



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA

GÉRFFESON THIAGO MOTA DE ALMEIDA SILVA

**METODOLOGIA PARA SELEÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA E OBTENÇÃO
DE FAMÍLIAS DE MELOEIRO RESISTENTES À RIZOCTONIOSE**

FORTALEZA

2019

GÉRFFESON THIAGO MOTA DE ALMEIDA SILVA

METODOLOGIA PARA SELEÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA E OBTENÇÃO DE
FAMÍLIAS DE MELOEIRO RESISTENTES À RIZOCTONIOSE

Tese de Doutorado apresentada ao curso de Doutorado em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S58m Silva, Gérffeson Thiago Mota de Almeida.
Metodologia para seleção de fontes de resistência e obtenção de famílias de meloeiro resistentes à rizoctoniose / Gérffeson Thiago Mota de Almeida Silva. – 2019.
76 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão.
1. Cucumis melo. 2. Rhizoctonia solani. 3. Germoplasma. 4. Seleção. 5. Resistência. I. Título.
CDD 630
-

GÉRFFESON THIAGO MOTA DE ALMEIDA SILVA

METODOLOGIA PARA SELEÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA E OBTENÇÃO DE
FAMÍLIAS DE MELOEIRO RESISTENTES À RIZOCTONIOSE

Tese de Doutorado apresentada ao curso de Doutorado em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

Aprovada em 30 / 05 / 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão (Orientador)
Embrapa Agroindústria Tropical / UFC

Prof. Dr. José Emilson Cardoso
Embrapa Agroindústria Tropical / UFC

Prof^a. Dra. Cândida Hermínia Campos de Magalhães
Universidade Federal do Ceará

Dra. Christiana de Fátima Bruce da Silva
Embrapa Agroindústria Tropical

Dra. Elaine Facco Celin
CAPES-FUNCAP / UFC / Embrapa Agroindústria Tropical

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da Vida e pelo seu amor incondicional.

À minha mãe, Núbia Mota de Almeida Silva, e ao meu pai, Calisto da Silva, pelo o amor e o apoio incondicional durante o decorrer de minha vida. Por toda paciência com as minhas ausências e por me darem o exemplo prático da humildade, força e perseverança. Eles são, modéstia à parte, os melhores pais que alguém poderia ter. A base da minha vida!

À minhas queridas irmãs, Géssica Thamires Mota de Almeida Silva Amorim e Geniffer Tharcilla Mota de Almeida Silva, por todo o apoio cedido durante todos esses anos de vida acadêmica. Apesar da distância física, estivemos sempre ligados e esse elo de amor me deu forças para continuar nos momentos mais difíceis.

A minha vozinha, Elite Mota de Almeida, vulgo ‘Vó Lita’, pelas orações constantes e pelo exemplo de vida e ensinamentos importantes. Aos meus primos, tios e demais familiares pelo apoio constante e por sempre acreditarem em mim.

À Universidade Federal do Ceará, ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia e a Embrapa Agroindústria Tropical pela oportunidade da realização do Doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior – CAPES, pelo apoio financeiro através da concessão de bolsa de estudo, que me possibilitou realizar o curso de Doutorado.

Ao meu orientador, Professor Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão, com quem aprendi muito. Agradeço por toda paciência, confiança, amizade, profissionalismo e competência. Foi um convívio enriquecedor.

À Dra Christiana de Fátima Bruce da Silva, por todos os ensinamentos e pela parceria firmadas entre os laboratórios para o desenvolvimento de algumas etapas do trabalho.

À minha namorada, Elane Bezerra da Silva, que sempre acreditou no meu potencial, sendo paciente comigo quando enfrentava momentos difíceis, me encorajando a não desistir e por todo apoio prestado. Muito obrigado por todos os bons momentos que me deram forças para concluir esse grande passo.

Ao meu grande amigo Frederico Inácio Costa de Oliveira, obrigado por todos os momentos compartilhados e o apoio sem limites cedido a essa pesquisa, faça chuva ou faça sol. Agradeço pela companhia diária, pelo ombro amigo, pela confiança.

Aos amigos do Laboratório de Melhoramento e Recursos Genéticos Vegetais: Alexya Vitória, Ariana Veras, Caíque Duarte, Edilson, Elaine Celin, Frederico Inácio, Higor

Ximenes, Letícia Vasconcelos, Liliana Leitão, Renata Fernandes e Thais Pinheiro e aos amigos do Laboratório de Patologia Pós-colheita: Antônio Ageu, Caroliny Bento, Gina Senna, Natália Moura e Raphaelly Amorim, agradeço por todos os momentos de descontração, todas as experiências e aprendizados compartilhados. Em especial, Frederico Inácio, Alexya Vitória, Thais Pinheiro, Letícia Vasconcelos e Raphaelly Amorim, pela presença e ajuda constantes em muitas das etapas deste trabalho. Desejo todo o sucesso pessoal e profissional para todos.

Aos amigos da República Canapum: Jorge França, Falkner Santana, Willame Cavalcante, Edilson Bieh, Eduardo Pereira e Raimundo Henrique, pelo companheirismo e pelos momentos de descontração. A todas as demais amizades firmadas por conta dessa república, durante todos esses anos, agradeço por todos os bons momentos.

Aos colegas de doutorado pelo entusiasmo, coleguismo, esperança e parceria principalmente durante o período das disciplinas e a todos os professores que contribuíram para minha formação.

Aos membros da Banca Examinadora: Prof. Dr. José Emilson Cardoso, Prof^a. Dra. Cândida Hermínia Campos de Magalhães, Dra. Christiana de Fátima Bruce da Silva e Dra. Elaine Facco Celin pelos valiosos comentários e sugestões, que permitiram aperfeiçoar este trabalho.

À cidade de Fortaleza-CE, onde pude compartilhar de momentos inesquecíveis que colaboraram para o crescimento emocional e pessoal e onde conheci pessoas admiráveis que espero levar por toda vida.

A todos meus sinceros agradecimentos.

“A verdadeira medida de um homem não se vê na forma como se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas em como se mantém em tempos de controvérsia e desafio”

Marthin Luther King

RESUMO

A rizoctoniose, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kühn, está entre as enfermidades mais comuns nos cultivos de meloeiro. O uso de cultivares resistentes é uma das medidas estrategicamente mais eficiente para o manejo integrado dessa doença, proporcionando benefícios ao ambiente, ao produtor e ao consumidor. Desse modo, o trabalho teve por objetivo desenvolver uma metodologia eficiente para seleção de germoplasma de meloeiro resistente a *R. solani*, bem como identificar fontes de resistência e obter linhagens promissoras. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação do Laboratório de Melhoramento e Recursos Genéticos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza-CE. Para o desenvolvimento da metodologia de avaliação da rizoctoniose em meloeiro, cinco experimentos foram conduzidos com o intuito de definir recipiente, ambiente de condução, substrato para produção do inóculo, avaliar a severidade de diferentes isolados, a densidade ideal do inóculo, o método de inoculação, estágio fenológico e tempo para avaliação após a inoculação. Foram avaliados 32 acessos, provenientes dos Bancos Ativos de Germoplasma de Meloeiro da Embrapa Hortaliças e de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro da Embrapa Semiárido, e, posteriormente, famílias S₁. Essas famílias S₁ foram obtidas a partir da autofecundação de plantas altamente resistentes dentre os acessos avaliados, seguindo os princípios do método de melhoramento genealógico. A severidade foi estimada por meio de uma escala de notas, variando de: 1 - ausência de sintomas; 2 - hipocótilo com pequenas lesões; 3 - hipocótilo com grandes lesões sem constrição; 4 - hipocótilo totalmente constricto e 5 - mudas tombadas. A severidade média (SV) dos genótipos foi utilizada para agrupar os genótipos nas seguintes classes de resistência: AR - altamente resistente (SV = 1,0); R - resistente (1,1 < SV < 2,0); I - intermediário (2,1 < SV < 3,0); S - suscetível (3,1 < SV < 4,0); AS - altamente suscetível (4,1 < SV < 5,0). A frequência de plantas resistentes também foi estimada pela razão entre o número de plantas altamente resistente (SV = 1,0) e o número de plantas avaliadas por genótipo. Métodos de agrupamento e análise de Componentes Principais foram utilizados para diferenciação e seleção dos genótipos. Os resultados possibilitam a recomendação de uma metodologia de avaliação de germoplasma de meloeiro quanto à reação a *Rhizoctonia solani*. A metodologia consiste na recomendação no uso de mudas com raízes cortadas no transplantio para vasos, contendo areia com inóculo areno-orgânico na concentração de 150 mg.kg⁻¹ de solo, obtido a partir de grãos de arroz, associado à inoculação com furo no colo da planta por palito de dente infestado com o fungo, acondicionado sem câmara úmida. Quanto à avaliação da resistência

do germoplasma de meloeiro, dez acessos foram classificados resistentes com destaque para BAGMEL 100, CNPH 15-276, BAGMEL 27, CNPH 15-446 e CNPH 93-692, que revelaram menores médias de severidade e maiores frequências de resistência, demonstrando potencial para o melhoramento genético visando à resistência à rizoctoniose. A partir das plantas selecionadas como altamente resistentes dentre os acessos, foram obtidas 16 famílias S₁, que evidenciaram a eficiência do processo de seleção, com ganhos relevantes em relação à média dos respectivos acessos dos quais foram selecionadas. Nessa geração, as melhores famílias foram CNPH 15-078_2, CNPH 11-233_1, CNPH 15-276_1, CNPH 16-439_1, CNPH 16-439_2, CNPH 15-446_2 e CNPH 93-689_4, a partir das quais foram selecionadas as plantas para obtenção das famílias S_{1:2}. Portanto, a metodologia estabelecida foi eficiente para obtenção de genótipos superiores, os quais visam à introgressão da resistência à rizoctoniose em genótipos-elite de meloeiro.

Palavras-chave: *Cucumis melo*. *Rhizoctonia solani*. Germoplasma. Severidade. Seleção. Resistência.

ABSTRACT

Rhizoctoniosis, caused by the fungus *Rhizoctonia solani* Kühn, is among the most common diseases in melon crops. The use of resistant cultivars is one of the most strategically efficient measures for the integrated management of this disease, providing benefits to the environment, the producer and the consumer. Thus, the objective of this work was to develop an efficient methodology for the selection of *R. solani* resistant melon germplasm, as well as to identify resistance sources and obtain promising strains. The experiments were conducted under greenhouse conditions at the Embrapa Agroindústria Tropical's Laboratory of Plant Breeding and Genetic Resources in Fortaleza, CE. For the development of the methodology of evaluation of rhizoctoniosis in melon crops, five experiments were conducted with the purpose of defining container, conduction environment, substrate for inoculum production, severity of different isolates, ideal inoculum density, inoculation method, phenological stage and time for evaluation after the inoculation. Thirty - two accessions were evaluated, from the Melon Germplasm Active Banks of Embrapa Hortaliças and Cucurbitáceas for the Brazilian Northeast of Embrapa Semiárido, and later, S₁ families. These S₁ families were obtained from the self-fertilization of highly resistant plants among the evaluated accessions, following the principles of the genealogical improvement method. The severity was estimated by means of a grade scale, ranging from: 1 - absence of symptoms; 2 - hypocotyl with small lesions (também pode ser "wounds"); 3 - hypocotyl with large lesions without constriction; 4 - totally constricted hypocotyl and 5 - seedlings. The average severity (SV) of the genotypes was used to group the genotypes into the following resistance classes: AR - highly resistant (SV = 1.0); R-resistant (1.1 <SV> 2.0); I - intermediate (2.1 <SV> 3.0); S - susceptible (3.1 <SV> 4.0); AS - highly susceptible (4.1 <SV> 5.0). The resistant plants frequency was also estimated by the ratio between the number of highly resistant plants (SV = 1.0) and the number of plants evaluated by genotype. Methods of grouping and analysis of Principal Components were used for differentiation and selection of genotypes. The results allow the recommendation of a methodology for evaluation of melon germplasm regarding the reaction to *Rhizoctonia solani*. This methodology consists of the recommendation on the use of seedlings with cutted roots in the transplanting for pots, containing sand with a sandy-organic inoculum in the concentration of 150 mg.kg⁻¹ of soil, obtained from rice grains, associated with the inoculation with a hole in the stem of the plant per fungus-infested toothpick, conditioned without a humid chamber. Regarding the evaluation of the resistance of the melon germplasm, ten accessions were classified as resistant, with emphasis on BAGMEL 100, CNPH 15-276, BAGMEL 27, CNPH

15-446 and CNPH 93-692, which revealed lower means of severity and higher resistance frequencies, showing the potential for genetic improvement aiming at resistance to rhizoctoniosis. From the plants selected as highly resistant among the accessions, 16 S1 families were obtained, which have evidenced the efficiency of the selection process, with significant gains in relation to the average of the respective accesses from which they were selected. In this generation, the best families were CNPH 15-078_2, CNPH 11-233_1, CNPH 15-276_1, CNPH 16-439_1, CNPH 16-439_2, CNPH 15-446_2 and CNPH 93-689_4, from which the plants were selected to obtain the S_{1:2} families. Therefore, the established methodology was efficient to obtain superior genotypes, which aim at the introgression of resistance to rhizoctoniosis in elite genotypes of melon.

Keywords: *Cucumis melo*. *Rhizoctonia solani*. Germoplasm. Severity. Screening. Resistance.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Esquema ilustrando o processo de infestação de *Rhizoctonia solani* em sementes de meloeiro antes do semeio. A – infestação do substrato por meio de discos de micélio; B- Inoculação de sementes por meio de suspensão de hifas; C- Infestação do substrato por meio de inóculo de arroz. 34
- Figura 2 – Diagrama de dispersão do grau de severidade em função da concentração de inóculo de *R. solani*. 40
- Figura 3 – Modelos de regressão para a severidade de quatro combinações de inóculos de *Rhizoctonia solani* em quatro diferentes tempos para a avaliação. 42
- Figura 4 – Dissimilaridade genética entre acessos de meloeiro por meio do método Ligação Média Dentro de Grupo com base nas Distâncias Euclidianas, considerando a severidade e a frequência de plantas resistentes à rizoctoniose. 59
- Figura 5 – Dispersão gráfica de acessos de meloeiro quanto à resistência à rizoctoniose, em relação aos dois primeiros Componentes Principais. 61
- Figura 6 – Dissimilaridade genética entre famílias S₁ de meloeiro por meio do método Ligação Média Dentro de Grupo com base nas Distâncias Euclidianas, considerando a severidade e a frequência de plantas resistentes à rizoctoniose. 63
- Figura 7 – Dispersão gráfica de famílias S₁ de meloeiro quanto à resistência à rizoctoniose, em relação aos dois primeiros Componentes Principais. 64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Isolados de <i>Rhizoctonia solani</i> utilizados no experimento.	35
Tabela 2 – Médias da severidade em diferentes recipientes, condições de ambiente e tipo de inóculo de <i>Rizoctonia solani</i> em meloeiro.	37
Tabela 3 – Médias da severidade de diferentes isolados de <i>Rizoctonia solani</i> .	39
Tabela 4 – Médias da severidade <i>Rizoctonia solani</i> em diferentes estádios fenológicos de meloeiro.	41
Tabela 5 – Médias da severidade de diferentes métodos de inoculação de <i>Rizoctonia solani</i> em meloeiro.	42
Tabela 6 – Reação de acessos de meloeiro a <i>Rhizoctonia solani</i> , utilizando inóculo areno-orgânico.	56
Tabela 7 – Reação de famílias de meloeiro a <i>Rhizoctonia solani</i> , utilizando inóculo de areno-orgânico associado ao método do palito de dente.	62
Tabela 8 – Ganhos percentuais em severidade e na frequência de plantas resistentes das progênes em relação à média dos respectivos acessos das plantas selecionadas, quanto à resistência à rizoctoniose.	65

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	ESTADO DA ARTE.....	15
3	CAPÍTULO I METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À RIZOCTONIOSE EM GERMOPLASMA DE MELOEIRO	28
4	CAPÍTULO II IDENTIFICAÇÃO DE FONTES E OBTENÇÃO DE FAMÍLIAS S₁ DE MELOEIRO RESISTENTES À RIZOCTONIOSE	47
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
	REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

O meloeiro (*Cucumis melo* L.), pertencente à família das cucurbitáceas, é uma espécie olerícola de grande importância, sendo a nona entre as hortaliças mais produzidas no mundo, apresentando grande desenvolvimento nas últimas décadas. De 1997 para 2017, a área cultivada aumentou de 874 para 1.221 mil hectares e dobrou a produção, passando de 16 para 32 milhões de toneladas (FAO, 2019).

No Brasil, o agronegócio do melão foi alavancado pela expansão de cultivos comerciais no Nordeste, com crescimento constante e significativo de área e produção, resultando em incremento de 382% entre os finais das décadas de 80 e 90 (IBGE, 2019). Em 2017, foram produzidas, mais de 540 mil toneladas dessa hortaliça, sendo a região Nordeste responsável por 95% do total, com destaque para os Estados do Rio Grande do Norte (Polo Mossoró-Assu) e Ceará (Polo do Baixo Jaguaribe), os quais respondem por quase a totalidade das exportações brasileiras de melão (MDIC, 2019).

A boa adaptação do meloeiro às condições edafoclimáticas da região Nordeste, tem permitido o cultivo praticamente durante todo o ano, o que contribui para o estabelecimento de problemas fitossanitários nos plantios, especialmente pelas doenças que afetam a produtividade e qualidade dos frutos. Entre essas, a rizoctoniose tem sido uma das mais comuns nos campos de produção (ANDRADE et al., 2005a).

O fungo *Rhizoctonia solani* Kühn, causador da doença, que é altamente destrutiva e acarreta significativas perdas econômicas para os produtores, pode sobreviver tanto saprofiticamente no solo quanto infectando diretamente as plantas. Além disso, em condições adversas, pode formar escleródios e sobreviver por um grande período (MICHEREFF; ANDRADE; PERUCH; 2005). O fungo encontra-se distribuído na maioria dos solos agrícolas do mundo afetando mais de 500 espécies de plantas, o que dificulta mais ainda seu controle nos ambientes de cultivo (OGOSHI, 1987; AGARWAL, 2010; YANG; LI, 2012).

A infecção resulta em diferentes sintomas, como podridões de caules e raízes, tombamentos e apodrecimento de sementes (AGARWAL, 2010; OGOSHI, 1987). E, devido às características do patossistema, o controle é extremamente difícil, sendo a resistência genética considerada a melhor alternativa, devido à minimização de danos ao ambiente, produtor e consumidor (BRUTON, 1998).

Para a obtenção de um genótipo resistente a doenças, o desenvolvimento e padronização de metodologias de inoculação são etapas imprescindíveis para avaliação por

permitir uma seleção mais precisa da reação dos genótipos à doença (MEDEIROS et al., 2015).

Para a produção do inóculo, na literatura, há trabalhos sobre o emprego de substratos orgânicos, como aveia e arroz no crescimento fúngico em infestação junto ao solo (GOULART, 2006; MICHEREFF FILHO et al., 1996). Além desses, outras formas de cultivo e inoculação têm sido relatadas, tais como: suspensão de hifas, infestando sementes; discos de micélio na infestação de solos e inoculação a partir de palito-de-dente colonizado (SILVA, 2016a; VERZIGNASSI et al., 2004, SANTOS, 2009).

A caracterização da variabilidade genética do hospedeiro por meio da reação dos acessos ao patógeno torna-se necessária, permitindo selecionar genótipos resistentes (FALEIRO, et al., 2006). A região Nordeste possui uma grande diversidade de variedades crioulas de meloeiros, as quais vêm sendo utilizadas pelos pequenos agricultores, ao longo do tempo, portanto, potenciais portadoras de genes de interesse para os programas de melhoramento genético dessa hortaliça (NEITZKE, et al., 2009).

Quanto ao patossistema *Cucumis melo* - *Rhizoctonia solani*, observa-se que ainda são poucos os relatos sobre pesquisas voltadas para a identificação de fontes de resistência e, nenhuma para a obtenção de progênies a partir das fontes selecionadas, com o objetivo de desenvolver linhagens homozigotas resistentes.

Nesse contexto, o trabalho teve por objetivos desenvolver uma metodologia de inoculação eficiente, não destrutiva, para seleção de germoplasma de meloeiro resistentes a *Rhizoctonia solani*, selecionar genótipos e obter famílias resistentes à rizoctoniose.

2 ESTADO DA ARTE

Melão (*Cucumis melo* L.)

Aspectos Botânicos

O meloeiro, pertencente à família das Cucurbitáceas, é uma planta herbácea, anual, com número de ramificações variável e hábito de crescimento rasteiro. Possui gavinhas e as folhas são alternadas e angulosas no início do desenvolvimento, passando a subcordiformes quando estão totalmente expandidas. O sistema radicular é ramificado e os frutos apresentam diversas formas, tamanhos, e cores com polpa doce e sementes ovaladas e compridas (KIRKBRIDE, 1993; GOMES, 1998). A planta pode apresentar quatro tipos de expressão sexual: andromonoica, monóica, ginomonoica e hermafrodita (MONTEIRO et al., 2006).

