= suscetível (SU); 3,1-4,0= altamente suscetível (AS), adaptadas de Noronha et al. (2006).

### **2.2.2 Método II - proposto por Santos et al. (2013)**

Os experimentos foram realizados no período de janeiro a março de 2014 e fevereiro a abril de 2015, com os mesmos genótipos citados anteriormente. Foram semeadas duas sementes de cada genótipo por célula da bandeja (128 alvéolos) e, posteriormente, realizou-se o desbaste, levando-se em conta a uniformidade em relação as outras plantas do mesmo genótipo. O substrato utilizado nas bandejas foi uma mistura de solo de subsuperfície, esterco curtido e substrato comercial Bioplant®, na proporção 2:1:1, que foi peneirado e esterilizado em autoclave.

Foi adotado o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições. A parcela foi composta por oito plântulas, sendo esta, uma linha de oito células da bandeja. Para se evitar o microclima, o adensamento das plântulas e facilitar a inoculação, as parcelas foram intercaladas entre si por fileiras de células apenas com o substrato. Desta forma, cada bloco foi composto por duas bandejas para avaliação da reação e o controle por outras duas bandejas, na mesma ordem aleatória dos genótipos.

A inoculação nas plantas foi realizada com o mesmo isolado do experimento anterior e pelo método do palito (SIVIERO; MENTEN, 1995; VERZIGNASSI et al., 2004). Quando as plantas apresentaram a segunda folha definitiva, totalmente expandida, procedeu-se a inoculação dos discos contendo o micélio, como também dos discos contendo somente meio de cultura (testemunha). Em seguida, as plântulas foram acondicionadas em câmara úmida e, deixadas por 72 horas, sendo, posteriormente, transferidas para a casa de vegetação de produção de mudas.

A avaliação de severidade da doença também foi feita sete dias após a inoculação e, como anteriormente citada no item 2.1.1, a partir de escala de notas sugerida por Dusi et al. (1994). Para a comparação dos métodos de avaliação da reação foram utilizados os dados aos sete DAI, com o intuito da comparação com o mesmo tempo de inoculação. Conforme, a nota de cada

planta na parcela e nas repetições, foi obtida a média de cada genótipo. Esse valor foi utilizado para discriminar os genótipos em quatro classes de reação, adaptadas de Noronha et al. (2006).

### **2.3 Tempos de avaliação da resistência de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae***

Foi utilizado o experimento de avaliação da resistência descrito no item 2.1.2, sendo feitas três avaliações para severidade da doença, aos três, sete e 14 dias após a inoculação (DAI) e, posteriormente, utilizou-se o esquema estatístico em parcelas subdivididas no tempo.

A avaliação de severidade da doença foi feita com escala de notas, proposta por Dusi et al. (1994) citada no item 2.1.1.

### **2.4 Análises estatísticas**

Para atender às pressuposições básicas da análise de variância, foi feita análise individual dos experimentos. Em seguida, foi realizada a análise conjunta dos Métodos I e II de avaliação da resistência.

Para a comparação do tempo de avaliação foi feita análise de variância em esquema de parcelas subdivididas no tempo. Após esses procedimentos, as médias de cada genótipo para as duas análises foram comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o programa estatístico AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomicos, versão 1.1.0.712, rev 77 (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2015).

Além dessas análises estatísticas, foi feita o estudo das correlações fenotípicas, genotípicas e ambientais, utilizando o software GENES (CRUZ, 2013). As estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica ( $r_F$ ) e de ambiente ( $r_E$ ) foram obtidas mediante análises de covariâncias, combinando os dados das avaliações (CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). Foi empregado o teste t para examinar a significância estatística das estimativas ao nível de 1% e 5% de probabilidade, assim como, o método de bootstrap, com 5.000 simulações e significância a 1 e 5 %, respectivamente.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Métodos de avaliação da resistência

De acordo com o teste F, não houve interação significativa entre genótipos e métodos de avaliação, tanto nos experimentos realizados em 2014, como em 2015 (Tabela 1). Também não houve diferença estatística entre os métodos, em 2014 e 2015, no entanto, houve diferença estatística entre os genótipos nos dois anos ( $p < 0,01$ ). Assim, as médias dos genótipos, para cada método de avaliação, foram apresentadas de forma separada (Tabela 1).

Verificou-se ainda que os coeficientes de variação mostraram boa precisão na primeira avaliação, com 8,83% e 11,63% e baixa na segunda, com 29,01% e 26,46%, para os Métodos I e II, respectivamente (Tabela 1). Por se tratar de observações provenientes de escala de notas, considerando também a interação planta-patógeno-ambiente, esses valores altos são comuns para a característica, como visto em outros trabalhos (WOLUKAU et al., 2007; SANTOS et al., 2013).

A média geral de notas dos sintomas foi de 1,73 e 1,92 em 2014 e, 1,70 e 1,50 em 2015 (Tabela 1), para os Métodos I e II, respectivamente. Isso indica resposta similar no uso desses métodos na avaliação da reação dos genótipos a *D. bryoniae*.

O isolado testado mostrou-se patogênico às plântulas de meloeiro, tendo em vista o aparecimento dos sintomas típicos do cancro-da-haste no genótipo Flexuosos “M-2791”, que foi utilizado como testemunha de suscetibilidade. As plantas apenas inoculadas com o meio de cultura (controle), não apresentaram sintomas da doença, mostrando que tanto o meio quanto o ferimento com palito não influenciaram no comportamento das plantas.

Quando aplicado o teste de Scott-Knott, a ordenação e os valores das médias dos genótipos avaliados foram similares nos dois métodos utilizados e, nos dois anos de avaliação. O genótipo Flexuosos “M-2791” foi, altamente, suscetível em todos os experimentos tanto para o teste de média como para a classe de reação (Tabela 1).

As linhagens JAB-11, JAB-20 e os híbridos Louis F<sub>1</sub> e Fantasy F<sub>1</sub> foram suscetíveis, conforme classe de reação, pelos dois métodos na avaliação em

2014 e 2015, exceto os genótipos JAB-11 e Louis F<sub>1</sub>, quando utilizado o Método II, sendo, medianamente resistentes (Tabela 1). Um possível efeito do ambiente ou erro na inoculação pode ter contribuído para esse fato.

**Tabela 1.** Reação de genótipos de meloeiro, após a inoculação com *Didymella bryoniae*, utilizando dois métodos de avaliação da resistência. UNESP-FCAV, Jaboticabal - SP, 2016.

Genótipos	2014			2015		
	Método I	Método II	Reação	Método I	Método II	Reação
Flexuosos	3,89 a	3,29 a	AS	3,56 a	3,24 a	AS
JAB-20	2,30 b	2,39 b	SU	2,75 b	1,84 b	SU
JAB-11	2,25 b	2,55 b	SU	2,24 c	1,67 b	SU/MR
Louis F <sub>1</sub>	2,20 b	2,79 b	SU	2,23 c	1,33 c	SUMR
Fantasy F <sub>1</sub>	2,09 b	2,79 b	SU	2,03 c	2,04 b	SU
PI 157082	1,56 c	1,88 b	MR	1,67 c	1,46 c	MR
PI 140471	0,81 d	0,75 c	AR	0,50 d	0,63 d	AR
PI 482398	0,50 d	0,53 c	AR	0,33 d	0,81 d	AR
PI 420145	0,00 d	0,36 c	AR	0,00 d	0,47 d	AR
Média	1,73 A	1,92 A		1,70 A	1,50 A	
Genótipos (G)	46,68**			14,54**		
Métodos (M)	2,70 <sup>ns</sup>			1,32 <sup>ns</sup>		
G x M	1,12 <sup>ns</sup>			2,07 <sup>ns</sup>		
CV (%)	8,83	11,63		29,01	26,46	
<b>Coefficiente de correlação de Pearson (r)</b>						
Método I x Método II	0,94** (p<0,0001)			0,92** (p<0,0004)		

Método I, Verzignassi et al. (2004); Método II, Santos et al. (2013).

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% (p<0,05). <sup>ns</sup>: Não significativo (p<0,05); \*: Significativo ao nível de 5% (p<0,05); \*\*: Significativo ao nível de 1% (p<0,01). \*\*: Significativo a 1% pelo teste t.

