

ELAÍNE WELK LOPES PEREIRA NUNES

**CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA, HERANÇA E IDENTIFICAÇÃO
DE MARCADORES SNP ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA A *Podosphaera*
xanthii EM MELOEIRO**

MOSSORÓ-RN
2014

ELAÍNE WELK LOPES PEREIRA NUNES

**CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA, HERANÇA E IDENTIFICAÇÃO
DE MARCADORES SNP ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA A *Podosphaera*
xanthii EM MELOEIRO**

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

Orientador: D.Sc. GLAUBER HENRIQUE DE SOUSA NUNES

MOSSORÓ-RN
2014

**O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade
de seus autores**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência

N972c Nunes, Elaíne Welk Lopes Pereira

Caracterização de germoplasma, herança e identificação de marcadores SNP associados à resistência a *Podospheera xanthii* em meloeiro / Elaíne Welk Lopes Pereira Nunes-- Mossoró, 2014.
125f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Glauber Henrique de Sousa Nunes

Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação.

1. Genética. 2. *Cucumis melo* L. 3. Oídio 4. QTL. I. Título.

RN/UFERSA/BCOT /838-14

CDD: 576.5

Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza Borba
CRB-15/452

ELAÍNE WELK LOPES PEREIRA NUNES

**CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA, HERANÇA E IDENTIFICAÇÃO
DE MARCADORES SNP ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA A *Podosphaera*
xanthii EM MELOEIRO**

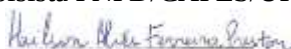
Tese apresentada à
Universidade Federal Rural
do Semi-Árido, como parte
das exigências para
obtenção do grau de Doutor
em Agronomia: Fitotecnia.

APROVADA EM: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA



D.Sc. Jean de Oliveira Souza
Bolsista PNPB/CAPES/UFPB



Prof. D.Sc. Hailson Alves Ferreira Preston
UFERSA



D. Sc. Rafaela Priscila Antonio
EMBRAPA SEMI-ÁRIDO



Prof. D. Sc. Fernando Antonio Souza de Aragão
EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL



Prof. D. Sc. Glauber Henrique de Sousa Nunes
(Orientador)

Ao meu esposo
Glauber Henrique de
Sousa Nunes.

Dedico

Aos meus pais Íris Maria Lopes Pereira e Daniel José Pereira (*in
memoriam*) e as minhas irmãs Eliane Welk Lopes Pereira e Elaine Welk
Lopes Pereira

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A Deus por mais essa vitória concedida em minha vida.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido por mais essa formação profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela oportunidade de bolsa de doutorado sanduíche na Espanha e durante todo o curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq) pela concessão de recursos nos experimentos.

Ao meu orientador D. Sc. Glauber Henrique de Sousa Nunes pelo estímulo, confiança, paciência e apoio incondicional durante todos esses anos. Meu agradecimento mais que especial à você. Sem palavras!

A Prof^a D. Sc. Selma Rogéria de Carvalho Nascimento pela amizade e constante ajuda no laboratório de Fitossanidade.

A D. Sc. Maria Belén Picó Sirvent muito obrigada pelos seus ensinamentos, apoio e colaboração durante minha permanência no Laboratório de Cucurbitáceas da Universidade Politécnica de Valencia.

Meu agradecimento muito especial ao grupo de melhoramento de cucurbitáceas do COMAV (Espanha) por ter me ajudado na tese e conhecimentos adquiridos nesse um ano de convivência. A Eva María Martínez Pérez, Gorka Perpiñá Martín, Cristina Esteras Gómez, e aos amigos Irene, Ana e Raúl pelas horas de aprendizado e descontrações fora do COMAV.

A mestre Eva María Martínez Pérez pelo apoio incondicional durante todas as fases dos experimentos em casa de vegetação e laboratório. Além de toda ajuda sempre nos alegrava com um sorriso constante no dia a dia. A Cristina Esteras Gómez pelo aprendizado das técnicas moleculares.

Ao amigo D. Sc. Jean Souza de Oliveira muito obrigada pela disponibilidade de tempo, ajuda e atenção dentro e fora da faculdade.

A empresa SAKATA pelas sementes doadas para a realização da tese.

Ao D. Sc. Juan Antônio Torés e sua equipe de micologia na pessoa de Polido e Davínia, da Estación Experimental de La Mayora (CSCIC) em Málaga, por me receberem tão bem em seu laboratório e os conhecimentos transmitidos que foram fundamentais na execução da pesquisa. Meu muito obrigada a vocês pela disponibilidade e atenção.

Aos membros da Banca examinadora pelas sugestões para aprimorar a qualidade da tese.

A todos do nosso grupo de pesquisa GERMEV pela imensa ajuda na condução dos experimentos de campo; casa de vegetação e laboratório. Sem o apoio de todos vocês não teria sido possível mais esse trabalho. Agradeço a todos do grupo GERMEV (Dalila Regina Mota Melo, Anânkia de Oliveira Ricarte, Ana Carolina de Assis Dantas, Isabela Rayanne Duarte Lima, Ravier Valcácer de Medeiros, José Maria da Costa, Robson, John e aos outros membros que faziam parte do grupo (Dinara Aires Dantas, Isaías Porfírio Guimarães, Lívia Karla Remígio Maia, Gabriel Guimarães Costa, José Hamilton Costa Filho, Rauny Oliveira de Souza) também que me ajudaram na multiplicação dos materiais.

Aos colegas da equipe de trabalho de campo Nanan, Alderi, Sr. Antônio, Josivan e Raimundo.

A professora D. Sc. Jailma Suerda Silva de Lima por disponibilizar a casa de vegetação para manutenção de isolados.

A professora D.Sc. Márcia Michelle de Queiróz Ambrósio pela ajuda na fase final de inoculações em laboratório.

Ao final de tudo foram quatro anos de muito aprendizado. Meu profundo agradecimento a todas as pessoas não citadas que me ajudaram. Esse apoio foi fundamental para esse trabalho se concretizar.

RESUMO

NUNES, Elaine Welk Lopes Pereira. **Caracterização de germoplasma, herança e identificação de marcadores SNP associados à resistência a *Podosphaera xanthii* em meloeiro**. 2014. 125p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

O oídio causado por *Podosphaera xanthii*, é a doença foliar mais importante das cucurbitáceas no Nordeste do Brasil. O melhoramento genético para resistência é uma das melhores maneiras de controlar esse patógeno. Os objetivos deste trabalho foram caracterizar morfológicamente e por marcadores microssatélites acessos resistentes de melão, estudar a herança e identificar marcadores SNP associados à resistência nos acessos AM55-1A e C-AC-15. Cinquenta e seis acessos de meloeiro com diferentes origens geográficas foram avaliados para a resistência a *P. xanthii* usando inoculação artificial em casa de vegetação. Os acessos resistentes C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 e AM55-1A posteriormente foram caracterizados utilizando descritores morfológicos e marcadores microssatélites. Os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 exibiram características da variedade botânica *momordica*, enquanto o acesso AM55-1A exibiu características da variedade botânica *acidulus*. A caracterização molecular confirmou os resultados observados na caracterização morfológica. A herança da resistência em AM55-1A e C-AC-15 em cruzamentos com a cultivar suscetível ‘Védrantais’ foi estudada em condições de casa de vegetação. As razões de segregação resistência/suscetibilidade observadas nas diferentes populações (F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2) indicou herança monogênica e dominante em AM55-1A e dois genes independentes com interação epistática duplo recessiva no controle genético em C-AC-15. A população de retrocruzamento (RC_1) derivado do cruzamento AM55 - 1A x ‘Védrantais’ e a população F_2 do cruzamento C-AC-15 x ‘Védrantais’ foram utilizados para identificar QTLs associados à resistência a *P. xanthii* usando análise de bulk segregante com 243 marcadores SNP. Dois QTLs (*Pm*-AM55-A_1 e *Pm*-A55-1A_2) foram identificados no grupo de ligação V no cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’. Foram identificados um QTL (*Pm*-C-AC-15_5) no grupo de ligação V e outro (*Pm*-C-AC-15_9) no grupo de ligação IX.

Palavras-chaves: *Cucumis melo* L. Controle genético. Oídio. Marcadores moleculares. QTL.

ABSTRACT

NUNES, Elaine Welk Lopes Pereira. **Germplasm characterization, inheritance and identification of SNP markers associated with resistance to *Podosphaera xanthii* in melon**. 2014. 125p. Thesis (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

Powdery mildew, caused by *Podosphaera xanthii*, is the most important foliar disease of cucurbits in the Northeast Brazil. Breeding for resistance is one of the best ways to control this pathogen. The objectives aims these work were to characterize morphologically and by microsatellites markers resistant accessions of melon, to study the inheritance and to identify SNP markers associated to resistance in the accessions AM55-1A and C-AC-15. Fifty-six melon plant accessions with different geographical origins were evaluated for resistance to *P. xanthii* using artificial inoculation procedure under greenhouse conditions. The resistant accessions C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 and AM55-1A were characterized with morphological traits and microsatellites markers. The accessions C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 exhibited characteristics of *momordica* botanical variety while the accession AM55-1A exhibited characteristics of *acidulus* botanical variety. The molecular characterization confirmed he results observed in morphological characterization. The inheritance of resistance in AM55-1A and C-AC-15 in crosses with susceptible cultivar ‘Védrantais’ was studied under greenhouses conditions. The segregations ratios for resistance/susceptibility observed in the different populations (F₁, F₂, BC₁ and BC₂) indicated a monogenic and dominant inheritance in AM55-1A and two independent genes with epispastic interaction double recessive control resistance in C-AC-15. The backcross population (BC₁) derived from AM55-1A x ‘Védrantais’ and F₂ population from C-AC-15 x ‘Védrantais’ were utilized to identify QTLs associated to resistance to *P. xanthii* using bulked segregation analysis with 243 SNP molecular markers. Two QTLs (*Pm-AM55-1A_1* and *Pm-A55-1A_2*) were identified on ligation group V from AM55-1A x ‘Védrantais’. One QTL (*Pm-C-AC-15_5*) on ligation group V and other (*Pm-C-AC-15_9*) on ligation group IX.

Key words: *Cucumis melo* L. Genetic control. Powdery mildew. Molecular markers. QTL.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Acessos de meloeiro avaliados para reação a <i>Podospaera xanthii</i> . Valencia, UPV, 2014.....	44
Tabela 2.	Código, origem e variedade dos acessos usados como padrões de referência, 2014.....	50
Tabela 3.	Primers de microssatélite sintetizados para <i>Cucumis melo</i> . Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	55
Tabela 4.	Média da severidade da doença na folha e reação de acessos de meloeiro a <i>P. xanthii</i> raça 1. Valencia, UPV, 2014.....	57
Tabela 5.	Caracterização morfológica qualitativa de acessos/híbridos. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	59
Tabela 6.	Caracterização morfológica quantitativa de genótipos de meloeiro. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	60
Tabela 7.	Medidas descritivas para o estudo da diversidade baseado nos marcadores microssatélites polimórficos em acessos de meloeiro. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	62
Tabela 8.	Reação de diferenciadoras de meloeiro a isolados coletados em casa de vegetação em Valencia. Valencia, UPV, 2014.....	89
Tabela 9.	Frequência absoluta e teste de Qui-quadrado avaliado em um retrocruzamento derivado do cruzamento entre AM55-1A e 'Védrantais'. Valencia, UPV, 2014.....	90
Tabela 10.	Frequência absoluta e teste de Qui-quadrado avaliado em um retrocruzamento derivado do cruzamento entre AM55-1A e 'Védrantais'. Valencia, UPV, 2014.....	91
Tabela 11.	Marcadores SNP polimórficos entre os genitores AM55-1A e 'Védrantais', bulks resistentes e suscetíveis. Valencia, UPV, 2014.....	109

Tabela 12.	Informações dos QTLs identificados na população de retrocruzamento RC_1 do cruzamento AM55-1A x 'Védrantais'. Valencia, UPV, 2014.....	110
Tabela 13.	Informações de grupo de ligação, posição, genotipado dos genitores e geração filial F_1 e o número de plantas homozigotas do retrocruzamento RC_1 (F_1 x 'Védrantais') fenotipadas como resistentes e suscetíveis de quinze marcadores SNPs. Valencia, UPV, 2014.....	112
Tabela 14.	Informações dos marcadores SNP polimórficos entre os genitores C-AC-15 e 'Védrantais'. Valencia, UPV, 2014.....	113
Tabela 15.	Informações dos QTLs identificados na população F_2 do cruzamento C-AC-15 x 'Védrantais'. Valencia, UPV, 2014.	114

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Ciclos de vida assexual e sexual de <i>Podosphaera xanthii</i>	22
Figura 2.	Frutos dos acessos identificados como resistentes. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	58
Figura 3.	Dendrograma de acessos de meloeiro obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA a partir da matriz de distância de Nei gerada com informações de 13 marcadores microssatélites. Correlação cofenética (CC=0,87**). Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	64
Figura 4.	Dispersão gráfica bidimensional de acessos de meloeiro obtida pela análise fatorial de correspondência estimada com base em 13 marcadores microssatélites. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.....	65
Figura 5.	Frutos dos genitores utilizados nos estudos da herança para resistência a <i>P. xanthii</i> . Valencia, UPV, 2014.....	87
Figura 6.	Picos observados na análise de QTLs na população de retrocruzamento RC ₁ do cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’. Valencia, UPV, 2014.....	110
Figura 7.	Localização dos QTLs <i>Pm-AM55-1A_1</i> e <i>Pm-AM55-1A_2</i> no grupo de ligação V. Valencia, UPV, 2014.....	111
Figura 8.	Picos observados na análise de QTLs na população de F ₂ do cruzamento C-AC-15 x ‘Védrantais’. Valencia, UPV, 2014.	114
Figura 9.	Localização dos QTLs <i>Pm-C-AC-15_5</i> e <i>Pm-C-AC-15_9</i> nos grupos de ligação V e IX, respectivamente. Valencia, UPV, 2014.....	115

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1 Diversidade genética do Meloeiro.....	18
2.2 Oídio (<i>Podosphaera xanthii</i>).....	20
2.3 Genética da resistência	23
2.4 Identificação de marcadores de DNA relacionados a genes de resistência a <i>Podosphaera xanthii</i> em meloeiro.....	24
REFERÊNCIAS.....	27

CAPITULO 1

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE MELOEIRO RESISTENTES A <i>Podosphaera xanthii</i>.....	38
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	40
1 INTRODUÇÃO.....	41
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	43
2.1 Avaliação da reação de acessos a <i>P. xanthii</i>	43
2.1.1 Local.....	43
2.1.2 Germoplasma.....	43
2.1.3 Obtenção e manutenção do inóculo.....	45
2.1.4 Inoculação e avaliação.....	45
2.1.5 Delineamento e Análises estatísticas.....	46
2.2 Caracterização morfológica dos acessos	46
2.2.1 Local.....	46
2.2.2 Germoplasma.....	47
2.2.3 Caracterização morfológica.....	47
2.2.4 Caracteres avaliados.....	48
2.2.5 Análises estatísticas.....	49
2.3 Caracterização molecular dos acessos	49
2.3.1 Local.....	49
2.3.2 Germoplasma.....	50
2.3.3 Extração de DNA.....	51
2.3.4 Reação PCR.....	52
2.3.5 Análises estatísticas.....	52
3 RESULTADOS.....	56
3.1 Avaliação da reação de acessos a <i>P. xanthii</i>	56
3.2 Caracterização morfológica dos acessos	59
3.3 Caracterização molecular.....	61
4 DISCUSSÃO.....	66
5 CONCLUSÕES.....	72
REFERÊNCIAS.....	73

CAPITULO 2

HERANÇA DA RESISTÊNCIA A <i>Podosphaera xanthii</i> NOS ACESSOS DE MELOEIRO AM55-1A E C-AC-15.....	81
RESUMO.....	82
ABSTRACT.....	83
1 INTRODUÇÃO.....	84
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	86
2.1 Local.....	86
2.2 Germoplasma.....	86
2.3 Manutenção do isolado.....	87
2.4 Avaliação da reação nas populações.....	87
2.5 Análises estatísticas.....	88
3 RESULTADOS.....	89
3.1 Identificação de raça.....	89
3.2 Cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’	89
3.3 Cruzamento C-AC-15 x ‘Védrantais’	91
4 DISCUSSÃO.....	92
5 CONCLUSÕES.....	96
REFERÊNCIAS.....	97

CAPITULO 3

IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES SNP ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA A <i>Podosphaera xanthii</i> EM MELOEIRO.....	101
RESUMO.....	102
ABSTRACT.....	103
1 INTRODUÇÃO.....	104
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	106
2.1 Local.....	106
2.2 Germoplasma.....	106
2.3 Obtenção, manutenção do isolado e avaliação da reação nas populações.....	106
2.4 Extração de DNA.....	107
2.5 Marcadores SNP e Análises de QTLs.....	107
2.7 Análises estatísticas.....	107
3 RESULTADOS.....	109
3.1 Cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’	109
3.2 Cruzamento C-AC-15 x ‘Védrantais’	112
4 DISCUSSÃO.....	116
5 CONCLUSÕES.....	120
REFERÊNCIAS.....	121

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Nordeste brasileiro responde por mais de 95% da produção e exportação de melão (*Cucumis melo* L., 2n=2x=24). Os principais Estados produtores no período de agosto de 2013 a janeiro de 2014 foram o Ceará e o Rio Grande do Norte, com respectivamente 61,14% e 38,76% da produção exportação nacional (MDIC/ALICE WEB, 2014). Os frutos produzidos têm como destino a Comunidade Europeia, Estados Unidos, Ásia e Chile (NUNES et al., 2011). Os polos produtores são Vale do Jaguaribe, no Ceará, e o Agropolo Mossoró-Assu, no Rio grande do Norte. As razões do destaque dos referidos Estados são as condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da cultura como altas temperaturas (>28°C), baixa precipitação pluviométrica ($\approx 600 \text{ mm ano}^{-1}$), a alta luminosidade e a adoção de tecnologia de precisão pelas empresas produtoras. Não obstante o sucesso da cultura do meloeiro no Nordeste, muitos problemas de natureza fitopatológica reduzem a produção e qualidade dos frutos.

Dentre esses problemas, o oídio pode ser citado como a principal doença fúngica da parte aérea na estação “seca” de junho a janeiro. A referida doença é ocasionada pela espécie *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & N. Shishkoff (SHISHKOFF, 2000), anteriormente conhecida por *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht ex Fr.) Pollaci (S. fusca/Fr./Blumer, emenda Braun) (BRAUN, 1995). O fungo infecta principalmente a área foliar da cultura, reduzindo a taxa fotossintética da planta e por consequência diminuindo a produção e qualidade dos frutos (SALES JÚNIOR et al., 2011).

O controle do oídio do meloeiro é realizado pela aplicação de fungicidas a base de enxofre (McGRANTH, 2001). No Brasil, os fungicidas utilizados para o controle de oídio representam uma parcela considerável dos custos de produção. Todavia, nem sempre a doença é totalmente controlada, como nos casos em que o fungo tem sua sensibilidade aos produtos químicos reduzida (HOLLOMON; WHEELER, 2002). Por essa razão, o uso de cultivares resistente tem sido um dos principais métodos utilizados com sucesso no controle a *P. xanthii* (HOSOYA et

al., 2000). As principais vantagens do método são: a fácil adoção por parte do produtor, a associação com outros métodos de controle e a não agressão ao meio ambiente.

Uma primeira ação é a identificação de fontes de resistência no germoplasma disponível. Por ser uma espécie extremamente polimórfica para muitos caracteres, muitas fontes de resistência a *P. xanthii*, principalmente aquelas de origem indiana, foram identificadas em meloeiro. Todavia, em razão da variabilidade na população do patógeno, a resistência sempre é superada, sendo necessária uma busca incessante de novas fontes de resistência no germoplasma disponível, em todo o mundo (DHILLON et al., 2012).

Uma vez identificadas fontes de resistência, é preciso entender o controle genético da resistência nessas fontes. Isso porque a herança depende da fonte de resistência bem como do *background* genético do genitor suscetível utilizado no estudo. Em razão disso, existem diferentes modos de herança relatados na literatura, todavia, a maioria dos estudos apontem para modelos mais simples para explicar o controle genético da resistência de meloeiro a *P. xanthii* (JAHN et al., 2002). O conhecimento da herança é importante porque norteia o melhorista no processo de transferência do(s) alelo(s) para genótipos comerciais.

Outro aspecto relevante nos programas de melhoramento visando resistência a *P. xanthii* é a eficiência do processo de seleção. Em razão de fatores como métodos de inoculação, avaliação, idade da planta e condições ambientais, a fenotipagem é limitada e pouco eficiente em muitos casos (COHEN et al., 2004), sendo, portanto, necessária a busca de ferramentas que substitua ou tornem a fenotipagem mais confiável. Para isso, a ferramenta mais utilizada é o emprego dos marcadores moleculares de DNA para identificar QTLs relacionados a caracteres de interesse. O termo QTL (*Quantitative Trait Locus*) corresponde às regiões do genoma responsáveis pela expressão de caracteres que possuam distribuição contínua. Mapear um QTL significa identificar a sua posição no genoma e estimar seus efeitos genéticos aditivos, de dominância e epistáticos dependendo do modelo adotado (COLLARD et al., 2005). Para realizar o mapeamento são utilizadas diferentes populações como F₂, retrocruzamentos, linhas recombinantes com o

intuito é obter marcadores estritamente ligados aos genes de resistência. Nesse sentido, para o patossistema *C. melo* e *P. xanthii*, foram realizados alguns trabalhos que identificaram QTLs em meloeiro (PITRAT, 1991; PERIN et al., 2002; PERCHEPIED et al., 2005; FUKINO et al., 2008; YUSTE-LISBONA et al., 2011a; WANG et al., 2011; NING et al., 2013). Porém apenas um deles foi capaz de identificar um marcador estritamente ligado ($< 1,0$ cM) (ZHANG et al., 2012).

O presente trabalho foi realizado para atender os seguintes objetivos:

- a) Identificar e caracterizar morfológica e molecularmente fontes de resistência a *P. xanthii*;
- b) Estudar o controle genético da resistência dos acessos AM55-1A e C-AC-15 a *P. xanthii*;
- c) Identificar marcadores moleculares do tipo SNP associados a genes de resistência a *P. xanthii* dos acessos AM55-1A e C-AC-15.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DIVERSIDADE GENÉTICA DO MELOEIRO

O meloeiro, *Cucumis melo* L., pertence ao gênero *Cucumis* da família Cucurbitaceae. A sua região de origem vem sendo motivo de debates entre estudiosos. Um grupo defende o leste africano como provável centro de origem do meloeiro. A principal linha de argumentação se fundamenta no número de cromossomos ($2n=2x=24$) uma vez que as demais espécies de cucurbitáceas deste gênero têm o mesmo número básico de cromossomos ($x = 12$) (KERJE; GRUM 2000; LUAN et al. 2008). Entretanto, a maior diversidade de *landraces* cultivadas é encontrada na Ásia (AKASHI et al. 2002; DWIVEDI et al. 2010). Em adição, tem sido observado insucesso nos cruzamentos envolvendo o meloeiro e outras espécies do gênero *Cucumis* da África (SEBASTIAN et al., 2010). Informações de sequências de DNA mitocondrial e nuclear de acessos africanos, asiáticos e australianos apontam a Ásia, mais especificamente, a Índia, como local de origem do meloeiro a partir da espécie *Cucumis callosus* (Rottle) Cogn. et Harms e que de forma surpreendente, muitas espécies silvestres australianas são estreitamente relacionadas com o meloeiro (SEBASTIAN et al., 2010). Estudos recentes sobre o meloeiro se originou de *Cucumis callosus* (JOHN et al., 2012).

A espécie foi domesticada primeiramente devido à composição nutricional de suas sementes com posterior seleção de frutos. Durante a sua domesticação, o meloeiro sofreu um intenso processo de diversificação, produzindo centros de diversidade dessa cucurbitácea. Os principais centros de diversidade estão localizados na bacia do Mar Mediterrâneo (desde o Sudeste europeu até a Turquia), na Ásia Central (Irã, Iraque e Uzbequistão), na Índia e na Ásia oriental em países como China, Japão e Coreia (WHITAKER; DAVIS, 1962).

O meloeiro possuiu uma grande diversidade morfológica em toda a planta, em especial em seus frutos, sendo considerada a espécie mais polimórfica do gênero *Cucumis* (LUAN et al., 2010). Charles Naudin (1859) foi o primeiro a subdividir a grande variação observada. O botânico francês trabalhou com uma

coleção de 2.000 acessos e dividiu a espécie *C. melo* em 16 variedades botânicas. O trabalho pioneiro de Naudin em 1859 foi a base para classificações subsequentes (COGNIAUX; HARMS, 1924; FILOV, 1960; WHITAKER; DAVIS, 1962; MUNGER; ROBINSON, 1991; PITRAT et al., 2000).