Inúmeras teorias tentam explicar a real origem do meloeiro, todas apontando diferentes centros localizados desde a África até a Índia (KERJE; GRUM, 2000; MALLICK; MASUI, 1986; ROBINSON; DECKER-WALTERS, 1997; SABATO et al., 2015). Quanto à domesticação, acredita-se que tenha ocorrido por volta de 3000 anos a.C. (PITRAT; CHAUVET; FOURY, 1999). Registros históricos e arqueológicos de 2000 anos a.C. no Egito e 3000 anos a.C. no Irã relatam a presença da espécie (PITRAT; CHAUVET; FOURY, 1999). Já os primeiros registros de cultivos sugerem que tenha acontecido por volta de 2000 e 1000 anos a.C no Egito e na Índia, respectivamente (ROBINSON E DECKER-WALTERS, 1997).

A partir desses centros, o meloeiro foi disseminado (SERRES-GIARDI; DOGIMONT, 2012), favorecendo o surgimento de ampla variabilidade genética em populações locais, em todo mundo (NEITZKE et al., 2009; NHI et al., 2010; FERGANY et al., 2011; NASRABADI et al., 2012; ARAGÃO et al., 2013; MACÊDO et al., 2017).

Segundo PITRAT et al. (2000), existem dezesseis variedades botânicas nas quais o melão tem sido subdividido, 11 delas atribuídas à subespécie *melo* (*reticulatus*, *cantalupensis*, *inodorus*, *adana*, *chandalak*, *ameri*, *flexuosus*, *chafe*, *tibish*, *dudaim* e *chito*) e cinco à subespécie *agrestis* (*conomon*, *momordica*, *makuwa*, *chinensis*, e *acidulus*). Em uma publicação posterior a variedade *tibish* foi classificada como pertencente à subespécie *agrestis* (PITRAT, 2013).

No Brasil, os melões cultivados e comercializados de maior importância pertencem a três grupos botânicos, *inodorus*, *cantalupensis* e *reticulatus* (PITRAT, 2008). Esses grupos, por sua vez, são divididos numa classificação comercial denominada “tipo”. Esse agrupamento é baseado em características do fruto de fácil identificação, como o aspecto

da casca, cor do fruto maduro, presença ou ausência de características como suturas, reticulação, cicatrizes, formato do fruto, coloração da polpa, entre outras (MENEZES *et al.*, 2000). Os tipos de meloeiro mais cultivados no Brasil são: Amarelo, Pele-de-sapo e Honeydew (*inodorus*); Cantaloupe e Gália (*Reticulatus*); e Charentais (*Cantalupensis*) (MENEZES *et al.*, 2000; SILVA; GUIMARÃES; ARAGÃO, 2017). O tipo amarelo é o mais produzido no Brasil, envolvendo diversos híbridos comerciais (SILVA NETO, 2016).

Importância da cultura

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma das espécies, da família Cucurbitáceas, de maior importância econômica e uma das olerícolas mais populares do mundo (ROCHA *et al.*, 2010). No ano de 2017, foram produzidas cerca de 32 milhões de toneladas em um pouco mais de 1,22 milhões de hectares colhidos (FAO, 2019). O Brasil produziu aproximadamente 540 mil toneladas no mesmo ano, secundando países como China, Turquia, Irã, Egito e Índia que ocupam as primeiras posições nesse ranking (FAO, 2019). No Brasil, a cultura é um importante fator socioeconômico por ser gerador de emprego e renda em áreas carentes de outras oportunidades.

A produção brasileira está centralizada no Nordeste, que tem respondido por 95% da produção nacional nos últimos dez anos (IBGE, 2019). Os Estados do Ceará e do Rio Grande do Norte destacam-se como os principais produtores nacionais de melão, contribuindo com 76% do percentual regional (IBGE, 2019). Essa produção está concentrada no Agropolo Mossoró-Assu - Rio Grande do Norte e no Vale Baixo Jaguaribe – Ceará. A posição de destaque que esses estados ocupam, há muitos anos no cenário deve-se principalmente às condições edafoclimáticas acompanhada do uso de alta tecnologia por parte das empresas produtoras (NUNES *et al.*, 2004). Além disso, altas temperaturas e baixo volume pluviométrico da região, somados aos altos investimentos do setor produtivo têm favorecido ao bom desenvolvimento da cultura (BUENO; BACCARIN, 2012).

O intenso cultivo de meloeiro no Nordeste brasileiro tem favorecido o estabelecimento de doenças e, dentre essas, as mais difíceis de serem manejadas são causadas por patógenos radiculares (CORREIA; CONFORTO; MICHEREFF, 2014; ANDRADE, *et al.* 2005), como a rizoctoniose ou cancro de rizoctonia, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kühn, que está entre as enfermidades mais comuns e causadoras dos maiores prejuízos aos produtores (BLANCARD, *et al.* 1991).

Rhizoctonia solani

Aspectos gerais

A primeira espécie do gênero *Rhizoctonia* (*R. crocorum*) foi descrito por DeCandolle, em 1815. Entretanto, a espécie mais significativa do gênero, *Rhizoctonia solani*, foi descrita por Julius Kühn apenas em 1858, na cultura da batata (SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991). Trata-se de um fungo basidiomiceto (*Thanatephorus cucumeris*) em sua fase assexual que ocorre em todo o mundo, causando doenças em um vasto número de espécies de plantas cultivadas (SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991). A reprodução ocorre por meio de micélio e esclerócios. Os micélios são compostos por hifas bem desenvolvidas, apresentando notórios septos transversais, ramificando de modo distinto, formando um ângulo reto com relação à hifa de origem. Inicialmente os micélios são hialinos, porém com o desenvolvimento passam a apresentar uma coloração marrom clara e, posteriormente, marrom escuro (VIEIRA, 1983).

Esse fungo é habitante do solo, possui uma elevada capacidade saprofítica e tem mais de 500 espécies de plantas como hospedeiro (FARR; ROSSMAN, 2015), incluindo o meloeiro (AEGERTER; GORDON; DAVIS, 2000; MARINHO et al., 2002; ANDRADE, 2005a, COUTINHO, et al, 2010). Na ausência de um hospedeiro suscetível, este fungo pode sobreviver por muitos anos sob a forma de esclerócio, de morfologia irregular, coloração de marrom a pretas. Os esclerócios são estruturas de resistência e sobrevivência sob condições adversas (VIEIRA, 1983).

Quando um hospedeiro vulnerável está presente, o fungo é atraído para a planta por estimulantes químicos liberados pelas células vegetais, seguindo o gradiente formado pelos exsudatos radiculares. Uma massa de hifas se fixa à superfície externa das raízes formando os “colchões de infecção” que produzem enzimas de maceração, facilitando penetração (enzimas extracelulares). As enzimas produzidas auxiliam no processo, degradando vários componentes da parede celular das plantas e causando morte das células. As hifas seguem crescendo e colonizando o tecido morto, podendo formar esclerócios e, assim, gerando um novo ciclo do patógeno (MICHEREFF et al., 2005).

Os sintomas da rizoctoniose podem ser observados desde a não emergência de sementes, pela perda da rigidez e tendência à decomposição, até lesões no hipocótilo e raízes. Na fase de plântulas, os sintomas podem ser observados no caule, quase sempre na região do colo. As manchas, inicialmente encharcadas, desenvolvem-se ligeiramente, tornando mais escuras e avançando para lesões deprimidas (BERGAMIM FILHO et al., 1995). O fendilhamento e a constrição do caule são passíveis de ocorrer, provocando tombamento da

plântula que é, então, totalmente colonizada e decomposta pelo patógeno (MAZARO, 2009). A morte do embrião bem como a morte da plântula provoca, em campo, redução na densidade de plantas que inicialmente pode ser conferida a baixa germinação das sementes (BERGAMIM FILHO et al., 1995; GOULART, 2006).

Os problemas com esses patógenos do solo ainda ocorrem, apesar da maior parte do plantio do país ser realizado por meio do transplântio de mudas, devido principalmente ao custo elevado na aquisição de sementes dos híbridos comerciais de meloeiro (OLIVEIRA et al., 2017).

Variabilidade do patógeno

Rhizoctonia spp. são patógenos que apresentam alta diversidade que podem ser notadas em grupos de anastomose (AG, do inglês Anastomose Group) que permitem diferenciar espécies por meio de características citológicas, pela contagem de núcleos e de teste de patogenicidade (ANDERSON, 1982; OGOSHI, 1987; VILGALYS; CUBETA, 1994).

A anastomose é a ação de fusão de hifas de dois isolados que apresentam compatibilidade somática, permitindo a troca de material genético entre os indivíduos, para isso os mesmos devem pertencer ao mesmo AG. Hifas de AGs diferentes não conseguem se fundir (ANDERSON, 1982). A *Rhizoctonia solani* é dividida em 12 grupos de anastomose de hifas (SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991). Antes do conceito de AG dentro da *R. solani* não era possível o melhoramento de variedades resistentes às doenças causadas por esse patógeno, pois este era considerado um patógeno com ampla gama de hospedeiros, e as diferenças entre isolados não eram óbvias (LEACH; GARBER, 1970).

A espécie *R. solani* é frequentemente isolada de plantas doentes e do solo. Esses isolados diferem quanto às características morfológicas, culturais e de patogenicidade que são frequentemente associadas a variações na virulência de isolados (OGOSHI, 1987). A temperatura também pode influenciar tanto a patogenicidade quanto na virulência de *R. solani* (MILDENHALL; WILLIAMS, 1973).

Controle

O controle de doenças causadas por patógenos de solo, como a rizoctoniose, é muito difícil, pois os fungos, por coevoluiem com os hospedeiros por milhões de anos, estão altamente adaptados ao ambiente do solo (MICHEREFF et al., 2005). Além disso, a dificuldade de detecção do patógeno antes da verificação de perdas se soma às dificuldades de

controle desse patógeno pelos sucessivos cultivos e manutenção de resíduos de cultura no campo. Além disso, a ineficiência no manejo da água de irrigação eleva o índice de incidência e severidade dessas doenças no campo, Em decorrência, o uso de fungicidas químicos não tem apresentado proteção efetiva para este grupo de patógenos (GAVA; MENEZES, 2012)

Dentre o conjunto de práticas recomendadas para o controle do tombamento, o emprego de cultivares resistentes é umas das estratégias mais eficientes para o controle de rizoctoniose em meloeiro. E, embora existam relatos de fontes de resistência a *Rhizoctonia* em alguma cucurbitácea, bem como para o melão (MICHEREFF et al., 2008; SALARI et al., 2012; SALES JÚNIOR et al., 2015), a identificação de novas fontes de resistência assume fundamental importância diante da variabilidade existente do hospedeiro.

Melhoramento Genético

O melhoramento de plantas refere-se aos métodos, estratégias, técnicas de seleção que são utilizados a fim de que o conteúdo genético da espécie seja melhorado. Para o meloeiro, o melhoramento visa à produção de cultivares que apresentam melhor qualidade de fruto, alta produtividade, resistência/tolerância a pragas e doenças, bem como o aumento no tempo de vida pós-colheita (LOPES, CARVALHO; PESSOA, 2014). É por meio dessas diversas características fenotípicas, da planta e do fruto, que se busca a obtenção de genótipos superiores, por meio da combinação desses caracteres explorados nos programas de melhoramento genético (PITRAT et al., 2000).

No melhoramento para a resistência a doenças, a primeira etapa é avaliar a reação de genótipos ao patógeno alvo e selecionar fontes de resistência. Posteriormente, com obtenção e estabilização das fontes, é possível identificar o controle genético da resistência a fim de estruturar um programa para introgressão do gene de interesse (STUART, 2010). Como produto final pode ser obtido uma linhagem melhorada - portadora do(s) gene(s) de resistência- que atuará como parental para desenvolvimento de um híbrido comercial, também portador da característica desejável.

Fontes de Resistência

Germoplasma

Os recursos genéticos, fração da biodiversidade de uso atual ou potencial, são a base para a manutenção de um programa de melhoramento genético, principalmente por serem portadores de genes de interesses. Variedades tradicionais ou crioulas, variedades melhoradas, linhas avançadas e espécies nativas fazem parte desse montante (QUEIRÓZ,

1999). As variedades crioulas são muito utilizadas em programas de melhoramento visando resistência a doenças, principalmente por possuírem variabilidade e serem adaptadas aos locais onde se desenvolveram. Essas variedades estão presentes em bancos de sementes de muitos agricultores (DOMINGUEZ et al., 2000). No desenvolvimento de novas cultivares resistentes a fitomoléstias, os melhoristas buscam associar a resistência a outras características agronômicas (YANG et al., 2016) por favorecer uma melhor e mais rápida aceitação. Dessa forma, as variedades crioulas são fontes de genes para resistência a diversos patógenos e podem ser avaliadas quanto aos caracteres associados à resistência.

Ainda que o meloeiro não tenha o Brasil como centros de origem, domesticação primária e nem secundária, existem variedades crioulas adaptadas a condições edafoclimáticas diversas no país. Introduzidas e disseminadas desde o século XVI no Brasil por meio dos índios e escravos africanos, as variedades tradicionais têm estado presente na agricultura de subsistência do Nordeste brasileiro e de outras regiões do país (TAVARES, 2002; DELWING; FRANKE; BARROS, 2007).

Reação de acessos

Para a identificação da reação de plantas a patógenos a escolha da metodologia a ser aplicada é uma etapa fundamental para o sucesso do melhoramento, pois a efetividade da inoculação, a manifestação dos sintomas da doença e a segurança da avaliação dos genótipos dependerão do método a ser adotado (SANTOS, 2016). Poucos trabalhos foram desenvolvidos para estudar a reação de genótipos de meloeiro a *Rizoctonia solani*. Salari et al. (2012) testaram dezoito cultivares iranianos para resistência ao patógeno em casa de vegetação. O cultivo foi em vasos e inoculados individualmente com o patógeno. Nenhuma das cultivares testadas foi imune ao fungo. No entanto, duas cultivares, a saber, 'Sfidak khatdar' e 'Sfidak bekhat' foram classificadas como moderadamente resistentes.

No Brasil o primeiro trabalho foi desenvolvido Michereff; Andrade; Sales Junior (2008) com o objetivo de selecionar genótipos com potencial de utilização nos programas de melhoramento. Nesse trabalho foram avaliados 20 genótipos comerciais de meloeiro em relação a dois isolados do patógeno (RS-9 e RS-10). Sementes dos genótipos testados foram semeadas em solo infestado com o patógeno pela incorporação de substrato (grãos de arroz) colonizado. Nenhum dos genótipos apresentou-se altamente resistente independentemente do isolado. Os híbridos Sancho, AF-1805, Athenas, AF-682, Torreón e Galileo comportaram-se como altamente resistentes quando considerados os dois isolados juntos.

Sales Junior et al. (2015) avaliaram, num primeiro experimento, o nível de resistência de 22 acessos, coletados da agricultura tradicional do nordeste brasileiro, frente ao isolado RS-21. Os acessos resistentes identificados no primeiro experimento, juntamente com 13 linhagens conhecidas, foram avaliados para reação aos isolados RS-22 e RS-23 em um segundo ensaio. Como resultados foram identificados como fontes de resistência os três acessos e uma das linhagens.

Apesar desses resultados, há ainda a necessidade de explorar a diversidade genética do meloeiro, identificando fontes de resistência e obtendo linhagens para as principais regiões produtoras do Brasil. Ainda não há relato, na literatura, de linhagens com resistência a rizoctoniose.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- AEGERTER, B.J.; GORDON, T.R.; DAVIS, R.M. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, n. 3, p. 224-230, 2000.
- AGARWAL, D.K. *Rhizoctonia* D.C.: taxonomy, ecology and management. In: MUKERJI, K. G.; MANOHARACHARY, C. (Eds.). **Taxonomy and ecology of Indian fungi**. I. K. International Publishing House, New Delhi, p. 19-50, 2010.
- ANDERSON, N.A. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. **Annual review of phytopathology**, Palo Alto, v. 20, p. 329-347, 1982.
- ANDRADE, D.E.G.T.; MICHEREFF, S.J.; BIONDI, C.M.; NASCIMENTO, C.W.A.; SALES JR., R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 4, p. 326-331, 2005.
- ARAGÃO, F.A.S.; TORRES FILHO, J.; NUNES G.H.S.; QUEIROZ, M.A.; BORDALLO P.N.; BUSO, G.S.C.; FERREIRA, M.A.; COSTA, Z.P.; BEZERRA NETO, F. Genetic divergence among accessions of melon from traditional agriculture of the Brazilian Northeast. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 4, p. 6356-6371, 2013.
- BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**; vol. 1- princípios e conceitos. 1995.
- BLANCARD, D.L.; PITRAT H.; JAVOY, M. **Enfermedades de las Cucurbitáceas. observar, identificar, luchar. Mundi-Prensa**. Madrid (ES). 1991. 301p.
- BRUTON, B.D. Soilborn diseases in Cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: **Cucurbitaceae**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, p. 143-166, 1998.
- BUENO, G.; BACCARIN, J.G. Participação das principais frutas brasileiras no comércio internacional: 1997 a 2008. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 424-434, 2012.
- CORREIA, K.C.; CONFORTO, C.; MICHEREFF, S.J. Manejo integrado de doenças do sistema radicular: bases científicas, estratégias e práticas. **Núcleo de Estudos em Fitopatologia-UFLA (Org.)**. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora, 2014. cap. 9: Sanidade de raízes, p. 191-234.
- COUTINHO, F.P.; Cavalcanti, M.A.Q.; Yano-Melo, A.M. Filamentous fungi isolated from the rhizosphere of melon plants (*Cucumis melo* L. cv. Gold Mine) cultivated in soil with organic amendments. **Acta Botanica Brasílica (Impresso)**, Belo Horizonte, v. 24, p. 292-298, 2010.

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

DOMINGUEZ, O.; PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; BAUDET, L. **Sistema informal de sementes: causas, consequências e alternativas**. Pelotas: UFPEL, v. 270, 2000.

FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; VIANA, A.P.; BRUCKNER, C.H.; LARANJEIRA, F.F.; DAMASCENO, F.; MELETTI, L.M.M.; CONSOLI, L.; SOUSA, M.A.de F.; SILVA, M.S.; PEREIRA, M.G.; STENZEL, N.; SHARMA, R.D. Demandas para as Pesquisas Relacionadas ao Melhoramento Genético. FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.) **Maracujá: demandas para a pesquisa**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.25-34, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Faostat – Statistics Database. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Acesso em: 10 jun. 2019.

FARR, D.F.; ROSSMAN, A.Y. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, USDA-ARS. 2015.

FERGANY, M.; KAUR, B.; MONFORTE, A.J.; PITRAT, M.; RYS, C.; LECOQ, H.; DHILLON, N.P.S.; DHALIWAL, S.S. Variation in melon (*Cucumis melo*) landraces adapted to the humid tropics of southern India. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s.l.], v. 58, n. 2, p. 225-243, 2011.

GAVA, C.A.T.; MENEZES, M.E.L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica (UFC. Online)**, Fortaleza, v. 43, p. 633-640, 2012.

SERRES-GIARDI, L.; DOGIMONT, C. How microsatellite diversity helps to understand the domestication history of melon. **Cucurbitaceae 2012**. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Antalya, Turkey, 15-18 October, 2012. University of Cukurova, Ziraat Fakultesi, p. 254-263, 2012.

GOMES, P. **Fruticultura brasileira**. São Paulo: Nobel, 1998.

GOULART, A.C.P. Efeito do tratamento de sementes de algodoeiro com fungicidas no controle do tombamento em relação à densidade de inóculo de *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 4, p. 360-366, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2019. **Sistema IBGE De Recuperação Automática - SIDRA**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 11 jan. 2019.

KERJE, T.; GRUM, M. The origin of melon, *Cucumis melo*: a review of the literature. **In: VII Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding 510**. p. 37-44, 2000.

KIRKBRIDE, J.H. **Biosystematic monograph of the genus *Cucumis* (Cucurbitaceae): botanical identification of cucumbers and melons**. North Carolina: Parkway Publishers, Inc., 1993.

LEACH, L.D.; GARBER, R.H. Control of Rhizoctonia. In: PARMETER JR., J. R. (Ed.). **Rhizoctonia solani: biology and pathology**. Berkeley: The University of California Press, 1970. p. 189-199.

LOPES, J. F.; CARVALHO, S.I.C.; BITTENCOURT, H.; PESSOA, S.V. Recursos Genéticos de melão e pepino na Embrapa Hortaliças. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**. 2014.

MACÊDO, S.S.; QUEIRÓZ, M.A.; AQUINO, I.P.F.; OLIVEIRA, R.S.; LIMA NETO, I.S. Botanical identification and genetic diversity in melons from family farming in the state of Maranhão. **Revista Caatinga (Online)**, Mossoró, v. 30, p. 602-613, 2017.

MALLICK, M.F.R.; MASUI, M. Origin, distribution and taxonomy of melons. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 28, n. 3, p. 251-261, 1986.