O acesso PI 157082 foi medianamente resistente pela classe de reação, para os dois métodos e nos dois anos de avaliação. Pelo teste de agrupamento de médias, esse acesso foi agrupado como medianamente resistente no Método I e suscetível quando usado o Método II, em 2014. Em 2015, foi medianamente resistente nos dois métodos de avaliação (Tabela 1).

O acesso PI 157082 foi relatado em vários trabalhos como resistente à *D. bryoniae* (ZHANG et al., 1997; ZUNIGA et al., 1999; WOLUKAU et al., 2007), no entanto, esse estudo é o primeiro em que ele é inoculado com isolados coletados no Brasil e, nesse caso, ele apresentou resistência intermediária. Fato que pode ser atribuído à patogenicidade do isolado utilizado, tendo em vista que há variação no comportamento de outros genótipos com isolados oriundos do Brasil

e, que já haviam sido avaliados em outros países e classificados como resistentes (SANTOS et al., 2009a; SANTOS et al., 2013).

Os genótipos PI 140471, PI 482398 e PI 420145 foram agrupados, pelo teste de Scott-Knott, no grupo dos mais resistentes nos dois métodos e anos de avaliação. Para a classe de reação, foram igualmente classificados como, altamente, resistentes, também para os dois métodos e anos de avaliação.

Ainda quanto à classe de reação, o acesso PI 420145 apresentou média de nota de sintomas igual a zero pelo Método I. Apesar disso, esse comportamento não foi confirmado no Método II, o que mostra que não há imunidade ao patógeno nesse acesso.

Foi realizada, adicionalmente, a correlação entre os dois métodos de avaliação e observou-se correlação positiva alta e significativa a 1 %, pelo teste t, como mostra o coeficiente de correlação de Pearson nos anos de avaliação, com  $r = 0,94$  e  $r = 0,92$ , respectivamente (Tabela 1). Assim, ambos os métodos se caracterizam de forma bem similar a reação dos genótipos à *D. bryoniae*, tendo em vista que não apresentam diferença estatística. Desta forma, pode-se considerar que qualquer uma das metodologias pode ser utilizada para avaliar a reação de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*.

O método proposto por Santos et al. (2013) é uma adaptação do método proposto por Verzignassi et al. (2004), sendo esta, dada pela inoculação e avaliação das plântulas ainda nas bandejas, preterindo-se o transplântio para vasos antes da inoculação.

Considerando a praticidade dessa metodologia, por não necessitar transplantar as mudas para vasos antes da inoculação, com isso, evita-se o estresse causado pelo transplântio, além de demandar menor mão-de-obra e quantidade de substrato utilizado para preenchimento de vasos, o método pode ser boa opção para avaliação da resistência de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*.

### **3.2 Tempos de avaliação da resistência de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae***

Não houve interação significativa pelo teste F ( $p < 0,01$ ), entre genótipos e avaliações, para notas de sintomas do cancro-da-haste, nas avaliações

realizadas em 2014 e 2015. No entanto, houve diferença estatística pelo teste F nos tempos de avaliação e também entre os genótipos, nos dois anos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Reação de genótipos de meloeiro à *Didymella bryoniae*, utilizando o método descrito por Santos et al. (2013), em três tempos diferentes de avaliação da resistência. UNESP-FCAV, Jaboticabal - SP, 2016.

Genótipos (G)	2014		2015	
	Nota média	Reação	Nota média	Reação
1. Flexuosos "M-2791"	3,53 a	AS	3,47 a	AS
2. JAB-20	1,94 b	MR	2,10 b	SU
3. JAB-11	2,72 b	SU	1,83 b	MR
4. Louis F <sub>1</sub>	2,56 b	SU	1,49 c	MR
5. Fantasy F <sub>1</sub>	2,98 a	SU	2,08 b	SU
6. PI 157082	1,66 c	MR	1,51 c	MR
7. PI 140471	0,87 d	AR	0,74 d	AR
8. PI 482398	0,65 d	AR	0,72 d	AR
9. AC-29	0,66 d	AR	0,89 d	AR
10. Charentais Fom 1	0,47 d	AR	0,89 d	AR
11. C160	0,75 d	AR	0,90 d	AR
12. PI 420145	0,43 d	AR	0,67 d	AR
<b>Tempos (T)</b>				
3 DAI	1,54 b		1,31 b	
7 DAI	1,61 a		1,53 a	
14 DAI	1,66 a		1,48 a	
Teste F				
<b>Genótipos (G)</b>	18,16**		20,36**	
<b>Tempos (T)</b>	4,70*		9,76**	
<b>G x T</b>	1,46 <sup>ns</sup>		1,19 <sup>ns</sup>	
CV (%) - Genótipos	48,80		38,32	
CV (%) - Tempos	10,41		15,53	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%. <sup>ns</sup>: Não significativo (p<0,05); \*:Significativo ao nível de 5% (p<0,05); \*\*:Significativo ao nível de 1% (p<0,01).

Os coeficientes de variação mostraram valores altos, com 48,80% e 10,41% no experimento realizado em 2014 e 38,32% e 15,53 % no experimento realizado em 2015, para parcelas e subparcelas, respectivamente (Tabela 2). No entanto, nas avaliações de resistência a doenças esses valores são comuns, principalmente, considerando a variação devido à interação planta-patógeno-ambiente. Além disso, os dados não foram transformados e não se observou diferença no agrupamento das médias, apenas no coeficiente de variação.

Foi aplicado o teste de agrupamento de médias de Scott-Knott, para os genótipos em cada avaliação e, observou-se que a formação dos grupos foi similar nos dois anos de avaliação (Tabela 2).

Pela classe de reação, a resistência dos genótipos à *D. bryoniae* foi a mesma nos dois anos de avaliação, a exceção de JAB-11, JAB-20, Louis F<sub>1</sub>, que tiveram variação entre suscetível (SU) e medianamente resistente (MR) (Tabela 2). Apesar disso, esses genótipos já se mostravam suscetíveis nos dois ensaios anteriores, utilizando o Método I, proposto por Verzignassi et al. (2004).

Entre as avaliações, se observou diferença estatística pelo teste de Scott-Knott, nos dois anos. A primeira avaliação, feita aos 3 dias (1,54 e 1,31), diferiu da realizada aos 7 (1,61 e 1,53) e aos 14 dias (1,66 e 1,48), em 2014 e 2015, respectivamente (Tabela 2). Já as avaliações realizadas aos 7 e 14 dias, não diferiram entre si.

A análise de correlações indicou que as correlações fenotípicas ( $r_F$ ) entre as avaliações foram positivas, altas e significativas pelo teste t, indicando que há forte relação entre essas avaliações (Tabela 3). A correlação fenotípica mede o grau de associação de dois caracteres provenientes dos efeitos genético e ambiental (FALCONER, 1996).

**Tabela 3.** Correlação fenotípica ( $r_F$ ) e ambiental ( $r_E$ ) entre as avaliações da resistência de genótipos de meloeiro à *Didymella bryoniae*, UNESP - FCAV, Jaboticabal-SP, 2016.

Avaliação	2014		
	$r$	7 dias	14 dias
3 dias	F	0,98**	0,99**
	E	0,86**	0,83**
7 dias	F	-	0,99**
	E	-	0,94**
Avaliação	2015		
	$r$	7 dias	14 dias
3 dias	F	0,99**	0,97**
	E	0,85**	0,47
7 dias	F	-	0,96**
	E	-	0,66**

(\*\*) Significativo ao nível de 1%, (\*) 5% e (ns) não significativo, pelo teste de t. 3 = Avaliação feita três dias após a inoculação; 7 = Avaliação feita sete dias após a inoculação; 14 = Avaliação feita quatorze dias após a inoculação.

As correlações ambientais ( $r_E$ ) para os pares de avaliação, 3 dias x 7 dias (0,86), 3 dias x 14 dias (0,83) e 7 dias x 14 dias (0,94) dias, em 2014, foram positivas, altas e significativas pelo teste t. Nas avaliações feitas em 2015, foram de 0,85, 0,47 e 0,66, respectivamente (Tabela 3).

O ambiente é uma causa de correlação pela qual duas características são influenciadas pelas mesmas diferenças de condições de ambiente. Valores positivos indicam que os caracteres correlacionados são beneficiados ou prejudicados pelas mesmas causas de variações ambientais e valores negativos indicam que o ambiente favorece um caráter em detrimento do outro (RAMALHO et al., 1993).

