



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

ANTONIO ELTON DA SILVA COSTA

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO, AVALIAÇÃO DE
RESISTÊNCIA À FUSARIOSE E CARACTERIZAÇÃO
MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE MELANCIA**

PETROLINA - PE

2017

Antonio Elton da Silva Costa

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO, AVALIAÇÃO DE
RESISTÊNCIA À FUSARIOSE E CARACTERIZAÇÃO
MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE MELANCIA**

Trabalho apresentado a Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Ciências Agrárias, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal.

Orientadora: Prof. Dra. Francine Hiromi Ishikawa
Coorientador: Prof. Dr. Jerônimo Constantino Borel

Petrolina - PE

2017

C837m Costa, Antonio Elton da Silva.
Métodos de inoculação, avaliação de resistência à fusariose e caracterização morfoagronômica de genótipos de melancia/ Antonio Elton da Silva Costa. Petrolina-PE, 2017.
90f. : il. ; 29cm.

Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Pernambuco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2017.

Orientador: Profa. Dra. Francine Hiromi Ishikawa.
Coorientador: Prof. Dr. Jerônimo Constantino Borel.

1. Fusariose - resistência. 2. Melancia. 3. Clamidósporos. 4. Métodos de inoculação. 5. *Fusarium oxysporum* I. Universidade Federal do Vale do São Francisco. II. Título.

CDD 632.96

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

FOLHA DE APROVAÇÃO

Antonio Elton da Silva Costa

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO, AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA À
FUSARIOSE E CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS
DE MELANCIA**

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

Aprovada em: 31 de Março de 2017.

Banca Examinadora

Francine Hiromi Ishikawa
(Francine Hiromi Ishikawa, D.Sc., Univasf/CCA).

Manoel Abilio de Queiróz
(Manoel Abilio de Queiróz, Ph.D. UNEB/DTCS).

Rafaela Priscila Antônio
(Rafaela Priscila Antônio, D,Sc, Embrapa Semárido).

*A Deus que com sua infinita graça e misericórdia tem me dado grandiosas vitórias.
A minha família e a todos os amigos, que sempre me apoiaram.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Certa vez li que agradecimentos são difíceis de escrever, e que seriam mais fáceis se pudéssemos a vida numa análise de regressão e por meio de um teste F descobrirmos a significância das pessoas em nossa trajetória vida.

Primeiramente, agradeço a Deus por toda a graça alcançada, por me guiar, me iluminar, pela saúde e pelo susto que passei para que eu meditasse mais sobre o valor da vida. Agradeço a Ele por todas as bênçãos alcançadas, por cada dia que tem me dado com Braço Forte com que tem me sustentado. Tal qual Samuel após os israelitas vencerem os filisteus, e junto com eles levantarem uma pedra e nela puseram o nome de Ebenézer (pedra de ajuda), quero dizer que até aqui me ajudou o Senhor.

A Universidade Federal do Vale do São Francisco e Programa de Pós Graduação em Agronomia – Produção Vegetal pela oportunidade de realização do mestrado.

A Capes que por meio da PRPPGI concedeu a bolsa de estudo e o CNPq pela disponibilização de recursos, para desenvolver o projeto.

A Professora Francine Hiromi por me apresentar o mundo científico, pela amizade, por ao longo de todos esses anos me orientar em todos os momentos, passando-me ensinamentos, confiança e incentivando-me desde que me adotou cientificamente lá na graduação.

Ao Professor Jerônimo Borel pela coorientação, pela amizade e estímulo e por me auxiliar grandemente nos experimentos, tanto na parte teórica quanto na prática.

Ao Professor Alexandre Capucho pela amizade, por todo apoio e incentivo, pelos ensinamentos passados, por sempre prontamente ajudar nos experimentos, por nos instigar sempre a desenvolver um espírito crítico, isso guardarei por toda vida profissional.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Agronomia – Produção Vegetal por todo ensinamento transmitido, por proporcionarem a realização da pós-graduação na região com a seriedade e compromisso, atributos essenciais à pesquisa.

Ao Prof. Izaías Lima pela amizade, por toda ajuda e conselhos durante o mestrado.

A Mariana Neto pela amizade, disponibilidade para ajudar e sugestões dadas.

Ao grupo FitoMelhor meu muitíssimo obrigado por todo o auxílio, amizade e disponibilidade durante todos esses dias. Em especial quero agradecer a Fabio Sanchez e Kécia Mayara pela prontidão e disponibilidade em sempre estar ajudando. Nos momentos nos quais eu tive que estar ausente, vocês como sempre dispostos a ajudar-me. A Alan Honorato pela amizade, apoio e por durante o período que estive na equipe auxiliar sempre nos experimentos.

A Patrícia Cabral por todas as sugestões dadas, as quais tanto me ajudaram na realização das atividades de laboratório e nas rotinas de estudo.

Aos colegas nas que ajudaram nas disciplinas, em especial Sheila Daniela, Sabrina Gomes e Helena Brandão.

Agradeço a minha família pelo carinho, força e suporte.

A Embrapa Semiárido e a Dra. Rita de Cássia por cederem os acessos.

Aos membros da banca examinadora Prof. Ph.D. Manoel Abílio e D.Sc. Rafaela Antonio pela disponibilidade e contribuições ao trabalho.

As pessoas que contribuíram nas atividades de campo, em especial a equipe de campo da Univasf-CCA, aos estudantes Ariel Marques Teogene de Souza, Francinete Alves, Bruna Parente e a equipe do Prof. Jerônimo Borel.

A meus amigos e todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho, meu muitíssimo obrigado e minha eterna gratidão.

RESUMO

Durante o ciclo de desenvolvimento da melancia diferentes fatores são limitantes da produção e, ocorrência de doenças é um dos principais. A fusariose causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, é uma doença com importância em nível mundial. Fato que nota-se devido ao vasto número de publicações envolvendo a busca por cultivares resistentes à essa doença. No Brasil, apesar de ser observada nos campos de produção são escassos os trabalhos avaliando a resistência a essa doença. Uma das possíveis explicações é a dificuldade de inoculação do patógeno. Nesse trabalho objetivou-se testar diferentes metodologias de inoculação, a reação de acessos de melancia à fusariose usando o melhor método encontrado e a caracterização morfoagronômica de acessos com resistência à fusariose. Primeiramente, sete métodos, incluindo o método padrão “*dipping*”, foram testados na cultivar suscetível Sugar Baby. Como os métodos testados foram ineficientes, buscou-se avaliar a inoculação usando clamidósporos. Esses foram produzidos em vermiculita enriquecida com meio líquido Batata-Sacarose (BS). Acrescentaram-se três discos de micélio a Erlenmeyers contendo 200 mL de meio BS que foram mantidos quatro dias sob agitação a 130 rpm. Adicionaram-se 10 mL da suspensão de conídios produzida em sacos com 2L de vermiculita para infestação. Após incubação e secagem ocorreu a inoculação semeando-se 26 acessos em DIC com cinco repetições. Avaliou-se 21 dias após a inoculação. Sete acessos foram resistentes e oito dos acessos suscetíveis tiveram nota média máxima. Na segunda etapa foram avaliados 55 acessos coletados na agricultura tradicional, mais a cultivar Sugar Baby como testemunha com e sem inoculação. Obteve-se 42 acessos resistentes, dos quais selecionaram-se 12 acessos com nota média ≤ 1 , para caracterização morfoagronômica. O experimento de caracterização morfoagronômica foi conduzindo em duas safras em DBC com 3 repetições e cinco plantas por parcela. Na caracterização foram utilizadas 20 variáveis quantitativas e 28 qualitativas. A partir desses dados obteve-se as matrizes de dissimilaridade usando as distâncias euclidiana média padronizada e ponderada, para as variáveis quantitativas e qualitativas, respectivamente. Para integração dos dados quantitativos e qualitativos realizou-se a soma das matrizes obtidas. Com base nessa matriz foi realizado o agrupamento dos acessos usando-se os métodos de Tocher e do vizinho mais distante. Os agrupamentos obtidos foram semelhantes, com igual número de grupos formados. No entanto, diferiram quanto a alocação da cultivar Charleston Gray. Baseando-se nessas análises e nas observações de campo, os acessos BGH 40, BGH 169, BGH 177 e BGH 210 apresentaram variabilidade para °Brix, produtividade e precocidade, sendo os mais promissores para uso em futuras hibridações.

Palavras-chave: *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; Clamidósporos; *Citrullus lanatus*; Murcha-de-Fusário

ABSTRACT

During the development cycle of watermelon different factors are limiting the production and the diseases occurrence is one main factors. The Fusarium wilt caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, is a disease of worldwide importance. This fact is noticeable due to the vast publications number involving the search for cultivars resistant to this disease. In Brazil, despite being observed in the production fields, there are few studies evaluating the resistance to this disease. One of the possible explanations is the difficulty in inoculating the pathogen. The aimed of this study was to test different inoculation methodologies, the watermelon accessions reaction to Fusarium wilt using the best method found and the morphoagronomic characterization of Fusarium wilt resistance accessions. First, seven methods, including the standard dipping method, were tested on susceptible cultivar Sugar Baby. As the methods tested were ineffective, we sought to evaluate the inoculation using chlamydospores. These were produced in vermiculite enriched with potato-sucrose liquid medium (PS). Three mycelial discs were added to Erlenmeyers containing 200 ml of BS medium which were kept four days under shaking at 130 rpm. Additional 10 ml of the conidia suspension produced in bags with 2 L of vermiculite for infestation was added. After incubation and drying, the inoculation was carried out by seeding 26 accessions in completely randomized design with five replicates. It was evaluated 21 days after inoculation. Seven accessions were resistant and eight of the susceptible accesses had a maximum average score. In the second stage, 55 accessions were collected in traditional agriculture, plus Sugar Baby as a control with and non-inoculated. It was obtained 42 resistant accessions, of which 12 were selected, accessions with a mean score ≤ 1 , for morphoagronomic characterization. The morphoagronomic characterization experiment was conducted in two production cycles in randomized block design with three replicates and five plants per plot. In the characterization, 20 quantitative variables and 28 qualitative variables were used. From these data was obtained the dissimilarity matrices using the standardized and weighted mean Euclidean distances for the quantitative and qualitative variables, respectively. For the quantitative and qualitative data integration, the matrices sum obtained. Based on this matrix, the accessions clustering was performed using Tocher's methods and the most distant neighbor. The groupings obtained were similar, with the same number of groups formed. However, they differed regarding the allocation of Charleston Gray cultivar. Based on these analyzes and field observations, accesses BGH 40, BGH 169, BGH 177 and BGH 210 showed variability for ° Brix, productivity and precocity, being the most promising for use in future hybridizations.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; Chlamydospores; *Citrullus lanatus*; Fusarium wilt

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 A cultura da melancia, importância socioeconômica e a ocorrência de doenças	14
2.2 <i>Fusarium oxysporum</i>	15
2.3 Fusariose em melancia e uso de cultivares resistentes	17
2.4 Metodologias de inoculação	18
2.5 Recursos Genéticos Vegetais	19
2.6 Análises de diversidade genética	21
2.6.1 Medidas de dissimilaridade	21
2.6.2 Técnicas de Agrupamento.....	26
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
4 CAPÍTULO 1 - RESISTÊNCIA À FUSARIOSE EM ACESSOS DE MELANCIA INOCULADOS USANDO CLAMIDÓSPOROS¹	36
4.1 Introdução	38
4.2 Material e Métodos	39
4.2.1. Metodologias para inoculação de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	39
4.2.2. Inoculação por meio de clamidósporos e por esporos com método “dipping” modificado	41
4.2.3. Inoculação de acessos de melancia para avaliação de resistência a fusariose	43
4.2.4. Análise dos dados	43
4.3 Resultados	44
4.3.1 Métodos de inoculação de melancia com <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	44
4.3.2 Inoculação com clamidósporos e com esporos pelo método “dipping” modificado	45
4.3.3. Reação dos acessos de melancia inoculados utilizando clamidósporos de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> quanto a resistência à fusariose	48
4.4 Discussão	49
4.4.1 O uso de clamidósporos na inoculação de melancia com <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	49
4.4.2 Reação dos acessos de melancia inoculados utilizando clamidósporos de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> quanto a resistência à fusariose	51
4.5 Conclusões.....	52
4.6 Referências	52
5 CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE ACESSOS DE MELANCIA COM RESISTÊNCIA À FUSARIOSE²	56
5.1 Introdução	58
5.2 Material e Métodos.....	59
5.2.1 Avaliação da reação dos acessos de melancia inoculados com isolado de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	59
5.2.2 A condução do experimento em campo	60
5.2.3 Caracterização morfológica dos acessos	62
5.2.4 Análises estatísticas	63

5.3 Resultados	63
5.3.1 Reação dos acessos inoculados	63
5.3.2 Caracterização morfoagronômica dos acessos resistentes	64
5.3.3 Variáveis Qualitativas	72
5.3.4 Análise da diversidade genética	73
5.4 Discussão	75
5.4.1 Reação dos acessos inoculados	75
5.4.2 A caracterização morfoagronômica	76
5.4.3 Diversidade Genética	78
5.5 Conclusões	79
5.6 Referências	80
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
7 APÊNDICES	84

1 INTRODUÇÃO

Cultivada e apreciada em diversas regiões do planeta a melancia é uma olerícola de destacada importância econômica. Todavia seu desenvolvimento é afetado pela ocorrência de doenças, um dos principais fatores limitantes à produção da cultura. Dentre os patógenos causadores de doenças na melancia, os patógenos habitantes do solo se destacam por ser um grupo composto por diferentes grupos de organismos fitopatogênicos. O fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (*Fon*), pertencente a esse grupo e é o agente causal de *damping-off*, doença que em campo reduz o estande de plantio, o que pode causar problemas no cultivo tanto no estabelecimento da cultura, como em etapas posteriores do ciclo de produção, vindo a reduzir a produtividade. O patógeno também é causador da murcha-de-Fusário ou fusariose, doença vascular causada nas plantas em qualquer estágio de desenvolvimento. A fusariose é ocasionada pela obstrução dos tecidos do xilema, quando o fungo penetra pelas raízes colonizando os vasos, levando então à murcha e, posteriormente, morte da planta (ZHANG et al., 2015).

Devido a indisponibilidade de produtos químicos registrados para a cultura usando o controle químico, método mais comum no manejo de doença, o controle é feito com base em medidas preventivas como uso de sementes sadias e, escolha de locais para plantio sem histórico de ocorrência do fitopatógeno. No entanto, o método mais eficaz de controle dessa doença é por meio do controle genético, com o uso de plantas resistentes.

O desenvolvimento de cultivares resistentes a doenças é realizado a partir de pesquisas compostas por diferentes etapas e entre essas está a fenotipagem na busca por fontes de resistência, o chamado “screening”. Nesses estudos, é importante usar métodos de inoculação eficientes e que gerem resultados confiáveis. A avaliação da resistência da melancieira à fusariose comumente tem sido feita através de avaliações em campo, com plantio em áreas infestadas pelo fungo. Uma das condições de ambiente que favorecem ao patógeno é a ocorrência de temperaturas mais amenas. Assim, a avaliação em regiões mais quentes fica limitada aos curtos períodos frios do ano. Os métodos de inoculação para *Fon* em melancieira usados em publicações de outras regiões do mundo não tem mostrado a mesma eficiência em estudos realizados no Brasil. É necessário buscar metodologias mais eficientes para avaliação de resistência a fusariose em genótipos

conservados em bancos de germoplasma, como tem ocorrido para outros patógenos em melancia ou em outros patossistemas.

O Vale do Submédio São Francisco apresenta atualmente duas coleções de genótipos de melancia, o Banco de Germoplasma de Melancia (BGCIA) incorporado ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Cucurbitáceas para o Nordeste Brasileiro, localizado na Embrapa Semiárido e o Banco de Germoplasma de Hortaliças da Univasf (BGH-Univasf), ambos situados em Petrolina-PE. Em estudos para desenvolvimento de cultivares resistentes, a existência de materiais para avaliação é uma base para as ações de pesquisa.

É importante para o melhorista conhecer além da reação dos genótipos, caracteres morfoagronômicos de interesse do produtor e do consumidor. Isso aumentará as chances da cultivar a ser desenvolvida ter sucesso comercialmente. Para conhecer o potencial dos genótipos a caracterização pode ser realizada por meio de descritores fenotípicos. A caracterização fenotípica permite o uso prático da variabilidade nos recursos genéticos vegetais conservados, possibilitando ações voltadas para o desenvolvimento sustentável no cultivo da melancia, que representa uma parcela significativa da atividade agrícola no semiárido.

A realização desse estudo permitirá avanço nas ações de pesquisa de caracterização dos Bancos Ativos de Germoplasma (BAG) de melancia, permitindo a identificação de fontes de resistência a fusariose nos acessos conservados nos BAGs da região. Com a caracterização morfológica dos genótipos espera-se além do conhecimento das reações quanto a resistência a fusariose o registro de aspectos agronômicos de interesse, contribuindo dessa forma, para a sustentabilidade no cultivo da melancia. O uso da resistência genética trará redução do custo de produção para os agricultores com diminuição da aplicação de defensivos e incremento na produção pela prevenção de danos a cultura melhorando o rendimento e, conseqüentemente, o retorno econômico ao produtor.

Dessa forma os objetivos desse estudo foram: testar metodologias de inoculação de *Fon* em melancia e com a metodologia mais eficiente de inoculação avaliar a reação de acessos de melancia do BAG Embrapa Semiárido e o Banco de Hortaliças da Univasf visando à identificação de fontes de resistência à fusariose. Além de realizar caracterização morfoagronômica de acessos entre os que apresentarem resistência à fusariose.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A CULTURA DA MELANCIA, IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA E A OCORRÊNCIA DE DOENÇAS

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] tem como centro de origem a África (MOHR, 1986) e, é uma olerícola cultivada e apreciada em diversas regiões do mundo. Com expressiva importância econômica, a melancia é cultivada comercialmente em vários países e, destaca-se como uma das espécies cultivadas na família *Cucurbitaceae*. Quarto maior produtor mundial (FAO, 2015) o Brasil apresenta ampla distribuição de produção em seus estados, o que faz da melancia uma das cinco olerícolas mais produzidas nacionalmente, com destaque para as regiões Nordeste e Sul (IBGE, 2015).

A produção na região Nordeste, por apresentar excelente adaptação as condições climáticas, permite o cultivo irrigado e de sequeiro (ANDRADE-JUNIOR et al., 2006). O Vale do Submédio São Francisco, pólo de produção que engloba municípios nos estados da Bahia e Pernambuco possui bom potencial para cultivo da melancia. Alguns desses produtores são agricultores familiares ou com pequenas propriedades o que faz da melancia um atrativo devido possuir ciclo curto e baixo custo de produção, proporcionando imediato retorno financeiro. No entanto, a ocorrência de várias doenças comuns no ciclo da melancieira, é um dos principais fatores que dificultam a produção do fruto.

Diversos agentes fitopatogênicos entre bactérias, vírus e fungos hospedam-se durante seus ciclos de desenvolvimento em diferentes partes da melancia e são causadores de diversos danos. As doenças causadas pelos organismos comumente conhecidos por fitopatógenos habitantes de solo merecem destaque por afetarem além da melancia várias outras espécies cultivadas (LAKSHMAN et al., 2008; PEREIRA et al., 2017).

Os fitopatógenos desse grupo são definidos como organismos que (1) têm a capacidade de completar maior parte de seu ciclo de vida no solo, (2) quando infectam a planta colonizam órgãos como as raízes ou caule da planta, (3) sem a presença do hospedeiro têm capacidade de sobreviver por longos períodos na ausência do mesmo, (4) possuem capacidade de sobreviver competindo saprofiticamente e (5) embora alguns elementos possam produzir esporos e

disseminá-los por meio aéreo ou aquático, uma característica intrínseca desse grupo se deve ao fato de seus estádios de disseminação e sobrevivência completarem-se no solo (MICHEREFF et al., 2005; LUCAS, 2006). Os fungos são maioria no grupo, infectam várias espécies cultivadas causando diferentes sintomas em distintas partes das plantas.

Os fungos habitantes de solo ou patógenos radiculares são microrganismos que em sua maioria possuem considerável capacidade de competição saprofítica. Essa característica é importante pois permite a formação e manutenção da densidade populacional que assegure a permanência do patógeno na área infestada mesmo em épocas nas quais o hospedeiro esteja ausente, como ocorre na rotação de culturas. Aliado a isso os fungos também conseguem manter-se viáveis e prolongar sua sobrevivência em condições adversas por meio da produção de estruturas de resistência tais como, agregados de micélio, esclerócios, clamidósporos ou outras variações de esporos (MICHEREFF et al., 2005).

A distribuição de propágulos desses fungos em áreas cultivadas praticamente depende das práticas agrícolas adotadas na produção. A dispersão pode ocorrer tanto de forma horizontal, estendendo-se para além das margens da área cultivada, seja para partes mais profundas ou mais rasas no perfil do solo (KOIKE et al., 2003). O crescimento de micélios é um aspecto que em certos casos favorece a dispersão dos fungos em distâncias curtas, a depender das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (LUCAS, 2006).

Os principais gêneros de fungos habitantes de solo são pertencentes as Classes taxonômicas Plasmodiophoromycetes, Zigomicetos, Oomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes e Sordariomycetes (MICHIELSE; REP, 2009; MAHARACHCHIKUMBURA ET AL., 2016). Na última Classe destaca-se o gênero *Fusarium*, ao qual pertencem várias espécies de fitopatógenos, e que nos últimos anos tem sido um dos fungos de importância agrícola mais estudados por grupos de pesquisa em diferentes países (GEISER et al., 2013).

2.2 *Fusarium oxysporum*

Espécies de fungo do gênero *Fusarium* são notificadas como causadoras de doenças em espécies cultivadas desde o final século XIX nos Estados Unidos (MARTYN et al., 2012). Inicialmente a descrição foi feita para murcha que ocorria em

algodão e, posteriormente, iniciou-se observações de ocorrências em outras espécies de distintas famílias botânicas, como nas Cucurbitáceas, como na melancia, o segundo caso descrito de murcha causada por uma espécie de *Fusarium*.

Até meados do século XIX existia uma classificação dos fungos do gênero dividida em seções, uma dessas era *Elegans* composta por 10 espécies, 18 variedades e 12 formas, classificação feita na monografia de Wollenweber (1931) que vigorou até a nova divisão feita por Snyder e Hansen (1940), que reduziu as 10 espécies para uma, *F. oxysporum* Schlechtend.: Fr. com 25 formae specialis (f. sp.). Em uma pesquisa realizada na comunidade internacional de patologistas fúngicos, *F. oxysporum* foi o quinto classificado em lista dos 10 mais importantes fitopatógenos fúngicos baseados na importância científica e econômica (DEAN et al., 2012). A importância desse fitopatógeno no cenário agrícola internacional também se revela no alto nível de especialidade. Atualmente, a classificação é feita por meio da divisão da espécie nas já citadas formae specialis e, em raças.

A divisão em formae speciales (plural formae specialis) baseia-se na capacidade de virulência de uma estirpe de *F. oxysporum* à um determinado hospedeiro ou grupo de hospedeiros. Na classificação atual são mais de 150 formae specialis para *F. oxysporum* (FOURIE et al., 2011), dentre estas oito ocorrem na Família Cucurbitaceae (MARTYN, 2014), das quais são mais importantes economicamente *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (*Fom*) que infecta melão, *F. f. sp. cucumerinum* (*Foc*) pepino e *F. f. sp. niveum* (*Fon*) na melancia (MARTYN et al., 2012).

Dentro das formae specialis também ocorre variação na virulência, o que categoriza a atribuição de raças fisiológicas. A distinção de raças é feita pela capacidade de infecção de diferentes isolados do patógeno a um conjunto de cultivares diferenciais do hospedeiro (AGRIOS, 2005). Essa especialização fisiológica é feita com base na virulência específica em inoculações das cultivares diferenciadoras do hospedeiro, assim cada conjunto de diferenciadora apresenta uma reação específica da resistência conferida por um ou pelo conjunto de genes dominantes ou recessivos (MARTYN, 2014). Em *Fon* a diferença na virulência entre os isolados a cultivares de melancia é observada, e a subdivisão é feita em quatro raças, 0, 1, 2 e 3 usando quatro cultivares como diferenciadoras, Sugar Baby, Charleston Gray, Calhoun Gray e PI-296341-FR. A cultivar Sugar Baby é suscetível

à todas as raças, Charleston Gray é resistente a raça 0 e suscetível às demais, Calhoun Gray tem resistência às raças 0 e 1, e suscetibilidade às restantes e, PI-296341-*FR* que é suscetível apenas à raça 3 (ZHOU et al., 2010).