MARINHO, R.E.M.; SALES JR., R.; MARACAJÁ, P. B.; SILVA, G. F.; COSTA, F. M.; SILVA, E. C. Identificação da micoflora associada a raízes de meloeiro nos estados do rio Grande do Norte e Ceará. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 15, n. 1/2, p. 25-28, 2002.

MAZARO, S. M.; WAGNER JÚNIOR, A.; SANTOS, I. dos; CITADIN, I.; POSSENTI, J. C.; GOUVÊA, A. de. Controle do tombamento de plântulas de beterraba e tomate pelo tratamento de sementes com quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 11, p. 1424-1430, nov. 2009

MEDEIROS, A.C.; MELO, D.R.M.; AMBRÓZIO, M.M.Q.; NUNES, G.H.S.; COSTA, J. M. Métodos de inoculação de *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* em meloeiro (*Cucumis melo*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 4, p. 281-286, 2015.

MENEZES, J. B.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; MAIA, C. E.; ANDRADE, G.G.; ALMEIDA, J.H.S.; VIANA, F.M.P. Características do melão para exportação. In: ALVES, R.E. (Org.). **Melão: pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA/SPI, 2000. p.13-22.

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

MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; PERUCH, L.A.M. Inóculo de patógenos radiculares. In: MICHEREFF, S. J. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005, cap. 5, p. 93-124.

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

MILDENHALL, J.P.; WILLIAMS, P.H. Effect of soil temperature and host maturity on infection of carrot by *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 63, n. 2, p. 276-280, 1973.

MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS – MDIC. 2019. Sistema para extração de relatórios personalizados sobre os dados do comércio exterior

brasileiro - COMEX-STAT. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/> . Acesso em: 13 jan. 2019.

MONTEIRO, R.O.C. et al. Função de resposta do meloeiro a diferentes lâminas de irrigação e doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 455-459, 2006.

NASRABADI, N.M.; NEMAT, H.; SOBHANI, A.; SHARIFIM, M. Study on morphologic variation of different Iranian melon cultivars (*Cucumis melo* L.). **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 7, n. 18, p. 2764-2769, 2012.

NEITZKE R.S.; BARBIERI R.L.; HEIDEN G.; BÜTTOW M.V.; OLIVEIRA C.S.; CORRÊA L.B.; SCHWENGBER J.E.; CARVALHO F.I.F. Caracterização morfológica e dissimilaridade genética entre variedades crioulas de melão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 534-538, 2009.

NHI, P.T.P.; AKASHI, Y.; HANG, T.T.M.; TANAKA, K., AIERKEN, Y.; YAMAMOTO, T.; NISHIDA, H.; LONG, C.; KATO, K. Genetic diversity in Vietnamese melon landraces revealed by the analyses of morphological traits and nuclear and cytoplasmic molecular markers. **Breeding science**, Tokyo, v. 60, n. 3, p. 255-266, 2010.

NUNES, G.D.S.; SANTOS JÚNIOR, J.J.S.; ANDRADE, F.V.; BEZERRA NETO, F.; ALMEIDA, A.D.; MEDEIROS, D.D. Aspectos produtivos e de qualidade de híbridos de melão cultivados no agropolo Mossoró-Assu. **Horticultura Brasileira**, Brasília, n. 22, p. 744-747, 2004.

OGOSHI A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.25, p.125-143, 1987.

PITRAT M. Melon. In: PROHENS J.; NUEZ F. (eds.) **Handbook of plant breeding. Vegetables I. Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, and Cucurbitaceae**. Springer, Heidelberg, p. 283–315. 2008.

PITRAT, M. Phenotypic diversity in wild and cultivated melons (*Cucumis melo*). **Plant Biotechnology**, Tokyo, 30, 273-278, 2013.

PITRAT, M.; CHAUVET, M.; FOURY, C. Diversity, history and production of cultivated cucurbits. **Acta Horticulture**, The Hague, n. 492, p. 21-28, 1999.

PITRAT, M.; HANELT, P.; HAMMER, K. Some comments on infra-specific classification of cultivars of melon. In: N. Katzir and H.S. Paris (eds.). Proc. Cucurbitaceae 2000. **Acta Horticulturae**, Wageningen, 510:29–36, 2000.

QUEIRÓZ, M.A.; GOEDERT, C.O.; RAMOS, S.R.R. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. Livro científico (ALICE-online). Versão 1.0. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.

ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS, D.S. **Cucurbits**. Wallingford: CAB International, 226p. 1997.

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

SABATO, D.; ESTERAS, C.; GRILLO O.; PICÓ, B.; BACCHETTA, G. Seeds morpho-colourimetric analysis as complementary method to molecular characterization of melon diversity. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 192, p. 441-452. 2015.

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

SALES JÚNIOR, R.; NUNES, G.H.S.; SILVA, K.J.P.; COSTA, G.G.; GUIMARÃES, I.M.; MICHEREFF, S.J. Caracterização morfológica de fontes de resistência de meloeiro a *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 196-202, 2015.

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, v. 27, n. 2, p. 160-165, 2009.

SANTOS, L. S. **Seleção de genótipos de meloeiro para obtenção de linhagens com resistência à *Didymella bryoniae***. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas), 91f.: Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2016.

SILVA, J.C.D.V; GUIMARÃES, M.A; ARAGÃO, F.A.S. Tipos comerciais e cultivares. In GUIMARÃES, M.S; ARAGÃO, F.A.S. **Produção de melão**, 2017.

SILVA NETO, R. M; ABREU, F.A.P; PESSOA, L.F.P; QUEIROZ, E.M. Características físico-químicas e compostos aromáticos do suco de melão clarificado por microfiltração tangencial. **Revista Eletrônica Teccen**, Vasouras, v.9, p75-80. Jan./Jun. 2016

SILVA, R.N.O.; MIGLIORINI, P.; JUNGES, E.; NUNES, A.F.; TUNES, L.V.M. Métodos de inoculação de *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid) em sementes de feijão. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, Pombal, v. 11, p. 07-11, 2016.

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

STUART, R.M.; KUBO, K.S.; BOAVA, L.P.; BASTIANEL, M.; MACHADO, M.A. Jasmonic acid and Ethylene signaling pathways are involved in citrus defenses against *A. alternata* “tangerine pathotype”. **OzBio2010**, Campinas, SP, p. 145. 2010.

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

VERZIGNASSI, J.R.; VIDA J.B.; GASPAROTTO, F.; CORTEZ, G.L.S.; LORENZETTI, E.R.; FARIA, G.S.; TESSMANN, D. J.; SEVERINO, J. J. Método do palito para inoculação

de *Didymella bryoniae* em melão nobre e pepino “japonês”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 515-4. 2004.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 1983. 110-113p.

VILGALYS, R.; CUBETA, M.A. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 135-155, 1994.

YANG, G.; LI, C. General description of *Rhizoctonia* species complex. In: CUMAGUN, C. J. R. (Ed.). **Plant pathology**. Rijeka: Intech, p.41-52. 2012.

YANG, L.L.; LI, H.-L.; WEI, L.; KUANG, D.-Y.; LI, M.-H.; LIAO, Y.-Y.; CHEN, Z.-D.; WU, H. & ZHANG, S.-Z. A supermatrix approach provides a comprehensive genus-level phylogeny for Gentianales. **Journal of Systematics and Evolution**, [s.l.], v.54: p400–415. 2016.

3 CAPÍTULO I METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À RIZOCTONIOSE EM GERMOPLASMA DE MELOEIRO

RESUMO

O cultivo intensivo do meloeiro (*Cucumis melo* L.), principalmente no Nordeste do Brasil, tem favorecido a ocorrência de doenças radiculares como a rizoctoniose, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kuhn. O uso de cultivares resistentes é uma das medidas estrategicamente mais eficiente para o manejo integrado de doenças na cultura. Para a avaliação da rizoctoniose no germoplasma de meloeiro, visando identificar fontes de resistência, é necessária a utilização de um método eficiente de inoculação. O objetivo desse trabalho foi desenvolver uma metodologia eficiente de inoculação do patógeno para a seleção de germoplasma de meloeiro resistente a *Rhizoctonia solani*. Cinco experimentos foram conduzidos visando definir o recipiente, o ambiente de condução, o substrato para produção do inóculo, a agressividade dos isolados, a densidade do inóculo, a forma de inoculação, o estágio fenológico da planta e tempo para avaliação após a inoculação. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e os inóculos de *Rhizoctonia solani* foram produzidos no Laboratório de Patologia Pós-colheita (Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza-CE). Os resultados obtidos evidenciaram que para seleção de germoplasma de meloeiro quanto à resistência a *Rhizoctonia solani* recomenda-se o uso de mudas com raízes cortadas durante o transplantio para vasos, contendo areia com inóculo areno-orgânico, obtido a partir de grãos de arroz na concentração de 150 mg.kg⁻¹ de solo, associado à inoculação com furo no colo da planta por palito de dente infestado, sem necessidade do uso de câmara úmida. O isolado mais agressivo foi o CMM-1068.

Palavras-chave: *Cucumis melo*. Resistência genética. Tombamento. *Rhizoctonia solani*.

ABSTRACT - Methodology for evaluating the resistance to rhizoctoniosis in melon germoplasm

The intensive cultivation of melon (*Cucumis melo* L.), mainly in the Northeast of Brazil, has favored the occurrence of root diseases such as rhizoctoniosis, caused by the fungus *Rhizoctonia solani* Kuhn. The use of resistant cultivars is one of the most strategically efficient measures for the integrated management of diseases in the crop. For the evaluation of rhizoctoniosis in melon germplasm, aiming to identify sources of resistance, it is necessary the use of an efficient method of inoculation. The objective of this work was to develop an efficient pathogen inoculation methodology for selection of *Rhizoctonia solani* resistant melon germplasm. Five experiments were conducted aiming to define the container, the conduction environment, the substrate for inoculum production, the isolated aggressiveness, inoculum density, inoculation form, plant phenological stage and time for evaluation after inoculation. The experiments were conducted in greenhouse conditions and *Rhizoctonia solani* inoculum were produced at the Post-Harvest Pathology Laboratory (Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE). The results obtained showed that for the selection of *Rhizoctonia solani* resistant melon germplasm it is recommended the use of seedlings with roots cut during the transplanting for vessels, containing sand with organic inoculum obtained from rice grains in the concentration of 150 mg.kg⁻¹ of soil, associated to inoculation with a hole in the stem of the plant by infested toothpick, without the need of using a humid chamber. The most aggressive isolate was CMM-1068.

Keywords: *Cucumis melo*. Genetic resistance. Tipping *Rhizoctonia solani*.

INTRODUÇÃO

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma das cucurbitáceas de maior importância econômica, além de uma das olerícolas mais populares do mundo (ROCHA et al., 2010). No ano de 2017, a produção alcançou quase 32 milhões de toneladas de frutos, em aproximadamente 1,22 milhões de hectares colhidos (FAO, 2019). Nesse ano, o Brasil produziu um pouco mais de 540 mil toneladas do fruto, ocupando a 13ª posição no ranking de maiores produtores atrás de países como China, Turquia, Irã, Egito e Índia que ocupam, respectivamente, as primeiras posições do ranking (FAO, 2019). A região Nordeste é responsável por um pouco mais de 95% da produção nacional, com destaque para os estados do Rio Grande do Norte e Ceará que produzem 76% da produção regional (IBGE, 2019). No âmbito das exportações, dos US\$ 162,9 milhões gerados com a exportação nacional da fruta, mais de 99% saíram desses dois Estados (MDIC, 2019).

Devido à boa adaptação da planta às condições edafoclimáticas da região, o semiárido contém as principais áreas produtoras e exportadoras de melão do Brasil, com destaque para os Agropólos Mossoró-Assu (RN) e Jaguaribe (CE). Contudo, alguns fatores contribuem para diminuir a produtividade e elevar as perdas no cultivo do meloeiro, destacando-se pragas e doenças, que causam prejuízos ao agronegócio, principalmente a geração de renda e emprego na região que é bastante carente de oportunidades de trabalho para a população (VIANA et al., 2001).

O intenso cultivo de melão no Nordeste brasileiro tem favorecido o estabelecimento de doenças e, dentre elas, as mais difíceis de serem manejadas são as ocasionadas por patógenos habitantes do solo (SANTOS et al., 2000). A rizoctoniose ou cancro de rizoctonia, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kühn, está entre as enfermidades mais comuns e que causam maiores prejuízos à cultura do meloeiro (SANTOS, et al., 2000; ANDRADE et al., 2005a).

O fungo *R. solani*, espécie mais importante dentro do gênero. É um patógeno com considerável diversidade genética e patogênica além de vasta gama de hospedeiros (SNEH, et al., 1991). Há relatos do fungo como um patógeno destrutivo em diversas culturas economicamente importantes, em todo o mundo. Esse patógeno tem sido associado à lesões, tombamentos e/ou redução do estande em diversas espécies vegetais (BRUTON, 1998).

Dentre o conjunto de práticas recomendadas para o controle da *R. solani*, o uso de cultivares resistentes é umas das estratégias mais eficientes. Para tanto, é necessária a identificação de genótipos resistentes no germoplasma e a precisa determinação da reação ao

patógeno na identificação de fontes de resistência requer uma metodologia eficaz e eficiente para discriminação dos genótipos (MEDEIROS et al., 2015). Apesar da existência e da importância de relatos de fontes de resistência a esse patógeno em diversas culturas, poucas foram identificadas no germoplasma do meloeiro (MICHEREFF, et al., 2008; SALARI et al., 2012; SALES JÚNIOR et al., 2015). Além disso, os estudos têm sido voltados apenas para identificar os genótipos promissores, não demonstram interesse na fixação dos genes de resistência. Entretanto, considerando os prejuízos causados e a importância do patógeno para a cultura, é primordial que a partir das fontes identificadas, genótipos superiores sejam obtidos e disponibilizados para o mercado.

Diversas metodologias são empregadas para multiplicar o patógeno de forma artificial e condicionar o hospedeiro à ação do mesmo, reduzindo ao mínimo a chance de escape na seleção. A produção do inóculo pode ser diferenciada em função do substrato utilizado e da forma de aplicação. Na literatura, há relatos da produção de inóculo por meio de colonização em grão de cereais ou em meios, líquido (suspensão) e sólido (discos de micélio), os quais são incorporados ao solo (MICHEREFF FILHO et al., 1996; FALCÃO et al., 2005; GOULART, 2006; SOUZA et. al., 2008; SILVA, 2016a). Outro método consiste na utilização de palito de dente infestado com inóculo, introduzido no colo das plântulas (VERZIGNASSI, 2004; SANTOS, 2009).

É importante ressaltar que para cada metodologia há um período ideal de crescimento e viabilidade do inóculo. Mesmo entre os inóculos areno-orgânicos, que são incorporados ao solo, pode haver variação na concentração do inóculo e na distância entre o inóculo e a semente (MICHEREFF FILHO et al., 1996). A concentração também é relevante em inóculos como suspensão de hifas, os quais são preparados a partir de crescimentos fúngicos e água destilada estéril (SOUZA et. al., 2008).

Andrade et al. (2005b) trabalhando com o feijoeiro infestados com diferentes concentrações de inóculo areno-orgânico, obtido a partir de grãos de arroz, notaram que a incidência de tombamento em plântulas é diretamente relacionada à densidade do inóculo, e que as concentrações entre 50 e 200 mg.kg⁻¹ de solo são adequadas à seleção de plântulas resistentes. Santos et al. (2005), adaptando essa metodologia para o algodoeiro e testando doses de até 600 mg.kg⁻¹ de substrato, definiram como satisfatórias as doses entre 72 e 144 mg.kg⁻¹, para ambas as culturas. Portanto, é notória a necessidade de estudos sobre a concentração de inóculo para os isolado do patógeno e a influência do ambiente nas cultura.

Desse modo, para o desenvolvimento de um programa de melhoramento em meloeiro visando à resistência a *Rhizoctonia solani* é necessário um método preciso e prático

de inoculação do patógeno, que permita avaliar um amplo número de genótipos e identificar fontes de resistência. Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia eficiente, não destrutiva, de inoculação do patógeno para seleção de germoplasma de meloeiro quanto à resistência a *Rhizoctonia solani*.

MATERIAL E MÉTODOS

Área experimental

Cinco ensaios foram conduzidos visando definir recipiente, ambiente de condução, substrato para produção do inóculo, agressividade de isolados, densidade do inóculo, métodos de inoculação, estágio fenológico da planta e tempo para avaliação após a inoculação. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e no Laboratório de Melhoramento e Recursos Genéticos Vegetais e os inóculos de *Rhizoctonia solani* foram produzidos no Laboratório de Patologia Pós-colheita, da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza-CE (35°45'S 38°34'W, 25 m ASL, Clima tropical chuvoso).

Em todos os testes foi utilizado o híbrido comercial Goldex, por ser o meloeiro mais cultivado no país a mais de uma década e se mostrar suscetível em ensaios preliminares.

Preparação dos inóculos

Os isolados utilizados fazem parte da Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos “Prof.^a Maria Menezes” CMM, Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, cedido pelo Prof. Dr. Sami Michereff. Os isolados foram previamente repicados em meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) + clorafenicol 0,1g.L⁻¹ e mantidos em uma sala de crescimento, com temperatura ambiente (28 °C ± 2°C) e fotoperíodo de 12h, durante sete dias.

Desinfestações

Antes do semeio, as sementes foram desinfestadas com álcool 70%, por um minuto e em uma solução de 1,5% de NaClO por cinco minutos. Posteriormente, foram lavadas em água corrente abundante e postas para secar em papel toalha sob temperatura ambiente (± 28 °C) (MICHEREFF et al., 2008). A areia utilizada em todos os experimentos foi previamente autoclavada a 121°C, 1 atm por 1 hora em 2 dias consecutivos.

Avaliação

As plantas foram avaliadas quanto à severidade da doença, por meio de uma escala de notas (NORONHA et al., 1995) adaptada para a cultura do meloeiro, sendo: 1 = sem sintomas, 2 = pequenas lesões nos hipocótilos, 3 = grandes lesões nos hipocótilos, mas sem constrição, 4 = hipocótilo totalmente constricto; e 5 = sementes não germinadas (experimentos com semeio direto)/ mudas tombadas(experimentos com mudas).

Experimento 1 – Determinação do inóculo, ambiente de incubação e recipiente de cultivo

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, com parcela constituída por três recipientes com uma planta cada, analisado em esquema fatorial (3x2x2), sendo três tipos de inóculo (areno-orgânico, discos de micélio e suspensão de hifas); dois tipos de recipientes (vaso de 0,33 L e bandeja com 72 células de 0,1 L); e, em dois ambientes (com e sem câmara úmida). Os inóculos foram adicionados ao solo, previamente esterilizados em autoclave (121°C, 1 atm, 1 hora, 2 dias consecutivos). O isolado CMM-1066 de *R. solani*, oriundo do colo de meloeiros cultivados em Mossoró-RN, foi utilizado por apresentar maior crescimento micelial *in vitro*.

O inóculo areno-orgânico foi preparado de acordo com a metodologia descrita por Michereff Filho et al. (1996). Foram utilizados 50 g de arroz parboilizado e 30 mL de água destilada, ambos misturados em um erlenmeyer e esterilizado em autoclave (121 °C, 1 atm, 30 min). Posteriormente, foram transferidos três discos de micélio de *Rhizoctonia solani* para o erlenmeyer contendo o substrato areno-orgânico estéril e armazenado em uma incubadora BOD, na temperatura de 25 °C com luminosidade constante por dez dias. Um erlenmeyer apenas com o arroz (sem o fungo) foi mantido como testemunha, visando detectar possíveis contaminações. Após 10 dias, o substrato colonizado foi colocado em sacos de papel, previamente esterilizados em autoclave (121 °C, 1 atm, 20'), para secagem do inóculo por 48 horas, a 30 °C e mantendo a luminosidade constante. No dia da infestação o substrato foi triturado em um liquidificador até formar um pó bem fino e homogêneo que foi misturado a areia numa proporção de 50 mg.kg⁻¹ (Figura 1C).

No tratamento de discos de micélio, o patógeno foi cultivado em meio de cultura BDA, em sala de crescimento com temperatura ambiente 28 °C ± 2°C e fotoperíodo de 12 h, durante sete dias. Três discos de micélio foram retirados da colônia e depositados no substrato utilizado no semeio. As sementes foram semeadas a 1,5 cm de profundidade (Figura 1A).

O tratamento de infestação por meio de suspensão de hifas constou do cultivo do fungo em meio BDA, durante por sete dias. Um disco de 5 mm de diâmetro foi transferido

para um erlenmeyer contendo meio líquido BD (Batata e Dextrose). Após cinco dias, a suspensão foi preparada a partir da trituração do micélio fresco, na proporção de 10 mg de micélio fresco por 100ml de água destilada estéril, com auxílio de um agitador mecânico. As sementes permaneceram em contato com a suspensão por 5 minutos sob agitação, quando foi drenado todo o líquido e colocadas para secar em um ambiente estéril para posterior semeio como na Figura 1B (SOUZA et al., 2008).