Desta forma, as três avaliações estão, fortemente, correlacionadas e sob similar variação do ambiente. Isso mostra que, a avaliação de todos os genótipos fornece, estatisticamente, resultados correlacionados e similares aos 3, 7 e 14 dias após a inoculação de *D. bryoniae*, em plântulas de meloeiro.

Com base nos resultados, para se ter uma avaliação mais segura da reação dos genótipos à *D. bryoniae*, deve-se fazê-la a partir dos sete dias após a inoculação. Esse resultado é importante do ponto de vista metodológico e prático, já que com esse estudo pôde-se estabelecer um parâmetro para se escolher a melhor época para avaliação da reação de genótipos à *D. bryoniae*.

## 4 CONCLUSÕES

Os Métodos I e II de avaliação da reação discriminaram, similarmente, a reação dos genótipos de meloeiro à *Didymella bryoniae*.

Pela maior rapidez, praticidade e eficiência, o método II é ótima alternativa para avaliação da resistência de meloeiro ao cancro-da-haste e a avaliação mais segura poderia ser feita aos sete dias após a inoculação.

## REFERÊNCIAS

- AMBRÓSIO, M. M. Q.; DANTAS, A. C. A.; MARTÍNES-PEREZ, E.; MEDEIROS, A. C.; NUNES, G. H. S.; PICÓ, M. BELÉN. Screening a variable germplasm collection of *Cucumis melo* L. for seedling resistance to *Macrophomina phaseolina*. **Euphytica**, Wageningen, v. 206, n. 2, p. 287-300, 2015.
- BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **Experimentação Agronômica & AgroEstat** : Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2015. 396 p.
- CHINÒ, P. Evaluation of rootstock resistance to fusarium wilt and gummy stem blight and effect on yield and quality of a grafted 'inodorus' melon. **HortScience**, Alexandria, v. 45, n. 3, p. 521-525, 2007.
- CRUZ, C. D. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: MG: UFV, 2014. 668 p.
- DUSI, A. N.; TASAKI, S.; VIEIRA, S. V. Metodologia para avaliação de resistência à *Didymella bryoniae* em melão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 12, n. 1, p. 43-44, 1994.
- FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4. ed. England: Longman, 1996. 463 p.
- FRANTZ, J. D.; JAHN, M. M. Five independent loci each control monogenic resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 108, n. 6, p. 1033–1038, 2004.
- GASPAROTTO, F.; VIDA, J. B.; TESSMANN, D. J.; BONALDO, S. M.; AGUIAR, R. L.; PENHARBEL, M. P. Eficiência de métodos para detecção de *Didymella bryoniae* associado a sementes de híbridos de meloeiros nobres. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 397-402, 2009.
- ITO, L. A.; BRAZ, L. T.; CASTOLDI, R.; CHARLO, H. C. O.; CAMARGO, M. Seleção de portas enxertos resistentes ao cancro-da-haste e seus efeitos na produtividade de melão 'Bônus 2'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 262-267, 2009.
- 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**, Wageningen, v. 175, n. 3, p. 10-16, 2012.

- MELO, D. R. M. de. **Métodos de inoculação, reação de acessos e herança da resistência do meloeiro a *Rhizoctonia solani***. 2014. 99 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2014.
- 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, DF, v. 20, p. 174-178, 1995.
- NORONHA, M. A.; MICHEREFF, S. J.; XAVIER FILHA, M. S.; MOREIRA, P. A. A.; REIS, A.; SALES JUNIOR, R. Reação de genótipos de meloeiro a *Myrothecium roridum*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 24, n. 3, p. 495-498, 2006.
- PRYOR, B. M.; DAVIS, R. M.; GILBERTSON, R. L. A Toothpick inoculation method for evaluating carrot cultivars for resistance to *Alternaria radicina*. **HortScience**, Alexandria, v. 35, n. 6, p. 1099-1102, 2000.
- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. **Genética Quantitativa em plantas autógamas**. Goiânia: UFG, 1993. 272 p.
- 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, v. 87, n. 11, p. 15324-15329, 2012.
- SANTOS, G. R.; LEÃO, E. U.; GARCIA, M. M. V.; MALUF, W. R.; CARDON, C. H.; GONÇALVES, C. G.; NASCIMENTO, I. R. Reação de genótipos experimentais de melancia ao cretamento gomoso do caule. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 31, n. 4, p. 540-548, 2013.
- SANTOS, G. R.; CASTRO NETO, M. D.; RAMOS, L. N.; CAFÉ-FILHO, A. C.; REIS, A.; MOMENTÉ, V. G.; PELÚZIO, J. M.; IGNÁCIO, M. Reaction of melon genotypes to the gummy stem blight and the downy mildew. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 160-165, 2009a.
- SANTOS, G. R.; FERREIRA, M. A. S. V.; PESSOA FILHO, M. A. C. P.; FERREIRA, M. E.; CAFÉ-FILHO, A. C. Host specificity and genetic diversity of *Didymella bryoniae* from Cucurbitaceae in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 157, n. 5, p. 265-273, 2009b.
- SILVA, E. S.; PALANGANA, F. C.; GOTO, R.; FURTADO, E. L.; FERNANDES, D. M. Net melon resistance to *Didymella bryoniae* according to grafting and potassium levels. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 2, p. 139-143, 2012.
- 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, DF, v. 27, n. 6, p. 574-580, 2002.

SIVIERO, A.; MENTEN, J. O. M. Uso do método do palito para inoculação de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* em soja. **Summa Pytopathologica**. Jaguariúna, v. 21, n. 3-4, p. 259-260, 1995.

TRIONFETTI-NISINI, P.; BUZI, A.; GRANATI, E.; CHILOSI, G.; CRINO, P.; MAGRO, P. Screening for resistance to *Didymella bryoniae* in rootstocks of melon. **OEPP Bulletin**, Paris, v. 30, n. 2, p. 231-234, 2000.

TSUTSUMI, C. Y.; SILVA, N. da. Screening of melon populations for resistance to *Didymella bryoniae* in Greenhouse and plastic tunnel conditions. **Brazilian archives of Biology and technology**, Curitiba, v. 47, n. 2, p. 171-177, 2004.

VARGAS, P. F.; GALATTI, F. S.; SOUZA, J. O.; CASTOLDI, R.; CHARLO, H. C. O.; BRAZ, L. T. Avaliação de parentais e híbridos experimentais de melão rendilhado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 5, p. 1102-1108, 2010.

VERZIGNASSI, J. R.; VIDA, J. B.; GASPAROTTO, F.; CORTEZ, G. L. S.; LORENZETTI, E. R.; FARIA, G. S. F.; TESSMANN, D. J.; SEVERINO, J. J. Método do palito para inoculação de *Didymella bryoniae* em melão-nobre e pepino-“japonês”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 154, 2004. Suplemento.

WOLUKAU, J. N.; ZHOU, X.; CHEN, J. Identification of amplified fragment length polymorphism markers linked to gummy stem blight (*Didymella bryoniae*) resistance in melon (*Cucumis melo* L.) PI 420145. **HortScience**, Alexandria, v. 44, n. 3, p. 32-34, 2009.

WOLUKAU, J. N.; ZHOU, X.; LI, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, J. Resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm and inheritance of resistance from plant introductions 157076, 420145, and 323498. **HortScience**, Alexandria, v. 42, n. 2, p. 215-221, 2007.

ZHANG, Y.; MOLLY, K.; ANAGNOSTOU, K.; ZITTER, T. A. Screening melon (*Cucumis melo*) for resistance to gummy stem blight in the greenhouse and field. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 1, p. 117-121, 1997.

ZUNIGA, T. L.; JANTZ, J. P.; ZITTER, T. A.; JAHN, M. K. Monogenic dominant resistance to gummy stem blight in two melon (*Cucumis melo*) accessions. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, n. 12, p. 1105-1107, 1999.