2.3 FUSARIOSE EM MELANCIA E USO DE CULTIVARES RESISTENTES

Em meio a diferentes patógenos interferindo negativamente durante todo o ciclo da melancia, as doenças associadas a fitopatógenos habitantes do solo devem ser evidenciadas. São doenças de elevada importância por afetarem diferentes estádios da cultura, ocasionando redução na produtividade e na qualidade dos frutos. Uma dessas doenças é popularmente conhecida por fusariose ou murcha-de-fusário causada por *Fon*, uma das principais responsáveis por significativa parte da redução do rendimento nos campos de produção em diversos países (ZHANG et al., 2012). A infecção na planta causa o tombamento de plântulas de melancia provocando a morte prematura, afetando o estande de plantio e, conseqüentemente, a produtividade (ZHANG et al., 2015). Em estádios posteriores da cultura, o fungo ao penetrar a planta pelas raízes, atinge o sistema vascular que é colonizado, ocasionando a obstrução dos vasos, culminando na murcha e morte da planta (ZHOU; EVERTS, 2007).

O manejo da fusariose tem sido um desafio aos produtores de melancia por ser um patógeno habitante de solo, realizar o controle químico, alternativa mais comum, tem custo elevado e é praticamente inviável. Outra medida comumente adotada é a rotação de cultura, no entanto, as características do patógeno, como a produção de estruturas de resistência, torna-se inaplicável em campos de produção com fusariose. No Brasil o controle da doença tem sido realizado com o plantio em áreas sem histórico de ocorrência da doença na cultura, ou seja, baseia-se no princípio da evasão. No entanto, quando ocorre a contaminação em campo, a alternativa mais viável e eficiente é o uso do controle genético, com a seleção de cultivares resistentes em programas de melhoramento genético. Além disso, a resistência genética funciona como uma ferramenta indispensável para sustentabilidade agrícola, visto que seu uso não acarreta custos extras para o produtor e não gera riscos ao meio ambiente e consumidores (EVERTS; HIMMELSTEIN, 2015).

Na obtenção de cultivares resistentes são necessárias entre outras etapas a realização de ações de pesquisas na área de pré-melhoramento e melhoramento de plantas, onde comumente o melhorista lança mão de descritores morfológicos na caracterização do material vegetal após a avaliação da reação à doença estudada. Na caracterização morfológica são usados descritores botânicos observados na planta e que são de fácil observação e mensuração. Descritores morfológicos são, portanto, qualquer atributo ou caráter com o qual é possível a distinção entre acessos diferentes de uma mesma espécie, devendo apresentar alta herdabilidade e se expressar em todos os ambientes (CHOUDHARY et al., 2012).

A caracterização morfológica é uma importante etapa para conhecimento da variabilidade dos recursos genéticos existentes nos bancos de germoplasma, atuando como ligação entre a conservação e uso desses recursos, determinando o potencial de seleção de acessos para os programas de melhoramento (VILELA-MORALES; VALOIS, 2000; GONÇALVES et al., 2009).

2.4 METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO

A caracterização da reação do material vegetal à doença é uma etapa de destacada importância na obtenção de cultivares resistentes. Nestas avaliações a escolha do método de inoculação garantirá a obtenção de resultados condizentes com a virulência e agressividade causadas pelo patógeno inoculado. Outra característica desejável da metodologia de inoculação é a sua reprodutibilidade, assim o melhorista assegurará na fenotipagem dos materiais, diferentes classes de reação independente das condições locais (SHAW et al. 2016).

Estudos que envolvem a inoculação de *Fon* em plantas de melancia descrevem o método “dipping” como padrão para os testes. O método consiste no uso plântulas com cerca de 15 dias de idade, geralmente cultivadas em bandejas. No instante da inoculação as plantas são então removidas do substrato, têm as raízes lavadas em água corrente e, para inoculação as raízes são imersas numa suspensão de esporos, onde devem permanecer por 30 minutos. Após isso, as plantas são então transplantadas em outro recipiente, onde permanecem até a realização da avaliação (MARTYN; MCLAUGHLIN, 1983).

São muitas as referências ao uso dessa metodologia disponíveis na literatura, no entanto, alguns autores propuseram modificações metodológicas. As principais

justificativas se devem ao método ser laborioso e requerer muito tempo para execução. Na mais recente modificação proposta Meru e McGregor (2016), foi realizada a inoculação com a imersão bandeja contendo as plântulas, sem requerer retirá-las do substrato e lavá-las. Freeman e Rodriguez (1993), testaram a inoculação por meio da imersão contínua das raízes com cortes, e a diferença para o método original estava no fato das plântulas não serem transplantadas. Por ficarem continuamente expostas a suspensão de esporos as plantas desenvolviam mais rápido a doença, e assim abreviaria também o tempo de avaliação.

O volume de publicações em diversos países com relatos de fusariose em melancia, usando o método “dipping” (MARTYN; MCLAUGHLIN, 1983; LÜ et al., 2011; COHEN et al., 2014; NIU et al., 2016) enfatiza a importância da doença na produção de melancia. Vale destacar que dada a importância da espécie *Fusarium oxysporum* e suas formas *specialis*, o método também é usado para inoculação em outras espécies vegetais (NIRMALADEVI et al., 2016; GARCÍA-BASTIDAS et al., 2016). No Brasil, o uso dessa metodologia é recorrente em culturas como feijão (RIBEIRO et al., 1979; CHIORATO et al., 2015; HENRIQUE et al., 2015), alface (CABRAL et al., 2014), tomate (BARBOZA et al., 2013), banana (AMORIM et al., 2009). No entanto, em melancia são escassas as publicações com busca de fontes de resistência à fusariose na melancieira ou o uso do método “dipping” para esse patossistema, embora seja relatada a existência de danos causados pela doença na cultura (SILVA et al., 2016) e observada pelos produtores em campo. Uma das possíveis justificativas seria a dificuldade na inoculação do patógeno, relacionada a ineficácia do método para reproduzir *in vitro* os sintomas observados nos campos de cultivo.

Metodologias de inoculação de *Fon* em melancia mais eficientes são necessárias e permitirão a pesquisa brasileira reforçar a incessante busca por fontes de resistência e desenvolvimento de novas cultivares resistentes à fusariose.

2.5 RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

No processo de desenvolvimento de novas cultivares os melhoristas buscam selecionar materiais resistentes a doenças que associem também outras características agronômicas (YANG et al., 2016) que proporcionarão mais rápida aceitação da cultivar por parte do agricultor e do consumidor.

Na região do Nordeste brasileiro ao longo dos vários anos a melancia foi cultivada principalmente por donos de pequenas propriedades. Esses plantavam diferentes subespécies de *C. lanatus*, submetendo-as a tratamentos culturais e seleção artificial diferenciados com sistemas tradicionais de produção característicos dos pequenos agricultores. Assim, os agricultores ao selecionarem aquelas plantas com características produtivas de maior interesse contribuíram com a conservação da expressiva variabilidade encontrada atualmente na região para diversos caracteres da cultura. Características como resistência a doenças com escolha de plantas resistentes, devido ao cultivo nessas áreas muitas vezes ser feito sem uso de produtos agroquímicos para controle de doenças (QUEIRÓZ, 1993; DIAS et al., 1996; ROMÃO, 2000; GAMA et al., 2013).

Com a necessidade de modernização de práticas agrícolas e a incorporação do avanço tecnológico que tanto otimizaram ganhos na agricultura, os sistemas de produção foram aos poucos sendo substituídos. E com essas mudanças ocorreu também substituição de práticas que outrora eram ferramentas aliadas à preservação da diversidade genética, como a substituição das cultivares tradicionalmente cultivadas por pequenos agricultores, por novas introduzidas no país. Entre as cultivares de melancia produzidas no Brasil, a maioria são de cultivares de origem americana e japonesa, o que tem levado os campos de produção a estreitamento da base genética pela diminuição da heterogeneidade cultivada. A existência de bancos de germoplasma representa uma estratégia para manutenção da variabilidade, diante da erosão genética da espécie (GAMA, 2011).

Nass et al. (2012) evidenciam a importância dos recursos genéticos vegetais conservados nos bancos de germoplasma. Segundo os autores os recursos são uma base para a segurança alimentar e energética global. Deste modo, é imprescindível não apenas conservar, mas conhecer os recursos existentes. No Brasil, o potencial dos recursos conservados ainda é pouco explorado, atenta-se para a importância da realização de uma sequência de atividades que caracterizam o manejo dos bancos de germoplasma. Nos programas de melhoramento o conhecimento dos caracteres de interesse agrônomico existentes no banco é primordial, tornando a caracterização uma forma de viabilizar uso do germoplasma (NASS et al., 2012)

2.6 ANÁLISES DE DIVERSIDADE GENÉTICA

2.6.1 Medidas de dissimilaridade

Em um programa de melhoramento é essencial a existência de variabilidade na população de trabalho. Na formação de população, é comum por parte dos melhoristas o uso de cultivares superiores e divergentes nos intercruzamentos. Para avaliar essa divergência existente pode-se usar características tais como as agrônômicas, morfológicas, moleculares dentre outras. Quando se estuda um conjunto de acessos, são coletadas informações múltiplas de cada acesso que representam a diversidade existente no conjunto estudado e expressam as medidas de dissimilaridade (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

Para Beaumont et al. (1998) dissimilaridade ou distância genética é um critério que quantifica numericamente as diferenças genéticas entre populações ou espécies. Essa medida quantitativa pode ser expressa ao nível da sequência ou da frequência dos alelos, calculado entre os indivíduos, populações ou espécies, assim a distância genética pode ser acessada por diferentes medidas estatísticas, a depender do conjunto de dados (MOHAMMADI; PRASANNA, 2003).

2.6.1.1 Variáveis Quantitativas

Em estudos de diversidade genética as medidas de dissimilaridade são usadas para identificar genitores promissores a serem usados em programas de hibridação. Segundo Cruz e Carneiro (2006) espera-se que os genitores de melhor desempenho proporcionem na progênie maior heterose e nas gerações segregantes indivíduos transgressivos, ou seja, que têm desempenho fora do limite dos genitores (RAMALHO et al., 2012).

Em outras circunstâncias estudos de diversidade genética são realizados para identificação de grupos de cultivares com maior similaridade, são casos como a formação de multilinhas e uso do coeficiente de similaridade para a possível eliminação de duplicatas existentes em bancos germoplasma, visando a redução de custos na conservação dos acessos (CRUZ; CARNEIRO, 2006). A distância euclidiana média ou a distância generalizada de Mahalanobis têm sido as geralmente mais usadas em estudos para identificação de genitores usados para hibridação (CRUZ et al., 2004).

Distância Euclidiana

Considerando Y_{ij} a i -ésima observação do genótipo para a j -ésima característica, a distância genética euclidiana entre o par de genótipo i e i' é calculada pela seguinte expressão:

$$d_{ii'} = \sqrt{\sum_j (Y_{ij} - Y_{i'j})^2}$$

Nos programas de melhoramento genético, entre as medidas de dissimilaridade, a distância euclidiana é uma das mais utilizadas, no entanto, apresenta alguns inconvenientes como o fato de sofrer alteração com a mudança de escala de medições, com o número de caracteres estudados, e não considerar o grau de correlação entre eles. Para contornar o problema de escala, é recomendada a padronização dos dados, e para a influência do número de caracteres tem sido usada, alternativamente, a distância euclidiana média, dada por:

$$d_{ii'} = \sqrt{\frac{1}{v} \sum_j (Y_{ij} - Y_{i'j})^2}$$

sendo v o número de características estudadas (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

A dissimilaridade entre genótipos pode ainda ser expressa pelo quadrado da distância euclidiana média, que é dado por:

$$d_{ii'}^2 = \frac{1}{v} \sum_j (Y_{ij} - Y_{i'j})^2$$

Nas três distâncias já listadas, o valor obtido se altera com a escala, e como elas são quantificadas em diferentes medidas, tais como peso, comprimento, porcentagens, etc., e como já citado, é indicado nesses casos, realizar o cálculo das distâncias usando valores padronizados, para isso utiliza-se a seguinte equação:

$$y_j = \frac{Y_j}{\hat{\sigma}_j}$$

onde $\hat{\sigma}_j$ é o desvio-padrão associado à j -ésima característica.

Para obtenção da distância euclidiana média se tem usado as observações individuais dos genitores em experimentos sem a necessidade de adotar delineamentos experimentais (CRUZ et al., 2004). Isso tem ocorrido na análise de

dados de multiplicação de acessos, com uso de um maior número de plantas realizando ao máximo polinizações controladas (LIMA, 2016).

Distância generalizada de Mahalanobis

Quando se usa a distância euclidiana deve se levar em consideração o não uso das variâncias e covariâncias existentes entre as características mensuradas, que podem ser quantificadas nas avaliações de genótipos com uso de delineamentos experimentais. Com informações obtidas em ensaios experimentais, se torna possível o cálculo da dispersão residual (Ψ) e as médias das características, para então se obter as estimativas das distancias de Mahalanobis, pela equação:

$$D_{ii'}^2 = \delta' \Psi^{-1} \delta$$

onde:

$D_{ii'}^2$: é a distância de Mahalanobis entre os genótipos i e i';

Ψ : é a matriz de variâncias e covariâncias residuais;

$\delta' = [d_1 d_2 \dots d_v]$, sendo $d_j = Y_{ij} - Y_{i'j}$

Y_{ij} : é a média do i-ésimo genótipo em relação à j-ésima variável.

2.6.1.2 Variáveis Multicategóricas

As variáveis podem ainda ser classificadas como qualitativas além das já apresentadas quantitativas. As qualitativas também classificadas como categóricas são definidas em várias categorias, e nesse caso são chamadas de multicategóricas, e nos casos onde há duas categorias, variáveis binárias. Quando as variáveis podem ser ordenadas, e assim se estabelece uma escala, elas podem ser avaliadas como variáveis discretas. Diferentemente, há ocasiões onde as variáveis podem ser nominais, não admitindo que sejam então hierarquizadas, fator que dificulta a avaliação de dissimilaridade entre os genótipos estudados. Em alguns casos atribui-se valores numéricos, como 1, 2, 3, etc., para cada categoria, porém isso não é indicado, pois com o uso de medidas de dissimilaridade tradicionais, como a distância euclidiana, não há como afirmar que os indivíduos de um par com valores mais discrepantes sejam mais distantes que os indivíduos de outro par com valores mais próximos (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

A similaridade entre um conjunto de variáveis multicategóricas pode ser de maneira mais simples estimada pelo índice de similaridade:

$$s_{iir} = \frac{C}{C + D}$$

onde:

C é a concordância de categoria; e

D é a discordância de categoria.

Com esse índice, o valor encontrado mostra a porcentagem de coincidência de similaridade considerando os diferentes caracteres avaliados. A dissimilaridade, por sua vez, é dada por:

$$d_{iir} = \frac{D}{C + D}$$

Em alguns casos, os genótipos estudados não apresentam uma única categoria para cada característica multicategórica, isso por existir variabilidade dentro dos acessos. Diante disso, o índice de similaridade deve contemplar a coincidência de valores nas várias categorias e agora, o cálculo da dissimilaridade pode ser realizado por meio de dois métodos. A escolha de qual utilizar será baseada na forma como os dados foram coletados. Nas situações em que a variabilidade foi observada, porém não tenha sido quantificada, é indicado usar a metodologia proposta por Cole-Rodgers et al. (1997), e o valor de d_{iir} será dado por:

$$d_{iir} = \sum_{j=1}^v \frac{D_j}{C_j + D_j}$$

em que:

D_j : número de discordância entre categorias para a j -ésima variável multicategórica;

C_j : número de concordância entre categorias para a j -ésima variável multicategórica; e

$$j = 1, 2, \dots, v$$

Em certas ocasiões pode ocorrer a ausência de uma categoria em cada variável multicategórica, e que contribui para o índice apresentado reduzir a

dissimilaridade, quando isso não for desejado, o melhorista pode optar pelo índice alternativo, dado por:

$$d_{ii'} = \frac{D_1}{C_{p1} + D_1} + \frac{D_2}{C_{p2} + D_2} + \dots + \frac{D_v}{C_{pv} + D_v} = \sum_{j=1}^v \frac{D_j}{C_{pj} + D_j}$$

em que:

C_{pj} : número de concordância envolvendo presença de categoria no par de genótipos;

C_{nj} : número de concordância envolvendo ausência de categoria no par de genótipos;

C_j : número de concordância entre categorias para a j -ésima variável multicategórica, em que $C_j = C_{pj} + C_{nj}$;

D_j : número de discordância entre categorias para a j -ésima variável multicategórica.

Nos casos em que a frequência de cada categoria na população estudada é considerada, ou seja, a variabilidade que foi observada, também foi quantificada, a medida de dissimilaridade mais adequada será a distância euclidiana média ponderada, dada por:

$$d_{ii'} = \sqrt{\frac{1}{v} \sum_{j=1}^v \sum_{k=1}^{c_j} \frac{(f_{ijk} - f_{i'jk})^2}{c_j}}$$

em que:

f_{ijk} : frequência observada no genótipo i , para a categoria k da variável j ;

v : número de variáveis analisadas;

c_j : número de categorias dentro da variável j ;

i : 1, 2, ..., g ;

j : 1, 2, ..., v ; e

k : 1, 2, ..., c_j .

2.6.2 Técnicas de Agrupamento

Ao realizar estimativas de dissimilaridade o melhorista deseja quantificar e obter informações sobre o grau de semelhança ou diferença entre dois certos genótipos. No entanto, é comum o número de genótipos ser alto, e com isso aumenta-se também o número de estimativas feitas, tornando o reconhecimento dos grupos homogêneos mais difícil de ser realizado visualmente, ou até mesmo impraticável. Surge então, a necessidade de usar alternativas que facilitem a interpretação dos dados estimados. Para isso faz-se o uso de métodos que agrupem os genótipos (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

Métodos de agrupamento tornam possível por meio de algum critério de classificação reunir indivíduos em determinados grupos, de modo que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos (JOHNSON; WICHERN, 2007). São diversos os métodos de agrupamento disponíveis, que diferenciam pelo tipo de resultado produzido e pelas formas distintas da definição da proximidade entre um indivíduo e um grupo já formado ou entre dois grupos quaisquer. Entre os diferentes métodos quando não se conhece inicialmente o número de grupos a serem formados e cada um proporciona diferentes resultados (CRUZ; CARNEIRO, 2006), os métodos hierárquicos e de otimização são os mais usados.

2.6.2.1 Métodos de Agrupamento Hierárquicos

Com esses métodos os genótipos são agrupados estabelecendo-se um dendrograma ou diagrama de árvore a partir de um processo que se repete em vários níveis. Como o interesse está em obter a árvore e suas ramificações, não há necessidade de um número ótimo de grupos, os quais são formados por um processo de aglomeração ou de divisão. Na aglomeração, todos os genótipos começam formando o seu próprio grupo, com um indivíduo. Com a fusão gradual dos genótipos mais próximos em mesmo grupo começa-se a fechar grupos, até finalmente todos estarem em um único grupo. Já na divisão, existe uma configuração inicial em que todos os genótipos estão em um único grupo, que é então dividido em dois grupos, esses dois grupos são então novamente divididos, repetindo-se esse processo até que todos os genótipos estejam em grupos próprios (CROSSA; FRANCO, 2004; MANLY, 2004; CRUZ; CARNEIRO, 2006).

Na formação de dendrogramas o resultado mostra as fusões que ocorreram durante o agrupamento e as distâncias ou semelhanças no momento de cada fusão. Na determinação do ponto de corte do dendrograma é indicado a adoção de metodologias específicas, porém, existe ainda possibilidade da formação subjetiva dos grupos, baseado em mudanças acentuadas dos níveis, associado ao conhecimento prévio do material estudado pelo melhorista (CRUZ; CARNEIRO, 2006; LIMA, 2016).

São exemplos de métodos de agrupamento hierárquico mais aplicados em melhoramento vegetal, o método do vizinho mais próximo, ou método do vizinho mais distante e o método de Ward. Para fins do presente estudo serão apresentadas apenas considerações sobre o segundo método e, para os demais consultar Cruz e Carneiro (2006).

Método do vizinho mais distante

Nesse método o dendrograma é construído a partir de genótipos de maior similaridade, a distância entre determinado indivíduo k e um grupo composto pelos indivíduos i e j é dada por:

$$d_{(ij)k} = \max\{d_{ik}; d_{jk}\}$$

onde $d_{(ij)k}$ é dada pelo menor elemento do conjunto das distâncias dos pares de indivíduos “ i e k ” e “ k e j ”.

A distância entre dois grupos é dada por:

$$d_{(ij)(kl)} = \max\{d_{ik}; d_{il}; d_{jk}; d_{jl}\}$$

ou seja, a distância entre dois grupos formados, pelos indivíduos “ i e j ” e “ j e k ”, respectivamente, é dada pelo menor elemento do conjunto, cujos elementos são as distâncias entre os pares de indivíduos “ i e k ”, “ i e l ”, “ j e k ” e “ j e l ” (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

2.6.2.2 Métodos de agrupamento de otimização

Métodos de otimização observam o estabelecimento de grupos nos quais exista homogeneidade dentro dos grupos e heterogeneidade entre os grupos. A formação dos grupos é realizada pela adequação de algum critério de agrupamento visando uma partição que otimize, seja pela maximização ou minimização de alguma

medida predefinida (CRUZ; CARNEIRO, 2006; EVERITT et al., 2011)). Entre os métodos desse grupo, no melhoramento de plantas um dos geralmente mais aplicados é o proposto por Tocher (RAO, 1952).

Método de Tocher

É requerida a obtenção da matriz de dissimilaridade, para identificar, a partir dela, um par de genótipos com maior similaridade. Com esses indivíduos é formado um grupo pelo qual se avaliará a inclusão de novos genótipos. O critério usado para inclusão é a distância média intragrupo, a qual deve ser menor que a distância média intergrupo.

O valor médio da distância intragrupo sempre sofrerá aumento quando ocorre a entrada de um indivíduo. Dessa forma, a inserção de um indivíduo em um grupo pode ser feita com base na comparação entre o acréscimo no valor médio da distância dentro do grupo e um nível máximo permitido, esse valor pode ser adotado de duas formas, aleatória ou como nos casos que têm ocorrido geralmente, adotando-se o valor máximo (θ) da medida de dissimilaridade encontrado no conjunto das menores distâncias envolvendo cada genótipo (CRUZ et al., 2004).

A decisão de incluir ou não, um indivíduo k no grupo tomada seguindo os seguintes critérios:

- se $\frac{d_{(\text{grupo})k}}{n} \leq \theta$, o indivíduo k deve ser incluído no grupo;
- se $\frac{d_{(\text{grupo})k}}{n} > \theta$, o indivíduo k não deve ser incluído no grupo.

sendo n o número de indivíduos que constitui o grupo original.

Para o indivíduo k e o grupo formado pelos indivíduos ij , a distância é dada por:

$$d_{(ij)k} = d_{ik} + d_{jk}$$

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by fungi. *Plant pathology*, v. 4, 2005.

AMORIM, E. P. et al. **Discrimination of banana genotypes for *Fusarium* wilt resistance in the greenhouse**. In: V International Symposium on Banana: ISHS-ProMusa Symposium on Global Perspectives on Asian Challenges 897. 2009. p. 381-385.

ANDRADE JUNIOR, A. S. et al. **Produção e qualidade de frutos de melancia à aplicação de nitrogênio via fertirrigação**. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 2006.

BARBOZA, E. A. et al. **Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 infecting tomatoes in Northeast Brazil**. *Plant Disease*, v. 97, n. 3, p. 422-422, 2013.

BEAUMONT, Mark A. et al. Measuring genetic distance. In: **Molecular tools for screening biodiversity**. Springer Netherlands, 1998. p. 315-325.

CABRAL, C. S. et al. **Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* race 1 as the causal agent of lettuce wilt in Brazil**. *Tropical Plant Pathology*, v. 39, n. 3, p. 197-202, 2014.

CHIORATO, A. F. et al. **Common bean genotypes for agronomic and market-related traits in VCU trials**. *Scientia Agricola*, v. 72, n. 1, p. 34-40, 2015.

CHOUDHARY, B. R. et al. **Morphological diversity analysis among watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb) Mansf.) genotypes**. *Progressive Horticulture*, v. 44, n. 2, p. 321-326, 2012.