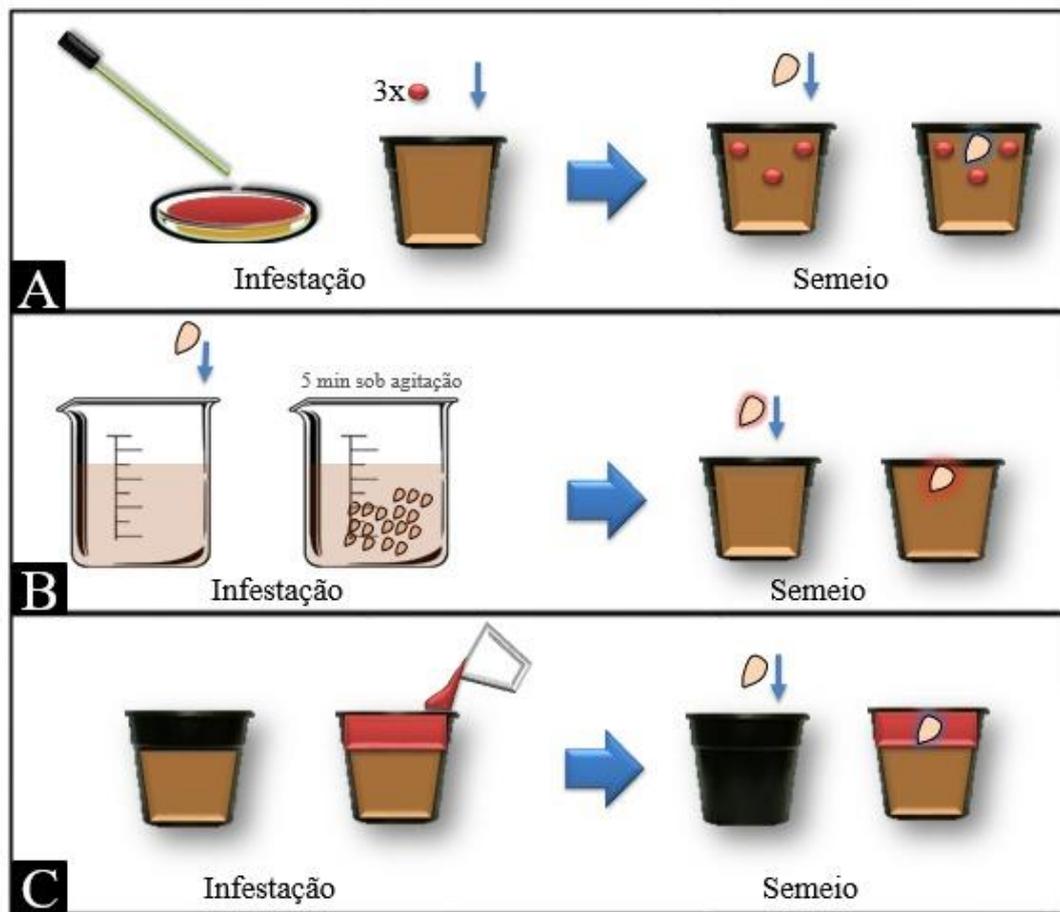


Figura 1 – Esquema ilustrando o processo de infestação de *Rhizoctonia solani* em sementes de meloeiro antes do semeio. A – infestação do substrato por meio de discos de micélio; B- Inoculação de sementes por meio de suspensão de hifas; C- Infestação do substrato por meio de inóculo de arroz.

Foi semeada uma semente por recipiente (vaso ou célula), contendo areia autoclavada; na sequência foi feita a infestação. Para confecção da câmara úmida foi utilizando saco plástico transparente e algodão umedecido com água destilada estéril envolvendo os tratamentos por 24 horas. A avaliação da severidade da doença foi realizada 15 dias após a semeadura.

Experimento 2 – Seleção do isolado mais agressivo

Esse experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, com parcela constituída por três vasos com uma planta cada. Foram utilizados cinco isolados de *Rhizoctonia solani* (Tabela 1), com base na metodologia selecionada no primeiro experimento. Foi utilizado inóculo preparado pelo método areno-orgânico, na concentração de 50 mg.kg⁻¹ de areia autoclavada. As sementes foram semeadas em vasos com capacidade para 0,33 litros.

Tabela 1 – Isolados de *Rhizoctonia solani* utilizados no experimento, coletados em meloeiro.

Código	Ano	Município	Região de isolamento
<i>CMM-1066</i>	2005	Mossoró-RN	hipocótilo
<i>CMM-1067</i>	2005	Mossoró-RN	hipocótilo
<i>CMM-1068</i>	2005	Baraúna-RN	hipocótilo
<i>CMM-2157</i>	2008	Mossoró-RN	raiz
<i>CMM-187</i>	2011	Bragança Paulista-SP	-

O inóculo areno-orgânico para cada isolado foi obtido como descrito no experimento 1. As avaliações foram realizadas 15 dias após a semeadura (DAS), observando as lesões no colo das plântulas, morte de embrião e tombamento. O isolado selecionado nesse experimento foi utilizado nos experimentos subsequentes.

Experimento 3 – Determinação da densidade ideal do inóculo

Nesse estudo, foram testadas quatro densidades do inóculo CMM-1068: 50, 100, 150 e 200 mg de substrato areno-orgânico colonizado por quilo de areia autoclavada. Os inóculos foram preparados como descrito no experimento 1. O delineamento foi o inteiramente casualizado com cinco repetições, com parcelas constituídas por três vasos com uma planta cada. O semeio do meloeiro foi efetuado prontamente após a infestação do solo. A severidade da doença foi estimada 15 dias após o semeio.

Experimento 4 – Determinação do estágio fenológico para avaliação

Nesse experimento, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições constituídas por três vasos com uma planta cada. O semeio ocorreu em bandejas plásticas contendo 200 células, para os tratamentos com mudas, e, diretamente nos vasos para os tratamentos com sementes. A inoculação, para os tratamentos com mudas, foi realizada quando as plântulas tinham 10 dias, e no semeio, para os tratamentos com sementes, em

ambos utilizando o isolado CMM-1068. No dia do transplantio/semeario, em vasos de 0,33l, o inóculo areno-orgânico, preparado como relatado no experimento 1, foi misturado a areia previamente autoclavada, na concentração de 150 mg kg⁻¹. Para cada estágio fonológico testado havia uma testemunha sem infestação.

Considerando sementes e mudas, foram avaliados cinco formas de inoculação: 1 - mudas íntegras; 2 - mudas com raízes cortadas no transplantio (cerca de 60% do comprimento das raízes foram cortadas com auxílio de uma tesoura previamente desinfestada); 3 - mudas com furo no colo, feito com uma agulha de seringa; 4 - sementes pré-germinadas em Gerbox® (apenas com emissão da radícula); e, 5 - semeario direto.

A avaliação da severidade foi realizada 15 dias após a semeadura/transplantio.

Experimento 5 – Determinação do método de inoculação e da idade ideal para avaliação

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, constituídas por três vasos com uma planta cada, analisado em esquema fatorial (4x4), sendo quatro métodos de inoculação e quatro tempos de avaliação.

Os métodos de inoculação foram associados ao método areno-orgânico (arroz), definido no primeiro experimento, sendo: 1 - adição de 10 ml de suspensão de hifas posterior ao transplantio (suspensão); 2 - imersão de raízes em suspensão de hifas por 5 minutos, antes do transplantio (imersão); 3 - furo com palito de dente infestado no colo da planta (palito) e, 4 - apenas areno-orgânico (arroz). As plantas foram avaliadas aos 7, 14, 21 e 28 dias após o transplantio. Visando confirmar a ação do fungo nas plantas, foi adicionada uma testemunha para cada método, a qual consistia na mesma metodologia sem a presença do fungo.

A suspensão foi preparada conforme descrito no experimento 1. No método 1, após o transplantio em areia contendo substrato areno-orgânico, cada vaso foi irrigado com 10 ml de suspensão. No método 2, uma amostra de 15 mudas com raízes cortadas foi imersa em 750 ml de suspensão por 5 minutos, antes do transplantio em substrato areno-orgânico. No método do palito de dente (3), o isolado foi previamente repicado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA com clorafenicol (0,1 g/l), mantido por sete dias em estufa BOD a 28 ± 2°C, com fotoperíodo de 12h de luz. Os palitos foram esterilizados em autoclave (121 °C, 1 atm, 30 min). Por ocasião da inoculação, os palitos contendo o fungo nas extremidades foram inseridos no colo da planta, cerca de 1,0 mm acima do solo. Em todos os tratamentos, foram usadas mudas com raízes cortadas e a mesma avaliação descrita no quarto experimento.

Análises estatísticas

Os dados do experimento 1 foram analisados utilizando estatística não-paramétrica, por meio do teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade.

Para os experimentos 2 e 4 as análises foram realizadas por meio do teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Para o experimento 3, os dados obtidos por concentração de inóculo, foram submetidos à análise de variância da regressão, e, para o experimento 5, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As comparações de médias dos métodos de inoculação foram realizadas por meio do teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1 – Determinação do inóculo, ambiente de incubação e recipiente de cultivo

Não houve diferença estatística para os recipientes e os ambientes estudados (Tabela 2). Apesar das células das bandejas exigirem um volume de solo menor (0,1 L) do que o requerido pelos vasos (0,33 L), a individualização das plantas em vaso facilitou tanto no desenvolvimento, por possuir maior volume de substratos, quanto no momento da avaliação, por facilitar a retirada da planta para avaliação. Além disso, para o melhoramento genético, em ensaios de reação de acessos é importante que haja uma facilidade de manuseio dos recipientes, visando, principalmente, possibilitar de forma fácil e eficiente, que as plantas identificadas como resistentes possam ser transplantadas. É importante que haja facilidade de inoculação e de retirada da planta do recipiente no momento da análise e que haja poucos danos às raízes. Nesse ponto, os vasos se tornam melhores por facilitar esse manejo.

Tabela 2 – Médias da severidade em diferentes recipientes, condições de ambiente e tipo de inóculo de *Rizoctonia solani* em meloeiro.

Fatores	Severidade*
Recipiente	
Bandeja	3,54 a
Vaso	3,23 a
Câmara úmida	
Sem	3,75 a
Com	3,00 a
Inóculo	
Disco	4,28 a
Arroz	3,19 b
Suspensão	2,69 b

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis.

Como não houve diferenças estatísticas quanto ao uso de câmaras úmidas, do ponto de vista prático e econômico, sugere-se que as seleções para resistência sejam executadas na ausência de câmara úmida. Por outro lado, Tanaka; Ito; Passos (1995) testando o mesmo patógeno em morangueiro, verificaram que a câmara úmida foi favorável para acelerar o desenvolvimento de micélio vigoroso, típico de *R. solani*. Assim como Nechet; Halfeld-Vieira (2006) que utilizaram câmara úmida por 24h para favorecer o desenvolvimento de *R. solani* em feijão.

Em relação ao tipo de inóculo, a maior severidade foi observada com os discos de micélio os quais diferiram estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 2). No entanto, um grande número de sementes submetidas ao tratamento do disco não germinou, sendo necessário o re-isolamento do patógeno a partir de cada semente não germinada, com o intuito de elucidar se a causa foi devida ao ataque do patógeno ao embrião ou por alguma disfunção fisiológica. De acordo com Santos et al. (2005), inóculos que apresentam densidade elevada, a ponto de dificultar a presença de plântulas vivas, não são ideais pois não permitiriam uma comparação visual dos resultados.

Nesse contexto, é importante observar que o método de inoculação deve garantir a infecção de sementes, mantendo a germinação das mesmas e possibilitando o estudo da resistência ao patógeno (SOUZA, 2008; MACHADO et al., 2005). As técnicas de inoculação de patógenos utilizando sementes, na maioria das vezes, reduzem o poder germinativo (VALARINI; MENTEN, 1991). Nesse trabalho, essa redução foi evidenciada quando houve utilização de discos de micélio como inóculo. Dessa forma, o uso de discos de micélios de sementes de meloeiro não é recomendado, pois além de gerar dúvidas sobre a seleção, necessita uma posterior detecção da ação do patógeno.

Os métodos que utilizaram suspensão de micélio e substrato areno-orgânico (arroz) foram estatisticamente iguais, mostrando boa uniformização na severidade do patógeno. O método da inoculação com substrato areno-orgânico já tem sido relatado em trabalhos que visam discriminar plantas, em algumas culturas como o meloeiro (MICHEREFF et al. 2008; SALES JUNIOR et al., 2015), cenoura (OLIVEIRA et al., 2008), melancia (CUNHA, et al. 2017), arroz (PRABHU, et al. 2002) e feijão caupi (NECHET; HALFELD-VIEIRA, 2006). Portanto, o método de inoculação do arroz foi utilizado nos demais experimentos.

Experimento 2 – Seleção de isolado mais agressivo

Todos os isolados testados causaram danos no colo/raízes, com severidade variável (Tabela 3), permitindo observar diferenças estatísticas. Dentre os isolados testados, CMM-1068foio mais agressivo (SV=4,09). Os isolados CMM-2157 e CMM-1066 não diferiram estatisticamente, sendo medianamente agressivos. Os isolados CMM-187 e CMM-1067, com média de severidade igual a 2,0 e 1,5, respectivamente, não diferiram estatisticamente da testemunha (1,0).

Desta forma, o isolado CMM-1068 foi selecionado para os demais testes realizados visando o ajuste da metodologia de avaliação de resistência à rizoctoniose em meloeiro. Todavia, devido à variabilidade apresentada pelo fungo, é primordial que novos estudos sejam realizados com novos isolados, sempre buscando o sucesso na seleção dos genótipos. A variabilidade genética dos patógenos dificulta a condução de trabalhos de melhoramento genético que visam obtenção de variedades resistentes às doenças (SANTOS et al., 2002).

Tabela 3 – Médias da severidade da rizoctoniose provocada por diferentes isolados de *Rizoctonia solani*.

Isolado	Severidade*
CMM - 1068	4,09 a
CMM - 2157	2,75 b
CMM - 1066	2,75 b
CMM - 187	2,00 c
CMM - 1067	1,50 c
Controle	1,00 c

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

Experimento 3 – Determinação da densidade ideal do inóculo

Houve diferenças significativas entre as concentrações utilizadas (Figura 2), consequentemente as diferentes densidades de inóculo utilizadas proporcionaram respostas diferentes quanto à capacidade de causar sintomas da rizoctoniose em plântulas de meloeiro, 15 dias após a inoculação. A curva de progresso da severidade em função da concentração do inóculo ajustou-se a um modelo quadrático, com coeficiente de determinação de 71,88%. Observou-se também que as concentrações de inóculo de 150 a 200 mg.kg⁻¹ foram semelhantes e proporcionaram os níveis mais elevados de severidade, com severidade estimada de 3,60 e 3,62, respectivamente (Figura 2).

Os resultados desse trabalho corroboram os relatados por Andrade, et al., 2005b, que, avaliando a influência da densidade do inóculo de *R. solani* em meloeiro, verificaram que os níveis de severidade foram acentuados com o aumento da concentração do inóculo. Densidades de inóculo entre 5 e 25 mg.kg⁻¹ determinaram níveis moderados de severidade da doença, variando de 12,2 a 47,2%. Para densidades elevadas, entre 50 a 200 mg.kg⁻¹ os níveis de severidade variaram de 58,3 a 81,7% para os dois inóculos testados.

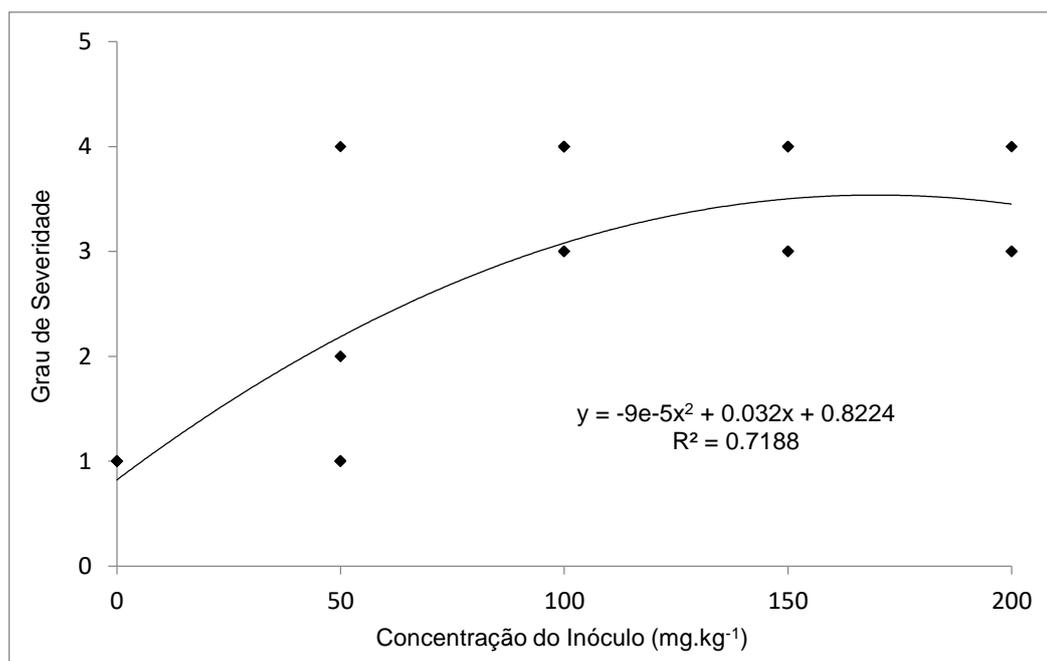


Figura 2 – Diagrama de dispersão do grau de severidade em função da concentração de inóculo de *R. solani*.

Dessa forma, a concentração de inóculo tem importante influência na severidade provocada por *R. solani* em meloeiro, tendo sido verificada uma relação direta entre a densidade do inóculo e a severidade da doença. Desse modo, a densidade de 150 mg.kg⁻¹ é recomendada para avaliação de rizoctoniose em meloeiro.

Experimento 4 – Determinação do estágio fenológico para avaliação

O estágio fenológico do meloeiro também influenciou na severidade da rizoctoniose. Os tratamentos compostos por mudas com raízes cortadas, mudas com furo no colo e semeio direto foram superiores e não diferiram significativamente entre si. Por outro lado, o tratamento com sementes pré-germinadas e mudas íntegras foi estatisticamente inferior ao tratamento mudas com raízes cortadas (Tabela 4).

Quanto ao semeio ou transplântio, diante da problemática observada no primeiro experimento e com a possibilidade de uma germinação baixa ou desuniforme reduz o tempo de exposição das plântulas ao patógeno, os métodos que utilizam mudas foram mais eficientes. Furtado et al., 2009 afirmam que o estágio fenológico das plantas é um fator importante, sendo fundamentais no desenvolvimento das doenças. Além disso, dependendo do patossistema, os tecidos do hospedeiro podem ficar mais ou menos suscetíveis ao longo do tempo (STANGARLIN et al., 2011).

Tabela 4 – Médias da severidade *Rhizoctonia solani* em diferentes estádios fenológicos de meloeiro.

Tratamentos	Severidade*
Sementes pré-germinadas	2,14 b
Mudas	2,64 b
Semeio direto	3,00 a
Mudas com furo no colo	2,93 a
Mudas com raízes cortadas	3,36 a

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

No que diz respeito ao corte das raízes ou furo no colo das plantas, vale ressaltar que tanto os fungos fitopatogênicos quanto os necrotróficos possuem grande quantidade de enzimas degradadoras de parede celular, que rompem a defesa das plantas (DAVID, et al., 2018), desse modo, nos métodos que danificam o tecido da planta o processo de infecção é facilitado, entretanto, a confiabilidade do método é preservada.

Experimento 5 – Determinação do método de inoculação e da idade para avaliação

Não houve interação significativa entre as combinações de inóculos e o tempo para avaliação. Por outro lado, os métodos de inoculação influenciaram a severidade da rizoctoniose em meloeiro. O método do palito de dente infestado foi estatisticamente superior aos demais (Tabela 5), permitindo avaliar com maior precisão um grande número de genótipos quanto à resistência a *R. solani*. Como o método areno-orgânico isoladamente proporciona menor velocidade no surgimento dos sintomas, a fusão com o método de inoculação direta via palito, proporcionou maior agressividade do patógeno, em todos os períodos avaliados.

Tabela 5 – Médias da severidade de diferentes métodos de inoculação de *Rizoctonia solani* em meloeiro.

Método de inoculação	Severidade*
Suspensão	3,78 b
Imersão	3,75 b
Palito	4,25 a
Arroz	3,63 b

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

Quanto ao período para avaliação da severidade da rizoctoniose observou-se, no intervalo estudado, para todos os métodos de inoculação, aumento na severidade da doença com o tempo, registrando o nível máximo de severidade aos 28 dias (Figura 3). Desse modo, é possível especular que os trabalhos que avaliaram a severidade da *R. solani* em meloeiro aos 15 dias após a infestação poderiam ter encontrado resultados diferentes com maior tempo de avaliação (MICHEREFF et al., 2008; SALARI et al., 2012).