A espécie *Cucumis melo* L. foi subdividida em duas subespécies em função da presença e comprimento de pelos no ovário. Segundo esse critério, cultivares com ovários de pelos longos pertencem à subespécie *agrestis*; enquanto que ovários com pelos curtos identificam a subespécie *melo* (JEFREY, 1980). As variedades ou grupo botânicos *acidulus*, *conomon*, *momordica*, *makuwa*, *chinensis* pertencem à subespécie *agrestis*; enquanto *chate*, *flexuosus*, *tibish*, *adana*, *ameri*, *cantalupensis*, *chandalak*, *reticulatus*, *inodorus* e *dudaim* à subespécie *melo* (PITRAT, 2008; BURGER et al.; 2010). Ressalta-se ainda que algumas destas variedades não são bem definidas pois muitas características são heterogêneas, além disso, existem tipos intermediários, dificultando, em muitas situações, a classificação. Todavia, estudos atualizados com marcadores moleculares como microssatélites e SNPs têm confirmado a classificação proposta por Pitrat (2008) (ESTERAS et al., 2013).

Dentro das variedades ou grupos botânicos estão os tipos de melão, sendo os tipos comercializados no Brasil: Amarelo, Honey Dew, Pele de sapo, Cantaloupe, Gália e Charentais. Os três primeiros tipos de melão pertencem à variedade botânica *inodorus* e se caracterizam por terem frutos sem aroma, boa resistência ao transporte e elevada vida pós-colheita. Os frutos dos melões do tipo Cantaloupe (americano) e Charentais (europreu) são aromáticos, têm elevados valores de sólidos solúveis e baixa conservação pós-colheita (NUNES et al., 2005). O melão Galia é de origem israelense (KARCHI, 2000). Esses tipos de melão podem ser cruzados entre si, existindo continuidade entre eles, com muitas formas intermediárias. Com efeito, as diferentes características fenotípicas dos tipos de melão podem ser combinadas e exploradas nos programas de melhoramento dessa cultura, propiciando a produção de genótipos superiores (PITRAT et al., 2000).

2.2 OÍDIO (*Podosphaera xanthii*)

O oídio é uma enfermidade de grande importância econômica que afeta mundialmente as cucurbitáceas, em especial o melão. A referida doença é ocasionada pelas espécies fúngicas *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & N. Shishkoff (SHISHKOFF, 2000), anteriormente conhecida por *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht ex Fr.) Pollaci (S. fusca/Fr./Blumer, emenda Braun) (BRAUN, 1995); e *Golovinomyces cichoracearum* (D.C.) V.P. Heluta (BRAUN, 1999), anteriormente denominada *Erysiphe cichoracearum* D.C. ex merat. As espécies têm diferentes distribuições geográficas. A espécie *P. xanthii* é cosmopolita (NARUZAWA et al., 2011), enquanto *G. cichoracearum* parece ser prevalente no continente europeu (KŘÍSTKOVÁ et al., 2009).

A possível explicação para a distinção nas distribuições geográficas pode ser devida ao comportamento termófilo de *P. xanthii* que possui faixa de temperatura ótima para germinação conidial entre 25-30°C contra uma faixa de 15-25°C de *G. cichoracearum* (BERTRAND et al., 2002). É consenso entre os autores que *P. xanthii* é a principal espécie causadora de oídio em todo o mundo (HOSOYA et al., 2000; DEL PINO et al., 2002; COHEN et al., 2004; McCREIGHT, 2006; MIAZZI et al., 2011; ZHANG et al., 2012). No Brasil, as duas espécies foram detectadas em condições de casa de vegetação no Estado do Paraná, ocasionando oídio em diversas cucurbitáceas de importância econômica (AGUIAR et al., 2012). Na região Nordeste, apenas a espécie *P. xanthii* foi detectada em condições de campo (SALES JÚNIOR et al., 2011).

A doença ocorre principalmente nos períodos de baixa umidade relativa do ar e elevadas temperaturas. O oídio aparece em folhas, pecíolos e gemas jovens de cucurbitáceas, como um pó branco pulverulento composto por micélio denso e esporos. Em condições favoráveis ao desenvolvimento do fungo toda a superfície da folha pode ser coberta pelas suas estruturas. O fungo pode chegar a cobrir ambas as faces da folha e provocar desfolhação prematura nas plantas (SITTERLY, 1978). A redução da produtividade se deve basicamente à diminuição da área foliar para fotossíntese.

O oídio reduz o rendimento da cultura pela diminuição do tamanho e número de frutos (VIANA et al., 2001) como da sua qualidade do fruto (SALES JUNIOR et al., 2011). Perdas de produção próximas a 50% foram registradas em lavouras de meloeiro em Cuba (DELGADO; LEMUS, 2004).

O fungo tem ciclos de vida assexual, mais comum, e sexual, que é raramente observado em campos de cucurbitáceas em todo o mundo. O ciclo de vida assexual de *P. xanthii* inicia-se com deposição do conídio em um hospedeiro suscetível (Figura 1). O conídio produz um tubo germinativo curto que se diferencia em um apressório a partir do qual um haustório primário forma-se na célula epidérmica. Do apressório primário surge uma hifa primária que forma apressórios secundários a partir dos quais se formam haustórios secundários. A partir da hifa primária formam-se hifas secundárias. Conidióforos emergem verticalmente de algumas hifas secundárias. No topo de cada conidióforo, cinco a dez conídios de forma oval são produzidos em cadeias. Hifas secundárias e conídios formam o micélio branco na superfície da planta, sintoma característico do oídio. Por ser um fungo heterotático, a reprodução sexual ocorre somente após o encontro de hifas distintas quanto ao tipo de acasalamento (Figura 1). Como consequência, é produzido um tipo de corpo de frutificação denominado de *chasmothecia*. Os *chasmothecium* contém um asco com oito ascósporos geneticamente diferentes (PÉREZ-GARCIA et al., 2009).

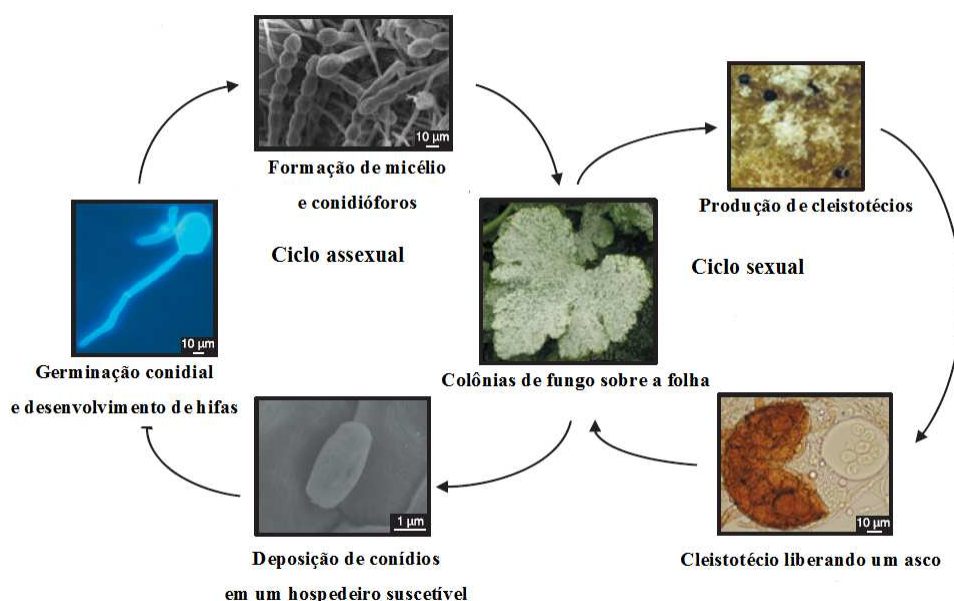


Figura 1. Ciclos de vida assexual e sexual de *P. xanthii* (Adaptado de PEREZ-GARCIA et al., 2009).

Existe variabilidade genética nas populações das espécies *P. xanthii* e *G. cichoracearum* em todo o mundo (HOSOYA et al., 1999; HOSOYA et al., 2000). A variabilidade constatada em *P. xanthii* é maior em relação àquela observada em *G. cichoracearum* uma vez que foram registradas 45 raças de *P. xanthii* e 13 raças de *G. cichoracearum* (McCREIGHT et al., 2012). Isso sem levar em consideração a variação patotípica dentro das raças da espécie *P. xanthii*. Em levantamento preliminar de raças de *P. xanthii* no Brasil, Reis e Buso (2004) observaram que de 31 isolados, 21 eram da raça 1 e oito da raça 2, evidenciando a prevalência da raça 1. Com uma amostra de 65 isolados, a maioria provenientes do Nordeste, Fazza (2006) identificou as raças 0, 1, 2 (FR), 3, 4 e 5, com prevalência das raças 1 e 2. Sales Júnior et al. (2011) também observaram prevalência das raças 1 e 2 no Agropolo Mossoró-Assu. A presença de raças é um grande problema para o melhoramento genético. A variação na população do patógeno diminui a vida útil das cultivares resistentes (HOSOYA et al., 2000). Por esta razão, é importante

sempre acompanhar as raças prevalentes em uma determinada região para orientar os programas de melhoramento (BURGER et al., 2010).

O controle químico é realizado por aplicações de fungicidas a base de enxofre (McGRANTH, 2001). No entanto, além de ser oneroso e perigoso para o ambiente, tem sido pouco eficiente (HOLLOMON; WHEELER, 2002). Por outro lado, a importância de métodos alternativos de controle tem aumentado significativamente frente às pressões por produtos com menores quantidades de resíduos e redução da contaminação ambiental.

2.3 GENÉTICA DA RESISTÊNCIA

Uma das alternativas é o uso de cultivares com resistência genética. O uso de resistência genética tem como principais vantagens a acessibilidade pelo produtor, não contaminação ou poluição ao meio ambiente e compatibilidade com outros métodos de controle. O melhoramento genético para resistência a *P. xanthii* tem sido realizado com sucesso em várias partes do mundo, contudo a grande variabilidade genética da população do patógeno dificulta o trabalho de obtenção de cultivares resistente (HOSOYA et al., 1999).

Os trabalhos com resistência genética a *P. xanthii* iniciaram-se pela coleta de acessos de melão em diversas partes do mundo (JAGGER et al., 1938). Em um acesso proveniente da Índia (PI 78374) observou-se resistência ao oídio raça 1. Em seguida, por meio de um programa de retrocruzamentos combinado com seleção de campo, observou-se que a raça 1 era controlada por um gene simples contido na cultivar ‘PMR 45’. Todavia, no ano seguinte, ‘PMR 45’ e suas seleções foram suscetíveis ao oídio, evidenciando uma nova raça. Genes de resistência a essa nova raça, denominada de raça 2, foram obtidos em PI 78374. Utilizando a cultivar ‘PMR 45’ como genitor, novas cultivares resistentes a raça 2 foram desenvolvidas, como por exemplo: ‘PMR 5’, ‘PMR 6’ e ‘PMR 7’. Bohn; Whitaker (1964) verificaram que a resistência à raça 2 era controlada por um gene parcialmente dominante, *Pm2*. Harwood; Markarian (1968), usando a variedade ‘Seminole’, oriundo de PI 124112, demonstraram que a resistência era controlada por dois

pares de genes os quais tinham efeitos parcialmente aditivos. Os genes maiores mostraram dominância parcial, enquanto genes menores dominância completa. Essa resistência era diferente daquela para *Pm2*, e foi altamente eficaz no leste dos EUA, mas menos no Oeste.

A história aponta alguns os acessos da variedade botânica *momordica* como as principais fontes de resistência às diversas raças de *P. xanthii* e *G. cichoracearum* (DHILLON et al., 2012). Estudos mais recentes identificaram novas fontes de resistência, como 'PMAR N° 5' resistente a raça 1 (FUKINO et al., 2004), 'TGR-1551' (YUSTE-LISBONA et al., 2010) resistente as raças 1, 2 e 5, 'PI 313970' resistente a raça 'S' (SEDLAROVÁ et al., 2009). Os principais híbridos cultivados no Agropolo Mossoró-Assu têm resistência à raça 1 e 2 em razão da prevalência dessas raças nesta região de cultivo (FAZZA, 2006; SALES JÚNIOR et al., 2011).

Para o aproveitamento das fontes de resistência e transferência de alelos de interesse é importante o conhecimento da herança envolvida na resistência. Nesse sentido, muitos trabalhos foram realizados a medida que novas fontes eram identificadas (JAGGER et al., 1938; HARWOOD; MARKARIAN, 1968; EPINAT et al., 1993; FLORIS; ALVAREZ, 1995; FUKINO et al., 2004; PITRAT; BESOMBLES, 2008; YUSTI-LISBONA et al., 2010; McCREIGHT; COFFEY, 2011). Os resultados relatados foram muito divergentes entre os manuscritos devido a diversos fatores como genitores, raças, métodos de avaliação e condições ambientais.

2.4 IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES DE DNA RELACIONADOS A GENES DE RESISTÊNCIA A *Podospaera xanthii* EM MELOEIRO

Os primeiros marcadores moleculares, também chamados de marcadores bioquímicos, foram as isoenzimas. Esses marcadores eram populares no início dos anos 70, devido aos avanços em géis de amido e de coloração histoquímica de proteínas. Avanços na biologia molecular permitiram o desenvolvimento de marcadores de polimorfismos baseados em sequências de DNA. Os marcadores

RFLP (polimorfismo de restrição de comprimento de fragmento) baseiam-se nas variações do tamanho dos fragmentos de DNA. Estes marcadores são codominantes e foram amplamente utilizados nos anos 80 e 90. Com o estabelecimento da técnica de PCR, novos marcadores como RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso), AFLP (polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados), SCAR (regiões amplificadas caracterizadas por sequências), SSR (sequências simples repetidas) e SNPs (polimorfismo de nucleotídeo simples) foram desenvolvidos (BECERRA; PAREDES, 2000).

Os marcadores SNPs são mais recentes e se baseiam na detecção de polimorfismo resultante da alteração de uma única base do genoma. Para que a variação seja considerada SNP, ela precisa ocorrer em pelo menos 1% da população. A presença de SNPs em meloeiro foi relatada inicialmente pelos trabalhos realizados por pesquisadores espanhóis. Foram identificados 768 marcadores do tipo SNPs desenvolvidos na plataforma ‘Gold Gate’ (MORALES et al., 2004; DELEU et al., 2009; BLANCA et al., 2012). Esses SNPs identificados *in silico* foram posteriormente validados utilizando-se indivíduos representantes de diferentes variedades botânicas (ESTERAS et al., 2013).

O termo QTL (em inglês Quantitative Trait Loci) corresponde à uma região do genoma relacionada a um carácter de herança quantitativa. O mapeamento de QTLs consiste em se detectar uma associação entre o fenótipo em questão e o genótipo de marcadores (TANKSLEY, 1993). Além disso, estima-se seus efeitos genéticos aditivos, de dominância e epistáticos dependendo do modelo adotado (COLLARD et al., 2005). Existem alguns trabalhos que relatam a identificação de QTLs ligados a genes de resistência à determinadas raças de *P. xanthii*. Vários QTLs foram identificados no grupo de ligação V: *Pm-W* da linhagem WMR-29 (PITRAT, 1991); *Pm-NA* (WANG et al., 2011), *Pmv.1* da diferenciadora PI 124112 (PERCHEPIED et al. 2005) e *Pm-R* do acesso TGR-1551 (YUSTE-LISBONA et al., 2011a). Os QTLs *Pm-y* do acesso VA 435 (PITRAT, 1991; PERIN et al. 2002), *PmXII.1* (PERCHEPIED et al. 2005) e um QTL relatado por Fukino et al. (2008) estão associados ao grupo de ligação XI. O QTL *Pm-x* (PITRAT, 1991; PERIN et al. 2002) e um segundo QTL (FUKINO et al.

2008) estão associados com o grupo de ligação II. No Brasil, foi identificado o QTL *Pm-1* da linhagem AF-125 associado ao LG IX (TEIXEIRA et al. 2008). Estudando o cruzamento entre PI 414723 x 'Védrantais', Fazza et al. (2013) observou a presença de QTLs no grupo de ligação II, denominados de *Pm-x1.5* e *Pm-x3*. O primeiro associado à resistência às raças 1 e 5, e o segundo, à raça 3. Também foi detectado um marcador AFLP (H35M75_156) situado a 1,3 cM de *Pm-x1.5* e 3,8 cM de *Pm-x3*.

Não há informações sobre o mapeamento de QTLs como fontes de resistências identificadas entre os acessos oriundos de pequenos produtores brasileiros, sendo, portanto, importante, tais informações para auxiliar a seleção e desenvolvimento de cultivares resistentes às raças prevalentes no semiárido brasileiro.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, B.M.; VIDA, J.B.; TESSMANN, D.J.; OLIVEIRA, R.R.; AGUIAR, R.L.; ALVES, T.C.A. Fungal species that cause powdery mildew in greenhouse-grown cucumber and melon in Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 3, p. 247-252, 2012.

AKASHI, Y.; FUKUDA, N.; WAKO, T.; MASUDA, M.; KATO, K. Genetic variation and phylogenetic relationships in East and South Asian melons, *Cucumis melo* L., based on the analysis of five isozymes. **Euphytica**, v. 125, n.2, p. 385-396, 2002.

ALICEWEB/MDIC - **Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior/Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior**. 2014, 16 de Fevereiro. Disponível em <http://aliceweb.mdic.gov.br//index/home>.

BECERRA, V.V.; PAREDES, C.M. Use of biochemical and molecular markers in genetic diversity. **Studies Agriculture Technic**, v. 60, p. 271-281, 2000.

BERTRAND, F. AR Hale's Best Jumbo: a new differential melon variety (*Spharotheca fuliginea*) races in leaf disk test. p. 234-237. In: D.N.Maynard (ed.). Cucurbitaccae 2002. **ASHS Press**. Alexandria, Va. 2002.

BLANCA, J.; ESTERAS, C.; ZIARSOLO, P.; FERNANDEZ, V.; COLLADO, C.; RODRIGUEZ, R.; BALLASTER, A.; ROIG, C.; CAÑIZARES, J.; PICÓ, B. Transcriptome sequencing for SNP Discovery across *Cucumis melo*. **BMC Genomics**, v. 13, p. 230-245, 2012.

BOHN, G.W.; WHITAKER T.W. Genetics of resistance to powdery mildew rac 2 in muskmelon. **Phytopathology**, v. 54, n.4, p. 587-591, 1964.

BRAUN, U. The Powdery Mildews (Erysiphales) of Europe. Gustav Fischer Verlag, Jena. 1995.

BRAUN, U. Some critical notes on the classification and the genetic concept of the Erysiphacea. **Schlechtendalia**, v. 3, p. 48-54, 1999.

BURGER, Y.; PARIS, H.S.; COHEN, R.; KATZIR, N.; TADMOR, Y.; E. LEWINSOHN, E.; SCHAFFER, A.A. Genetic diversity of *Cucumis melo*. **Horticulture Review**. v. 36, p. 165–198, 2010.

COGNIAUX, A.; HARMS, H. *Cucurbitaceae - Cucurbiteae - Cucumerineae*, p. 116-157. In **Das Pflanzenreich. Regni vegetabilis conspectus** (A. Engler ed.). Vol: 88 (IV.275.II). Ilhelm Engelmann, Leipzig (DE). 1924.

COLLARD, B.C.Y.; JAHUFER, M.Z.Z.; BROUWER, J.B.; PANG, E.C.K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica**, v. 142, p. 169-196, 2005.

COHEN, R. BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasita**. v. 32, p. 174-183, 2004.

DELEU, W.; ESTERAS, C.; ROIG, C. ;FERNANDEZ-SILVA, M.; GONZALEZ-IBEAS, D.; BLANCA, J, ARANDA, MA, ARU'S P, NUEZ F, MONFORTE AJ, PICO MB, GARCIA-MAS J. A set of EST-SNPs for map saturation and cultivar identification in melon. **BMC Plant Biology**, v. 9, n.1, 75-90. 2009.

DELGADO, G.; LEMUS, Y. Taxonomía de *Sphaerotheca fuliginea* (Erysiphales, Ascomycota) sobre melón en Cuba. **Fitosanidad**, v. 8, n. 2, p. 27-29, 2004.

DEL PINO, D.; OLALLA, L.; PEREZ-GARCIA, A.; RIVERA, M.E.; GARCIA, S.; MORENO, R.; VICENTE, A.; TORÉS, J.A. Occurrence of Races and Pathotypes of Cucurbit Powdery Mildew in Southeastern Spain. **Phytoparasitica**, v. 30, n.5, p. 1-8, 2002.

DHILLON, N.P.S., MONFORTE, A.J., PITRAT, M. Melon landraces of India: contributions and importance. **Plant Breeding Reviews**, v. 35, p. 85-150, 2012.

DWIVEDI, N.K.; DHARIWAL, O.P.; KRISHNAN, S.G.; BHANDARI, D.C. Distribution and extent of diversity in *Cucumis* species in the Aravalli ranges of India. **Genetic Resources Crop Evolution**, v. 57, n.3, p 443-452, 2010.

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

ESTERAS, C.; FORMISANO, G.; ROIG, C.; DÍAZ, A.; BLANCA, J.; GARCIA-MAS, J.; GÓMEZ-GUILLAMÓN, M.L.; LOPÉZ-SESÉ, A.I.; LÁZARO, A.; MONFORTE, A.J.; PICÓ, B. SNP genotyping in melons: genetic variation, population structure, and linkage disequilibrium. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, n. 5, p. 1285-1303, 2013.

FAZZA, A. C. **Caracterização e ocorrência de agentes causais de oídio em cucurbitáceas no Brasil e reação de germoplasma de meloeiro**. Piracicaba: ESALQ, 2006. 60p. (Dissertação de Mestrado). 2006.

FAZZA, A.C.; DALLAGNOL, L.J.; FAZZA, A.C.; MONTEIRO, C.C.; LIMA, B.M.; WASSANO, D.T.; CAMARGO, L.E.A. Mapping of resistance genes to races 1, 3 and 5 of *Podosphaera xanthii* in melon PI 414723. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 349-355, 2013.

FILOV, A.I. [The problem of melon systematics]. Vestnik sel'skochozjajstvennoj nauki, v.1, p. 126-132. 1960.

FLORIS, E.; ALVAREZ, J.M. Genetic analysis of resistance of three melon lines to *Sphaerotheca fuliginea*. **Euphytica**, v. 81, p. 181-186, 1995.

FUKINO, N.; KUNIHISA, M.; MATSUMOTO, S. Characterization of recombinant inbred lines derived from crosses in melon (*Cucumis melo* L.), PMAR 5 x 'Harukei No. 3'. **Breeding Science**, v. 54, p. 141-145, 2004.

FUKINO, N.; OHARA, T.; MONFORTE, A.J.; SUGIYAMA, M.; SAKATA, Y.; KUNIHISA, M.; MATSUMOTO, S. Identification of QTLs for resistance to powdery mildew and SSR markers diagnostic for powdery mildew resistance genes in melon (*Cucumis melo* L.). **Theoretical Applied Genetic**, v. 118, n. 1, p. 165-175, 2008.

HARWOOD, R.R.; MARKARIAN, D. The inheritance of resistance to powdery mildew in the cantaloupe variety Seminole. **The Journal of Heredity**, v. 59, n.2, p. 126-130, 1968.

HOLLOMON, D.W.; WHEELER, I.E. Controlling powdery mildews with chemistry. In: **The powdery mildews: a comprehensive treatise**. (BÉLANGER, R.R.; BUSHNELL, W.R.; DIK, A.J.; CARVER, T.L.W. Ed.). Ed. APS Press, St. Paul (MN, USA). 2002. pp 249-255. Saint Paul, MN: APS Press. 2002.

HOSOYA, K.; KUZUYA, M.; MURAKAMI, T.; KATO, K.; NARISAWA, K.; EZURA, H. Impact of resistant melon cultivars on *Sphaerotheca fuliginea*. **Plant Breeding**, v. 119, p. 286-288, 2000.

HOSOYA, K.; NARISAWA, K.; PITRAT, M.; EZURA, H. Race identification in powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on melon (*Cucumis melo*) in Japan. **Plant Breeding**, v. 118, p. 259-262, 1999.

JAGGER, I.C.; WHITAKER, T.W.; PORTER, C.R. A new biologic form of powdery mildew on muskmelons in the Imperial Valley of California. **Plant Disease Reporter**, v. 22, n.2, p. 275-276, 1938.

JAHN, M.; MUNGER, H.M.; McCREIGHT, J.D. Breeding Cucurbit Crops for Powdery Mildew Resistance. In: **The powdery mildews: a comprehensive treatise**. (BÉLANGER, R.R.; BUSHNELL, W.R.; DIK, A.J.; CARVER, T.L.W., eds), Ed. APS Press, St. Paul (MN, USA). 2002. pp 239-248.

JEFREY, C. A review of the cucurbitaceae. **Botanic Journal Linneus Society**, v. 81, n.2., p. 233-247, 1980.

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

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

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

KRISTKOVÁ, E.; LEBEDA, A.; SEDLTLKOVÁ, B. Species spectra, distribution and host range of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic, and in some other European and Middle Eastern countries. **Phytoparasita**, v. 37, p. 337-350. 2009.

LUAN, F., DELANNAY, I., STAUB, J.E. Chinese melon (*Cucumis melo* L.) diversity analyses provide strategies for germplasm curation, genetic improvement, and evidentiary support of domestication patterns. **Euphytica**, v. 164, n.2, p. 445-461, 2008.

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

McCREIGHT, J.D. Melon-powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. **Journal American Society Horticulture Science**, v.131, p. 59-65, 2006.

McCREIGHT, J.D.; COFFEY, M.D. Inheritance of Resistance in melon PI 313970 to Cucurbit powdery mildew incited by *Podosphaera xanthii* race S. **Hortiscience**, v. 46, n. 6, p. 828-840, 2011.