## **CAPÍTULO 4 – CRUZAMENTO DIALÉLICO NA SELEÇÃO DE GENITORES VISANDO LINHAGENS DE MELOEIRO COM RESISTÊNCIA À *Didymella bryoniae***

**RESUMO** - O desenvolvimento de linhagens de meloeiro com resistência à *Didymella bryoniae* é uma alternativa para minimizar os prejuízos que esse patógeno acarreta nessa cultura. Para tanto, a princípio, é imprescindível selecionar genitores que melhor propiciem tal finalidade. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho determinar os valores das capacidades geral e específica de combinação de seis genótipos de meloeiro, a fim de avaliar o potencial desses, como genitores para uso em programas de melhoramento, visando obtenção de linhagens com resistência à *D. bryoniae*. O experimento foi conduzido no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitossanidade, na Faculdade de Ciências Agrárias (UNESP-FCAV, estado de São Paulo) – Câmpus de Jaboticabal. Os cruzamentos controlados foram realizados entre as linhagens suscetíveis JAB-11 e JAB-20 e acessos resistentes PI 140471, PI 157082, PI 420145 e PI 482398. As gerações F<sub>1</sub>s e seus recíprocos, bem como os genitores, foram utilizados nas avaliações. O experimento foi instalado no delineamento em blocos ao acaso (DBC), com três repetições. As combinações híbridas e os respectivos genitores foram avaliados quanto à severidade da doença, por meio de escala de notas de 0 a 4. Com base na capacidade geral de combinação (CGC), os acessos PI 420145 e PI 482398 apresentaram estimativas negativas e significativas. Os cruzamentos JAB-11 x PI 420145, JAB-11 x PI 482398, JAB-20 x PI 140471, JAB-20 x PI 420145 e JAB-20 x PI 482398 apresentaram as melhores estimativas negativas e significativas de capacidade específica de combinação (CEC) e podem gerar linhagens altamente resistentes à *D. bryoniae*. O efeito recíproco está presente na resistência de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*, especialmente, quando são cruzados PI 482398, PI 420145 e PI 140471 com JAB-20.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, dialelo parcial, combinações híbridas, efeito recíproco, cancro-da-haste.

## CHAPTER 4 – DIALLEL CROSS FOR SELECTING MELON GENOTYPES WITH RESISTANCE TO *Didymella bryoniae*

**ABSTRACT** - The development of melon lines with resistance to *Didymella bryoniae* is an advisable alternative to minimize losses caused by the pathogen. For that purpose, it is essential to select the most appropriate parents to be used in crosses aiming to attain the desirable objectives. In the present study, the partial diallel scheme was used to estimate the effects of general (GCA) and specific (SCA) combining ability of lines and accesses in order to guide the selection of the most promising parents to be used in biparental crosses. Six genotypes representing two groups (group I - susceptible: JAB-11 and JAB-20; group II- resistant: PI 140471, PI 157082, PI 482398 and PI 420145) were crossed according to the intergroup partial diallel (group I x group II). The experiment was organized as a randomized block design with three replications, including 14 entries (eight F<sub>1</sub> crosses and the six parents); the whole set of genotypes was evaluated for disease expression using a rating scale from 0 (resistant) to 4 (susceptible). Estimates of GCA were negative for the accessions PI 420145 and PI 482398, which should be indicated for crosses aiming to obtain melon lines resistant to *D. bryoniae*. Crosses JAB-11 x PI 420145, JAB-11 x PI 482398, JAB 20 x PI 140471, JAB 20 x PI 420145 and JAB 20 x PI 482398 showed the best (negative) estimates of SCA, but their usefulness is restricted to the eventual exploitation of commercial hybrid crosses or as indicative of the potential genetic variability of the specific crosses for resistance to the disease under study.

**Keywords:** *Cucumis melo*, partial diallel, hybrid combinations, reciprocal effect

## 1 INTRODUÇÃO

O cancro-da-haste é uma das mais destrutivas doenças em cucurbitáceas, especialmente, o melão, em todo o mundo (KEINATH, 2011; KEINATH, 2015). No Brasil, dentre as doenças que acometem a cultura do melão, o cancro-da-haste é uma das mais relevantes pelos prejuízos que causa (GASPAROTTO et al., 2011; CARDON et al., 2016). Seu agente etiológico é o fungo *Didymella bryoniae*, cujos sintomas mais frequentes nas plantas são cancos, com exsudação de goma no caule, nas hastes e pecíolos e o tombamento das plantas. O patógeno sobrevive em restos de cultura, solo infestado e em sementes (GASPAROTTO et al., 2009).

A principal forma de controle adotada tem sido o controle químico, no entanto, mesmo o uso de produtos químicos registrados tem mostrado problemas, como: pouca eficácia e resistência do patógeno a alguns grupos químicos, como os benzimidazóis e tiofanatos, pirimidinas-carboxamidas, metoxi-carbamatos e outros (KEINATH, 2015).

Ainda não há no mercado cultivares de meloeiro com resistência à *D. bryoniae*, em grande parte pela dificuldade de se encontrar genótipos com resistência estável.

Para o desenvolvimento de cultivares resistentes, o conhecimento da variabilidade do patógeno, boas fontes de resistência e os mecanismos envolvidos na resistência do hospedeiro são requisitos básicos.

Em um programa de melhoramento de plantas alógamas, a escolha de genitores capazes de produzir populações segregantes com as características desejadas, é etapa crucial, tendo em vista que, está estritamente relacionada ao sucesso das etapas subsequentes no desenvolvimento de linhagens superiores.

O uso de cruzamentos dialélicos se destaca na seleção de genitores e, em particular, os dialelos parciais, quando o objetivo é reunir fenótipos favoráveis que se encontram em grupos distintos de genitores, como no caso de linhagens produtivas e suscetíveis e acessos selvagens e resistentes, onde as combinações, dentro de cada grupo, não são de interesse. Os dialelos parciais têm sido utilizados para tal finalidade em outras culturas olerícolas, como abobrinha (NOGUEIRA et al., 2011) e tomateiro (PÁDUA et al., 2010; ANDRADE et al., 2014).

Um dos métodos de análise dialélica mais utilizado é o proposto por Griffing (1956), que fornece informações quanto à capacidade geral (CGC) e a capacidade específica (CEC) de combinação dos genitores em cruzamentos artificiais. É amplamente utilizado, em várias espécies cultivadas, promovendo o entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres, bem como, possibilitando a identificação de combinações híbridas de interesse agrônômico (ENGELSING et al., 2011).

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP-FCAV), tem desenvolvido linhagens de melão rendilhado com alta produtividade (VARGAS et al., 2010). Entretanto, essas linhagens apresentam suscetibilidade à *D. bryoniae*, necessitando da incorporação dessa resistência. Assim, o sucesso do programa de melhoramento para a obtenção de genótipos resistentes superiores, passa diretamente pela escolha dos melhores genitores, de modo a direcionar os trabalhos de introgressão da característica em linhagens promissoras.

Deste modo, os cruzamentos de genitores contrastantes para a característica são de fundamental importância para avaliação e seleção da melhor estratégia no desenvolvimento de linhagens resistentes a essa doença. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho determinar os valores das capacidades geral e específica de combinação em seis genótipos de meloeiro, a fim de avaliar o potencial desses como genitores para uso em programas de melhoramento, visando obtenção de linhagens com resistência à *D. bryoniae*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local e período do experimento

O experimento foi realizado de março a abril de 2015, no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais e no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitossanidade, na Faculdade de Ciências Agrárias (UNESP-FCAV) – Câmpus de Jaboticabal, cujas coordenadas geográficas são: latitude 21°15'22" S, longitude 48°18'58" W e altitude de 595 metros.

### 2.2 Obtenção de sementes híbridas

Foram utilizados para os cruzamentos seis genitores, divididos em dois grupos (Grupo I - *reticulatus* e Grupo I - *wild melo*). Cada genitor do Grupo I foi cruzado com todos do Grupo II, obtendo-se, então, oito híbridos F<sub>1</sub> e oito híbridos recíprocos, conforme a Tabela 1.

**Tabela 1.** Parentais, F<sub>1</sub>'s e seus recíprocos entre acessos de meloeiro resistentes e linhagens suscetíveis à *Didymella bryoniae*.

