



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL

Fábio Sanchez da Cunha

Patossistema *Rhizoctonia solani* x melanciaira: caracterização de isolados, identificação de fontes de resistência e determinação da herança

Petrolina-PE

2017

Fábio Sanchez da Cunha

Patossistema *Rhizoctonia solani* x melancia: caracterização de isolados, identificação de fontes de resistência e determinação da herança

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal do *Campus* de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal.

Orientadora: Prof^a. Dsc. Francine Hiromi Ishikawa

Co-orientador: Prof^o. Dsc. Izaias da Silva Lima Neto

Petrolina-PE

2017

C972p Cunha, Fábio Sanchez da
Patossistema *Rhizoctonia solani* x melancia: caracterização de isolados, identificação de fontes de resistência e determinação da herança / Fábio Sanchez da Cunha. – Petrolina-PE, 2017.
IX, 57 f.: il. ; 29 cm.

Dissertação (Pós-Graduação em Agronomia: Produção Vegetal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, *Campus* Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2017.
Orientadora: Profª. Dscª. Francine Hiromi Ishikawa.

Referências.

1. Melhoramento vegetal. 2. Resistência horizontal. 3. Análise dialélica. I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco

CDD 635.615

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

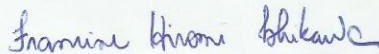
Fábio Sanchez da Cunha

Patossistema *Rhizoctonia solani* x melanciaira: Caracterização de isolados, identificação de fontes de resistência e determinação da herança

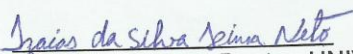
Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovado em: 25 de Agosto de 2017.

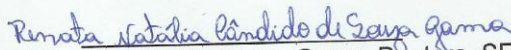
Banca Examinadora



(Francine Hiromi Ishikawa, Doutora, UNIVASF).



(Izaias da Silva Lima Neto, Doutor, UNIVASF).



(Renata Natália Cândido De Souza Gama, Doutora, SEE-PE).



(Quélen de Lima Barcelos, Doutora, UFMT).

*In mem3ria Teresa
Sanchez, te amo!*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente sempre devemos agradecer ao nosso bom Deus, toda honra e toda glória a ele! Ele é o ser que alimenta a minha força de vontade em continuar os meus sonhos, e foi por ele que cheguei até aqui hoje.

Em seguida quero agradecer a minha grande heroína, minha mãe, minha veinha, por todos os ensinamentos e broncas que me guiaram no caminho da vida. Te amo!!

Quero agradecer por todo o carinho fornecido por minha irmã, Fernanda Sanchez, ao qual fiquei sempre “enchendo o saco” para me ajudar a digitar os dados desta dissertação e obrigado por ser seu irmão.

Infelizmente não posso agradecer pessoalmente à minha avó, Teresa Sanchez, que foi a guerreira junto ao meu avô, Esteban Sanchez, que sempre investiram em meus estudos, eles foram os anjos enviados por Deus durante 25 anos da minha vida, foi graças a eles e a minha mãe que fizeram me tornar a pessoa que sou hoje. “*Viejita*” obrigado, obrigado por ser seu neto, e se Deus permitir irei fazer você ter muito orgulho, te amo e muitas saudades.

Gostaria de agradecer à minha família que é o principal alicerce que me sustentam.

À minha amada e grande companheira, Mayara Galvão, minha “baixinha linda arretada” que me fez e me faz sempre continuar em seguir em frente. Obrigado, te AMO MUITÃO!

Em especial quero agradecer à minha orientadora, Francine Ishikawa, pela EXTREMA PACIÊNCIA e DEDICAÇÃO em me guiar no caminho das pesquisas. Obrigado por tudo professora e principalmente pelo grande exemplo.

Ao professor Alexandre Capucho e a Patrícia Gonçalves quero agradecer a vocês todos os conselhos oferecidos. Obrigado por sempre me guiarem na pesquisa e pelo exemplos de profissionais.

Ao professor Izaias Lima Neto, obrigado por sempre me aconselhar e me dar um exemplo de grande professor e pessoa que és.

Quero agradecer à equipe de trabalho mais honrosa, dedicada e “resenheira” que tive o prazer de fazer parte por mais de 4 anos. Obrigado

a Erick, Maria Andreia, Moara Bandeira, Leonardo Brandão, Witalo, Jéssica Giordano, Gustavo, Jakeliny, Marília, Isabela, Renata, Catarina, Aline Mayara e Amanda. Obrigado FITOMELHOR!!!!

A Antonio Elton pelo grande amigo de pesquisa que tive a honra de partilhar o tempo e experimentos valeu “Toinho” e muito obrigado pelas dicas.

Aos amigos da faculdade e da vida que são uma das “pilastras” da sustentação da minha vida. Obrigado, Sabrina, Helena, Bruna Daniel(Belão), Daniel Fagner, Arthur, Vitinho, Carlos Roberto (Cross), Aline Marielle(Axé), Igor(Boca), Handerson Costa, Iuri, Toni (mil apelidos), Liniker, Júlio César (Bebezão), Mariana Lima, Ivine Teixeira, Luiz Felipe (Galego), Bruno Rodrigues, Margon, Maria Eugenia, Silas, Alexandre, Randerson (Pastor), Débora, Patrícia, Alana, Daniele, Thiago Rodrigues, Thiago Rabelo, Thiago Augusto, Uriel, Diane, Flávio, Natã e tantos outros. OBRIGADO!

Quero agradecer aos funcionários de Excelência que conheci na Univasf. Fabinho, Irenildo, Veronice, Genilson e Daniela, principalmente por toda ajuda e auxílio que me deram.

Quero agradecer à Univasf pela estrutura e à Capes pela bolsa fornecida.

Enfim, MUITO OBRIGADO!!!!

RESUMO

O trabalho teve como objetivo a caracterização de isolados de *Rhizoctonia solani* bem como a busca por fontes de resistência e determinação da herança genética da resistência da melancia à rizoctoniose utilizando duas metodologias. No primeiro capítulo foram realizados dois experimentos, no primeiro experimento foi realizada a caracterização de seis isolados de *Rhizoctonia solani* quanto à sua agressividade, velocidade de crescimento micelial, coloração da colônia, formação de escleródio, compatibilidade vegetativa e anastomose de hifas. Para a verificação da agressividade, foram utilizados os isolados CMM-1053, CMM-2967, CMM-1052, CMM-2983, CMM-2971 e CMM-3890. Estes isolados foram inoculados na cultivar Crimson Sweet (suscetível à rizoctoniose), sendo: cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em que a unidade amostral foi constituída por uma planta por vaso. O experimento de velocidade de crescimento micelial foi instalado em DIC no esquema fatorial (6 isolados x 3 meios de cultura) utilizando os seis isolados do patógeno e três meios de cultura (Ágar Nutriente, BDA e BSA) e um total de 5 repetições por tratamento. A caracterização da coloração e formação de escleródios dos isolados foram realizadas 15 dias após a repicagem. Para a caracterização da compatibilidade vegetativa e ocorrência de anastomose foram realizados experimentos em DIC com três e duas repetições, respectivamente. No segundo capítulo foi realizada a busca por fontes de resistência à rizoctoniose bem como determinar a herança de resistência à doença, utilizando duas metodologias. No primeiro experimento foi realizada a inoculação de 72 acessos de melancia com o isolado CMM 1053 de *Rhizoctonia solani*. No segundo experimento foi realizada a avaliação das populações segregante do cruzamento entre a cultivar suscetível Crimson Sweet e o acesso autofecundado BGH 29, considerado moderadamente resistente. No terceiro experimento realizou-se uma análise dialélica entre 8 acessos e 6 isolados de *Rhizoctonia solani*, utilizando o método IV de Griffing para obter os componentes da capacidade geral de reação, capacidade geral de agressividade e a capacidade específica de reação e assim determinar o tipo de herança genética. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa GENES e o programa R Core Team. Para o primeiro capítulo temos que os isolados CMM1053 e CMM1052 foram o que tiveram maiores notas, no entanto, eles foram estatisticamente diferentes apenas do isolado CMM2967. O meio BSA foi o que se mostrou mais promissor para o crescimento dos isolados, em especial para os isolados CMM-2967 e CMM-2971. Foi possível observar que houve variabilidade na cor dos isolados, sendo maior no meio Ágar Nutriente. Baseado nos testes de anastomose de hifas e compatibilidade vegetativa, os seis isolados devem pertencer ao mesmo grupo de anastomose. No segundo capítulo temos que os resultados obtidos no primeiro experimento apenas os acessos BGH 29 e BGH 76 foram considerados moderadamente resistentes à doença. A resistência à rizoctoniose é poligênica controlada por 9 genes com efeito aditivo e baixa herdabilidade, o que corrobora com a análise dialélica, que indicou que a resistência à rizoctoniose é horizontal devido que 46,1% da soma de quadrados total da variação observada no dialelo ser devida a Capacidade Geral de Reação.

Palavras-chave: *Citrullus lanatus*, resistência horizontal, melhoramento vegetal, análise dialélica, crescimento micelial.

ABSTRACT

The objective of this work was to characterize *Rhizoctonia solani* isolates as well as the search for sources of resistance and determination of the genetic inheritance of melancholy resistance to rhizoctoniosis using two methodologies. In the first chapter two experiments were carried out. In the first experiment, six isolates of *Rhizoctonia solani* were evaluated for their aggressiveness, mycelial growth rate, colony coloration, scleroderma formation, vegetative compatibility and hyphae anastomosis. For the aggressiveness check, isolates CMM-1053, CMM-2967, CMM-1052, CMM-2983, CMM-2971 and CMM-3890 were used. These isolates were inoculated in the Crimson Sweet cultivar (susceptible to rhizoctoniosis), being: five replicates in a completely randomized design (DIC), in which the sample unit consisted of one plant per pot. The mycelial growth rate experiment was installed in the factorial scheme (6 isolates x 3 culture media) using the six pathogen isolates and three culture media (Nutrient Agar, BDA and BSA) and a total of 5 replicates per treatment. The characterization of the staining and formation of sclerotia of the isolates were performed 15 days after the replication. For the characterization of vegetative compatibility and occurrence of anastomosis, DIC experiments with three and two replicates were performed, respectively. In the second chapter, the search for sources of resistance to rhizoctoniosis was carried out, as well as determining the inheritance of resistance to the disease, using two methodologies. In the first experiment the inoculation of 72 watermelon accessions with CMM 1053 isolate of *Rhizoctonia solani* was performed. In the second experiment the evaluation of the populations segregating the cross between the susceptible cultivar Crimson Sweet and the self - fertilized access BGH 29, considered moderate resistant. In the third experiment a diallel analysis was carried out between 8 accessions and 6 isolates of *Rhizoctonia solani* using the Griffing IV method to obtain the components of the general reaction capacity, general aggressiveness and the specific reaction capacity to determine the type genetic inheritance. Statistical analyzes were performed with the aid of the GENES program and the R Core Team program. For the first chapter we have that the CMM1053 and CMM1052 isolates were the ones that had higher grades, however, they were statistically different only from the CMM2967 isolate. The BSA medium was the most promising for the growth of the isolates, especially for isolates CMM-2967 and CMM-2971. It was possible to observe that there was variability in the color of the isolates, being higher in the Nutrient Agar medium. Based on the hyphal anastomosis tests and vegetative compatibility, the six isolates should belong to the same anastomosis group. In the second chapter we have the results obtained in the first experiment only the BGH 29 and BGH 76 accessions were considered moderately resistant to the disease. Resistance to rhizoctoniosis is polygenic controlled by 9 genes with additive effect and low heritability, which corroborates with the diallel analysis, which indicated that resistance to rhizoctoniosis is horizontal because 46.1% of the total sum of squares of the variation observed in the diallel be due to the General Reaction Capacity.

Key-words: *Citrullus lanatus*, Horizontal resistance, plant breeding, diallel analysis, mycelial growth.

SUMÁRIO

	Pág.
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Cultura da melancia	3
2.2 <i>Rhizoctonia solani</i>	4
2.3 Bancos de Germoplasma	7
2.4 Resistência Vertical e Horizontal	8
3 REFERÊNCIAS	11
4 Capítulo I - Caracterização morfológica e patogênica de isolados de <i>Rhizoctonia solani</i>	16
4.1 RESUMO	16
4.2 INTRODUÇÃO	17
4.3 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.3.1 Agressividades dos isolados	18
4.3.2 Avaliação de crescimento e morfologia da colônia em diferentes meios de cultura	19
4.3.3 Avaliação da compatibilidade vegetativa e anastomose entre os isolados de <i>R. solani</i>	20
4.3.4 Análise estatística	20
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.5 CONCLUSÃO	26
4.6 REFERÊNCIAS	27
5. Capítulo II - Fontes de resistência e herança genética à reação de <i>Rhizoctonia solani</i> em melanciaira	29
5.1 RESUMO	29
5.2 INTRODUÇÃO	30
5.3 MATERIAL E MÉTODOS	32
5.3.1 Preparo do Inóculo dos isolados de <i>Rhizoctonia solani</i>	32
5.3.2 Inoculação de acessos de banco de Germoplasma de Hortaliças	32
5.3.3 Herança da resistência utilizando o método de Sweel Wright (1968)	33
5.3.4 Herança da resistência utilizando o método proposto por Melo e Santos (1999)	34
5.3.5 Análises estatísticas	35
5.4 RESULTADOS	37

5.5 DISCUSSÃO	43
5.6 CONCLUSÃO	45
5.7 REFERÊNCIAS	46
5.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	48

1. INTRODUÇÃO

A melancia *Citrullus lanatus* é uma importante olerícola e com expressiva produção na região Nordeste do Brasil, sendo em 2014, responsável por 28,54% da produção nacional (IBGE, 2014). Isto porque a região Nordeste apresenta fatores edafoclimáticos favoráveis (Andrade Junior et al., 2006). Contudo, a ocorrência de doenças pode causar redução na produção. Dentre estas doenças podemos citar a ocorrência da rizoctoniose, causada pelo fungo fitopatogênico habitante do solo *Rhizoctonia solani*.

Este fungo pertence à classe dos Basidiomicetos, e sua identificação baseada em sua morfologia, tendo em suas hifas ramificações com ângulos de 90° e uma constrição no início da ramificação (Sneh et al., 1996). Além disso, esses fungos podem apresentar variabilidade tanto morfológica, fisiológica e patogênica (Ogoshi, 1987). Isolados de *Rhizoctonia solani* podem apresentar variabilidade em suas características morfológicas, como por exemplo diferenças na coloração da colônia e agressividade (Erper et al., 2016). A forma de classificação deste fungo é por grupos de anastomose (Carling et al., 2002 e Ogoshi, 1987). Este fungo possui 190 hospedeiros diferentes, o que dificulta seu manejo quando presente na área (Lakshamn et al., 2008). Na melancia os grupos de anastomose patogênicos são o AG-4 e AG-7 (Castro et al., 2011). Quando o ataque ocorre na fase inicial da cultura, a lesão de rizoctoniose é geralmente uma podridão úmida na base do caulículo que se desenvolve para a murcha e posteriormente morte da plântula (Terao et al., 2010).