McCREIGHT, J.D.; COFFEY, M.; SEDLAKOVA, B.; LEBEDA, A. Cucurbit powdery of melon incited by *Podosphaera xanthii*: Global and western U.S. perspectives. **Cucurbitaceae 2012, Proceedings of the Xth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae** (eds. Sari, Solmaz and Aras) Antalya (Turkey), October 15-18th, 2012.

McGRANTH, M.T. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and challenges. **Plant Disease**, v. 85, n. 1, p. 236-245, 2001.

MAZZI, M.; CATALDO LAGUARDIA, C.; FARETRA, F. Variation in *Podosphaera xanthii* on Cucurbits in Southern Italy. **Journal Phytopathology**, v. 159, p. 538-545, 2011.

MORALES, M, ROIG, E, MONFORTE, A. J, ARÚS, P, GARCIA-MAS, J. Single nucleotide polymorphisms detected in expressed sequence tags of melon (*Cucumis melo* L.). **Genome**, v. 47, p. 352-360, 2004.

MUNGER, H.M.; ROBINSON, R.W. Nomenclature of *Cucumis melo* L. **Cucurbit Genetic Cooperative Report**, Raleigh, v. 14, n. 1, p. 43-44, 1991.

NARUZAWA, E. S.; VALE, R. K. D.; SILVA, C. M.; CAMARGO, L. E. A. Estudo da diversidade genética de *Podosphaera xanthii* através de marcadores AFLP e sequências ITS. **Summa Phytopathology**, v. 37, n. 2, p. 1-8, 2011.

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

NUNES, G.H.S.; SANTOS JÚNIOR, J.J.; ANDRADE, F.V.; BEZERRA NETO, F.; MENEZES, J.B.; PEREIRA, E.W.L. Desempenho de híbridos do grupo *inodorus* em Mossoró. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 90-94, 2005.

NUNES, G.H.S.; SANTOS JÚNIOR, H.; GRANGEIRO, L.C.; BEZERRA NETO, F.; DIAS, C. T.S.; DANTAS, M.S.M. Phenotypic stability of hybrids of *Galia melon* in Rio Grande do Norte state, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, n. 12, p. 1421-1434, 2011

NING, X.; WANG, X.; GAO, X.; ZHANG, Z.; ZHANG, L.; YAN, W.; LI, L. Inheritances and location of powdery mildew resistance gene in melon Edisto 47. **Euphytica**, v. 176, p. 1-9, 2013.

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

PÉREZ-GARCÍA, A.; ROMERO, R.; FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; LÓPEZ-RUIZ, F.; VICENTE, A.; TORÉS, J.A. The powdery mildew fungus *Podosphaera fusca* (synonym *Podosphaera xanthii*), a constant threat to cucurbits. **Molecular Plant Pathology**, v. 10, n.2, p. 153-160, 2009.

PERIN, C.; HAGEN, L.; DE CONTO, V.; KATZIR, N.; DANIN-POLEG, Y.; PORTNOY, V.; BAUDRACCO-ARNAS, S.; CHADOEUF, J.; DOGIMONT, C.; PITRAT, M. A reference map of *Cucumis melo* based on two recombinant inbred line populations. **Theoretical Applied Genetic**, v. 104, n. 6, p. 1017–1034, 2002.

PITRAT, M. Linkage groups in *Cucumis melo* L. **Journal Heredity**, v. 82, n. 5, p. 406-411, 1991.

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

PITRAT, M.; BESOMBLES, D. Inheritance of *Podosphaera xanthii* resistance in melon line ‘90625’ In Cucurbitaceae 2008, **IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae (Pitrat M, eds)**, INRA, Avignon, France, p. 135-142, 2008.

PITRAT, M.; HANELT, P.; HAMMER, K. Some comments on infraspecific classification of cultivars of melon. **Acta Horticulture**, v.510, p.29-36, 2000.

REIS, A.; BUSO, J.A. Levantamento preliminar de raças de *Sphaerotheca fuliginea* no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 122, n.3, p. 628-631, 2004.

SALES JUNIOR, R., DANTAS, F. F.; SALVIANO, A. M.; NUNES, G. H. S. Qualidade do melão exportado pelo porto de Natal-RN. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 286-289, 2006.

SALES JÚNIOR, R.; NUNES, G.H.S.; MICHEREFF, S.J.; PEREIRA, E.W.L.; GUIMARÃES, I.M. Reaction of families and lines of melon to powdery mildew. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 382-386, 2011.

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

SEDLÁROVÁ, M.; LEBEDA, A.; MIKSIKOVA, P.; DUCHOSLAV, M.; B. SEDLAKOVA, B.; McCREIGHT, J.D. Histological aspects of *Cucumis melo* PI 313970 resistance to *Podosphaera xanthii* and *Golovinomyces cichoracearum*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 116, n.4, p. 169-176, 2009.

SHISHKOFF, N. The name of the cucurbit powdery mildew: *Podosphaera* (sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castag.) U. Braun & N. Shish. comb. nov. **Phytopathology** 90:S133, 2000.

SITTERLY W. R. 1978. Powdery mildews of cucurbits. In: SPENCER, D.M., ed. The powdery mildews. NY: **Academic Press**, pp. 359- 379. 1978.

TANKSLEY, S. D. Mapping polygenes. **Annual Review of Genetic**, v. 27, n. 1, p. 205-233, 1993.

TEIXEIRA, A. P. M.; BARRETO, A.; CAMARGO, L.E.A. (2008) An AFLP marker linked to the Pm-1 gene that confers resistance to *Podosphaera xanthii* race 1 in *Cucumis melo*. **Genetics Molecular Biology**, v. 31, n. 2, p. 547–550, 2008.

VIANA, F. M. P. **Recomendações para o controle das principais doenças que afetam a cultura do melão na região Nordeste**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001. 6 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular Técnica, 12).

WANG, X.; LI, G.; GAO, X.; XIONG, L.; WANG, W.; HAN, R. Powdery mildew resistance gene (Pm-AN) located in a segregation distortion region of melon LGV. **Euphytica**, v. 180, n. 3, p. 421–428, 2011.

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

YUSTE-LISBONA, F.J.; LÓPEZ-SESÉ, A.L.; GÓMEZ-GUILLAMÓN, M.L. Inheritance of resistance to races 1, 2 and 5 of powdery mildew in the melon TGR-1551. **Plant Breeding**, v. 129, n.1, p. 72-75, 2010.

YUSTE-LISBONA, F.J.; CAPEL, C.; GOMEZ-GUILLAMON, M.L.; CAPEL, J.; LOPEZ-SESE, A.I.; LOZANO, R. Codominant PCR-based markers and candidate genes for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.). **Theoretical Applied Genetic**, v.122, n.4, p.747-758, 2011a.

ZHANG, C.; REN, Y.; GUO, S.; HAIYING ZHANG, H.; GONG, G.; DU, Y.; XU, Y. Application of comparative genomics in developing markers tightly linked

to the Pm-2F gene for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.).
Euphytica, v. 181, n. 2, p. 1-12, 2012.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE MELOEIRO RESISTENTES A *Podosphaera xanthii*

RESUMO

NUNES, Elaine Welk Lopes Pereira. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de meloeiro resistentes a *Podosphaera xanthii***. 2014. 125p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

O oídio causado por *Podosphaera xanthii* limita a produção de melão em todo o mundo. O uso de cultivares resistentes é a principal estratégia para controlar essa doença. O objetivo deste trabalho foi avaliar cinquenta e seis acessos de melão de diferentes origens geográficas para resistência a *P. xanthii* usando inoculação artificial em condições de casa de vegetação em Valência, Espanha. Os acessos resistentes C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 e AM55-1A foram caracterizados com caracteres morfológicos e marcadores microssatélites. Os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 exibiram características da variedade botânica *momordica*, enquanto o acesso AM55-1A exibiu características da variedade botânica *acidulus*. A caracterização molecular confirmou os resultados observados na caracterização morfológica. Os acessos identificados podem ser úteis como fontes de resistência em programas de melhoramento para *P. xanthii*.

Palavras-chave: *Cucumis melo* L. Oídio. Germoplasma. Microssatélites. Pré-melhoramento.

ABSTRACT

NUNES, Eláine Welk Lopes Pereira. **Morfological and molecular characterization of melon accessions resistant to *Podosphaera xanthii***. 2014. 125p. Thesis (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

Powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii* limits to production of melon in worldwide. Cultivars resistant are main strategy to control Powdery mildew. The aim objective of the present work was evaluate fifty-six melon accessions with different geographical origins for resistance to *P. xanthii* using artificial inoculation procedure under greenhouse conditions in Valencia, Spain. The resistant accessions C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 and AM55-1A were characterized with morphological traits and microsatellites markers. The accessions C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 exhibited characteristics of botanical variety *momordica* while the accession AM55-1A exhibited characteristics of botanical variety *acidulus*. The molecular characterization confirmed the results observed in morphological characterization. The accessions identified may be useful as sources of resistance in breeding programs against *P. xanthii*.

Key Words: *Cucumis melo*. Powdery mildew. Germplasm. Microsatellites. Pre-breeding.

1 INTRODUÇÃO

O oídio é uma das principais doenças fúngicas da cultura do melão em todas as partes do mundo. Essa doença é ocasionada pelas espécies *Podosphaera xanthii* e *Golovinomyces cichoracearum* (KUZUYA et al., 2006). As duas espécies foram detectadas em condições de casa de vegetação no Estado do Paraná, ocasionando oídio em diversas cucurbitáceas de importância econômica (AGUIAR et al., 2012). Na região Nordeste, apenas a espécie *P. xanthii* foi detectada (SALES JÚNIOR et al., 2011).

A doença é caracterizada pelo aparecimento de um crescimento branco e pulverulento correspondente ao micélio, conidióforos e conídios do fungo. Sob condições ideais para o desenvolvimento do fungo em hospedeiro com alta suscetibilidade, as plantas severamente atacadas perdem o vigor e ocorre desfolhamento prematuro, tendo como consequência a redução da produtividade (KUZUYA et al., 2006). A redução da produtividade se deve basicamente à diminuição da área foliar para fotossíntese (VIANA et al., 2001; SALES JUNIOR et al., 2011). Foram estimadas perdas de produção próximas a 50% em Cuba (DELGADO; LEMUS, 2004). Todavia, a experiência acompanhando cultivos em talhões de meloeiro junto ao setor produtivo no Agropolo Mossoró-Assu tem mostrado estimativas de perdas superiores em razão da redução da qualidade do fruto.

O controle do oídio do meloeiro tem sido realizado pela aplicação de fungicidas a base de enxofre (HOLLOMON; WHEELER, 2002) e, ou, pelo uso de cultivares resistentes (McCREIGHT, 2006; DHILLON et al., 2012). Não obstante, nos últimos anos, em razão de pressões dos consumidores por alimentos com menor quantidade de produtos químicos fitossanitários, tem sido dado um grande enfoque ao controle genético. O controle genético tem a vantagem de ser seguro ao ambiente, ter fácil adoção e ser complementar a outros métodos de controle.

Uma das primeiras ações para se obter cultivares resistentes é a identificação de fontes de resistência no germoplasma disponível. Historicamente,

as principais fontes de resistência aos dois patógenos causadores de oídio são provenientes da Índia, especialmente da variedade botânica *momordica* (DHILLON et al., 2012). Introduções *momordica* como PI 124111, PI 124112, PI 414723 e linhagem ‘MR-1’ têm sido utilizadas em programas de melhoramento genético (PITRAT, 2008). A primeira cultivar resistente ao oídio, ‘PMR Nº 45’, foi obtida a partir do cruzamento entre o acesso resistente #525 da variedade *momordica* e a cultivar ‘Hales Best’ (JAGGER; SCOTT, 1937). Além de acessos *momordica*, fontes de resistência pertencentes às outras variedades botânicas foram identificadas, tais como o acesso *aciculus* TGR 1551 proveniente de Zimbábue e resistente às raças 1, 2 e 5 (YUSTE-LISBONA et al., 2010) e o acesso PI 313970 (McCREIGHT, 2003). Por outro lado, em razão da variabilidade na população do patógeno é necessário um trabalho contínuo de busca de novas fontes de resistência em bancos de germoplasma do mundo todo (HOSOYA et al., 1999).

O meloeiro é a mais polimórfica dentre as cucurbitáceas do gênero *Cucumis*, tendo germoplasma disponível em várias partes do mundo (BURGER et al., 2010). Mesmo tendo seus centros de origem, domesticações primária e secundária em regiões distantes do Brasil, existem variedades tradicionais adaptadas às diferentes condições edafo-climáticas nacionais. As variedades tradicionais de meloeiro, introduzidos desde o século XVI pela imigração, ainda existem devido aos trabalhos de seleção realizados em vários ciclos por pequenos agricultores. As referidas variedades têm sido coletadas na agricultura de subsistência de vários estados do Nordeste brasileiro, bem como em outros estados (DELWING et al., 2007).

Todavia, existe carência de informações sobre a reação do germoplasma nacional aos principais patógenos da cultura, inclusive o agente causal do oídio, *P. xanthii*. Sendo, portanto, necessárias ações de pesquisas que permitam a identificação de fontes de resistência para as principais pragas e doenças importantes na região. Também existem carências de caracterização de acessos quanto às características quantitativas e qualitativas de frutos, sendo essa uma das limitações para o pouco uso do germoplasma disponível dessa cucurbitácea.

O presente trabalho que teve o objetivo de identificar e caracterizar morfológica e molecularmente fontes de resistência a *P. xanthii*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Avaliação da reação de acessos a *P. xanthii*

2.1.1 Local

O experimento foi conduzido no período de junho a julho 14/06/2012 a 31/07/2012 na casa de vegetação e Laboratório de Melhoramento Genético de Cucurbitáceas do Instituto de Conservación Y Mejora de La Agrodiversidad Valenciana (COMAV) na Universidad Politécnica de Valencia (UPV), em Valencia, Espanha. O município de Valencia, na Comunidad Valenciana, está situado a uma latitude norte de 39° 28' 11'', longitude 0° 22' 38'' a oeste de Greenwich e tem 13,0 m de altitude acima do nível do mar. Durante o período de execução do experimento, a temperatura média na casa de vegetação foi de 27,8°C e a umidade relativa do ar de 61,5%.

2.1.2 Germoplasma

Foram avaliados 56 acessos do Banco de germoplasma do Instituto de Conservación Y Mejora de La Agrodiversidad Valenciana (COMAV) oriundos de diversas partes do mundo (Tabela 1). Dentre os acessos avaliados, foram incluídas dez cultivares diferenciadoras de raças de *P. xanthii* (JAHN et al., 2002). Entre os acessos, quatro pertencem à Coleção de Germoplasma da Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA).

No presente estudo, visando à identificação de raça(s), foram utilizadas dez diferenciadoras MR1; WMR29; PMR5; PMR6; PMR45; Edisto 47; Véndrantaís; PI414723; PI124112 e PI124111.

Tabela 1. Acessos de meloeiro avaliados para reação a *Podosphaera xanthii*.
Valencia, UPV, 2014.

Acesso	Grupo	Origem	Acesso	Grupo	Origem
C-AC-02	<i>momordica</i>	Brasil	PI 124112	<i>momordica</i>	Índia
C-AC-09	<i>momordica</i>	Brasil	PI 482393	<i>agrestis</i>	Zimbábue
C-AC-15	<i>momordica</i>	Brasil	ASI-C-11	<i>ameri</i>	Geórgia
C-AC-34	<i>momordica</i>	Brasil	PI 185111	<i>agrestis</i>	Ghana
Ra-chibber-1A	<i>agrestis</i>	Índia	PI 164320	<i>chito</i>	Índia
AHK-119-1B	<i>agrestis</i>	Índia	C-30	<i>makuwa</i>	Japão
WM-3-1B	<i>agrestis</i>	Índia	Pat-81	<i>conomon</i>	Coreia
WM-7-1D	<i>agrestis</i>	Índia	CUM-287	<i>agrestis</i>	Nigéria
WM-9-2A	<i>agrestis</i>	Índia	PI 436534	<i>agrestis</i>	Senegal
WM-9-2B	<i>agrestis</i>	Índia	C-61	<i>inodorus</i>	Espanha
WN-19-1F	<i>agrestis</i>	Índia	PI 167057	<i>flexuosus</i>	Turquia
WM-22	<i>agrestis</i>	Índia	ASI-C-5	<i>ameri</i>	Uzbequistão
WM-24-2D	<i>agrestis</i>	Índia	PI 505602	<i>acidulus</i>	Zambia
WN-44-1A	<i>agrestis</i>	Índia	PI 482429	<i>agrestis</i>	Zimbabue
WM-64-2A	<i>agrestis</i>	Índia	Freeman's C.	<i>conomon</i>	Coreia
SM-81	<i>momordica</i>	Índia	Paul	<i>conomon</i>	Japão
SM-113-B	<i>momordica</i>	Índia	PI 161375	<i>conomon</i>	Japão
AM-78-1B	<i>momordica</i>	Índia	I-180	<i>dudaim</i>	Afeganistão
AM-7-2B	<i>momordica</i>	Índia	Silka	<i>acidulus</i>	Índia
AM55-1A	<i>acidulus</i>	Índia	I-188	<i>flexuosus</i>	Arabia
PI-414723	<i>momordica</i>	Índia	Tayer 7	<i>agrestis</i>	Sudão
PMR-5	<i>cantaloupensis</i>	USA	Tendelti	<i>agrestis</i>	Sudão
PMR-6	<i>cantaloupensis</i>	USA	Khurtagat	<i>tibish</i>	Sudão
PMR-45	<i>cantaloupensis</i>	USA	BC1-I-19	<i>tibish</i>	Sudão
'MR-1'	<i>momordica</i>	Índia	F1-I-199	<i>tibish</i>	Sudão
WMR-29	<i>cantaloupensis</i>	USA	Gulf Cost	<i>cantaloupensis</i>	USA
Edisto 47	<i>cantaloupensis</i>	USA	TGR-1551	<i>acidulus</i>	Zimbabue
'Védrantais'	<i>cantaloupensis</i>	França	AR-HBJ	<i>cantaloupensis</i>	USA

2.1.3 Obtenção e manutenção do inóculo

Foi utilizado o isolado de *Podosphaera xanthii* UP-PX-01 coletado em uma planta do terceiro retrocruzamento da população da linhagem C-61' (tipo pele de sapo e variedade *inodorus*) e C-30 (Grupo *makuwa*) oriundo da casa de vegetação na Universidad Politécnica de Valencia (UPV), em Valencia, Espanha.

O isolado foi mantido por inoculações periódicas a cada 30 dias em plantas da linhagem C-61'. As inoculações foram realizadas em cotilédones e folhas de plantas no estágio de três folhas verdadeiras com o auxílio de pincel com cerdas de camelo nº 2, previamente desinfestado em álcool 70%. As plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação isoladas e cultivadas em vasos plásticos com capacidade de 3 litros, preenchidos com substrato comercial Huminsubstrat N3®.

2.1.4 Inoculação e Avaliação

A inoculação e a avaliação foram feitas em casa de vegetação isolada em plantas cultivadas em vasos de 1 litro, preenchido por substrato comercial supracitado. A inoculação foi feita 20 dias após a semeadura em plantas no estágio de três folhas verdadeiras conforme metodologia empregada por McCreight (2003). Realizou-se a avaliação nas folhas aos 25 dias após a inoculação utilizando a escala de notas de 1 a 9. Foram feitas adaptações nos critérios de classificação de resistência/susceptibilidade definidos por McCreight (2003). Assim sendo, as seguintes classes de reação foram definidas: Resistente (R) [1;3,9], resistência intermediária (IR) [4,0;5,9]; Suscetível (S) [6,0;6,9] e altamente suscetível (AS) [7;9].

A escala de notas utilizada para a avaliação da reação dos acessos a *P. Xanthii* conforme McCreight (2003), 1: Sem sintomas da doença; 2: Traços de hifas e sem esporulação na superfície adaxial; 3: Hifas restritas sem esporulação na superfície adaxial; 4: Poucas colônias e com esporulação na superfície adaxial; 5: Colônias espalhadas e esporulando na superfície adaxial; 6: Numerosas colônias esporulando na superfície adaxial; 7: Aproximadamente $\cong$ 50% da superfície

adaxial coberta com hifas e esporos com poucas colônias na região abaxial e abundante esporulação; 8: Mais de 50% da superfície adaxial coberta com hifas e esporos com colônias espalhadas na região abaxial e abundante esporulação e 9: Mais de 75% da superfície adaxial coberta com hifas e esporos com numerosas ou coalescentes colônias na região abaxial e abundante esporulação.

2.1.5 Delineamento e Análises estatísticas

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída por um vaso, com uma planta. Os dados foram avaliados de acordo com o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, com nível nominal de significância de 5% de probabilidade ($\alpha = 0,05$). A análise foi realizada utilizando o Software SAS Versão 9.2® (SAS INSTITUTE, 2005).

2. 2 Caracterização morfológica dos acessos

2.2.1 Local

A caracterização foi realizada na Horta didática do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) entre os meses de setembro e novembro de 2013, no município de Mossoró-RN, situado na latitude Sul 5° 11', longitude 37° 20' a oeste de Greenwich e com altitude de 18 m. Conforme a Classificação de Köppen, o clima é do tipo BSw^h, ou seja, seco e muito quente, com duas estações climáticas bem definidas, a seca que ocorre de junho a janeiro e a outra chuvosa de fevereiro a maio (CARMO FILHO; OLIVEIRA, 1989). Os valores médios da temperatura máxima, temperatura mínima, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica durante o período de setembro a novembro da caracterização dos acessos, respectivamente: 33,3°C; 23°C; 64,3°C e 0.

O solo do local foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo Equivalente Eutrófico (EMBRAPA, 1999). Foram retiradas amostras simples na profundidade de 0 a 20 centímetros para análise química. Destas, formou-se a amostra composta, que foi preparada e enviada ao laboratório de análises química e física do solo da UFRSA para análise. O resultado da análise do solo com pH= 6,60 da área experimental apresentou os seguintes teores: Ca= 8,10; Mg =2,87; Al= 0,10; H + Al= 1,30 e k= 0,82 em meq/100ml. Os teores em ppm de P= 23,50; Na= 17,00 e M.O= 1,3.

2.2.2 Germoplasma

Foram caracterizados os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34, AM55-1A avaliados como resistentes a *P. xanthii* no ensaio realizado em Valencia na Espanha e os híbridos ‘Vereda’ e ‘Olimpic’. O híbrido ‘Vereda’ é do tipo amarelo e pertence à variedade botânica *inodorus*. O híbrido ‘Olimpic’ é do tipo cantaloupe e pertence à variedade botânica *cantaloupensis*.

2.2.3 Caracterização morfológica

O preparo do solo constou de uma aração e uma gradagem, seguida de sulcamento em linhas, espaçadas de 2,0 m com profundidade de aproximadamente 20 cm, onde foi realizada a adubação de fundação, utilizando-se 6,0 t ha⁻¹ de esterco bovino e 120 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Os adubos foram aplicados nos sulcos de plantio e incorporados com enxada manual. Após a mistura do adubo na linha de plantio foram estendidas manualmente as mangueiras e colocou-se o *mulching* preto/prata com 1,0 metro de largura.

As sementes dos acessos/híbridos foram colocadas em uma estufa agrícola por um dia, a uma temperatura de 37°C. Após a emissão da radícula, foram transferidas para bandejas de polietileno com 128 células, contendo substrato comercial Plantmax[®], sendo colocada uma plântula por célula, onde permaneceu

por 15 dias. O transplântio foi realizado quando as mudas apresentavam a primeira folha definitiva expandida.

A irrigação foi realizada com uso de mangueiras com gotejadores de 1,6 l. hora⁻¹ de vazão. A fertirrigação foi feita com base em diferentes concentrações da solução nutritiva proposta por Furlani (1999). O espaçamento adotado foi de 2,0 metros entre linha e 0,3 metros entre plantas.

As colheitas foram realizadas manualmente no mês de novembro. Os frutos foram retirados das plantas com auxílio de canivetes, identificados com marcadores permanentes e colocados em monoblocos para serem transportados para o Laboratório de Pós-colheita da Universidade Federal Rural do Semi-Árido para avaliação dos caracteres estudados.

2.2.4 Caracteres avaliados

A avaliação foi realizada por caracteres qualitativos e quantitativos. Os caracteres qualitativos utilizados foram os seguintes: cor do epicarpo, cor do mesocarpo, rachadura de fruto, expressão sexual, abscisão do pedúnculo e aroma (IPGRI, 2003). As avaliações foram feitas pela observação visual das características.