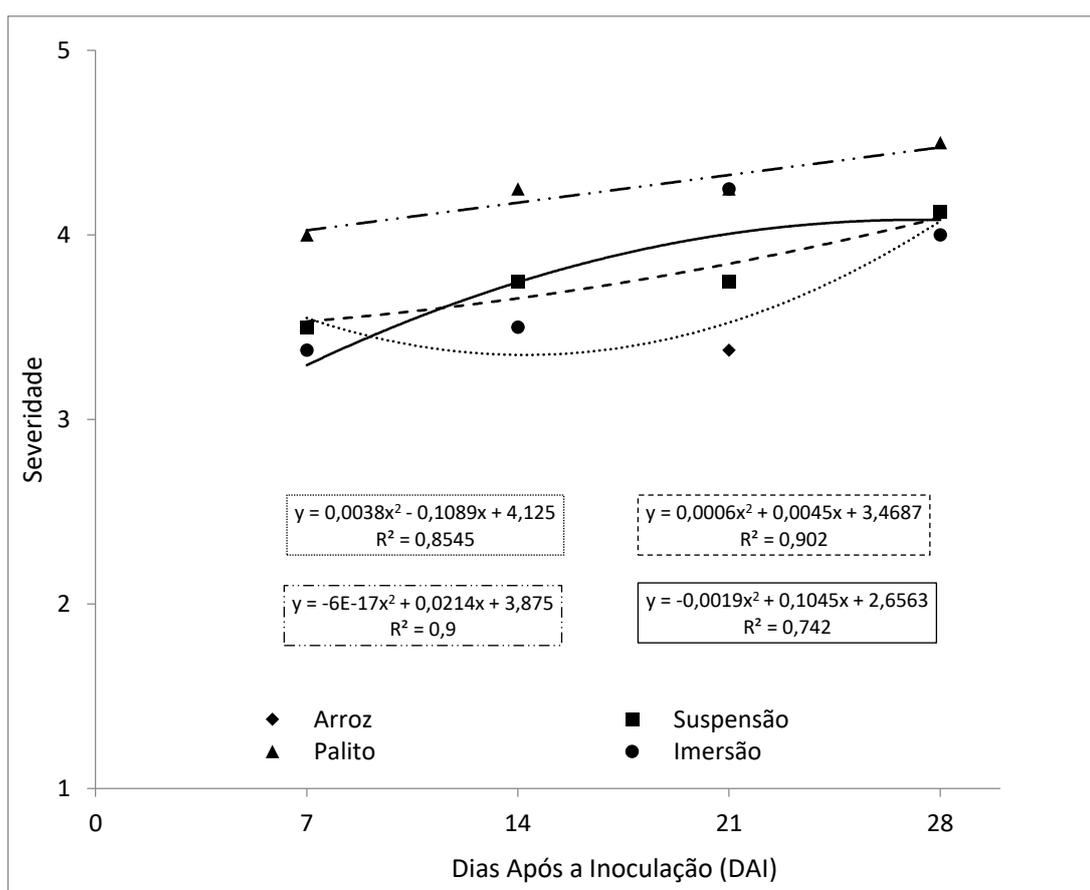


Figura 3 – Modelos de regressão para a severidade de quatro combinações de inóculos de *Rhizoctonia solani* em quatro diferentes tempos para a avaliação.

Sales Junior et al. (2015), utilizando mudas de 14 dias no estudo de reação de acessos de meloeiro a *R. solani*, avaliaram a severidade aos 45 dias após a inoculação. No entanto, considerando que o ciclo do meloeiro na região tem em torno de 65 dias, uma avaliação tardia poderia comprometer a autofecundação dos genótipos selecionados, impossibilitando a obtenção de linhagens de meloeiro resistentes à rizoctoniose. De modo distinto, no presente trabalho foi possível selecionar plantas com precisão ainda permitindo que as mesmas fossem conduzidas para formações de novas gerações.

CONCLUSÕES

Para seleção de germoplasma de meloeiro quanto à resistência a *R. solani* recomenda-se o uso de mudas com raízes cortadas durante o transplante para vasos, contendo areia com inóculo areno-orgânico, obtido a partir de grãos de arroz na concentração de 150 mg.kg⁻¹ de solo, associado à inoculação com furo no colo da planta por palito de dente infestado, não havendo necessidade do uso de câmara úmida. O isolado mais agressivo foi o CMM-1068.

REFERÊNCIAS

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

ANDRADE, D.E.G.T.; SILVA, C.F.B.; SILVA, L.G.C.; MICHEREFF, S.J.; SALES JÚNIOR, R.; ASSIS, T.C. Influência da densidade do inóculo e de isolados de *Rhizoctonia solani* na severidade da rizoctoniose do meloeiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 18, n. 03, p.164-168, 2005b.

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

CUNHA, F.S. **Patossistema *Rhizoctonia solani* x melanciaira: caracterização de isolados, identificação de fontes de resistência e determinação da herança**. 57f.: il. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias. Petrolina, Pernambuco, 2017.

DAVID, G.Q.; CHAVARRO-MESA, E.; SCHURT, D.A.; CERESINI, P.C. *Rhizoctonia* como fitopatógeno no agroecossistema brasileiro. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. 1Ed. **Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos**. Recife: EDUFRPE, 2018. p. 46 -67.

FALCÃO, J.V.; ORILI, F.P.; ÁVILA, Z.R. de; MELLO, S.C.M. de. **Estabelecimento de metodologia para contaminação de solo com propágulos dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, e expressão de doença em soja**. Comunicado Técnico. Brasília, 2005.

FAO. Faostat – **Statistics Database**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Acesso em: 11 jan. 2019.

GOULART, A.C.P. Efeito do tratamento de sementes de algodoeiro com fungicidas no controle do tombamento em relação à densidade de inóculo de *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 4, p. 360-366, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2019. **Sistema IBGE de recuperação automática - SIDRA**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br> Acesso em: 11 jun 2019.

MACHADO J.C., POZZA E.A. Razões e procedimentos para o estabelecimento de padrões de tolerância a patógenos em sementes. In: Zambolim L (Ed.) **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa-MG: UFV. 2005.

MEDEIROS, A.C.; MELO, D.R.M.; AMBRÓZIO, M.M.Q.; NUNES, G.H.S.; COSTA, J.M. Métodos de inoculação de *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* em meloeiro (*Cucumis melo*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 4, p. 281-286, 2015.

MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS – MDIC. 2019. **Sistema para extração de relatórios personalizados sobre os dados do comércio exterior brasileiro** - COMER-STAT. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/>. Acesso em: 13 jun. 2019.

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

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

NECHET, K.L.; HALFELD-VIEIRA, B.A. Caracterização de isolados de *Rhizoctonia* spp., associados à mela do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), coletados em Roraima. **Fitopatol. bras. [online]**, Brasília, v.31, n.5, p.505-508. 2006.

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

OLIVEIRA, A.C.C.; SOUZA, P.E.; POZZA, E.A.; MANERBA, F.C.; LOPES, M.F. Metodologias de Inoculação de *Rhizoctonia solani* na cultura da cenoura. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 992-995, 2008

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.; SILVA, G.B; SANTOS, G.R. Resistência de cultivares de arroz a *Rhizoctonia solani* e *Rhizoctonia oryzae*. **Pesq. agropec. bras. [online]**. Brasília, v.37, n.5, p.589-595. 2002.

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

SALARI, M.; PANJEHKEH, N.; NASIRPOOR, Z.; ABKHOO, J. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. **African Journal of Biotechnology**, Nairob: Academic Journals, v.11, n.87, p. 5324-15329, 2012.

SALES JÚNIOR, R.; NUNES, G.H.S.; SILVA, K.J.P.; COSTA, G.G.; GUIMARÃES, I. M.; MICHEREFF, S.J. Caracterização morfológica de fontes de resistência de meloeiro a *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.33, p.196-202, 2015.

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

SANTOS, B.A.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A.; VALE, F.X.R. Severidade de isolados de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* sensíveis e resistentes ao benomyl, em abacaxizeiro. **Fitopatol. bras. [online]**, Brasília, v.27, n.1, p.101-103. 2002.

SANTOS, F.S.; SOUZA, P.E.; OLIVEIRA, C.A.; MAGALHÃES, F.H.L.; LAURENTI, M.A. Ajuste do inóculo de *Rhizoctonia solani* em substrato para estudos de Rizoctoniose em algodoeiro e feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, n.4, p.373-375, 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, 2009.

SILVA, R.N.O.; MIGLIORINI, P.; JUNGES, E.; NUNES, A.F.; TUNES, L.V.M. Métodos de inoculação de *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid) em sementes de feijão. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 11, p. 07-11, 2016.

SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of *Rhizoctonia* species**, APS Press. 2 ed. St. Paul, 1991.

SOUZA, M.V.; MACHADO, J.C.; PHENING, L.H.; KAWASAKI, V.H.; ARAÚJO, D.V.; SILVA, A.A.; MARTINI NETO, A. Métodos de inoculação e efeitos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro. **Tropical plant pathology**, Brasília, v.33, n.1, p. 041-048, 2008.

STANGARLIN, J.R., KUHN, O.J., TOLEDO, M.V., PORTZ, R.L., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. AND PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.10, n.1, p.18-46, 2011.

TANAKA, M.A. de S.; ITO, M.F.; PASSOS, F.A. Patogenicidade de *Rhizoctonia solani* em morangueiro. **Bragantia**, Campinas, v.54, n.2, p.319-324, 1995.

VALARINI, J.P.; MENTEN, J.O.M. Inoculação de sementes de feijão com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e seu efeito sobre a qualidade sanitária e germinação. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.17, n.1, p.227-231, 1991.

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

VIANA, F.M.P.; SANTOS, M.V.D.; SILVA, M.F.V. **Recomendações para o Controle das Principais Doenças que Afetam a Cultura do Melão na Região Nordeste**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 6p. Circular Técnica, 12. 2001.

4 CAPÍTULO II IDENTIFICAÇÃO DE FONTES E OBTENÇÃO DE FAMÍLIAS S₁ DE MELOEIRO RESISTENTES À RIZOCTONIOSE

RESUMO

O meloeiro vem sendo largamente cultivado na região Nordeste do país, onde são empregados cultivos intensos e plantios sucessivos, ao longo do ano. Em razão disso, muitos problemas fitossanitários relacionados à patógenos habitantes do solo, como a *Rhizoctonia solani*, têm se intensificado, acarretando perdas. A utilização de cultivares resistentes constitui uma medida estratégica no manejo integrado de doenças. Diante disso, esse trabalho teve por objetivo selecionar genótipos promissores de meloeiro com resistência a rizoctoniose e suas progênes. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e no Laboratório de Melhoramento e Recursos Genéticos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. Foram avaliados 32 acessos de meloeiro provenientes dos Bancos Ativos de Germoplasma de Meloeiro da Embrapa Hortaliças (Brasília-DF) e de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro da Embrapa Semiárido (Petrolina-PE). Famílias S₁, obtidas por meio de autofecundações das plantas resistentes selecionadas, também foram avaliadas. O inóculo foi preparado a partir de grãos de arroz colonizados na concentração de 150 mg.kg⁻¹ de solo. No experimento envolvendo as progênes selecionadas, foi utilizado, adicionalmente, palito de dente infestado com as estruturas do patógeno no qual foi inserido no colo da planta, a cerca de 1 mm do solo. O isolado de *R. solani* utilizado em ambos os experimentos foi o CMM-1068. Os acessos foram avaliados quanto à severidade da doença por meio de uma escala com cinco notas, sendo a média da severidade entre os indivíduos de cada acesso usada para classificar os genótipos em cinco classes, variando de altamente resistente à altamente suscetível. As progênes selecionadas foram conduzidas por meio do método genealógico (Pedigree), sendo avaliadas 16 famílias S₁. Para avaliar a divergência genética entre os acessos e entre as famílias S₁, foi utilizada a técnica de análise multivariada por meio do método da ligação média dentro do grupo, realizado a partir da matriz de dissimilaridade genética. Foi possível identificar 10 acessos classificados como resistentes e 6 acessos obtiveram frequência de resistência igual ou superior a 40%. O maior destaque foi para os genótipos BAGMEL 100, CNPH 15-276, BAGMEL 27, CNPH 15-446 e CNPH 93-692, pois obtiveram os menores índices de severidade associado às maiores frequências de resistência. Para as progênes avaliadas foram observados ganhos em relação à geração S₀. A variação nas respostas observada entre e dentro dos acessos evidenciam a variabilidade genética presente no

germoplasma, e as fontes de resistência selecionadas, bem como os ganhos apresentados nas progênies têm relevância direta para programas de melhoramento voltados a resistência a rizoctoniose.

Palavras-chave: *Cucumis melo*. *Rhizoctonia solani*. Progênies. Resistência.

ABSTRACT - Identification of sources and obtaining rhizoctonia resistant melon S₁ families

The melon has been widely cultivated in the Northeast region of the country, where intense crops and successive plantings are used throughout the year. As a result, many phytosanitary problems related to soil pathogens, such as *Rhizoctonia solani*, have intensified, leading to losses. The use of resistant cultivars is a strategic measure in the integrated management of diseases. Therefore, this work aimed to select promising melon genotypes with resistance to rhizoctoniosis and its progenies. The experiments were conducted in a greenhouse and in the Laboratory of Plant Breeding and Genetic Resources of Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. A total of 32 accessions of melon from the Melon Germplasm's Active Banks of Embrapa Hortaliças (Brasília-DF) and Cucurbitaceae Banks for the Brazilian Northeast of Embrapa Semiárido (Petrolina-PE) were evaluated. S₁ families, obtained through self-fertilization of the selected resistant plants, were also evaluated. The inoculum was prepared from rice grains colonized at the concentration of 150 mg.kg⁻¹ soil. In the experiment involving the selected progenies, a toothpick infested with the pathogen structures in which it was inserted in the colon of the plant was used, about 1 mm from the soil. The *R. solani* isolate used in both experiments was CMM-1068. The accessions were evaluated for disease severity by means of a five-grade scale, with the average severity among the individuals of each access being used to classify the genotypes into five classes, ranging from highly resistant to highly susceptible. The selected progenies were conducted using the Pedigree method (or genealogic), and 16 S₁ families were evaluated. To evaluate the genetic divergence between the accessions and between the S₁ families, the multivariate analysis technique was used by means of the mean linkage method within the group, performed from the genetic dissimilarity matrix. It was possible to identify 10 accesses classified as resistant, while 6 accesses obtained a resistance frequency equal to or greater than 40%. The main highlight was the genotypes BAGMEL 100, CNPH 15-276, BAGMEL 27, CNPH 15-446 and CNPH 93-692, as they obtained the lowest severity indexes associated with the highest resistance frequencies. For the evaluated progenies, gains were observed in relation to the S₀ generation. The variation in the observed responses between and within the accesses evidences the genetic variability present in the germplasm, and the selected resistance sources, as well as the gains presented in the progenies have direct relevance for breeding programs aimed at resistance to rhizoctoniosis

Keywords: *Cucumis melo*. *Rhizoctonia solani*. Progenies. Resistance.

INTRODUÇÃO

As cucurbitáceas ocupam uma posição de destaque, entre as principais famílias botânicas utilizadas na produção de alimentos, devido principalmente a sua importância econômica e social (SILVEIRA et al., 2009). Dentre as espécies cultivadas dessa família, destaca-se o meloeiro (*Cucumis melo* L.), que é considerada uma das olerícolas mais populares do mundo (ROCHA et al., 2010).

No ano de 2017, foram produzidas quase 32 milhões de toneladas de melão, em aproximadamente 1,22 milhões de hectares colhidos (FAO, 2019). O Brasil produziu, no mesmo ano, mais de 540 mil toneladas, ocupando a décima terceira colocação, atrás de países como China, Turquia e Irã (FAO, 2019). No âmbito das exportações, o Brasil ocupou a terceira colocação, exportando mais de 224 mil toneladas dessa olerícola, o que gerou rendimentos superiores a U\$ 148 milhões em 2016 (FAO, 2019).

A região Nordeste é responsável por mais de 95% da produção nacional, desta, 76% concentra-se nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará os quais foram responsáveis por mais de 99% da exportação nacional no último ano (IBGE, 2019). Apesar disso, problemas fitossanitários têm sido limitantes para produção da cultura (OLIVEIRA et al., 2017). Entre as principais doenças que infetam o meloeiro, as ocasionadas por patógenos radiculares como a rizoctoniose, cujo agente causal é o fungo *Rhizoctonia solani* Kühn, possuem destaque, sendo responsáveis por prejuízos à cultura em várias regiões produtoras (MAIA, et al. 2013).

Em levantamentos realizados nas últimas décadas, a *R. solani* foi constatada em regiões produtoras de melão do Rio Grande do Norte e Ceará (ANDRADE, et al. 2005a); foi considerado o patógeno mais frequente em cultivos de Roraima (HALFELD-VIEIRA, et al. 2011) e também foi relatado em levantamento realizado no estado de Pernambuco em campos de produção de cucurbitáceas (SILVA, et al. 2016b).

Os sintomas da rizoctoniose podem ser observados desde a não emergência das sementes, pela perda da rigidez e decomposição, até lesões no hipocótilo e raízes. A morte do embrião bem como da plântula provoca, em campo, redução no estande (MICHEREFF; PERUCH; ANDRADE, 2005).

O controle da doença é muito difícil, pois esse fungo coevoluiu com o hospedeiro por milhões de anos e está altamente adaptado ao ambiente do solo (MICHEREFF et al., 2005). Além disso, é acentuado pela dificuldade de detecção do patógeno antes do aparecimento de sintomas e estabelecimento de perdas. Os sucessivos cultivos, a manutenção

de resíduos de cultura nas áreas de plantio e a ineficiência no manejo da irrigação elevam o índice de severidade da doença em campo. Aliado a isso, o uso de fungicidas químicos não tem apresentado controle efetivo desse patógeno (GAVA; MENEZES, 2012).

Dentre o conjunto de práticas recomendadas, o uso de cultivares resistentes é umas das estratégias mais eficientes para o controle de rizoctoniose em meloeiro. Embora existam relatos de fontes de resistência para a *R. solani* em germoplasma de meloeiro (MICHEREFF et al., 2008; SALARI et al., 2012; SALES JÚNIOR et al., 2015), a identificação de novas fontes de resistência assumem uma importância fundamental diante da variabilidade existente do patógeno e da necessidade de se obter genótipos superiores para essa característica. Vale ressaltar que não houve relatos da obtenção de linhagens a partir das fontes de resistência selecionadas.

Nesse contexto, esse estudo teve como objetivo selecionar fontes de resistência a *Rhizoctonia solani* em acessos de meloeiro e obter famílias visando introgridir essa resistência.

MATERIAL E MÉTODOS

Área experimental

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e no Laboratório de Melhoramento e Recursos Genéticos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical no município de Fortaleza - CE, com coordenadas geográficas: latitude 35°45'6.0" S, longitude 38°34.5'37.5" W e altitude de 25 metros. O clima da região é do tipo Aw, de acordo com a classificação de Köppen, definido como clima tropical chuvoso (ALVARES et al., 2014). Os inóculos foram produzidos no Laboratório de Patologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical.

Germoplasma

Para avaliação da reação a *R. solani* em meloeiro, foram avaliados 32 acessos provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de Meloeiro da Embrapa Hortaliças (21) e do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro da Embrapa Semiárido (11). Posteriormente, foram avaliadas famílias S₁ obtidas por meio de autofecundações das plantas selecionadas como resistentes na avaliação de germoplasma.

Preparação do inóculo

Foi utilizado o isolado patogênico CMM-1068 de *R. solani*, coletado da região do colo de meloeiro com podridão de raízes, no município de Baraúna, RN. Esse isolado faz parte da Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos “Prof.^a Maria Menezes” CMM, da universidade Federal Rural de Pernambuco. O isolado foi previamente repicado em meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) + clorafenicol 0,1g.L⁻¹ e mantidos uma sala de crescimento, com temperatura ambiente (28 °C ± 2°C) e fotoperíodo de 12h, durante sete dias.

O inóculo areno-orgânico foi preparado de acordo com a metodologia descrita por Michereff Filho et al. (1996). Foram utilizados 50 g de arroz parboilizado e 30 mL de água destilada, ambos misturados em erlenmeyer e esterilizado em autoclave (121 °C, 1 atm, 30'). Posteriormente, foram transferidos três discos de micélio de *Rhizoctonia solani* para o erlenmeyer contendo o substrato areno-orgânico estéril e armazenado em uma incubadora tipo BOD, a 25 °C com luminosidade constante por dez dias. Um erlenmeyer apenas com o arroz (sem o fungo) foi mantido como testemunha, visando detectar possíveis contaminações. Após 10 dias, o substrato colonizado foi colocado em sacos de papel, previamente esterilizados em autoclave (121 °C, 1 atm, 20'), para secagem do inóculo por 48 horas, a 30 °C e mantendo a luminosidade constante. No dia da infestação, o substrato foi triturado em um liquidificador até formar um pó bem fino e homogêneo.