Genitores	Cruzamentos	
	F <sub>1</sub> 's	Recíprocos
<b>Grupo I</b>	1 x 3	3 x 1
1. JAB-11	1 x 4	4 x 1
2. JAB-20	1 x 5	5 x 1
	1 x 6	6 x 1
<b>Grupo II</b>		
3. PI 140471	2 x 3	3 x 2
4. PI 157082	2 x 4	4 x 2
5. PI 420145	2 x 5	5 x 2
6. PI 482398	2 x 6	6 x 2

As sementes híbridas foram obtidas no segundo semestre de 2014. Foram cultivadas 10 plantas de cada linhagem e de cada acesso (PI), para a obtenção dos híbridos e recíprocos. O meloeiro é uma planta alógama, havendo, portanto, a necessidade de cuidados para evitar a contaminação de pólen indesejável nos cruzamentos. A emasculação das flores andrógenas foi realizada manualmente quando estavam no estágio de botão floral, com

posterior proteção do botão já emasculado, sendo realizada nas primeiras horas do dia, com temperaturas amenas.

Para a polinização, as flores masculinas foram, previamente, protegidas para não ocorrer contaminação e a coleta de pólen foi realizada no período da tarde, quando a liberação dos grãos de pólen é mais eficiente. Realizada a polinização, o botão foi protegido com saquinho de papel e identificaram-se os genitores, por meio de uma etiqueta. Após o pegamento do fruto, o saquinho de proteção foi retirado.

Com a completa maturação, os frutos foram colhidos e as sementes retiradas manualmente junto à placenta. Posteriormente, foram lavadas em água corrente e secas a temperatura ambiente, sobre papel toalha. Quando secas, foram colocadas em saquinhos de papel, identificando o cruzamento, e armazenadas em câmara fria a temperatura de 10°C.

### **2.3 Condução do experimento**

Para esse experimento foram utilizados seis genótipos e seus cruzamentos, descritos na Tabela 1. O experimento foi realizado em bandejas, conforme método proposto por Santos et al. (2013). As bandejas foram preenchidas com mistura de subsolo, esterco curtido e substrato comercial Bioplant®, na proporção 2:1:1, que foi, previamente, peneirada e esterilizada em autoclave a 45°C, por 1 hora. Foram semeadas duas sementes de cada genótipo por célula da bandeja (128 alvéolos) e, posteriormente, realizou-se o desbaste das plantas, levando-se em conta a uniformidade em relação as outras plantas do mesmo genótipo.

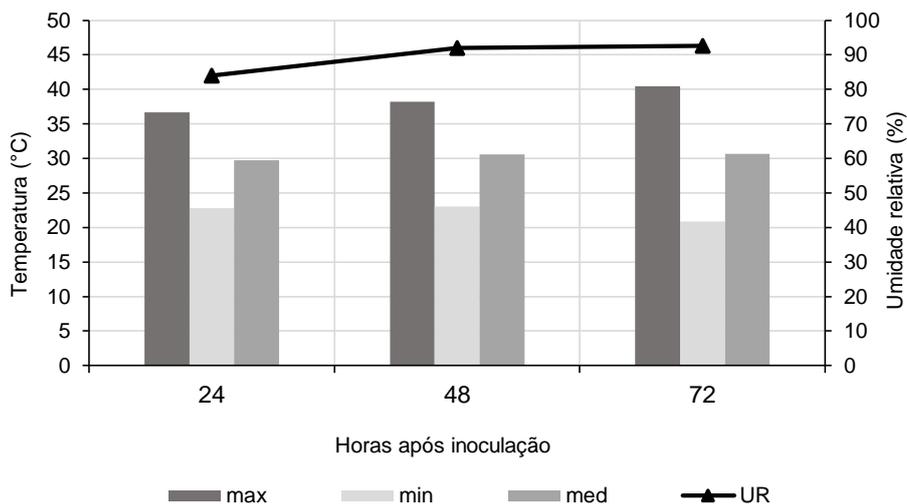
O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com três repetições. A parcela foi composta por oito plântulas, sendo esta, uma linha de oito células da bandeja. Para se evitar o microclima, o adensamento das plântulas e facilitar a inoculação nas plântulas, as parcelas foram intercaladas entre si por fileiras de células apenas com o substrato. Desta forma, cada bloco foi composto por duas bandejas para avaliação da resistência e o controle por outras duas bandejas, na mesma ordem dos genótipos.

A inoculação nas plantas foi realizada com o mesmo isolado utilizado no experimento de reação dos acessos e pelo método do palito (SIVIERO;

MENTEN, 1995; VERZIGNASSI et al., 2004), coletado em plantas de melão cultivadas em casa de vegetação, no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais, pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP-FCAV), Câmpus de Jaboticabal-SP.

O isolamento do patógeno foi realizado por meio da técnica direta, retirando-se picnídios formados em lesões nas plantas com sintomas típicos do cancro-da-haste. Após a obtenção da cultura pura do fungo, foi realizada a repicagem para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), de onde após 20 dias foram retirados fragmentos do micélio, com 5 mm de diâmetro e utilizados para inoculação.

Quando as plantas apresentaram a segunda folha definitiva, totalmente expandida, procedeu-se a inoculação dos discos contendo o micélio, como também dos discos contendo somente meio de cultura (testemunha). Em seguida as bandejas foram acondicionadas em câmara úmida e, deixadas por 72 horas, sendo, posteriormente, transferidas para a casa de vegetação de produção de mudas.



**Figura 1.** Médias da temperatura e umidade relativa do ar às 24, 48 e 72 horas de câmara úmida, após a inoculação de *Didymella bryoniae* em meloeiro. UNESP-FCAV, Jaboticabal-SP, 2016.

A avaliação da resistência foi realizada aos sete dias após a inoculação (DAI). Conforme a nota de cada planta na parcela e nas repetições, foi obtida a média de cada genótipo. Para isso, foi utilizada uma escala de notas, proposta

por Dusi et al. (1994), com notas de 0 a 4 (0= ausência de sintomas visíveis; 1= lesão encharcada na haste da planta até 1 cm de diâmetro; 2= lesão encharcada na haste da planta com mais de 1 cm de diâmetro; 3= lesão parcialmente necrosada na haste com murcha parcial da planta e 4= necrose da haste com murcha total e morte da planta).

## 2.4 Análises estatísticas

A análise do dialelo foi realizada de acordo com o modelo proposto por Griffing (1956), adaptado a dialelo parcial por Geraldi e Miranda Filho (1988). O efeito de tratamento (seis genitores e oito híbridos), considerado como fixo, foi decomposto em capacidade geral (CGC) e específica de combinação (CEC); o efeito de ambientes foi considerado como aleatório.

O modelo estatístico em questão foi:

$$Y_{ij} = \mu + 1/2(d_1 + d_2) + g_i + g'_j + s_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

em que:  $Y_{ij}$  é a média do cruzamento do  $i$ -ésimo progenitor do grupo 1 com o  $j$ -ésimo progenitor do grupo 2;  $Y_{i0}$  é a média do  $i$ -ésimo progenitor do grupo 1 ( $i = 0, 1, \dots, p$ );  $Y_{0j}$  é a média do  $j$ -ésimo progenitor do grupo 2 ( $j = 0, 1, \dots, q$ );  $\mu$  é média geral;  $d_1$  e  $d_2$  são os contrastes das médias dos grupos 1 e 2 e da média geral;  $g_i$  é o efeito da capacidade geral de combinação do  $i$ -ésimo progenitor do grupo 1;  $g'_j$  é o efeito da capacidade geral de combinação do  $j$ -ésimo progenitor do grupo 2;  $s_{ij}$ : efeito da capacidade específica de combinação para os cruzamentos entre os genitores de ordem  $i$  e  $\varepsilon_{ij}$ : erro experimental. Esse modelo linear foi utilizado para obter informações dos híbridos e dos recíprocos separadamente.

Os p-valores das somas de quadrados dos efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) foram calculados via soma de quadrados. Além disso, houve maior interesse em combinações híbridas entre genótipos resistentes e suscetíveis, não interessando algumas combinações, havendo pouca necessidade de explorar outros desdobramentos além da CGC.

As análises foram realizadas com o auxílio do software GENES (CRUZ, 2013) para avaliar os cruzamentos.

Os efeitos genéticos aditivos envolvidos na determinação dos caracteres foram calculados pela relação entre os quadrados médios da capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) de acordo com a equação proposta por Beker (1978):  $\%CGC = \frac{CGC}{(CGC+CEC)} \times 100$ .

Para testar se os efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC), diferem estatisticamente de zero foi aplicado o teste t de acordo com a fórmula:

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{S}$$

em que:

t=Estatística t;

$\bar{X}$  =Valor da CGC ou CEC;

$\mu$  =Valor zero;

$S$  = Erro padrão de CGC ou CEC.