Os caracteres quantitativos avaliados foram:

- a) Número de frutos por planta: razão entre o número total de frutos e o número de plantas total da parcela;
- b) Massa média do fruto: todos os frutos da amostra foram pesados com uso de uma balança, expressa em gramas (g);
- c) Índice de formato: obtida pela relação entre diâmetro longitudinal e diâmetro transversal, medido na região equatorial do fruto com auxílio de um paquímetro;
- d) Espessura da polpa: utilizando um paquímetro foi tomada na região equatorial, a partir dos frutos seccionados transversalmente, a parte do fruto que contém o início da cavidade placentária até o início da formação da casca, expressa em milímetros (mm);

- e) Firmeza da polpa: após corte transversal do fruto, foram tomadas três leituras por fruto em cada lado da polpa, na região equatorial, equidistantes em relação ao comprimento e à espessura da polpa. Foi utilizado um penetrômetro Wagner® com *pluncher* de ponta cônica de 8,0 mm (Fruit Pressure Tester – FT 011. MOD) para medir a resistência na polpa, os resultados foram expressos em Newton (N);
- f) Sólidos solúveis: foi retirada uma amostra de aproximadamente 2/3 da espessura da polpa na região equatorial do fruto, no sentido da cavidade. A amostra foi pressionada manualmente até que uma parte do suco fosse depositada em um refratômetro digital (Digital Refractometer Palette 100), e os resultados foram expressos em ° Brix.

2.2.5 Análises estatísticas

O ensaio de caracterização foi conduzido em delineamento de blocos casualizado com três repetições, sendo a parcela composta por uma linha com dez plantas. A área útil da parcela correspondeu as oitos plantas centrais, enquanto que as duas plantas nas extremidades formaram a bordadura.

Para os caracteres quantitativos realizou-se a análise de variância em um modelo composto pelo efeito de blocos como aleatório e o efeito de acesso como fixo. O agrupamento dos acessos foi realizado pelo método de Scott-Knott (1974). Todas as análises foram processadas no programa SISVAR Versão 5.3 (Build 77) (FERREIRA, 2011).

2.3 Caracterização molecular dos acessos

2.3.1 Local

A caracterização molecular foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

2.3.2 Germoplasma

Os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 e AM55-1A, considerados resistentes a *P. xanthii* mais 18 acessos padrões de referência (Tabela 2) foram caracterizados molecularmente com SSR. Os acessos de referências contemplam a variabilidade das variedades botânicas observadas e classificadas na espécie *C. melo* (ESTERAS et al., 2013).

Tabela 2. Código, origem e variedade dos acessos usados como padrões de referência, 2014.

Acesso	Código*	Origem	Variedade
<i>Cucumis melo subespecies melo</i>			
Amaral**	In-01	Rijk Zwaan®	<i>inodorus</i>
Mandacaru**	In-02	Fitó®	<i>inodorus</i>
Natal**	In-03	Rijk Zwaan®	<i>inodorus</i>
Piñonet Piel de sapo	In-04	Espanha	<i>inodorus</i>
Kizil Uruk	Ame	Uzbequistão	<i>ameri</i>
Dulce	Can-01	USA	<i>cantalupensis</i>
Vedrantais	Can-02	França	<i>cantalupensis</i>
Snakemelon	Fle	Arábia	<i>flexuosus</i>
Queen's Pocket Melon	Dud	Afeganistão	<i>dudaim</i>
<i>Cucumis melo subespecies agrestis</i>			
Kharbuja	Mom-01	Índia	<i>momordica</i>
PI 124112	Mom-02	Índia	<i>momordica</i>
MR1	Mom-03	Índia	<i>momordica</i>
PI 161375	Con	Coréia	<i>chinensis</i>
PI 482420, TGR1551	Aci	Zimbábue	<i>acidulus</i>
Tibish	Tib	Sudão	<i>tibish</i>
PI 164320, Velleri	Chi	Índia	<i>chito</i>
PI 185111, 15591	Ag-01	Gana	<i>agrestis</i>
Wild Chibbar	Ag-02	Punjab	<i>agrestis</i>

2.3.3 Extração de DNA

DNA de cada um dos acessos foi extraído a partir do protocolo desenvolvido por Doyle e Doyle (1990), com modificações. As folhas jovens foram maceradas em nitrogênio líquido e transferidas para microtubos estéreis de 2 mL. O tampão de extração foi preparado contendo 100 μ L de Tris-HCl (100 μ M), 280 μ L de NaCl (1,4M), 400 μ L de EDTA (20mM), 300 μ L de CTAB (2,0%), 0,01 g de PVP40 (1,0%), 278 μ L água Miliq e 2 μ L de β -mercaptoetanol (0,2%), e logo após pipetou-se 700 μ L desse tampão de extração, os quais foram colocados nos microtubos. Os microtubos foram vertidos e colocados em banho-maria à temperatura de 65 °C durante 40 minutos, sendo estes, agitados a cada 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 800 μ L de álcool isoamílico (24:1) nos microtubos, os quais foram vertidos e centrifugados à 14.000 rpm, durante 7 minutos e, em seguida, transferiu-se a fase superior (aquosa) para novo microtubo, sendo esta etapa, repetida mais uma vez. Logo após, adicionou-se à fase aquosa 400 μ L de isopropanol gelado, homogeneizando a solução até a formação do *pellet*. As amostras foram colocadas em congelador por 2 horas e posteriormente centrifugadas à 14.000 rpm durante 10 minutos. Para limpeza do *pellet*, adicionou-se 1 ml de etanol 70% no microtubo, sendo os mesmos centrifugados à 14.000 rpm durante 5 minutos, descartando o sobrenadante. Em seguida adicionou-se 1 ml de etanol 90% aos microtubos, os quais foram centrifugados novamente à 14.000 rpm durante 5 minutos. O sobrenadante foi descartado novamente, deixando apenas o *pellet* no microtubo. As amostras foram colocadas em estufa à 70 °C durante 20 minutos, e logo após, adicionou-se 50 μ L de RNase nos microtubos, os quais foram incubados à 37 °C em banho-maria. A quantificação de DNA foi realizada em géis de agarose a 1% (p/v), comparando-se visualmente a intensidade das bandas do DNA dos genótipos extraídos, com bandas de peso molecular conhecido de 1 kb. Após a quantificação, as amostras foram diluídas em água ultrapura e foram padronizadas em 10 ng μ L⁻¹ para serem utilizados nas reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

2.3.4 Reação de PCR

As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 10 μ L, contendo 10 mM (pH 8,3) de Tris-HCl, 50 mM de KCl, 2,5 mM de $MgCl_2$, 0,25mM de cada dNTP, 250 nM de cada um dos 15 diferentes primers SSR (CMMS1-3; CMMS2-3; CMMS3-2; CMMS4-3; CMMS12-6; CMMS15-4; CMMS22-2; CMMS24-3; CMMS30-3; CMMS33-1; CMMS33-2; CMMS34-8; CMMS34-10; CMMS35-4 e CMMS35-5) (Tabela 3), 0,5 U de Taq DNA polimerase e, aproximadamente, 10 ng de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador Biocycler de acordo com o seguinte programa: 94°C por 2 min + 40 ciclos de 94°C por 30 seg, 54°C por 1 min, 72°C por 1 min, extensão final de 72°C por 4 min e redução a 15°C.

As amostras foram diluídas em água ultrapura e foram padronizadas em 10 ng/ μ L para serem utilizadas nas análises de microsatélites. Após a reação foram adicionados 10 μ L de solução contendo 0,05% de azul de bromofenol, 0,05% de xileno cianol, EDTA 10mM e formamida 95%. Os produtos de amplificação foram desnaturados a 95°C por 5 min no termociclador.

Os fragmentos amplificados foram separados em eletroforese vertical em gel de poliacrilamida 6%, corados com nitrato de prata, conforme Creste et al. (2003). O padrão de peso molecular de 50 pares de bases foi utilizado para identificar os fragmentos amplificados.

2.3.5 Análises estatísticas

Foi estimada a similaridade genética de acordo com Nei em 1983 (CRUZ, 2011). O método usado para realizar a análise de agrupamento foi feito com base na matriz de dissimilaridade do tipo hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). As análises de divergência genética foram processadas no programa Powermarker (LIU; MUSE, 2005). O dendrograma foi construído com o programa Mega 4.0 (TAMURA et al., 2007). A Análise Fatorial

de Correspondência (AFC) foi realizada conforme descrito por Perrier et al. (2003).

Tabela 3. Primers de microssatélite sintetizados para *Cucumis melo*. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Primer	Sequencia	Scaffold ¹	LG ¹
CMMS1-3	TTGAATGATTGGAGGGAAGATAACG / CAAATATTGATGGATTTAATATATT	CM3.5_scaffold00022	V
CMMS2-3	ATCACCCACCCCACTGCCAAAA / CCTTGAAAAACCAACATAACAC	CM3.5_scaffold00022	V
CMMS3-2	AGTTTTTGGGCATTTTGTAGTTGGAT / GGCTTATCTCCCACCCAACCATTCT	CM3.5_scaffold00012	II
CMMS4-3	ACCGAAATCATAAGGAACATAAGAG / TATGAGCTGTGTTGTGTATGAAAAC	CM3.5_scaffold00026	I
CMMS12-6	AACATGATGTGTTTACCAACTTTTT / GGTTAAGGGAAAGTGAAGAGATGGT	CM3.5_scaffold00038	?
CMMS15-4	GTCCGCCATCGCCACTACAAATCAA / CTCCGTAAAACCTTCTCCTCTCTC	CM3.5_scaffold00011	IV
CMMS22-2	CGTTATACAAGATAGAGATAGAGAG / TTCAACTAATCCCCAAGACAAACAA	CM3.5_scaffold00067	I
CMMS24-3	GAGGGAGAGAGTTTGTAATAAAAAATG / TCGCCAATTACATTACAACCTTTTC	?	VI
CMMS30-3	TTCCCACCAGCCCAACGGACACACT / GAGATACAGAAACGACGACTAACCT	CM3.5_scaffold00081	VII
CMMS33-1	TGTAATAGGATGACCAAGGGGAGTT / TTCAGGAGCTACAACAAGATTTCAA	CM3.5_scaffold00004	XII
CMMS33-2	GCTACTTTTTATGGCGGCAGTGACG / ATTCGGATGATTATTCTTCGCAGTT	CM3.5_scaffold00063	?
CMMS34-8	TTTCTTACTTTTTGGTTTGGTTCTG / GGCGCTGTGGTGAGTGTCGGGAGAG	CM3.5_scaffold00006	VI
CMMS34-10	GGGGTGTGAAGCTGAAGGCAAAGTC / AAAGGAAGAAGAAGAAAAAGGAGAA	CM3.5_scaffold00016	X
CMMS35-4	ACGGATACATCGAGGAGACTTCATG / GTCAGCTTCAACCCTTTACTTTTTTC	CM3.5_scaffold00001	XII
CMMS35-5	AACGGGATTTTGGAGGCATATTTCGG / CTCCCCAGTGTATCAGCCAAATCTC	CM3.5_scaffold00005	IX

¹ Obtido pelas informações presentes na base de dados MELOGEN (MELOGEN, 2003).

² Fonte: CHIBA et al., (2003).

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação da reação de acessos a *Podosphaera xanthii*

Em razão da variabilidade genética existente na população de *P. xanthii* é importante a identificação da raça ou raças presentes nas condições de casa de vegetação nas quais foi desenvolvida a avaliação. No presente estudo, visando a identificação de raça(s), foram utilizadas dez diferenciadoras (Tabela 4). As diferenciadoras PMR-45, ‘Védrantais’, WMR-29 e ‘Hales Best Jumbo’ (HBJ) foram suscetíveis, enquanto as diferenciadoras PMR-5, PMR-6, PI 414723, Edisto 47, PI 124112 foram resistentes. A inesperada reação de suscetibilidade da linhagem ‘MR-1’ a reação das diferenciadoras não permitiu a identificação da raça presente na casa de vegetação.

Observou-se efeito significativo entre acessos ($\chi^2 = 112,78$; $p < 0,001$) para a reação a *P. xanthii*. Os acessos foram discriminados nas quatro classes de reações definidas no presente trabalho (Tabela 4).

A maioria dos acessos (55,36%) avaliados foi altamente suscetível ao fungo com notas variando de 7,0 (aproximadamente $\cong 50\%$ da superfície adaxial coberta com hifas e esporos com poucas colônias na região abaxial e abundante esporulação) a 9,0 (mais de 75% da superfície adaxial coberta com hifas e esporos com numerosas ou coalescentes colônias na região abaxial e abundante esporulação).

Os acessos PI 436534, SM-113-B, C-30 e Pat-81 foram suscetíveis com numerosas colônias esporulando na superfície adaxial (Tabela 4). O primeiro é de origem africana, o segundo de origem indiana e os dois últimos do extremo oriente (Japão e Coreia, respectivamente).

Os acessos WN-19-1F, WM-24-2D e WM-64-2A de origem indiana, o acesso PI 482429 de origem africana e o acesso Freeman’s C. de origem coreana foram classificados com medianamente resistentes (Tabela 4).

Tabela 4. Média da severidade da doença na folha e reação de acessos de meloeiro a *P. xanthii*. Valencia, UPV, 2014.

Acesso	Nota	Reação	Acesso	Nota	Reação
C-AC-02	1,00	R	Ra-chibber	7,00	AS
C-AC-09	1,00	R	PI 482393	7,50	AS
C-AC-15	1,00	R	ASI-C-11	8,00	AS
C-AC-34	1,00	R	PI 185111	8,50	AS
AM55-1A	1,50	R	PI 164320	7,50	AS
TGR- 1551	8,00	AS	C-30	6,50	S
WM-3-1B	8,50	AS	Pat-81	6,50	S
WM-7-1D	9,00	AS	CUM-287	7,50	AS
WM-9-2A	8,00	AS	PI 436534	6,50	AS
WM-9-2B	9,00	AS	C-61	7,50	AS
WN-19-1F	4,50	IR	PI 167057	9,00	AS
WM-22	8,00	AS	ASI-C-5	9,00	AS
WM-24-2D	4,50	IR	PI 505602	7,50	AS
WN-44-1A	7,50	AS	PI 482429	4,00	IR
WM-64-2A	4,00	IR	Freeman's C.	4,50	IR
SM-81	7,50	AS	Paul	8,00	AS
SM-113-B	6,00	S	PI 161375	7,00	AS
AM-78-1B	8,00	AS	I-180	8,00	AS
AR-HBJ	5,50	S	Silka	8,50	AS
PI 124112	2,50	R	Snakemelon	9,00	AS
PI-414723	1,00	R	Tayer 7	7,50	AS
PMR-5	1,00	R	Tendelti	8,00	AS
PMR-6	1,00	R	Khurtagat 15	9,00	AS
PMR-45	7,00	AS	BC1-I-19	7,50	AS
'MR-1'	5,50	S	F1-I-199	9,00	AS
WMR-29	5,50	S	'Gulf Cost'	7,00	AS
Edisto 47	2,50	R	AHK-119-1B	8,00	AS
'Védrantais'	9,00	AS	AM-7-2B	9,00	AS
χ^2		112,78 ($p < 0,001$) ²			

¹ Classificação da reação (R: resistente, IR: resistência intermediária; S: suscetível, AS: altamente suscetível). ² Valor de Qui-quadrado (χ^2) pelo teste de Kruskal-Wallis. ³Escala de notas de McCreight (2003).

Os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 e AM55-1A, sem sintomas, foram resistentes (Tabela 4). Os cinco acessos são de origem indiana, porém foram coletados em pequenas propriedades do Nordeste brasileiro, exceto o AM55-1A (Figura 2). O sexto acesso resistente, TGR 1551, apresentou algumas plantas com traços de hifas e sem esporulação na superfície adaxial. O referido acesso foi coletado em Zimbábue no sudeste da África.



Figura 2. Frutos dos acessos identificados como resistentes. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

3.2 Caracterização morfológica dos acessos

A caracterização evidenciou heterogeneidade entre os acessos/linhagens resistentes e híbridos para todas as variáveis qualitativas e quantitativas avaliadas nos frutos (Tabelas 5 e 6).

Na caracterização morfológica qualitativa dos acessos resistentes, observou-se que os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 apresentaram cor do epicarpo creme, mesocarpo branco, expressão sexual monoica, rachadura do fruto, abscisão do pedúnculo e aroma (Tabela 5), características marcantes de frutos pertencentes à variedade botânica *momordica*.

Tabela 5. Caracterização morfológica qualitativa de acessos/híbridos. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Acesso/Híbrido	VB	CE	CM	ES	RF	AP	AR
C-AC-02	MOM	Creme	Branca	Mon	Sim	Sim	Sim
C-AC-09	MOM	Creme	Branca	Mon	Sim	Sim	Sim
C-AC-15	MOM	Creme	Branca	Mon	Sim	Sim	Sim
C-AC-34	MOM	Creme	Branca	Mon	Sim	Sim	Sim
AM55-1A	ACI	Verde	Branca	And	Não	Não	Não
‘Vereda’	INO	Amarela	Branca	And	Não	Não	Não
‘Olimpic’	CAT	Verde	Branca	And	Não	Não	Sim

VB: variedade botânica, CE: cor do epicarpo, CE: cor do mesocarpo, ES: expressão sexual, RF: rachadura do fruto, AP: abscisão do pedúnculo e AR: aroma. MOM: *momordica*; ACI: *acidulus*; INO: *inodorus*; CAT: *cantaloupensis*; Mon: monóica; And: andromonóica.

O acesso AM551-1A possui exocarpo de coloração verde, mesocarpo branco brilhante, expressão sexual andromonóica, frutos sem abscisão, sem rachaduras e sem aroma (Tabela 5). As características observadas na caracterização são inerentes à variedade botânica *acidulus*.

Os híbridos ‘Vereda’ e ‘Olimpic’ apresentaram as características peculiares aos tipos amarelo e cantaloupe produzidos no Nordeste brasileiro.

Concernente à caracterização morfológica com caracteres quantitativos, os acessos diferiram quanto ao número de frutos por planta, sendo os acessos mais prolíficos em relação aos híbridos. O acesso AM55-1A foi o mais prolífico com 6,2 frutos por planta; seguido dos acessos C-AC-09, C-AC-15, C-A-34 e C-AC-02 (Tabela 6).

Tabela 6. Caracterização morfológica quantitativa de genótipos de meloeiro. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Acesso/Híbrido	NF	MF	IF	EP	FP	SS
C-AC-02	2,7b	2,7a	2,2a	3,8b	14,8c	5,4b
C-AC-09	2,8b	2,7a	2,2a	3,3b	14,2a	5,3b
C-AC-15	2,7b	2,8a	1,9b	3,3b	18,1c	5,2b
C-AC-34	2,7b	2,9a	2,6a	3,9b	19,2c	4,7b
AM55-1A	6,2a	0,8b	2,1a	2,9b	41,3a	4,2b
‘Vereda’	1,1c	1,2b	1,1a	5,7a	28,6b	10,4a
‘Olimpic’	1,2c	1,3b	1,0a	5,9a	27,9b	12,1a

NF: número de frutos por planta; MF: massa média do fruto, em kg; IF: índice de formato; EP: espessura da polpa, em cm; FP: firmeza da polpa, em N; SS: sólidos solúveis totais, em °Brix. Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo agrupamento de Scott-Knott (1974).

Houve variação quanto a massa média do fruto, com valores de 0,8 a 3,5 kg (Tabela 6). Conforme a lista dos descritores do meloeiro publicada pelo IPGRI (2003), no presente estudo, os frutos do acesso AM55-1A foram classificados de pequenos a intermediários ($\cong 0,9$ kg), os frutos dos híbridos ‘Vereda’ e ‘Olimpic’ são considerados intermediários (1,0 a 1,3 kg), enquanto que os frutos dos acessos *momordica* são considerados grandes ($> 2,6$ kg).

Os frutos variaram quanto ao índice de formato, definido como a relação entre o comprimento longitudinal e o transversal, com valores entre 1,0 e 2,6 (Tabela 6). Segundo Paiva et al. (2002), frutos com forma esférica têm índice de

formato inferior ou igual a 1,0; com forma oval, têm índice de formato entre 1,01-1,50 e comprido têm valor superior a 1,5. Considerando essa classificação, os acessos possuem frutos com formato comprido enquanto os híbridos têm frutos de formato esférico.

Concernente à espessura da polpa, o menor valor foi observado no acesso AM55-1A (2,9 cm) e o maior valor foi verificado no híbrido ‘Olimpic’ (5,9 cm) (Tabela 6). Os acessos apresentaram menor espessura de polpa em relação aos genótipos melhorados (híbridos), formando dois grupos conforme o agrupamento de Scott-Knott (1974).

A maior firmeza de polpa foi observada no acesso AM55-1A, enquanto os menores valores foram constatados nos acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15 e C-AC-34 (Tabela 6).

Quanto ao teor de sólidos solúveis, as estimativas variaram de 4,2 (AM551-A) a 12,1 °Brix (‘Olimpic’) (Tabela 6). Observou-se que os acessos possuíam valores muito baixos desse descritor, contrastando com valores elevados alcançados nos frutos dos híbridos.

3.3 Caracterização molecular

Todos os pares de *primers* dos marcadores microssatélites foram informativos para o estudo de caracterização molecular por serem polimórficos (Tabela 7).

Tabela 7. Medidas descritivas para o estudo da diversidade baseado nos marcadores microssatélites polimórficos em acessos de meloeiro. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Marcador	OBS (#%)	NA	NG	FAP	DG	HET	PIC
CMMS 2-3	24/1,00	3,00	3,00	0,54	0,60	0,00	0,53
CMMS 4-3	21/0,88	4,00	4,00	0,48	0,67	0,00	0,62
CMMS 12-6	21/0,88	4,00	5,00	0,57	0,59	0,10	0,53
CMMS 15-4	20/0,83	3,00	3,00	0,65	0,49	0,00	0,41
CMMS 22-2	20/0,83	4,00	8,00	0,38	0,73	0,20	0,68
CMMS 24-3	23/0,96	3,00	4,00	0,41	0,63	0,04	0,55
CMMS 30-3	22/0,92	5,00	5,00	0,41	0,71	0,00	0,67
CMMS 33-1	24/1,00	5,00	6,00	0,38	0,69	0,83	0,63
CMMS 33-2	24/1,00	4,00	5,00	0,44	0,67	0,96	0,60
CMMS 34-8	24/1,00	4,00	6,00	0,58	0,58	0,17	0,52
CMMS 34-10	24/1,00	4,00	5,00	0,54	0,62	0,42	0,57
CMMS 35-4	24/1,00	7,00	9,00	0,25	0,80	0,79	0,78
CMMS 35-5	24/1,00	5,00	7,00	0,40	0,73	0,96	0,68
Média	23/0,95	4,23	5,38	0,46	0,65	0,34	0,60

OBS (#%): observações (número/porcentagem); NA: número de alelos; NG: número de genótipos; FAP: frequência do alelo principal; DG: diversidade genética; HET: heteroziguidade; PIC: conteúdo médio de informação polimórfica.

O maior número de alelos foi observado no marcador CMMS 35-4 (7,0 alelos), enquanto o menor valor (3,0) foi observado nos marcadores CMMS 15-4, CMMS 2-3 e CMMS 24-3, perfazendo uma amplitude de 4,0 alelos. Os 13 pares de marcadores amplificaram um total de 55 alelos nos 23 acessos, com uma média de 4,23 alelos/primer.

Com relação ao número de genótipos, o maior valor (9,0) foi observado no marcador CMMS 35-4 e o menor valor (3,0) nos marcadores CMMS 2-3 e CMMS 15-4 com amplitude média de 6,0 e 5,38 genótipos por loco, respectivamente (Tabela 7).

Não se constatou grande predominância de alelo principal nos marcadores (média de 0,46). A maior frequência foi observada no marcador CMMS 15-4 (0,65) e a menor valor (0,25) no marcador CMMS 35-4.

Os valores de diversidade genética variaram de 0,49 (CMMS 15-4) a 0,80 (CMMS 35-4), resultando uma amplitude de 0,31. A média estimada foi de 0,65 (Tabela 7).

A maioria dos marcadores apresentou reduzida heterozigosidade com valores abaixo de 0,20. Todavia, três marcadores (CMMS 33-2, CMMS 35-5 e CMMS 33-1) se destacaram com heterozigosidade superiores 0,80. A média estimada de heterozigosidade foi de 0,34 (Tabela 7).

Os valores de conteúdo de informação polimórfica variaram de 0,41 (CMMS 15-4) a 0,78 (CMMS 35-4), resultando uma amplitude de 0,37. A média estimada foi de 0,60 (Tabela 7).

O agrupamento conforme a metodologia UPGMA dividiu os acessos nas variedades botânicas preconizadas em Pitrat (2008) (Figura 3). O método UPGMA foi eficiente em agrupar os acessos uma vez que a estimativa de correlação cofenética (CC) entre a matriz de distância e a matriz resultante do processo de agrupamento foi elevada e significativa ($CC=0,87$; $p < 0,01$).

Os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 foram agrupados entre os acessos padrões de melão *momordica*. (Mom-01, Mom-02 e Mom-03). Da mesma maneira, o acesso AM55-1A de origem indiana foi agrupado no mesmo grupo do acesso africano TGR 1551 (Aci), ambos do grupo *acidulus*, juntamente com o acesso PI 164320 (Chi) oriundo da Índia (Figura 3).