Para o método do palito de dente infestado, o isolado fúngico foi previamente repicado em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA + antibiótico, e mantido em crescimento a 28 ± 2°C sob alternância de luz (12h de claro e 12h de escuro), por sete dias. Ao mesmo tempo, os palitos de dente (1,5 cm) foram esterilizados em autoclave (121 °C, 1 atm, 30') para serem usados no momento da inoculação.

Inoculação das plantas

Para avaliação do germoplasma de meloeiro quanto à resistência à rizoctoniose, no momento do transplantio, mudas de 32 acessos foram infestadas com inóculo areno-orgânico. Para avaliação das famílias S₁, o método do palito de dente infestado foi associado ao inóculo areno-orgânico.

Em ambos os experimentos, antes do semeio, as sementes foram desinfestadas de acordo com os seguintes passos: 1 - imersão em álcool 70% por um minuto; 2 - imersão em uma solução de NaClO a 1,5% por dois minutos; 3 - lavagem em água corrente abundante; e, 4 - secagem em papel toalha sob temperatura ambiente (± 28 °C) (adaptado de MICHEREFF et al., 2008). O semeio foi realizado em bandejas de células plásticas contendo uma mistura

de substrato comercial (Turfa Fértil[®]) e pó de coco, numa proporção de 1:1. O delineamento usado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída por três vasos com uma planta/cada.

No experimento de avaliação dos acessos, a infestação foi realizada durante o transplântio para vasos de 0,33 L, 10 dias após o semeio. As raízes das mudas foram previamente cortadas. Foi utilizado o inóculo areno-orgânico em uma proporção de 150 mg kg⁻¹ de solo. Substrato areno-orgânico sem a presença do fungo foi utilizado como testemunha negativa. A avaliação da severidade ocorreu aos 21 dias após a inoculação.

O experimento de avaliação das famílias S₁ seguiu os mesmos procedimentos, contudo, após o transplântio, palitos de dente infestados com o fungo foram inseridos no colo das plantas, cerca de 1 mm acima do solo, visando aumentar o potencial do inóculo e melhorar a eficácia na seleção. Para testemunha, foi colocado substrato de arroz, sem a presença do fungo, e foi inserido, no colo das plantas, palitos de dente esterilizados. A avaliação da severidade ocorreu aos 28 dias após a inoculação.

Avaliação dos genótipos

As plantas foram avaliadas quanto à severidade da doença, por meio de uma escala descritiva de notas (NORONHA et al., 1995) adaptada para as mudas de meloeiro, como segue: 1 - ausência de sintomas; 2 - hipocótilo com pequenas lesões; 3 - hipocótilo com grandes lesões sem constrição; 4 - hipocótilo totalmente constricto e 5 - mudas tombadas. A severidade média (SV) foi empregada para agrupar os genótipos avaliados nas seguintes classes de resistência: AR - altamente resistente (SV = 1,0); R - resistente (1,1 < SV < 2,0); I - intermediário (2,1 < SV < 3,0); S - suscetível (3,1 < SV < 4,0); AS - altamente suscetível (4,1 < SV < 5,0). Também foi calculada a frequência de plantas resistentes em cada acesso, dada pela razão entre o número de plantas altamente resistente (SV = 1,0) e o número de plantas avaliadas por genótipo.

Obtenção das progênies

Visando obter linhagens de meloeiro resistentes à rizoctoniose e considerando o método de melhoramento genealógico, a partir das plantas avaliadas como resistentes dentre os acessos, foram obtidas famílias S₁. Para tanto, após a avaliação do germoplasma, as plantas resistentes foram transplantadas para vasos maiores (capacidade de 5L) e conduzidas e autofecundadas em casa de vegetação, para obtenção das sementes da próxima geração.

Desse modo, 16 famílias S₁ foram testadas em um novo ciclo quanto à reação a *R. solani*. As sementes dos frutos obtidos por autofecundação de cada planta selecionada corresponderam às famílias S₁. Foram avaliadas 15 plantas de cada família.

Nessa geração, foram selecionadas as famílias com maior percentual de plantas resistentes e, dentro das famílias, as plantas altamente resistentes, que obtiveram a nota mínima, igual a um. Essa tática deverá ser reproduzida até a obtenção de uma família homocigota e resistente, em duas gerações sucessivas. As plantas resistentes selecionadas dentro de cada família S₁ foram autofecundadas e colhidas individualmente, gerando as famílias S_{1:2}.

Análises estatísticas

Para diferenciação quanto à severidade da rizoctoniose entre os genótipos de meloeiro utilizou-se o teste de Scott-Knott, a 5% de significância. Tanto para avaliação dos acessos quanto das famílias S₁, foram realizadas as análises de agrupamento e de componentes principais, considerando a severidade e a frequência de resistentes dos genótipos. A análise de agrupamento seguiu o método da Ligação Média Dentro de Grupo com base nas Distâncias Euclidianas e para formação dos grupos foi considerada a média geral das distâncias entre todos os genótipos. Para caracterização dos acessos, a análise de Componentes Principais foi expressa em um gráfico 2D. Adicionalmente, foram estimados os ganhos percentuais para severidade e frequência de plantas resistentes das progênes em relação à média dos respectivos acessos das plantas selecionadas quanto à resistência à rizoctoniose.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação de acessos

Foram observadas diferenças na severidade e na frequência de plantas resistentes entre os acessos para reação a *R. solani*, indicando ampla variabilidade genética no germoplasma avaliado. Os acessos estudados foram discriminados em três das cinco classes subjetivas de reação (resistente, intermediário e suscetível), e, mesmo não havendo acesso altamente resistente e altamente suscetível, foram observadas plantas individuais em ambas as classes. Apenas o acesso CNPH 09-902 e o híbrido Goldex® (testemunha), foram classificados como suscetíveis (Tabela 6).

Os acessos BAGMEL 100, CNPH 15-446, CNPH 93-692, CNPH 15-276, BAGMEL 35, BAGMEL 27, BRS Araguaia, CNPH 15-078, CNPH 93-689 e BAGMEL 23 se destacaram como resistentes, com valores médios de severidade inferiores a 2,0. Os demais acessos (62,50% do total) foram classificados como intermediários.

Atualmente não existe nenhum método isolado de controle eficiente que possa ser usado sozinho contra a rizoctoniose. Segundo Salari, et al. (2012), a pressão do patógeno no campo pode apenas ser reduzida pela adoção de medidas de controle integradas e preventivas. O uso de produtos químicos como medida de controle deste fungo é uma alternativa complexa, devido ao fato do fungo se encontrar no ambiente solo. Além disso, os fungicidas químicos são caros, o que poderia elevar os custos de produção, dificultando o cultivo para os pequenos agricultores.

O uso de cultivares de melão resistentes a *R. solani* é a medida de controle mais eficiente, todavia ainda não há relatos da disponibilidade dessas para a cultura do melão. Nesse trabalho foram identificadas acessos e progênies resistentes que poderão ser utilizadas para introgressão da resistência em genótipos-elite.

Tabela 6 – Reação de acessos de meloeiro a *Rhizoctonia solani*, utilizando inóculo areno-orgânico.

Genótipo	SV ¹	CR ²	FR ³	Genótipo	SV	CR	FR
BRS Araguaia	1,93 ± 0,12 a*	R	2/15	CNPH 02-915	2,40 ± 0,21 b	I	2/15
BRS Anton	2,87 ± 0,22 c	I	0/15	CNPH 09-919	2,60 ± 0,21 b	I	1/15
CNPH 15-078	1,93 ± 0,12 a	R	2/15	CNPH 01-925	2,67 ± 0,27 b	I	3/15
CNPH 11-130	2,60 ± 0,21 b	I	1/15	CNPH 11-939	2,20 ± 0,20 a	I	3/15
CNPH 09-205	2,33 ± 0,21 b	I	1/15	BAGMEL 100	1,50 ± 0,17 a	R	8/14
CNPH 09-206	2,33 ± 0,19 b	I	1/15	BAGMEL 23	2,00 ± 0,26 a	R	6/15
CNPH 11-233	2,20 ± 0,20 a	I	2/15	BAGMEL 08	2,40 ± 0,21 b	I	2/15
CNPH 15-276	1,73 ± 0,18 a	R	6/15	BAGMEL 37	2,07 ± 0,21 a	I	4/15
CNPH 15-420	2,13 ± 0,13 a	I	1/15	BAGMEL 27	1,87 ± 0,22 a	R	6/15
CNPH 16-439	2,27 ± 0,18 a	I	2/15	BAGMEL 46	2,80 ± 0,17 c	I	0/15
CNPH 15-446	1,53 ± 0,13 a	R	7/15	BAGMEL 30	2,53 ± 0,17 b	I	1/15
CNPH 15-687	2,40 ± 0,21 b	I	2/15	BAGMEL 35	1,80 ± 0,14 a	R	4/15
CNPH 93-689	2,00 ± 0,22 a	R	4/15	BAGMEL 04	2,38 ± 0,14 b	I	0/13
CNPH 93-692	1,60 ± 0,16 a	R	7/15	BAGMEL 28	2,33 ± 0,13 b	I	0/15
CNPH 15-830	2,73 ± 0,25 b	I	2/15	BAGMEL 66	2,07 ± 0,27 a	I	5/15
CNPH 09-902	3,27 ± 0,21 c	S	0/15	Goldex®	3,20 ± 0,20 c	S	0/15
CNPH 09-913	2,13 ± 0,17 a	I	2/15				

¹/SV - média da severidade ± erro-padrão. ²/CR - classe de resistência em função da severidade: AR - altamente resistente (SV = 1,0); R - resistente (1,1 < SV > 2,0); I - intermediário (2,1 < SV > 3,0); S - suscetível (3,1 < SV > 4,0); AS - altamente suscetível (4,1 < SV > 5,0). ³/FR - frequência de resistentes: razão entre o número de plantas AR e o número de plantas avaliadas. */Médias seguidas da mesma letra, na coluna SV, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância. Acessos em negrito tem severidade média abaixo de 2,0 e FR de pelo menos 40%.

Ampla variação também foi observada quanto à frequência de plantas resistentes entre os acessos. Seis acessos (BAGMEL 100, CNPH 15-446, CNPH 93-692, CNPH 15-276, BAGMEL 23 e BAGMEL 27) obtiveram frequência de plantas resistentes igual ou superior a 40% ($FR \geq 40\%$), todos esses classificados como resistentes (Tabela 6). Os genótipos BAGMEL 66, CNPH 93-689, BAGMEL 37, BAGMEL 35, CNPH 01-925, CNPH 11-939 apresentaram frequência de resistência moderada, com valores entre 20% e 33,3%. Desse grupo, apenas o BAGMEL 35 está classificado com genótipo resistente, estando os demais classificados como intermediários. Quinze genótipos (BRS Araguaia, CNPH 15-078, CNPH 11-233, CNPH 16-439, CNPH 15-687, CNPH 15-830, CNPH 09-913, CNPH 02-915, BAGMEL 08, CNPH 11-130, CNPH 09-205, CNPH 09-206, CNPH 15-420, CNPH 09-919 e BAGMEL 30) obtiveram baixa frequência de plantas resistentes, com valores entre 6 e 13,3%. Os demais acessos (BRS Anton, CNPH 09-902, BAGMEL 46, BAGMEL 04 e BAGMEL 28) não apresentaram plantas resistentes ($FR = 0$).

Vale destacar que os acessos BAGMEL 100, CNPH 15-276, BAGMEL 27, CNPH 15-446 e CNPH 93-692 obtiveram os menores índices de severidade, que associado as maiores frequências de plantas resistentes evidencia grande potencial para uso no melhoramento genético do meloeiro para resistência à rizoctoniose.

Apenas um trabalho foi realizado utilizando acessos de germoplasma provenientes da agricultura tradicional, nele foram identificados os acessos T-A-08, T-A-09, T-A-19 de meloeiro, resistente aos isolados RS-21, RS-22 e RS-23 (SALES JUNIOR, et al., 2015). Michereff *et al.* (2008), trabalhando com reação de dois isolados de *R. solani* em híbridos comerciais de meloeiro, relataram o híbrido Goldex como resistente, diferente dos resultados observados nesse estudo, no qual o mesmo foi utilizado como padrão de suscetibilidade, devido ao desempenho em estudos prévios realizados com cinco isolados de *R. solani*.

Segundo Carling; Leiner (1990) pode ocorrer aumento ou redução na virulência do patógeno, em função das condições edafoclimáticas e da variabilidade populacional dentro do mesmo grupo de anastomose. Esse fato evidencia que um mesmo hospedeiro pode ter respostas distintas a diferentes isolados de uma mesma espécie. Sabe-se que existe variabilidade dentro do patógeno e que devido a isso as fontes de resistência devem ser voltadas, de preferência, a região de ocorrência do isolado, visando elevar a durabilidade da mesma.

Por meio da análise de agrupamento, com base na média geral das distâncias entre todos os acessos cinco grupos de genótipos foram formados (Figura 4).

O primeiro grupo, formado pelo os acessos CNPH 15-446; CNPH 93-692 e BAGMEL 100, caracteriza-se por genótipos resistentes que apresentam o menor grau médio de severidade ($SV < 1,6$) e as maiores frequências de resistência ($46,7 < FR > 57,1\%$). O grupo II reuniu os acessos CNPH 15-276; CNPH 93-689; BAGMEL 23; BAGMEL 37; BAGMEL 27; BAGMEL 35 e BAGMEL 66, que foram resistentes, entretanto, com média de severidade superior a 1,61 e frequência de resistência menor que 40%. O terceiro grupo reuniu acessos classificados resistentes e intermediários ('BRS Araguaia'; CNPH 15-078; CNPH 09-205; CNPH 09-206; CNPH 11-233; CNPH 15-420; CNPH 16-439; CNPH 15-687; CNPH 09-913; CNPH 02-915; CNPH 11-939; BAGMEL 08; BAGMEL 04 e BAGMEL 28), os quais apresentaram grau médio de severidade ($1,93 < SV > 2,40$) e baixa frequência de resistência ($FR > 20\%$).

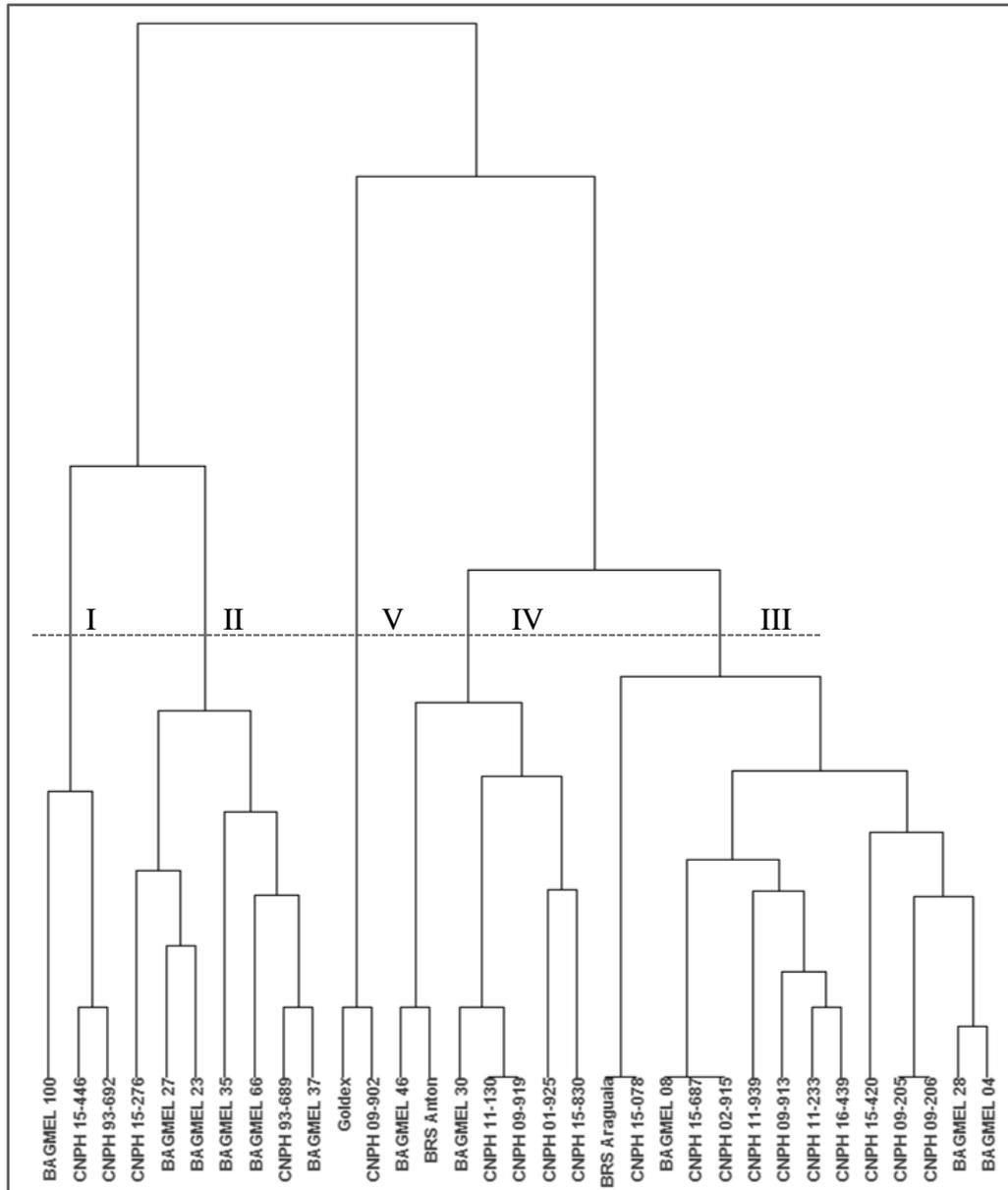


Figura 4- Dissimilaridade genética entre acessos de meloeiro por meio do método Ligação Média Dentro de Grupo com base nas Distâncias Euclidianas, considerando a severidade e a frequência de plantas resistentes à rizoctoniose.

O grupo IV foi composto pelos genótipos ‘BRS Anton’, CNPH 11-130, CNPH 15-830, CNPH 09-919, CNPH 01-925, BAGMEL 46 e BAGMEL 30, classificados como intermediários com base na severidade ($2,53 < SV < 2,87$) e também apresentaram baixa frequência de plantas resistentes ($6,7 < FR < 20\%$). E, no grupo V, estão os suscetíveis, representado pelo acesso CNPH 09-902 e pela testemunha (‘Goldex’), que apresentaram elevado grau de severidade ($SV > 3,20$) e sem nenhuma planta resistente ($FR = 0$).

Portanto, o grupo I possui acessos com menor índice médio de severidade da doença associado as melhores frequências de resistência, esses genótipos são fontes

promissoras de resistência a *R. solani* com potencial para serem usadas em programas de melhoramento genético do meloeiro visando à resistência a esse patógeno.

Quanto à análise de Componentes Principais, as duas variáveis contribuíram de modo proporcional para o primeiro componente principal, que explica 90% da variação da variabilidade existente no germoplasma avaliado. De forma semelhante, as variáveis contribuíram para o segundo eixo, contudo, esse apresentou baixa relevância na dispersão dos acessos. Houve correlação negativa ($r = -0,80$) entre severidade e frequência de plantas resistentes.

A análise de componentes principais corroborou com a análise de agrupamento. Pela dispersão gráfica nos primeiros componentes principais, os acessos localizados mais à esquerda (BAGMEL 100, CMPH 15-446, CNPH 93-692), que apresentam maior frequência de resistência e menor grau de severidade (Figura 5), estão reunidos no grupo I (Figura 4). Considerando o primeiro componente, o BAGMEL 100 é o genótipo que mais se destaca positivamente, por outro lado, os acessos CNPH 09-902 e BAGMEL 46 e os híbridos Goldex e BRS Anton mostraram os piores desempenhos, associado à alta severidade e baixo índice de frequência de plantas resistentes.

A partir das plantas selecionadas como altamente resistentes, 16 foram escolhidas para dar origem a famílias S₁, que posteriormente foram avaliadas quanto à resistência à rizoctoniose. A identificação dessas fontes de resistência demonstra que há variabilidade no germoplasma de meloeiro avaliado e evidencia o potencial da agricultura tradicional no provimento de genes favoráveis por meio da agrobiodiversidade, os quais têm grande potencial de uso em programas de melhoramento genético. As fontes selecionadas deverão seguir no processo de seleção até a obtenção de uma linhagem de meloeiro resistente à rizoctoniose. É importante salientar que essas fontes e os genótipos obtidos a partir das mesmas sejam avaliados para outros isolados existentes nas regiões produtoras de melão, visando assegurar a estabilidade da resistência.