Medidas de controle químico para esta doença em melancia não existem e no Brasil não se tem produtos registrados (Agrofit, 2017). A utilização de cultivares resistentes constitui uma medida estratégica no manejo integrado de doenças, uma vez que é de fácil adoção por parte do produtor, compatível com outros métodos de controle, e conveniente do ponto de vista ecológico, pois não traz danos ao homem e ao meio ambiente. Na literatura não existem trabalhos mostrando ações de pré-melhoramento no desenvolvimento e identificação de genótipos resistentes à rizoctoniose. Dentro desse contexto, uma primeira ação é realizar a caracterização de isolados do fungo, identificando um isolado que apresente reação apropriada de agressividade permitindo discriminar germoplasmas da cultura de melancia em busca de fontes de resistência, como o estudo realizado por Michereff et al., (2008), que identificou variação de agressividade de dois isolados de *R. solani* em cultivares de meloeiro.

Bancos de germoplasmas são coleções de acessos que quando integrados ao programa de melhoramento tem em sua rotina a pesquisa e desenvolvimento de cultivares que atendem tanto o produtor quanto o consumidor (Borém & Miranda, 2009). Desta forma a identificação e caracterização de resistência a rizoctoniose é o primeiro passo para o desenvolvimento de cultivares resistentes. Outra informação importante para os melhoristas é o tipo de resistência que a melanciaira tem em relação à doença. Segundo Vanderplank (1982) a resistência pode ser classificada como vertical ou horizontal. A resistência vertical é conferida por poucos genes, apresentando resistência à raça específica, já a resistência horizontal é condicionada por muitos genes, não apresentando resistência a raça específica, portanto não existindo interação diferencial entre as raças dos patógenos e as variedades do hospedeiro. Na literatura não se tem informações de qual tipo de herança da resistência da melanciaira à rizoctoniose.

Estes fatores objetivaram a caracterização morfológica e patogênica de isolados de *Rhizoctonia solani* bem como a determinação do tipo de resistência da melanciaira à rizoctoniose.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Cultura da melancia

A melancia *Citrullus lanatus* é uma olerícola pertencente à família das Curcubitaceae e segundo Puiatti (2005) tem sua origem não muito bem definida, sendo a África seu local mais provável de origem, há uma teoria de que esta seja derivada de *C. colocynthis*, que é uma espécie endêmica da África e também ocorre na Índia. A espécie *Citrullus lanatus* é uma espécie anual e subdividida em três subespécies, a *vulgaris*, *mucospermus* e a *lanatus*, sendo que a última subespécie, *lanatus*, é originária do deserto do Kalahari e a consumida mundialmente (Fursa, 1972; Jeffrey et al., 2001). Porém em estudos recentes envolvendo diversidade genética, a espécie *Citrullus lanatus* subsp. *vulgaris* também é uma melancia doce, tem sua origem no Ocidente e enquanto que a melancia *Citrullus lanatus* subsp. *citroide* tem origem na África (Chomicki & Renner, 2015).

A melancieira é uma olerícola, muito apreciada, por ter um fruto refrescante, com mais de 90% de água, antioxidantes, proteínas, por possuir propriedades diuréticas e baixo valor calórico. (Andrade Junior et al., 2007; Almeida, 2003). Nas sementes também há estudos comprovando o alto teor de proteínas, lipídios e aminoácidos (Wani et al., 2010). O valor nutritivo do fruto é reduzido, sendo o teor em vitaminas considerado médio, fornecendo vitaminas C e do complexo B. A pigmentação vermelha que é encontrada na parte comestível, é conferida graças ao licopeno, um caroteno com elevada atividade antioxidante (Almeida, 2003). A melancia é a quarta olerícola mais produzida no país (Camargo Filho & Mazzei, 2002). É uma espécie monóica, ou seja, possui flores masculinas e femininas na mesma planta. Contudo, algumas populações podem ser andromonóicas, com flores masculinas e hermafroditas na mesma planta ou ginandromonóicas, com flores masculinas, femininas e hermafroditas na mesma planta (Whitaker & Davis, 1962; Mohr, 1986; Dias & Resende, 2010). As flores são solitárias, pequenas, de corola amarela, abrem entre uma a duas horas após o aparecimento do sol e se fecham no mesmo dia à tarde, tendo ou não ocorrido polinização. Os principais agentes polinizadores são as abelhas (Dias & Resende, 2010). O fruto é um pepônio, de formato oblongo, redondo ou alongado, e seu peso é variável podendo chegar a 25 quilogramas. A polpa é normalmente vermelha, podendo ser amarela, laranja, branca ou verde. Diferente de outras curcubitáceas como melão e abóbora, a melancia não possui

uma cavidade dentro do fruto, contudo, ela tem suas sementes no tecido placentário que constitui a parte comestível e apreciada (Almeida, 2003).

A produção mundial de melancia alcançou 109 milhões de toneladas, sendo a China o maior produtor a nível mundial, com 73 milhões de toneladas (FAO, 2013). O Brasil tem uma área plantada de 94 mil hectares com produção total de 2,1 milhões de toneladas. As regiões Nordeste e Sul apresentam a maior produção da fruta, cerca de 28,54% e 25,54% respectivamente, de toda a produção brasileira (IBGE, 2014). Ainda na região nordeste, a Bahia lidera como o estado a mais produtor, seguido do Rio Grande do Norte e Pernambuco com 253, 131 e 66 mil toneladas (IBGE, 2014). Mais especificamente, no submédio do Vale do São Francisco, segundo Araújo (2008), essa região é um dos pólos de produção com área equivalente a 4500 ha.

A melancieira é uma planta de clima tropical, não tolerando fatores climáticos adversos como geadas e chuvas de granizo. Os principais fatores climáticos que podem promover mudanças na produção são temperatura, fotoperíodo, umidade relativa do ar e ventos. A temperatura do solo exerce influência direta sobre a germinação, ao passo que a temperatura do ar afeta o desenvolvimento vegetativo, a abertura de flores e o sabor dos frutos, a melhor faixa temperatura para seu desenvolvimento é entre 25°C e 30°C. Quanto ao fotoperíodo a melancia exige dias longos e com boa luminosidade. Já a umidade excessiva, tanto no solo como no ar, pode provocar o aparecimento de doenças de fungos ou bactérias (Almeida, 2003).

Entre as doenças, que acometem a melancieira, destacam-se, as que são provocadas por fitopatógenos habitantes de solos, que causam tombamento ou *damping-off*, que são doenças de difícil manejo. Este sintoma, pode ser causado por fungos do gênero *Pythium*, *Fusarium* e *Rhizoctonia* (Andrade Junior et al., 2007).

2.2 *Rhizoctonia solani*

Os patógenos habitantes de solos são organismos que vivem a maior parte do seu ciclo de vida no solo, eles têm a capacidade de infectar órgãos subterrâneos ou caules das plantas, possuem grande capacidade de competição saprofítica e seus estádios de disseminação e sobrevivência são confinados ao solo (Hillocks & Waller, 1997). Outra característica que eles possuem é a capacidade de produzir estruturas de resistência às condições adversas, como: agregados miceliais, escleródios, oósporos, clamidósporos ou outros tipos esporos que permanecem viáveis mesmo quando as plantas hospedeiras não estão presentes. Esse conjunto de características é uma das razões pelas quais fungos

fitopatogênicos habitantes do solo, uma vez introduzidos em uma área de plantio, são impossíveis de serem eliminados (Wheeler & Rush, 2001). Dentre os fungos patógenos de solo, podemos destacar o fitopatógeno *Rhizoctonia solani* Kühn [teleomorph *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk]. Pertencente à classe dos Basidiomycetes sendo o causador da rizoctoniose na melancia.

Para *R. solani*, uma das características usadas na identificação da espécie é contar o número de núcleos que existe nas células das hifas vegetativas. Fungos dessa espécie *R. solani* apresentam hifas multinucleadas que contém de 3 a 28 núcleos. Além disso, a classificação da espécie *R. solani* também é baseada em critérios morfológicos, fisiológicos, genéticos e patológicos, que permitem a divisão em grupos de anastomose, onde cada grupo é composto por isolados de *R. solani* que apresentam fusão de hifas ente si. (Sneh et al., 1996; Parmeter & Whitney, 1970). Na literatura, existem 14 grupos de anastomoses já determinados AG1 à AG13 e o grupo AG-B1 (Carling et al., 2002). De acordo com Ogoshi (1996), os estudos envolvendo grupos de anastomose no gênero *Rhizoctonia* se intensificaram a partir dos anos de 1931 até 1940, mais especificamente a partir dos estudos de Matsumoto (1932) e Schultz (1936) citados por Ogoshi (1996). A classificação de grupos anastomose é realizado por meio do agrupamento de isolados de *R. solani* com base na reação de fusão de hifas e segundo Carling (1996) a reação de anastomose pode ser classificada em quatro classes (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação da reação de anastomose segundo Carling (1996).

Classificação	Reação
C0	Quando não se tem interação.
C1	Contato da hifa, mas não ocorre anastomose (fusão).
C2	Fusão da parede celular e morte da célula.
C3	Fusão das paredes celulares e sem morte celular.

O patógeno possui grande capacidade saprofítica, podendo viver no solo por muitos anos e tem habilidade de formar estruturas de resistência, os escleródios. Sua faixa de temperatura ideal de patogenicidade esta entre 24 e 27 graus (Oliveira et al., 2014). O patógeno possui uma ampla gama de hospedeiros podendo chegar até 190 espécies (Lakshman et al., 2008). Dentre as espécies cultivadas que podem ser hospedeiras do fungo *Rhizoctonia solani*, pode-se citar o café, chuchu, amendoim, fumo, feijão, mamona, pepino, soja, tomate, melancia e muitas outras (Michereff, 2005).

A sintomatologia de rizoctoniose vai depender da cultura, por exemplo, na cultura do arroz, os sintomas iniciais aparecem na bainha das folhas, sendo estas lesões de coloração cinza esverdeado e elipsoide 2 a 3 cm de comprimento. O centro da lesão torna-se branco acinzentado com uma margem castanho-escura e sob condições de alta umidade e temperatura de 28 a 32°C as hifas se espalham rapidamente sobre a planta (Sneh et al., 1996). Na batata o patógeno ocasiona cancro nas hastes e nos estolões bem como a crosta-preta (*black scurf*) que é caracterizada pela produção maciça de escleródios do fungo aderidos firmemente à superfície do tubérculo de batata (Carling et al., 1989). Em melancia as plantas infectadas por *R. solani* apresentam sintomas de podridão de sementes, morte de plântulas, cancro nos talos, podridão de raízes e frutos causando morte da planta e redução na produtividade (Andrade Júnior et al., 2006; Bruton, 1998). Desta maneira a sintomatologia e agressividade do patógeno podem variar de acordo com a cultura ou até mesmo a cultivar da espécie.

O controle da rizoctoniose em campo pode ser feito com o manejo integrado de doenças. O manejo integrado em hortaliças tem sido tratado como a utilização de métodos de controle de forma organizada, com efeito somatório e com viabilidade econômica, objetivando reduzir ao máximo o uso de produtos fitossanitários, mas garantindo a produção, onde os aspectos ecológicos e residuais desses produtos estão em primeiro lugar (Zambolim et al., 1997). Dentre as estratégias de manejo se destacam aquelas que visam à redução da taxa de progresso da doença, eliminação ou redução do inoculo (Zambolim & Ventura, 1993). Dentre as medidas adotadas para a redução do inoculo e no manejo integrado, pode-se citar a escolha do local livre do patógeno, o material propagativo livre do patógeno, a desinfestação de implementos agrícolas, o uso de água para irrigação livre de patógeno, práticas de solarização do solo, controle biológico através de *Trichoderma* spp. e uso de cultivares resistentes. A partir do uso de cultivares resistentes se tem um controle mais eficaz da doença nas plantas, além de ganhos econômicos, pois não se tem despesa alguma quando comparada com outros métodos de controle (Lucon et al., 2009; Patrício et al., 2007; Vida, et al 2004; Bueno et., 2001). Para o desenvolvimento de cultivares resistentes à rizoctoniose é necessário a avaliação de recursos genéticos da espécie, para isto, estes podem ser encontrados nos centros de diversidades ou bancos de germoplasmas.

2.3 Bancos de Germoplasma

No Brasil, a introdução de germoplasmas de melancia foi dividida em duas fases. A primeira introdução ocorreu com a chegada dos escravos africanos para a costa brasileira e a segunda introdução ocorreu com o cultivo de cultivares oriundos dos Estados Unidos e do Japão, sendo que estas introduções se espalharam por diversas partes do Brasil e contribuíram para aumentar a variabilidade (Queiróz, 2016). Com o avanço da agricultura moderna os sistemas de produção da agricultura tradicional vêm sendo substituídos, e juntamente com essa substituição tem-se perdido recursos genéticos, através da erosão genética e também estreitamento da base genética. Para garantir que não haja perdas de tais recursos, a existência de Bancos Ativos de Germoplasma (BAG) é indispensável, por ter como função a conservação dos recursos genéticos (Ricarte, 2013). Germoplasma é, portanto, o conjunto de genótipos representando alelos de uma espécie ou de espécies afins com potencial para serem usados em programa de melhoramento. (Bueno et al., 2001).

Um dos motivos para a conservação de germoplasma é o pequeno número de espécies de plantas utilizadas pelo homem, pois apenas 30 espécies constituem 95% da nutrição humana oriunda dos vegetais (Walter et al., 2007). Bancos ativos de germoplasma são, portanto, coleções de acessos que são rotineiramente usados para fins de pesquisas, caracterização, avaliação e uso dos acessos. Dentre as atividades no banco de germoplasma, podem-se destacar: levantamento, aquisição, exploração e coleção; manutenção e multiplicação; caracterização, avaliação, documentação, distribuição e intercâmbio do maior número possível de amostras do germoplasma (Borém & Miranda, 2009). Todas essas atividades são necessárias para que preserve ao máximo o tempo de vida dos recursos genéticos e sejam melhor aproveitados pelo melhorista.

Os recursos genéticos vegetais constituem a base para o estabelecimento de um programa de melhoramento genético, sendo, portanto, matéria prima do melhorista. Estes definem o grau de sucesso nos procedimentos de melhoramento. Quanto maior a disponibilidade de material genético, maiores as possibilidades de sucesso neste procedimento. Quanto aos recursos genéticos de melancia no Brasil Queiróz (2016) relata que parte desses recursos foram resgatados e se encontram em alguns bancos de germoplasma, dentre estes o Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa-MG, com 164 acessos de melancia (Silva et al., 2001), também destaca-se o Banco de Germoplasma da Embrapa Hortaliças com mais de 300 acessos e

por fim o Banco de Germoplasma de Curcubitaceae da Embrapa Semiárido com fundação em 1980 e com mais de 700 acessos (Queiróz, 2011).