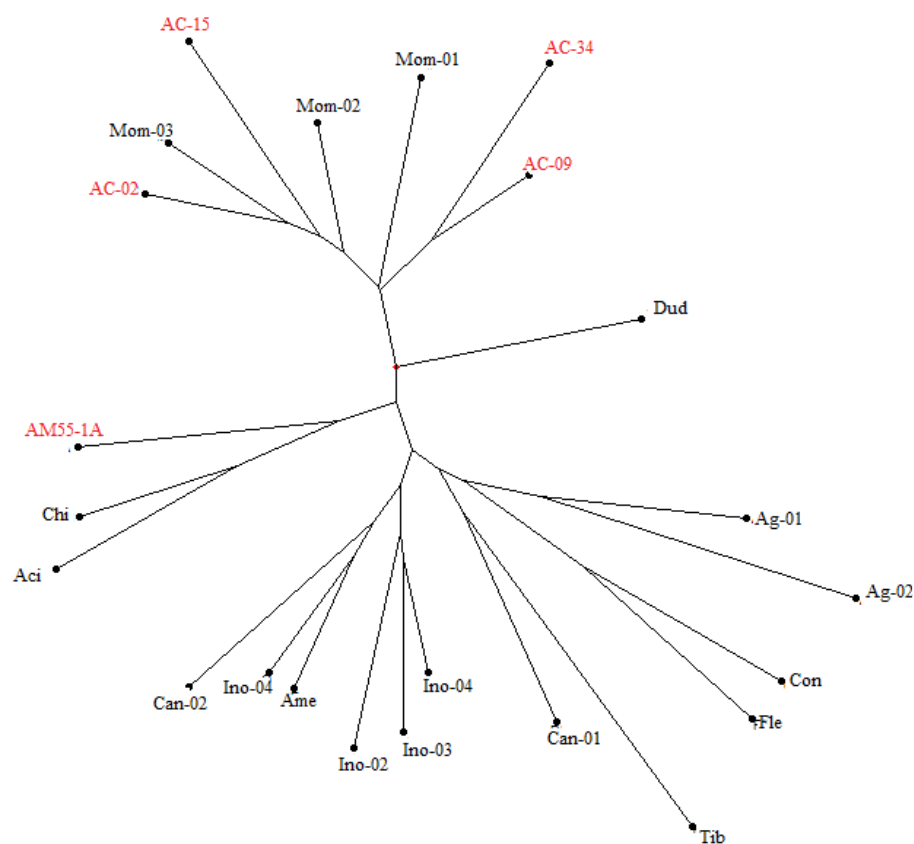


Figura 3. Dendrograma de acessos de meloeiro obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA a partir da matriz de distância de Nei gerada com informações de 13 marcadores microssatélites. Correlação cofenética ($CC=0,87^{**}$). Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

Da mesma forma, a análise fatorial de correspondência evidenciou que os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 foram agrupados com os padrões de melão indiano *momordica* (Mom-01, Mom-02 e Mon-03) (Figura 4). O acesso AM55-1A foi agrupado com os padrões de referência Aci e Chi pertencentes às variedades botânicas *acidulus* e *chito*, respectivamente.

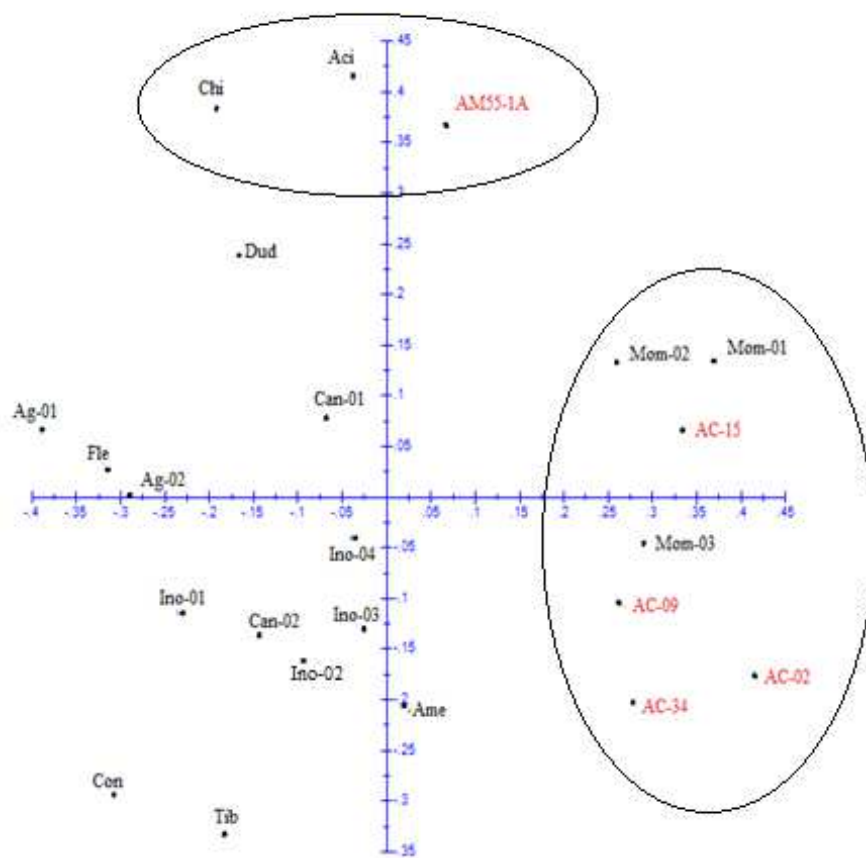


Figura 4. Dispersão gráfica bidimensional de acessos de meloeiro obtida pela análise fatorial de correspondência estimada com base em 13 marcadores microssatélites. Mossoró-RN, UFERSA, 2014.

4 DISCUSSÃO

Para a identificação de raças em meloeiro é utilizado um grupo composto por cultivares diferenciadoras (COHEN et al., 2004). Assim sendo, no ensaio de busca de novas fontes de resistência à *P. xanthii*, considerando a reação de suscetibilidade das diferenciadoras PMR-45, ‘Védrantais’, WMR-29 e ‘Hales Best Jumbo’ (HBJ) e a reação de resistência das diferenciadoras PMR-5, PMR-6, PI 414723, Edisto 47, PI 124112 a raça seria identificada como 4. A raça 4 foi identificada no sudoeste espanhol (Almería e Málaga) por Del Pino et al (2002). Estes autores também identificaram as raças 1, 2, e 5 com prevalência da raça 1 e posterior mudança para equivalência de raças. Mais recentemente Torés et al. (2009) relataram a presença da raça 3.5 no sudeste espanhol.

Todavia, a reação inesperada de suscetibilidade da diferenciadora ‘MR-1’ não confirmou a raça 4 (Tabela 4). A diferenciadora ‘MR-1’ foi originada da linhagem 90319 derivada do acesso PI 124111 coletado em Madras na Índia (THOMAS, 1986; COHEN; COHEN, 1986). A citada diferenciadora é resistente as raças 0, 1, 2US, 2Fr, 3, 4 e 5 de *P. xanthii* e as raças 0 e 1 de *G. cichoracearum* (BARDIN et al., 1999). Os trabalhos publicados até o final do século XX apontavam a linhagem ‘MR-1’ como resistente a todos os isolados coletados dos dois referidos patógenos. Todavia, Křístková et al. (2004) relataram que isolados de *P. xanthii* e *G. cichoracearum* provenientes da República Tcheca eram capazes de provocar crescimento micelial intenso e esporulação em ‘MR-1’ e PI 124112. Foi o primeiro relato de suscetibilidade nessas duas diferenciadoras em folhas verdadeiras, uma vez que Cohen e Eyal (1995) haviam observado em cotilédones. Nos anos de 2005 e 2009 em campos da Califórnia (USA), McCreight; Coffey (2011) observaram suscetibilidade em ‘MR-1’, PI 124111, PI 124112 e as demais diferenciadoras avaliadas no presente trabalho. Somente o acesso PI 313970 foi resistente a uma nova raça denominada de “S” pelos autores. A observação da susceptibilidade de ‘MR-1’ do presente trabalho é o primeiro relato na Espanha. Não obstante, ainda são necessários trabalhos mais detalhados para que possa ser definida uma nova raça.

Existe grande variabilidade nas populações de *P. xanthii* nas regiões produtoras de cucurbitáceas em todo o mundo. Até o presente momento foram identificadas 45 raças (McGREIGHT et al., 2012) e vários patótipos (LEBEDA et al., 2008) do referido fungo. Em razão disso, a identificação da raça ou raças prevalentes é uma informação relevante para os melhoristas uma vez que os esforços devem ser canalizados para desenvolver cultivares resistentes às raças prevalentes (HOSOYA et al., 2000).

Foram identificados como resistentes os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 e AM55-1A (Tabela 4). Os acessos não apresentaram sintomas tanto nos cotilédones (dados não apresentados) quanto em folhas verdadeiras. Os acessos citados são pertencentes à variedade *momordica* (Roxb.) Duthie et Fuller (DHILLON et al., 2007). As características gerais dos frutos da variedade *momordica* são a rachadura quando maduros, formato alongado, baixo teor de sólidos solúveis (<6°Brix), textura da polpa farinácea, exocarpo fino, aromático e com abscisão do pedúnculo. Além disso, as plantas são monóicas (DHILLON et al., 2009). Todas essas características foram observadas nos quatro acessos resistentes (Tabelas 5, 6).

A variedade *momordica* foi intensamente cultivada durante o século XX no norte da Índia e atualmente está presente em quase todas as partes do referido país. Os frutos imaturos são consumidos crus, cozidos ou em pickles (DHILLON et al., 2007). Por outro lado, espécimes da *momordica* são cultivados em alguns estados brasileiros. No Nordeste foram coletados acessos de melão *momordica* nos Estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Alagoas e Maranhão. Não obstante, acredita-se que esteja presente em todos os estados nordestinos. Além disso, este tipo de fruto está presente em pequenos produtores no Sul do país, sendo conhecido como “melão de neve”, “bola de neve” ou “pepino de neve” (DELWING, 2006). Neitzke et al. (2009) caracterizando morfológicamente acessos provenientes de pequenos produtores dos estados do Paraná e do Rio Grande do Sul observaram que o acesso C-88 foi o mais divergente dos demais acessos e apresentou todas as características de melão *momordica*.

Os melões *momordica* tanto no Sul quanto no Nordeste brasileiro são produzidos por produtores de base agrícola familiar que utilizam variedades “crioulas” (ou *landraces*) para o consumo e comercialização. No Rio Grande do Sul, são utilizados principalmente em forma de doces. No Rio Grande do Norte, em Mossoró, é comercializado em feiras e supermercados, sendo consumidos geralmente com açúcar após as refeições ou em sucos em razão de seu baixo teor de sólidos solúveis.

Por serem frutos endêmicos da Índia, conforme comenta Dhillon et al. (2009), é de certa forma surpreendente a tradição de cultivo e a variabilidade deste tipo de frutos em distintas regiões do Brasil. Não se sabe como e quando se deu a introdução de melões *momordica* no Brasil. Estas questões têm sido a motivação para pesquisas realizadas conjuntamente entre o grupo brasileiro da Universidade Federal Rural do Semi-Árido e o grupo espanhol da Universidade Politécnica de Valencia. As pesquisas preliminares com caracterizações morfológicas e moleculares evidenciam grande variabilidade presente no germoplasma coletado no Brasil. Uma próxima ação é comparar o germoplasma brasileiro e o indiano. A hipótese inicial é que os frutos foram introduzidos por imigrantes europeus uma vez que escravos, pelo menos a princípio, não cultivaram esse tipo de melão no continente africano. Sabe-se que além da Índia, duas ilhas Japonesas (Hachijo e Fukue) cultivaram melões *momordica* para servir de alimento nas duas guerras mundiais (FUJISHITA, 2004).

A resistência observada nos acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 a *P. xanthii* corrobora com um fato notório registrado na literatura internacional sobre o potencial do germoplasma indiano como fontes de alelos de resistência a muitos patógenos. Os híbridos modernos resistentes aos fungos *P. xanthii* e *G. cichoracearum*, agentes causais de oídio, cultivados nos países desenvolvidos como Estados Unidos, Israel, Espanha, Japão, França entre outros, possuem *background* genético indiano, em especial *momordica*. Melões *momordica* também são fontes de alelos de resistência a outros patógenos como os fungos [*Pseudoperonospora cubensis* (Berk et Curtis) Rostovzer e *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (Snyder et Hansen)], os vírus (*zucchini yellow mosaic virus*, *papaya*

ringspot virus entre outros) e insetos (*Aphis gossypii* Glover) (DHILLON et al., 2012). As principais fontes de resistência são PI 124111, PI 124112, PI 414723, PI 134192 (PITRAT, 2008). Todos estes acessos são resistentes a maioria das raças de *P. xanthii*. Esse é o primeiro relato da reação de resistência de acessos *momordica* cultivados no Brasil a *P. xanthii*. É um resultado importante por tratar-se de acessos cultivados na agricultura tradicional e adaptados às condições ambientais brasileiras, sendo, portanto, fontes promissoras para o melhoramento visando resistência à *P. xanthii*. Uma informação adicional que deve ser obtida em trabalhos subsequentes é saber para quais raças os referidos acessos são resistentes.

O quinto acesso identificado como resistente (AM55-1A) pertence à variedade botânica *acidulus* Naudin. A variedade *acidulus* é nativa dos trópicos úmidos do Sul da Índia. Os frutos são monóicos, ovais ou elípticos, casca lisa de coloração amarela brilhante e polpa extremamente rígida e de coloração branca ou creme. Possuem baixo sólidos solúveis e ausência de aroma. São consumidos em saladas e pratos típicos da Índia como o ‘Sambhar’, um ensopado vegetal com tamarindo (*Tamarindus indica* L.) (FERGANY et al., 2011). As características descritas para frutos *acidulus* foram observadas no acesso AM55-1A (Tabela 5; 6). Este tipo de melão é consumido em salada no Norte/Nordeste brasileiro.

Diferentemente da variedade botânica *momordica*, não tem sido registradas muitas fontes de resistência em *acidulus*. A explicação lógica é que somente recentemente tem sido dada atenção ao germoplasma *acidulus* (FERGANY et al., 2011; DHILLON et al., 2012). Como os trabalhos iniciaram-se no começo da presente década ainda há muitas informações relevantes que estão sendo obtidas com relação à resistência destes tipos de melão aos principais patógenos da cultura.

Não obstante, outra fonte importante de resistência a *P. xanthii* da variedade *acidulus* foi identificada. Trata-se do acesso TG-1551, oriundo de Zimbábue no Sudeste africano, com resistência às raças 1, 2Fr (francesa) e 5. O controle genético da resistência as três raças é o mesmo, qual seja, dois genes independentes que interagem em uma epistasia dominante-recessiva (YUSTE-LISBONA, 2010). Outra fonte *acidulus* é o acesso PI 313970 resistente as raças 1, 2US e “S” (McCREIGHT, 2003).

Além da caracterização morfológica realizou-se a caracterização molecular para investigar a distância dos acessos resistentes em relação aos padrões de outras variedades botânicas com o intuito de confirmar a classificação morfológica. O conteúdo médio de informação polimórfica (PIC) observado foi 0,60 (Tabela 7). Aragão et al. (2013) obtiveram uma estimativa PIC de 0,32 com acessos coletados no Nordeste do Brasil e 17 marcadores microssatélites diferentes daqueles usados no presente estudo. Dhillon et al. (2007; 2009) usando marcadores microssatélites em germoplasma *momordica* e referências observaram valores de 0,54 e 0,64. Fergany et al (2011) trabalhando com germoplasma *acidulus* e referências constataram PIC de 0,70. O conteúdo médio de informação polimórfica (PIC) é um parâmetro relacionado a diversidade e frequência alélica. Resultados diferentes entre trabalhos são comuns em função do germoplasma e marcadores genéticos utilizados.

As análises de agrupamento via UPGMA e análise fatorial de correspondência foram eficientes para agrupar no mesmo grupo os acessos resistentes C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 com os padrões *momordica* PI 124111, PI 124112 e PI 414723. Da mesma forma, o acesso AM55-1A foi agrupado no mesmo grupo do padrão *acidulus* TGR-1551 (Figuras 3, 4).

Os acessos *momordica* não foram agrupados no centro do gráfico gerado pela análise fatorial de correspondência (Figura 4). Este resultado é distinto daquele observado por Dhillon et al. (2007). Na ocasião, os referidos autores interpretaram o resultado como uma confirmação da Índia como centro primário de diversidade e o mediterrâneo e os países ao redor do Mar da China como extremos da distribuição geográfica de *C. melo*. Conceito também suportado por Luan et al. (2010) ao realizar análises com germoplasma Chinês.

A posição lateral dos acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 e as referências no presente estudo é um resultado contraditório em relação ao que tem sido reportado para melão *momordica*. Este resultado indica que os referidos acessos têm pouca relevância na geração dos germoplasmas oriental e ocidental, representando, portanto, uma diversidade genética ainda não explorada pelos melhoristas. Todavia, apenas 7,28% dos alelos são exclusivos dos acessos

momordica. Para o acesso AM55-1A a posição lateral confirma os resultados observados por Fergany et al. (2011), indicando que o referido acesso possui alelos ainda não explorados. Contrapondo a essa hipótese está o fato do citado acesso não ter nenhum alelo exclusivo. Ressalta-se que uma amostra composta por mais acessos deve ser utilizada para a confirmação das hipóteses. Trabalho que tem sido desenvolvido pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido nos sete últimos anos. Por outro lado, a técnica foi eficiente para localizar os acessos resistentes nas respectivas variedades botânicas.

A identificação das fontes de resistência no germoplasma primário da cultura é a primeira etapa na busca de cultivares resistentes. Para as cinco fontes de resistência identificadas, o passo seguinte é identificar para quais raças os acessos são resistentes. No Brasil, há registros das raças 0, 1, 2Fr (francesa), 3, 4 e 5 (REIS; BUSO, 2004; FAZZA, 2006). No caso da Espanha, local onde foi realizado o trabalho, as raças presentes no Sudeste são 1, 2, 4 e 5 (DEL PINO et al., 2002) e 3.5 (TORES et al., 2009). Ensaios preliminares apontaram todos os acessos como altamente resistentes a raça 5 (dados não apresentados).

Outro aspecto importante revelado na caracterização morfológica é a menor qualidade dos frutos dos acessos resistentes. De um modo geral, os acessos resistentes possuem maior prolificidade e menor qualidade de frutos, ou seja, menor espessura da polpa e baixos valores de sólidos solúveis. Esse fato pode gerar dificuldade, mas não impede a transferência de resistência para materiais melhorados. A história tem mostrado que programas de retrocruzamentos com germoplasma indiano têm sido efetivos para a geração de novas cultivares resistentes a diferentes raças de *P. xanthii* (JAHN et al., 2002; PITRAT, 2008; DHILLON et al., 2012).

Ressalta-se ainda que ações de pesquisa visando conhecer o controle genético da resistência presente nos acessos devem ser executadas. As informações advindas dos estudos de herança proporcionaram uma melhor orientação sobre a estratégia que deve ser utilizada pelo melhorista para introgressão dos alelos de resistência.

5 CONCLUSÕES

- Os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 e AM55-1A são resistentes a *P. xanthii*;
- As caracterizações morfológica e molecular confirmam que os acessos C-AC-02, C-AC-09, C-AC-15, C-AC-34 são da variedade *momordica*, enquanto o acesso AM55-1A da variedade *acidulus*.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, B.M.; VIDA, J.B.; TESSMANN, D.J.; OLIVEIRA, R.R.; AGUIAR, R.L.; ALVES, T.C.A. Fungal species that cause powdery mildew in greenhouse-grown cucumber and melon in Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 3, p. 247-252, 2012.

ARAGÃO, F.A.S.; TORRES FILHO, J.; NUNES, G.H.S.; QUEIRÓZ, M.A.; BORDALLO, P.N.; BUSO, G.S.C.; FERREIRA, M.A.; COSTA, Z.P.; BEZERRA NETO, F. Genetic divergence among accessions of melon from traditional agriculture of the Brazilian Northeast. *Genetics and Molecular Research*, v.12, p. 6356-6371, 2013.

BARDIN, M.; DOGIMONT, C.; NICOT, P. PITRAT, M. Genetic analysis of resistance of melon line PI 124112 to *Sphaerotheca fuliginea* and *Erysiphe cichoracearum* studied in recombinant inbred lines. **Acta Horticulture**, v. 492, p. 163-168, 1999.

BURGER, Y.; PARIS, H.S.; COHEN, R.; KATZIR, N.; TADMOR, Y.; E. LEWINSOHN, E.; SCHAFFER, A.A. Genetic diversity of *Cucumis melo*. **Horticulture Review**. v. 36, p. 165–198, 2010.

CARMO FILHO, F.; OLIVEIRA, O.F. **Mossoró**: um município do semi-árido nordestino – características e aspectos florísticos. Mossoró: FGD, 1989. (Coleção Mossoroense, Série B, n. 672).

CHIBA, N.; SUWABE, K.; NUNOME, T.; HIRAI, M. Development of Microsatellite Markers in Melon (*Cucumis melo* L.) and Their Application to Major Cucurbit Crops. **Breeding Science**, n. 53, p. 21-27, 2003.

COHEN, Y.; EYAL, H. Differential expression of resistance to powdery mildew incited by race 1 or 2 of *Sphaerotheca fuliginea* in *Cucumis melo* genotypes at various stages of plant development. **Phytoparasitica**, v. 23, p. 223-230, 1995.

COHEN, R. BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasita**. v. 32, p. 174-183, 2004.

COHEN, S.; COHEN, Y. Genetics and nature of resistance or race 2 of *Sphaerotheca fuliginea* in *Cucumis melo* PI 124111. **Phytopathology**, v. 76, p. 1165-1167, 1986.

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; SILVA, S. O.; FIGUEIRA, A. Genetic characterization of banana cultivars (*Musa* spp.) from Brazil using microsatellite markers. **Euphytica**, n. 132, p. 259-268, 2003.

CRUZ, C.D. **Programa genes diversidade genética**. Viçosa: Editora UFV, 2011, 278p.

DEL PINO, D.; OLALLA, L.; PEREZ-GARCIA, A.; RIVERA, M.E.; GARCIA, S.; MORENO, R.; VICENTE, A.; TORÉS, J.A. Occurrence of Races and Pathotypes of Cucurbit Powdery Mildew in Southeastern Spain. **Phytoparasitica**, v. 30, n.5, p. 1-8, 2002.

DELGADO, G.; LEMUS, Y. Taxonomía de *Sphaerotheca fuliginea* (*Erysiphales*, *Ascomycota*) sobre melón en Cuba. **Fitosanidad**, v. 8, n. 2, p. 27-29, 2004.

DELWING, A.B. **O estado da arte das sementes crioulas no Rio Grande do Sul com ênfase em sementes crioulas de melão (*Cucumis melo* L.).** 2006. 125p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

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

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

DHILLON NPS; SINGH J; FERGANY M; MONFORTE AJ, SUREJA AK. Phenotypic and molecular diversity among landraces of snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*) adapted to the hot and humid tropics of eastern India. **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization**, v. 7, p. 291-300, 2009.

DHILLON, N.P.S., MONFORTE, A.J., PITRAT, M. Melon landraces of India: contributions and importance. **Plant Breeding Reviews**, v. 35, p. 85-150, 2012.

DOYLE, I.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v.12, p.13-15, 1990.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa, 1999. 412p.

ESTERAS, C.; FORMISANO, G.; ROIG, C.; DÍAZ, A.; BLANCA, J.; GARCIA-MAS, J.; GÓMEZ-GUILLAMÓN, M.L.; LOPÉZ-SESÉ, A.I.; LÁZARO, A.;

MONFORTE, A.J.; PICÓ, B. SNP genotyping in melons: genetic variation, population structure, and linkage disequilibrium. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, n. 5, p. 1285-1303, 2013.

FAZZA, A. C. **Caracterização e ocorrência de agentes causais de oídio em cucurbitáceas no Brasil e reação de germoplasma de meloeiro**. Piracicaba: ESALQ, 2006. 60p. (Dissertação de Mestrado). 2006.

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

FERREIRA, D.F. SISVAR: A Computer Statistical Analysis System. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042. 2011.

FUJISHITA, N. Pedigree of melon (*Cucumis melo*) in ancient Japan. **Internacional Symposium on Asian Plant Diversity and Systematics**, Sakura, Japan, July 29- August 1, 2004.

FURLANI, P.R. Hydroponic vegetable production in Brasil. **Acta Horticulturae**, v. 481, p.777-778. 1999.

HOLLOMON, D.W.; WEELER, I.E. Controlling powdery mildews with chemistry. In: **The powdery mildews: a comprehensive treatise**, (BÉLANGER, R.R.; BUSHNELL, W.R.; DIK, A.J.; CARVER, T.L.W., eds), Ed. APS Press, St. Paul (MN, USA). 2002. pp 249-255. Saint Paul, MN: APS Press. 2002.

HOSOYA, K.; KUZUYA, M.; MURAKAMI, T.; KATO, K.; NARISAWA, K.; EZURA, H. Impact of resistant melon cultivars on *Sphaerotheca fuliginea*. **Plant Breeding**, v. 119, p. 286-288, 2000.

HOSOYA, K.; NARISAWA, K.; PITRAT, M.; EZURA, H. Race identification in powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on melon (*Cucumis melo*) in Japan. **Plant Breeding**, v. 118, p. 259-262, 1999.

IPGRI. **Descriptors for melon (*Cucumis melo* L.)**. Rome: IPGRI. 2003. 65p.

JAGGER, I. C.; SCOTT, G. W. Development of powdery mildew resistant cantaloupe No. 45. U.S. **Department Agriculture Circular**, v. 441, p. 1-5, 1937.