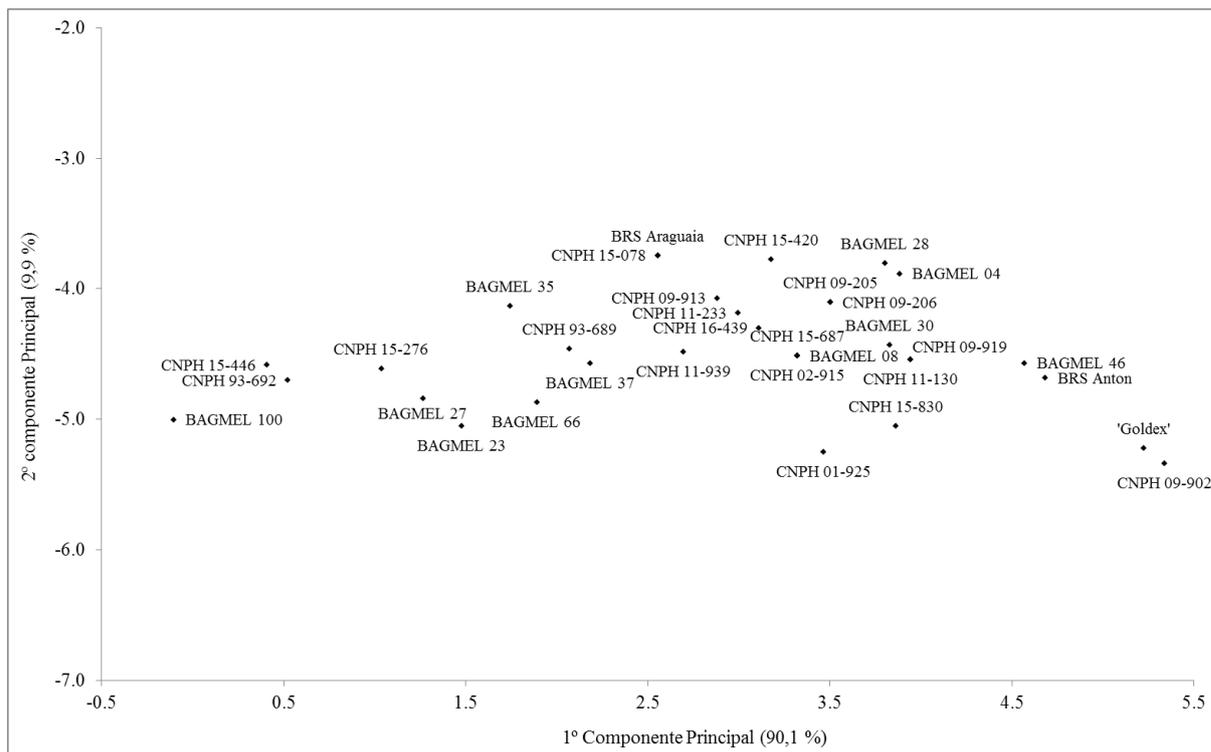


Figura 5- Dispersão gráfica de acessos de meloeiro quanto à resistência à rizoctoniose, em relação aos dois primeiros Componentes Principais.

Avaliação das progênies

Verificou-se que, no experimento de reação das progênies, a maioria das famílias (75%) apresentaram-se como resistentes para reação a *R. solani*, são elas: CNPH 16-439_2; CNPH 11-233_1; CNPH 93-689_4; CNPH 15-446_2; CNPH 15-276_1; CNPH 16-439_1; BRS Araguaia_1; CNPH 15-078_2; CNPH 15-276_2; CNPH 15-276_5; BRS Araguaia_2 e CNPH 15-687_1 (Tabela 7).

Quatro famílias foram classificadas como genótipos intermediários, sendo apenas a testemunha suscetível. O resultado demonstra eficiência no processo de seleção de genótipos para a resistência a *R. solani* e que os genes de interesses estão sendo triados. É provável que, com o avançar das seleções, obtenha-se linhagens promissoras para a resistência ao patógeno em questão.

Considerando o método da Ligação Média Dentro de Grupo com base nas Distâncias Euclidianas na avaliação da severidade em famílias S_1 de meloeiro, houve diferenças significativas entre os acessos, com a formação de quatro grupos estatisticamente distintos (Figura 6), os grupos com genótipos mais resistentes (grupos I e II) contemplaram 64,7% das famílias estudadas.

Tabela 7 – Reação de famílias S1 de meloeiro a *Rhizoctonia solani*, utilizando inóculo de areno-orgânico associado ao método do palito de dente.

Genótipo	SV ¹	CR ²	FR ³	Genótipo	SV	CR	FR
BRS Araguaia_1	1,67 ± 0,22 a*	R	6/12	CNPH 15-276_5	1,73 ± 0,21 a	R	7/15
BRS Araguaia_2	1,78 ± 0,28 a	R	4/9	CNPH 16-439_1	1,60 ± 0,27 a	R	6/10
CNPH 15-078_2	1,73 ± 0,27 a	R	9/15	CNPH 16-439_2	1,27 ± 0,19 a	R	9/11
CNPH 11-130_1	2,20 ± 0,22 a	I	4/15	CNPH 15-446_1	2,27 ± 0,25 a	I	4/15
CNPH 11-233_1	1,38 ± 0,14 a	R	8/13	CNPH 15-446_2	1,57 ± 0,17 a	R	7/14
CNPH 15-276_1	1,60 ± 0,24 a	R	9/15	CNPH 15-687_1	2,00 ± 0,23 a	R	3/11
CNPH 15-276_2	1,73 ± 0,18 a	R	6/15	CNPH 93-689_4	1,44 ± 0,24 a	R	6/9
CNPH 15-276_3	2,67 ± 0,37 b	I	5/15	Goldex®	3,60 ± 0,24 c	S	0/15
CNPH 15-276_4	2,07 ± 0,21 a	I	4/15				

¹/SV - média da severidade ± erro-padrão. ²/CR - classe de resistência em função da severidade: AR - altamente resistente (SV = 1,0); R - resistente (1,1 < SV > 2,0); I - intermediário (2,1 < SV > 3,0); S - suscetível (3,1 < SV > 4,0); AS - altamente suscetível (4,1 < SV > 5,0). ³/FR - frequência de resistentes: razão entre o número de plantas AR e o número de plantas avaliadas. */Médias seguidas da mesma letra, na coluna SV, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância. Acessos em negrito tem severidade média abaixo de 2,0 e FR de pelo menos 50%.

O grupo I foi representado apenas pelo genótipo CNPH 16-439_2, o qual apresentou o menor valor de severidade (SV = 1,27) e a maior frequência de plantas resistentes (FR = 81,8%), dentre todas as famílias estudadas.

O grupo II, também formado por genótipos resistentes, com grau médio de severidade (1,39 < SV > 1,78) e com elevada frequência de resistência (40 < FR > 66,7%), nesse grupo é possível destacar as famílias: BRS Araguaia_1; BRS Araguaia_2; CNPH 15-078_2; CNPH 11-233_1; CNPH 15-276_1; CNPH 15-276_2; CNPH 15-276_5; CNPH 16-439_1; CNPH 15-446_2 e CNPH 93-689_4. As demais famílias, CNPH 11-130_1; CNPH 15-276_3; CNPH 15-276_4; CNPH 15-446_1 e CNPH 15-687_1, foram classificadas como intermediárias para resistência a *R. solani*, mas apresentando uma mediana frequência de resistência (27 < FR > 33%), sendo reunidos no grupo III. O ‘Goldex’ ficou isolado no grupo IV, como o genótipo mais suscetível, evidenciando a eficiência na seleção à resistência a *R. solani* em meloeiro. Das 16 famílias estudadas apenas quatro apresentou frequência inferior a 40% (CNPH 11-130_1; CNPH 15-276_3; CNPH 15-446_1 e CNPH 15-687_1), porém, mesmo com frequência mais baixa, todas apresentaram indivíduos resistentes (Tabela 7).

A segregação entre plantas resistentes e suscetíveis nas famílias avaliadas é esperada, uma vez que as mesmas ainda estão no início das seleções e autofecundações. Além disso, a maior parte é proveniente de acessos da agricultura tradicional, que geralmente são heterogêneos, de modo que plantas provenientes de um mesmo acesso podem apresentar genótipos com reação diferente a *Rhizoctonia solani*.

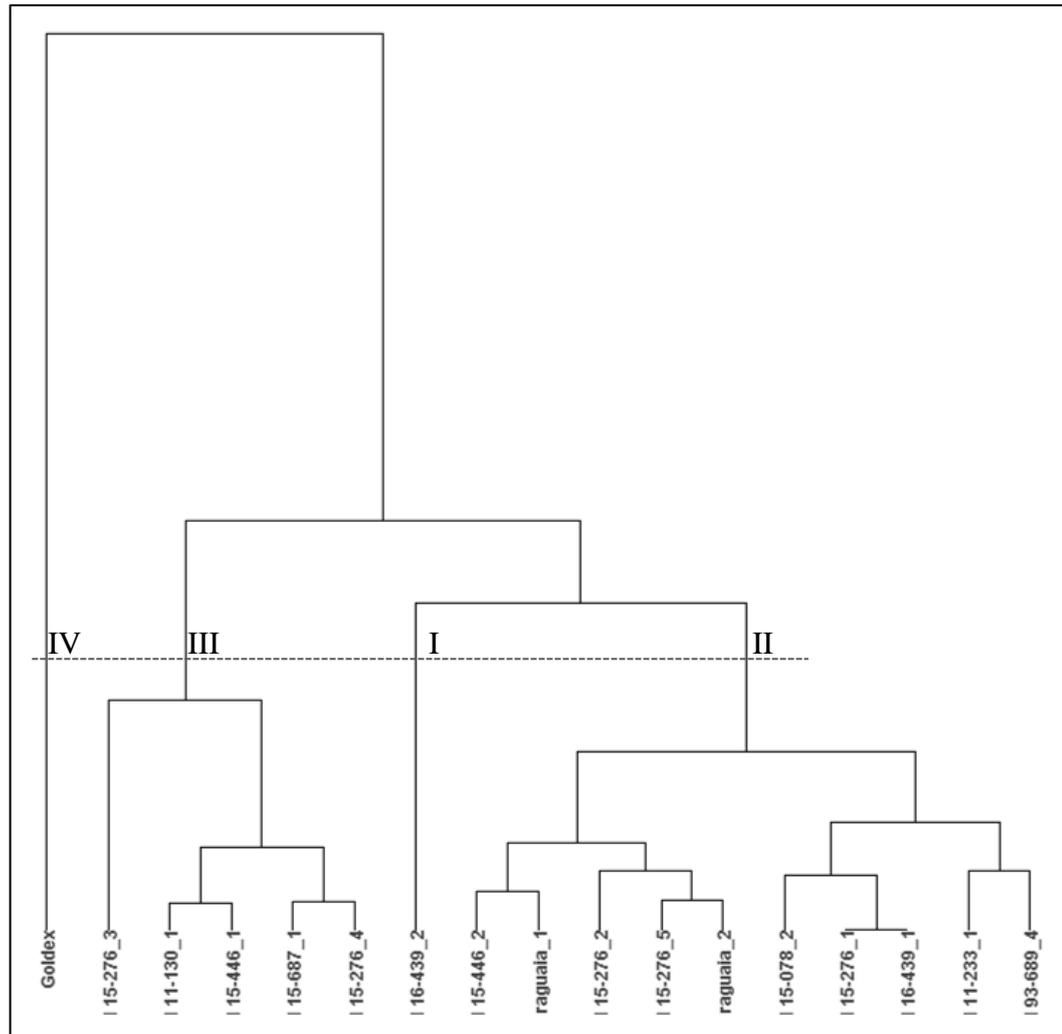


Figura 6 – Dissimilaridade genética entre famílias S_1 de meloeiro por meio do método Ligação Média Dentro de Grupo com base nas Distâncias Euclidianas, considerando a severidade e a frequência de plantas resistentes à rizoctoniose.

Em relação à ACP nas famílias resistentes a rizoctoniose (Figura 7) e análise dos CP1 e CP2, observa-se que, partindo da Testemunha ('Goldex'), há um progresso nos atributos de resistência dos genótipos estudados da direita para a esquerda, caracterizando uma melhoria na frequência de resistência e uma redução no grau de severidade a *R. solani*.

A família CNPH 16-439_2 apresentou grau médio de severidade reduzido e elevada frequência de resistência, se diferenciando espacialmente dos demais acessos. Observa-se ainda que o 'Goldex' fica isolado de todas as famílias estudadas, corroborando com o agrupamento realizado nas famílias e a efetividade na triagem da resistência e que as características, para as quais as plantas foram selecionadas, estão sendo mantidas e amplificadas nas gerações subsequentes.

A seleção praticada quanto à resistência à rizoctoniose propiciou ganhos em severidade ($SV \leq 44,05\%$) e para frequência de resistência ($FR \leq 515\%$) nas progênes avaliadas (Tabela 8). As progênes S₁: BRS Araguaia_1; CNPH 11-233_1; CNPH 15-078_2; CNPH 93-689_4; CNPH 16-439_1; CNPH 16-439_2 e CNPH 15-276_1 apresentaram alta resistência à rizoctoniose e baixa variabilidade genética, evidenciadas pelos parâmetros de severidade e frequência de resistência e pelos ganhos apresentados nos mesmos.

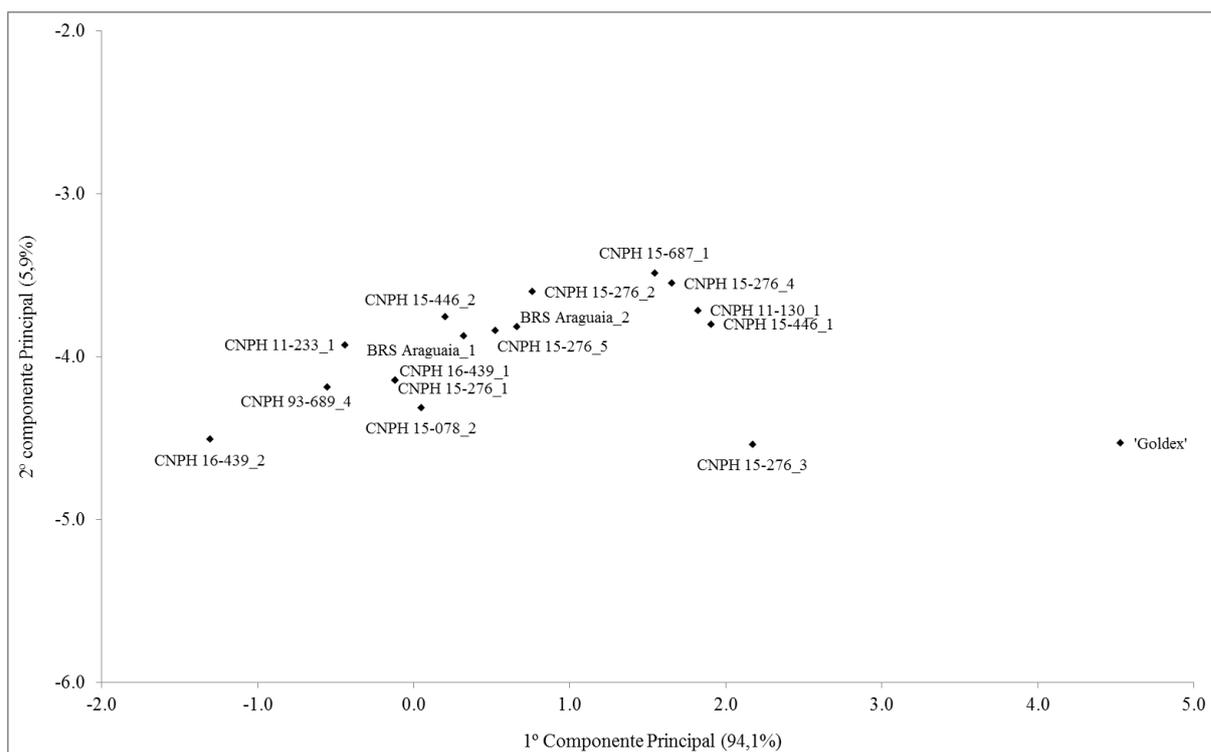


Figura 7 – Dispersão gráfica de famílias S₁ de meloeiro quanto à resistência à rizoctoniose, em relação aos dois primeiros Componentes Principais.

A seleção não foi eficiente para as progênes CNPH 15-276_2 e CNPH 15-276_5, visto que não apresentaram ganhos em relação à geração S₀. Quanto às progênes CNPH 15-446_1; CNPH 15-446_2; CNPH 15-276_3 e CNPH 15-276_4 essa situação foi mais crítica, pois demonstraram desempenho inferior às respectivas genitoras. Portanto, todas essas famílias não apresentam potencial para seguir no processo de obtenção de linhagens de meloeiro resistentes à rizoctoniose.

Os resultados evidenciaram que os ganhos com a seleção foram satisfatórios nessa fase e que as famílias obtidas são promissoras com vistas à obtenção de linhagens de meloeiro resistentes a *R. solani*. Além disso, demonstra que a metodologia de avaliação e a estratégia

de seleção utilizadas foram adequadas, indicando que a condução das populações devem seguir por meio do método de melhoramento genealógico.

Tabela 8 – Ganhos percentuais em severidade e na frequência de plantas resistentes das progênies em relação à média dos respectivos acessos das plantas selecionadas, quanto à resistência à rizoctoniose.

Genótipo	S ₀		S ₁			Ganhos (%)	
	SV ¹	FR ²	Progênies	SV	FR	SV	FR
BRS Araguaia	1,9	13,3	BRS Araguaia_1	1,7	50,0	13,5	275,9
			BRS Araguaia_2	1,8	44,4	7,8	233,8
CNPH 11-130	2,6	6,7	CNPH 11-130_1	2,2	26,7	15,4	298,5
CNPH 11-233	2,2	13,3	CNPH 11-233_1	1,4	61,5	36,8	362,4
CNPH 15-078	1,9	13,3	CNPH 15-078_2	1,7	60,0	10,4	351,1
CNPH 15-687	2,4	13,3	CNPH 15-687_1	2,0	27,3	16,7	105,3
CNPH 93-689	2,0	26,7	CNPH 93-689_4	1,4	66,7	28,0	149,8
CNPH 15-446	1,5	46,7	CNPH 15-446_1	2,3	26,7	-48,4	-42,8
			CNPH 15-446_2	1,6	50,0	-2,6	7,1
CNPH 16-439	2,3	13,3	CNPH 16-439_1	1,6	60,0	29,5	351,1
			CNPH 16-439_2	1,3	81,8	44,1	515,0
			CNPH 15-276_1	1,6	60,0	7,5	50,0
CNPH 15-276	1,7	40,0	CNPH 15-276_2	1,7	40,0	0,00	0,0
			CNPH 15-276_3	2,7	33,3	-54,3	-16,8
			CNPH 15-276_4	2,1	26,7	-19,7	-33,3
			CNPH 15-276_5	1,7	46,7	0,00	16,8

¹/SV - média da severidade. ²/FR - frequência de resistentes: razão entre o número de plantas AR e o número de plantas avaliadas. Acessos em negrito apresentaram relevantes ganhos em relação à severidade e à frequência de resistentes.

CONCLUSÃO

Os acessos BAGMEL-100, CNPH-15-446 e CNPH 93-692 são fontes promissoras de resistência à rizoctoniose. A estratégia de seleção adotada foi eficiente e indicou que a geração S_{1:2} deverá ser formada a partir da seleção de plantas dentre as seguintes famílias S₁: CNPH 16-439_2, CNPH 11-233_1, CNPH 93-689_4, CNPH 15-078_2, CNPH 16-439_1, BRS Araguaia_1 e CNPH 15-276_1.

REFERÊNCIAS

- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v.22, n.6, p.711-728, 2014.
- ANDRADE, D.E.G.T.; MICHEREFF, S.J.; BIONDI, C.M.; NASCIMENTO, C.W.A.; SALES JÚNIOR, R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n.4, p.327-333, 2005.
- CARLING, D.E.; LEINER, R.H. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 80, n. 10, p. 930-934, Oct. 1990.
- FAO. Faostat – **Statistics Database**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home> > Acesso em 10 de abril de 2019.
- GAVA, C.A.T.; MENEZES, M.E.L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.43, p.633-640, 2012.
- HALFELD-VIEIRA, B.A.; NECHET, K.L.; SOUZA, G.R. Caracterização do perfil da ocorrência de doenças de plantas no estado de Roraima. **agro@mbiente on-line**, Boa Vista, v.5, p.220, 2011.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE., 2019. **Sistema IBGE de recuperação automática** - SIDRA. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Acesso em 11 de janeiro de 2019.
- MAIA, L.K.R.; LIMA, R., E.M.; LIMA, J.S. Importância do meloeiro e aspectos relacionados à resistência a *Rhizoctonia solani*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.17, p.1609-1622, 2013.
- MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; SALES JÚNIOR, R. Reaction of melon genotypes to *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.26, n.3, p.401-404, 2008.
- MICHEREFF, S.J.; PERUCH, L.A.M.; ANDRADE, D.E. Manejo integrado de doenças radiculares. in: MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife, PE: UFRPE, 2005. p. 367-387.
- OLIVEIRA, F.I.C.; NUNES, A. C.; SILVA, F.D.; SILVA, G.T.M.A.; ARAGAO, F.A.S. A cultura do melão. In: FIGUEIRÊDO, M.C.B. de; GONDIM, R.S.; ARAGÃO, F.A.S. **Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. p.17-31.
- ROCHA, R.H.C.; SILVA, EBENÉZER O.; SALOMÃO, L.C.C.; VENTRELLA, M.C. Caracterização morfoanatômica do melão Gália no ponto de colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.32, n.2, p.375-385, 2010.