O uso de germoplasma provenientes de bancos tem se mostrado promissor, principalmente no que tange desenvolvimento de cultivares resistentes à doenças, por identificação de acessos que possuem genes de resistência. Dentre eles podemos citar o trabalho de Lima-Neto (2009) que encontrou fontes de resistência à alternariose em acessos de melancia coletados da agricultura tradicional. Também podemos citar o trabalho utilizando o banco de Germoplasma da UFRSA (Universidade Federal Rural do Semi-Árido) que possui acessos de melão resistentes à rizoctoniose e foi possível determinar o tipo de herança genética à rizoctoniose no melão (Melo, 2014). No que tange respeito a identificação de fontes de resistência podemos citar o trabalho desenvolvido por Costa (2017), que identificou 42 acessos resistente à fusariose. Além disso, para que o germoplasma possa ser usado em programas de melhoramento, torna-se necessário estudar a forma de herança dos caracteres avaliados.

2.4 Resistência vertical e horizontal

A interação entre um patógeno e seu hospedeiro é uma luta entre dois organismos pela própria sobrevivência, em que as células vegetais reagem à penetração do fungo através de vários mecanismos estruturais e/ou bioquímicos, procurando se defender do ataque (Pascholatti & Leite, 1995). A resistência é caracterizada pela habilidade da planta diminuir o estabelecimento de certas populações de patógenos em seus tecidos, por meio de seu sistema de defesa direto e ativo (Matiello et al., 1997). A resistência pode se manifestar de diferentes modos quanto a sua estabilidade e à especificidade. Devido as suas características, pode ser classificada como resistência vertical ou horizontal.

A resistência vertical é específica às raças, sendo conferidas por genes de efeito maior que apresentam resistência a uma ou poucas raças fisiológicas do fungo, geralmente sendo pouco estável. A resistência horizontal, além de não ser específica às raças do patógeno, é conferida por genes de efeito menor que apresentam resistência uniforme contra várias raças do fungo, sendo considerada mais durável por apresentar maior estabilidade. Vanderplank (1968) observou que é possível identificar o tipo de resistência por meio da significância da interação cultivares x raças/ isolados do patógeno. Isso pode ser verificado quando uma série de isolados do patógeno é inoculada em diferentes cultivares de um hospedeiro. Nesse caso, a interação quando é altamente significativa sugere que a reação de cada cultivar é específica a uma determinada raça,

indicando que a resistência é do tipo vertical. Para interações não significativas, as cultivares comportam-se de forma semelhante à todas as raças, indicando que nesse caso a herança é do tipo horizontal.

Sobre a herança de resistência em melancia, Alves et al., (2014) constatou que o controle da resistência ao PRSV-W (*Papaya ringspot virus*-Strain Watermelon) é realizado por dois genes, predominando os efeitos gênicos aditivos, seguidos de efeitos de dominância incompleta no sentido de aumentar a resistência. Beserra Jr. et al., (2006), demonstrou que a herança ao vírus WMV (*Watermelon mosaic virus*) é controlada por 4 genes, predominando um efeito de dominância completa, com efeito aditivo-dominante. Em ambos os trabalhos citados, o acesso de resistência utilizado foi o acesso PI-595201, que tem se mostrado promissor para a resistência à viroses.

No caso específico da rizoctoniose em melancia, não se têm trabalhos na literatura que demonstrem o tipo de herança para o patossistema melancia x *Rhizoctonia solani*. Li et al., (1995) em estudo com a queima da bainha causada por *Rhizoctonia solani*, em arroz constatou que o tipo de herança é horizontal. Zhao et al. (2005) demonstram em seus estudos que o tipo de herança da podridão da raiz em soja, causada pelo patógeno *R. solani*, na soja tem herança do tipo quantitativa (horizontal) e condicionada por genes de maior e menor efeito.

O conhecimento do número de genes envolvidos na expressão de um caráter é de grande importância no estudo da herança dos caracteres quantitativos e também no melhoramento de plantas, principalmente no que se refere à estimativa de probabilidade de se obter determinado genótipo em uma população segregante. O número de genes é determinado por meio da obtenção das populações segregantes, P1 (Pai/Mãe), P2 (Pai/Mãe), F1 (Primeira geração filial obtida por meio do cruzamento entre o P1 e P2), F2 (segunda geração filial obtida por meio da autofecundação do F1), RC1 (retrocruzamento obtido através do cruzamento do P1 com o F1) e RC2 (retrocruzamento obtido por meio do cruzamento do P2 com o F1), utilizando a fórmula proposta Sewall Wright, que utiliza variâncias e médias (Ramalho et al., 2012)

Melo e Santos (1999), realizaram um estudo de simulação do controle genético envolvendo os dois tipos de resistências com o objetivo principal de testar uma metodologia que conseguisse determinar de maneira mais simples, o tipo de resistência assim como a agressividade dos isolados. Para isso os dados foram avaliados pelo modelo IV de *Griffing*, que visa avaliar a capacidade combinatória de um grupo de progênies estimando a capacidade específica e geral de combinação, através do uso de um dialelo parcial. A simulação teve como base a severidade esperada com a inoculação

de genótipos inoculados à 20 raças fisiológicas do patógeno. Uma alta correlação foi encontrada entre a capacidade geral de reação e a resistência horizontal do hospedeiro, assim como também a capacidade geral de agressividade e a agressividade do isolado. A capacidade específica de interação se revelou um indicador da resistência vertical, como observado na tabela 2.

Tabela 2. Análise de Variância de um modelo de dialelo parcial envolvendo um grupo de hospedeiros e um grupo de isolados do patógeno, segundo Melo e Santos (1999).

FV	GL	QM	F
Tratamentos	$pq - 1$		
CGR (capacidade geral de reação)	$p - 1$	QM1	QM1/QMR
CGA (capacidade geral de agressividade)	$q - 1$	QM2	QM2/QMR
CEI (Capacidade específica de interação)	$(p-1)(q-1)$	QM3	QM3/QMR
Resíduo	m	QMR	

p = Número de hospedeiros

q = número de isolados do patógeno

m = grau de liberdade do resíduo = $q(r-1)(p-1)$, sendo r o número de repetições

Em estudo no algodoeiro utilizando a metodologia proposta por Melo & Santos (1999), Maranhã et al., (2002) observaram que no patossistema *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* e *Ramularia aureola* no algodão, a resistência para ambos patógenos é horizontal. Para a raça 65 de *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro (Davide e Souza, 2009) não foi possível detectar resistência horizontal por não ter um conjunto de cultivares diferenciadora que consiga detectar a variabilidade da agressividade dos isolados da raça 65. Buiate (2010), diz que esta metodologia mostrou-se promissora na identificação da resistência horizontal no patossistema sorgo-*Colletotrichum sublineolum*. Desta maneira essa metodologia de avaliação da resistência poderá ser utilizada para avaliação da herança de resistência da rizoctoniose em acessos resistentes de melancia.

3.0 REFERÊNCIAS

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários** 2015. Disponível em <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons/>. Acesso em: 05 de abril de 2017.

ALMEIDA, D. P. F. Cultura da Melancia. Universidade do Porto. 2003. Disponível em: <www.dalmeida.com/hortnet/Melancia.pdf>. Acesso em: 17 de maio de 2017.

ALVES, A. F.; NASCIMENTO, I. R.; TICONA-BENAVENTE, A.; FARIA, M. V.; SARMENTO, R. A.; FIGUEIRA, A. R.; MALUF, W. R. Herança da resistência do acesso de melancia PI 595201 a isolado de PRSV-W do Estado do Tocantins. **Bragantia**, v. 73, n. 2, p. 138-142, 2014.

ANDRADE JUNIOR, A.S.; DIAS, N.S.; FIGUEIREDO JUNIOR, L.G.M.; RIBEIRO, V.Q.; SAMPAIO, D.B. **Produção e qualidade de frutos de melancia à aplicação de nitrogênio via fertirrigação**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v.10, n.4, p.836-841, 2006.

ANDRADE JÚNIOR, A.S.; RODRIGUES, B. H. N.; SOBRINHO, C. A.; BASTOS, E. A.; MELO F. B.; CARDOSO, M. J.; SILVA, P. H. S.; DUARTE, R. L. R. **A Cultura da Melancia**. Embrapa Meio Norte, Brasília, 2º edição, 2007, 85p.

ARAÚJO, J. L. P. Custos e viabilidade de produção de melancia no Submédio São Francisco. 2008.

BESERRA JR, J. E. A.; MALUF, W. R.; FIGUEIRA, A. R.; BARGUIL, B. M. Herança da resistência ao Watermelon mosaic virus em melancia (*Citrullus lanatus* L.). **Fitopatol. Bras**, v. 31, n. 3, p. 302, 2006.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. 5. ed. Viçosa: UFV, 2009. 529p.

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

BUENO, L. C. S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. **Melhoramento genético de plantas: princípios e procedimentos**. Lavras: UFLA, 2001. 282p.

BUIATE, E. A. S., Souza, E. A., Vaillancourt, L., Resende, I., Klink, U. P. **Evaluation of resistance in sorghum genotypes to the causal agent of anthracnose**. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 10:166-172, 2010.

CAMARGO FILHO, WP de; MAZZEI, A. R. O mercado de melancia no mercosul. **Informações Econômicas**, v. 32, n. 2, p. 61-64, 2002.

CARLING, D. E. Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. In: **Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Springer Netherlands, 1996. p. 37-47

CARLING, D. E.; KUNINAGA, S.; BRAINARD, K. A. Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 (AG-2) and AG-BI. **Phytopathology**, v. 92, n. 1, p. 43-50, 2002.

CARLING, D. E.; LEINER, R. H.; WESTPHALE, P. C. Symptoms, signs and yield reduction associated with Rhizoctonia disease of potato induced by tuberborne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3. **American Journal of Potato Research**, v. 66, n. 11, p. 693-701, 1989.

CHOMICKI, G; RENNER, S. S. Watermelon origin solved with molecular phylogenetics including Linnaean material: another example of museomics. **New Phytologist**, v. 205, n. 2, p. 526-532, 2015.

COSTA, Antonio E. da S. **Métodos de Inoculação, Avaliação de Resistência à Fusariose e Caracterização Morfoagronômica de Genótipos de Melancia**. 2017. 91f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina, 2017

DAVIDE, L. M. C.; & SOUZA, E. A.. Pathogenic variability within race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum* and its implications for common bean breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2009.

DIAS, R. C. S.; BARBOSA, G. S.; SOUZA, F. F.; QUEIRÓZ, M. A.; RESENDE, G. M.; COSTA, N. D. Cultivares. In: DIAS, R. C. S.; RESENDE, G. M. de; COSTA, N. D. (Ed.). **Sistema de produção de melancia**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. (Embrapa Semiárido. Sistemas de Produção, 6). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/doencas.htm>>. Acesso em: 6 de dezembro de 2014.

DIAS, R. C. S., REZENDE, G. M. Embrapa – sistema de Produção da melancia. Embrapa semiárido. Sistemas de produção. Versão eletrônica. Ago/2010. Disponível em . Acesso em: 22 de mar. de 2017

ERPER, I.; KILICOGLU, M. C.; TURKKAN, M.; & ONDER, H. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolated from winter squash in the Black Sea region of Turkey. **European Journal of Plant Pathology**, v. 146, n. 3, p. 683-697, 2016.

FAO, 2013. Agricultural production: primary crops. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 18 de mai de 2017.

FURSA, T. B. K sistematike roda Citrullus Schrad.(On the taxonomy of genus Citrullus Schrad.). **Bot. Zhurn**, v. 57, n. 1, p. 31-41, 1972.

HILLOCKS, R.J. & WALLER, J.M. Soilborne diseases and their importance in tropical agriculture. In: Hillocks, R.J. & Waller, J.M. (Eds.) *Soilborne Diseases of Tropical Crops*. Wallingford. CAB International. 1997. p.3-16.

IBGE. Produção agrícola municipal, Rio de Janeiro, v. 41, p.1-95, 2014 <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2014/PAM2014_Publicacao_completa.pdf> 02 de maio de 2017.

JEFFREY, C. Cucurbitaceae in Hanelt P and Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (eds) Mansfield's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops. 2001.

LAKSHMAN, D. K.; NATARAJAN, S. S.; LAKSHMAN, S.; GARRETT, W. M.; DHAR, A. K. Optimized protein extraction methods for proteomic analysis of *Rhizoctonia solani*. **Mycologia**, v. 100, n. 6, p. 867-875, 2008.

LI, Z.; PINSON, S. R. M.; MARCHETTI, M. A.; STANSEL, J. W.; PARK, W. D. Characterization of quantitative trait loci (QTLs) in cultivated rice contributing to field resistance to sheath blight (*Rhizoctonia solani*). **TAG Theoretical and Applied Genetics**, v. 91, n. 2, p. 382-388, 1995.

LIMA NETO, I. S. Interação genótipo x ambiente na reação de progênies de melancia a Alternariose no Submédio São Francisco. 2009. 73f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Arido (UFERSA), Mossoró-RN, 2009

LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R. A.; HARAKAVA, R. **Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino**. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v. 44, p.225-232, 2009.

MARANHA, F. G. C. B.; RAMALHO, MAGNO ANTONIO PATTO; FARIAS, FRANCISCO JOSÉ C. Estratégias de análise da reação de cultivares de algodoeiro a patógenos. **Revista Brasileira Oleaginosas e Fibrosas**, v. 6, n. 2, p. 565-575, 2002.

MATIELLO, R. R., BARBIERI, R. L., & CARVALHO, F. I. F. D. Resistência das plantas a moléstias fúngicas. **Ciência Rural. Santa Maria**. vol. 27, n. 1 (jan./mar. 1997), p. 161-168.

MELO, L. C.; SANTOS, J. B. D. Identification of resistant genotypes considering polygenic systems in host-pathogen interaction. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 4, p. 601-608, 1999.

MELO, D. R. M., **Métodos de inoculação, reação de acessos e herança da resistência do meloeiro a *Rhizoctonia solani***. 2014.100f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Semi – Árido, Rio Grande do Norte. 2014

MICHEREFF S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. M.; MENEZES, M. Importância dos Patógenos e das Doenças Radiculares em Solos Tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (ed.) **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Editora Imprensa Universitária UFRPE, Recife, pp.1-17, 2005.

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

MOHR, H. C. Watermelon breeding. In: BASSET, M. J. (ed.) **Breeding vegetable crops**. AVI Publishing Company, Connecticut, p.37-66, 1986.

OGOSHI, A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Annual review of phytopathology**, v. 25, n. 1, p. 125-143, 1987.

OGOSHI, A. Introduction—the genus *Rhizoctonia*. In: **Rhizoctonia species: Taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Springer Netherlands, 1996. p. 1-9.