JAHN, M.; MUNGER, H.M.; McCREIGHT, J.D. Breeding Cucurbit Crops for Powdery Mildew Resistance. In: **The powdery mildews: a comprehensive treatise**, (BÉLANGER, R.R.; BUSHNELL, W.R.; DIK, A.J.; CARVER, T.L.W., eds), Ed. APS Press, St. Paul (MN, USA). 2002. pp 239-248.

KRISTKOVÁ, E.; LEBEDA, A.; SEDLTLKOVÁ, B. Virulence of Czech cucurbit powdery mildew isolates on *Cucumis melo* genotypes MR-Iand P1124112. **Scientia Hoil**, v. 99, p. 257-265, 2004.

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

LEBEDA, A.; KRÍSTKOVÁ, E.; SEDLÁKOVÁ, B.; McCREIGHT, J.D.; COFFEY, M.D. New concept for determination of pathotypes and races of cucurbit powdery mildew. In: PITRAT M. (ed) **Proceedings of the IXth EUCARPIA**

meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae, INRA, Avignon, France, pp. 125-134. 2008.

LIU, K.; MUSE, S. V. Powermaker: integrated analysis environment for genetic marker data. **Bioinformatics**, v. 21, p. 2128-2129, 2005.

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

MELOGEN. **Development of genomics tools in melon**. Available at <http://www.melogen.upv.es> COMAV, Universitat Politècnica de Valencia, Valencia, Spain. 2003. (Verificado em maio de 2012).

McCREIGHT, J.D. Genes for resistance to powdery mildew races 1 and 2 U.S. in melon PI 313970. **HortScience**, v. 38, n.4, p. 591-594, 2003.

McCREIGHT, J.D. Melon-powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v. 1331, p. 59-65, 2006.

McCREIGHT, J.D.; COFFEY, M.D. Inheritance of Resistance in melon PI 313970 to Cucurbit powdery mildew incited by *Podosphaera xanthii* race S. **Hortscience**, v. 46, n. 6, p. 828-840, 2011.

McCREIGHT, J.D.; COFFEY, M.; SEDLAKOVA, B.; LEBEDA, A. Cucurbit powdery of melon incited by *Podosphaera xanthii*: Global and western U.S. perspectives. **Cucurbitaceae 2012, Proceedings of the Xth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae** (eds. Sari, Solmaz and Aras) Antalya (Turkey), October 15-18th, 2012.

NEITZKE, R.S.; BARBIERI, R.L.; HEIDEN, G.; BÜTTOW, M.V.; OLIVEIRA, C.S.; CORRÊA, L.B.; SCHWENGBER, J.E.; CARVALHO, F.I.F. Caracterização morfológica e dissimilaridade genética entre variedades crioulas de melão. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.3, p. 534-538, 2009.

PAIVA, W.O. Divergência genética entre linhagens de melão e a heterose de seus híbridos. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.1, p. 34-37, 2002.

PERRIER, X.; FLORI, A.; BONNOT, F. Data analysis methods. In: HAMON, P.; SEGUIN, M.; PERRIER, X.; GLASZMANN, J.C. Ed., **Genetic diversity of cultivated tropical plants**. Enfield, Science Publishers. Montpellier. pp 43 – 76. 2003.

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

REIS, A.; BUSO, J.A. Levantamento preliminar de raças de *Sphaerotheca fuliginea* no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 122, n.3, p. 628-631, 2004.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**: version 9.2. 4th ed. Cary: SAS Institute, 2005. v.2. 846p.

SALES JÚNIOR, R.; NUNES, G.H.S.; MICHEREFF, S.J.; PEREIRA, E.W.L.; GUIMARÃES, I.M. Reaction of families and lines of melon to powdery mildew. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 382-386, 2011.

SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, Washington D.C., v.30, n.3, p.507-512, 1974.

TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. Mega 4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software Version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 24. p. 1596-1599, 2007.

THOMAS, C.E. Downy and powdery mildew resistant muskmelon breeding line 'MR-1'. **HortScience**, v. 21, p. 329, 1986.

TORÉS, J.A.; SÁNCHEZ-PULIDO, J.M.; LÓPEZ-RUIZ, F. First occurrence of Cucurbit powdery mildew caused by race 3-5 of *Podosphaera xanthii* in Spain. **Plant Disease**, v. 93, n. 10, p. 1073, 2009.

VIANA, F. M. P. **Recomendações para o controle das principais doenças que afetam a cultura do melão na região Nordeste**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001. 6 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular Técnica, 12).

YUSTE-LISBONA, F.J.; LÓPEZ-SESÉ, A.L.; GÓMEZ-GUILLAMÓN, M.L. Inheritance of resistance to races 1, 2 and 5 of powdery mildew in the melon TGR-1551. **Plant Breeding**, v. 129, n.1, p. 72-75, 2010.

CAPÍTULO 2

HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *Podosphaera xanthii* EM ACESSOS DE MELOEIRO

RESUMO

NUNES, Elaine Welk Lopes Pereira. **Herança da resistência a *Podosphaera xanthii* em acessos de meloeiro**. 2014. 125p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

O oídio é uma doença severa que causa perdas significativas na produção de melão em todo o mundo. A obtenção de cultivares resistentes é feita pela introgressão de alelos no programa de melhoramento. Neste estudo, investigou-se a herança da resistência AM55-1A e C-AC-15 em cruzamentos com a cultivar suscetível ‘Védrantais’ que foi estudado em condições de estufas. As razões de segregações de resistência/suscetibilidade observados nas diferentes populações (F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2) indicou herança monogênica e dominante em AM55-1A e dois genes independentes com interação epistática duplo recessiva no controle genético em C-AC-15.

Palavras-chaves: *Cucumis melo*. Oídio. Epistasia. Controle genético. Monogênica.

ABSTRACT

NUNES, Elaine Welk Lopes Pereira. **Inheritance of resistance to *Podosphaera xanthii* in melon accessions.** 2014. 125p. Thesis (Doctorate em Agronomy/Crop Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

Powdery mildew is a severe disease that causes substantial losses in melon production around the world. Obtaining resistant cultivars is done by introgression of alleles in the breeding program. In this study, it was investigated the inheritance of that AM55-1A and C-AC-15 in crosses with susceptible cultivar 'Védrantais' was studied under greenhouses conditions. The segregations ratios for resistance/susceptibility observed in the different populations (F_1 , F_2 , RC_1 and RC_2) indicated a monogenic and dominant inheritance in AM55-1A and two independent genes with epistatic interaction double recessive control resistance in C-AC-15.

Key Words: *Cucumis melo*. Powdery mildew. Epistasis. Genetic Control. Monogenic.

1 INTRODUÇÃO

O oídio, causado pela espécie fúngica *Podosphaera xanthii*, é a principal doença da parte aérea do meloeiro nos campos de produção do Nordeste brasileiro. Este patógeno é um parasita biotrófico que geralmente cresce nas superfícies foliares adaxial e abaxial, obtendo nutrientes das células epidérmicas por meio de haustório (GREEN et al., 2002). As consequências mais severas da ação do patógeno é a redução da área foliar e a queda prematura das folhas. Por conseguinte, o fungo pode reduzir o rendimento da cultura, pela diminuição do tamanho do fruto e do número de frutos. Em condições mais extremas o fungo pode acarretar a morte da planta devido a intensa severidade (SITTERLY, 1978).

A aplicação de fungicidas a base de enxofre tem sido utilizada para o controle da doença (McGRANTH, 2001), mas devido ao potencial de resistência em razão da variabilidade patogênica, altos custos e potenciais danos ao meio ambiente, e sobretudo, a pressão para redução da aplicação de produtos fitossanitários por parte do mercado consumidor, a aplicação de produtos químicos vem sendo reduzida. Em razão disso, o uso de cultivares resistentes tem sido incentivado, pelas suas vantagens como fácil adoção pelo produtor, menor custo, compatibilidade com outros métodos e menor riscos de contaminação ao homem e meio ambiente.

O melhoramento genético para resistência a *P. xanthii* é um exemplo de êxito em meloeiro (JAHN et al., 2002). Todo o processo tem início na identificação de germoplasma com alelos que conferem resistência às raças prevalentes em determinada região produtora. Nesse sentido, nas triagens realizadas têm sido identificados vários acessos utilizados como fontes de resistência, em especial aqueles provenientes de centros de diversidade da cultura, como a Índia (DHILLON et al., 2012), península ibérica (FLORIS; ALVAREZ, 1996) e oriente (Japão, Coréia e China) (McCREIGHT et al., 2013).

Para o aproveitamento das fontes de resistência identificadas nos programas de melhoramento visando obter genótipos resistentes a *P. xanthii*, é importante o conhecimento do controle genético envolvido na resistência. Esforços

têm sido realizado para elucidar a herança da resistência a *P. xanthii* em meloeiro. Com efeito, muitos trabalhos foram publicados na (JAGGER et al., 1938; HARWOOD; MARKARIAN, 1968; EPINAT et al., 1993; FLORIS; ALVAREZ, 1995; FUKINO et al., 2004; PITRAT; BESOMBLES, 2008; YUSTI-LISBONA et al., 2010; McCREIGHT; COFFEY, 2011). Os resultados apresentados foram muito divergentes quanto aos mecanismos de resistência devido a diversos fatores como genitores, raças, métodos de avaliação e condições ambientais (COHEN et al., 2004).

Embora existam muitos artigos que abordem o estudo de herança em meloeiro a raças de *P. xanthii*, sempre que uma nova fonte de resistência é identificada são imprescindíveis estudos de herança porque as informações advindas orientam sobre a melhor estratégia que deve ser utilizada pelo melhorista para introgressão dos alelos de resistência. Além disso, não há relatos na literatura de trabalhos sobre o controle genético de fontes de resistência cultivadas pelos pequenos produtores brasileiros, como é o caso do acesso *momordica* C-AC-15.

Diantes dessas considerações, o presente trabalho teve como objetivo estudar a herança da resistência genética nos acessos AM55-1A e C-AC-15 a *P. xanthii*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

O experimento foi conduzido no período de 16/02/2013 a 24/03/2013 na casa de vegetação e Laboratórios de Melhoramento Genético de Cucurbitáceas do Instituto de Conservación Y Mejora de La Agrodiversidad Valenciana (COMAV) na Universidad Politénica de Valencia (UPV), em Valencia, Espanha. O município de Valencia, na Comunidad Valenciana, está situado a uma latitude norte de 39° 28' 11'', longitude 0° 22' 38'' a oeste de Greenwich e tem 13,0 m de altitude acima do nível do mar. Durante o período de execução do experimento, a temperatura média na casa de vegetação foi de 12,3°C e a umidade relativa do ar de 58,23%.

2.2 Germoplasma

A linhagem 'Védrantais' foi utilizada como genitor suscetível nos cruzamentos para estudo de herança da resistência com acessos resistentes AM55-1A e C-AC-15 (Figura 5). A referida linhagem pertencente à variedade botânica *cantaloupensis* foi lançada pela Vilmorin Seed Company. É comumente cultivada na França e possui frutos do Tipo Charanthais de forma arredondada (IF = 1,0), mesocarpo de coloração salmão e elevado teor de sólidos solúveis (> 11°Brix). O acesso AM55-1A é de origem indiana e pertence à variedade botânica *acidulus* Naudin (Figura 5). O acesso C-AC-15 foi coletado no Estado do Rio Grande do Norte, no município de Mossoró-RN (Figura 5). Pertence à variedade botânica *momordica* (Roxb.) Duthie et Fuller.

No ano de 2013, foram obtidas as seguintes populações: F₁, F₂, RC₁ e RC₂ dos dois cruzamentos realizados entre a linhagem 'Védrantais' com cada um dos acessos resistentes mencionados.



Figura 5. Frutos dos genitores utilizados nos estudos da herança para resistência a *P. xanthii*. Valencia, UPV, 2014.

2.4 Manutenção do isolado

Foi utilizado o isolado de *P. xanthii* UP-PX-01 coletado em uma planta com sintomas do terceiro retrocruzamento da população C-61' (Tipo Pele de Sapo e variedade *inodorus*) x C-30 (variedade *makuwa*) em casa de vegetação da Universidad Politécnica de Valencia.

O isolado foi mantido por inoculações periódicas com intervalos de 30 dias em plantas da linhagem C-61'. A inoculação do patógeno foi realizada em cotilédones e folhas de plantas no estágio de três folhas verdadeiras com o auxílio de pincel com cerdas de camelo nº 2 previamente desinfestado em álcool 70%. As plantas foram mantidas em casa de vegetação isolada e cultivadas em vasos plásticos pretos com capacidade de 3 litros, preenchidos com substrato comercial Huminsubstrat N3®.

A identificação da raça do isolado seguiu os mesmos procedimentos adotados no Capítulo 1 do presente documento (Página 89).

2.4 Avaliação da reação nas populações

As avaliações foram feitas em casa de vegetação nas plantas das populações cultivadas em vasos de 1 litro de com por substrato comercial, conforme descrito no capítulo 1 (subitem 2.1.4). A inoculação e a avaliação foram feitas conforme a

metodologia empregada por Yuste-Lisbona et al. (2010). O isolado foi inoculado na terceira folha verdadeira em dois pontos equidistantes da nervura foliar central. A inoculação foi feita 25 dias após a semeadura. A avaliação se deu aos 15 dias após a inoculação realizada utilizando a escala de notas de 1 a 4 e os critérios de classificação de resistência/susceptibilidade definidos por Yuste-Lisbona (2010).

A escala de notas utilizada para a avaliação da reação das populações a *P. xanthii* foi seguinte conforme Yuste-Lisbona (2010): 1: Sem esporulação; 2: Baixo nível de esporulação; 3: Moderado nível de esporulação e 4: Esporulação profusa.

2.5 Análises estatísticas

As análises foram feitas classificando as plantas da população segregante em resistentes (notas 1 e 2) e suscetíveis (notas 3 e 4). Adotou-se o teste de Qui-quadrado para testar modelos genéticos visando explicar a herança da resistência usando um erro nominal de 5% ($\alpha = 0,05$). As análises foram processadas no programa SAS Versão 9.2® (SAS INSTITUTE, 2005).

3 RESULTADOS

3.1 Identificação de raça

Um primeiro aspecto muito importante é a identificação da raça nos estudos de herança. Nesse sentido foram inoculadas diferenciadoras de meloeiro utilizando a metodologia de Yuste-Lisbona (2010). Os resultados observados no capítulo 1 foram confirmados com seis isolados, ou seja, a raça não foi definida em função da inesperada susceptibilidade da diferenciadora ‘MR-1’ (Tabela 8). A susceptibilidade do acesso PI 124111 era esperado uma vez que a diferenciadora ‘MR-1’ foi originado do mesmo. A diferenciadora Edisto 47 foi resistente assim como o seu genitor, o acesso PI 124112.

Tabela 8. Reação de diferenciadoras de meloeiro a isolados de *P. xanthii* coletados em casa de vegetação em Valencia. Valencia, UPV, 2014.

Diferenciadoras	Isolados					
	1	2	3	4	5	6
‘Védrantais’	S	S	S	S	S	S
‘PMR 45’	S	S	S	S	S	S
‘PMR 5’	R	R	R	R	R	R
‘PMR 6’	R	R	R	R	R	R
WMR 29	S	S	S	S	S	S
Edisto 47	R	R	R	R	R	R
PI 414723	R	R	R	R	R	R
HBJ	S	S	S	S	S	S
MR1	S	S	S	S	S	S
PI 124111	S	S	S	S	S	S
PI 124112	R	R	R	R	R	R

R: resistente; S: suscetível.

3.2 Cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’

Todas as plantas do genitor ‘Védrantais’ foram suscetíveis ao fungo *P. xanthii*. Foi observado ainda que todas as plantas do genitor AM55-1A foram resistentes, assim como todas as plantas da geração F₁ foram resistentes ao fungo (Tabela 9).

Tabela 9. Frequência absoluta e teste de Qui-quadrado avaliado em populações derivado do cruzamento entre AM55-1A e ‘Védrantais’. Valencia, UPV, 2014.

População	Frequência absoluta		Razão	χ^2	Prob
	Resistente	Suscetível			
AM55-1A (AM)	15	0	(1:0)		
‘Védrantais’ (VEN)	0	15	(0:1)		
F ₁	15	0	(1:0)		
F ₂	61	25	(3:1)	0,76	0,383
RC ₁ (F ₁ x VEN)	64	54	(1:1)	0,85	0,357
RC ₂ (F ₁ x AM)	44	0	(1:0)		

Na geração F₂ foram observadas 61 plantas resistentes e 25 plantas suscetíveis, enquanto que no retrocruzamento da geração F₁ com o genitor suscetível verificou-se 64 plantas resistentes e 54 suscetíveis (Tabela 9). Todas as plantas do retrocruzamento entre F₁ e o genitor resistente foram resistentes.

A partir dessas frequências observadas foi proposto um modelo para explicar o controle genético da resistência verificada no acesso AM55-1A. O modelo preconiza uma herança simples, explicada por um gene composto por dois alelos, sendo que o alelo que confere a resistência é dominante sobre o alelo que confere suscetibilidade. No referido modelo as proporções fenotípicas esperadas na geração F₂ são três plantas resistentes para uma planta suscetível (3:1). Esse modelo foi testado utilizando o teste de Qui-quadrado a partir dos desvios entre as frequências observadas e esperadas na população F₂. Os desvios observados entre as referidas frequências foram não significativos pelo teste de Qui-quadrado ($\chi^2_{F_2} = 0,76$; $p = 0,383$).

O modelo também foi testado no retrocruzamento entre F₁ e o genitor suscetível ‘Védrantais’. Nesta população a frequência esperada é de uma planta resistente e uma planta suscetível (1:1). Novamente, constataram-se que os desvios entre as frequências esperadas e observadas dos fenótipos são não significativos pelo teste Qui-quadrado ($\chi^2_{RC1} = 0,85$; $p = 0,357$).

3.3 Cruzamento C-AC-15 x ‘Védrantais’

Todas as plantas do genitor ‘Védrantais’ foram suscetíveis ao fungo *P. xanthii*. Observou-se que todas as plantas do genitor C-AC-15 foram resistentes, assim como todas as plantas da geração F₁ foram resistentes ao fungo (Tabela 10).

Tabela 10. Frequência absoluta e teste de Qui-quadrado avaliado em um retrocruzamento derivado do cruzamento entre C-AC-15 e ‘Védrantais’. Valencia, UPV, 2014.

População	Frequência absoluta		Razão	χ^2	Prob
	Resistente	Suscetível			
C-AC-15 (AC)	7	0	(1:0)		
‘Védrantais’ (VEN)	0	8	(0:1)		
F ₁	10	0	(1:0)		
F ₂	65	43	(9:7)	0,69	0,406
RC ₁ (F ₁ x VEN)	21	30	(1:3)	7,11	0,008
RC ₂ (F ₁ x AC)	45	0	(1:0)		

Na geração F₂ foram observadas 65 plantas resistentes e 43 plantas suscetíveis, enquanto que no retrocruzamento da geração F₁ com o genitor suscetível verificou-se 21 plantas resistentes e 30 suscetíveis (Tabela 10). Todas as plantas do retrocruzamento entre F₁ e o genitor resistente foram resistentes.

As frequências observadas em F₂ e em RC₁ permitiram a proposição de um modelo para explicar o controle genético da resistência no acesso C-AC-15. O modelo genético prevê uma epistasia denominada dupla recessiva com a proporção nove plantas resistentes e sete plantas suscetíveis (9:7) em F₂. Na geração RC₁ são esperadas uma planta resistente e uma planta suscetível (1:3).

O modelo foi verificado na geração F₂ uma vez que o valor de Qui-quadrado foi não significativo ($\chi^2_{RC1} = 0,69$; $p = 0,406$). Entretanto, na geração RC₁ o Qui-quadrado foi significativo indicando que os desvios não são devidos ao acaso ($\chi^2_{F2} = 7,11$; $p = 0,008$).

4 DISCUSSÃO

Não foi possível, novamente, identificar a(s) raça(s) presente(s) na casa de vegetação na qual foram realizados os estudos de herança. A suscetibilidade apresentada da linhagem ‘MR-1’ foi a razão pela qual a raça 4 não foi assinalada como a identificada. São poucos os relatos sobre a suscetibilidade da linhagem ‘MR-1’ a isolados de *P. xanthii* (KŘÍSTKOVÁ et al., 2004; McCREIGHT; COFFEY, 2011). No presente trabalho, o uso de isolado não monospórico pode ter sido um fator limitante para a identificação de uma nova raça, uma vez que o isolado utilizado foi proveniente de uma colônia inicial de uma lesão simples. Todavia, para atenuar esse fato, Jahn et al. (2002) relatam que isolados coletados no campo ou casa de vegetação, oriundos de uma única lesão podem ser considerados geneticamente homogêneos. O isolado utilizado para a produção de inóculo do presente trabalho tem as características relatadas por Jahn et al. (2002).

No estudo da herança da resistência do acesso AM55-1A contou-se o contraste entre os dois genitores utilizados quanto à reação ao fungo *P. xanthii* (Tabela 9). Para a linhagem ‘Védrantais’ foi registrada na literatura a sua suscetibilidade às raças 1, 2US, 2Fr, 3, 4 e 5 (JAHN et al., 2002), enquanto a resistência do AM55-1A confirma os resultados verificados no ensaio para identificar fontes de resistências no primeiro Capítulo (Tabela 4).

A herança da resistência do acesso AM55-1A foi explicada por um modelo com um gene composto por dois alelos (*A* e *a*), sendo que o alelo que confere a resistência (*A*) possui dominância completa sobre o alelo que confere suscetibilidade (*a*). Assim sendo, o genótipo do genitor suscetível ‘Védrantais’ pode ser descrito por *aa*, enquanto o genótipo do acesso resistente é *AA*. Todas as plantas resistentes na geração F_1 têm o genótipo *Aa*. Na geração F_2 os genótipos das plantas resistentes podem ser *AA* ou *Aa* totalizando uma proporção fenotípica de $\frac{3}{4}$ enquanto o genótipo de plantas suscetíveis é *aa* com uma proporção de $\frac{1}{4}$. No retrocruzamento RC_1 o genótipo das plantas resistentes é *Aa*, enquanto que em plantas suscetíveis é *aa*.

Os resultados não significativos dos testes de Qui-quadrado confirmaram o modelo proposto para explicar as proporções das classes fenotípicas nas gerações F₂ e RC₁ (Tabela 9). Em outras palavras, os desvios entre as frequências esperadas e observadas são meramente devido ao acaso. A dominância do alelo que confere a resistência no acesso sobre o alelo que confere a suscetibilidade pode ser confirmada ao se observar que a geração filial F₁ apresentou todas as plantas como resistentes, indicando dominância completa do alelo presente no acesso AM55-1A que confere resistência a *P. xanthii*.

Muitos estudos de herança foram realizados com várias fontes de resistência (JAGGER et al., 1938; BOHN; WHITAKER, 1964; HARWOOD; MARKARIAN, 1968; COHEN; COHEN, 1986; EPINAT et al., 1993; FLORIS; ALVAREZ, 1995; BARDIN et al., 1999; FUKINO et al., 2004; PITRAT; BESOMBLES, 2008; YUSTI-LISBONA et al., 2010; McCREIGHT; COFFEY, 2011). Os resultados conforme se esperaria são discrepantes em função da variabilidade dos genitores, variabilidade do patógeno (raças fisiológicas), métodos empregados e variações ambientais. Dois destes estudos são mais relevantes para o presente trabalho pelo fato das duas fontes de resistência, assim como o acesso AM55-1A, pertencerem à variedade botânica *acidulus* (YUSTI-LISBONA et al., 2010; McCREIGHT; COFFEY, 2011).

No primeiro estudo, o acesso TGR 1551, coletado em Zimbábue no Sudeste africano, tem resistência às raças 1, 2 e 5. A herança da resistência do referido acesso às três raças é determinada por dois locos que interagem em uma epistasia recessivo-dominante. Foi o primeiro relato da presença desse tipo de herança em meloeiro (YUSTE-LISBONA, 2010). O acesso PI 313970 possui resistência a raça “S” condicionada por um alelo recessivo denominado *pm-S* (McCREIGHT; COFFEY, 2011). Também possui resistência às raças 1 e 2US, conferida também por alelos recessivos (McCREIGHT, 2003).

Uma possível relação da resistência apresentada pelo acesso AM55-1A com as resistências de TGR-1551 e PI 313970 deverá ser tema de outros estudos por meio de teste de alelismo. Não obstante, deve ser determinada para quais raças o

acesso AM55-1A é resistente. Estudos preliminares têm evidenciado resistência deste acesso à raça 5 (dados não apresentados).

A resistência do acesso C-AC-15 é mais complexa por se tratar de uma epistasia do tipo dupla recessiva. Assim sendo, estão envolvidos dois genes (*A* e *B*) com dois alelos (*A* e *a* no gene *A*; *B* e *b* no gene *B*) com relação de dominância completa. A resistência ocorre quando pelo menos um dos alelos dominantes estão presentes em cada loco (*A_B_*). Nos demais genótipos, a ausência de alelos dominantes em um ou nos dois locos condiciona a suscetibilidade. Com base no presente modelo os genótipos dos genitores que explicam as frequências observadas em todas as gerações são: *AABB* no acesso C-AC-15 e *aabb* na linhagem suscetível ‘Védrantais’. O genótipo das plantas resistentes em F_1 seria *AaBb*. Por conseguinte na geração F_2 os genótipos das plantas resistentes seriam (*AABB*, *AABb*, *AaBB* e *AaBb*), generalizando *A_B_*; e as plantas suscetíveis teriam os seguintes genótipos *aaBB*, *aaBb*, generalizando (*aaB_*); *AAbb*, *Aabb*, generalizando (*A_bb*) e *aabb*.