- SALARI, M.; PANJEHKEH, N.; NASIRPOOR, Z.; ABKHOO, J. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. **African Journal of Biotechnology**, Nairob: Academic Journals, v. 11, n. 87, p. 15324-15329, 2012.
- SALES JÚNIOR, R.; NUNES, G.H.S.; SILVA, K.J.P.; COSTA, G.G.; GUIMARÃES, I. M.; MICHEREFF, S.J. Caracterização morfológica de fontes de resistência de meloeiro a *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.33, p.196-202, 2015.
- SILVA, G.T.M.A.; RIBEIRO, R.M.P.; BARROS JUNIOR, A.P.; SILVEIRA, L.M.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M., ALBUQUERQUE, N.R.C. Characterization of cucurbit production systems and disease prevalence in municipalities in Pernambuco. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.29, n.3, p.774-779, set. 2016.
- SILVEIRA, L.M. QUEIROZ, M.A.; Lima, J.A.A; Nascimento, A.K.Q.; Lima Neto, I.S. Levantamento sorológico de vírus em espécies de cucurbitáceas na região do Submédio São Francisco, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.34, n.2, p. 123-126, 2009.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A definição dessa metodologia de seleção de genótipos de meloeiro resistentes a rizoctoniose possibilitará que novas seleções em meloeiro sejam realizadas com precisão, utilizando germoplasma ainda não avaliado. Contudo, vale ressaltar a importância da coleta constante de novos isolados de *R. solani*, sobretudo, em áreas de produção onde a doença é mais incidente e importante para a cultura.

Os genótipos selecionados apresentaram ganhos consideráveis em relação à geração anterior, assegurando a eficiência da metodologia de seleção e a variabilidade genética da característica, possibilitando, com o avanço de gerações, a obtenção de linhagens resistentes a *R. solani*. Desse modo, será possível realizar um estudo de herança visando elucidar o controle genético envolvido na característica e, assim, definir o método de melhoramento e a estratégia de seleção mais adequados para introgressão da resistência em genótipos-elite de meloeiro.

A identificação de marcadores moleculares associados ao(s) gene(s) que controlam a resistência a *R. solani* em meloeiro aperfeiçoarão as estratégias de seleção, tornando mais eficiente o melhoramento genético dessa característica, que tem como objetivo principal à disponibilização de híbridos comerciais resistentes à rizoctoniose para os produtores de melão.

REFERÊNCIAS

- AEGERTER, B.J.; GORDON, T.R.; DAVIS, R.M. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, n. 3, p. 224-230, 2000.
- AGARWAL, D.K. *Rhizoctonia* D.C.: taxonomy, ecology and management. In: MUKERJI, K. G.; MANOHARACHARY, C. (Eds.). **Taxonomy and ecology of Indian fungi**. I. K. International Publishing House, New Delhi, p. 19-50, 2010.
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v.22, n.6, p.711-728, 2014.
- ANDERSON, N.A. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. **Annual review of phytopathology**, Palo Alto, v. 20, p. 329-347, 1982.
- ANDRADE, D.E.G.T.; MICHEREFF, S.J.; BIONDI, C.M.; NASCIMENTO, C.W.A.; SALES JÚNIOR, R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n.4, p.327-333, 2005.
- ANDRADE, D.E.G.T.; SILVA, C.F.B.; SILVA, L.G.C.; MICHEREFF, S.J.; SALES JÚNIOR, R.; ASSIS, T.C. Influência da densidade do inóculo e de isolados de *Rhizoctonia solani* na severidade da rizoctoniose do meloeiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 18, n. 03, p.164-168, 2005b.
- ARAGÃO, F.A.S.; TORRES FILHO, J.; NUNES G.H.S.; QUEIROZ, M.A.; BORDALLO P.N.; BUSO, G.S.C.; FERREIRA, M.A.; COSTA, Z.P.; BEZERRA NETO, F. Genetic divergence among accessions of melon from traditional agriculture of the Brazilian Northeast. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 4, p. 6356-6371, 2013.
- BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**; vol. 1- principios e conceitos. 1995.
- BLANCARD, D.L.; PITRAT H.; JAVOY, M. **Enfermedades de las Cucurbitáceas. observar, identificar, luchar**. Mundi-Prensa. Madrid (ES). 1991. 301p.
- BRUTON, B.D. Soilborn diseases in Cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: McCREIGHT, J. (Eds). **Cucurbitaceae** 98. Alexandria: International Society of Horticultural Science, p. 143-166, 1998.
- BUENO, G.; BACCARIN, J.G. Participação das principais frutas brasileiras no comércio internacional: 1997 a 2008. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 424-434, 2012.
- CARLING, D.E.; LEINER, R.H. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 80, n. 10, p. 930-934, Oct. 1990.

CORREIA, K.C.; CONFORTO, C.; MICHEREFF, S.J. Manejo integrado de doenças do sistema radicular: bases científicas, estratégias e práticas. **Núcleo de Estudos em Fitopatologia-UFLA (Org.)**. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora, 2014. cap. 9: Sanidade de raízes, p. 191-234.

COUTINHO, F.P.; Cavalcanti, M.A.Q.; Yano-Melo, A.M. Filamentous fungi isolated from the rhizosphere of melon plants (*Cucumis melo* L. cv. Gold Mine) cultivated in soil with organic amendments. **Acta Botanica Brasílica (Impresso)**, Belo Horizonte, v. 24, p. 292-298, 2010.

CUNHA, F.S. **Patossistema *Rhizoctonia solani* x melanciaira: caracterização de isolados, identificação de fontes de resistência e determinação da herança**. 57f.: il. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias. Petrolina, Pernambuco, 2017.

DAVID, G.Q.; CHAVARRO-MESA, E.; SCHURT, D.A.; CERESINI, P.C. *Rhizoctonia* como fitopatógeno no agroecossistema brasileiro. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. 1Ed. **Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos**. Recife: EDUFRPE, 2018. p. 46 -67.

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

DOMINGUEZ, O.; PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; BAUDET, L. **Sistema informal de sementes: causas, consequências e alternativas**. Pelotas: UFPEL, v. 270, 2000.

FALCÃO, J.V.; ORILI, F.P.; ÁVILA, Z.R. de; MELLO, S.C.M. de. **Estabelecimento de metodologia para contaminação de solo com propágulos dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, e expressão de doença em soja**. Comunicado Técnico. Brasília, 2005.

FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; VIANA, A.P.; BRUCKNER, C.H.; LARANJEIRA, F.F.; DAMASCENO, F.; MELETTI, L.M.M.; CONSOLI, L.; SOUSA, M.A.de F.; SILVA, M.S.; PEREIRA, M.G.; STENZEL, N.; SHARMA, R.D. Demandas para as Pesquisas Relacionadas ao Melhoramento Genético. FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.) **Maracujá: demandas para a pesquisa**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.25-34, 2006.

FARR, D.F.; ROSSMAN, A.Y. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, USDA-ARS. 2015.

FERGANY, M.; KAUR, B.; MONFORTE, A.J.; PITRAT, M.; RYS, C.; LECOQ, H.; DHILLON, N.P.S.; DHALIWAL, S.S. Variation in melon (*Cucumis melo*) landraces adapted to the humid tropics of southern India. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s.l.], v. 58, n. 2, p. 225-243, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Faostat – **Statistics Database**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home> . Acesso em 10 de abr de 2019.

GAVA, C.A.T.; MENEZES, M.E.L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica (UFC. Online)**, Fortaleza, v. 43, p. 633-640, 2012.

GOMES, P. **Fruticultura brasileira**. São Paulo: Nobel, 1998.

GOULART, A.C.P. Efeito do tratamento de sementes de algodoeiro com fungicidas no controle do tombamento em relação à densidade de inóculo de *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 4, p. 360-366, 2006.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K.L. de ; SOUZA, G. R.. Caracterização do perfil da ocorrência de doenças de plantas no estado de Roraima. *Agro@mbiente On-line*, Boa Vista, v. 5, p. 220-226, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE., 2019. **Sistema IBGE De Recuperação Automática - SIDRA**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em 11 de jan. de 2019.

KERJE, T.; GRUM, M. The origin of melon, *Cucumis melo*: a review of the literature. **In: VII Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding 510**. p. 37-44, 2000.

KIRKBRIDE, J.H. **Biosystematic monograph of the genus *Cucumis* (Cucurbitaceae): botanical identification of cucumbers and melons**. North Carolina: Parkway Publishers, Inc., 1993.

LEACH, L.D.; GARBER, R.H. Control of *Rhizoctonia*. In: PARMETER JR., J. R. (Ed.). ***Rhizoctonia solani: biology and pathology***. Berkeley: The University of California Press, 1970. p. 189-199.

LOPES, J. F.; CARVALHO, S.I.C.; BITTENCOURT, H.; PESSOA, S.V. Recursos Genéticos de melão e pepino na Embrapa Hortaliças. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**. 2014.

MACÊDO, S.S.; QUEIRÓZ, M.A.; AQUINO, I.P.F.; OLIVEIRA, R.S.; LIMA NETO, I.S. Botanical identification and genetic diversity in melons from family farming in the state of Maranhão. **Revista Caatinga (Online)**, Mossoró, v. 30, p. 602-613, 2017.

MACHADO J.C., POZZA E.A. Razões e procedimentos para o estabelecimento de padrões de tolerância a patógenos em sementes. In: Zambolim L (Ed.) **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa-MG: UFV. 2005.

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

MALLICK, M.F.R.; MASUI, M. Origin, distribution and taxonomy of melons. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 28, n. 3, p. 251-261, 1986.

MARINHO, R.E.M.; SALES JR., R.; MARACAJÁ, P. B.; SILVA, G. F.; COSTA, F. M.; SILVA, E. C. Identificação da micoflora associada a raízes de meloeiro nos estados do rio Grande do Norte e Ceará. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 15, n. 1/2, p. 25-28, 2002.

MAZARO, S. M.; WAGNER JÚNIOR, A.; SANTOS, I. dos; CITADIN, I.; POSSENTI, J. C.; GOUVÊA, A. de. Controle do tombamento de plântulas de beterraba e tomate pelo tratamento de sementes com quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 11, p. 1424-1430, nov. 2009

MEDEIROS, A.C.; MELO, D.R.M.; AMBRÓZIO, M.M.Q.; NUNES, G.H.S.; COSTA, J.M. Métodos de inoculação de *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* em meloeiro (*Cucumis melo*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 4, p. 281-286, 2015.

MENEZES, J. B.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; MAIA, C. E.; ANDRADE, G.G.; ALMEIDA, J.H.S.; VIANA, F.M.P. Características do melão para exportação. In: ALVES, R.E. (Org.). **Melão: pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA/SPI, 2000. p.13-22.

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

MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; PERUCH, L.A.M. Inóculo de patógenos radiculares. In: MICHEREFF, S. J. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005, cap. 5, p. 93-124.

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

MICHEREFF, S.J.; PERUCH, L.A.M.; ANDRADE, D.E. Manejo integrado de doenças radiculares. in: MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife, PE: UFRPE, 2005. p. 367-387.

MILDENHALL, J.P.; WILLIAMS, P.H. Effect of soil temperature and host maturity on infection of carrot by *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 63, n. 2, p. 276-280, 1973.

MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS – MDIC. 2019. Sistema para extração de relatórios personalizados sobre os dados do comércio exterior brasileiro - COMEX-STAT. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/>. Acesso em 13 de janeiro de 2019.

MONTEIRO, R.O.C. et al. Função de resposta do meloeiro a diferentes lâminas de irrigação e doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 455-459, 2006.
NASRABADI, N.M.; NEMATI, H.; SOBHANI, A.; SHARIFIM, M. Study on morphologic variation of different Iranian melon cultivars (*Cucumis melo* L.). **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 7, n. 18, p. 2764-2769, 2012.

NECHET, K.L.; HALFELD-VIEIRA, B.A. Caracterização de isolados de *Rhizoctonia* spp., associados à mela do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), coletados em Roraima. **Fitopatol. bras. [online]**, Brasília, v.31, n.5, p.505-508. 2006.

NEITZKE R.S.; BARBIERI R.L.; HEIDEN G.; BÜTTOW M.V.; OLIVEIRA C.S.; CORRÊA L.B.; SCHWENGBER J.E.; CARVALHO F.I.F. Caracterização morfológica e dissimilaridade genética entre variedades crioulas de melão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 534-538, 2009.

NHI, P.T.P.; AKASHI, Y.; HANG, T.T.M.; TANAKA, K., AIERKEN, Y.; YAMAMOTO, T.; NISHIDA, H.; LONG, C.; KATO, K. Genetic diversity in Vietnamese melon landraces revealed by the analyses of morphological traits and nuclear and cytoplasmic molecular markers. **Breeding science**, Tokyo, v. 60, n. 3, p. 255-266, 2010.

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

NUNES, G.D.S.; SANTOS JÚNIOR, J.J.S.; ANDRADE, F.V.; BEZERRA NETO, F.; ALMEIDA, A.D.; MEDEIROS, D.D. Aspectos produtivos e de qualidade de híbridos de melão cultivados no agropolo Mossoró-Assu. **Horticultura Brasileira**, Brasília, n. 22, p. 744-747, 2004.

OGOSHI A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.25, p.125-143, 1987.

OLIVEIRA, A.C.C.; SOUZA, P.E.; POZZA, E.A.; MANERBA, F.C.; LOPES, M.F. Metodologias de Inoculação de *Rhizoctonia solani* na cultura da cenoura. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 992-995, 2008.

OLIVEIRA, F.I.C.; NUNES, A. C.; SILVA, F.D.; SILVA, G.T.M.A.; ARAGAO, F.A.S. A cultura do melão. In: FIGUEIRÊDO, M.C.B. de; GONDIM, R.S.; ARAGÃO, F.A.S. **Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. p.17-31.

PITRAT M. Melon. In: PROHENS J.; NUEZ F. (eds.) **Handbook of plant breeding. Vegetables I. Asteraceae, Brassicaceae, Chenopoidicaceae, and Cucurbitaceae**. Springer, Heidelberg, p. 283–315. 2008.

PITRAT, M. Phenotypic diversity in wild and cultivated melons (*Cucumis melo*). **Plant Biotechnology**, Tokyo, v. 30, 273-278, 2013.

PITRAT, M.; CHAUVET, M.; FOURY, C. Diversity, history and production of cultivated cucurbits. **Acta Horticulture**, The Hague, n. 492, p. 21-28, 1999.

PITRAT, M.; HANELT, P.; HAMMER, K. Some comments on infra-specific classification of cultivars of melon. In: N. Katzir and H.S. Paris (eds.). Proc. Cucurbitaceae 2000. **Acta Horticulturae**, Wageningen, 510:29–36, 2000.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.; SILVA, G.B.; SANTOS, G.R. Resistência de cultivares de arroz a *Rhizoctonia solani* e *Rhizoctonia oryzae*. **Pesq. agropec. bras.** [online]. v.37, n.5, p.589-595. 2002.

QUEIRÓZ, M.A.; GOEDERT, C.O.; RAMOS, S.R.R. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. Livro científico (ALICE-online). Versão 1.0. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.

ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS, D.S. **Cucurbits**. Wallingford: CAB International, 226p. 1997.

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

SABATO, D.; ESTERAS, C.; GRILLO O.; PICÓ, B.; BACCHETTA, G. Seeds morpho-colourimetric analysis as complementary method to molecular characterization of melon diversity. **Scientia Horticulturae**, v. 192, p. 441-452. 2015.

SALARI, M.; PANJEHKEH, N.; NASIRPOOR, Z.; ABKHOO, J. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi: Academic Journals, v.11, n.87, p. 5324-15329, 2012.

SALES JÚNIOR, R.; NUNES, G.H.S.; SILVA, K.J.P.; COSTA, G.G.; GUIMARÃES, I. M.; MICHEREFF, S.J. Caracterização morfológica de fontes de resistência de meloeiro a *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.33, p.196-202, 2015.

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

SANTOS, B.A.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A.; VALE, F.X.R. Severidade de isolados de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* sensíveis e resistentes ao benomyl, em abacaxizeiro. **Fitopatol. bras.** [online], Brasília, v.27, n.1, p.101-103. 2002.

SANTOS, F.S.; SOUZA, P.E.; OLIVEIRA, C.A.; MAGALHÃES, F.H.L.; LAURENTI, M.A. Ajuste do inóculo de *Rhizoctonia solani* em substrato para estudos de Rizoctoniose em algodoeiro e feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, n.4, p.373-375, 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, 2009.

SANTOS, L. S. **Seleção de genótipos de meloeiro para obtenção de linhagens com resistência à *Didymella bryoniae***. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas), 91f.: Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2016.

SERRES-GIARDI, L.; DOGIMONT, C. How microsatellite diversity helps to understand the domestication history of melon. **Cucurbitaceae 2012**. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Antalya, Turkey, 15-18 October, 2012. University of Cukurova, Ziraat Fakultesi, p. 254-263, 2012.

SILVA NETO, R. M; ABREU, F.A.P; PESSOA, L.F.P; QUEIROZ, E.M. Características físico-químicas e compostos aromáticos do suco de melão clarificado por microfiltração tangencial. **Revista Eletrônica Teccen**. Vassouras, v.9, p75-80. Jan./Jun. 2016

SILVA, G.T.M.A.; RIBEIRO, R.M.P.; BARROS JUNIOR, A.P.; SILVEIRA, L.M.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M., ALBUQUERQUE, N.R.C. Characterization of cucurbit production systems and disease prevalence in municipalities in Pernambuco. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.29, n.3, p.774-779, set. 2016.

SILVA, J.C.D.V; GUIMARÃES, M.A; ARAGÃO, F.A.S. Tipos comerciais e cultivares. In GUIMARÃES, M.S; ARAGÃO, F.A.S. **Produção de melão**, 2017.

SILVA, R.N.O.; MIGLIORINI, P.; JUNGES, E.; NUNES, A.F.; TUNES, L.V.M. Métodos de inoculação de *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid) em sementes de feijão. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 11, p. 07-11, 2016.

SILVEIRA, L.M. QUEIROZ, M.A.; Lima, J.A.A; Nascimento, A.K.Q.; Lima Neto, I.S. Levantamento sorológico de vírus em espécies de cucurbitáceas na região do Submédio São Francisco, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.34, n.2, p. 123-126, 2009.

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

SOUZA, M.V.; MACHADO, J.C.; PHENING, L.H.; KAWASAKI, V.H.; ARAÚJO, D.V.; SILVA, A.A.; MARTINI NETO, A. Métodos de inoculação e efeitos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro. **Tropical plant pathology**, Brasília, v.33, n.1, p. 041-048, 2008.

STANGARLIN, J.R., KUHN, O.J., TOLEDO, M.V., PORTZ, R.L., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. AND PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.10, n.1, p.18-46, 2011.

STUART, R.M.; KUBO, K.S.; BOAVA, L.P.; BASTIANEL, M.; MACHADO, M.A. Jasmonic acid and Ethylene signaling pathways are involved in citrus defenses against *A. alternata* “tangerine pathotype”. **OzBio2010**, Campinas, SP, p. 145. 2010.

TANAKA, M.A. de S.; ITO, M.F.; PASSOS, F.A. Patogenicidade de *Rhizoctonia solani* em morangueiro. **Bragantia**, Campinas, v.54, n.2, p.319-324, 1995.

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

VALARINI, J.P.; MENTEN, J.O.M. Inoculação de sementes de feijão com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e se efeito sobre a qualidade sanitária e germinação. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.17, n.1, p.227-231, 1991.

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

VIANA, F.M.P.; SANTOS, M.V.D.; SILVA, M.F.V. **Recomendações para o Controle das Principais Doenças que Afetam a Cultura do Melão na Região Nordeste**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 6p. Circular Técnica, 12. 2001.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 1983. 110-113p.

VILGALYS, R.; CUBETA, M.A. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 135-155, 1994.

YANG, G.; L.I., C. General description of *Rhizoctonia* species complex. In: CUMAGUN, C. J. R. (Ed.). **Plan pathology**. Rijeka: Intech, p.41-52. 2012.

YANG, L.L.; LI, H.-L.; WEI, L.; KUANG, D.-Y.; LI, M.-H.; LIAO, Y.-Y.; CHEN, Z.-D.; WU, H. & ZHANG, S.-Z. A supermatrix approach provides a comprehensive genus-level phylogeny for Gentianales. **Journal of Systematics and Evolution**, [s.l.], v.54: p400–415. 2016.