OLIVEIRA, A. C. C.; SOUZA, P. E.; POZZA, E. A.; DORNELAS, G. A.; MONTEIRO, F. P. Influência da temperatura sobre isolados de *Rhizoctonia solani* (Kühn) obtidos em áreas produtoras de algodão nos estados brasileiros. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30 p. 119-130. Fev 2014.

PARMETER, J. R.; WHITNEY, H. S. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In: PARMETER, J.R. (Ed). *Rhizoctonia solani*; **biology and pathology**. London: [s. n.] 1970. 255 p.

PASCHOLATTI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. Cap. 22, p 417-453.

PATRÍCIO, F. R. A.; KIMATI, H.; TESSARIOLI NETO, J.; PETENATTI, A.; BARROS, B. C. **Efeito da solarização do solo, seguida pela aplicação de *Trichoderma spp.* ou de fungicidas sobre o controle de *Pythium aphanidermatum* e de *Rhizoctonia solani* AG-4**. Summa Phytopatology, Botucatu, v.33, p.142-146,2007

PUIATTI, M.; SILVA, DJH. Cultura da melancia. FONTES PCR. **Olericultura teoria e prática**. Viçosa: UFV. p, p. 386-406, 2005.

QUEIROZ, M. A. Melhoramento de melancia. In: Nick, C.; Borém, A. **Melhoramento de hortaliças**. Viçosa, MG: UFV, 2016. Cap. 10. p. 305-330.

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

RICARTE, A. O.; ALBUQUERQUE, L. B.; ANTONIO, R. P.; SILVEIRA, L. M.; CARVALHO, K. K. A.; SILVA, M. F. N.; FILHO, A. J. R. S. **Variabilidade genética de acessos e cultivares de melancia baseada em marcadores rapd**. In: I CONICBIO / II CONABIO / VI SIMCBIO. v. 2. 2013. Recife: UNICAP. **Resumo expandido**. Recife: UNICAP, 2013. Disponível em: <<http://www.unicap.br/simcbio/wp-content/uploads/2014/09/VARIABILIDADE-GEN%C3%89TICA-DE-ACESSOS-E-CULTIVARES-DE-MELANCIA-BASEADA-EM-MARCADORES-RAPD.pdf>>. Acesso: 08 de maio de 2017.

SILVA, D. J. H.; MOURA, M. C. C. L.; CASALI, V. W. D. Recursos genéticos do banco de germoplasma de hortaliças da UFV: histórico e expedições de coleta. **Horticultura Brasileira**, v. 19, n. 2, p. 108-114, 2001.

SNEH, B. et al. **Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. 1996

TERAO, D.; CASTRO, J. M. C.; LIMA, M. F.; BATISTA, D. C.; BARBOSA, M. A. G.; REIS, A.; DIAS, R. C. S. Doenças. In: DIAS, R. C. S.; RESENDE, G. M. de; COSTA, N. D. (Ed.).

Sistema de produção de melancia. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. (Embrapa Semiárido. Sistemas de Produção, 6). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/doencas.htm>>. Acesso em: 05 de abril de 2017.

VANDERPLANK, J. E. **Disease resistance in plants.** New York: Academic Press, 206 p. 1968.

VANDERPLANK, J. E. et al. Host-pathogen interactions in plant disease. **Host-pathogen interactions in plant disease.**, 1982.

VIDA, J.B. ;ZAMBOLIM, L.; TESSMANN, D.J.; BRANDÃO FILHO, J.U.T.; VERZIGNASSI, J.R.; CAIXETA, M.P. **Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido.** Fitopatologia Brasileira, v. 29, jul.-ago. 2004, p. 355-372.

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. C.; BIANCHETTI, L.B. Princípios sobre coleta de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (Ed.) **Recursos genéticos vegetais.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 193-229.

WANI, A. A.; SOGI, D. S.; SINGH, P.; WANI, I. A.; SHIVHARE, U. S. Characterisation and functional properties of watermelon (*Citrullus lanatus*) seed proteins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 1, p. 113-121, 2010.

WHEELER, T. & RUSH, C.M. Soilborne diseases. In: Maloy, O.C. & Murray, T.D. (Eds.) *Encyclopedia of Plant Pathology.* New York. JohnWiley & Sons. 2001. p. 935-947.

WHITAKER, T.W.; DAVIS, G.N. **Cucurbits.** New York: Interscience Publishers, 1962, 250p.

ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R., COSTA, H. **Controle integrado das doenças de hortaliças.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 1997.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. **Resistência a doenças induzidas pela nutrição mineral.** Rev An Patol Plantas, Passo Fundo, v. 1, 1993, p. 275-318.

ZHAO, G.; ABLETT, G. R.; ANDERSON, T. R.; RAJCAN, I.; SCHAAFSMA, A. W. Inheritance and genetic mapping of resistance to *Rhizoctonia* root and hypocotyl rot in soybean. **Crop science**, v. 45, n. 4, p. 1441-1447, 2005.

4. Caracterização, patogenicidade e grupos de anastomose de isolados *Rhizoctonia solani* de melancia¹

4.1 RESUMO

O objetivo deste estudo foi caracterizar a variação morfológica e patogênica de isolados de *Rhizoctonia solani*, bem como determinar a compatibilidade micelial e a anastomose. Foram utilizados isolados de *R. solani* CMM1053, CMM2967, CMM1052, CMM2983, CMM2971 e CMM3890 de melancia. A determinação da agressividade foi avaliada utilizando os seis isolados inoculados na cultivar suscetível Crimson Sweet em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições, sendo a unidade amostral constituída por uma planta. O experimento de velocidade de crescimento micelial foi instalado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, 6 isolados x 3 meios de cultura, utilizando os seguintes meios de cultura Agar Nutriente, BDA e BSA com um total de 5 repetições. A caracterização da cor e a formação do escleródio foram realizadas 15 dias após a inoculação fúngica em cada meio de cultura. Para a caracterização da compatibilidade vegetativa e a ocorrência da anastomose, os experimentos foram realizados em DIC com três e duas repetições, respectivamente. Os isolados CMM1053 e CMM1052 foram o que tiveram maiores notas, no entanto, eles foram estatisticamente diferentes apenas do isolado CMM2967. O meio de BSA foi o mais promissor para o crescimento micelial. Foi possível observar que houve variabilidade na cor das colônias, sendo maior no meio Agar Nutriente. Com base em avaliações de compatibilidade vegetativa e fusão de hifas, os seis isolados pertencem ao mesmo grupo de anastomose.

Palavras-chaves: *Citrullus lanatus*, *damping-off*, crescimento micelial, melhoramento vegetal, compatibilidade vegetativa.

¹ Artigo submetido à revista *Comunicata Scientiae*

4.2 INTRODUÇÃO

A melancia *Citrullus lanatus* é um cultura que tem como maior produtor a China e no Brasil ocupa a sexta colocação entre as olerícolas produzidas (FAO, 2015). A produção pode ser afetada por ataque de fitopatógenos, e dentre eles, pode-se citar o fungo *Rhizoctonia solani* agente causal da rizoctoniose e podridão radicular em melancia (Mirmajlessi et al., 2012).

As plantas de melancia infectadas por *R. Solani* apresentam sintomas de podridão de sementes, morte de plântulas, cancro no caule, podridão de raízes e frutos causando a morte da planta e redução na produtividade (Aiello et al., 2012). *R. solani* é um fungo cosmopolita e sua identificação é baseada em sua morfologia e método moleculares (Sneh et al., 1996). Sua classificação é baseada em grupos de anastomose, que é definida como a manifestação somática ou vegetativa de incompatibilidade ou compatibilidade entre hifas de diferentes isolados de *R. solani* (Anderson, 1982). Entretanto a classificação em grupos de anastomose nem sempre corresponde a agrupamento de fungos que tenham a mesma agressividade, morfologia da colônia, fisiologia ou características moleculares (Das et al., 2014; Sneh et al., 1996). O fungo é polífago e de acordo com Lakshman et al. (2008) apresenta 190 hospedeiro de diferentes espécies. O fitopatógeno pode viver saprofiticamente no solo e formar estruturas de resistência chamadas escleródios(Sneh et al., 1996). Sendo que estas estruturas podem apresentar viabilidade de 10% a 40% após 18 meses em solo (Ritchie et al., 2013). O método mais eficiente para controlar a doença é através do controle genético, já que não existem produtos químicos registrados para o controle desta doença no Brasil.

Para o desenvolvimento de cultivares resistentes à rizoctoniose é necessário a obtenção e caracterização tanto de acessos como de isolados do patógeno. Na natureza, os isolados de *Rhizoctonia solani* têm considerável variabilidade na sua morfologia, fisiologia e em sua agressividade (Sherwood, 1970; Mikhail et al., 2010). Erper et al. (2016) mostra que isolados de *Rhizoctonia solani* vindos da moranga, apresentam variabilidade de crescimento e coloração quando crescidos em BDA (Batata Dextrose Agar). Além disso a agressividade do fungo entre diferentes grupos de anastomose também pode variar (Erper et al., 2016; Mathew et al., 2012; Oliveira et al., 2014).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a variação morfológica e patogênica dos isolados de *Rhizoctonia solani* obtidos a partir da melancia, como também determinar a compatibilidade vegetativa e a anastomose das hifas.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da Universidade Federal do Vale do São Francisco em Petrolina-PE, Brasil. Foram usados seis isolados de *Rhizoctonia solani* obtidos da coleção de fungos Fitopatogênicos “Professora Maria Menezes”- CMM, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (tabela 1). Todos os isolados foram preservados em arroz e tiveram sua patogenicidade restaurada com a inoculação em melancia.

Tabela 1. Descrição dos isolados de melancia de *Rhizoctonia solani* pertencentes à coleção de fungos “Professora Maria Menezes”.

Código	Ano	Local
CMM-1053	2006	Quixere-RN
CMM-2967	2007	Mossoró-RN
CMM-1052	2006	Quixere-RN
CMM-2983	2007	Mossoró-RN
CMM-2971	2007	Baraúna-RN
CMM-3890	2006	Gama-DF

4.3.1 Agressividade dos isolados de *R. solani*

A agressividade foi determinada pela inoculação dos isolados de *Rhizoctonia solani* na cultivar comercial Crimson Sweet, que é suscetível. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com seis isolados e cinco repetições, mais o controle (plantas não inoculadas). O inoculo de cada isolado foi preparado de forma independente em Erlenmeyers de 250 ml. Para isto 50 g de arroz parboilizado e 30 ml de água destilada foram autoclavados (120°C, 15 min, 1atm). Cada isolado foi crescido em BDA por cinco dias a 25 °C, de onde foram retirados três discos de 3 mm com hifas do fungo para ser adicionado aos Erlenmeyers. Após incubação à temperatura ambiente por um período de 7 dias, os grãos de arroz foram utilizados como fonte de inoculo para a inoculação da cultivar Crimson Sweet.

Para a semeadura utilizou-se copos descartáveis de 80 ml contendo substrato comercial Topstrato. As sementes foram previamente desinfetadas em hipoclorito de sódio à 1% por 30 segundos e lavadas em água destilada. Quando as plântulas apresentaram o primeiro par de folhas verdadeiras foi realizada a inoculação com dois grãos de arroz colonizados por cada isolado do patógeno. Este procedimento foi realizado

acondiçionando os grãos de arroz colonizados próximo ao hipocótilo das plântulas e posteriormente realizou-se a cobertura do arroz com o substrato.

A avaliação ocorreu sete dias após a inoculação. Para isto foi utilizada uma escala de notas proposta por Noronha (1995), em que as notas variam de 0 a 4. Sendo que a nota 0= sem sintomas; 1=hipocótilo com pequenas lesões; 2=hipocótilo com grandes lesões, sem constrição; 3= hipocótilo totalmente constricto, mostrando tombamento; 4=sementes não germinadas e/ou plântulas não emergidas.

Após a avaliação, duas repetições de cada tratamento foram levadas ao laboratório para realizar o reisolamento do patógeno dos tecidos com sintomas, objetivando o fechamento dos postulados de Koch. Também foi realizada observação de estruturas do patógeno em microscópio.

4.3.2 Avaliação de crescimento e morfologia da colônia

Neste experimento os seis isolados de *R. solani* foram caracterizados quanto ao seu crescimento, cor e formação de escleródio em três meios de cultura, Ágar Nutriente(AN) (Himedia®), BDA (Kasvi®) e BSA (200 g de batata, 20g de sacarose, 20g agar, e 1000 ml de água). Todos os meios tiveram seu pH ajustados para 7,0 com hidróxido de sódio 0,5M e ácido clorídrico 0,2M e então levados para a autoclave (120°C, 15 min, 1 atm). Após a esterilização, 15 ml de cada meio foi adicionado em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Foi feita a repicagem dos seis isolados do fungo, com três discos de 3 mm de diâmetro, com hifas do fungo. O experimento foi realizado em esquema fatorial 6 x 3, com seis isolados do fungo e três meios de cultura diferentes, em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições por tratamento.

As avaliações foram feitas diariamente até o sexto dia ou até que 90% das placas estivessem totalmente ocupadas pelo fungo. O diâmetro da colônia foi medido com o auxílio de um paquímetro digital e ao passar de 15 dias após a repicagem, foi realizado também a descrição morfologia da colônia do fungo incluindo a cor, além da formação de escleródio na placa. Também foi calculado o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) usando a formula apresentada por Oliveira (1991): $IVCM = \frac{\sum(D-D_a)}{N}$; onde: D=diâmetro médio atual da colônia; D_a = diâmetro médio da colônia do dia anterior; N= número de dias após a repicagem/inoculação.

4.3.3 *Compatibilidade vegetativa e anastomose entre os isolados de R. solani*

Para este experimento foram realizados os pareamentos entre os seis isolados do fungo *Rhizoctonia solani* dois a dois. O pareamento foi montado em placas de Petri contendo o meio ágar água e discos de micélio com 3 mm de diâmetro que foram repicados para a placa de Petri e separados por uma distância de 3 cm. Ao passar de 7 dias o pareamento dos isolados foi avaliado e as combinações foram classificadas segundo Macnish et al., (1997) em três categorias: fundido, tufo e incompatível. Na categoria “fundido” as duas culturas se juntam com pouca ou nenhuma evidência de demarcação, na categoria “tufo” há uma área de distinta demarcação entre as colônias que são ocupadas por uma faixa de hifas levantadas acima do nível geral do micélio na superfície de Ágar. A categoria “incompatível” é uma categoria usada para agrupar as reações que não se encaixam nas outras categorias e não ocorre a junção das hifas. Este experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com três repetições e o crescimento dos fungos ocorreu em temperatura de 28°C.