Do ponto de vista bioquímico, a resistência por epistasia dupla recessiva ocorre quando duas enzimas são produzidas pelo indivíduo. Cada uma das enzimas é produzida pelos alelos dominantes dos dois locos envolvidos no controle genético do caráter. Por conseguinte, na ausência de uma das enzimas o indivíduo é suscetível (RAMALHO et al., 2012).

O modelo foi comprovado na geração F_2 , mas não foi na geração RC_1 (Tabela 10). Uma provável explicação foi o tamanho reduzido na amostra da geração RC_1 uma vez que o número de plantas suscetíveis foi superior em 9,0 indivíduos. Ressalta-se que algumas plantas da referida geração morreram. Outro fato que reforça o modelo é que na geração RC_2 não foram observadas plantas suscetíveis. Os genótipos das plantas desta geração são os seguintes *AABB*, *AABb*, *AaBB* e *AaBb*. Portanto, todos genótipos que condicionam plantas resistentes.

Em germoplasma *momordica*, como é o caso do acesso C-AC-15, a herança da resistência geralmente é mais simples envolvendo um ou dois genes (McCREIGHT, 1987). Esse é o primeiro relato da presença de epistasia do tipo dupla recessiva no controle genético da resistência a *P. xanthii* em meloeiro.

Controle genético envolvendo modelo epistático recessivo-dominante foi observado por Yuste-Lisbona et al. (2010) no acesso TGR 1551. Resende et al. (1999) observou epistasia dupla recessiva na herança da resistência em dois cruzamentos de feijoeiro comum em condições de campo.

A resistência presente nos acessos AM55-1A e C-AC-15 poderá ser transferível para outros genótipos que sejam produtivos e possuam excelentes qualidades de fruto. Deve ser considerado que os acessos resistentes não possuem frutos com qualidades comerciais em especial sólidos solúveis ($< 9,0$ °Brix) (Tabelas 5 e 6; Capítulo 1). Em razão da simplicidade envolvida na herança da resistência nos dois acessos, é possível executar algumas gerações de retrocruzamentos para obter materiais resistentes e com boas características de fruto. Foi por meio desse processo que a primeira cultivar resistente à raça 1 de *P. xanthii*, Powdery Mildew Resistent ('PMR 45') foi obtida por melhoristas americanos, no final da década de trinta (JAGGER et al., 1938). É também por esse método que as cultivares modernas resistentes a diversas raças têm sido obtidas.

5 CONCLUSÕES

- A herança da resistência do acesso AM55-1A é controlada por apenas um gene composto por dois alelos, sendo que o alelo que confere resistência domina o alelo para suscetibilidade;
- Dois genes compostos por dois alelos com interação de dominância completa e interação gênica (epistasia) do tipo duplo recessiva que controlam a herança da resistência do acesso C-AC-15.

REFERÊNCIAS

BARDIN, M.; DOGIMONT, C.; NICOT, P. PITRAT, M. Genetic analysis of resistance of melon line PI 124112 to *Sphaerotheca fuliginea* and *Erysiphe cichoracearum* studied in recombinant inbred lines. **Acta Horticulture**, v. 492, p. 163-168, 1999.

BOHN, G.W.; WHITAKER, T.W. Genetics of resistance to powdery mildew race 2 in muskmelon. **Phytopathology**, v. 54, n.4, p. 587-591, 1964.

COHEN, S.; COHEN, Y. Genetics and nature of resistance or race 2 of *Sphaerotheca fuliginea* in *Cucumis melo* PI 124111. **Phytopathology** 76, 1165-1167, 1986.

COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasitica**, v. 32, n.1, p. 174-183, 2004.

DHILLON, N.P.S.; MONFORTE, A.J.; PITRAT, M. Melon landraces of India: contributions and importance. **Plant Breeding Reviews**, v. 35, p. 85-150, 2012.

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

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

FLORIS, E.; ALVAREZ, J.M. Genetic analysis of resistance of three melon lines to *Sphaerotheca fuliginea*. **Euphytica**, v. 81, p. 181-186, 1995.

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

GREEN, J.R.; CARVER, T.L.W.; GURR, S.J. The formation and function of infection feeding structures. In: **The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise** (BÉLANGER, R.R., BUSHNELL, W.R., DIK, A.J. AND CARVER, T.L.W., eds), Saint Paul, MN: APS Press, p. 66–82, 2002.

HARWOOD, R. R.; MARKARIAN, D. The inheritance of resistance to powdery mildew in the cantaloupe variety Seminole. **The Journal of Heredity**, v. 59, n.2, p. 126-130, 1968.

JAGGER, I.C.; WHITAKER, T.W.; PORTER, C.R. A new biologic form of powdery mildew on muskmrlons in the Imperial Valley of California. **Plant Disease Reporter**, v. 22, n. 2, p. 275-276, 1938.

JAHN, M.; MUNGER, H.M.; McCREIGHT, J.D. Breeding Cucurbit Crops fou Powdery Mildew Resistance. In: **The powdery mildews: a comprehensive treatise**, (BÉLANGER, R.R.; BUSHNELL, W.R.; DIK, A.J.; CARVER, T.L.W., eds), Ed. APS Press, St. Paul (MN, USA). p 239-248, 2002.

KRISTKOVÁ, E.; LEBEDA, A.; SEDLTLKOVÁ, B. Virulence of Czech cucurbit powdery mildew isolates on *Cucumis melo* genotypes MR-I and P1124112. **Scientia Hoil**, v. 99, p.257-265, 2004.

McCREIGHT, J.D.; COFFEY, M.D. Inheritance of Resistance in melon PI 313970 to Cucurbit powdery mildew incited by *Podosphaera xanthii* race S. **Hortiscience**, v. 46, n. 6, p. 828-840, 2011.

McCREIGHT, J.D.; PITRAT, M.; THOMAS, C.E.; KISHABA, A.N.; BOHN, G.W. Powdery mildew resistance genes in muskmelon. **Journal American Society Horticulture Science**, v.112, p. 156-160, 1987.

McCREIGHT, J. D. Genes for resistance to powdery mildew races 1 and 2U.S. in melon PI 313970. **HortScience**, v. 38, n.4, p. 591-594, 2003.

McCREIGHT, J.D.; STAUB, J.E.; WEHNER, T.C.; DHILLON, N.P.S. Gone global: familiar and exotic Cucurbits have Asian origins. **HortScience**, v. 48, n. 9, p. 1078- 1089, 2013.

McGRANTH, M.T. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and challenges. **Plant Disease**, v. 85, n. 1, p. 236-245, 2001.

PITRAT, M.; BESOMBLES, D. Inheritance of *Podosphaera xanthii* resistance in melon line '90625' In Cucurbitaceae 2008, **IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae (Pitrat M, eds)**, INRA, Avignon, France, p. 135-142, 2008.

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

REZENDE, V.F.; RAMALHO, M.A.P.; CORTE, H.R. Genetic control of common bean (*Phaseolus vulgaris*) resistance to powdery mildew (*Erysiphe polygoni*). **Genetic Molecular Biology**, v. 22, n.2, p. 233-236, 1999.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**: version 9.2. 4th ed. Cary: SAS Institute, 2005. v.2. 846p.

SITTERLY, W.R. Powdery mildews of cucurbits. In: SPENCER, D.M., ed. The powdery mildews. NY: **Academic Press**, p.359- 379, 1978.

YUSTE-LISBONA, F.J.; LÓPEZ-SESÉ, A.L.; GÓMEZ-GUILLAMÓN, M.L. Inheritance of resistance to races 1, 2 and 5 of powdery mildew in the melon TGR-1551. **Plant Breeding**, v. 129, n.1, p. 72-75, 2010.

CAPÍTULO 3

IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES SNP ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA A *Podosphaera xanthii* EM MELOEIRO

RESUMO

NUNES, Elaíne Welk Lopes Pereira. **Identificação de marcadores SNP associados à resistência a *Podosphaera xanthii* em meloeiro**. 2014. 125p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

O oídio em meloeiro é um problema fitopatogênico para a produção em muitas áreas do mundo. A seleção fenotípica para resistência ao oídio é difícil, trabalhoso e de baixa eficiência. O melhoramento para resistência ao oídio pode ser assistido por marcadores moleculares (MAS). O objetivo deste estudo foi identificar marcadores SNP associados à resistência em acessos de AM55-1A e C-AC-15. A população de retrocruzamento (RC1) derivado de AM55-1A x 'Védrantais' e a população F2 de C-AC-15 x 'Védrantais' foram utilizados para identificar QTLs associados à resistência a *P. xanthii* usando análise de segregação de bulk com 243 SNP marcadores moleculares. Dois QTLs (PM-AM55-1A_1 e Pm-A55-1A_2) foram identificados no grupo de ligação V de AM55-1A x 'Védrantais'. Um QTL (Pm-C-AC-15_5) no grupo de ligação V e outros (Pm-C-AC-15_9) no grupo de ligação IX.

Palavras-chaves: *Cucumis melo*. Oídio. QTL. Mapa genético. Genômica. Resistência.

ABSTRACT

NUNES, Elaine Welk Lopes Pereira. **Identification of SNP markers associated to resistance to *Podosphaera xanthii* in melon.** 2014. 125p. Thesis (Doctorate em Agronomy/Crop Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2014.

Powdery mildew in melon is a phytopathogenic problem for production in many areas of the world. Phenotypic selection for powdery mildew resistance is difficult, laborious and low efficiency. Powdery mildew resistance breeding can be assisted by marker-assisted selection (MAS). The objective of this study was identify SNP markers associated to resistance in accessions AM55-1A and C-AC-15. The backcross population (BC₁) derived from AM55-1A x 'Védrantais' and F₂ population from C-AC-15 x 'Védrantais' were utilized to identify QTLs associated to resistance to *P. xanthii* using bulked segregation analysis with 243 SNP molecular markers. Two QTLs (*Pm-AM55-1A_1* and *Pm-A55-1A_2*) were identified on ligation group V from AM55-1A x 'Védrantais'. One QTL (*Pm-C-AC-15_5*) on ligation group V and other (*Pm-C-AC-15_9*) on ligation group IX.

Key Words: *Cucumis melo*. Powdery mildew. QTL. Genetic map. Genomic. Resistance.

1 INTRODUÇÃO

O meloeiro é uma cultura de grande valor econômico em regiões tropicais e temperadas. É cultivado em praticamente todo o território brasileiro, porém tem grande relevância na Região Nordeste, que responde por mais de 95% da produção nacional (BUENO; BACCARINN, 2012). Entre os principais fatores limitantes da cultura estão às doenças ocasionadas por patógenos de natureza diversa. Dentre esses patógenos, está o fungo *Podosphaera xanthii*, principal agente causal do oídio em todo o mundo (LEBEDA et al., 2011).

O oídio aparece em folhas, pecíolos e gemas jovens de cucurbitáceas, como um pó branco pulverulento composto por micélio denso e esporos. Em condições favoráveis ao desenvolvimento do fungo toda a superfície da folha pode ser coberta pelas suas estruturas. O fungo pode chegar a cobrir ambas as faces da folha e provocar desfolhação prematura nas plantas, reduzindo a produção e qualidade dos frutos (SITTERLY, 1978).

Em razão das suas vantagens como economicidade, facilidade de uso pelos produtores e segurança ambiental, o uso de cultivares resistente tem sido incentivado para o controle do oídio. A obtenção de cultivares resistentes é um dos principais objetivos dos melhoristas em todo o mundo (McCREIGHT, 2006). Nos programas de melhoramento a seleção para resistência é tradicionalmente feita com base no fenótipo. Todavia, esse processo tem eficiência reduzida devido a vários fatores como variabilidade do patógeno, método de inoculação e condições ambientais (COHEN et al., 2004; LIU et al., 2010). Entretanto, existem dificuldades e custos adicionais relacionadas à conservação dos vários isolados do fungo. Por outro lado, com o advento de técnicas biotecnológicas, os pesquisadores têm concentrado esforços em identificar marcadores moleculares de DNA estreitamente ligados a genes de resistência a *P. xanthii*. O intuito é reduzir ou eliminar as limitações da seleção fenotípica, reduzir custos e tornar o processo de seleção mais eficiente. O desenvolvimento de marcadores moleculares estreitamente ligados a genes de resistência a *P. xanthii* é a etapa fundamental para

a seleção assistida por marcadores (SAM) e clonagem de genes com base no mapeamento genético.

Em razão disso, trabalhos para identificar marcadores moleculares ligados a genes de resistência a *P. xanthii* foram feitos com diversos tipos de marcadores como RAPD, AFLP, SCAR, SSR, SRAP e SNPs. Dessa forma, foram publicados manuscritos que relatam a identificação de QTLs ligados a genes de resistência à determinadas raças de *P. xanthii*. Os QTLs *Pm-W* da linhagem WMR-29 (PITRAT, 1991), *Pm-NA* (WANG et al., 2011), *Pmv.1* da diferenciadora PI 124112 (PERCHEPIED et al. (2005) VÊ NORMAS e *Pm-R* do acesso TGR-1551 (YUSTE-LISBONA et al., 2011a) foram identificados no grupo de ligação V. Os QTLs *Pm-y* do acesso VA 435 (PITRAT, 1991; PERIN et al., 2002), *PmXII.1* (PERCHEPIED et al., 2005) e um QTL relatado por Fukino et al. (2008) estão associados ao grupo de ligação XI. O QTL *Pm-x* (PITRAT, 1991; PERIN et al., 2002) e um segundo QTL (FUKINO et al., 2008) estão associados com o grupo de ligação II. No Brasil, foi identificado o marcador *Pm-1* da linhagem AF-125 (*Pm-1*) associado ao LG IX (TEIXEIRA et al., 2008). Todos os trabalhos apresentados anteriormente não alcançaram seu objetivo principal que é identificar marcadores estreitamente ligados (< 1 cM) a genes de resistência. Entretanto, Zhang et al. (2012) identificaram o marcador CAPS-*Dde* I estreitamente ligado ao gene *Pm-2F*, responsável pela resistência da linha chinesa K7-1 à raça 2Fr. Os referidos autores relataram que o marcador desenvolvido pode ser usado como marcador universal para seleção assistida.

Diante destas considerações, considerando a hipótese de que existem marcadores moleculares do tipo SNP associados a genes de resistência a *P. xanthii* presentes nos acessos AM55-1A e C-AC-15, o objetivo do presente trabalho foi identificar marcadores moleculares SNP associados a genes de resistência a *P. xanthii* dos acessos AM55-1A e C-AC-15.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação e Laboratórios de Melhoramento Genético de Cucurbitáceas do Instituto de Conservación Y Mejora de La Agrodiversidad Valenciana (COMAV) na Universidad Politécnica de Valencia (UPV), em Valencia, Espanha. O município de Valencia, na Comunidad Valenciana, está situado a uma latitude norte de 39° 28' 11'', longitude 0° 22' 38'' a oeste de Greenwich e tem 13,0 m de altitude acima do nível do mar. Durante o período de execução do experimento, a temperatura média na casa de vegetação foi de 12,3°C e a umidade relativa do ar de 58,23%.

2.2 Germoplasma

Os genitores utilizados para geração das populações segregantes de mapeamento foram a linhagem suscetível 'Védrantais' e os acessos AM55-1A e C-AC-15 (Figura 5). A descrição completa dos citados genitores está no item 2.2 do Capítulo 2.

A população de mapeamento do cruzamento AM55-1A x 'Védrantais' foi o retrocruzamento RC₁ (F₁ x 'Védrantais') com 118 plantas, enquanto que para o cruzamento C-AC-15 x 'Védrantais' utilizou-se a geração F₂ com 108 plantas.

2.3 Obtenção, manutenção, inoculação do isolado e avaliação da reação nas populações

A manutenção do isolado e a avaliação da reação da população de retrocruzamentos RC₁ foram os mesmos descritos no item 2.1. e 2.1.3 do Capítulo 1.

2.4 Extração de DNA

A extração do DNA das plantas seguiu o protocolo descrito no item 2.3.3 do Capítulo 1.

2.5 Marcadores SNP e Análise de QTLs

Foi utilizada a metodologia *Bulk Segregant Analysis* (BSA) desenvolvida por Michelmore et al. (1991). Para isso foram criados dois *bulks* de DNA de 20 plantas avaliadas para a reação a *P. xanthii* na população RC1. O primeiro *bulk* foi composto de DNA das plantas classificadas como resistentes, enquanto o segundo, por DNA de plantas avaliadas como suscetíveis.

Foram utilizados 243 marcadores SNPs identificados e descritos em detalhes por Esteras et al. (2013). A genotipagem com a plataforma GoldenGate foi conduzida no Centro Nacional de Genotipado Espanhol (CE-GEN-ISCI) (<http://www.cegen.org>). A sequência de cada *locus* selecionado, incluindo o nucleotídeo polimórfico flanqueados por sequências de 60 pb foi submetida ao Illumina (Illumina Assay Design Tool (ADT)). A Genotipagem GoldenGate foi realizada conforme descrita por Blanca et al. (2012). O ensaio GoldenGate foi desenvolvido na plataforma BeadXpress R usando a tecnologia Veracode R (Illumina). Os produtos de PCR, denominados Cy3 e Cy5 dependendo do alelo foram hibridizados a um vidro Veracode. Cada SNP foi identificado pelo Illumicode e os alelos foram discriminados pela sua fluorescência em um leitor Veracode BeadXpress (BLANCA et al., 2012).

2.6 Análises estatísticas

A análise de QTLs ligados à resistência de meloeiro a *P. xanthii* foi realizada utilizando o método de mapeamento por intervalo composto, conforme o programa MapQTL®. Na metodologia por Intervalo composto, um marcador estritamente

ligado a um QTL potencial é selecionado utilizando um procedimento de seleção de cofatores com um ponto de corte de 2% de probabilidade ($p \leq 0,02$). Utilizando o grupo de cofatores selecionados, a análise de Mapeamento por intervalo composto) é conduzida. Teste de permutações de 10.000 ciclos foi realizado para estimar o LOD (Log of Odds-ratio) relativo à presença de determinado QTL em uma região genômica (VAN OOIJEN, 2004).

O mapa de ligação foi realizado utilizando o programa Windows QTL Cartographer® 2.5 (WANG et al., 2007). A função de Kosambi (1944) foi utilizada para calcular a distância genética entre os marcadores.

3 RESULTADOS

3.1 Cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’

Entre os 243 marcadores SNP escolhidos para a análise de QTLs, somente 12 (4,94%) foram polimórficos entre os genitores AM55-1A e ‘Védrantais’, bem como entre os bulks resistentes e suscetíveis. Destes marcadores, cinco estavam localizados no grupo de ligação V, cinco no grupo VII, um no grupo II e um no grupo XI (Tabela 11).

Tabela 11. Marcadores SNP polimórficos entre os genitores AM55-1A e ‘Védrantais’, bulks resistentes e suscetíveis. Valencia, UPV, 2014.

Marcador	GL	Posição	Bulk (R)	AM55-1A (R)	F ₁ (R)	Bulk (S)	‘Védrantais’ (S)
SNP164	2	46,2	TC	T	TC	C	C
SNP726*	5	41,2	CA	A	CA	CA	C
SNP788	5	50,9	AG	A	AG	G	G
SSH9a15	5	52,5	AG	A	AG	G	G
SNP1155	5	79,8	GT	T	GT	G	G
AI13H12	5	89,4	GC	C	GC	G	G
AI05F11	7	4,9	CG	C	CG	G	G
SNP249*	7	11,4	GA	A	GA	GA	G
SNP262	7	30,5	TC	T	TC	C	C
SNP1009	7	32,1	CT	C	CT	T	T
SNP56	7	43,3	AG	A	AG	G	G
SNP315	11	90,9	TA	A	TA	T	T

*: Marcadores não polimórficos nos bulks mas polimórficos entre os genitores. (R): resistente, (S): suscetível. GL: grupo de ligação.

A análise de QTL realizada a partir do retrocruzamento RC₁ (entre F₁ e o genitor suscetível ‘Védrantais’) revelou a presença de dois picos (QTLs) no grupo de ligação V envolvidos com a resistência a *P. xanthii* (Figura 6). Também foram

observados picos menores nos grupos de ligação II e IX. No grupo de ligação II (aproximadamente entre 14 cM e 42 cM), enquanto que no grupo IX (aproximadamente 6 cM) observa-se um pico abaixo do valor limiar (LOD = 15,9), sendo, portanto, não significativos. Por outro lado, não se observou picos nos grupos de ligação VII e XI que possuíam marcadores polimórficos (Tabela 11).

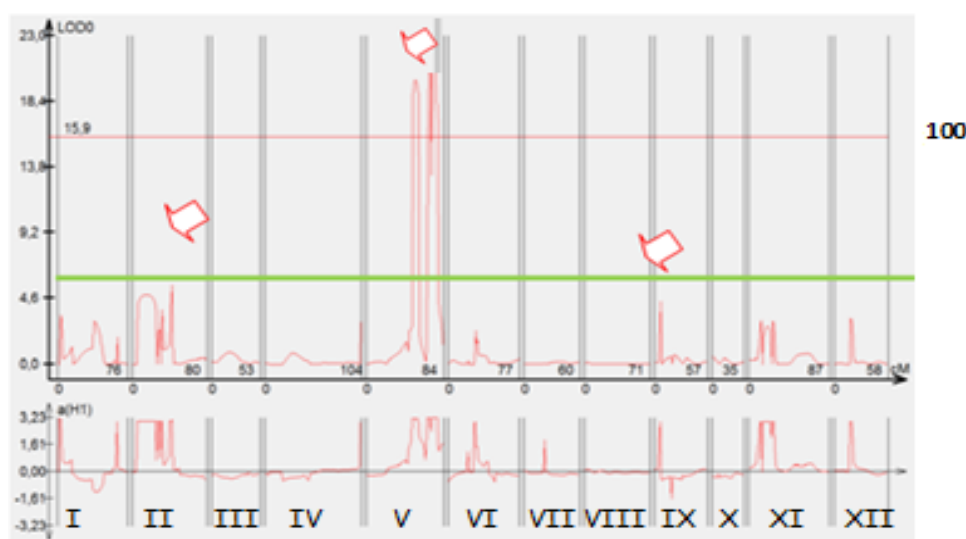


Figura 6. Picos observados na análise de QTLs na população de retrocruzamento RC₁ do cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’. Valencia, UPV, 2014.

Os dois QTLs identificados foram denominados *Pm-AM55-1A_1* e *Pm-AM55-1A_2*. O primeiro QTL explica 87% (LOD = 19,9) da variação observada, enquanto o segundo QTL explica 47% (LOD = 22,6) (Tabela 12) no grupo de ligação V.

Tabela 12. Informações dos QTLs identificados na população de retrocruzamento RC₁ do cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’. Valencia, UPV, 2014.

QTL	Posição (cM)	LOD	Intervalo	<i>a</i>	R ²
<i>Pm-AM55-1A_1</i>	53,0	19,9	50,1-56,2	3,15	0,87
<i>Pm-AM55-1A_2</i>	69,0	22,6	68,3-74,0	3,23	0,47

LOD limiar = 15,09; *a*: efeito aditivo do QTL.

A estimativa de a positiva de ambos os QTLs indica que o genitor ‘Védrantais’ aumenta a nota dada na fenotipagem, ou seja, incrementa a suscetibilidade, conforme era esperado (Tabela 12).

O QTL denominado *Pm-AM55-1A_1* está próximo do SNP polimórfico SSH9a15 situado a 53 cM no grupo de ligação V. O segundo QTL, *Pm-AM55-1A_2*, está muito próximo ao SNP polimórfico 1155 situado a 69 cM (Figura 7).

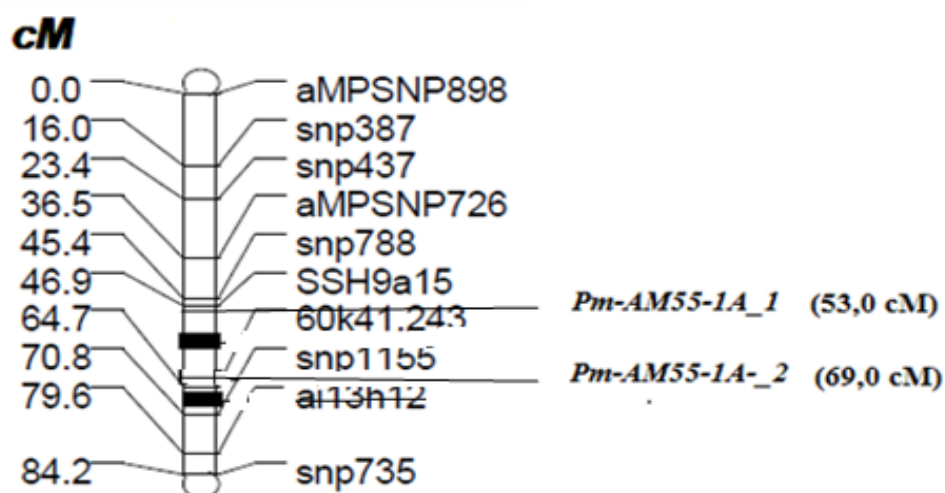


Figura 7. Localização dos QTLs *Pm-AM55-1A_1* e *Pm-AM55-1A_2* no grupo de ligação V. Valencia, UPV, 2014.