COLE-RODGERS, P.; SMITH, D. W.; BOSLAND, P. W. **A novel statistical approach to analyze genetic resource evaluations using *Capsicum* as an example**. *Crop Science*, v. 37, n. 3, p. 1000-1002, 1997.

COHEN, R. et al. **Phytopathological evaluation of exotic watermelon germplasm as a basis for rootstock breeding**. *Scientia Horticulturae*, v. 165, p. 203-210, 2014.

CROSSA, J.; FRANCO, J. **Statistical methods for classifying genotypes**. Euphytica, v. 137, n. 1, p. 19-37, 2004.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006, 585p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; Carneiro, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. vol.1, 3.ed. Viçosa: UFV, 2004. 480p.

DEAN, R. et al., 2012. **The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology**. Molecular plant pathology, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012.

DIAS, R. C. S.; QUEIROZ, M. A.; MENEZES, M. **Identificação de fontes de resistência em melancia a *Didymella bryoniae***. Horticultura Brasileira, v. 14, n. 1, p. 15-17, 1996.

EVERITT, B. et al. **Cluster Analysis** (> Wiley Series in Probability and Statistics). 2011.

EVERTS, K. L.; HIMMELSTEIN, J. C. **Fusarium wilt of watermelon: Towards sustainable management of a re-emerging plant disease**. Crop Protection, v. 73, p. 93-99, 2015.

FAO – Food Agriculture Organization. Countries by commodities – **Top Yield - Watermelons 2015**. online: Disponível em : <<http://faostat.fao.org/site/567/Default.aspx>>. Acesso em: abr. 2017.

FOURIE, G. et al. **Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae specialis cubense within the *Fusarium oxysporum* complex**. Infection, Genetics and Evolution, v. 11, n. 3, p. 533-542, 2011.

FREEMAN, S. et al. A rapid inoculation technique for assessing pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and *F. o. melonis* on cucurbits. Plant disease, v. 77, n. 12, p. 1198-1201, 1993.

GAMA, R. N. C. S. **Análise molecular de germoplasma de melancia com base em marcadores microssatélites**. 2012, 63f. Dissertação (Mestrado em Recursos

Genéticos Vegetais), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana - BA, 2011.

GAMA, R. N. C.; SANTOS, C. A. F.; DIAS, R. C. S. **Genetic variability of watermelon accessions based on microsatellite markers**. Genetics and Molecular Research, v. 12, n. 12, p. 747-754, 2013.

GARCÍA-BASTIDAS, F. et al. **First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4 associated with Panama disease of banana outside Southeast Asia**. Annual Review of Phytopathology, v. 54, n. 1, p. 373-395, 2016.

GEISER, D. M. et al. **One fungus, one name: defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that preserves longstanding use**. Phytopathology, v. 103, n. 5, p. 400-408, 2013.

GONÇALVES, L. S. A. et al. **Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and molecular data using a Ward-modified location model**. Genetics and Molecular Research, v. 8, n. 1, p. 364-374, 2009.

HENRIQUE, F. H. et al. **Classification of physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in common bean**. Bragantia, v. 74, n. 1, p. 84-92, 2015.

IBGE, R. J. **Produção Agrícola Municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2015.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. PrenticeHall International. INC., New Jersey, 2007.

KOIKE, S. et al. **Vegetable diseases caused by soilborne pathogens**. UCANR Publications, 2003.

LAKSHMAN, D. K. et al. **Optimized protein extraction methods for proteomic analysis of *Rhizoctonia solani***. Mycologia, v. 100, n. 6, p. 867-875, 2008.

LIMA, M. N. R. **Integração de descritores quantitativos e qualitativos na caracterização morfoagronômica de acessos de melancia**. 2016, 81f.

Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) – Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro – BA, 2016.

LÜ, G. et al. **Transcriptional profiling of watermelon during its incompatible interaction with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum***. European journal of plant pathology, v. 131, n. 4, p. 585, 2011.

LUCAS, P. Diseases caused by soil-borne pathogens. In: **The epidemiology of plant diseases**. Springer Netherlands, 2006. p. 373-386.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. et al. **Families of Sordariomycetes**. Fungal Diversity, v. 79, n. 1, p. 1-317, 2016.

MANLY, B. F. J. **Multivariate statistical methods: a primer**. CRC Press, 2004.

MARTYN, R. D. **Fusarium wilt of watermelon: 120 years of research**. Horticultural Reviews, v. 42, p. 349-442, 2014.

MARTYN, R. D.; MCLAUGHLIN, R. J. **Effects of inoculum concentration on the apparent resistance of watermelons to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum***. Plant disease, v. 67, n. 5, p. 493-495, 1983.

MARTYN, R. D. et al. **Fusarium wilt of watermelon: a historical review**. In: **Cucurbitaceae 2012**. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Antalya, Turkey, 15-18 October, 2012. University of Cukurova, Ziraat Fakultesi, 2012. p. 136-156.

MERU, G.; MCGREGOR, C. **Genotyping by sequencing for SNP discovery and genetic mapping of resistance to race 1 of *Fusarium oxysporum* in watermelon**. Scientia Horticulturae, v. 209, p. 31-40, 2016.

MICHEREFF S. J. et al. 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**. Recife: Editora Imprensa Universitária UFRPE, 2005, pp.1-17.

- MICHIELSE, C. B.; REP, M. **Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. Molecular plant pathology**, v. 10, n. 3, p. 311-324, 2009.
- MOHAMMADI, S. A.; PRASANNA, B. M. **Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations**. Crop science, v. 43, n. 4, p. 1235-1248, 2003.
- MOHR, H. C. Watermelon breeding. In: BASSET, M. J. **Breeding vegetable crops**. Connecticut: AVI Publishing Company, 1986, p.37-66.
- NASS, L. L. et al. **Genetic resources: the basis for sustainable and competitive plant breeding**. Crop Breeding and Applied Biotechnology, v. 12, n. SPE, p. 75-86, 2012.
- NIRMALADEVI, D. et al. **Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici***. Scientific reports, v. 6, 2016.
- NIU, X. et al. **The FonSIX6 gene acts as an avirulence effector in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*-watermelon pathosystem**. Scientific Reports, v. 6, 2016.
- PEREIRA, A. S. et al. **Key factors affecting watermelon yield loss in different growing seasons**. Scientia Horticulturae, v. 218, p. 205-212, 2017.
- QUEIRÓZ, M. A. **Potencial do germoplasma de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro**. Horticultura Brasileira, v. 11, n. 1, p. 7-9, 1993.
- RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na Agropecuária**. 5ª Ed., Editora UFLA, 2012, 565p.
- RAO, C. Radhakrishna. **Advanced statistical methods in biometric research**. 1952.
- RIBEIRO, R. L. D. et al. **Screening for resistance to and pathogenic specialization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, the causal agent of bean yellows**. Phytopathology, v. 69, n. 3, p. 272-276, 1979.

ROMÃO, R. L. **Northeast Brazil: A secondary center of diversity for watermelon (*Citrullus lanatus*)**. Genetic Resources and Crop Evolution, v. 47, n. 2, p. 207-213, 2000.

SHAW, R. K. et al. **Establishing a high throughput screening method for large scale phenotyping of castor genotypes for resistance to Fusarium wilt disease**. Phytoparasitica, v. 44, n. 4, p. 539-548, 2016.

SILVA, G. T. M. A. et al. **Characterization of cucurbit production systems and disease prevalence in municipalities in Pernambuco**. Revista Caatinga, v. 29, n. 3, p. 774-779, 2016.

SNYDER, William C.; HANSEN, H. N. **The species concept in Fusarium**. American Journal of Botany, p. 64-67, 1940.

VILELA-MORALES, E. A.; VALOIS, A. C. C. **Recursos genéticos vegetais autóctones e seus usos no desenvolvimento sustentável**. Cadernos de Ciência & Tecnologia, v. 17, n. 2, p. 11-42, 2000.

WOLLENWEBER, H. W. Fusarium-Monographie. Parasitology Research, v. 3, n. 3, p. 269-516, 1931.

YANG, X. et al. **Genetic diversity and population structure of core watermelon (*Citrullus lanatus*) genotypes using DArTseq-based SNPs**. Plant Genetic Resources, v. 14, n. 03, p. 226-233, 2016.

ZHANG, H. et al. **Identification and validation of a core set of microsatellite markers for genetic diversity analysis in watermelon, *Citrullus lanatus* Thunb. Matsum. & Nakai**. Euphytica, v. 186, n. 2, p. 329-342, 2012.

ZHANG, M. et al. **Characterization of the watermelon seedling infection process by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum***. Plant Pathology, v. 64, n. 5, p. 1076-1084, 2015.

ZHOU, X. G.; EVERTS, K. L. **Characterization of a regional population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* by race, cross pathogenicity, and vegetative compatibility**. Phytopathology, v. 97, n. 4, p. 461-469, 2007.

ZHOU, X. G.; EVERTS, K. L.; BRUTON, B. D. **Race 3, a new and highly virulent race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* causing Fusarium wilt in watermelon.** Plant disease, v. 94, n. 1, p. 92-98, 2010.

4 CAPÍTULO 1 - RESISTÊNCIA À FUSARIOSE EM ACESSOS DE MELANCIA INOCULADOS USANDO CLAMIDÓSPOROS¹

Resumo

O presente estudo objetivou-se avaliar diferentes métodos de inoculação de melancia com *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* e a resistência de acessos dessa olerícola. Primeiramente, foram testados sete métodos de inoculação incluindo o método padrão “dipping”, na cultivar suscetível Sugar Baby, suscetível a fusariose. Os métodos inicialmente testados não foram eficientes, portanto, buscou-se testar uma nova metodologia utilizando as estruturas de sobrevivência do fungo, os clamidósporos. A produção das estruturas foi em vermiculita enriquecida com meio líquido a base de batata e sacarose (BS). O fungo foi plaqueado em meio BDA e após sete dias foi repicado para Erlenmeyer contendo 200 mL de meio BS. Os Erlenmeyers foram postos em mesa agitadora por quatro dias sob agitação de 130 rpm para produção de conídios. O substrato foi infestado usando 10 mL da suspensão de conídios para cada saco contendo dois L de vermiculita enriquecida. Os sacos foram incubados para produção dos clamidósporos e postos para secagem. Posteriormente, o método foi testado em experimento comparando a inoculação com clamidósporos e conídios. Com o uso de conídios inoculou-se plantas com a folha definitiva formada. Para clamidósporos a inoculação foi realizada em plantas e no semeio. O uso de clamidósporos no semeio foi eficaz na inoculação de melancia com *F. oxysporum* f. sp. *niveum*. Com isso, avaliaram-se 25 acessos de melancia. A avaliação ocorreu 21 dias após a inoculação usando escala de notas. Dos acessos inoculados, oito foram classificados como resistentes, correspondendo a 32 % dos acessos avaliados. Outros oito acessos receberam a maior nota de agressividade do patógeno, comprovando a eficiência desta metodologia para avaliação da reação à doença.

Palavras-chaves: *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; metodologia de inoculação; severidade; estruturas de resistência

¹ Artigo à ser submetido na Revista **Scientia Horticulturae**

RESISTANCE TO FUSARIUM WILT IN WATERMELON ACCESSIONS INOCULATED BY CHLAMYDOSPORES

Abstract

The present study aimed to evaluate different inoculation methods of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in watermelon and the reaction of accessions from this crop. Firstly, seven inoculation methods using conidia were tested on susceptible cultivar Sugar Baby, including the standard dipping method. The methods initially tested were not efficient; therefore, we tested a new methodology using the fungus survival structures, the chlamydospores. The production of these structures was made in vermiculite enriched with liquid culture media potato and sucrose (PS). The fungus was plated in PDA media and after seven days it was incubated on Erlenmeyer containing 200 mL PS media. The Erlenmeyers were placed on shaker during four days under agitation of 130 rpm for conidia production. The substrate was infested using 10 mL conidial suspension for each bag containing 2 L enriched vermiculite. The bags were incubated for chlamydospores production and after were left for drying. The method was tested on experiment comparing inoculation by chlamydospores or conidia. For conidia method, plants were inoculated after final leaf formed. For chlamydospores, inoculations were made in plants or seeds during the sowing on infested substrate. The use of chlamydospores in sowing was effective for inoculation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in watermelon. Thus, 25 accessions from watermelon germplasm were evaluated 21 days after inoculation using notes scale using this methodology. Eight accessions were classified as resistant corresponding to 32% of accessions evaluated. Other eight accessions received the highest score of severity, proving the efficiency of the methodology to evaluate the reaction to the disease.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; inoculation method; virulence; *Citrullus lanatus*; genetic resistance

4.1 INTRODUÇÃO

O cultivo da melancia é uma atividade praticada em diferentes países e é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil (FAO, 2014). Essa olerícola tem relevante importância econômica, que possui ciclo curto, um atrativo ao produtor por proporcionar rápido retorno financeiro. Entretanto, um dos principais desafios no cultivo do fruto é a ocorrência de vários tipos de doenças durante todo o ciclo da cultura (Romay et al., 2014).

Uma das doenças que ocorrem na melancia é a fusariose causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. O agente patogênico produz dois tipos de conídios, os macro e microconídios e consegue sobreviver saprofiticamente por até seis anos na ausência do hospedeiro. A sobrevivência do patógeno é ainda mais alongada, podendo ser estendida por mais de 10 anos quando ocorre a produção de estruturas de sobrevivência, os clamidósporos (Zhang et al., 2015). Essa é uma doença comum em vários países como Estados Unidos da América e China, ocasionando danos expressivos na produção de melancia (Lü et al., 2011). O manejo da fusariose tem sido um desafio aos produtores de melancia, devido ser causada por um patógeno habitante do solo, o que leva-os a explorar novas áreas agrícolas sem ocorrência de histórico da doença, prática menos sustentável. Devido à inexistência de produtos químicos indicados, método de controle mais comum, outra medida a ser adotada seria a rotação de culturas, entretanto, torna-se inaplicável quando a contaminação ocorre no campo devido à fácil disseminação e às características de sobrevivência do patógeno. Isso faz do controle genético, com o uso de cultivares resistentes, a alternativa mais viável e eficiente para o manejo da doença (Everts e Himmelstein, 2015).

No Brasil, a ocorrência de fusariose também tem sido observada nos campos de produção da melancia (Silva et al., 2016). No entanto, são escassos trabalhos no Brasil com avaliação de resistência à fusariose em cucurbitáceas. Uma das justificativas seria a dificuldade na inoculação do fungo, pois os métodos comumente utilizados em diversos estudos não teriam a mesma eficácia em nossas condições. Isso porque nesses métodos a inoculação ocorre com uso dos esporos, estruturas de reprodução do fungo.

O método de inoculação mais utilizados das diferentes *formae specialis* de *F. oxysporum* tem sido o método “dipping” ou “tray-dip” (Latin and Snell., 1986) que

consiste na imersão das raízes em suspensão de conídios. Azevedo et al. (2015) usando o método “dipping” de inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* em genótipos de feijão, obtiveram variabilidade quanto a reação dos genótipos à doença. Além disso, outros estudos comprovam a eficiência do método “dipping” de inoculação em alface (Cabral et al., 2014) e tomate (Barboza et al., 2013).

Uma alternativa ao método padrão é a inoculação com uso dos clamidósporos. A ocorrência da doença na melancia quando o plantio é realizado em áreas com registro da doença (Silva et al., 2016) pode estar ligado a existência dessas estruturas no solo. De acordo Sanogo e Zhang (2016) os clamidósporos nessas condições atuam como inóculo primário. No entanto, não há relatos do uso de clamidósporos para avaliação da resistência em melancia. Desta forma, nesse estudo o objetivo foi avaliar diferentes métodos de inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* em melancia utilizando conídios e clamidósporos. Buscando identificar o método mais eficiente para avaliação da resistência à fusariose em melancia.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Metodologias para inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *niveum*

Localização do experimento

Os experimentos foram conduzidos em três etapas nos Laboratórios do Colegiado de Engenharia Agrônômica e em ambiente protegido na Universidade Federal do Vale do São Francisco em Petrolina-PE.

Obtenção das mudas de melancia

As plantas usadas na inoculação foram semeadas em bandejas contendo substrato para hortaliça (Tropstrato®). As sementes usadas foram da cultivar comercial Sugar Baby, cultivar classificada como suscetível a todas as raças de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* (Zhou et al., 2010). As bandejas contendo as mudas foram mantidas em ambiente protegido com telado de sombrite 50% e irrigadas diariamente até a inoculação 15 dias após o semeio.

Produção do inóculo e teste de sete métodos de inoculação

Na primeira safra a inoculação foi realizada com um isolado de cultura monospórica do fungo *F. oxysporum* f. sp. *niveum* (FON 10). O isolado foi plaqueado em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) e mantido em BOD à 25 °C, por 10 dias. Após o crescimento foi preparada a suspensão de conídios, com adição de 10 mL de água destilada na placa e raspagem com alça de Drigalsky. Os esporos foram quantificados em câmara de Neubauer e a concentração ajustada para 1×10^6 conídios/ml.

As plantas foram inoculadas ao apresentarem três folhas definitivas usando sete métodos (Tabela 1) e transplantadas para copos plásticos de 200 ml contendo substrato de pó de coco comercial.

Tabela 1 - Métodos de inoculação testados para *F. oxysporum* f. sp. *niveum* em melancia.

Método de inoculação	Descrição do método
Imersão das raízes com corte em suspensão de conídios (T1)	Lavagem do sistema radicular em água corrente e corte de 1/3 do comprimento com posterior mergulho em suspensão de conídios por 30 minutos
Imersão de raízes sem corte na suspensão de conídios (T2)	Lavagem do sistema radicular em água corrente, mergulho na suspensão de conídios durante 30 minutos
Deposição de gota (T3)	Deposição de gota da suspensão de conídios na haste da planta, seguida de perfuração
Injeção de 0,1 mL da suspensão (T4)	Suspensão de conídios injetada por meio de seringa, com volume injetado 0,1 mL na haste da planta
Escavação e deposição de 10 mL da suspensão (T5)	Escavação do substrato na região em torno do hipocótilo com canivete e deposição de 10 mL da suspensão de conídios
Escavação e deposição de 30 mL da suspensão (T6)	Escavação do substrato na região em torno hipocótilo com canivete e deposição de 10 mL da suspensão de conídios
Aspersão da suspensão (T7)	Aspersão da suspensão de conídios nas folhas, até o ponto de escorrimento

O transplântio para os métodos T1 e T2 foi realizado após a inoculação, para os demais métodos o transplântio ocorreu antes da inoculação. As plântulas após a inoculação foram mantidas em BOD para incubação por sete dias sob temperatura de 24°C ±1°C e fotoperíodo de 12h e rega diária. Após o período de incubação as plantas foram novamente transplantadas para sacos plásticos contendo 1 L de solo previamente autoclavado. Posteriormente, os sacos com as plantas foram postos em ambiente protegido, onde permaneceram por 45 dias.

A avaliação ocorreu aos 45 dias após da inoculação (DAI), com o auxílio de escala de notas para lesões no hipocótilo de acordo com Dias et al. (2002). Ao final do experimento foram avaliadas as seguintes variáveis de desenvolvimento: peso da biomassa (parte aérea e sistema radicular), massa fresca da raiz, massa fresca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca da parte aérea.

4.2.2. Inoculação por meio de clamidósporos e por esporos com método “dipping” modificado

Crescimento do fungo em meio líquido

O inóculo foi obtido a partir de do isolado de *F. oxysporum* f. sp *niveum* (FON10) repicando-se primeiramente o fungo em placas de Petri com meio BDA. As placas foram mantidas sob incubação em BOD a 25 °C por sete dias. O meio líquido usado para desenvolvimento de conídios foi a base de batata e sacarose (BS), preparado em Erlenmeyer 250 mL autoclavados por 15 minutos. Após resfriamento, foi adicionado ao meio três discos de micélio com aproximadamente três mm de diâmetro e, posteriormente colocado em mesa de rotação contínua a 130 rpm a 25 °C durante quatro dias para crescimento e esporulação do fungo.

Obtenção dos clamidósporos

Para o método usando clamidósporos, inicialmente obteve-se o fungo crescido em meio líquido, como descrito anteriormente. As estruturas de sobrevivência foram obtidas a partir de uma adaptação do método proposto por Dhingra et al. (2006). Para o presente estudo houve adaptação para uso das estruturas de sobrevivência na inoculação de plantas. Além disso modificou-se o volume usado para enriquecer o substrato e os tempos de incubação e secagem propostos pelos autores. O substrato usado para infestação foi vermiculita enriquecida com meio BS, com adição de dois mL de meio BS para cada grama de vermiculita seca. No total foram preparados 32 litros de vermiculita, separados em 16 sacos plásticos com dois litros cada. Os sacos foram fechados, homogeneizados e autoclavados por uma hora no primeiro dia e por 30 minutos no segundo dia. Os sacos foram mantidos sob refrigeração até a infestação do substrato que ocorreu quatro dias após a autoclavagem.

A deposição da suspensão nos sacos contendo o substrato foi realizada em ambiente asséptico, com adição de 10 mL da suspensão por saco de vermiculita. Os sacos permaneceram fechados para incubação em bancada sob condição de temperatura ambiente por 21 dias, sendo homogeneizados para melhor distribuição da produção de clamidósporos. Passado o período os sacos foram mantidos a temperaturas entre 26 e 30 °C por 19 dias com a abertura fechada com papel toalha para secagem.

Inoculação das plantas

Nos testes de inoculação foram utilizadas mudas com a primeira folha definitiva desenvolvida para os dois métodos de inoculação além da inoculação com semente em substrato infestado para o método com clamidósporos. O experimento foi montado em esquema fatorial, utilizando três métodos de inoculação: (TE1 - Transplântio da muda utilizando método “dipping” modificado; TE2 - Transplântio da muda no método de substrato infestado com clamidósporos; TE3 – Método com semente em substrato infestado com clamidósporos) mais as testemunhas (TE4 - testemunha para transplântio da muda sem inoculação; TE5 - testemunha para semente em substrato sem inoculação). No teste foram usadas sementes das cultivares comerciais Sugar Baby e Charleston Gray e do acesso BGH 398 classificado previamente como resistente. O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada tratamento.

A inoculação das plantas com esporos foi realizada de acordo com modificações no método proposto por Meru e McGregor (2016). A primeira modificação foi no tempo de agitação para crescimento do fungo meio líquido BS para quatro dias. A segunda foi no recipiente usado para plantio, utilizando nesse experimento copos plásticos descartáveis de 200 mL contendo vermiculita expandida, nos quais as mudas foram transplantadas. Os copos com furos na base foram postos dentro de bandeja contendo a suspensão de conídios por 30 minutos para infestação do substrato pelo fungo. Com uso clamidósporos a inoculação das plantas ocorreu no instante semente das sementes no substrato infestado e em mudas transplantadas no substrato com clamidósporos.

Após o semente as plantas foram mantidas à sombra por quatro dias e posteriormente levadas ambiente protegido com cobertura de sombrite 50%, com

irrigação diária. A avaliação ocorreu 22 dias após a inoculação, usando escala de notas de acordo com Dias et al. (2002).

4.2.3. Inoculação de acessos de melancia para avaliação de resistência a fusariose

Os acessos avaliados foram obtidos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Cucurbitáceas para o Nordeste Brasileiro. Foram inoculados 25 acessos mais a cultivar comercial Sugar Baby como testemunha, sem inoculação. A inoculação ocorreu com semeio das sementes em substrato infestado com clamidósporos. Foram usadas cinco repetições para cada tratamento, o semeio da testemunha foi em substrato não infestado enriquecido com caldo BS.

Após o semeio as plantas foram mantidas em sala com iluminação contínua por sete dias. Após esse período as plantas foram levadas para ambiente protegido (sombrite 50%) e irrigadas diariamente. A avaliação foi 22 dias após a inoculação, com auxílio de escala de notas (Dias et al., 2002). Os acessos com média das notas menor ou igual a dois foram classificados como resistentes e suscetíveis quando superior a dois (Nascimento et al., 1995).

4.2.4. Análise dos dados

Os dados da reação dos tratamentos na inoculação do primeiro experimento foram transformados usando a equação $\sqrt{x + 0,5}$ e aplicado o Teste F a 5% de probabilidade. Para os dados das variáveis de desenvolvimento realizou-se a estatística descritiva e a Anova.

Para a reação dos acessos à fusariose os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett (1937) a 5% de significância, respectivamente. Como os dados não atenderam as premissas da Anova, os dados foram analisados pelo teste não-paramétrico Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade.