Para a avaliação da anastomose entre isolados o experimento foi realizado em placas de Petri com meio BDA (Batata, Dextrose e Ágar). O esquema de montagem da placa seguiu o de compatibilidade vegetativa, porém foi adicionado entre os discos de micélio dos isolados uma lamínula esterilizada para que quando as hifas crescessem e ocasionalmente ocorresse a anastomose ser possível de observar a reação de fusão das hifas. Para observar a fusão das hifas as lamínulas foram retiradas e as hifas coradas com Safranina O. A observação das estruturas microscópicas foram realizadas com o auxílio de um microscópio óptico (Nikon Eclipse E200 ®). Este experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com duas repetições e o crescimento dos fungos ocorreu em temperatura de 28°C. A avaliação se deu com a detecção ou não da anastomose entre as hifas dos isolados, classificando como ausente ou presente.

4.3.4 *Análise estatística*

As notas obtidas no experimento de agressividade e o IVCM foram submetidos ao teste de normalidade dos erros de Shapiro-Wilk a 5% e após verificada a normalidade dos dados foi realizada a análise de variância. As médias de agressividade foram submetidos ao teste de Duncan e o IVCM ao teste de agrupamento de médias de Scott-Knott com significância de 5% usando o programa estatístico R Core Team (2016).

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados CMM1053 e CMM1052 foram os mais agressivos, com médias de 4 e 3,8 respectivamente, porém não foram estatisticamente diferentes dos isolados CMM2983, CMM2971 e CMM3890. O isolado CMM2967 foi considerado o menos agressivo com média de 2,8 (Tabela 2). Assim, o conhecimento de diferentes níveis de agressividade é de grande interesse no trabalho de melhoramento de plantas, uma vez que, variedades suscetíveis quando inoculadas com isolados pouco agressivos podem mostrar-se como resistentes. Por outro lado, quando inoculados com isolados muito agressivos, podem ser altamente suscetíveis (Vanderplank, 1968). O isolado CMM1053 em um estudo com Fava foi considerado um dos mais agressivos, o que também foi observado em nosso estudo (Assunção et al., 2011).

Tabela 2. Nota média e desvio padrão da agressividade dos isolados sobre as plântulas de melancia inoculadas com os seis isolados. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de média de Duncan com 5% de probabilidade.

Isolado	Nota média
CMM1053	4.0 ± 0.00 a
CMM1052	3.8 ± 0.45 a
CMM2983	3.6 ± 0.55 ab
CMM2971	3.4 ± 0.55 ab
CMM3890	3.2 ± 1.10 ab
CMM2967	2.8 ± 0.84 b
Controle	0.0 ± 0.00 c

Houve interação significativa entre meios de culturas e os isolados para IVCM (Figura 1). O meio de BSA foi o que obteve o IVCM mais alto, indicando que a maioria dos isolados teve o crescimento mais acelerado neste meio. Os isolados que apresentaram melhor crescimento no meio BSA foram o CMM2967 e o CMM2971, com IVCM de 49,09 e 51,9 mm.dia⁻¹, respectivamente. Para o meio BDA, os IVCM mais elevados foram dos isolados CMM1053, CMM3890, CMM2971 e CMM2967, variando de 42,20 a 43,88 mm.dia⁻¹. O meio AN foi o que apresentou as menores taxas de velocidade de

crescimento. Os isolados que apresentaram o IVCM mais elevado foram CMM1053, CMM2971, CMM2967 e CMM3890, variando de 39,30 a 45,51 mm.dia^{-1} . Estes resultados mostram que a depender do meio de cultura que o isolado é cultivado ele pode se comportar de maneira diferente, corroborando com os estudos de MacNish et al. (1997) que encontrou diferença de crescimento micelial em BDA de isolados de *Rhizoctonia solani* que pertencem ao grupo de anastomose AG-10. A maioria dos estudos utiliza o meio BDA para avaliar o crescimento micelial e a temperatura de 25°C para o crescimento é considerada ideal (Erper et al., 2016; Silva-Barreto et al., 2010; Yang et al., 2015). Portanto, de acordo com nossos resultados, o meio de BSA também pode ser incluído como um excelente meio para o crescimento de *Rhizoctonia solani*.

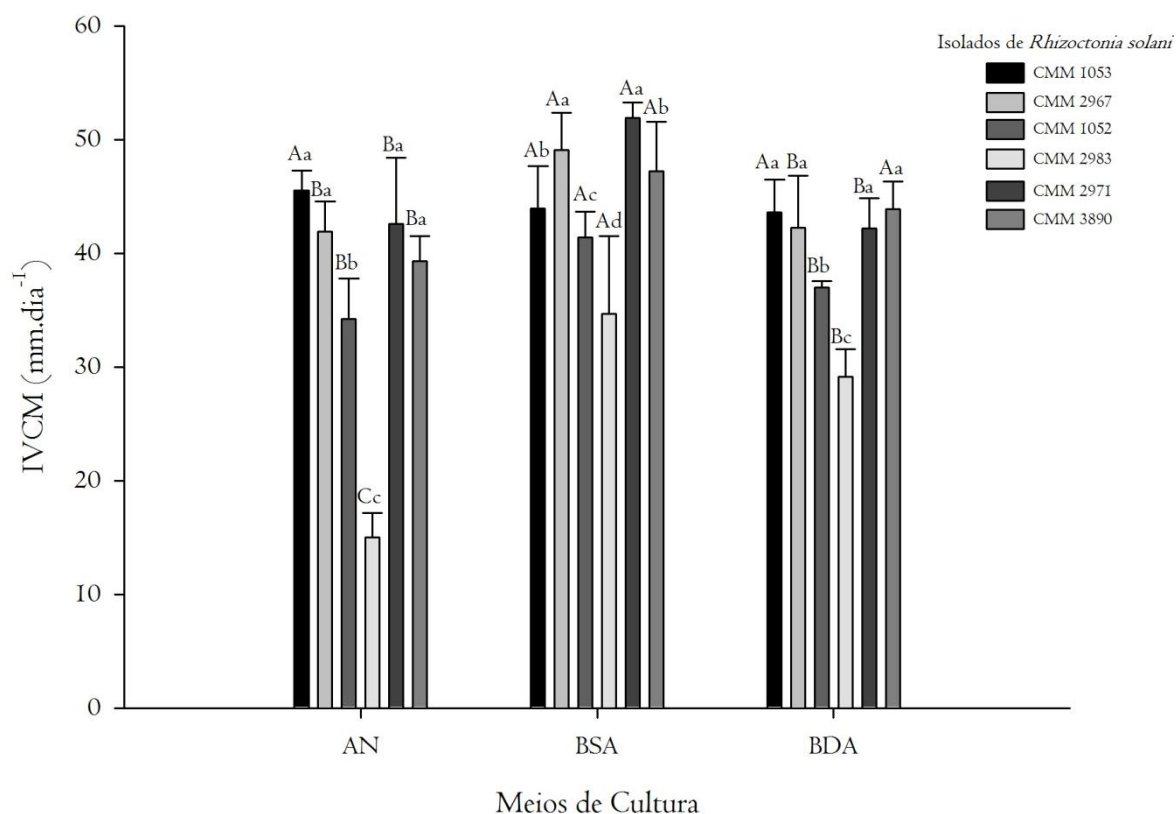


Figura 1. Índices de velocidade de crescimento micelial (IVCM) (mm.dia^{-1}) de diferentes isolados e meios de cultura (AN - Agar Nutriente, BSA – Batata Sacorose e Agar e BDA – Batata Dextrose e Agar). Média seguidos pelas mesmas letras minúsculas entre isolados

e letras maiúsculas entre meio de cultura, não diferem estatisticamente pelo teste de agrupamento de médias de Scott-Knott com significância de 5%.

Passados os 15 dias da repicagem foi realizado a contagem de escleródios, no entanto os escleródios não foram observados em nenhum isolado usado para todos os meios testados. Observou-se que houve diferenças na cor da colônia dependendo do meio, em que os isolados CMM1053, CMM2983 e CMM1052 apresentaram uma colônia de cor branca nos meios de BDA e BSA e os outros isolados mostraram uma cor marrom (Figura 2). Também é possível enfatizar que, no meio Agar Nutriente, os fungos apresentaram uma cor marrom mais escura diferente da cor da colônia quando cultivada em BDA ou BSA. Erper et al. (2016) analisando características morfológicas de isolados de *Rhizoctonia solani* pertencentes ao grupo de anastomose AG-4 encontraram diferenças na coloração da colônia e na formação de escleródios no meio de BDA. Também observou-se variabilidade de cor no estudo, como também observado por Sanfuentes et al. (2007). Spedaletti et al. (2016) mostra que 62,9% das colônias, crescidas em BDA, de *Rhizoctonia solani* observadas em seu estudo, possuíam a coloração marrom clara e que apenas 20,6% tinham a coloração branca. No entanto, não foi encontrado na literatura, o uso de AN e BSA para observar a cor e o crescimento micelial de *R. solani*.

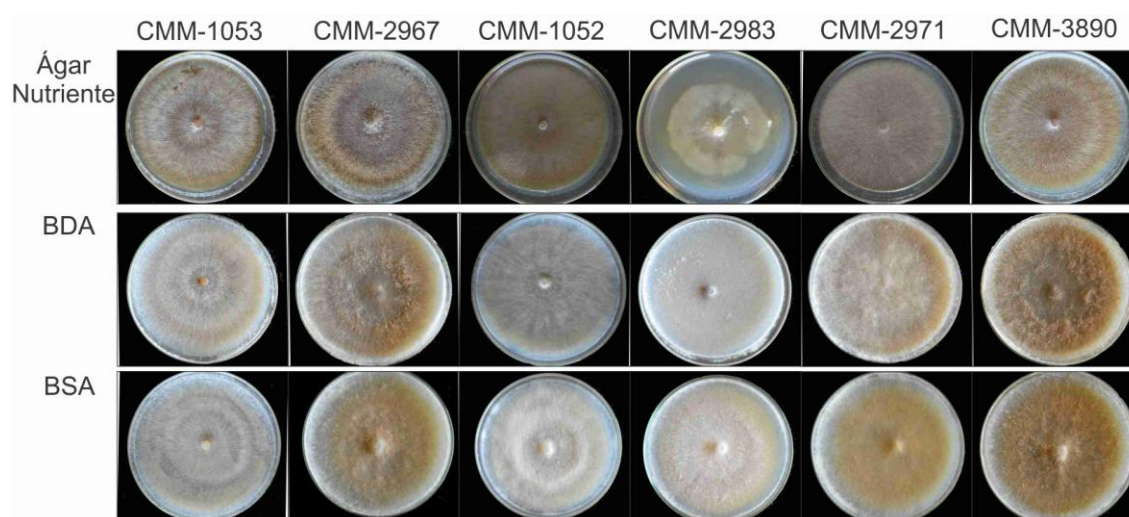


Figura 2. Variação da cor da colônia observada em diferentes meios de cultura (AN - Agar Nutriente, BDA – Batata Dextrose e Agar e BSA – Batata Sacorose e Agar).

Para a compatibilidade vegetativa apenas as combinações CMM-1053 com CMM-1052 e CMM-2967 com CMM-3890 foram incompatíveis, ou seja, as hifas em nenhum

momento chegaram próximas umas das outras. Para a maioria das combinações a classificação foi dada como “fundido”, ou seja, as hifas dos isolados se sobrepunham umas sobre as outras com pouca ou nenhuma evidência e demarcação. Não foi observada em nosso experimento a categoria “Tufo” (Tabela 3).

Tabela 3. Resultado da compatibilidade vegetativa entre os isolados de *Rhizoctonia solani*

Isolados	CMM1053	CMM2967	CMM1052	CMM2983	CMM2971	CMM3890
CMM1053	x**	F*	I	F	F	F
CMM2967		x	F	F	F	I
CMM1052			x	F	F	F
CMM2983				x	F	F
CMM2971					x	F
CMM3890						x

* Classificação da compatibilidade vegetativa entre os isolados. F = fundido, I= incompatível e T= tufo. ** x= combinações não realizada neste experimento.

Para a anastomose das hifas pôde-se observar que a maioria dos pares foram compatíveis vegetativamente, exceto para os pares CMM 1053 vs CMM 1052 e CMM 3890 e CMM 2967 (Tabela 4). Observou-se em detalhes a fusão de hifas entre os isolados CMM1053 e CMM2967 (Figura 3A) e entre isolados CMM2983 e CMM3890 (Figura 3B).

Tabela 4. Anastomose de hifas entre os isolados de *Rhizoctonia solani*

Isolados	CMM1053	CMM2967	CMM1052	CMM2983	CMM2971	CMM3890
CMM1053	x**	F*	A	P	P	P
CMM2967		x	P	P	P	A
CMM1052			x	P	P	P
CMM2983				x	P	P
CMM2971					x	P
CMM3890						x

* Classificação da anastomose entre os isolados. A= ausente e P= presente. ** x= combinações não realizada neste experimento.

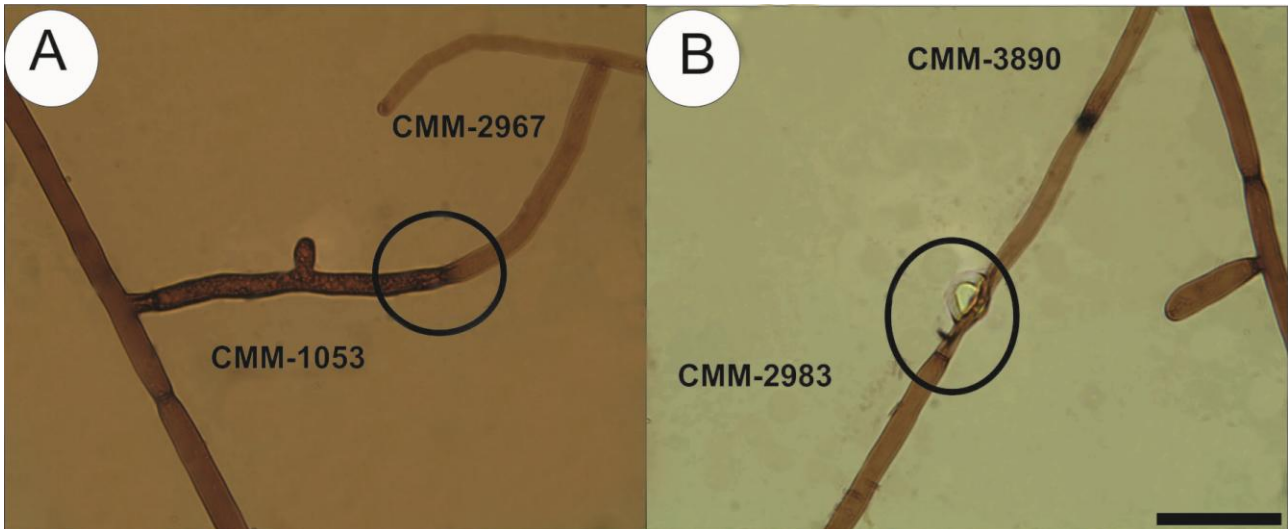


Figura 3. Anastomose de hifas entre isolados de *Rhizoctonia solani*. Imagem com 400x de aumento. Barra: 1µm.