Sendo o p-valor calculado utilizando distribuição t bilateral e graus de liberdade igual ao número de cruzamentos totais do dialelo.

Para selecionar cruzamentos ( $F_1$ 's e seus recíprocos) altamente resistentes à *D. bryoniae*, foi construído um gráfico de dispersão selecionando cruzamentos classificados com *score* menor ou igual a um, tanto para o  $F_1$  quanto para o recíproco.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo para tratamentos e para os grupos de cruzamentos utilizados, tanto para  $F_1$ 's, quanto para seus recíprocos (Tabela 2). O desdobramento dos graus de liberdade (GL) de tratamentos permitiu obter informações da CGC de cada grupo separadamente. Observou-se efeito significativo para CGC presentes em G-I e G-II (Tabela 2). Esses resultados sugerem presença de efeito aditivo no controle da herança desse caráter.

Não se observou efeito significativo de CGC para os genitores do G-I, nos recíprocos. Este resultado tem pouca aplicabilidade, pois os genitores desse grupo são suscetíveis à *D. bryoniae*. Porém, houve efeito significativo de CGC para os genitores do G-II. O efeito da CGC indica a superioridade dos genitores no dialelo e a tendência em acrescentar ou diminuir a média de um determinado caráter.

O efeito da CEC indica o complemento entre os genitores com relação aos genes com efeito de dominância. Os cruzamentos recíprocos apresentaram efeito significativo para CEC (Tabela 2), indicando que a produção de híbridos entre esses genitores pode influenciar na obtenção de genitores resistentes.

**Tabela 2.** Análise de variância dialélica para severidade de doença de *Didymella bryoniae* em genótipos de meloeiro. UNESP-FCAV, Jaboticabal-SP, 2016.

Fonte de variação	GL	$F_1$ 's	Recíprocos
		QM	QM
Tratamentos	13	1,681**	2,009**
Grupos	1	9,481**	8,540**
CGC I	1	1,616*	1,064 <sup>ns</sup>
CGC II	3	2,311**	2,831**
CEC	8	0,478 <sup>ns</sup>	1,003**
Resíduo	26	0,294	0,261
CGC I (%)		36,70	21,70
CGC II (%)		52,50	57,80

\*\* , \* , <sup>ns</sup> Significativos a 1, 5% e não significativo pelo teste F.

Com o desdobramento das somas de quadrados e significância de CGC, indica-se que existe pelo menos um genitor superior aos demais, com relação ao desempenho médio em combinações híbridas, pois considera-se que o efeito

de CGC é um indicador da superioridade do parental e de sua divergência relativa entre os demais parentais (ROCHA et al., 2014). Isso mostra que existe predomínio da variância aditiva no controle genético da resistência de genótipos de meloeiro ao fungo *D. bryoniae* nos genitores do G-II, ou seja, 52,50% e 57,80% da estimação da variância é composta de CGC, ou de efeitos genéticos aditivos envolvidos na determinação dos caracteres, para os  $F_{1s}$  e recíprocos respectivamente.

Na seleção de genitores para cruzamentos, por meio do dialelo, a escolha é realizada com base nas estimativas da CGC e da CEC, em que se busca identificar populações cujos genitores apresentem elevada estimativa dessas capacidades, ou seja, genitores que proporcionem a obtenção de populações segregantes que apresentem a média desejada e variabilidade genética de magnitude expressiva, parâmetros fundamentais em uma população destinada a obtenção de linhagens (RAMALHO et al., 2012).

As estimativas de CGC para os  $F_{1s}$  e recíprocos, das linhagens JAB-11 e JAB-20 (G-I), mostram que JAB-20 apresenta estimativa negativa e significativa, ao contrário de JAB-11 (Tabela 3). Isso indica que, de modo geral, os cruzamentos com JAB-20 podem resultar em indivíduos de menores médias e, portanto, maior possibilidade de identificar indivíduos resistentes. Quando se deseja reduzir a média de um caráter, como no caso desse estudo, pelo menos um dos genitores deve apresentar valor negativo (KRAUSE et al., 2012).

Em relação às estimativas de CGC dos genitores do G-II, quanto a resistência à *D. bryoniae* (Tabela 3), cabe ressaltar que, apenas os genitores PI 420145 e PI 482398 apresentaram estimativas negativas e significativas, para os  $F_{1s}$  e recíprocos, respectivamente.

Esses genitores podem ser indicados para uso em cruzamentos, quando o objetivo do programa de melhoramento for aumentar a resistência de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*.

O PI 140471 apresentou estimativa de CGC negativa para  $F_{1s}$  e positiva para o recíproco, porém baixas e não significativas. O PI 157082 apresentou estimativas positivas de CGC, para o  $F_{1s}$  e seu recíproco (Tabela 3), possivelmente por concentrar menor número de alelos relacionados à resistência à *D. bryoniae*. Tal resultado remete que PI 157082 é realmente apenas medianamente resistente.

**Tabela 3.** Estimativa da capacidade geral de combinação (CGC) para resistência de genótipos de meloeiro à *Didymella bryoniae*, envolvendo seis genitores, em dois grupos, utilizados em cruzamento dialélico parcial. UNESP-FCAV, Jaboticabal-SP, 2016.

Genitores	$\hat{g}_i$			
	F <sub>1</sub> 's	Pr > t	Recíprocos	Pr >  t
<b>Grupo I</b>				
1. JAB-11	0,183	0,0022	0,148	0,0022
2. JAB-20	-0,183	0,0022	- 0,148	0,0022
Erro padrão (Gi)	0,073		0,073	
<b>Grupo II</b>				
3. PI 140471	-0,030	0,7120	0,116	0,1581
4. PI 157082	0,514	0,0003	0,507	0,0002
5. PI 420145	-0,278	0,0093	-0,371	0,0015
6. PI 482398	-0,206	0,0337	-0,253	0,0110
Erro padrão (Gi)	0,110		0,104	

Considerando o efeito da CEC, para F<sub>1</sub>'s e recíprocos (Tabela 4), foram observadas 12 combinações que apresentaram estimativas negativas, sendo sete delas significativas (Tabela 4).

Dentre os cruzamentos de JAB-11 com os genitores do G-II, as combinações JAB-11 x PI 420145 e JAB-11 x PI 482398 apresentaram estimativas de CEC negativas e significativas (Tabela 4), para F<sub>1</sub>'s e seus recíprocos, respectivamente. Assim, essas combinações podem resultar em progênie altamente resistentes à *D. bryoniae*, tanto no F<sub>1</sub>'s, quanto no recíproco. O acesso PI 140471 não apresentou boa combinação de complementariedade genética com JAB-11 (JAB-11 x PI 140471).

Nos cruzamentos com JAB-20, os acessos PI 140471 e PI 482398 resultaram nas melhores combinações. O cruzamento JAB-20 x PI 140471 apresentou estimativas de CEC negativas elevadas e significativas (Tabela 4), para o F<sub>1</sub> e seu recíproco, respectivamente. Já a combinação JAB-20 x PI 482398 também apresentou estimativas negativas, no entanto, significativa apenas para o recíproco. Esses resultados sugerem que o uso dos genitores ora

como macho ora com fêmea é necessário para obtenção de melhores resultados.

**Tabela 4.** Estimativa da capacidade específica de combinação (CEC) para resistência de genótipos de meloeiro à *Didymella bryoniae*, envolvendo seis genitores, em dois grupos, utilizados em cruzamento dialélico parcial. UNESP-FCAV, Jaboticabal-SP, 2016.

Cruzamentos	$\hat{S}_{ij}$			
	F <sub>1</sub> 's	Pr >  t	Recíproco	Pr >  t
JAB-11 x PI 140471	0,041 <sup>ns</sup>	0,6821	0,628 <sup>**</sup>	0,0002
JAB-11 x PI 157082	0,454 <sup>**</sup>	0,0020	-0,015 <sup>ns</sup>	0,8733
JAB-11 x PI 420145	-0,211 <sup>*</sup>	0,0415	-0,720 <sup>**</sup>	<0,0001
JAB-11 x PI 482398	-0,367 <sup>**</sup>	0,0062	-0,417 <sup>**</sup>	0,0023
JAB-20 x PI 140471	-0,619 <sup>**</sup>	0,0003	-0,772 <sup>**</sup>	<0,0001
JAB-20 x PI 157082	-0,155 <sup>ns</sup>	0,1468	0,133 <sup>ns</sup>	0,1809
JAB-20 x PI 420145	-0,061 <sup>ns</sup>	0,5415	-0,074 <sup>ns</sup>	0,4333
JAB-20 x PI 482398	-0,166 <sup>ns</sup>	0,1235	-0,453 <sup>**</sup>	0,0014
DP (S <sub>ij</sub> )	0,268		0,253	

Embora, negativas as estimativas de CEC do cruzamento JAB-20 x PI 420145 foram não significativas e próximas de zero.