As análises estatísticas foram realizadas usando os programas estatísticos SISVAR (Ferreira, 2010) e R Core Team (2016).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Métodos de inoculação de melancia com *F. oxysporum* f. sp. *niveum*

As plantas inoculadas apresentaram lesões iniciais causadas pelo fungo *F. oxysporum* f. sp. *niveum*. No entanto, os sete métodos testados não diferiram estatisticamente da testemunha pelo teste F a 5% de probabilidade (Figura 1).

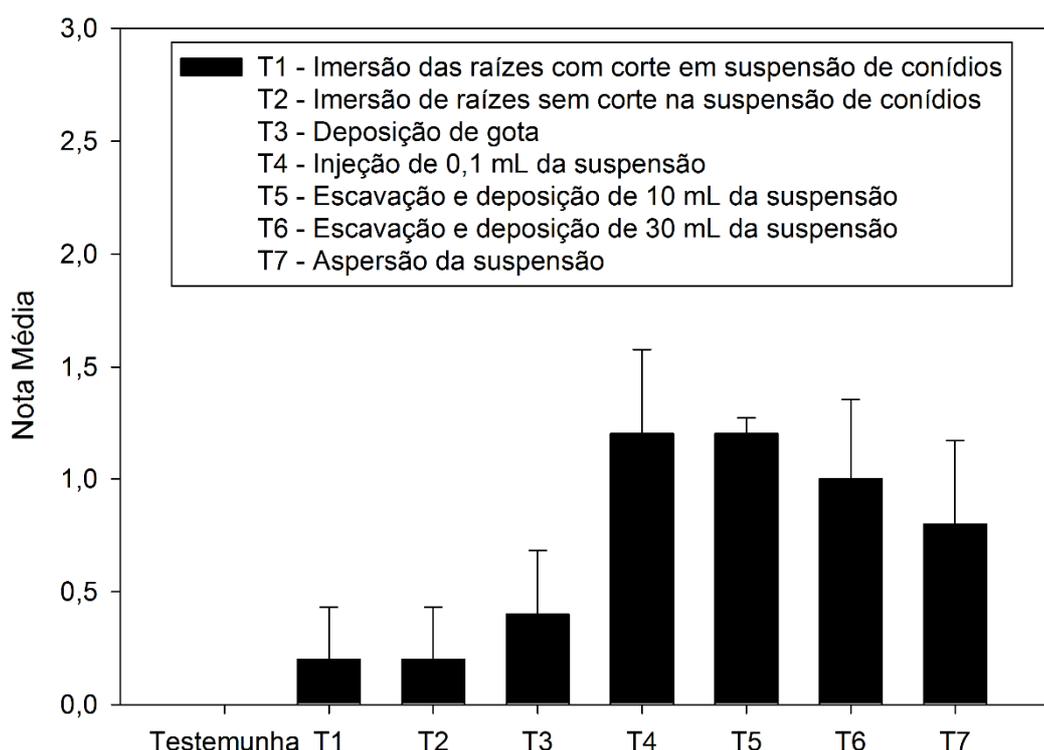


Figura 1 - Médias das notas da inoculação usando conídios do isolado FON10 utilizando sete métodos de inoculação. Barra: desvio padrão

Após a comprovação que as lesões foram causadas pelo fungo inoculado, prosseguiu-se com a mensuração dos danos causados. Os dados dos de desenvolvimento vegetativo coletados, biomassa, massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea, massa fresca da raiz e massa seca da raiz foram analisados e não se observou efeito significativo pelo teste F ($p > 0,05$) para os tratamentos estudados, não diferindo estatisticamente da testemunha (Figura 2).

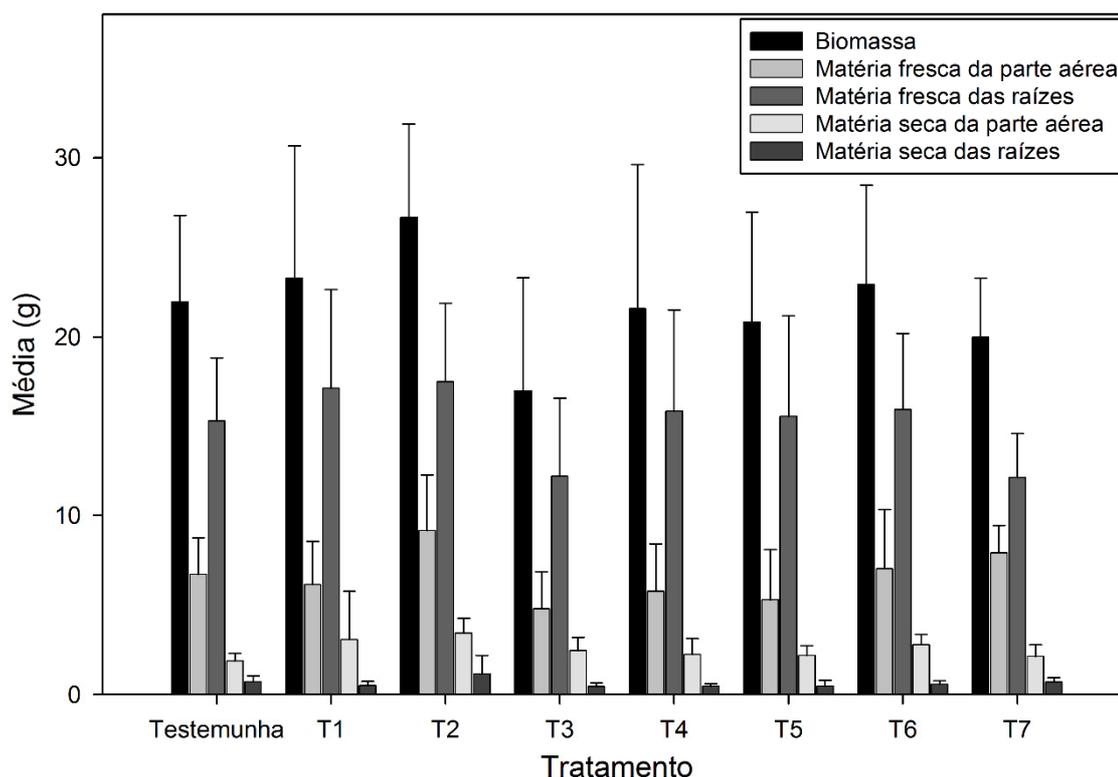


Figura 2 - Quantificação das variáveis de desenvolvimento vegetativo de plantas de melancia inoculadas com suspensão de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *niveum*. A legenda dos tratamentos para essa figura (T1, T2, ... T7) são as mesmas da Figura 1. Barras: desvio padrão.

4.3.2 Inoculação com clamidósporos e com esporos pelo método “dipping” modificado

Na inoculação com semeio em substrato infestado com clamidósporos de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* obteve as maiores médias de severidade observadas para os três acessos (Figura 3). Para as duas cultivares comerciais esse método diferiu estatisticamente dos outros dois métodos de inoculação pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Nas inoculações do acesso BGH 398, as médias dos métodos de inoculação não diferiram estatisticamente entre si. O método “dipping” com modificações obteve nota intermediária entre os três métodos avaliados para a cultivar comercial Sugar Baby.

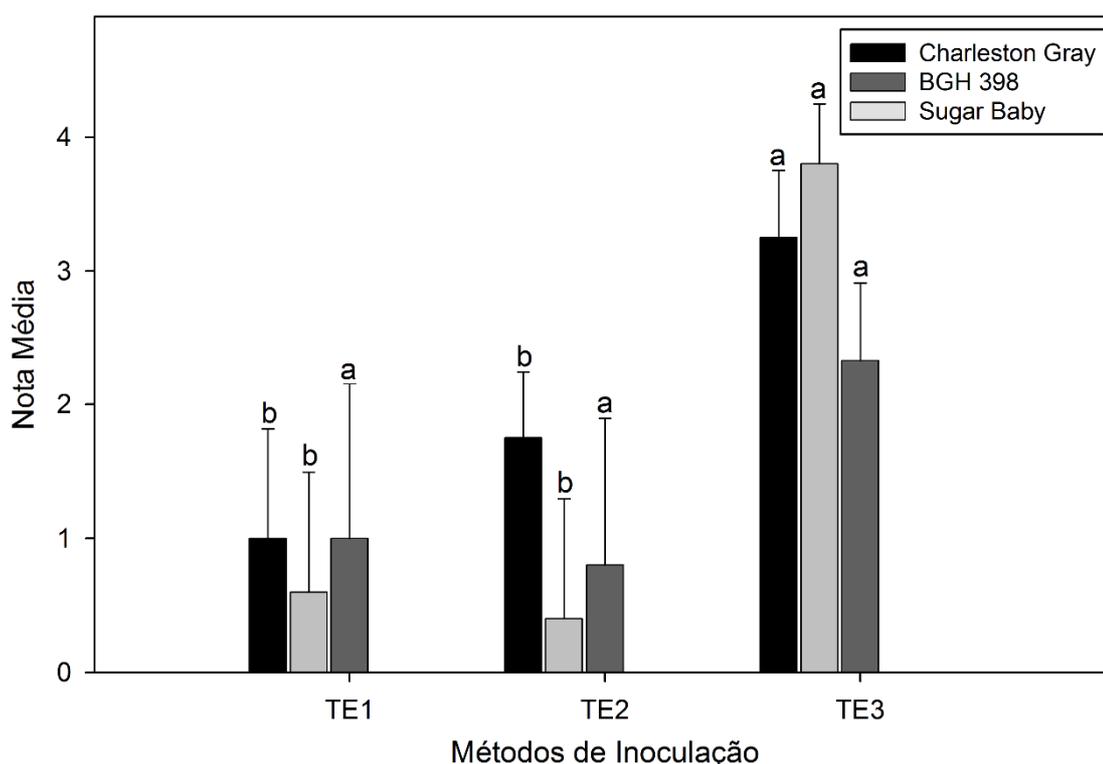


Figura 3 - Média das notas da avaliação de três métodos inoculação (TE1= Método “dipping” modificado TE2 = Transplântio da muda em substrato infestado com clamidósporos e TE3 = Semeio em substrato infestado com clamidósporos nas cultivares comerciais Sugar Baby e Charleston Gray e no acesso BGH 398. Médias seguidas pela mesma letra dentro do mesmo genótipo não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Barra: desvio padrão

A interação entre acessos e métodos de inoculação foi significativa para a avaliação do comprimento de raízes (Figura 4). Na análise dos acessos dentro de cada método houve diferença estatística somente para o método de inoculação com semeio em substrato com clamidósporos, onde as cultivares Charleston Gray e Sugar Baby tiveram o menor comprimento médio, diferindo estatisticamente de BGH 398 pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Analisando os métodos dentro de acessos, o comprimento não diferiu estatisticamente para o acesso BGH 398. Já para ‘Sugar Baby’ e ‘Charleston Gray’ o método com semeio em substrato com clamidósporos apresentou as menores médias e o método “dipping” com modificações, as maiores médias de comprimento. Nessas duas cultivares as médias dos dois métodos foram estaticamente superiores entre os métodos testados pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

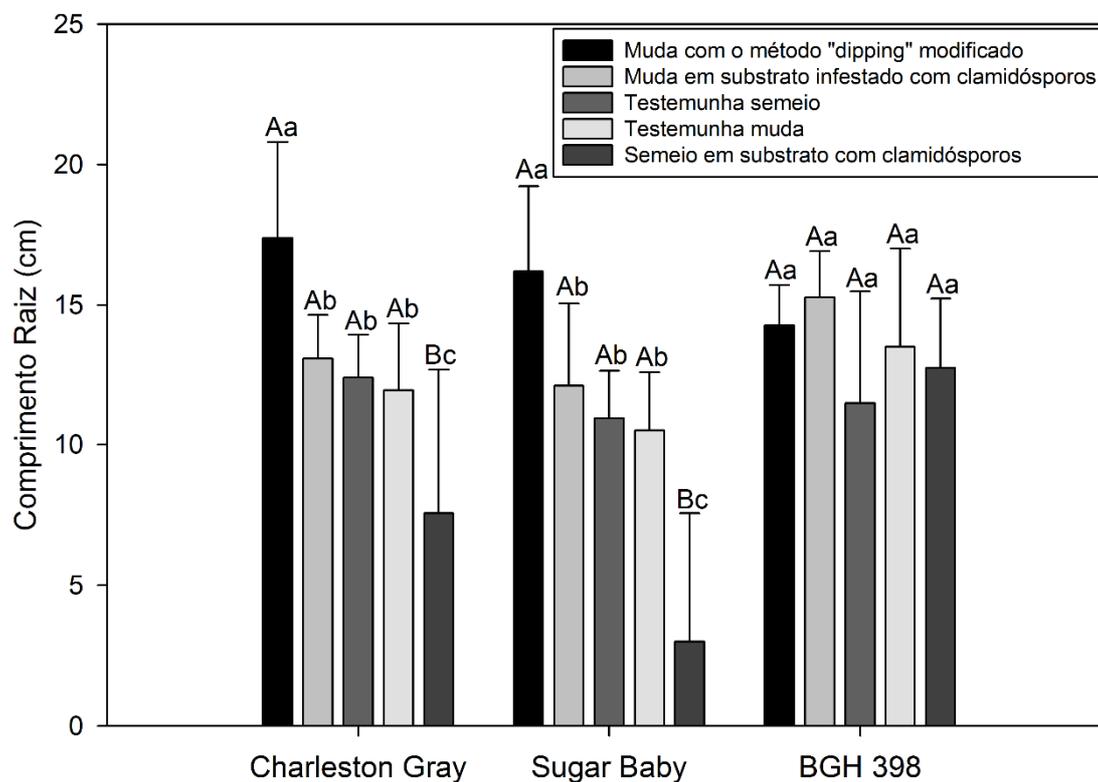


Figura 4 - Comprimento médio das raízes das cultivares comerciais Charleston Gray e Sugar Baby e do acesso BGH 398 inoculados com *F. oxysporum* f. sp. *niveum*. Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro do mesmo acesso e letra maiúscula entre métodos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Barra: desvio padrão

Os dados de comprimento da parte aérea não tiveram efeito significativo para a interação entre acessos e métodos de inoculação (Figura 5). Na avaliação dos fatores isoladamente, entre os genótipos, a cultivar 'Charleston Gray' teve a maior média e diferiu estatisticamente de 'Sugar Baby' e BGH 398 (Figura 5-B). O método de semeio em substrato com clamidósporos proporcionou o menor crescimento da parte aérea (Figura 5-A), diferindo estatisticamente dos demais pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

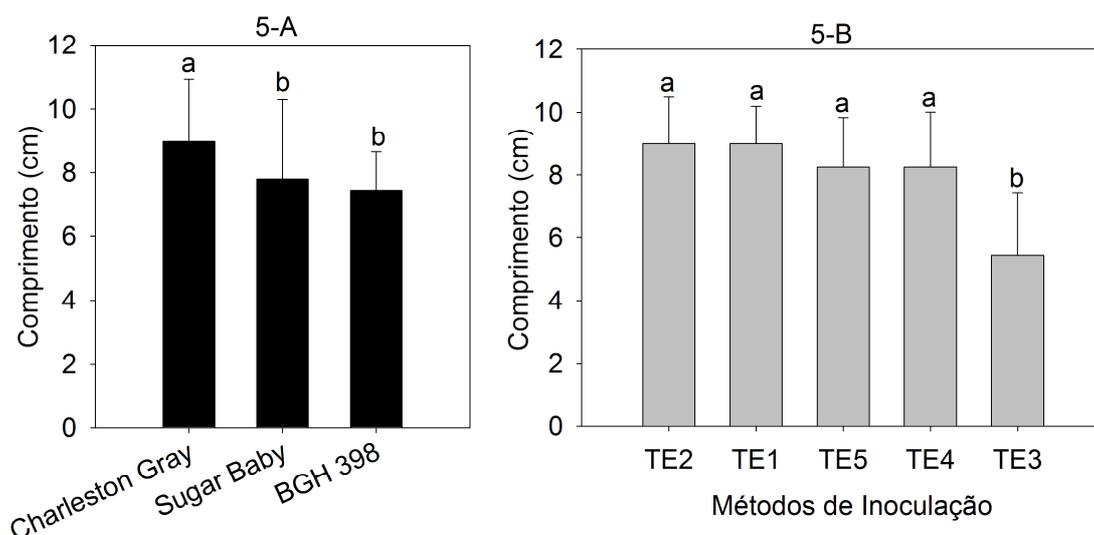


Figura 5 - Médias do comprimento da parte aérea de três genótipos (Figura 5-A) inoculados com três métodos de inoculação mais os tratamentos de controle sem inoculação (Figura 5-B): Inoculação da muda no transplântio com o método dipping modificado (TE1); Inoculação da muda no transplântio utilizando substrato infestado com clamidósporos (TE2); Inoculação com semeio em substrato infestado com clamidósporos (TE3); Testemunha para transplântio da muda sem inoculação (TE4) e; Testemunha para semeio sem inoculação em substrato estéril (TE5). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Barra: desvio padrão

4.3.3. Reação dos acessos de melancia inoculados utilizando clamidósporos de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* quanto a resistência à fusariose

Entre os 25 acessos inoculados com o método observou-se variabilidade na reação dos acessos à fusariose (Tabela 2). A reação entre os acessos diferiu estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Dos 25 acessos inoculados oito foram classificados como resistentes à fusariose (Tabela 2). Dos acessos classificados como resistentes, a maioria pertence a espécie *C. lanatus* var. *citroides*, entre os quais BGCIA 229 e BGCIA 962 tiveram reação semelhante a imune. No grupo dos 17 acessos classificados suscetíveis, oito obtiveram nota média 4, maior nível de severidade no patossistema.

Tabela 2 - Nota média da reação e desvio padrão (valores entre parênteses) dos acessos de melancia inoculados com *F. oxysporum* f. sp. *niveum* e da cultivar comercial Sugar Baby usada sem inoculação do fungo, classificados como resistentes (R) e suscetíveis (S)

Acessos	Espécie	Nota	Reação
cv. Sugar Baby ¹	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	0,00 (+0,00)	*
BGCIA 229	<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i>	0,00 (±0,00)	R
BGCIA 962	<i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i>	0,00 (±0,00)	R
BGCIA 226	<i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i>	0,20 (±1,73)	R
BGCIA 849	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	0,25 (±0,00)	R
BGCIA 227	<i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i>	0,40 (±1,34)	R
BGCIA 812	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	1,00 (±0,00)	R
BGCIA 223	<i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i>	1,20 (±2,00)	R
BGCIA 219	<i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i>	1,67 (±1,53)	R
BGCIA 959	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	2,20 (±1,79)	S
BGCIA 225	<i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i>	2,40 (±2,19)	S
BGCIA 821	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	2,40 (±0,45)	S
BGCIA 028	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,00 (±0,89)	S
BGCIA 115	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,00 (±0,00)	S
BGCIA 865	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,20 (±0,00)	S
BGCIA 843	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,25 (±0,00)	S
BGCIA 952	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,33 (±1,15)	S
BGCIA 036	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	3,40 (±2,19)	S
BGCIA 002	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 (±1,50)	S
BGCIA 012	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 (±0,50)	S
BGCIA 034	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 (±1,79)	S
BGCIA 040	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 (±0,00)	S
BGCIA 714	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 (±0,00)	S
BGCIA 811	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 (±1,15)	S
BGCIA 882	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 (±2,05)	S
BGCIA 947	<i>C. lanatus</i> var. <i>lanatus</i>	4,00 (±0,00)	S

¹Cultivar suscetível Sugar Baby usada como tratamento controle sem inoculação

* média referente ao tratamento controle, sem inoculação do patógeno

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 O uso de clamidósporos na inoculação de melancia com *F. oxysporum* f. sp. *niveum*

A dificuldade de observação na reação de suscetibilidade da melancia à fusariose ocorreu nos trabalhos iniciais de inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *niveum*

(Figura 1). Com o método “dipping” usado em outros estudos (Cohen et al., 2014; Niu et al., 2016) não se observou os mesmos resultados nos estudos por nós realizados. Essa ineficiência do método é uma provável explicação para a escassez de trabalhos publicados sobre esse patossistema no Brasil. Vale ressaltar que esse experimento foi realizado duas vezes sendo que na primeira não se observou sintomas (dados não publicados). O método “dipping” vem sendo utilizado com sucesso em outros patossistemas no Brasil, como feijão (Ribeiro et al., 1979; Chiorato et al., 2015; Henrique et al., 2015), alface (Cabral et al., 2014), tomate (Barboza et al., 2013) e banana (Amorim et al., 2009), nos quais a virulência e agressividade do patógeno foram observadas. Henrique et al. (2015) encontraram dificuldades na obtenção de reação de resistência de genótipos de feijão devido a agressividade do patógeno utilizando o método “dipping” de inoculação. Na primeira safra, com inoculação usando conídios, mesmo com a cultivar Sugar Baby, suscetível à fusariose, em todos os métodos testados, não houve diferença dos tratamentos em relação a testemunha (não inoculada) (Figura 1). Desta forma, os métodos testados não foram eficientes na avaliação da agressividade do patógeno. Quando avaliadas as demais características, observou-se que não houve interferência dos métodos no desenvolvimento das plantas durante o período avaliado (Figura 2).

Relatos de produtores e de pesquisadores que trabalham com melhoramento de melancia indicam a ocorrência da doença em áreas de plantio. De acordo com Silva et al. (2016), em levantamento sobre doenças frequentes em áreas de produção de melancia no estado de Pernambuco, *F. oxysporum* f. sp. *niveum* é um dos patógenos observados com frequência.

Na comparação entre o método apresentado nesse estudo e o método “dipping” com modificações, pode-se observar que entre as cultivares comerciais, as plantas inoculadas com o método de semeio em substrato infestado apresentaram menor desenvolvimento de raízes (Figura 4). Com o uso de clamidósporos na inoculação a média de comprimento da parte aérea também foi estatisticamente inferior ao das plantas dos demais métodos (Figura 5-A). As maiores notas de severidade atribuídas correspondem ao método que teve maior agressividade em comparação aos demais. Com esse método também obteve-se as menores médias de comprimento de raízes e da parte aérea nas cultivares Charleston Gray e Sugar Baby.

4.4.2 Reação dos acessos de melancia inoculados utilizando clamidósporos de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* quanto a resistência à fusariose

O método de inoculação com clamidósporos foi adequado à inoculação de melancia, observando-se desde plantas nas quais a agressividade do patógeno foi baixa, como nos acessos BGCIA 229 e BGCIA 962 (Tabela 2), até a ocorrência da morte da planta que ocorreu em 48,8% das plantas inoculadas. Dos oito acessos classificados como resistentes, dois são da espécie *C. lanatus* var. *lanatus*, BGCIA 849 e BGCIA 812 e os demais são *C. lanatus* var. *citroides* que é a mesma espécie da última cultivar diferenciadora PI-296341-FR utilizada na identificação de raças de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* (Zhou et al., 2010). Santos et al. (2014) estudando entre outras variáveis, a compatibilidade de porta enxertos de melancia, incluíram o acesso BGCIA 229 como compatível, sendo esse um dos cinco acessos de *C. lanatus* var. *citroides* avaliados com resistência à nematoides. Os autores citam ainda que o acesso seria um acesso com potencial resistência a nematoides e *Fusarium* spp., o que foi confirmado no presente estudo. Outro acesso que vem sendo usado em trabalhos conduzidos com porta enxerto é o BGCIA 962, que de acordo com Carvalho et al. (2013) é resistente à mancha-bacteriana.

A existência desses acessos com resistência à fusariose é uma importante ferramenta para desenvolvimento de cultivares comerciais, principalmente resistentes a raça 2 ainda indisponíveis no mercado (Cohen et al., 2014). Nos últimos anos, segundo Ren et al. (2015) a raça 2 tem sido a mais relatada em estudos visando encontrar fontes de resistência à fusariose. O que segundo esses autores tem sido um dos principais desafios aos melhoristas da melancia. A cultivar Charleston Gray é classificada como resistente a raça 0 (Zhou et al., 2010). De acordo com os resultados da inoculação dessa cultivar com clamidósporos nesse estudo (Figura 3), pode-se observar que 'Charleston Gray' foi suscetível ao isolado FON-10. Indicando que o isolado usado nesse estudo não é da raça 0 de *F. oxysporum* f. sp. *niveum*. Com o presente estudo, o método desenvolvido mostrou-se eficiente na inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* em melancia. O uso de clamidósporos na inoculação permitirá avanços nos estudos de caracterização de germoplasma de melancia e identificação de fontes de resistência à fusariose no Brasil.