Para a maioria das combinações foi possível detectar a presença de anastomose, podendo inferir que esses isolados pertencem ao mesmo grupo de anastomose. Por outro lado, as combinações que não apresentavam anastomoses foram as mesmas em que a compatibilidade vegetativa não foi observada. No entanto, neste estudo, não foi possível fazer a classificação de acordo com Sneh et al. (1996) sobre a estabilidade da anastomose, em que ele classifica a fusão perfeita como aquela em que a célula da hifa não morre após a fusão. A fusão de hifas é um método clássico bastante utilizado para identificação e classificação de grupos de Anastomose (AG) entre isolados de *Rhizoctonia solani* e alguns grupos tem sido subdivididos em subgrupos de acordo com as diferenças fisiológicas e especificidade do hospedeiro (Yang et al., 2015). O fato de ocorrer anastomose para a maioria dos isolados pode explicar o fato de todos os isolados causarem doença na melancia. Para a determinação de qual grupo de anastomose pertence, é necessária que se tenham isolados de *Rhizoctonia solani* com esses grupos determinados e realizada o pareamento com estes isolados ou utilização de métodos moleculares com primers específicos para determinar o grupo de anastomose (Erper et al., 2016; Yang et al., 2017; Yang et al., 2015).

4.5 CONCLUSÃO

A variação foi observada para todos os caracteres avaliados. Os isolados CMM1052 e CMM1053 foram os mais agressivos, porém diferiram estatisticamente apenas do isolado CMM2967, que foi o menos agressivo. O meio de BSA mostrou ser o mais adequado para o rápido crescimento dos isolados de *R. solani*, sendo uma alternativa ao BDA para estudos com *R. solani*. Os isolados cultivados em Agar Nutriente apresentaram a maior variação de cor da colônia. Pelos testes de anastomose de hifas e compatibilidade vegetativa, os isolados pertencem ao mesmo grupo, exceto os pares CMM 1053 vs CMM 1052 e CMM 3890 e CMM 2967.

4.6 REFERÊNCIAS

- Aiello, D., Vitale, A., Hyakumachi, M., Polizzi, G. 2012. Molecular characterization and pathogenicity of binucleate *Rhizoctonia* AG-F associated to the watermelon vine decline in Italy. *European journal of plant pathology* 134: 161- 165.
- Anderson, N. A. 1982. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. *Annual Review of Phytopathology* 20: 329- 237.
- Assunção, I. P., Nascimento, L. D., Ferreira, M. F., Oliveira, F. J., Michereff, S. J., Lima, G. S. 2011. Reaction of faba bean genotypes to *Rhizoctonia solani* and resistance stability. *Horticultura Brasileira* 29: 492- 497.
- Das, S., Shah, F. A., Butler, R. C., Falloon, R. E., Stewart, A., Raikar, S., Pitman, A. R. 2014. Genetic variability and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* associated with black scurf of potato in New Zealand. *Plant pathology* 63: 651- 666.
- Erper, I., Kilicoglu, M. C., Turkkan, M., Onder, H. 2016. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolated from winter squash in the Black Sea region of Turkey. *European Journal of Plant Pathology* 146: 683- 697.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. <http://www.fao.org/><acessado em 20 abril de 2017>
- Lakshman, D. K., Natarajan, S. S., Lakshman, S., Garrett, W. M., Dhar, A. K. 2008. Optimized protein extraction methods for proteomic analysis of *Rhizoctonia solani*. *Mycologia* 100: 867- 875.
- Macnish, G. C., Carling, D. E., Brainard, K. A. 1997. Relationship of microscopic and macroscopic vegetative reactions in *Rhizoctonia solani* and the occurrence of vegetatively compatible populations (VCPs) in AG-8. *Mycological Research* 101: 61- 68.
- Mathew, F. M., Lamma, R. S., Chittem, K., Chang Y. W., Botschner, M., Kinzer, K., Markell, S. G. 2012. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates affecting *Pisum sativum* in North Dakota. *Plant disease* 96: 666- 672.
- Mikhail, M. S., Sabet, K. K., Omar, M. R., Asran, A. A., Kasem, K. K. 2010. Current *Rhizoctonia solani* anastomosis groups in Egypt and their pathogenic relation to cotton seedlings. *African Journal of Microbiology Research* 4: 386- 395.
- Mirmajlessi, S. M., Safaie, N., Mostafavi, H. A., Mansouripour, S. M., Mahmoudy, S. B. 2012. Genetic diversity among crown and root rot isolates of *Rhizoctonia solani* isolated from cucurbits using PCR-based techniques. *African Journal of Agricultural Research* 7: 583- 590.
- Noronha, M. A., Michereff, S. J., Mariano, R. L. R. 1995. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. *Fitopatologia Brasileira* 20: 174- 178.
- Oliveira, A. C., Souza, P. E., Pozza, E. A., Figueira, A. R., Avelar, G. D., Gomes, E. A., Monteiro, F. P. 2014. Caracterização morfológica, genética e patogenicidade de isolados

de *Rhizoctonia solani* provenientes de algodoeiros no Brasil. *Bioscience Journal* 30: 512-524.

Oliveira, J. A. 1991. *Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (Cucumis sativus L.) e pimentão (Capsicum annum L.)*. 111p. (M.Sc. Dissertation). Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, Brasil.

R Core Team (2015). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Ritchie, F., Bain, R., Mcquilken, M. 2013. Survival of Sclerotia of *Rhizoctonia solani* AG3PT and Effect of Soil-Borne Inoculum Density on Disease Development on Potato. *Journal of Phytopathology* 161: 180- 189.

Sanfuentes, E., Alfnas, A. C., Maffia, L. A., Mafia, R. G. 2007. Caracterização de Isolados de *Rhizoctonia* spp. e Identificação de Novos Grupos de Anastomose em Jardim Clonal de Eucalipto. *Fitopatologia Brasileira* 32: 229- 236.

Sherwood, R. T. 1970. Physiology of *Rhizoctonia solani*. In: Parmeter, J. R. (ed.) *Rhizoctonia solani, biology and pathology*. California Press, Los Angeles, USA. p. 69-92.

Silva-Barreto, F. A. D., Pereira, W. V., Ciampi, M. B., Câmara, M. P. S., Ceresini, P. C. 2010. Associação de *Rhizoctonia solani* Grupo de Anastomose 4 (AG-4 HGI e HGIII) à espécies de plantas invasoras de área de cultivo de batata. *Summa Phytopathologica* 36, 145- 154.

Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate., S. Dijst. 1996. *Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control*. Springer Netherlands, Noordwijkerhout, Netherlands. 578 p.

Spedaletti, Y., Aparicio, M., Cárdenas, G. M., Rodriguero, M., Taboada, G., Aban, C., Suhring, S., Vizgarra, O., Galván, M. 2016. Genetic Characterization and Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Associated with Common Bean Web Blight in the Main Bean Growing area of Argentina. *Journal of Phytopathology* 164: 1054- 1063.

Van Der Plank, J. E. 1968. *Disease resistance in plants*. Academic Press, New York, USA. 206 p.

Yang, S., Min, F., Wang, W., Wei, Q., Guo, M., Gao, Y., Dong, X., Lu, D. 2017. Anastomosis Group and Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Associated with Stem Canker and Black Scurf of Potato in Heilongjiang Province of China. *American Journal of Potato Research* 94: 95- 104.

Yang, Y., Zhao, C., Guo, Z., Wu, X. 2015. Anastomosis group and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* associated with stem canker and black scurf of potato in China. *European Journal of Plant Pathology* 143: 99- 111.

5. Fontes de resistência e herança genética à reação de *Rhizoctonia solani* em melanciaira²

5.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi encontrar fontes de resistência à rizoctoniose bem como determinar a herança de resistência em melanciaira, por meio da avaliação das populações segregantes e utilizando um dialelo parcial. No primeiro experimento foi realizada a inoculação de 72 acessos de melancia com o isolado CMM 1053 de *Rhizoctonia solani*. No segundo experimento foi realizada a avaliação das populações segregantes do cruzamento entre a cultivar suscetível Crimson Sweet e o acesso autofecundado BGH- 29. No terceiro experimento realizou-se uma análise dialélica entre 8 acessos de melancia e 6 isolados de *Rhizoctonia solani*, utilizando o método IV de Griffing para obter os componentes da capacidade geral de reação, capacidade geral de agressividade e a capacidade específica de reação. Todas as análises genéticas foram realizadas com o programa estatístico GENES. Pelos resultados obtidos no primeiro experimento apenas os acessos BGH 29 e BGH 76 foram considerados moderadamente resistentes à doença. Observou-se no segundo experimento que a herança da resistência é controlada por 9 genes com efeito aditivo e baixa herdabilidade. Os resultados da análise dialélica corroboram com o experimento de avaliação da população segregante, indicando que a herança é horizontal à rizoctoniose, pois 46,1% da soma de quadrados total da variação observada nos cruzamentos é devida a capacidade geral de reação e enquanto a capacidade específica de interação correspondeu apenas a 20,39% da variação observada. Este é o primeiro relato sobre o estudo da herança da resistência à Rizoctoniose em melancia.

Palavras-chaves: *Citrullus lanatus*, dialelo parcial, resistência horizontal, rizoctoniose.

² Artigo a ser submetido na revista *Scientiae Horticulturae*

5.2 INTRODUÇÃO

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] se destaca como a sexta olerícola mais produzida no Brasil (FAO, 2015). Em 2014 as principais regiões produtoras foram Nordeste e Sul, com 701.213 e 505.782 toneladas, respectivamente (IBGE, 2014). Um dos fatores que pode limitar essa produção é a ocorrência de doenças causadas por fitopatógenos que habitam o solo, como por exemplo, a rizoctoniose ou *damping off*, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani*. No Brasil não se tem produtos registrados para o controle químico desta doença na melancieira (AGROFIT, 2017). Conseqüentemente, a forma de controle mais eficiente consiste em desenvolver cultivares resistentes, mediante introdução de genes capazes de conferir resistência em cultivares comerciais.

Assim, a primeira ação é identificar fontes de resistência no germoplasma existente. Em melão, por exemplo, existem trabalhos de fontes de resistência como de Sales Júnior et al., (2015) que encontrou o acesso TA-09 que se mostrou imune ao isolado de *R. solani*, assim como o trabalho de Michereff et al., (2008) que buscou resistência em cultivares comerciais de melão e observou que a cultivar Sancho possuía alta resistência aos isolados RS-09 e RS-10. Salari et al. (2012) encontrou 2 cultivares comerciais de meloeiro altamente resistentes à rizoctoniose. Contudo não se tem trabalhos publicados relatando fontes de resistência à rizoctoniose em melancia.

Outra informação importante para que o melhorista tenha sucesso no desenvolvimento de cultivares resistente, é o tipo de resistência que a planta tem em relação ao patógeno. Segundo Vanderplank (1982) a resistência pode ser classificada como vertical ou horizontal. A resistência vertical é conferida por poucos genes, tendo resistência à raça específica, enquanto a resistência horizontal é condicionada por muitos genes, apresentando resistência a raça não específica. No caso específico da rizoctoniose em melancia, não se têm trabalhos na literatura que mostrem o tipo de herança neste patossistema.

O conhecimento do número de genes envolvidos na expressão de um caráter é de grande importância no estudo da herança dos caracteres quantitativos e também no melhoramento de plantas, principalmente no que se refere à estimativa de probabilidade de se obter determinado genótipo em uma população segregante (Ramalho et al., 2012; Wright, 1931).

Melo e Santos (1999), realizaram um estudo de simulação do controle genético envolvendo os dois tipos de resistências com o objetivo principal de testar uma metodologia que conseguisse determinar de maneira mais simples, o tipo de resistência assim como a agressividade dos isolados. Para isso os dados foram avaliados pelo

modelo IV de *Griffing*, que visa avaliar a capacidade combinatória de um grupo de progênies estimando a capacidade específica e geral de combinação, por meio do uso de um dialelo parcial. A simulação teve como base a severidade esperada com a inoculação de genótipos inoculados à 20 raças fisiológicas do patógeno. Uma alta correlação foi encontrada entre a capacidade geral de reação e a resistência horizontal do hospedeiro, assim como também a capacidade geral de agressividade e a agressividade do isolado. A capacidade específica de interação se revelou um indicador da resistência vertical

Assim, o presente trabalho objetivou avaliar acessos do banco de germoplasma de melancia da Univasf, visando encontrar fontes de resistência à rizoctoniose bem como determinar a herança de resistência em melancieira, utilizando as metodologias propostas por Sewall Wright (1931) e Melo e Santos (1999).

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Fitopatologia e em ambiente protegido com 50% de sombreamento, pertencentes à Universidade Federal do Vale do São Francisco. Este trabalho foi dividido em três experimentos.

5.3.1 Preparo do Inóculo dos isolados de *Rhizoctonia solani*

Para o preparo do inóculo, Erlenmeyers de 250ml contendo 50g de arroz parboilizado e 30ml de água destilada foram autoclavados (120°C, 15 min, 1atm). Após resfriado foram adicionados 3 discos de micélios com 3 mm de diâmetro, do fungo crescido em BDA (Kasvi®) por cinco dias em BOD a 25 graus com fotoperíodo de 12 horas. Após 7 dias de incubação, o arroz colonizado pelo fitopatógeno foi utilizado como inóculo. Todos os isolados de *Rhizoctonia solani* utilizados (Tabela 1) foram preparados conforme descrito acima. Para o primeiro e segundo experimento foi utilizado o isolado CMM 1053, já para o terceiro experimento foram utilizados todos os isolados de *Rhizoctonia solani*.

Tabela 1. Descrição dos isolados de *Rhizoctonia solani* de melancia pertencentes à coleção de fungos “Professora Maria Menezes”.

Código	Ano	Local
CMM-1053	2006	Quixere-RN
CMM-2967	2007	Mossoró-RN
CMM-1052	2006	Quixere-RN
CMM-2983	2007	Mossoró-RN
CMM-2971	2007	Baraúna-RN
CMM-3890	2006	Gama-DF

5.3.2 Experimento I – Inoculação de acessos de banco de Germoplasma de Hortaliças

Neste experimento foram utilizados 69 acessos do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Univasf (BGH), 2 acessos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa

Semiárido (BG CIA) e a cultivar comercial Crimson Sweet como controle positivo, totalizando 72 genótipos com 10 repetições, disposto em delineamento inteiramente ao acaso.

O semeio dos acessos foi em bandejas de poliestireno contendo 200 células. As sementes foram previamente desinfetadas em hipoclorito de sódio à 1% por 30 segundos e lavadas em água destilada. Quando as plântulas apresentaram o primeiro par de folhas verdadeiras foi realizada a inoculação com dois grãos de arroz colonizados pelo isolado de *R. solani* CMM1053 considerado o mais agressivo. Este procedimento foi realizado acondicionando os grãos próximos ao hipocótilo das plântulas e posterior cobertura com o substrato.