O acesso PI 157082 não apresentou boas combinações com JAB-11 e JAB-20, portanto, não é indicado para cruzamentos visando linhagens altamente resistentes à *D. bryoniae*.

Outro ponto a se considerar na escolha de genitores para cruzamentos é a existência de efeito recíproco. Rocha et al. (2014), sugerem que o uso de contrastes torna possível verificar a existência de efeito recíproco nos genótipos. Portanto, considerando que os contrastes entre os híbridos e seus recíprocos foram significativos, existe evidência do efeito recíproco para resistência ao fungo *D. bryoniae* nos genótipos de meloeiro avaliados neste experimento.

Conforme Tabela 5, houve diferença significativa em três contrastes entre híbridos e recíprocos, como: (JAB-20 x PI 140471) vs (PI 140471 x JAB-20), (JAB-20 x PI 420145) vs (PI 420145 x JAB-20) e (JAB-20 x PI 482398) vs (PI

482398 x JAB-20), evidenciando efeito recíproco (REC) na resistência de híbridos de meloeiro à *D. bryoniae*.

**Tabela 5.** Contrastes entre médias (três repetições) do F<sub>1</sub>'s e seu recíproco (REC) na resistência de híbridos de meloeiro à *Didymella bryoniae*, envolvendo seis genitores, em dois grupos, utilizados em cruzamento dialélico parcial. UNESP-FCAV, Jaboticabal-SP, 2016.

Cruzamentos	Contraste		Variância	Pr > t	
	F <sub>1</sub> 's	REC			
JAB-11 x PI 140471	1,58	vs	2,16	1,430	0,063
JAB-11 x PI 157082	2,54	vs	1,91	0,070	0,672
JAB-11 x PI 420145	1,08	vs	0,33	0,041	0,744
JAB-11 x PI 482398	1,00	vs	0,75	1,581	0,052
JAB-20 x PI 140471	0,55	vs	0,47	5,052	0,001*
JAB-20 x PI 157082	1,56	vs	1,76	0,066	0,681
JAB-20 x PI 420145	0,86	vs	0,68	2,026	0,029*
JAB-20 x PI 482398	0,83	vs	0,42	2,717	0,012*

\*Nota: P-valores de contrastes significativos, indicam que há evidências de efeito do recíproco.

O efeito de recíprocos apresenta implicações na estimativa dos efeitos genéticos. Este efeito pode ser dividido ainda em efeito materno (MAT) e não materno (NMAT). Os efeitos maternos são atribuíveis a fatores genéticos citoplasmáticos e os efeitos não maternos podem ser explicados pela interação entre genes nucleares e efeitos de genes citoplasmáticos (WU; MATHESON, 2001).

Quando o efeito do recíproco é devido ao componente materno, este pode persistir durante as gerações e pode ser explorado, porém, se for devido ao componente não-materno o efeito pode ser perdido durante as gerações. Por isso, como estratégia de melhoramento, há necessidade de considerar os fatores nucleares e não nucleares na seleção de plantas, pois quando há efeito recíproco é fundamental a definição de qual genitor será utilizado como fêmea ou macho (WU; MATHESON, 2001).

Quando ocorre efeito recíproco, atenção especial deve ser dada no momento da seleção dos melhores cruzamentos, pois o fenótipo dos descendentes será influenciado pelo genótipo materno. No caso em estudo, há diferenças recíprocas para os acessos PI 140171, PI 420145 e PI 482398,

apenas quando cruzados com o parental JAB-20 (Tabela 5). Desta forma, esses genótipos devem ser utilizados como fêmea nos cruzamentos com JAB-20.

Até o momento, não há relato de informação sobre o efeito de recíprocos atuando na resistência de genótipos de meloeiro à *D. bryoniae*. No entanto, em pepino, Amand e Wehner (2001), identificaram diferenças recíprocas com herança citoplasmática em cruzamentos entre os genótipos M 17 X 'Wis.SMR 18' e 'Slice' x 'Wis.SMR 18', corroborando os resultados obtidos neste estudo.

A escolha dos melhores cruzamentos para obtenção de linhagens com resistência à *D. bryoniae*, passa diretamente pelo nível de resistência dos parentais e de seus híbridos. Nesse caso, deve-se priorizar os cruzamentos que apresentem alta resistência, que no cancro-da-haste em meloeiro, são aqueles com nota média de sintomas até 1,0, ou seja, tamanho de lesão <1,0 cm.

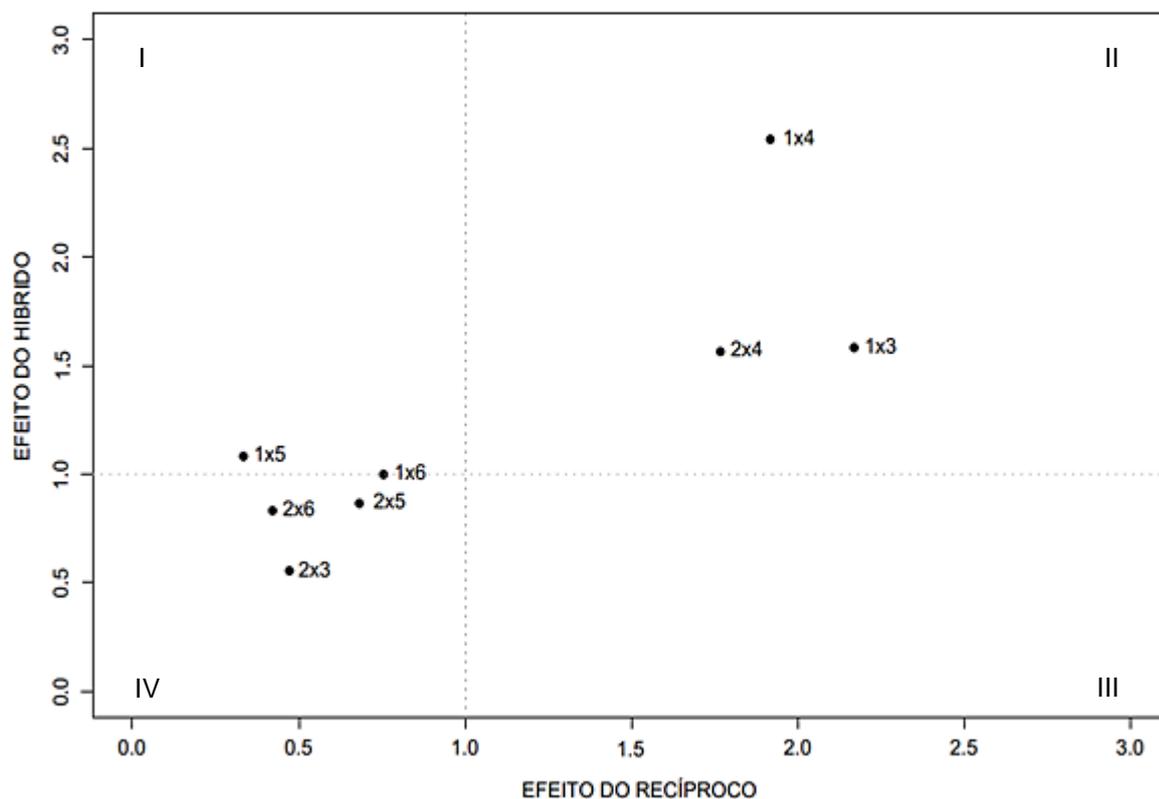
Conforme, gráfico de dispersão das médias de sintomas de severidade do cancro-do-haste para os híbridos e seus recíprocos (Figura 2), dentre as oito combinações híbridas dos cruzamentos em dialelo parcial, quatro contribuíram para o aumento da resistência à *D. bryoniae*, simultaneamente, tanto para efeito do híbrido, como para o efeito do recíproco (quadrante IV), caracterizando uma maior frequência de alelos favoráveis à expressão de resistência presentes nessas combinações, quando comparados aos demais. O que pode ser comprovado pelos valores negativos de CEC nas combinações híbridas desses cruzamentos.