4.5 CONCLUSÕES

O uso de clamidósporos de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* foi eficaz na inoculação de melanciaira. Com o presente método foi possível identificar diferentes níveis de resistência à fusariose entre os acessos inoculados. Dos 25 acessos avaliados oito foram classificados como resistentes à fusariose.

4.6 REFERÊNCIAS

- Amorim, E.P., Cordeiro, Z.J.M., de Oliveira e Silva, S., Dita, M.A., Ribeiro, L.R. (2009). Discrimination of banana genotypes for *Fusarium* wilt resistance in the greenhouse. In V International Symposium on Banana: ISHS-ProMusa Symposium on Global Perspectives on Asian Challenges 897 (pp. 381-385). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.897.52>
- Azevedo, C.V.G., Ribeiro, T., da Silva, D.A., Carbonell, S.A.M., Chiorato, A.F. (2015). Adaptability, stability and pathogen resistance in common bean genotypes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 50(10), 912-922. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2015001000007>
- Barboza, E.A., Cabral, C.S., Gonçalves, A.M., Reis, A., Fonseca, M.E.N., Boiteux, L.S. (2013). Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 infecting tomatoes in Northeast Brazil. *Plant Disease*, 97(3), 422-422. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-08-12-0779-PDN>
- Bartlett, M.S. (1937). Properties of sufficiency and statistical tests. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 268-282. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.06.005>
- Cabral, C.S., Brunelli, K.R., Costa, H., Fonseca, M.E.D.N., Boiteux, L.S., Reis, A. (2014). Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* race 1 as the causal agent of lettuce wilt in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 39(3), 197-202. <http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762014000300002>

- Carvalho, F.C., Santos, L.A., Dias, R.C., Mariano, R.L., Souza, E.B. (2013). Selection of watermelon genotypes for resistance to bacterial fruit blotch. *Euphytica*, 190(2), 169-180. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-012-0766-1>
- Chiorato, A.F.; Carbonell, S.A.M.; Bosetti, F.; Sasseron, G.R.; Lopes, R.L.T.; Azevedo, C.V.G. (2015). Common bean genotypes for agronomic and market-related traits in VCU trials. *Scientia Agricola*, 72(1), 34-40. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2013-0172>
- Cohen, R., Tyutyunik, J., Fallik, E., Oka, Y., Tadmor, Y., Edelstein, M. (2014). Phytopathological evaluation of exotic watermelon germplasm as a basis for rootstock breeding. *Scientia Horticulturae*, 165, 203-210. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.11.007>
- Dias, R.C.S.; Picó, B.; Herraiz, J.; Espinós, A.; Nuez, F. (2002). Modifying root structure of cultivated muskmelon to improve vine decline resistance. *HortScience*, 37(7), 1092-1097.
- Dhingra, O.D., Coelho-Netto, R.A., Rodrigues, F.Á., Silva, G.J., Maia, C.B. (2006). Selection of endemic nonpathogenic endophytic *Fusarium oxysporum* from bean roots and rhizosphere competent fluorescent *Pseudomonas* species to suppress Fusarium-yellow of beans. *Biological Control*, 39(1), 75-86. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.04.006>
- Everts, K.L., Himmelstein, J.C. Fusarium wilt of watermelon: Towards sustainable management of a re-emerging plant disease. *Crop Protection*, v. 73, p. 93-99, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.019>
- FAO – Food Agriculture Organization. Countries by commodities – Top Yield - Watermelons 2014. online: Disponível em : <<http://faostat.fao.org/site/567/Default.aspx>>. Acesso em: mar. 2017.
- Ferreira, D.F. (2011). Sisvar: a computer .statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, 35 (6), 1039-1042.
- Henrique, F.H., Carbonell, S.A.M., Ito, M.F., Gonçalves, J.G.R., Sasseron, G.R., Chiorato, A.F. (2015). Classification of physiological races of *Fusarium*

- oxysporum* f. sp. *phaseoli* in common bean. *Bragantia*, 74(1), 84-92.
<https://doi.org/10.1590/1678-4499.0265>
- Latin, R.X., Snell, S.J. (1986). Comparison of methods for inoculation of muskmelon with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Plant disease* (USA).
- Lü, G., Guo, S., Zhang, H., Geng, L., Song, F., Fei, Z., Xu, Y. (2011). Transcriptional profiling of watermelon during its incompatible interaction with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *European journal of plant pathology*, 131(4), 585-601. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9833-z>
- Meru, G., McGregor, C. (2016). Genotyping by sequencing for SNP discovery and genetic mapping of resistance to race 1 of *Fusarium oxysporum* in watermelon. *Scientia Horticulturae*, 209, 31–40.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.06.005>
- Nascimento, S.R.C., Kurozawa, C., Maringoni, A.C. (1995) Avaliação de raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 20, 214-217.
- Niu, X., Zhao, X., Ling, K.S., Levi, A., Sun, Y., Fan, M. (2016). The FonSIX6 gene acts as an avirulence effector in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* - watermelon pathosystem. *Scientific Reports*, 6.
<https://doi.org/10.1038/srep28146>
- R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <<https://www.R-project.org>>.
- Ren, Y., Jiao, D., Gong, G., Zhang, H., Guo, S., Zhang, J., Xu, Y. (2015). Genetic analysis and chromosome mapping of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (FON) race 1 and race 2 in watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *Molecular Breeding*, 35(9), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0375-5>
- Ribeiro, R.D.L., Hagedorn, D.J. (1979). Screening for resistance to and pathogenic specialization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, the causal agent of bean yellows. *Phytopathology*, 69(3), 272-276.

- Romay, G., Lecoq, H., Desbiez, C. (2014). Cucurbit crops and their viral diseases in Latin America and the Caribbean islands: a review. *Journal of Plant Pathology*, 96(2), 227-242. <https://doi.org/10.4454/JPP.V96I2.027>
- Sanogo, S., Zhang, J. (2016). Resistance sources, resistance screening techniques and disease management for Fusarium wilt in cotton. *Euphytica*, 207(2), 255-271. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1532-y>
- Santos, J.S., Dias, R.D.C.S., Grangeiro, L.C., Lima, M.A.C., Andrade, K.M.N.S.S. (2014). Compatibility rootstocks, yield and quality of fruit of watermelon cultivars triploid. *Revista Caatinga*, 27(2), 141-147.
- Silva, G.T.M.D.A., Ribeiro, R., Paula, M., Barros Júnior, A.P., Silveira, L., Da, M., ... Albuquerque, N.R.C.D. (2016). Characterization of Cucurbit production systems and disease prevalence in municipalities in Pernambuco. *Revista Caatinga*, 29(3), 774-779.
<http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252016v29n330rc>
- Zhang, M., Xu, J.H., Liu, G., Yao, X.F., Li, P.F., Yang, X.P. (2015). Characterization of the watermelon seedling infection process by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant Pathology*, 64(5), 1076-1084. <https://doi.org/10.1111/ppa.12355>
- Zhou, X.G., Everts, K.L., Bruton, B.D. (2010). Race 3, a new and highly virulent race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* causing Fusarium wilt in watermelon. *Plant Disease*, 94(1), 92-98.

5 CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE ACESSOS DE MELANCIA COM RESISTÊNCIA À FUSARIOSE²

Resumo Nesse estudo foi avaliada a reação de 55 acessos de melancia à fusariose inoculados usando clamidósporos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. O delineamento foi inteiramente casualizado usando cinco repetições e uma planta por parcela. A avaliação foi 21 dias após a inoculação usando escala de notas, sendo resistentes acessos com média ≤ 2 . Dentre os 42 acessos resistentes, doze acessos com nota média ≤ 1 foram selecionados para caracterização morfoagronômica junto as testemunhas 'Sugar Baby' e 'Charleston Gray'. A condução em campo foi por duas safras em delineamento em blocos casualizados, com três repetições e cinco plantas por parcela em espaçamento 0,8 x 3,0 m. Na caracterização usaram-se 28 descritores qualitativos e 20 quantitativos. As medidas de dissimilaridade foram obtidas pela soma das matrizes da distâncias euclidiana média padronizada e ponderada, para as variáveis quantitativas e qualitativas, respectivamente. Coeficientes de variação (CV) variaram entre 8,37% e 31,20%. Na segunda safra observou-se redução de dias para as variáveis relativas ao florescimento. Para teor de sólidos solúveis (°Brix), BGH-Univasf 40 na segunda safra foi estatisticamente igual as cultivares comerciais avaliadas e, inferior apenas a 'Sugar Baby' na primeira safra. Os acessos foram agrupados em quatro grupos pelo método de Tocher. O mesmo número de grupos obtido com método do vizinho mais distante, diferindo quanto a composição do primeiro método no agrupamento de 'Charleston Gray'. Existe variabilidade para resistência à fusariose e características de interesse agrônomo entre os acessos avaliados. Sendo os acessos BGH-Univasf 40, 169, 177 e 210 os mais promissores para uso em futuras hibridações e BGH-Univasf 76, 128 e 185 de *C. lanatus* var. *citroides* podem ser utilizados como porta-enxerto.

Palavras-chave: Diversidade genética; *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; *Citrullus lanatus*, Resistência genética

² Artigo à ser submetido na Revista **Euphytica**

MORPHOAGRONOMIC CHARACTERIZATION OF WATERMELON ACCESSIONS WITH RESISTANCE TO FUSARIUM WILT

Abstract In this study was evaluated the reaction of 55 watermelon accessions to Fusarium wilt inoculated using of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* chlamydospores. The design was completely randomized using five replicates and one plant per plot. The evaluation was 21 days after inoculation using a note scale, with resistant accessions with a mean ≤ 2 . Among the 42 resistant accessions, twelve accessions with a mean score ≤ 1 were selected for morphoagronomic characterization plus 'Sugar Baby' and 'Charleston Gray'. Field conduction was by two production cycles in a randomized block design, with three replications and five plants per plot with a spacing of 0.8 x 3.0 m. For the characterization, 28 qualitative and 20 quantitative descriptors were used. The dissimilarity measures were obtained by matrices sum of standardized and weighted mean euclidean distances for quantitative and qualitative variables, respectively. Coefficients of variation (CV) ranged from 8.37% to 31.20%. In the second crop, number days reduction were observed for the variables related to flowering. For soluble solids content ($^{\circ}$ Brix), BGH-Univasf 40 was statistically equal to the commercial cultivars evaluated and different from 'Sugar Baby' in the first harvest. The accessions were grouped into four groups by the Tocher method. The same groups number were obtained with the method of the more distant neighbor, differing as to the first method composition only in the 'Charleston Gray' cluster. There is variability for resistance to Fusarium wilt and for the interest agronomic characteristics among the accessions evaluated. The most promising accessions were BGH-Univasf 40, 169, 177 and 210 for use in future hybridizations and BGH-Univasf 76, 128 and 185 of *C. lanatus* var. *citroides* can be used as rootstocks.

Keywords: Genetic diversity; *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; *Citrullus lanatus*; Genetic Resistance

5.1 INTRODUÇÃO

O cultivo da melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] é amplamente difundido por diferentes grupos de produtores em diversos países (Paris 2015, Pereira et al. 2017, Singh et al. 2017). Ao longo dos anos no cultivo da melancia, a seleção de plantas que possuíssem características desejáveis levou ao desenvolvimento de diversas cultivares. No entanto, a seleção realizada provocou a redução na variabilidade existente entre as cultivares comerciais. Esse estreitamento da base genética ocasionou então a perda de alelos, tais como os que conferem resistência às doenças que ocorrem na melancia (Levi et al. 2001, Meru et al. 2016).

Entre essas doenças está a fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, que provoca danos em cultivos nos mais diversos países (Zhang et al. 2015). A doença pode infectar a planta nos diferentes estádios de desenvolvimento causando obstrução vascular de raízes e hastes, chegando a provocar a morte da planta. O patógeno é um fungo habitante do solo e como produz estruturas de resistência, os clamidósporos, pode persistir no solo por muitos anos (Zhang et al. 2005, Lü et al. 2014) o que dificulta o controle da doença. A resistência genética é a mais eficiente e desejável forma de controle de doenças e devido a isso, a resistência à fusariose tem sido tema de diversas pesquisas (Meru e McGregor, 2016, Branham et al. 2017).

A busca por fontes de resistência nos germoplasmas é uma das alternativas mais promissoras para estudos envolvendo a resistência a doenças. De acordo com Davies e Allender (2017), outra alternativa para busca de fontes de resistência são os parentes silvestres e os indivíduos autóctones existentes para cada espécie. A esses pode-se adicionar os materiais cultivados por grupos de agricultores com sistema de produção diferenciado de melancia. É o que ocorre na melancia na região do nordeste brasileiro, onde por vários anos a melancia tem sido cultivada na agricultura tradicional. Nesse tipo de cultivo, os produtores mantêm um sistema de constante troca de sementes entre si, o que tem promovido conservação de variabilidade para diferentes características de melancia (Romão 2000, Queiróz 2004).

O conhecimento da variabilidade de um germoplasma é feito mediante a caracterização do material nele existente. Com isso tem-se o conhecimento dos caracteres de interesse agrônômico, como a resistência a doenças tornando

possível o uso do germoplasma no desenvolvimento de cultivares resistentes. Dessa forma o objetivo desse estudo foi avaliar a reação de acessos de melancia coletados na agricultura tradicional e entre os acessos resistentes, realizar a caracterização morfoagronômica dos que apresentarem as menores notas de reação à inoculação.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Avaliação da reação dos acessos de melancia inoculados com isolado de *F. oxysporum* f. sp. *niveum*

A produção do inóculo e as inoculações foram realizadas nos Laboratórios do Colegiado de Engenharia Agrônômica e, a condução das plantas em ambiente protegido, na Universidade Federal do Vale do São Francisco em Petrolina-PE.

Para a inoculação foi utilizado um isolado (FON-10) de cultura monospórica do fungo *F. oxysporum* f. sp. *niveum*. O isolado foi repicado em placas de petri com meio BDA. As placas foram incubadas em BOD a 25°C por sete dias. O meio líquido usado para desenvolvimento de micro e macroconídios foi a base de batata e sacarose (BS), preparado em Erlenmeyer 250 mL autoclavados por 15 minutos. Após resfriamento, adicionou-se três discos de micélios com aproximadamente 3 mm de diâmetro. O Erlenmeyer foi posteriormente colocado em mesa de rotação contínua a 130 rpm durante quatro dias para crescimento e esporulação homogênea do fungo.

O substrato usado para semeio e inoculação foi vermiculita enriquecida com 2 mL de meio BS para cada grama de vermiculita seca, posta em sacos plásticos e autoclavados por uma hora no primeiro dia e por 30 minutos no segundo dia. A infestação do substrato foi realizada com a adição de 10 mL da suspensão para cada saco com vermiculita. Os sacos foram fechados e mantidos para incubação em bancada por 21 dias, com homogeneização para melhor distribuição da produção de clamidósporos. Após esse período os sacos foram mantidos para secar sob temperatura entre 26 e 30 °C por 19 dias com a abertura fechada com papel filtro.

Foram usados para inoculação 55 acessos de melancia de origem da agricultura tradicional conservados no Banco de Germoplasma de Hortalças da Univasf (BGH/UNIVASF) e da cultivar comercial Sugar Baby como testemunha, sem inoculação e com inoculação por ser padrão de suscetibilidade a *Fon* (Zhou et al. 2010). A inoculação ocorreu com o semeio das sementes em copos descartáveis de

250 mL contendo substrato infestado com clamidósporos. Foram usadas cinco repetições para cada tratamento, o semeio da testemunha sem inoculação foi em substrato somente enriquecido com caldo BS mas sem inóculo.

Após o semeio as plantas foram mantidas em sala com iluminação contínua por quatro dias e, após levados para ambiente protegido com telado de sombrite 50% com irrigação diária até a avaliação. A avaliação ocorreu 22 dias após a inoculação, usando escala de notas (Dias et al. 2002). A classificação da reação foi de acordo com Nascimento et al. (1995), em duas classes, resistente quando a média das notas fosse inferior ou igual a 2 e suscetível quando superior a 2. Após a avaliação os 12 acessos com menores notas entre os resistentes, nota média ≤ 1 , foram escolhidos para caracterização morfoagronômica em campo.

5.2.2 A condução do experimento em campo

A condução do experimento em campo foi na área de produção agrícola no Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), em Petrolina-PE (9° 19' 10" S; 40° 33' 39" W; altitude média de 376 m), Segundo a classificação de Köppen, o clima da região apresenta-se como tropical semiárido, tipo BSh', caracterizado por precipitações escassas e irregulares, com chuvas no verão e forte evaporação devido ocorrência de as altas temperaturas.

O experimento foi conduzido em duas safras, entre os meses de abril e agosto de 2016 e outubro de 2016 a janeiro de 2017. Os dados climáticos (temperatura média do ar e umidade relativa) foram obtidos na estação meteorológica automática da UNIVASF/CCA (Fig. 1) durante o desenvolvimento da cultura.

Foram avaliados nove acessos de origem da agricultura tradicional mais três de melancia forrageira (espécie *C. lanatus* var. *citroides*) classificados como resistentes nas inoculações com *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, mais as duas cultivares comerciais como testemunhas, Sugar Baby suscetível a todas as raças de *Fon* e Charleston Gray resistente à raça 0 de *Fon*.

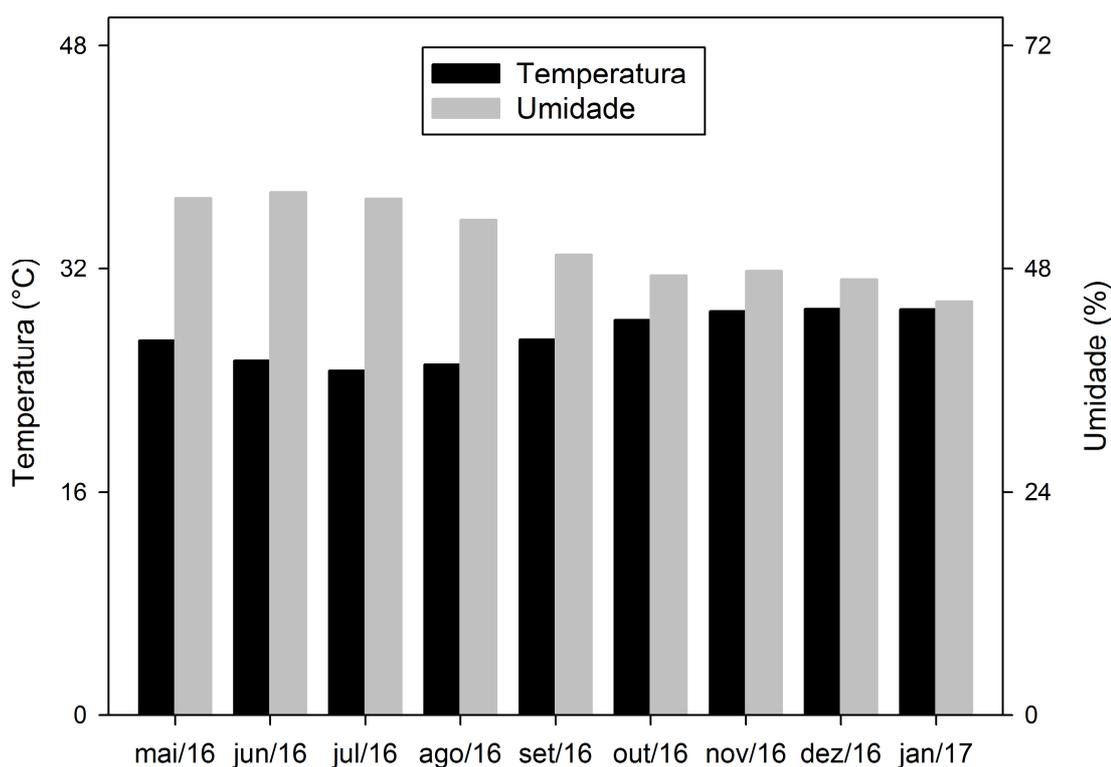


Fig. 1 - Dados referentes a temperatura média (°C) e umidade relativa média (%) referentes as duas safras, primeiras entre os meses de maio/16 a agosto/16 e a segunda entre outubro/16 a janeiro/2017. FONTE: LabMet – Univasf.

As plantas foram obtidas mediante produção de mudas em bandejas plásticas e usando substrato comercial para hortaliças. O transplante das mudas ocorreu no momento em que as plantas apresentavam duas folhas definitivas completamente desenvolvidas. Nas duas safras foi adotado delineamento em blocos casualizados, com três repetições e parcelas com cinco plantas úteis. O espaçamento adotado foi 0,80 metros entre plantas e 3,00 m entre linhas de plantio.

No preparo da área, antes de cada plantio, houve a incorporação de esterco no solo (2 L m^{-1}). A irrigação das plantas foi feita com método de irrigação localizada, usando sistema de gotejamento, e utilizando o sistema para realizar as fertirrigações necessárias durante cada ciclo. No manejo de pragas e doenças, foram realizados os tratamentos culturais exigidos pela cultura como aplicação de defensivos para manejo de insetos como mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e pulgões (*Aphis gossypii*) e do fungo oídio (*Phodosphaera xanthii*).

Na primeira safra durante o período de floração, ocorreram polinizações controladas para realização de autofecundação, visando a multiplicação de sementes

dos acessos e na segunda safra ocorreu polinização livre. Os frutos foram colhidos entre 30 e 35 dias após a autofecundação no primeiro ciclo e no segundo com 30 a 35 dias após a abertura da primeira flor feminina, seguindo-se após da colheita, a caracterização.

5.2.3 Caracterização morfológica dos acessos

A caracterização dos acessos foi realizada usando 48 descritores, dos quais 20 quantitativos e 28 qualitativos. Dos descritores morfoagronômicos 28 qualitativos mais seis quantitativos foram escolhidos dentre os listados pela UPOV (2005). Os qualitativos selecionados foram: forma do cotilédone (FCO), cor do cotilédone (CCO), tamanho do cotilédone (TCO), tamanho do ovário (TO), pubescência da flor feminina (PFF), formato da seção longitudinal (FSL), coloração da epiderme (CE), Intensidade da coloração da epiderme (ICE), tamanho da inserção do pedúnculo (TIP), depressão da região da base (DB), depressão da região da base (DA), Formato da zona apical (FZA), tamanho da cicatriz do pistilo (TCP), distribuição de ranhuras (DR), grau das ranhuras (GR), presença de listras (LT), tipo de listras (TL), intensidade da cor das listras (ICL), largura das listras (LL), intensidade de mosqueado (IM), coloração da polpa (CP), intensidade de coloração da polpa (ICP), tamanho das sementes (TAM), cor de fundo do tegumento (CFT), presença de cor secundária no tegumento (CST), distribuição da cor secundária no tegumento (DCS), relação entre a cor de fundo e a cor secundária (RCF), presença de manchas no hilo (MH), com uso da escala de notas para cada variável segundo UPOV (2005), com exceção de GR, TL, ICL, LL, DCS e RCF para os quais houve modificação com adição de uma nota correspondente à ausência da característica. As variáveis quantitativas selecionadas para avaliação foram: número de dias até a abertura de flor masculina em ao menos em 50% das plantas (MFM), número de dias até a abertura de flor feminina em ao menos em 50% das plantas (MFF), massa do fruto caracterizado (MFC) e espessura da casca lateral (ECL) esses presentes na lista da UPOV (2005), os demais descritores quantitativos foram: porcentagem de emergência [E(%)], Índice de velocidade de emergência (IVE), número de dias até abertura da primeira flor masculina (PFM), número de dias até abertura de flor masculina na última planta (UFM), número de dias até abertura da primeira flor feminina (PFF), número de dias até abertura de flor feminina na última planta (UFF), diâmetro transversal do fruto (DT), diâmetro longitudinal do fruto (DL), diâmetro da

inserção do pedúnculo (DIP), espessura da casca na região basal (ECB), espessura da casca na região do ápice (ECA), sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), produção de frutos (PROD), produtividade (REND), comprimento de ramo (CR) e massa de 100 sementes (P100) (Souza et al. 2005, Silva et al. 2006).