A avaliação ocorreu sete dias após a inoculação. Para isto foi utilizada uma escala de notas proposta por Krause et al., (2001), em que as notas variam de 0 a 5, sendo 0= planta sem sintoma; 1 = planta com pequenas lesões nas raízes e/ou no hipocótilo; 2 = Lesões circundando o hipocótilo, sem ocorrência da constrição; 3 = Início da constrição, destruição parcial dos tecidos, sem *damping-off*; 4 = Início da constrição, destruição parcial dos tecidos, sem *damping-off*; 5 = *Damping-off* pré-emergente. O agrupamento de cada genótipo quanto à reação ao patógeno foi estimado em cinco classes, sendo a classificação: 0 – Semelhante ao imune (SI); 0,1 – 1,0 - Altamente Resistente (AR); 1,1 – 1,9- Resistente (R); 2,0 - 2,9- Moderadamente Resistente (MR); 3,0 - 3,9 (S); 4,0 - 5,0- Altamente Suscetível (AS), adaptado do trabalho de Michereff et al., (2008).

5.3.3 Experimento II– Herança da resistência utilizando o método de Sweel Wright (1968)

Para este experimento foram utilizados três progênies (Prog1, Prog2 e Prog3) do Acesso BGH 29 (P_2 – genitor feminino), considerado moderadamente resistente à rizoctoniose no experimento anterior. As plântulas desse acesso que não apresentaram sintoma após a inoculação foram autofecundadas para utilização nos cruzamentos. Para a realização do método foram obtidas as populações segregantes realizando o cruzamento controlado com a cultivar Crimson Sweet (P_1 – genitor masculino) (Tabela 2), considerada suscetível. Foram obtidas as gerações F_1 ($P_1 \times P_2$), F_2 ($F_1 \times F_1$), RC_1 ($F_1 \times P_1$) e RC_2 ($F_1 \times P_2$), para todos os três tratamentos.

Tabela 2. Genitores utilizados para a obtenção das populações F₁, F₂, RC₁, RC₂.

P ₁ – Cultivar Crimson Sweet	P ₂ - acesso BGH 29
Suscetível à rizoctoniose	Moderadamente resistente à rizoctoniose
Fruto arredondado	Fruto elipsoide
Casca Clara com estrias verdes-escuras	Casca Clara com estrias verdes-escuras
Polpa Vermelho intenso	Polpa rosa
Sabor muito doce	Pouco doce
Poucas sementes	Excessivo número de semente

A semeadura das gerações foi realizada em bandejas de poliestireno de 200 células contendo substrato comercial Topstrato®. A quantidade de plântulas emergidas está representada na Tabela 3. Após o semeio e contagem das plântulas foi realizada a inoculação com o isolado CMM1053 de *Rhizoctonia solani* com a adição de dois grãos de arroz próximo ao hipocótilo e posterior cobertura do inóculo com o substrato.

Tabela 3. Quantidade de plântulas germinadas e utilizadas no experimento.

Gerações	Número de Plântulas		
	Prg1	Prg2	Prg3
P1	15	15	15
P2	15	15	15
F1	50	50	50
F2	160	125	102
RC1	66	74	85
RC2	84	64	64

Após sete dias da inoculação foi realizada avaliação das populações segregantes quanto à reação ao fungo *Rhizoctonia solani*, sendo utilizada a escala de notas proposta por Krause et al., (2001).

Depois de realizada a avaliação, as plantas que obtiveram notas diferentes de zero foram conduzidas para o Laboratório para confirmação da presença do fungo nas lesões, pelo método do isolamento indireto.

5.3.4 Experimento III – Herança da resistência utilizando o método proposto por Melo e Santos (1999)

Foi utilizado o método do dialelo proposto por Melo e Santos (1999), o qual permite obter informações a respeito da resistência vertical e horizontal dos hospedeiros, e também sobre a agressividade dos isolados do patógeno. Para este experimento foram

utilizados seis isolados de *Rhizoctonia solani* (tabela 1) e oito acessos de melancia pertencentes ao Banco de Germoplasma de Hortaliças – BGH (tabela 4). O experimento foi disposto em fatorial 8x6 (8 genótipos x 6 isolados) com 7 repetições por tratamento.

Tabela 4. Acessos utilizados para a realização do dialelo parcial

Acesso	Espécie	Acesso	Espécie
BGH 76	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i>	BGH 210	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>
BGH 128	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i>	BGH 321	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>
BGH 174	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	BGH 395	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>
BGH 185	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i>	BGH 398	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>

A inoculação dos isolados ocorreu em fase de plântula, 15 dias após a semeadura. A avaliação dos tratamentos ocorreu sete dias após a inoculação com a atribuição de notas proposta por Krause et al., (2001).

5.3.5 Análises estatísticas

Experimento II

Os dados da severidade de sintomas apresentados pelas plantas foram utilizados para obtenção das variâncias das populações P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2 . Com essas variâncias, foram obtidas as variâncias genéticas (σ^2_G), ambiental (σ^2_E), fenotípica ($\sigma^2_{F_2}$), aditiva (σ^2_A) e de dominância (σ^2_D), bem como as herdabilidades no sentido amplo (h^2_a) e restrito (h^2_r).

Os efeitos aditivos [a] e não aditivos [d] do(s) gene(s) que controla(m) a característica foram estimados a partir das médias das gerações, pelo método dos quadrados mínimos ponderados (Mather & Jinks, 1977). As estimativas foram obtidas com o auxílio do programa GENES (Cruz, 2008)

Experimento III

Foi realizada a análise de variância das notas atribuídas para reação ao patógeno em esquema fatorial 8x6 (8 genótipos x 6 isolados). Para a análise do dialelo parcial foram utilizadas as médias, os graus de liberdade e os quadrados médios dos erros fornecidos pela Anova. Pela análise em dialelo parcial foram obtidas as estimativas da capacidade geral de resistência (CGR), da capacidade geral de agressividade (CGA) e da capacidade específica de interação (CEI), por meio do modelo IV de Griffing. A análise dialélica seguiu o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + r_i + a_j + s_{ij} + e_{ij}$$

Sendo Y_{ij} a severidade da doença exibida pelo hospedeiro i quando inoculado com o isolado j , r_i efeito da capacidade geral de reação do hospedeiro i (Resistência Horizontal), a_j efeito da capacidade geral de agressividade do isolado j (Agressividade do Isolado), s_{ij} efeito da capacidade específica de reação do hospedeiro i inoculado com o isolado j (Resistência Vertical), e_{ij} erro experimental médio. Para a obtenção desses parâmetros foi utilizado o programa GENES (Cruz, 2008).

5.4 RESULTADOS

5.4.1 Experimento I - Inoculação de acessos de banco de Germoplasma de Hortaliças

Para o experimento de inoculação em acessos pertencentes ao banco de germoplasma de hortaliças da UNIVASF, apenas os acesso BGH 29 e o BGH 76 apresentaram moderada resistência à reação causada pelo isolado CMM 1053, representando 2,7% do total de acessos e mostrando a agressividade do isolado.

Tabela 5. Reação de genótipos de melancia ao isolados de *Rhizoctonia solani* CMM 1053

Acesso	Espécie	Nota média \pm Desvio Padrão	Reação
BGH 23	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,20 \pm 0,92	S ¹
BGH 26	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,20 \pm 1,03	S
BGH 27	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i>	3,10 \pm 0,88	S
BGH 28	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,00 \pm 1,00	S
BGH 29	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	2,78 \pm 0,67	MR
BGH 30	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,44 \pm 0,53	S
BGH 38	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,56 \pm 0,88	S
BGH 40	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,33 \pm 0,71	S
BGH 50	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,56 \pm 0,88	S
BGH 65	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,70 \pm 0,48	S
BGH 66	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,30 \pm 0,67	S
BGH 67	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,40 \pm 0,52	S
BGH 68	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,20 \pm 0,79	S
BGH 69	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,20 \pm 0,63	S
BGH 70	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,56 \pm 0,53	S
BGH 76	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i>	2,20 \pm 0,92	MR
BGH 92	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,50 \pm 0,71	S
BGH 105	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,89 \pm 0,33	S
BGH 107	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,78 \pm 0,67	S
BGH 108	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,50 \pm 0,53	S
BGH 109	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,80 \pm 0,42	S
BGH 116	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,44 \pm 1,01	S
BGH 117	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,40 \pm 0,52	S

BGH 118	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,20 ± 0,84	S
BGH 121	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,22 ± 1,30	S
BGH 128	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i>	3,90 ± 0,32	S
BGH 147	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,78 ± 0,44	S
BGH 169	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,33 ± 0,71	S
BGH 174	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,90 ± 0,32	S
BGH 177	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 ± 0,00	AS
BGH 180	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,57 ± 1,13	S
BGH 185	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i>	3,60 ± 0,55	S
BGH 190	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,50 ± 0,97	S
BGH 210	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,60 ± 0,52	S
BGH 218	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 ± 0,00	AS
BGH 232	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,30 ± 1,06	S
BGH 239	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,38 ± 0,74	S
BGH 319	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,60 ± 0,55	S
BGH 320	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,44 ± 1,01	S
BGH 321	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,33 ± 0,58	S
BGH 325	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,33 ± 0,71	S
BGH 355	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,20 ± 0,63	S
BGH 356	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 ± 0,00	AS
BGH 357	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,60 ± 0,70	S
BGH 359	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,20 ± 0,63	S
BGH 368	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,56 ± 0,73	S
BGH 389	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,22 ± 0,67	S
BGH 390	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,40 ± 0,52	S
BGH 391	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,00 ± 0,47	S
BGH 392	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,57 ± 0,79	S
BGH 393	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,40 ± 0,70	S
BGH 394	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,33 ± 0,71	S
BGH 395	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,60 ± 0,52	S
BGH 396	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,50 ± 0,71	S
BGH 397	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,67 ± 0,71	S
BGH 398	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,67 ± 0,50	S
BGH 399	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,90 ± 0,32	S
BGH 400	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 ± 0,00	AS
BGH 401	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,37 ± 0,74	S
BGH 402	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,80 ± 0,42	S
BGH 403	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 ± 0,00	S
BGH 404	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,37 ± 0,52	S
BGH 405	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,70 ± 0,48	S
BGH 406	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,56 ± 0,73	S
BGH 407	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,89 ± 0,33	S
BGH 408	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,70 ± 0,48	S
BGH 409	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,86 ± 0,38	S
BGH 411	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 ± 0,00	AS
BGH 412	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,80 ± 0,42	S
BGCIA 843	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,90 ± 0,32	S
BGCIA 952	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,00 ± 0,93	S
C. Sweet	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 ± 0,00	AS

1/ Classes de reações à rizoctoniose, sendo: 0 – Semelhante a uma planta Imune (I); 0,1 – 1,0 - Altamente Resistente (AR); 1,1 – 1,9- Resistente (R); 2,0 - 2,9- Moderadamente Resistente (MR); 3,0 - 3,9 (S); 4,0 - 5,0- Altamente Suscetível (AS).

5.4.2 Experimento II - Herança da resistência utilizando o método de Sweel Wright (1968)

As repetições Prog 2 e Prog 3 não foram utilizadas devido as médias dos pais não ter sido contrastantes e consequentemente gerou variâncias genéticas negativas (dados não mostrados). No entanto, foi possível realizar a análise dos dados do cruzamento Crimson Sweet X BGH 29 (Prog1) o que permitiu estimar os parâmetros genéticos. Analisando as populações segregantes deste cruzamento, os pais têm médias contrastantes e baixa variância para o genitor resistente BGH 29 (P2) ($\sigma^2_{\neq} = 0,28$), sendo superior para genitor suscetível Crimson Sweet (P1) ($\sigma^2_{\neq} = 0,54$). As variâncias estimadas para cada população mostra que a maior variância encontrada foi na população F2 ($\sigma^2_{\neq} = 1,32$), sendo influenciada principalmente pela variância ambiental (Tabela 6). Pela Figura 1 também é possível ver que as frequências de notas entre os pais são bastante contrastante assim como também nos retrocruzamento 1 e 2. Não houve plantas na categoria 5 de doenças, pois as plantas foram inoculadas em fase de plântulas não permitindo a obtenção da classe 5.

Tabela 6. Avaliação da resistência à rizoctoniose em melancia nos cruzamentos entre o acesso BGH 29 e a cultivar Crimson Sweet

Gerações	Nº de plântulas	Média	Variância
P1	15	3,60	0,54
P2	15	1,00	0,28
F1	50	1,70	1,11
F2	160	2,82	1,32
RC1	66	3,35	1,24
RC2	84	1,76	1,17

Apenas a estimativa dos parâmetros de efeito aditivo no controle da rizoctoniose foi significativo, indicando que cada alelo contribui com um pequeno efeito na resistência. O Grau médio de dominância foi de – 0,46, sendo um indicativo de dominância no sentido de aumentar a resistência à rizoctoniose. O número de genes estimados foi de 9,05 indicando herança poligênica.

Tabela 7. Estimativa dos componentes de médias, grau médio de dominância (GMD) e número de genes (η) no controle da resistência à rizoctoniose em melancia a partir do cruzamento entre Crimson Sweet e BGH 29.