Os cruzamentos JAB-20 X PI 140471, JAB-20 X PI 420145 e JAB-20 X PI 482398 apresentaram nota média de sintomas < 1,0, tanto para híbridos quanto para seus recíprocos (Figura 2). Destaca-se que a combinação híbrida JAB-20 X PI 140471 apresentou a menor média de sintomas, simultaneamente para híbridos e recíprocos, dentre os citados anteriormente.

Dentre os cruzamentos com JAB-11 (genitor 1), o cruzamento JAB-11 X PI 482398 apresentou nota média de sintomas do cancro-da-haste para o híbrido igual a 1,0 e para o recíproco < 1,0. Embora, o cruzamento JAB-11 X PI 420145 tenha apresentado nota média do híbrido acima de 1,0, seu recíproco apresentou menor nota média de sintomas entre todos os cruzamentos.

Os cruzamentos das linhagens JAB-11 e JAB-20 com PI 157082 apresentaram F<sub>1</sub>s e recíprocos ora medianamente resistentes, ora suscetíveis.

Esses resultados refletem o que já se observava para esse genitor em outras avaliações no capítulo de reação dos acessos.



**Cruzamentos:** 1 x 3 (JAB-11 X PI 140471); 1 x 4 (JAB-11 X PI 157082); 1 x 5 (JAB-11 X PI 420145); 1 x 6 (JAB-11 X PI 482398); 2 x 3 (JAB-20 X PI 140471); 2 x 4 (JAB-20 X PI 157082); 2 x 5 (JAB-20 X PI 420145); 2 x 6 (JAB-20 X PI 482398).

**Figura 2.** Dispersão das médias de severidade do cancro-da-haste em híbridos e recíprocos de meloeiro.

#### 4 CONCLUSÕES

Os genitores PI 420145 e PI 482398 são indicados para cruzamentos, visando obtenção de linhagens de meloeiro com resistência à *Didymella bryoniae*;

Os genitores PI 482398, PI 420145 e PI 140471 cruzados com JAB-20 apresentam efeito do recíproco, indicando a existência de efeito materno. Esse efeito deve ser levando em conta nos cruzamentos e seleção das linhagens com resistência à *Didymella bryoniae*;

Os cruzamentos JAB-11 x PI 420145, JAB-11 x PI 482398, JAB-20 x PI 140471, JAB-20 x PI 420145 e JAB-20 x PI 482398 podem gerar linhagens altamente resistentes a *Didymella bryoniae*.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. C.; SILVA, A. A.; CONRADO, T. V.; MALUF, W. R.; ANDRADE, T. M.; OLIVEIRA, C. M. Capacidade combinatória de linhagens de tomateiro em híbridos do tipo italiano. **Bragantia**, Campinas, v. 73, n. 3, p. 237-245, 2014.

AMAND, P. C. St.; WEHNER, T. C. Generation means analysis of leaf and stem resistance to gummy stem blight in cucumber. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 126, n. 1, p. 95–99, 2001.

BEKER, R. J. Issues in diallel analysis. **Crop Science**, Madson, v. 18, n. 4, p. 533-536, 1978.

CARDON, C. H.; SANTOS, G. R.; TSCHOEKE, P. H.; SÁGIO, S. A.; DALCIN, M. S.; AGUIAR, R. W. S. Eficácia de fungicidas associados a inseticidas sobre o crestamento gomoso do caule e produtividade do meloeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 42, n. 1, p. 79-84, 2016.

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

DUSI, A. N.; TASAKI, S.; VIEIRA, S. V. Metodologia para avaliação de resistência à *Didymella bryoniae* em melão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 12, n. 1, p. 43-44, 1994.

ENGELSING, M. J.; ROZZETTO, D. S.; COIMBRA, J. L. M.; ZANIN, C. G.; GUIDOLIN, A. F. Capacidade de combinação em milho para resistência a *Cercospora zeaе-maydis*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 232-241, 2011.

GARDNER, C. O.; EBERHART, A. S. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**, Chichester, v. 22, n. 3, p. 439-452, 1966.

GASPAROTTO, F.; VIDA, J. B.; TESSMANN, D. J.; ALVES, T. C. A. Infecção latente de *Didymella bryoniae* em meloeiro nobre. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 62-64, 2011.

GASPAROTTO, F.; VIDA, J. B.; TESSMANN, D. J.; BONALDO, S. M.; AGUIAR, R. L.; PENHARBEL, M. P. Eficiência de métodos para detecção de *Didymella bryoniae* associado a sementes de híbridos de meloeiros nobres. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 397-402, 2009.

GERALDI, I. O.; MIRANDA-FILHO, J. B. Adapted models for the analysis of combining ability of varieties in partial diallel crosses. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 11, p. 419-430, 1988.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, East Melbourne, v. 9, n. 4, p. 463-493, 1956.

KEINATH, A. P. Baseline sensitivity of *Didymella bryoniae* to cyprodinil and fludioxonil and field efficacy of these fungicides against isolates resistant to pyraclostrobin and boscalid. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 99, n. 6, p. 815-822, 2015.

KEINATH, A. P. From native plants in Central Europe to cultivated crops worldwide: the emergence of *Didymella bryoniae* as a cucurbit pathogen. **HortScience**, Alexandria, v. 46, n. 4, p. 532-535, 2011.

KRAUSE, W.; RODRIGUES, R.; LEAL, N. R. Capacidade combinatória para características agronômicas em feijão de vagem. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 3, p. 522-531, 2012.

NOGUEIRA, D. W.; MALUF, W. R.; FIGUEIRA, A. R.; MACIEL, G. M.; GOMES, L. A. A.; BENAVENTE, C. A. T. Combining ability of summer-squash lines with different degrees of parthenocarpy and PRSV-W resistance. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 616-623, 2011.

PÁDUA, T. R. P. de; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; CARVALHO FILHO, J. L. S. de; GONÇALVES NETO, A. C.; ANDRADE, M. C. Capacidade combinatória de híbridos de tomateiro de crescimento determinado, resistentes a Begomovirus e Tosspovirus. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 8, p. 818-825, 2010.

RAMALHO, M. P.; SANTOS, J. B. D.; PINTO, C. A. B. P.; SOUZA, E. A.; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. D. **Genética na agropecuária**. 5. ed. revisada. Lavras, MG: Editora UFLA, 2012. 566 p.

ROCHA, F.; STINGHEN, J. C.; GEMELI, M. S.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F. Análise dialélica como ferramenta na seleção de genitores em feijão. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 1, p. 74-81, 2014.

SANTOS, G. R.; LEÃO, E. U.; GARCIA, M. M. V.; MALUF, W. R.; CARDON, C. H.; GONÇALVES, C. G.; NASCIMENTO, I. R. Reação de genótipos experimentais de melancia ao crestamento gomoso do caule. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 31, n. 4, p. 540-548, 2013.

SIVIERO, A.; MENTEN, J. O. M. Uso do método do palito para inoculação de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* em soja. **Summa Pytopathologica**. Jaguariúna, v. 21, n. 3-4, p. 259-260, 1995.

VARGAS, P. F.; GALATTI, F. S.; SOUZA, J. O.; CASTOLDI, R.; CHARLO, H. C. O.; BRAZ, L. T. Avaliação de parentais e híbridos experimentais de melão rendilhado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, p. 34, n. 5, p. 1102-1108, 2010.

VERZIGNASSI, J. R.; VIDA, J. B.; GASPAROTTO, F.; CORTEZ, G. L. S.; LORENZETTI, E. R.; FARIA, G. S. F.; TESSMANN, D. J.; SEVERINO, J. J. 2004. Método do palito para inoculação de *Didymella bryoniae* em melão-nobre e pepino-“japonês”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 154. (Suplemento).

WU, H. X.; MATHESON, A. Reciprocal, maternal and non-maternal effects in radiata pine diallel mating experiment on four Australia sites. **Forest Genetics**, Rotorua, v. 8, n. 3, p. 205-212, 2001.