5.2.4 Análises estatísticas

Os dados referentes as variáveis quantitativas foram inicialmente testados quanto a homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett e quanto a distribuição normal dos resíduos pelo teste Kolmogorov-Smirnov. As variáveis que não atenderam as citadas pressuposições foram transformadas usando $\log x$. A Anova não foi realizada para variáveis que não atenderam as pressuposições mesmo após a transformação dos dados. As análises de variância foram realizadas para cada safra isoladamente e na análise conjunta.

Para determinação da diversidade genética foram adotadas estratégias para obtenção da dissimilaridade genética de acordo Lima (2016). Com as variáveis quantitativas que atenderam as pressuposições da Anova, a matriz de dissimilaridade foi obtida pela distância euclidiana média padronizada. Com os dados qualitativos obteve-se a frequência de cada uma das categorias entre as variáveis e obteve-se a matriz de dissimilaridade usando a distância euclidiana média padronizada. Os acessos foram agrupados usando o método hierárquico do vizinho mais distante e o método de otimização de Tocher.

As análises estatísticas foram realizadas usando os programas estatísticos GENES (Cruz et al. 2013) e R Core Team (2016). Os gráficos foram confeccionados usando o software SigmaPlot® (version 10.0, Systat Software, Inc., San Jose, CA).

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Reação dos acessos inoculados

Dentre os acessos inoculados 42 foram classificados como resistentes à fusariose segundo o critério adotado para médias iguais ou inferiores a 2 (Tabela 1). Cinco dos acessos resistentes obtiveram o menor valor de nota média observado, que foi de 0,67. Dos 13 acessos classificados como suscetíveis (Tabela 1), dois obtiveram média superior a cultivar Sugar Baby, que é suscetível as quatro raças conhecidas de *F. oxysporum f. sp. niveum* (Zhou et al. 2010).

Tabela 1 - Nota média e desvio padrão da reação dos 55 acessos de melancia mais a cultivar Sugar Baby inoculados com isolado de *F. oxysporum* f. sp *niveum*

Acessos	Local de coleta	Média	Reação	Acessos	Local de coleta	Média	Reação
BGH 40¹	Petrolina-PE	0,67 ± 0,58	R	BGH 368	Santa Filomena-PE	1,67 ± 0,58	R
BGH 76	Petrolina-PE	0,67 ± 0,58	R	BGH 355	Santa Filomena-PE	1,75 ± 0,96	R
BGH 169	Dormentes -PE	0,67 ± 0,58	R	BGH 391	Petrolina- PE	1,75 ± 0,50	R
BGH 190	Afrânio-PE	0,67 ± 0,58	R	BGH 68	Petrolina- PE	1,80 ± 0,84	R
BGH 210	Afrânio-PE	0,67 ± 0,58	R	BGH 180	Dormentes-PE	1,80 ± 1,30	R
BGH 174	Dormentes-PE	0,75 ± 0,50	R	BGH 392	Petrolina- PE	1,80 ± 1,64	R
BGH 116	Santa M ^a . B. Vista-PE	1,00 ± 0,00	R	BGH 26	Petrolina- PE	2,00 ± 0,00	R
BGH 128	Lagoa Grande-PE	1,00 ± 0,58	R	BGH 28	Petrolina- PE	2,00 ± 1,41	R
BGH 185	Dormentes-PE	1,00 ± 0,58	R	BGH 121	Santa M ^a . B. Vista-PE	2,00 ± 0,82	R
BGH 321	Ouricuri-PE	1,00 ± 0,00	R	BGH 399	Petrolina- PE	2,00 ± 1,00	R
BGH 395	Petrolina-PE	1,00 ± 0,00	R	BGH 400	Petrolina- PE	2,00 ± 0,00	R
BGH 398	Petrolina-PE	1,00 ± 0,00	R	BGH 401	Petrolina- PE	2,00 ± 0,71	R
BGH 177	Dormentes-PE	1,25 ± 0,50	R	BGH 411	Dormentes-PE	2,00 ± 0,71	R
BGH 92	-	1,25 ± 0,50	R	BGH 412	-	2,00 ± 1,00	R
BGH 320	Ouricuri-PE	1,25 ± 0,50	R	BGH 117	Santa M ^a . B. Vista-PE	2,20 ± 0,45	S
BGH 403	Petrolina-PE	1,25 ± 0,96	R	BGH 107	Petrolina- PE	2,25 ± 1,26	S
BGH 407	Afrânio-PE	1,33 ± 0,58	R	BGH 319	Ouricuri-PE	2,25 ± 0,50	S
BGH 218	Afrânio-PE	1,40 ± 0,55	R	BGH 147	Lagoa Grande-PE	2,33 ± 0,58	S
BGH 232	Afrânio-PE	1,40 ± 0,55	R	BGH 325	Ouricuri-PE	2,33 ± 0,58	S
BGH 23	Petrolina-PE	1,50 ± 0,58	R	BGH 389	Santa Filomena-PE	2,33 ± 0,58	S
BGH 27	Petrolina-PE	1,50 ± 0,58	R	BGH 105	Petrolina- PE	2,40 ± 1,52	S
BGH 50	Petrolina-PE	1,50 ± 0,58	R	BGH 65	Petrolina- PE	2,60 ± 1,34	S
BGH 109	Petrolina-PE	1,50 ± 1,00	R	BGH 390	Petrolina- PE	2,60 ± 0,55	S
BGH 239	Afrânio-PE	1,50 ± 0,58	R	BGH 67	Petrolina- PE	2,67 ± 1,53	S
BGH 356	Santa Filomena-PE	1,50 ± 0,58	R	BGH 357	Santa Filomena-PE	2,67 ± 0,58	S
BGH 404	Petrolina-PE	1,50 ± 0,58	R	BGH 393	Petrolina- PE	2,80 ± 0,45	S
BGH 394	Petrolina-PE	1,60 ± 1,34	R	BGH 396	Petrolina- PE	2,80 ± 0,45	S
BGH 66	Petrolina-PE	1,67 ± 0,58	R	S. Baby	-	2,75 ± 0,96	S

¹Acessos com média ≤ 2 classificados com resistentes (R) e média > 2 suscetíveis (S) à fusariose; ²Os acessos destacados em negrito foram os escolhidos para caracterização morfoagronômica;

5.3.2 Caracterização morfoagronômica dos acessos resistentes

Os valores da relação entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo (QMr^+/QMr^-) da análise individual oscilaram entre 1,03 (abertura da última flor feminina) e 12,86 (diâmetro da inserção do pedúnculo). A interação entre genótipos x ambientes foi significativa ($p < 0,05$) para 12 variáveis (Tabela 2). Os valores de coeficientes de variação (CV), variaram entre 3,98% e 31,20%, onde as menores

amplitudes observadas ocorreram nas variáveis referentes ao florescimento das plantas. A acurácia de seleção (AS) dos experimentos oscilou entre 0,38 e 0,99, sendo que os menores valores foram observados nas variáveis porcentagem de emergência e Índice de velocidade de germinação, cujo efeito de significância dos genótipos foi não significativo.

A análise dos caracteres que apresentaram diferença não significativa para a interação entre acessos e ambiente foi feita de acordo com a média dos ambientes. Para as cinco variáveis a Safra 1 foi superior a Safra 2 (Tabela 3).

As variáveis, índice de velocidade de emergência (IVE) e porcentagem de emergência [(E%)] não tiveram efeito da interação entre genótipos x ambientes, assim como não diferiram estatisticamente quanto aos acessos (Tabela 2). Os valores da porcentagem de germinação variaram entre 82,78% e 100% na Safra 1 e 83,8% e 100% na Safra 2. O índice de velocidade de germinação foi igual entre os acessos na primeira safra. Já na segunda safra, 11 acessos tiveram maior índice e diferiram significativamente dos acessos BGH 116, BGH 185 e BGH 210 que apresentaram menores índices de velocidade de germinação.

Tabela 2 - Resumo da ANOVA para 20 caracteres quantitativos avaliados, Quadrado Médio dos acessos (QM_G), Coeficiente de variação dos caracteres nas safras individualmente (Ind.) e na análise conjunta (Conj.), estimativa do F calculado para os acessos, acurácia de seleção dos CVs, relação quadrado médio do resíduo máximo pelo quadrado do resíduo mínimo (QMr⁺/QMr⁻), significância dos caracteres para acessos na análise conjunta dos experimentos e significância da interação acessos x ambiente.

Características	Safr	QM _G	Significância Tratamentos	QMr ⁺ /QMr ⁻	CV (%)		F	AS	Interação GxA
					Ind.	Conj.			
E (%)	1 ²	67,58	ns	1,14	8,19	8,37	1,17	0,38	ns
	2 ²	89,77			9,15		1,37	0,52	
IVE	1	0,03 ^{ns}	ns	1,92	14,05	12,99	0,55	-	ns
	2	0,14 ^{**}			11,44		4,54	0,88	
PFM (dias)	1 ²	25,36	**	1,12	4,04	3,98	8,12	0,94	*
	2 ²	30,54			3,94		10,99	0,95	
MFM (dias)	1 ²	33,12	**	4,60	5,22	4,14	5,79	0,91	ns
	2	23,92 ^{**}			2,52		19,23	0,97	
UFM (dias)	1	28,84 ^{ns}	*	3,19	8,48	7,01	1,69	0,64	ns
	2	31,91 ^{**}			4,94		5,97	0,91	
PFF (dias) ¹	1 ²	77,79	**	5,26	8,09	6,53	4,44	0,88	*
	2 ²	46,55			3,87		13,98	0,96	
MFF (dias)	1	64,76 ^{**}	**	2,61	5,84	5,16	5,95	0,91	ns
	2	52,65 ^{**}			4,10		12,65	0,96	
UFF (dias)	1	59,53 ^{**}	**	1,03	4,20	4,40	9,34	0,94	ns
	2	61,15 ^{**}			4,63		9,92	0,95	
MFC (kg) ¹	1	23,95 ^{**}	**	2,32	12,86	16,54	63,88	0,99	**
	2 ²	10,70			19,53		12,27	0,96	
DT (cm)	1	16,91 ^{**}	**	1,22	6,19	5,84	14,93	0,97	**
	2	13,72 ^{**}			5,48		14,83	0,97	
DL (cm) ¹	1	215,43 ^{**}	**	1,85	7,70	8,95	46,24	0,99	**
	2 ²	167,80			9,94		19,52	0,97	
DIP (cm)	1 ²	0,36	**	12,74	30,86	31,20	2,03	0,71	ns
	2	0,30 ^{**}			9,47		21,25	0,98	
ECL (cm)	1 ¹	1,32 ^{**}	**	1,17	14,65	14,23	30,02	0,98	**
	2 ¹	0,26 ^{**}			13,79		6,97	0,93	
ECB (cm)	1	0,51 ^{**}	*	1,87	16,46	14,60	5,16	0,90	**
	2	0,35 ^{**}			12,35		6,70	0,92	
ECA (cm)	1	1,20 ^{**}	*	1,10	18,48	18,91	23,50	0,98	**
	2 ²	0,15 ¹			19,38		3,17	0,83	
°Brix ¹	1	11,59 ^{**}	**	1,56	8,04	8,76	52,46	0,99	**
	2	14,14 ^{**}			9,32		41,05	0,99	
PROD (kg)	1 ²	361,14 ^{**}	*	3,63	25,75	23,13	20,28	0,98	**
	2 ²	50,73 ^{**}			17,37		10,34	0,95	
REND (kg ha ⁻¹)	1 ²	245802316,22	*	3,63	25,75	23,13	20,28	0,98	**
	2 ²	448838477,24			17,37		10,34	0,95	
CR (m) ¹	1	12,19 ^{**}	**	4,08	17,21	14,11	11,03	0,95	ns
	2	7,01 ^{**}			9,21		25,88	0,98	
P100 (g) ¹	1	34,82 ^{**}	**	1,92	12,50	10,55	32,63	0,98	**
	2 ¹	15,11 ^{**}			8,46		27,19	0,98	

¹Dados transformados; ²Dados que não atenderam as pressuposições da Anova após a transformação

Tabela 3 - Média dos ambientes para as variáveis: índice de velocidade de germinação (IVE), número de dias até a abertura da última flor masculina (UFM), número de dias até a abertura de 50% das flores femininas (MFF) e número de dias até a abertura da última flor feminina e comprimento de ramo (CR)

Safra	IVE	UFM	MFF	UFF	CR
1	1,72 a ¹	48,69 a	56,50 a	60,17 a	6,11 a
2	1,52 b	46,74 b	49,79 b	53,64 b	5,65 b
CV (%)	12,99	7,01	5,16	4,4	14,11

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

A massa do fruto caracterizado diferiu estatisticamente entre safras para os acessos BGH 40, BGH 185, BGH 116 e para a cultivar Charleston Gray (Tabela 4). Os acessos BGH 128 e BGH 185 foram superiores as demais quanto a massas na Safra 1, enquanto na segunda safra foram agrupadas além dessas a cultivar Charleston Gray e BGH 76. Em ambas safras os acessos BGH 169, BGH 177 e BGH 210 agruparam-se com valores de massa de fruto intermediário diferindo estatisticamente do grupo formado por acessos de melancia forrageira com maiores valores e do grupo que apresentou acessos de menor média, no qual os acessos BGH 321, BGH 395 e BGH 398 agruparam-se nas duas safras (Tabela 4).

Na avaliação das demais variáveis relacionadas ao fruto, observou-se diferença entre safras para o diâmetro transversal (DT) para os acessos BGH 169, BGH 177 e BGH 185 e para diâmetro longitudinal (DL) BGH 116, BGH 185 e 'Charleston Gray' diferiram entre safras (Tabela 4). Apenas os acessos BGH 76, BGH 128 e BGH 185 mantiveram-se no mesmo agrupamento para a variável DT, para o diâmetro lateral (DL) somente BGH 128 e BGH 185 agruparam-se no mesmo grupo nas safras. Para essa variável os acessos BGH 169 e BGH 177 foram agrupados em grupo com valores intermediários, diferindo estatisticamente de BGH 321 e BGH 398 obtiveram os menores valores para o diâmetro transversal nas duas safras (Fig. 2).

Na espessura de casca lateral (ECL) os acessos BGH 40, BGH 76, BGH 128 e BGH 185 diferiram estatisticamente entre safras (Tabela 4). Os acessos foram agrupados em três grupos na Safra 1 e dois na Safra dois quanto a análise de ECL,

onde, com exceção BGH 128 os demais acessos foram agrupados de forma distinta para cada safra (Tabela 4). Na primeira safra as espessuras de casca lateral de nove acessos mais as duas cultivares comerciais, todos da espécie *C. lanatus* var. *lanatus* foram agrupados pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$) em um único grupo com os menores valores para a variável. Na segunda safra as espécies forrageiras e o acesso BGH 169 apresentaram valores superiores de espessura de casca lateral. Na espessura de casca basal (ECB) observou-se diferença para os acessos BGH 40, BGH 76 e BGH 185, o acesso BGH 128 foi agrupado nas duas safras entre o grupo com maior espessura de casa basal. Na segunda safra os acessos da espécie *C. lanatus* var. *lanatus*, BGH 40 e BGH 174 agruparam-se entre os três com maior valor de ECB. Além das duas cultivares comerciais, os acessos BGH 177, BGH 321, BGH 395 e BGH 398 apresentaram menor espessura de casca basal nas duas safras (Tabela 4).

A interação genótipos x ambientes teve efeito significativo no teor de sólidos solúveis (°Brix) alterando essa variável para quatro acessos (Tabela 4). Para os acessos BGH 40 e BGH 116 assim como para ‘Charleston Gray’ o valor dessa variável foi maior na segunda safra, já para BGH 398, houve redução de °Brix em relação a primeira safra. A cultivar comercial Sugar Baby obteve o maior valor de para essa variável nas duas safras, sendo que na Safra 2 não diferiu estatisticamente de ‘Charleston Gray’ e do acesso BGH 40. Nas duas safras os acessos BGH 169, BGH 177 e BGH 210 obtiveram o segundo melhor valor médio de °Brix, sendo que foram inferiores apenas a ‘Sugar Baby’ na primeira safra e ‘Sugar Baby’, ‘Charleston Gray’ e o acesso BGH 40 na segunda safra.

Sete acessos diferiram estatisticamente entre as safras para a variável peso de sementes (P100). O acesso BGH 40 apresentou o menor tamanho de sementes nas duas safras, sendo estatisticamente igual ao tamanho das sementes de ‘Sugar Baby’.

Tabela 4 - Médias das variáveis que apresentaram valor significativo para a interação genótipos x ambientes: massa do fruto caracterizado (MFC), diâmetros transversal (DT) e longitudinal (DL), espessuras de casca nas regiões lateral (ECL) e basal (ECB), sólidos solúveis (°Brix) e peso de 100 sementes (P100) para 12 acessos mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG)

Acessos	MFC (kg)		DT (cm)		DL (cm)		ECL (cm)		ECB (cm)		°Brix		P100 (g)	
	Safra 1	Safra 2	Safra 1	Safra 2	Safra 1	Safra 2	Safra 1	Safra 2	Safra 1	Safra 2	Safra 1	Safra 2	Safra 1	Safra 2
BGH 40 ¹	2,76 Ad ³	3,85 Ac	16,58 Bc	18,41 Aa	17,24 Ae	21,51 Ab	1,24 Bc	1,63 Aa	1,99 Bb	2,51 Aa	7,09 Bb	8,28 Aa	3,73 Bd	5,88 Ac
BGH 76 ²	7,98 Ab	7,02 Aa	20,48 Aa	19,97 Aa	35,26 Ab	34,41 Aa	2,19 Ab	1,83 Ba	2,07 Ab	1,57 Bb	2,55 Ad	2,51 Ad	12,38 Ab	12,73 Aa
BGH 116 ¹	3,02 Bd	4,73 Ac	15,07 Ad	16,41 Ab	27,90 Bc	37,87 Aa	1,00 Ac	1,30 Ab	1,92 Ab	2,06 Aa	5,15 Bc	7,18 Ab	6,57 Bc	8,43 Ab
BGH 128 ²	10,00 Aa	7,68 Ba	20,12 Aa	20,57 Aa	42,86 Aa	36,81 Ba	2,52 Ab	1,99 Ba	2,53 Aa	2,31 Aa	2,66 Ad	3,17 Ad	13,82 Ab	12,23 Ba
BGH 169 ¹	4,95 Ac	5,43 Ab	17,60 Ac	17,15 Ab	34,05 Ab	35,27 Aa	1,37 Ac	1,49 Ab	2,19 Ab	1,95 Ab	7,49 Ab	7,31 Ab	6,82 Bc	8,65 Ab
BGH 174 ¹	3,59 Ad	3,42 Ac	18,77 Ab	18,94 Aa	18,25 Ae	18,17 Ab	1,15 Ac	1,18 Ab	2,03 Ab	2,33 Aa	5,79 Ac	6,11 Ac	7,61 Ac	8,49 Ab
BGH 177 ¹	4,49 Ac	4,72 Ac	17,21 Ac	16,67 Ab	30,21 Ac	34,25 Aa	1,11 Ac	1,22 Ab	1,68 Ac	1,80 Ab	7,69 Ab	7,40 Ab	6,36 Bc	9,09 Ab
BGH 185 ²	10,83 Aa	7,09 Ba	21,62 Aa	19,26 Ba	42,55 Aa	35,98 Ba	3,07 Aa	1,76 Ba	2,74 Aa	1,87 Bb	2,74 Ad	2,81 Ad	15,27 Aa	11,53 Ba
BGH 210 ¹	4,72 Ac	4,89 Ac	17,39 Ac	17,67 Aa	29,85 Ac	31,34 Aa	1,09 Ac	1,34 Ab	2,08 Ab	1,77 Ab	7,41 Ab	7,21 Ab	6,97 Bc	8,99 Ab
BGH 321 ¹	2,08 Ad	1,93 Ad	13,75 Ad	13,01 Ac	22,02 Ad	23,16 Ab	1,13 Ac	1,20 Ab	1,62 Ac	1,56 Ab	5,78 Ac	6,46 Ac	7,67 Ac	7,83 Ab
BGH 395 ¹	2,87 Ad	2,73 Ad	15,09 Ad	15,36 Ab	24,49 Ad	22,51 Ab	1,12 Ac	1,07 Ab	1,51 Ac	1,29 Ab	6,10 Ac	5,63 Ac	7,86 Ac	7,70 Ab
BGH 398 ¹	2,30 Ad	2,47 Ad	14,69 Ad	14,69 Ac	21,09 Ad	22,55 Ab	0,97 Ac	1,05 Ab	1,50 Ac	1,62 Ab	6,70 Ac	5,77 Bc	7,89 Ac	7,69 Ab
SB	2,92 Ad	3,78 Ac	17,31 Ac	18,89 Aa	18,18 Ae	20,88 Ab	0,87 Ac	1,17 Ab	1,39 Ac	1,72 Ab	8,70 Aa	9,46 Aa	3,65 Ad	4,55 Ac
CG	4,15 Bc	7,17 Aa	15,16 Bd	18,69 Aa	28,39 Bc	38,13 Aa	1,21 Ac	1,43 Ab	1,43 Ac	1,67 Ab	5,97 Bc	8,83 Aa	9,12 Ac	9,47 Ab
CV (%)	16,55		5,84		8,95		14,23		14,6		8,76		10,55	
F	7,66		9,34		10,16		4,26		3,13		15,52		10,57	

¹Acesso da espécie *Citrullus lanatus* var. *lanatus*; ²Acesso da espécie *Citrullus lanatus* var. *citroides*; ³Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

O tempo para abertura da primeira flor masculina (PMF) variou entre 37,33 e 48 dias na primeira safra e 35 e 46,33 dias na segunda (Tabela 5). Em ambas safras a cultivar Sugar Baby apresentou o menor valor para a variável. Na avaliação do número de dias até o florescimento de pelo menos 50% das plantas com flores masculinas (MFM) observou-se variação entre 38 a 50 dias na primeira safra (Tabela 5). No segundo ciclo de cultivo a variação entre 37,33 e 48 dias, as cultivares comerciais necessitaram de menos dias para atingir o florescimento médio, sendo 'Sugar Baby' estatisticamente superior aos demais tratamentos. Ainda para as flores masculinas, a contagem do número de dias até o florescimento da última planta (UFM), não apresentou diferença significativa para os tratamentos da primeira safra (Tabela 5). Já na segunda safra, houve a formação de três grupos de médias pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$), em que a cultivar Sugar Baby levou menos tempo para o florescimento pleno, 38,33 dias. Os acessos BGH 116 e BGH 177 foram estatisticamente iguais a 'Charleston Gray' com o segundo menor tempo médio para florescimento (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias das safras individualmente de 12 acessos mais de duas cultivares comerciais do número de dias até: florescimento de 50% das plantas com flores masculinas (MFM); florescimento da última planta com flores masculinas (UFM); abertura da primeira flor feminina (PFF); florescimento de 50% das plantas com flores femininas (MFF) e; florescimento da última planta com flores femininas (UFF)

Acessos	MFM		UFM		PFF		MFF		UFF	
	Exp1 ¹	Exp2	Exp1	Exp2	Exp1	Exp2	Exp1	Exp2	Exp1	Exp2
BGH 40	44,30	45,00 b ²	47,70 a	50,30 a	48,70 b	47,70 b	57,70 a	51,30 b	60,70 b	57,00 a
BGH 76	48,70	47,30 a	52,00 a	50,00 a	54,00 a	50,30 a	58,30 a	52,70 b	62,30 a	56,30 a
BGH 116	47,70	43,00 b	49,70 a	44,00 b	52,30 a	46,00 b	54,70 a	47,30 c	60,00 b	49,00 c
BGH 128	50,00	48,00 a	52,70 a	50,00 a	59,30 a	52,00 a	60,00 a	54,00 a	64,00 a	56,30 a
BGH 169	44,30	43,00 b	50,00 a	46,30 a	52,00 a	44,70 b	56,30 a	48,30 c	60,30 b	54,00 b
BGH 174	46,00	45,30 b	49,00 a	48,00 a	53,00 a	47,70 b	55,00 a	51,00 b	59,30 b	53,30 b
BGH 177	48,00	44,00 b	49,30 a	45,00 b	54,30 a	46,00 b	58,00 a	49,30 c	60,30 b	53,00 b
BGH 185	47,00	48,00 a	48,00 a	50,30 a	47,00 b	53,30 a	60,70 a	57,00 a	64,30 a	59,70 a
BGH 210	43,00	44,70 b	43,30 a	47,30 a	53,70 a	46,30 b	58,00 a	48,30 c	61,30 b	52,00 b
BGH 321	48,30	44,00 b	50,30 a	48,00 a	51,00 a	44,00 b	59,70 a	48,30 c	64,00 a	54,00 b
BGH 395	48,70	44,70 b	52,00 a	46,70 a	58,70 a	52,00 a	61,00 a	54,30 a	64,30 a	59,00 a
BGH 398	46,30	44,30 b	48,70 a	45,30 b	54,30 a	48,00 b	57,00 a	49,30 c	59,30 b	54,30 b
Sugar Baby	38,00	37,30 d	41,70 a	38,30 c	40,00 b	38,30 c	43,00 b	40,00 d	48,00 d	41,70 d
Charleston Gray	41,30	40,70 c	47,30 a	44,70 b	45,70 b	44,30 b	51,70 a	45,70 c	54,00 c	51,30 b

¹Dados não atendem as pressuposições da Anova; ²Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Os acessos BGH 174 e BGH 116 apresentaram os maiores e menores diâmetros da inserção do pedúnculo (DIP), respectivamente nas duas safras (Fig. 2-A). Na primeira safra as espessuras de casca na região apical (ECA) de 11 acessos da espécie *C. lanatus* var. *lanatus* foram agrupados pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$) em um único grupo com os menores valores para a variável (Fig. 2-B).