Para auxiliar no estudo da identificação dos QTL, foi contabilizado o número de plantas homozigotas do retrocruzamento RC_1 (F_1 x ‘Védrantais’) fenotipadas como resistentes e suscetíveis (Tabela 13). Com base nessas frequências, constata-se que apenas no grupo de ligação V, mais precisamente na região entre 50,9 e 79,8 cM, há efeito dos marcadores. Não se confirmaram efeitos nos grupos de ligação II, III, IX e XI.

Tabela 13. Informações de grupo de ligação, posição, genotipado dos genitores e geração filial F₁ e o número de plantas homozigotas do retrocruzamento RC₁ (F₁ x ‘Védrantais’) fenotipadas como resistentes e suscetíveis de quinze marcadores SNPs. Valencia, UPV, 2014.

Marcador	GL	Posição	‘Védrantais’	AM55-1A	F ₁	RC _{1_R}	RC _{1_S}
CMPSNP246	2	53	A	G	AG	14	12
SNP164	3	46,2	C	T	TC	15	16
SNP726	5	41,2	C	A	CA	7	19
SNP788	5	50,9	G	A	AG	2	21
SSH9a15	5	52,5	G	A	AG	5	18
SNP1155	5	79,8	G	T	GT	2	27
AI13H12	5	89,4	G	C	GC	9	24
AI05F11	7	4,9	G	C	CG	11	15
SNP249	7	11,3	G	A	GA	6	15
SNP262	7	30,5	C	T	TC	12	15
SNP1009	7	32,1	T	C	CT	13	17
SNP56	7	43,3	G	A	AG	15	17
SNP315	11	90,9	T	A	TA	15	15
SNP1035*	9	33,6	C	C	C	C	C
SNP159	9	36,8	C	T	CT	13	13

*: Monomórfico; GL: grupo de ligação; RC_{1_R}: o número de plantas homozigotas do retrocruzamento RC₁ (F₁ x ‘Védrantais’) fenotipadas como resistentes; RC_{1_S}: o número de plantas homozigotas do retrocruzamento RC₁ (F₁ x ‘Védrantais’) fenotipadas como suscetíveis.

3.2 Cruzamento C-AC-15 x ‘Védrantais’

Entre os 243 marcadores SNP escolhidos para a análise de QTLs, somente quatro (1,65%) foram polimórficos entre os genitores C-AC-15 e ‘Védrantais’. Destes marcadores, um estava no grupo de ligação V, um no grupo II e dois no grupo IX (Tabela 14).

Um aspecto interessante é que para os marcadores SNP788, SSH9a15 e AI05F11 o genitor C-AC-15 é segregante (Tabela 14). Esse fato evidencia que o referido acesso embora tenha passado por cinco autofecundações ainda é heterozigoto em alguns locos. A heterozigosidade dos genitores não é indicada em estudos de mapeamento e herança de caracteres uma vez que a construção das populações de mapeamento teoriza genótipos homozigotos.

Tabela 14. Informações dos marcadores SNP polimórficos entre os genitores C-AC-15 e ‘Védrantais’. Valencia, UPV, 2014.

Marcador	GL	Posição (cM)	‘Védrantais’	C-AC-15
CMPSNP246	2	53	A	G
SNP788*	5	50,9	G	GA
SSH9a15*	5	52,5	G	AG
SNP1155	5	79,8	G	T
AI05F11*	7	4,9	G	CG
SNP56	7	43,3	G	G
SNP1035	9	33,6	C	G
SNP159	9	36,8	C	G

*Marcadores em que o genitor C-AC-15 segrega.

A análise de QTL realizada com a população F_2 do cruzamento ‘Védrantais’ e C-AC-15 revelou a presença de dois picos (QTLs). O primeiro no grupo de ligação V e o segundo no grupo de ligação IX. Um pico menor também foi identificado no grupo de ligação VII, porém não significativo por estar abaixo do LOD limiar ($LOD = 4,0$) (Figura 8).

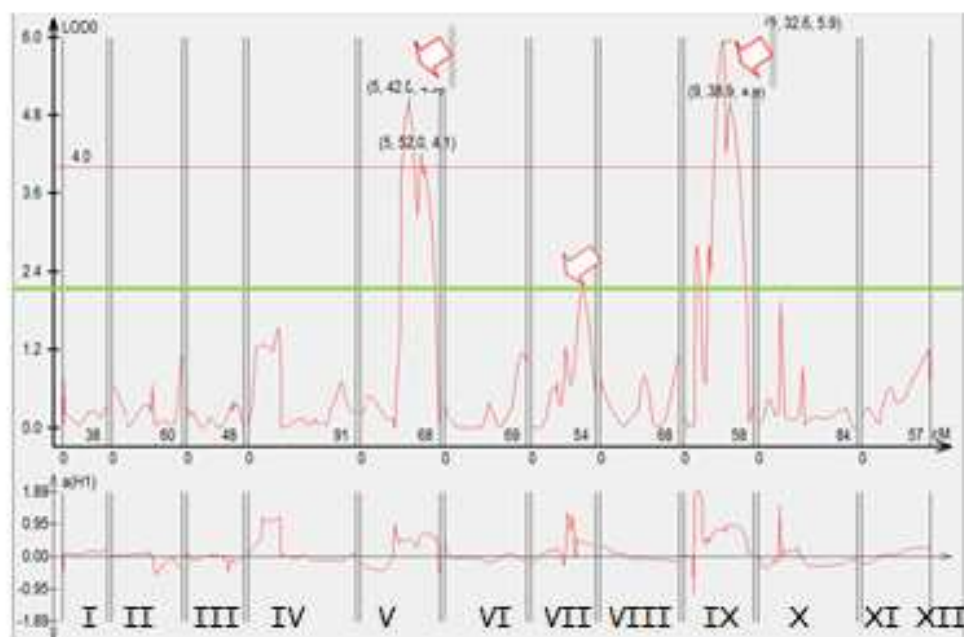


Figura 8. Picos observados na análise de QTLs na população de F_2 do cruzamento C-AC-15 x 'Védrantais'. Valencia, UPV, 2014.

Os dois QTLs foram denominados de *Pm-AC-15_5* e *Pm-AC-15_9* (Tabela 15). O primeiro QTL explicou 21% ($LOD = 4,9$) da variação, enquanto o segundo, 22,0% ($LOD = 5,9$). A estimativa de a positiva de ambos os QTLs indica que o genitor 'Védrantais' aumenta a nota dada na fenotipagem, ou seja, incrementa a suscetibilidade, conforme era esperado (Tabela 15).

Tabela 15. Informações dos QTLs identificados na população F_2 do cruzamento C-AC-15 x 'Védrantais'. Valencia, UPV, 2014.

QTL	Posição (cM)	LOD	Intervalo	a	R^2
<i>Pm-AC-15_5</i>	40,4	4,9	33,8-45,8	0,61	0,21
<i>Pm-AC-15_9</i>	31,3	5,9	26,4-34,6	0,69	0,22

LOD limiar = 4,0; a : efeito aditivo do QTL.

O QTL denominado *Pm-C-AC-15_5* situado na posição 40,4 cM está próximo do SNP 788 localizado na posição 45,4 cM (Figura 9A). O segundo QTL, *Pm-C-AC-15_9*, está extremamente próximo ao SNP polifórmico 1035 situado a 31,3 cM (Figura 9B).

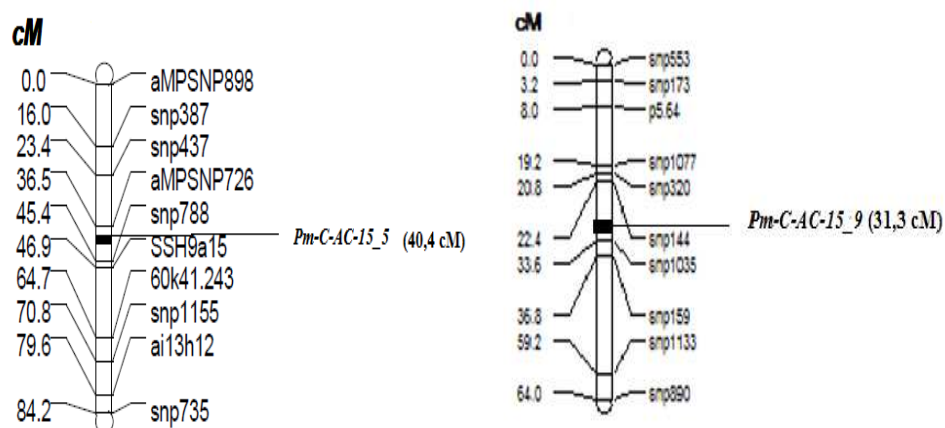


Figura 9. Localização dos QTLs *Pm-C-AC-15_5* e *Pm-C-AC-15_9* nos grupos de ligação V e IX, respectivamente. Valencia, UPV, 2014.

4 DISCUSSÃO

Em estudos de análise de QTL são necessários marcadores polimórficos entre os genitores (MICHELMORE et al., 1991). Para os dois cruzamentos foram identificados poucos marcadores SNPs polimórficos, sendo 12 (4,94%) para o cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’ (Tabela 11) e apenas 4,0 (1,65%) no cruzamento C-AC-15 x ‘Védrantais’ (Tabela 14). Uma explicação provável para o reduzido polimorfismo entre os marcadores é o fato da escolha ter sido feita pela observação do resultado de genotipagem de materiais de referência das variedades botânicas *cantaloupensis*, *momordica* e *acidulus* conforme descreve Esteras et al. (2013). A linhagem francesa ‘Védrantais’ foi utilizada como padrão *cantaloupensis*, os acessos indianos PI 414327, PI 124111 e PI 124112 foram utilizados como padrão *momordica* e o acesso TGR 1551 foi o padrão *acidulus*. Na realidade, em virtude da variação no germoplasma de meloeiro (LUAN et al., 2010), não é garantia que o polimorfismo mostrado entre amostras sejam reproduzidos quando se altera os indivíduos mesmo dentro da mesma variedade botânica.

Foram observados dois picos significativos na análise QTL para o cruzamento AM55-1A x ‘Védrantais’ (Figura 6). Os picos observados nos grupos de ligação II e IX não são significativos, fato confirmado ao se observar o número de plantas homozigotas do retrocruzamento RC₁ (F₁ x ‘Védrantais’) fenotipadas como resistentes e suscetíveis (Tabela 13). Por outro lado, no cruzamento C-AC-15 x ‘Védrantais’ foram observados dois picos significativos. O primeiro no grupo de ligação V e o segundo no grupo de ligação IX (Figura 8).

Alguns estudos foram realizados para identificar QTLs associados a resistência a *P. xanthii*. A localização dos QTLs foi observada nos grupos de ligação II, V e XII. Assim sendo, *Pm-Edisto47-1* (NING et al., 2013), *Pm-x* (PERIN et al., 2002), *Pm-2F* (ZHANG et al., 2012) e QTL (AR-5) (FUKINO et al., 2008) no grupo de ligação II; *Pm-w* (PITRAT, 1991), *Pm-R1-2* e *Pm-R5* (YUSTE-LISBONA et al., 2011a), *Pm-AN* (WANG et al., 2011) e *PmV.1* (PERCHEPIED et al., 2005) no grupo de ligação V; *Pm-y* (PERIN et al., 2002),

PmXII.1 (PERCHEPIED et al., 2005) e QTL (AR 5) (FUKINO et al., 2008) no grupo de ligação XII. A localização de QTLs nos grupos de ligação depende dos diferentes genitores envolvidos para a geração das populações segregantes, tipo de marcadores e raças do patógeno. Pelos resultados dos trabalhos fica evidente que várias regiões genômicas estão envolvidas na resistência de meloeiro a *P. xanthii*. Este fato é comum na interação planta-fungo de qualquer espécie (YUSTE-LISBONA, 2011a).

Nos dois cruzamentos do presente estudo foram identificados três QTLs (*Pm-AM55-1A_1*; *Pm-AM55-1A_2* e *Pm-C-AC-15_5*) no grupo de ligação V (Figuras 6, 7 e 8A). Os resultados de trabalhos com QTLs têm levado alguns autores a acreditarem que o grupo de ligação V no meloeiro contém uma região genômica que possui genes (*cluster*) que conferem resistência a diferentes patógenos (PITRAT, 1991; DOGIMONT et al., 2008). Perchepped et al. (2005) relataram dois QTLs ligados no grupo de ligação V. O primeiro associado à resistência ao fungo *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. and Curtis) Rostovzev, agente causal do míldio; e o segundo, associado com resistência a *P. xanthii* (PERCHEPIED et al., 2005). Perin et al. (2002) relatam um QTL no grupo de ligação V associado à resistência contra *Aphis gossypii* Glover. Este QTL está na mesma região da resistência às raças 1, 2 e 5 de *P. xanthii* (YUSTE-LISBONA, 2011a, b).

O gene que condiciona resistência a *A. gossypii*, denominado de *Vat*, é classificado como NBR-LRR (NBS: Ligação Local de Nucleotídeos; LRR: Repetições Ricas em Leucina) (DOGIMONT et al., 2008). A organização em *cluster* de genes de resistência NBS-LRR é comum em genomas de plantas (MICHELMORE; MEYERS, 1998). Análises em outras espécies como o arroz (*Oryza sativa*) (ZHOU et al., 2004) e *Arabidopsis thaliana* (MEYERS et al., 2003) também mostram a ocorrência de *clusters* de genes de resistência NBS-LRR. Os primeiros genes NBR-LRR descritos para resistência a *P. xanthii*, raças 1, 2 e 5 foram MRGH5 e MRGH63 no grupo de ligação V (YUSTE-LISBONA, 2011a).

Por outro lado, um dos QTLs (*Pm-C-AC-15_9*) foi identificado no grupo de ligação IX (Figuras 8 e 9B). Não é comum a identificação de QTLs para

resistência a *P. xanthii* no referido grupo de ligação. Entretanto, Teixeira et al. (2008) verificou o QTL *Pm-1* para resistência a raça 1 de *P. xanthii* está a 4,9 cM do marcador AFLP M75/H35_155. Os referidos autores também relatam que o marcador AFLP M75/H35_155 está a 40,9 cM do QTL *Pvr*¹. O citado QTL está associado a resistência ao vírus *Papaya Ring Spot Virus* (TEIXEIRA; CAMARGO, 2006). Estes fatos evidenciam que na mesma região genômica no grupo de ligação IX, assim como no grupo de ligação V, também pode existir um *cluster* de genes que conferem resistência a diversos patógenos. Fukino et al. (2008) comentam que no grupo de ligação II há um cluster similar àquele do grupo V. Todavia, não apontam maiores detalhes que respaldem tal afirmativa.

No cruzamento AM55-1A x 'Védrantais', o QTL *Pm-AM55-1A_1* explicou a maior parte da variação ($R^2 = 87\%$; LOD = 19,9) observada. O referido QTL está estreitamente ligado ao marcador SSH9a15 com uma diferença de somente 0,8 cM (Figura 7). Embora exista vários trabalhos que identificam QTLs para resistência a *P. xanthii* em meloeiro, são raros os relatos envolvendo QTLs estreitamente próximos a um marcador. Uma das possíveis razões da dificuldade para a identificação de marcadores estreitamente relacionados a QTLs de resistência é a dificuldade em se avaliar a reação dos indivíduos em razão dos inúmeros fatores ambientais que exercem influência sobre o desenvolvimento do oídio. Dentre estes fatores podem ser citados a luminosidade, umidade, idade da planta e método de inoculação entre outros, conforme comenta Cohen et al. (2004). Uma possibilidade para melhorar a fenotipagem é o uso de linhagens recombinantes em experimentos com repetições em vários locais. Todavia, Zhang et al. (2012) desenvolveu um marcador CAPS que delimita a região genômica que contém o QTL *Pm-2F* a 0,8 cM. Os autores apontam o marcador CAPS como de utilização universal em razão da sua estreita associação com o QTL.

Um aspecto relevante que precisa ser levado em consideração é que embora tenham sido observados dois QTLs no grupo de ligação V, no cruzamento AM55-1A x 'Védrantais', ressalta-se que há a possibilidade dos dois picos, na verdade, ser apenas uma região pelo fato de não existir marcadores no intervalo de 20,9 cM compreendido entre os dois QTLs (Figura 7). Esse possível fato, mostra a

necessidade de se estudar a região genômica de mais de 20 cM compreendida entre os marcadores SSH9a15 (52,5 cM) e 60k41.243 (73,4 cM) (Figura 7). O estudo seria feito incorporando novos marcadores SNPs neste intervalo genômico.

O QTL *Pm-AC-15_5* do cruzamento C-AC-15 x 'Védrantais' está a 5,0 cM do marcador SNP 788 (Figura 9A). O marcador *Pm-AC-15_9* situado na posição 31,3 cM está a 2,3 cM do marcador SNP1035 (33,6 cM) e 5,5 do marcador SNP159 (36,8 cM) (Figura 9B). Outros trabalhos relatam a identificação de QTLs para resistência a *P. xanthii* em meloeiro próximos (2,0-4,9 cM) a marcadores moleculares (WANG et al., 2011; FUKINO et al., 2008; TEIXEIRA et al., 2008; LIU et al., 2010; ZHAO et al., 2010; YUSTE-LISBONA, 2011a, b; NING et al., 2013). O ideal para a seleção assistida é a identificação de marcadores de utilidade universal estreitamente ligados a marcadores moleculares (<1 cM). Assim sendo, seria importante tentar saturar as regiões genômicas dos grupos de ligação V e IX do presente estudo com a inclusão de novos marcadores SNPs pela técnica de identificação de SNPs denominada de HMR (High Melting Resolution).

Não obstante, todos os QTLs identificados no presente trabalho são úteis quando se pratica a seleção na população de estudo, e podem ser úteis, em muitas situações para outras populações, não podendo, portanto, serem desprezados. Esses QTLs deverão ser testados para validação na população segregante e em genótipos com reação conhecida.

5 CONCLUSÕES

- A análise do cruzamento AM55-1A x 'Védrantais' permitiu a identificação dos QTLs *Pm-AM55-1A_1* que explica 87% da variação fenotípica e *Pm-AM55-1A_2* que explica 47%, situados, respectivamente, a 53,0 e 69,0 cM no grupo de ligação V;

- A análise do cruzamento C-AC-15 x 'Védrantais' permitiu a identificação do QTL *Pm-C-AC-15_5* na posição 40,4 cM no grupo de ligação V que explica 21% da variação fenotípica e do QTL *Pm-C-AC-15_9* na posição 31,3 cM no grupo de ligação IX que explica 22%.

REFERÊNCIAS

BLANCA, J.; ESTERAS, C.; ZIARSOLO, P.; FERNANDEZ, V.; COLLADO, C.; RODRIGUEZ, R.; BALLASTER, A.; ROIG, C.; CAÑIZARES, J.; PICÓ, B. Transcriptome sequencing for SNP Discovery across *Cucumis melo*. *BMC Genomics*, v. 13, p. 230, 2012.

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

COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. *Phytoparasitica*, v. 32, n.1, p. 174-183, 2004.

DOGIMONT, C.; CHOVELON, V.; TUAL, S.; BOISSOT, N.; RITTENER, V.; GIOVINAZZO, N.; BENDAHDANE, A. Molecular diversity at the Vat/Pm-W resistance locus in melon. In: Pitrat M (ed) **Cucurbitaceae 2008**. IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae. INRA, Avignon, pp 219–227.

ESTERAS, C.; FORMISANO, G.; ROIG, C.; DÍAZ, A.; BLANCA, J.; GARCIA-MAS, J.; GÓMEZ-GUILLAMÓN, M.L.; LOPÉZ-SESÉ, A.I.; LÁZARO, A.; MONFORTE, A.J.; PICÓ, B. SNP genotyping in melons: genetic variation, population structure, and linkage disequilibrium. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, n. 5, p. 1285-1303, 2013.

FUKINO, N.; OHARA, T.; MONFORTE, A.J.; SUGIYAMA, M.; SAKATA, Y.; KUNIHISA, M.; MATSUMOTO, S. Identification of QTLs for resistance to powdery mildew and SSR markers diagnostic for powdery mildew resistance genes in melon (*Cucumis melo* L.). **Theoretical Applied Genetic**, v. 118, n. 1, p. 165–175, 2008.

KOSAMBI, D.D. The estimation of map distances from recombination values. **Annual Eugene**, v. 12, p. 172-175, 1944.

LIU, L.; CHEN, Y.; SU, Z.; ZHANG, H.; ZHU, W. A Sequence-amplified characterized region marker for a single, dominant gene in melon PI 134198 that confers resistance to a unique race of *Podosphaera xanthii* in China. **Hortscience**, v. 45, n. 9, p. 1407-1410, 2010.

LEBEDA, A.; KRISTKOVA, E.; SEDLAKOVA, B.; COFFEY, M.D.; McCREIGHT, J.D. Gaps and perspectives of pathotype and race determination in *Golovinomyces cichoracearum* and *Podosphaera xanthii*. **Mycoscience**, v. 52, p. 159-164, 2011.

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

McCREIGHT, J.D. Melon–powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. **Journal American Society Horticulture Science**, v.131, n.1, p. 59-65, 2006.

MEYERS, B.C.; KOZIK, A.; GRIEGO, A.; KUANG, H.; MICHELMORE, R.W. Genome-wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in Arabidopsis. **Plant Cell**, v.15, p. 809-834, 2003.

MICHELMORE, R.W.; PARAN, I.; KESSELL, V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. **Proceedings National Academy Science USA**, v. 88, p. 9828-9832, 1991.

MICHELMORE, R.W.; MEYERS, B.C. Clusters of resistance genes in plants evolve by divergent selection and a birth-and-death process. **Genome Research**, v. 8, p. 1113–1130, 1998.

NING, X.; WANG, X.; GAO, X.; ZHANG, Z.; ZHANG, L.; YAN, W.; LI, L. Inheritances and location of powdery mildew resistance gene in melon Edisto 47. **Euphytica**, v. 176, p. 1-9, 2013.

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

PERIN, C.; HAGEN, L.; DE CONTO, V.; KATZIR, N.; DANIN-POLEG, Y.; PORTNOY, V.; BAUDRACCO-ARNAS, S.; CHADOEUF, J.; DOGIMONT, C.; PITRAT, M. A reference map of *Cucumis melo* based on two recombinant inbred line populations. **Theoretical Applied Genetic**, v. 104, n. 6, p. 1017-1034, 2002.

PITRAT, M. Linkage groups in *Cucumis melo* L. **Journal Heredity**, v. 82, n. 5, p. 406–411, 1991.

SITTERLY, W.R. **Powdery Mildews of Cucurbits**. In: Spenser DM, editor. The Powdery Mildews. Ed. Academia Press. p. 359-379, 1978.

TEIXEIRA, A.P.M.; CAMARGO, L.E.A. A molecular marker linked to the *Pvr*¹ gene that confers resistance to *Papaya ringspot virus*-type W in melon. **Plant breeding**, v. 125, p. 187-190, 2006.

TEIXEIRA, A.P.M.; BARRETO, A.; CAMARGO, L.E.A. (2008) An AFLP marker linked to the Pm-1 gene that confers resistance to *Podosphaera xanthii* race 1 in *Cucumis melo*. **Genetics Molecular Biology**, v. 31, n. 2, p. 547–550, 2008.

VAN OOIJEN, J.H. **MapQTL[®]5, software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations**. Kyazma BV, Wageningen, 2004.

WANG, S.; BASTEN, C.J.; ZENG, Z.B. **Windows QTL Cartographer 2.5**. Department of statistics, North Carolina State University, Raleigh. <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.html>. 2007.

WANG, X.; LI, G.; GAO, X.; XIONG, L.; WANG, W.; HAN, R. Powdery mildew resistance gene (Pm-AN) located in a segregation distortion region of melon LGV. **Euphytica**, v. 180, n. 3, p. 421–428, 2011.

YUSTE-LISBONA, F.J.; CAPEL, C.; GOMEZ-GUILLAMON, M.L.; CAPEL, J.; LOPEZ-SESE, A.I.; LOZANO, R. Codominant PCR-based markers and candidate genes for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.). **Theoretical Applied Genetic**, v.122, n.4, p.747-758, 2011a.

YUSTE-LISBONA, F.J.; CAPEL, C.; SARRIA, E.; TORREBLANCA, R.; GOMEZ-GUILLAMON, M.L.; CAPEL, J.; LOZANO, R.; LOPEZ-SESE, A.I. Genetic linkage map of melon (*Cucumis melo* L.) and localization of a major QTL for powdery mildew resistance. **Molecular Breeding**, v.27, n. 2, p.181-192, 2011b.

ZHANG, C.; REN, Y.; GUO, S.; HAIYING ZHANG, H.; GONG, G.; DU, Y.; XU, Y. Application of comparative genomics in developing markers tightly linked to the Pm-2F gene for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.). **Euphytica**, v. 181, n. 2, p. 1-12, 2012.

ZHOU, T.; WANG, Y.; CHEN, J.Q.; ARAKI, H.; JING, Z.; JIANG, K.; SHEN, J.; TIAN, D. Genome-wide identification of NBS genes in japonica rice reveals significant expansion of divergent non-TIR NBSLRR genes. **Molecular Genetic Genomics**, v. 271, p. 402415, 2004.