M	2,37
[a]	1,30**
[d]	-0,35 ^{ns}
GMD	-0,46
η	9,05

M: Média geral; [a] efeitos aditivos; [d] efeitos de dominância

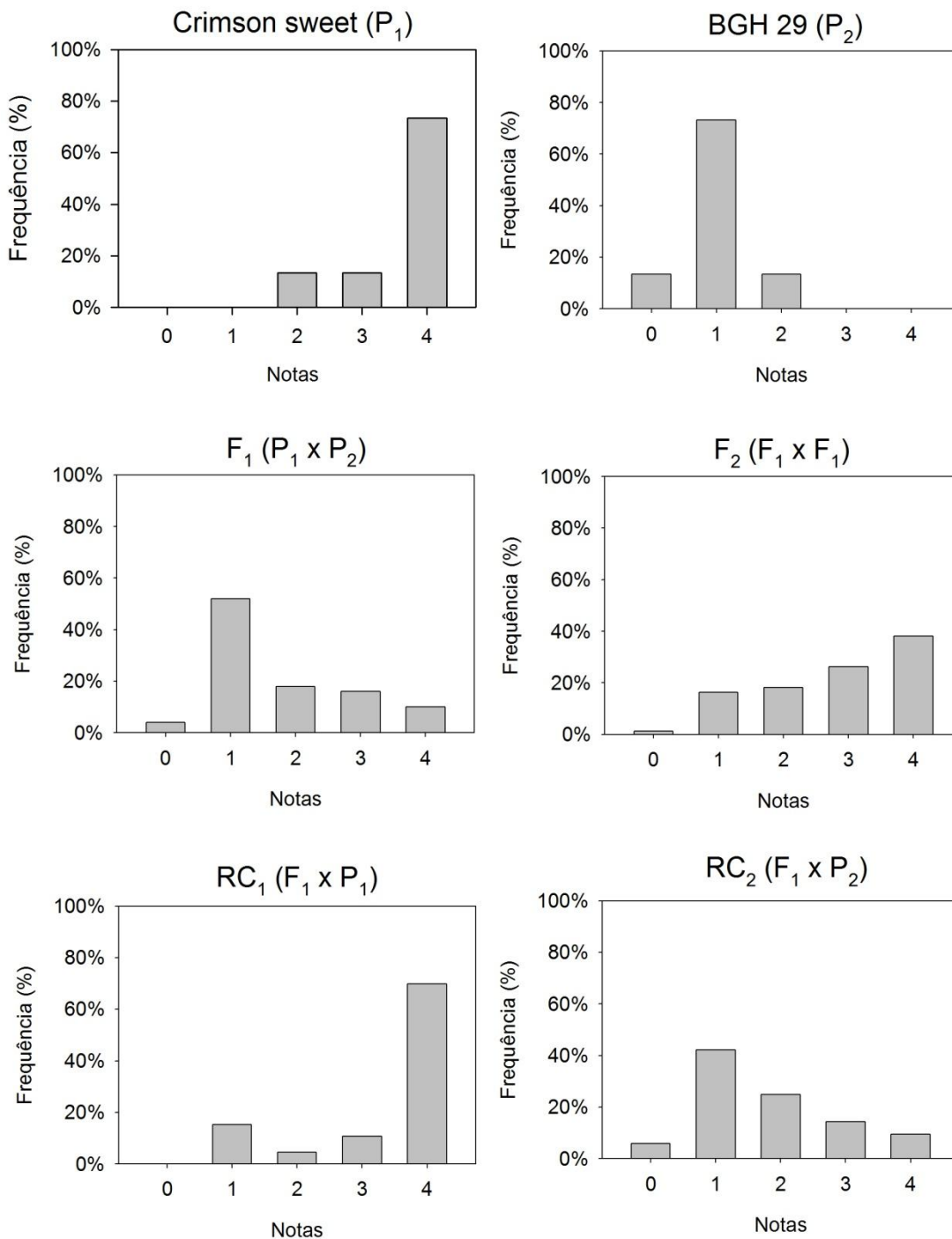


Figura 1. Distribuição das frequências em relação as notas atribuídas à reação a *Rhizoctonia solani* nas gerações segregantes entre os cruzamentos dos genitores P1 e P2.

A partir das estimativas dos componentes de variância fenotípica, observou-se que a variância ambiental foi a de maior magnitude, diminuindo o valor da herdabilidade, cujas estimativas foram menores do que 50% (tabela 8). Indicando que resistência é bastante influenciada pelo ambiente. A variância aditiva foi 34% inferior à variância de dominância.

Tabela 8. Estimativa dos parâmetros genéticos, fenotípicos e herdabilidade da reação de plantas de melancia à *Rhizoctonia solani* do cruzamento entre Crimson Sweet e BGH 29

Cruzamentos	Componentes de variância					Herdabilidades (%)	
	σ^2_G	σ^2_E	σ^2_F	σ^2_A	σ^2_D	h^2_a	h^2_r
P1 x P2	0,556	0,763	1,319	0,221	0,335	42,14	16,74

5.4.3 Experimento III - Herança da resistência utilizando o método proposto por Melo e Santos (1999)

Baseado nos resultados obtido na análise dialélica (Tabela 9), observou-se que todas as fontes de variação foram estatisticamente significativas. Verifica-se que houve predomínio da capacidade geral de reação (CGR), correspondendo a 46,1% da soma de quadrados total da variação observada nas combinações, enquanto que a capacidade específica de interação correspondeu apenas a 20,39% da variação observada nas combinações, o que indica presença de resistência horizontal à doença. Verificamos que a capacidade geral de agressividade (CGA) também foi de alta magnitude correspondendo a 33,51% da variação.

Tabela 9. Resumo da análise de variância do dialelo parcial para a avaliação da rizoctoniose em acessos melancia, inoculados com diferentes isolados de *Rhizoctonia solani*

FV	GL	QM	SQ(%)
Cruzamentos	47	6,9741**	100
C.G.R (RH)	7	21,5710**	46,10
C.G.A (AI)	5	21,9672**	33,51
C.E.I (RV)	35	1,9128**	20,39
Erro	288	0,4890	
Média	2,6994		

Como pode ser observado na tabela 10, os acessos BGH 128, BGH 185, BGH 210 e BGH 398 apresentaram-se como as mais resistentes quando inoculados com outros isolados de *R. solani*, enquanto que os acessos BGH 76, BGH 174, BGH 321 e BGH 395

foram os mais suscetíveis, ou seja, apresentaram os maiores valores de estimativa para a capacidade geral de reação (C.G.R).

Tabela 10. Estimativas da capacidade geral de reação (gi), para a reação dos acessos inoculados com os diferentes isolados de *Rhizoctonia solani*

Acesso	Estimativa(gi)	Acesso	Estimativa(gi)
BGH 76	0,25	BGH 210	-0,51
BGH 128	-1,17	BGH 321	1,16
BGH 174	0,09	BGH 395	0,63
BGH 185	-0,08	BGH 398	-0,36

As estimativas na capacidade geral de agressividade (gj) (Tabela 11) mostram a diferença entre os isolados de *R. solani*. O isolado mais agressivo foram o CMM 1053 e CMM 2983, devido as estimativas serem positivas, enquanto que os outros foram considerados menos agressivos por obterem estimativas negativas.

Tabela 11. Estimativas da capacidade geral de agressividade (gj), para os isolados de *Rhizoctonia solani* inoculados em diferentes acessos do Banco de Germoplasma de Hortaliças

Isolado	Estimativa(gj)	Isolado	Estimativa(gj)
CMM 1053	1,08	CMM 2983	0,39
CMM 2967	-0,54	CMM 2971	-0,48
CMM 1052	-0,25	CMM 3890	-0,19

5.5 DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo relatando fontes de resistência e determinação da herança genética à rizoctoniose em melancia. Os resultados do primeiro experimento mostra que houve poucos acessos resistentes à rizoctoniose, essa baixa frequência de genótipos resistentes também observado por Sales Júnior et al., (2015) trabalhando com isolados de *Rhizoctonia solani* inoculados em meloeiro encontrou poucas fontes de resistência à rizoctoniose. Além disto a variação observada em nossos estudos por meio do desvio padrão dos acessos mostra o quão variável é a reação dentro do acesso.

Em estudo de herança, é fundamental que a avaliação da reação dos acessos seja realizada com um isolado agressivo e eficiente, afim de que evitar o escape, que é caracterizar um acesso suscetível como resistente. Como também os pais que darão origem à população segregante sejam os mais homogêneos e contrastantes possíveis (Alves et al., 2014). Desta forma, o experimento II se mostrou eficiente em ter pais homogêneos e contrastantes, o que permitiu determinar que a herança é poligênica controlada por pelos menos 9 genes com efeito aditivo e baixa herdabilidade. O efeito aditivo diz que cada alelo contribui com um pequeno efeito sobre o fenótipo, ou seja, cada alelo contribui um pouco para a resistência à doença, caracterizando uma resistência horizontal (Van der Plank 1968; Ramalho et al., 2012). Assim como verificado por Azevedo et al., (2012), que ao estudar a herança genética de melancia à reação causada pelo *Papaya Ringspot Virus (PRSV)* apresentou efeito aditivo significativo.

A herdabilidade no sentido restrito considera apenas a variância genética aditiva, ou seja, aquela que é fixada pela seleção, sendo esta a mais importante para o melhorista (Ramalho et al., 2012). Assim, a magnitude da herdabilidade foi baixa, como visto por Alves et al., (2014) trabalhando com herança genética à reação do vírus *PRSV* em melancia. Desta forma o melhorista deve buscar a seleção recorrente como método para aumentar gradativamente a frequência dos alelos desejáveis para a característica quantitativa, por meio de repetidos ciclos de seleção, o que favorece o aumento da herdabilidade no sentido restrito (Borém & Miranda, 2009).

Os resultados da análise dialélica corroboram com os resultados do segundo experimento. De acordo com Melo & Santos (1999), quanto maior a capacidade geral de reação dos acessos, indica que há um predomínio de resistência horizontal. Assim como visto por Pereira et al., (2015) ao avaliar cultivares comerciais, diferenciadoras e linhagens de feijão a quatro isolados do fungo *Pseudocercospora griseola*, que encontrou 72,9% do total da soma de quadrados era devido à capacidade geral de reação, mostrando que a

resistência é horizontal à mancha-angular. Diante disto comprovamos a eficiência do uso deste método para a determinação da herança da resistência também nesse patossistema, do que pelo método utilizando as populações segregantes.

Além disto, este método forneceu informações sobre a resistência dos acessos, sendo que os acessos BGH 128, BGH 185, BGH 210 e BGH 398 apresentaram-se como os mais resistentes, enquanto que os acessos BGH 76, BGH 174, BGH 321 e BGH 395 foram os mais suscetíveis. Bem como forneceu informações sobre a agressividade dos isolados indicando os isolados CMM 1053 e CMM 2983 como os mais agressivos. Ressalta-se que os acessos BGH 76, classificado como moderadamente resistente no experimento I, apresentou-se como suscetível no experimento de análise dialélica, assim como também os acessos BGH 128, BGH 210 e BGH 398 que foram suscetíveis no primeiro experimento, apresentaram-se como resistente no terceiro experimento, isto pode ser explicado pela magnitude da C. E. I. que foi de 33,51% mostrando a interação entre acesso x isolado.

5.6 CONCLUSÕES

Foram encontradas duas fontes com moderada resistência ao fungo *Rhizoctonia solani* no primeiro experimento, os acessos BGH 29 e BGH76. A resistência à rizoctoniose é poligênica e controlada por 9 genes, com efeito aditivo e baixa herdabilidade. O dialelo parcial mostrou-se adequado para determinação do tipo de resistência à rizoctoniose bem como mostrou que o isolado utilizado para estudo de herança, CMM1053, foi o mais agressivo, portanto dificultando a identificação de fontes de resistência.

5.7 REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários 2015. Disponível em <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons/>. Acessado em: 05 de abril de 2017.
- Alves, A. F., Nascimento, I. R., Ticona-Benavente, C. A., Faria, M. V., Sarmento, R. A., Figueira, A. R., Maluf, W. R. (2014). Herança da resistência do acesso de melancia PI 595201 a isolado de PRSV-W do Estado do Tocantins. *Bragantia*, 73, 138-142.
- Azevedo, S. M. D., Maluf, W. R., Faria, M. V., Resende, J. T. V. D., Menezes, C. B. D., & Nascimento, I. R. D. (2012). Inheritance of resistance to the Papaya ringspot virus-watermelon strain (PRSV-W) from watermelon accession 'PI 595201'. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 12(1), 67-75.
- Borém, A.; Miranda, G. V. 2009. Melhoramento de Plantas. Editora UFV, Viçosa, Brasil, 529p.
- Cruz, C.D. 2008. *Programa Genes: Diversidade Genética*. Editora UFV. Viçosa. 278p.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. <http://www.fao.org/><acessado em 20 abril de 2017>
- Ferreira, A. A., Nascimento, I. R., Ticona-Benavente, C. A., Faria, M. V., Sarmento, R. A., Figueira, A. R., Maluf, W. R. 2014. Herança da resistência do acesso de melancia PI 595201 a isolado de PRSV-W do Estado do Tocantins. *Bragantia*, 73: 138-142.
- IBGE. Produção agrícola municipal, Rio de Janeiro, v. 41, p.1-95, 2014 <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2014/PAM2014_Publicacao_completa.pdf> acessado 02 de maio de 2017.
- Krause, M. S., Madden, L. V., Hoitink, H. A. J. 2001. Effect of potting mix microbial carrying capacity on biological control of *Rhizoctonia* damping-off of radish and rhizoctonia crown and root rot of poinsettia. *Phytopathology* 91: 1116-1123.
- Mather, K., Jinks, J. L. 1977. *Introduction to biometrical genetics*. Ithaca: Cornell University Press, 1977. 213p.
- Melo, L. C., Santos, J. B. D. 1999. Identification of resistant genotypes considering polygenic systems in host-pathogen interaction. *Genetics and Molecular Biology* 22: 601-608.
- Michereff, S. J., Andrade, D. E., Sales Júnior, R. 2008. Reaction of melon genotypes to *Rhizoctonia solani*. *Horticultura Brasileira* 26: 401-403.
- Pereira, R., Souza, E. A., Barcelos, Q. L., Abreu, A. F. B., Librelon, S. S. 2015. Aggressiveness of *Pseudocercospora griseola* strains in common bean genotypes and implications for genetic improvement. *Genetic and Molecular Research* 14: 5044-5053.
- Ramalho, M. A. P., Santos, J. B., Pinto, C. A. B. P., Souza, E. A.; Gonçalves, F. M. A., Souza, J. C. 2012. *Genética na agropecuária*. Editora UFLA. 566 p.

Salari, M., Panjehkeh, N., Nasirpoor, Z., Abkhoo, J. 2012. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. *African Journal of Biotechnology* 11: 15324-15329.

Sales Júnior, R., Nunes, G. H. S., Silva, K. J. P., Costa G. G., Guimarães, I. M., Michereff S. J. 2015. Caracterização morfológica de fontes de resistência de meloeiro a *Rhizoctonia solani*. *Horticultura Brasileira* 33: 196-202.

Van Der Plank, J. E. 1968. *Disease resistance in plants*. Academic Press, New York, USA. 206 p.

Van Der Plank, J. E. 1982. *Host pathogen interaction in plant disease*. Academic Press, New York, USA, 207 p.

6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo possibilitou diferenciar isolados de *Rhizoctonia solani* quanto à agressividade, crescimento e coloração da colônia. Também foi possível identificar que os isolados realizavam anastomose e então determinar que eles pertencem ao mesmo grupo de anastomose. Destaca-se o isolado CMM 1053 como o mais agressivo, e então utilizado para a identificação de 2 fontes com moderada resistência, os acessos BGH 29 e BGH 76, sendo este estudo o pioneiro em identificação de fontes de resistência à rizoctoniose. Para um rápido crescimento dos isolados, o meio indicado é o BSA.

Também fomos pioneiro na identificação do tipo de resistência à rizoctoniose, utilizando dois métodos propostos pela literatura um por meio de um dialelo parcial e outro por meio da obtenção de populações segregantes. O método utilizando dialelo parcial se mostrou adequado e indicou que a herança à doença é horizontal. O método utilizando populações segregantes confirmou o método do dialelo e mostrou que a herança é controlada por 9 genes com efeito aditivo e baixa herdabilidade.