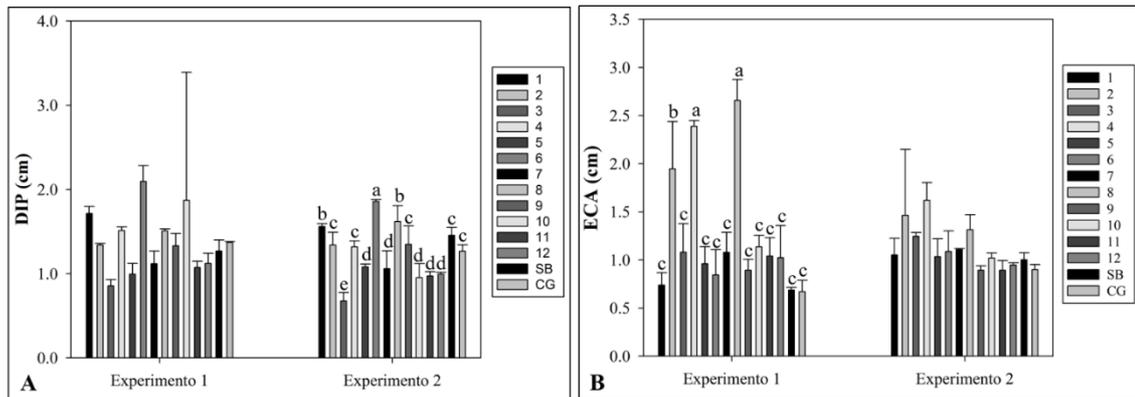


Fig. 2 - Análise das médias de 12 acessos de melancia mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG) nas duas safras para: A - diâmetro da inserção do pedúnculo (DIP) e B - espessura de cascas na região apical (ECA). As médias de acessos com mesma letra em cada safra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Descrição dos acessos: 1 – (BGH 40); 2 – (BGH 76); 3 – (BGH 116); 4 – (BGH 128); 5 - (BGH 169); 6 – (BGH 174); 7 – (BGH 177); 8 – (BGH 185); 9 – (BGH 210); 10 – (BGH 321); 11 – (BGH 395) e; 12 - (BGH 398)

Os acessos BGH 76, BGH 128 e BGH 185 apresentaram as três maiores médias relativas à produção nas duas safras. A cultivar Sugar Baby apresentou os menores valores de produtividade para ambas safras (Fig. 3-A). Dentre os acessos da espécie *C. lanatus* var. *lanatus* o acesso BGH 169 ficou entre os cinco mais produtivos nas duas safras. A média de produtividade da primeira safra foi numericamente superior a segunda. A amplitude de variação dos valores da primeira safra foi maior que na safra seguinte.

Dos acessos avaliados apenas BGH 40 e BGH 128 não foram agrupados no mesmo grupo para comprimento de ramo (CR) nas duas safras (Fig. 3-B). O acesso BGH 40 que foi agrupado como a segunda menor média de CR na primeira safra obteve a maior média na safra seguinte, pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$).

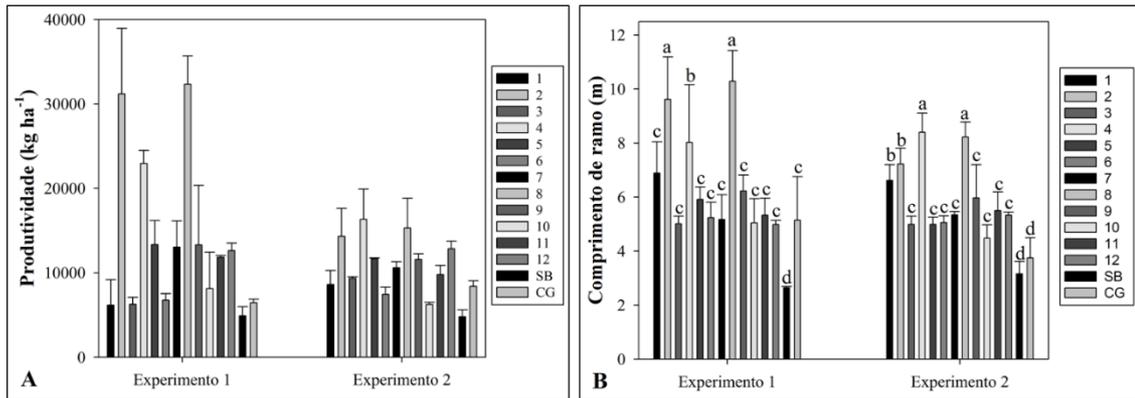


Fig. 3 – Médias de A - produtividade para 12 acessos de melancia mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG) avaliados em duas safras para Produtividade (kg ha⁻¹) e B - Comprimento de ramo. Médias de acessos com mesma letra em cada safra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Descrição dos acessos: 1 – (BGH 40); 2 – (BGH 76); 3 – (BGH 116); 4 – (BGH 128); 5 - (BGH 169); 6 – (BGH 174); 7 – (BGH 177); 8 – (BGH 185); 9 – (BGH 210); 10 – (BGH 321); 11 – (BGH 395) e; 12 - (BGH 398)

5.3.3 Variáveis Qualitativas

As variáveis qualitativas apresentaram variabilidade entre os acessos avaliados. Foram observadas entre 63 e 89 classes de polimórficas entre acessos, os acessos BGH 128 e BGH 185 obtiveram os menores números de classes de variabilidade e o acesso BGH 321 o maior número de classes formadas (Fig. 4). Entre os descritores, mancha no hilo (MH) e intensidade da cor da epiderme apresentaram o menor e o maior número de classes polimórficas, respectivamente.

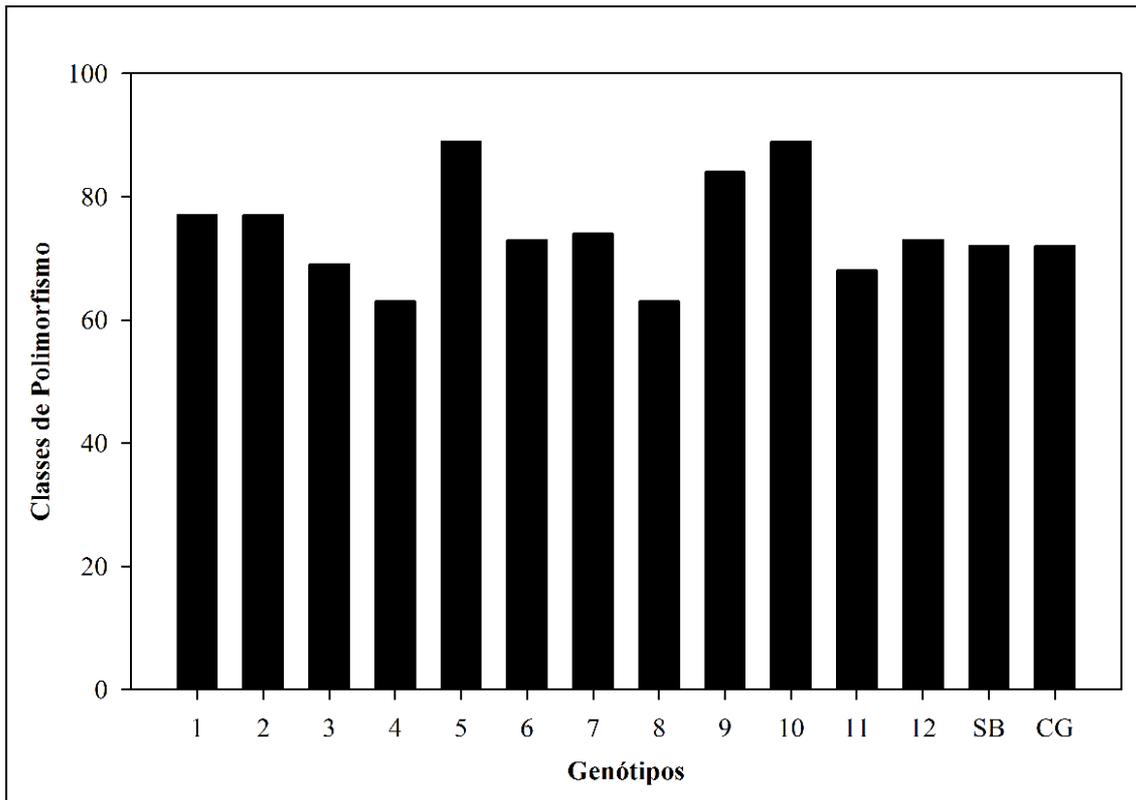


Fig. 4 - Polimorfismo entre os 12 acessos de melancia, 1 – (BGH 40); 2 – (BGH 76); 3 – (BGH 116); 4 – (BGH 128); 5 - (BGH 169); 6 – (BGH 174); 7 – (BGH 177); 8 – (BGH 185); 9 – (BGH 210); 10 – (BGH 321); 11 – (BGH 395) e; 12 - (BGH 398) mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG) usando 28 descritores qualitativos

5.3.4 Análise da diversidade genética

No agrupamento gerado pelo método do vizinho mais distante (Fig. 5) pela análise visual (Milligan, 1981) são formados quatro grupos principais. O primeiro grupo formado pelos acessos BGH 76, BGH 128 e BGH 185; o segundo por BGH 40 e BGH 174; um terceiro grupo com BGH 169, BGH 177, BGH 210, BGH 116, BGH 210, BGH 398 e BGH 395 e; o último composto pelas cultivares comerciais Sugar Baby e Charleston Gray. O valor da correlação cofenética para o agrupamento foi de 0,91.

5.4 DISCUSSÃO

5.4.1 Reação dos acessos inoculados

No presente estudo obteve-se maioria de acessos classificados como resistente à fusariose, reação observada em 76 % dos acessos inoculados (Tabela 1). Essa alta taxa de material resistente demonstra a importância de pequenos produtores na conservação da variabilidade existente para melancia na região Nordeste do Brasil (Romão 2000). Nesse estudo as sementes usadas na avaliação foram provenientes de coletas na agricultura tradicional e de plantas espontâneas. Segundo Romão et al. (2008) nessa região do Brasil, a produção de melancia tem sido feita com adoção de diferentes agrossistemas. Os autores destacam entre esses sistemas, o cultivo de melancias subespontâneas e a melancia cultivada para consumo no núcleo familiar e o cultivo com fins comerciais. Ainda segundo esses autores os dois primeiros sistemas favoreceram a seleção de plantas com dormência para sementes.

Outra característica de interesse nesse tipo de cultivo, é a possibilidade seleção de materiais resistentes a doenças. Segundo Romão (2000) o conjunto de práticas agrícolas adotadas pelos agricultores tradicionais, onde não havia uso de produtos químicos, teria possibilitado a seleção de plantas resistentes a alguns patógenos. A busca por materiais no germoplasma visando desenvolvimento de cultivares resistentes a doenças são frequentes na literatura. Davies e Allender (2017) em levantamento realizado sobre pesquisas com uso dos acessos do banco de germoplasma do UK Vegetable Genebank (UKVGB) verificaram que a resistência a pragas e doenças são os principais tópicos estudados.

No presente estudo os acessos resistentes são fontes para estudos visando o desenvolvimento de cultivares resistentes. A caracterização morfoagronômica dos 42 acessos (Tabela 1) possibilita encontrar entre esses materiais, acessos para uso direto por parte dos agricultores, além de facilitar futuras pesquisas usando algum desses acessos como parentais. É desejável por parte do melhorista que os materiais usados como fontes de resistência tenham características associadas a outras de interesse agrônômico (Yang et al. 2016). Assim haverá ganho de tempo pela redução das etapas para transferência dos *loci* que controlam a resistência à doença.

5.4.2 A caracterização morfoagronômica

Das 20 variáveis quantitativas avaliadas para os 12 acessos e duas cultivares comerciais avaliados em campo, a interação genótipos x ambientes foi significativa para 12 variáveis. Na caracterização morfoagronômica de acessos é desejável que os caracteres avaliados sejam estáveis em diferentes ambientes para que assim a variabilidade observada seja da constituição genética. No entanto, variáveis quantitativas comumente são controladas por vários genes, desta forma é esperado que o efeito de ambiente seja observado (Ramalho et al. 2012).

O ciclo curto é considerado uma das vantagens no cultivo da melancia e, o uso de cultivares precoces é interessante ao produtor por proporcionar retorno financeiro mais rápido. Entre os acessos avaliados, observou-se redução no número de dias para o surgimento da primeira flor feminina na segunda safra, exceto para BGH 185. O surgimento da primeira flor é uma variável que de acordo com Wehner (2008) é influenciada por condições de elevadas temperaturas e intensa luminosidade. No presente estudo, para todas as variáveis avaliadas quanto ao florescimento das plantas, observou-se que a segunda safra foi mais precoce em relação a primeira safra. Calculando-se a diferença de dias entre florescimento da última planta e florescimento da primeira, é possível obter a amplitude do florescimento ocorrida para os dois tipos de flor. Nesse estudo, pode-se verificar que não ocorreu interação entre genótipos x ambientes na amplitude do tempo de florescimento. Para o florescimento masculino não há diferença estatística para acessos ou ambientes. Quanto às flores femininas, a média da diferença de dias foi significativa, e na média dos ambientes, a segunda safra foi estatisticamente inferior. Dessa forma, na segunda safra o surgimento das flores femininas foi mais precoce e em menor amplitude.

A diferença entre o comprimento dos ramos das cultivares e dos acessos exemplifica a importância da domesticação da melancia para algumas características agronômicas. Ramos mais curtos são preferidos devido aos espaçamentos adotados, permitindo maior número de plantas na área de plantio.

Na espessura da casca nas regiões lateral (ECL), basal (ECB) (Tabela 4) e apical (ECA) (Fig. 2) os efeitos da interação representaram aumento da espessura da casca lateral e basal de BGH 40 e redução de espessura de BGH 76 e BGH 185 na segunda safra. Na análise individual das safras, ocorreu redução na média das

safras para a casca na região apical. Segundo Szamosi et al. (2009), a espessura da casca é uma das quatro características de maior importância na distinção entre cultivares de melancia. No ponto de vista produtivo, a espessura de casca pode ser analisada de duas perspectivas, dependendo do perfil do produtor ao qual a cultivar é direcionada e também do tipo de transporte para escoamento da produção. Em relação ao tipo de cultivo, no Brasil, a melancia é produzida na agricultura irrigada e na agricultura de sequeiro. No primeiro tipo de cultivo tanto as cultivares com casca menos espessas quanto as de maior espessura podem ser cultivadas, diferentemente do que ocorre para produtores do segundo perfil. Isso por que na agricultura com regime sequeiro, como os frutos são cultivados nas épocas de chuvas, a depender do volume das precipitações, podem ocorrer danos por rachaduras nos frutos que já estejam próximos da colheita.

Com relação a forma de transporte, Souza et al. (2013) destacam que nas condições brasileiras, em que o transporte dos frutos para consumo interno é feito em caminhões não-refrigerados, o uso de cultivares de casca mais espessa representa menos risco de danos ao fruto, devido à maior resistência. No presente estudo, observou-se que o acesso BGH 174, foi agrupado entre os acessos com menores médias de espessura de casca lateral e de casca na região apical. Outra observação pertinente para esse acesso foi a ocorrência mais frequente de maior tamanho da cicatriz do pistilo e, nessa região foi comum a presença de rachaduras nos frutos desse acesso.

No desdobramento da interação na variável massa do fruto caracterizado (MFC), diâmetro transversal (DT) e diâmetro longitudinal (DL) que relacionam-se ao porte do fruto caracterizado (Tabela 5), o efeito da interação genótipos x ambientes foi observado em quatro dos acessos avaliados para MFC, em três para DT e quatro para DL (Tabela 4). Durante a condução das duas safras, as temperaturas mais elevadas foram observadas na segunda época de cultivo. De acordo com Wehner (2008) as condições ótimas para o desenvolvimento de frutos da melancia são a ocorrência de temperaturas mais altas, associadas a alta intensidade luminosa.

Com a ocorrência de temperaturas mais elevadas na segunda safra (Fig. 1), o esperado seria aumento na produção (Fig. 3). No entanto, somente para BGH 40, BGH 116, BGH 174, BGH 398, e 'Charleston Gray' houve aumento em relação à primeira safra. Oliveira et al. (2015) estudando a influência de três épocas de plantio no rendimento e na qualidade de frutos, constataram que nas condições de

semiárido para Mossoró-RN o plantio e transplântio nos meses de agosto e setembro, respectivamente, teve maior produtividade. Nas condições do presente estudo, isso representaria a condução do experimento com as plantas expostas a condições de alta temperatura e com umidade relativa elevada (Fig. 1).

O teor de sólidos solúveis (°Brix) dos acessos BGH 40, BGH 116 e da cultivar Charleston Gray teve efeito da interação entre genótipos x ambientes e foi superior na segunda safra. Para BGH 398 o efeito foi de redução do teor em relação a primeira safra (Tabela 4). O °Brix é uma variável que está altamente correlacionada à porcentagem de açúcar na polpa da melancia e é uma das principais características de interesse comercial. Para Sandlin et al. (2012) o °Brix da melancia é tido como um caráter poligênico influenciado por fatores genéticos e ambientais e que não possui correlação com tamanho ou com o peso do fruto, mas tem correlação positiva com a maturidade do fruto.

O teor de sólidos solúveis para as cultivares Sugar Baby e Charleston Gray, estão em acordo com os encontrados na literatura. Em estudo para avaliar em oito acessos de melancia o teor de licopeno e sólidos solúveis e suas correlações com as medidas do cromatógrafo Leão et al. (2007) encontraram valores médios de °Brix de 7,33. Já Morais et al. (2008) em estudo sobre lâminas de irrigação e doses de nitrogênio obtiveram valores entre 8,4 e 10,7 °Brix para a mesma cultivar. Ramos et al. (2009) em estudo sobre o efeito do adensamento de plantio no desempenho e parâmetros de qualidade de frutos de cultivares com fruto pequeno, obtiveram valor de 7,19 °Brix para a cultivar Sugar Baby.

Por serem da espécie da *C. lanatus* var. *citroides*, os acessos BGH 76, BGH 128 e BGH 185 têm potencialidade para uso como porta enxerto por possuírem resistência à fusariose. Entretanto, é necessário a realização de para testar a compatibilidade do uso dos mesmos, como na pesquisa realizada por Santos et al. (2014). Esses autores estudaram entre outras variáveis a compatibilidade de cinco acessos dessa variedade como porta enxertos para melancia e tiveram êxito para um acesso.

5.4.3 Diversidade Genética

Devido ao grande número de variáveis analisadas, realizou-se as análises de agrupamento. Pelo agrupamento do método hierárquico de ligação completa, ou do vizinho mais distante, realizando o corte em 12,45 de acordo com o método de

Mojena (1977) são formados dois grandes grupos (Fig. 5). Nota-se que nesses dois grupos formados há uma divisão semelhante a divisão por subespécie, no qual o primeiro grupo é formado por acessos da espécie *C. lanatus* var. *citroides* e o segundo grande grupo por acessos de *C. lanatus* var. *lanatus* (Fig. 5). Um segundo corte pode ser realizado com base na análise visual, observando no dendrograma pontos onde há mudança abrupta da ramificação (Milligan 1981). Quando o corte é feito em 8,59 (Fig. 5), formam-se quatro subgrupos com as seguintes alocações: i) BGH 76, BGH 128 e BGH 185, ii) BGH 40 e BGH 174, iii) BGH 169, BGH 177, BGH 210, BGH 116, BGH 321, BGH 398 e BGH 395 e iv) 'Sugar Baby' e 'Charleston Gray'.

O agrupamento usando método de otimização, método de Tocher, agrupou os acessos em quatro grupos (Tabela 6). Comparando os dois agrupamentos, o método de Tocher (Tabela 6) diferiu apenas no agrupamento de 'Charleston Gray', quando comparado ao agrupamento realizado pelo método do vizinho mais distante (Fig. 5).

Considerando os agrupamentos formados pode-se sugerir quais hibridações seriam mais interessantes com base na diversidade e desempenho agrônômico apresentado, visando gerar populações com bom desempenho e variabilidade.

5.5 CONCLUSÕES

Entre os 55 acessos obtidos na agricultura tradicional, 42 foram resistentes à fusariose, demonstrando a importância desse grupo de produtores na conservação da variabilidade existente no cultivo da melancia.

Os 12 acessos escolhidos para caracterização morfoagronômica apresentaram variabilidade para as variáveis qualitativas e quantitativas.

Dentre os acessos avaliados BGH 40, BGH 169, BGH 177 e BGH 210 foram os acessos mais promissores para uso em futuras hibridações.

Os acessos BGH 76, BGH 128 e BGH 185 da espécie *C. lanatus* var. *citroides* são potenciais para utilização como porta-enxerto.

5.6 REFERÊNCIAS

- Branham SE, Levi A, Farnham MW, Wechter WP (2016) A GBS-SNP-based linkage map and quantitative trait loci (QTL) associated with resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* race 2 identified in *Citrullus lanatus* var. *citroides*. *Theoretical and Applied Genetics*, 1-12.
- Cruz CD (2013) Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35(3), 271-276.
- Davies LR, Allender CJ (2017) Who is sowing our seeds? A systematic review of the use of plant genetic resources in research. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-10.
- Dias RCS, Picó B, Herraiz J, Espinós A, Nuez F (2002) Modifying root structure of cultivated muskmelon to improve vine decline resistance. *HortScience*, 37(7), 1092-1097.
- International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) (2005) UPOV Report on the Impact of Plant Variety Protection. UPOV, Geneva.
- Leão DSS, Peixoto JR, Vieira JV (2007) Teor de licopeno e de sólidos solúveis totais em oito cultivares de melancia. *Bioscience Journal*, 22(3).
- Levi A, Thomas CE, Wehner TC, Zhang X (2001) Low genetic diversity indicates the need to broaden the genetic base of cultivated watermelon. *HortScience*, 36(6), 1096-1101.
- Lima MNR (2016) Integração de descritores quantitativos e qualitativos na caracterização morfoagronômica de acessos de melancia. Universidade do Estado da Bahia.
- Lü G, Guo S, Zhang H, Geng L, Martyn RD, Xu Y (2014) Colonization of *Fusarium* Wilt-Resistant and Susceptible Watermelon Roots by a Green-Fluorescent-Protein-tagged Isolate of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Journal of Phytopathology*, 162(4), 228-237.
- Meru G, McGregor C (2016) Genotyping by sequencing for SNP discovery and genetic mapping of resistance to race 1 of *Fusarium oxysporum* in watermelon. *Scientia Horticulturae*, 209, 31-40.
- Milligan GW (1981) A monte carlo study of thirty internal criterion measures for cluster analysis. *Psychometrika*, 46(2), 187-199.

- Mojena R (1977) Hierarchical grouping methods and stopping rules: An evaluation. *The Computer Journal*, 20(4), 359-363.
- Morais NB, Bezerra FML, Medeiros JF, Chaves SWP (2008) Resposta de plantas de melancia cultivadas sob diferentes níveis de água e de nitrogênio. *Revista Ciência Agronômica*, 39(3), 369-377.
- Nascimento SRC, Kurozawa C, Maringoni AC (1995) Avaliação de raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 20:214-217.
- Oliveira JB, Grangeiro LC, Sobrinho JE, Moura MSB, Carvalho CAC (2015) Rendimento e qualidade de frutos de melancia em diferentes épocas de plantio. *Revista Caatinga*, 28(2), 19-25.
- Paris HS (2015) Origin and emergence of the sweet dessert watermelon, *Citrullus lanatus*. *Annals of botany*, mcv077.
- Pereira AS, Santos GR, Sarmiento RA, Galdino TVS, Lima CHO, Picanço MC (2017) Key factors affecting watermelon yield loss in different growing seasons. *Scientia Horticulturae*, 218, 205-212.
- Queiróz MA (2004) Germplasm of Cucurbitaceae in Brazil. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4:377-383.
- R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <<https://www.R-project.org>>.
- Ramalho MAP, Santos JB, Pinto CABP, Souza EA, Gonçalves FMA, Souza JC (2012) Genética na agropecuária. FAEPE.
- Ramos ARP, Dias RCS, Aragão CA (2009) Densidades de plantio na produtividade e qualidade de frutos de melancia. *Horticultura Brasileira*, 27, 560-564.
- Romão RL (2000) Northeast Brazil: A secondary center of diversity for watermelon (*Citrullus lanatus*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47(2), 207-213.
- Romão RL, Assis JGA, Queiroz MA (2008) Melancia: História africana de dar água na boca. In: Barbieri RL, Stumpf ERT (ed) *Origem e evolução de plantas cultivadas*, 1ª ed. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, pp 553-574.
- Sandlin KC, Prothro JM, Heesacker AF, Khalilian N, Okashah R, Xiang W, Bachlava E, Caldwell D, Seymour D, White V, Chan E, Tolla G, White C, Safran D, Graham E, Knapp SJ, McGregor CE (2012) Comparative mapping in

- watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai]. Theoretical and applied genetics, 125(8), 1603-1618.
- Santos JS, Dias RDCS, Grangeiro LC, Lima MAC, Andrade KMNSS (2014) Compatibilidade com porta-enxertos, rendimento e qualidade de frutos em cultivares de melancia triploide. Revista Caatinga, 27(2), 141-147.
- Silva ML, Queiróz MA, Ferreira MAJF, Buso GS (2006) Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. Horticultura brasileira, 24(4).
- Singh D, Singh R, Sandhu JS, Chunneja P (2017) Morphological and genetic diversity analysis of *Citrullus* landraces from India and their genetic inter relationship with continental watermelons. Scientia Horticulturae, 218, 240-248.
- Souza FF, Dias RCS, Queiróz MA (2013) Capacidade de combinação de linhagens avançadas e cultivares comerciais de melancia. Horticultura brasileira, 31(4).
- Souza FF, Queiróz MA, Dias RCS (2005) Divergência genética em linhagens de melancia. Horticultura brasileira, 23(2).
- Szamosi C, Solmaz I, Sari N, Bársony C, (2009) Morphological characterization of Hungarian and Turkish watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai) genetic resources. Genetic Resources and Crop Evolution, 56(8), 1091.
- Wehner TC (2008) Watermelon. In Vegetables I (pp. 381-418 Springer New York.
- Yang X, Ren R, Ray R, Xu J, Li P, Zhang M, Liu G, Yao X, Kilian A (2016) Genetic diversity and population structure of core watermelon (*Citrullus lanatus*) genotypes using DArTseq-based SNPs. Plant Genetic Resources, Cambridge, 1-8.
- Zhang M, Xu JH, Liu G, Yao XF, Li PF, Yang XP (2015) Characterization of the watermelon seedling infection process by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Plant Pathology, 64(5), 1076-1084.
- Zhang Z, Zhang J, Wang Y, Zheng X (2005) Molecular detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and *Mycosphaerella melonis* in infected plant tissues and soil. FEMS Microbiology Letters, 249(1), 39-47.
- Zhou XG, Everts KL, Bruton BD (2010) Race 3, a new and highly virulent race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* causing Fusarium wilt in watermelon. Plant disease, 94(1), 92-98.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo possibilitou a inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (*Fon*) em melancia para avaliação da resistência à fusariose sem o uso de áreas de solo infestado.

O uso de clamidósporos de *Fon* foi eficiente na inoculação de melancia, causando severidade semelhante às de inoculações com o método padrão “dipping” de outros estudos publicados. Como o método “dipping” não tem a mesma eficiência de inoculação, como se constatou nesse estudo, a metodologia aqui apresentada torna possível a realização de mais estudos além desse, visando avaliar a resistência à fusariose no Brasil.

Os sete acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Cucurbitáceas para o Nordeste Brasileiro da Embrapa Semiárido, mais os 42 do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Univasf com resistência a fusariose são importantes fontes no desenvolvimento de novas cultivares resistentes à essa doença.

Com a caracterização morfoagronômica de doze dos acessos coletados na agricultura tradicional e avaliados nesse estudo, que foram classificados com os melhores níveis de resistência, foi possível ter conhecimento sobre a variabilidade existente nesse material que já vem sendo usado pelos produtores. Entre os doze acessos, os quatro mais promissores BGH 40, BGH 169, BGH 177 e BGH 210 são alternativas para o uso direto pelos pequenos produtores ou em futuras hibridações.

7 APÊNDICES

Fig. 1 – Representação das notas das notas usadas na avaliação da reação dos acessos de melancia à fusariose, de acordo com Dias et al. (2002).



Tabela 1 - Médias dos caracteres relacionados a germinação de 12 acessos de melancia mais duas cultivares comerciais para porcentagem de germinação [E(%)] e índice de velocidade de germinação (IVE)

Acessos	(E)%		IVE	
	Safra 1 ¹	Safra 2 ¹	Safra 1	Safra 2
BGH 40	95,24 ± 4,12	92,13 ± 6,85	1,79 ± 0,09 a ²	1,51 ± 0,25 a
BGH 76	96,67 ± 5,77	100,00 ± 0,00	1,70 ± 0,22 a	1,58 ± 0,03 a
BGH 116	84,80 ± 7,97	87,96 ± 12,53	1,60 ± 0,29 a	1,11 ± 0,07 b
BGH 128	93,33 ± 11,55	92,59 ± 12,83	1,73 ± 0,41 a	1,54 ± 0,15 a
BGH 169	82,78 ± 10,56	96,30 ± 6,42	1,65 ± 0,15 a	1,59 ± 0,15 a
BGH 174	94,87 ± 4,44	92,59 ± 12,83	1,65 ± 0,29 a	1,71 ± 0,20 a
BGH 177	90,00 ± 10,00	100,00 ± 0,00	1,52 ± 0,29 a	1,63 ± 0,12 a
BGH 185	92,31 ± 7,69	92,59 ± 12,83	1,66 ± 0,30 a	1,28 ± 0,09 b
BGH 210	90,00 ± 10,00	83,80 ± 7,65	1,80 ± 0,11 a	1,11 ± 0,22 b
BGH 321	90,48 ± 8,25	100,00 ± 0,00	1,90 ± 0,33 a	1,56 ± 0,10 a
BGH 395	96,67 ± 5,77	100,00 ± 0,00	1,67 ± 0,20 a	1,67 ± 0,12 a
BGH 398	93,33 ± 5,77	100,00 ± 0,00	1,78 ± 0,17 a	1,56 ± 0,12 a
Sugar Baby	96,67 ± 5,77	88,89 ± 19,25	1,81 ± 0,26 a	1,69 ± 0,32 a
Charleston Gray	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	1,83 ± 0,15 a	1,82 ± 0,22 a

¹ Dados não atendem as pressuposições da Anova

² Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Tabela 2 - Análise da variabilidade dos 28 caracteres qualitativos usados na avaliação de 12 acessos de melancia mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG)

Acessos	FCO	CCO	TCO	TO	PFF	FSL	CE	ICE	TIP	DB	DA	FZA	TCP	DR	GR	LT	TL	ICL	LL	IM	CP	ICP	Tam.	CFT	CST	DCS	RCF	MH	Σ Classes
BGH 40	2	3	3	3	3	3	2	7	2	2	2	4	3	3	3	2	3	3	3	5	4	3	4	1	1	1	1	1	77
BGH 76	2	2	3	3	2	3	2	6	2	3	3	4	3	3	2	2	2	2	2	4	2	3	4	3	2	4	3	1	77
BGH 116	2	3	2	2	2	3	1	4	2	1	1	3	1	3	3	2	3	3	4	4	3	3	2	2	2	4	4	0	69
BGH 128	3	2	1	2	2	3	1	4	2	2	2	4	3	2	2	1	1	1	1	4	3	3	3	2	2	4	2	1	63
BGH 169	3	3	3	3	1	4	1	5	3	2	2	4	3	2	3	2	3	5	5	4	5	3	4	5	2	4	4	1	89
BGH 174	2	2	2	3	2	2	1	4	2	2	3	4	3	3	4	1	2	2	2	3	6	3	3	2	2	4	4	0	73
BGH 177	2	2	3	3	2	4	2	5	3	3	2	4	2	2	2	1	2	2	3	3	3	3	3	3	2	4	3	1	74
BGH 185	2	3	2	2	1	4	1	4	2	3	2	5	3	1	1	1	1	1	1	4	2	3	3	1	2	4	3	1	63
BGH 210	2	3	3	3	3	4	2	5	3	1	2	5	2	3	3	2	3	3	5	4	3	3	4	3	2	4	4	0	84
BGH 321	2	3	3	2	3	4	1	6	3	2	2	4	3	2	2	2	3	4	6	5	4	3	3	6	2	4	4	1	89
BGH 395	2	2	3	3	3	3	1	3	3	2	1	4	3	4	2	2	2	2	3	3	3	2	3	3	1	2	3	0	68
BGH 398	2	2	2	3	3	3	1	4	3	2	1	4	2	3	2	2	3	3	3	5	3	3	3	2	2	4	3	0	73
SB	2	1	1	1	2	2	1	4	3	3	2	3	3	4	3	2	2	4	3	3	3	3	2	4	2	4	4	1	72
CG	2	2	3	3	2	4	1	4	3	2	1	4	2	2	2	2	3	3	4	4	3	3	3	3	1	3	2	1	72
Σ Classes	30	33	34	36	31	46	18	65	36	30	26	56	36	37	34	24	33	38	45	55	47	41	44	40	25	50	44	9	1043

Tabela 4 - Frequência das notas da avaliação de 12 acessos de melancia mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG), usando as variáveis: Formato da seção longitudinal (FSL), Coloração da Epiderme (CE), Intensidade da coloração da epiderme (ICE), Tamanho da inserção do pedúnculo (TIP)

Acessos	FSL				CE		ICE									TIP		
	1	2	3	4	1	2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	3	5	7
BGH 40	43,3	43,3	13,3	0,0	3,3	96,7	6,7	6,7	10,0	13,3	16,7	43,3	3,3	0,0	0,0	0,0	13,3	86,7
BGH 76	0,0	57,7	38,5	3,8	3,8	96,2	0,0	7,7	30,8	23,1	11,5	19,2	7,7	0,0	0,0	0,0	38,5	61,5
BGH 116	0,0	11,1	44,4	44,4	0,0	100,0	0,0	0,0	14,8	0,0	0,0	37,0	25,9	22,2	0,0	81,5	18,5	0,0
BGH 128	0,0	31,0	48,3	20,7	0,0	100,0	0,0	3,4	20,7	65,5	10,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	31,0	69,0
BGH 169	3,3	13,3	46,7	36,7	0,0	100,0	0,0	3,3	36,7	36,7	10,0	13,3	0,0	0,0	0,0	33,3	46,7	20,0
BGH 174	92,6	0,0	7,4	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	11,1	33,3	51,9	3,7	0,0	0,0	0,0	0,0	11,1	88,9
BGH 177	16,7	6,7	46,7	30,0	3,3	96,7	0,0	3,3	56,7	30,0	6,7	0,0	3,3	0,0	0,0	46,7	26,7	26,7
BGH 185	4,0	4,0	40,0	52,0	0,0	100,0	0,0	4,0	20,0	48,0	28,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,0	88,0
BGH 210	31,0	6,9	31,0	31,0	3,4	96,6	0,0	0,0	31,0	34,5	17,2	13,8	3,4	0,0	0,0	17,2	27,6	55,2
BGH 321	17,9	25,0	53,6	3,6	0,0	100,0	0,0	0,0	7,1	17,9	14,3	32,1	21,4	7,1	0,0	67,9	25,0	7,1
BGH 395	6,7	43,3	50,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	56,7	40,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	20,0	63,3	16,7
BGH 398	0,0	40,0	50,0	10,0	0,0	100,0	0,0	0,0	46,7	36,7	13,3	3,3	0,0	0,0	0,0	30,0	53,3	16,7
SB	84,6	15,4	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,8	23,1	19,2	53,8	19,2	53,8	26,9
CG	3,7	7,4	48,1	40,7	0,0	100,0	0,0	0,0	59,3	29,6	7,4	3,7	0,0	0,0	0,0	11,1	55,6	33,3

Tabela 5 - Frequência das notas da avaliação de 12 acessos de melancia mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG), usando as variáveis: Depressão da região da base (DB), Depressão da região da base (DA), Formato da zona apical (FZA), Tamanho da cicatriz do pistilo (TCP), Distribuição de ranhuras (DR), Grau das ranhuras (GR)

Acessos	DB			DA			FZA					TCP			DR				GR			
	3	5	7	3	5	7	1	2	3	4	5	3	5	7	1	2	3	4	1	3	5	7
BGH 40	83,3	16,7	0,0	60,0	40,0	0,0	23,3	66,7	6,7	3,3	0,0	26,7	40,0	33,3	70,0	16,7	0,0	13,3	70,0	26,7	3,3	0,0
BGH 76	84,6	11,5	3,8	88,5	7,7	3,8	3,8	61,5	11,5	23,1	0,0	15,4	30,8	53,8	88,5	7,7	0,0	3,8	88,5	11,5	0,0	0,0
BGH 116	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	18,5	51,9	29,6	100,0	0,0	0,0	66,7	0,0	3,7	29,6	66,7	18,5	14,8	0,0
BGH 128	65,5	34,5	0,0	96,6	3,4	0,0	10,3	51,7	0,0	34,5	3,4	34,5	27,6	37,9	93,1	0,0	0,0	6,9	93,1	6,9	0,0	0,0
BGH 169	90,0	10,0	0,0	96,7	3,3	0,0	0,0	13,3	16,7	40,0	30,0	90,0	6,7	3,3	90,0	0,0	0,0	10,0	90,0	6,7	3,3	0,0
BGH 174	85,2	14,8	0,0	11,1	74,1	14,8	29,6	63,0	3,7	0,0	3,7	3,7	14,8	81,5	14,8	3,7	0,0	81,5	14,8	40,7	18,5	25,9
BGH 177	93,3	3,3	3,3	96,7	3,3	0,0	0,0	20,0	20,0	33,3	26,7	96,7	3,3	0,0	93,3	6,7	0,0	0,0	93,3	6,7	0,0	0,0
BGH 185	60,0	32,0	8,0	92,0	8,0	0,0	4,0	72,0	4,0	16,0	4,0	20,0	36,0	44,0	100,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0
BGH 210	100,0	0,0	0,0	89,7	10,3	0,0	3,4	34,5	17,2	17,2	27,6	89,7	10,3	0,0	72,4	13,8	0,0	13,8	72,4	24,1	3,4	0,0
BGH 321	92,9	7,1	0,0	92,9	7,1	0,0	0,0	14,3	21,4	42,9	21,4	75,0	17,9	7,1	85,7	0,0	0,0	14,3	85,7	14,3	0,0	0,0
BGH 395	93,3	6,7	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	20,0	60,0	13,3	6,7	86,7	10,0	3,3	66,7	13,3	6,7	13,3	66,7	33,3	0,0	0,0
BGH 398	90,0	10,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	43,3	23,3	30,0	3,3	96,7	3,3	0,0	83,3	6,7	0,0	10,0	83,3	16,7	0,0	0,0
SB	80,8	15,4	3,8	92,3	7,7	0,0	0,0	34,6	53,8	11,5	0,0	65,4	26,9	7,7	65,4	26,9	3,8	3,8	65,4	23,1	11,5	0,0
CG	85,2	14,8	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	25,9	22,2	33,3	18,5	96,3	3,7	0,0	92,6	7,4	0,0	0,0	92,6	7,4	0,0	0,0

Tabela 6 - Frequência das notas da avaliação de 12 acessos de melancia mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG), usando as variáveis: Presença de listras (LT), Tipo de listras (TL), Intensidade da cor das listras (ICL), Largura das listras (LL) e Intensidade de mosqueado (IM)

Acessos	LT		TL			ICL						LL						IM				
	1	9	1	2	3	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	3	5	7	9
BGH 40	20,0	80,0	20,0	63,3	16,7	20,0	0,0	0,0	10,0	70,0	0,0	20,0	0,0	13,3	66,7	0,0	0,0	13,3	10,0	23,3	36,7	16,7
BGH 76	96,2	3,8	96,2	3,8	0,0	96,2	3,8	0,0	0,0	0,0	0,0	96,2	0,0	0,0	3,8	0,0	0,0	19,2	30,8	19,2	30,8	0,0
BGH 116	51,9	48,1	51,9	40,7	7,4	51,9	0,0	0,0	0,0	44,4	3,7	51,9	0,0	11,1	29,6	7,4	0,0	11,1	48,1	33,3	7,4	0,0
BGH 128	100,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13,8	51,7	27,6	6,9	0,0
BGH 169	13,3	86,7	13,3	53,3	33,3	13,3	0,0	3,3	23,3	56,7	3,3	13,3	0,0	10,0	33,3	40,0	3,3	6,7	36,7	33,3	23,3	0,0
BGH 174	0,0	100,0	0,0	14,8	85,2	0,0	0,0	0,0	7,4	92,6	0,0	0,0	0,0	0,0	48,1	51,9	0,0	0,0	11,1	48,1	40,7	0,0
BGH 177	0,0	100,0	0,0	40,0	60,0	0,0	0,0	0,0	10,0	90,0	0,0	0,0	0,0	40,0	56,7	3,3	0,0	16,7	60,0	23,3	0,0	0,0
BGH 185	100,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0	52,0	32,0	8,0	0,0
BGH 210	20,7	79,3	20,7	51,7	27,6	20,7	0,0	0,0	20,7	58,6	0,0	20,7	17,2	13,8	10,3	37,9	0,0	3,4	44,8	34,5	17,2	0,0
BGH 321	17,9	82,1	17,9	67,9	14,3	17,9	0,0	0,0	10,7	64,3	7,1	17,9	17,9	10,7	25,0	25,0	3,6	14,3	14,3	17,9	28,6	25,0
BGH 395	53,3	46,7	53,3	46,7	0,0	53,3	0,0	0,0	46,7	0,0	0,0	53,3	43,3	3,3	0,0	0,0	0,0	10,0	36,7	53,3	0,0	0,0
BGH 398	20,0	80,0	20,0	56,7	23,3	20,0	0,0	0,0	70,0	10,0	0,0	20,0	73,3	6,7	0,0	0,0	0,0	23,3	33,3	16,7	23,3	3,3
SB	57,7	42,3	57,7	42,3	0,0	57,7	0,0	0,0	3,8	7,7	30,8	57,7	3,8	38,5	0,0	0,0	0,0	57,7	34,6	7,7	0,0	0,0
CG	48,1	51,9	48,1	44,4	7,4	48,1	0,0	0,0	48,1	3,7	0,0	48,1	37,0	11,1	3,7	0,0	0,0	3,7	0,0	51,9	33,3	11,1

Tabela 7 - Frequência das notas da avaliação de 12 acessos de melancia mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG), usando as variáveis: Coloração da polpa (CP) e Intensidade de coloração da polpa (ICP)

Acessos	CP						ICP		
	1	2	3	4	5	6	3	5	7
BGH 40	0,00	6,90	13,80	55,20	24,10	0,00	34,50	44,80	20,70
BGH 76	23,10	76,90	0,00	0,00	0,00	0,00	26,90	57,70	15,40
BGH 116	0,00	0,00	0,00	73,10	23,10	3,80	50,00	42,30	7,70
BGH 128	27,60	58,60	13,80	0,00	0,00	0,00	55,20	41,40	3,40
BGH 169	0,00	10,00	13,30	66,70	3,30	6,70	50,00	33,30	16,70
BGH 174	3,70	11,10	11,10	59,30	7,40	7,40	59,30	33,30	7,40
BGH 177	0,00	0,00	10,30	62,10	27,60	0,00	41,40	41,40	17,20
BGH 185	32,00	68,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,00	28,00	12,00
BGH 210	0,00	0,00	17,20	65,50	17,20	0,00	44,80	44,80	10,30
BGH 321	0,00	7,10	17,90	71,40	3,60	0,00	64,30	25,00	10,70
BGH 395	0,00	16,70	40,00	43,30	0,00	0,00	80,00	20,00	0,00
BGH 398	0,00	40,00	46,70	13,30	0,00	0,00	40,00	46,70	13,30
SB	0,00	0,00	7,70	0,00	15,40	76,90	34,60	46,20	19,20
CG	0,00	0,00	0,00	46,20	50,00	3,80	30,80	23,10	46,20

Tabela 8 - Frequência de classes de notas da avaliação de 12 acessos de melancia mais as cultivares Sugar Baby (SB) e Charleston Gray (CG), usando as variáveis: Tamanho das sementes (TAM), Cor de fundo do tegumento (CFT), Presença de cor secundária no tegumento (CST), Distribuição da cor secundária no tegumento (DCS), Relação cor de fundo: cor secundária (RCF), Presença de manchas no hilo (MH)

Acessos	TAM					CFT							CST		DCS				RCF				MH	
	1	3	5	7	9	1	2	3	4	5	6	7	1	9	1	3	5	7	1	3	5	7	1	9
BGH 40	10,0	46,7	40,0	3,3	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	50,0	50,0
BGH 76	0,0	7,7	23,1	50,0	19,2	3,8	3,8	92,3	0,0	0,0	0,0	0,0	65,4	34,6	65,4	7,7	11,5	15,4	65,4	23,1	11,5	0,0	11,5	88,5
BGH 116	0,0	26,9	73,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	19,2	80,8	7,7	92,3	7,7	26,9	34,6	30,8	7,7	34,6	50,0	7,7	0,0	100,0
BGH 128	0,0	0,0	20,7	62,1	17,2	3,4	0,0	96,6	0,0	0,0	0,0	0,0	55,2	44,8	55,2	6,9	13,8	24,1	55,2	44,8	0,0	0,0	31,0	69,0
BGH 169	6,7	30,0	46,7	16,7	0,0	46,7	26,7	0,0	0,0	3,3	16,7	6,7	10,0	90,0	10,0	10,0	6,7	73,3	10,0	70,0	13,3	6,7	16,7	83,3
BGH 174	0,0	29,6	55,6	14,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	37,0	63,0	3,7	96,3	3,7	7,4	25,9	63,0	3,7	40,7	22,2	33,3	0,0	100,0
BGH 177	0,0	40,0	26,7	33,3	0,0	63,3	30,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,7	20,0	80,0	20,0	6,7	3,3	70,0	20,0	76,7	0,0	3,3	23,3	76,7
BGH 185	0,0	0,0	20,0	44,0	36,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	64,0	36,0	64,0	4,0	12,0	20,0	64,0	20,0	16,0	0,0	48,0	52,0
BGH 210	3,7	14,8	59,3	22,2	0,0	3,7	0,0	0,0	0,0	0,0	44,4	51,9	18,5	81,5	18,5	7,4	18,5	55,6	18,5	48,1	22,2	11,1	0,0	100,0
BGH 321	0,0	28,6	67,9	3,6	0,0	0,0	28,6	7,1	3,6	3,6	7,1	50,0	50,0	50,0	50,0	7,1	17,9	25,0	50,0	17,9	17,9	14,3	17,9	82,1
BGH 395	0,0	50,0	46,7	3,3	0,0	53,3	43,3	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	56,7	43,3	0,0	80,0	16,7	3,3	0,0	100,0
BGH 398	0,0	26,7	63,3	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	96,7	30,0	70,0	30,0	16,7	6,7	46,7	30,0	63,3	6,7	0,0	0,0	100,0
SB	20,8	79,2	0,0	0,0	0,0	4,2	83,3	4,2	0,0	0,0	8,3	0,0	4,2	95,8	4,2	16,7	75,0	4,2	4,2	25,0	41,7	29,2	4,2	95,8
CG	0,0	0,0	14,8	37,0	48,1	3,7	88,9	0,0	0,0	0,0	7,4	0,0	0,0	100,0	0,0	3,7	92,6	3,7	0,0	0,0	11,1	88,9	37,0	63,0