

DAVID GLEIDSON MOREIRA RAMOS

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E DE RESISTÊNCIA EM ACESSOS  
DE ABÓBORA INOCUADOS COM *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

Serra Talhada – PE

2025

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E DE RESISTÊNCIA EM ACESSOS  
DE ABÓBORA INOCULADOS COM *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

DAVID GLEIDSON MOREIRA RAMOS

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E DE RESISTÊNCIA EM ACESSOS  
DE ABÓBORA INOCULADOS COM *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção de título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Lindomar Maria da Silveira

Co-orientadora: Edicleide Macedo da Silva

Serra Talhada-PE  
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Bibliotecário(a): Auxiliadora Cunha – CRB-4 1134

R175r

Ramos, David Gleidson Moreira.

Respostas fisiológicas, bioquímicas e de resistência em acessos de abóbora inoculados com *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid / David Gleidson Moreira Ramos. – Serra Talhada, 2025.

45 f.; il.

Orientador(a): Lindomar Maria da Silveira.

Co-orientador(a): Edicleide Macedo da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica Serra Talhada - UAST, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Serra Talhada, BR-PE, 2025.

Inclui referências.

1. Cucurbitales. 2. Hortaliças cucurbitáceas. 3. Fungos apodrecedores da madeira. I. Silveira, Lindomar Maria da, orient. II. Silva, Edicleide Macedo da, coorient. III. Título

CDD 581.15

DAVID GLEIDSON MOREIRA RAMOS

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E DE RESISTÊNCIA DE ACESSOS  
DE ABÓBORA INOCULADOS COM *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

APROVADO em 21/02/2025

Banca Examinadora

---

Lindomar Maria de Silveira  
Orientadora  
Universidade Federal do Semi-Árido

---

Edicleide Macedo da Silva  
Membro examinador  
Universidade Federal do Semi-Árido

---

Marilene Santos de Lima  
Membro examinador  
Universidade Federal do Acre

Aos meus avós Maria José Moreira Ramos e Sebastião José Ramos, e minha mãe,  
Leonice Moreira Ramos, cujo amor, apoio e sacrifício tornaram possível a realização  
deste sonho.

Dedico

## AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus que não me deixou sozinho em nenhum momento de toda essa caminhada, me proporcionando sabedoria e força para prosseguir.

A todos da minha família que pavimentaram o caminho para a conquista deste grande sonho, sempre acreditando, encorajando e me mantendo forte com muita oração, em especial a minha mãe Leonice Moreira Ramos, meus avós Maria José e Sebastião, aos meus irmãos Yasmim, Ester, João e Jhenyfer e a minha sobrinha Aurora que sempre foram fonte de confiança e amor nas situações mais difíceis dessa jornada.

Aos meus amigos do mestrado, Agda, Ângela, Bianca, Rodrigo, Jamiles, Jheygni, Lucas, Nerissa, Marcos, Wilma Roberta, Francismária, Nynyve, Geovana, Antônio César, Adriano que me proporcionaram momentos incríveis e que eu vou levar sempre no meu coração.

As minhas orientadoras Lindomar Maria da Silveira e Edicleide Macedo da Silva por sempre acreditar e confiar em mim e pelo conhecimento e sabedoria concedido ao longo do caminho.

A todos os integrantes do grupo GERMEV e GEPPARG pelo apoio em campo e em laboratório.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada e a Universidade Federal Rural do Semi-Árido, campus central, ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela preciosa oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

Agradeço imensamente à Universidade Federal Rural do Semi-Árido pela disponibilidade da infraestrutura para a realização da pesquisa.

Meus sinceros agradecimentos aos professor Glauber Henrique de Sousa Nunes pelo auxílio com a estatística e por contribuir para o avanço da ciência.

Agradeço a professora Márcia Michelle, pelo auxílio durante as avaliações do trabalho.

Agradeço imensamente a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo incentivo à pesquisa.

A banca pelas críticas construtivas, disponibilidade e atenção a mim concebida.

“não perturbe o vosso coração”.  
(João 14:1)

## RESUMO GERAL

As abóboras, *Cucurbita maxima* Duch. e *Cucurbita moschata* Duch. se destacam entre as cucurbitáceas de importância econômica, em particular na região Nordeste, onde é cultivada principalmente por produtores em regime de agricultura familiar. Embora consideradas culturas rústicas, o seu cultivo apresenta alguns desafios, podendo citar entre eles a infestação por patógenos, sejam estes de parte aérea ou de solo. Com relação aos patógenos de solo, a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid está presente em diversos cultivos dificultando a produção. Considerando a variabilidade relatada para o germoplasma de *Cucurbita* conservado, a seleção de genótipos resistentes pode se caracterizar em valiosa ferramenta para o manejo desse patógeno na cultura. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar e selecionar acessos de abóbora resistente à *Macrophomina phaseolina*, bem como avaliar as respostas fisiológicas e bioquímicas em acessos inoculados com o patógeno. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação localizada na Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. O primeiro experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (17 x 3), com 5 repetições. O primeiro fator foram os acessos, sendo oito de *C. moschata* e sete acessos de *C. maxima* e duas cultivares comerciais – Abóbora Sergipana e Moranga Coroa. O segundo fator foram os isolados de *M. phaseolina* (MM1531, ME249 e ME50). A linhagem de Melão C-14 foi utilizada como padrão de resistência. Para o segundo experimento foram utilizados quatro acessos (ABO 153 e P114-03- *C. moschata* e ABPUN 202 e ABPUN 202 F4 – *C. maxima*) selecionados no primeiro experimento e inoculados com o isolado ME249. Nesse experimento, além da resistência foram realizadas avaliações para mensurar parâmetros fisiológicos (taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (PN), Taxa de transpiração (E), condutância estomática (gS), déficit de pressão de vapor e concentração interna de CO<sub>2</sub>) e bioquímicas (Prolina, açúcares solúveis e aminoácidos). Utilizou-se delineamento em DIC com cinco repetições. As cultivares Moranga Coroa e Abóbora Sergipana e a linhagem de Melão C-14 também foram utilizadas. Nos experimentos a parcela foi constituída de uma planta, conduzida em vasos com capacidade para 1L. A avaliação de resistência foi realizada de acordo com a severidade da doença, utilizando-se uma escala de notas de 0 a 6, onde 0: assintomática, 1: menos de 3% de tecidos infectados, 2: 3-10% de tecidos infectados, 3: 11-25% de tecidos infectados, 4: 26-50% de tecidos infectados e 5: mais de 50% de tecidos infectados e 6: planta morta. Com base na média das notas, os acessos foram classificados em cinco classes de reação, onde 0 = imune (I); 0,1–1,0 = altamente resistente (AR); 1,1–2,0 = moderadamente resistente (MR); 2,1–4,0 = suscetível (S) e 4,1–6,0 = altamente suscetível (AS). No primeiro experimento os acessos ABO 153, ABPUN 206 F1, P97-1, P114-03 ABPUN202, ABPUN 202 F4 foram classificados como moderadamente resistente aos três isolados. Quanto ao segundo experimento, para todos os acessos foram resistentes ao isolado ME249. Com relação às respostas fisiológicas e bioquímicas observadas houve o aumento de prolina nas plantas inoculadas e essas plantas inoculadas transpiraram mais.

**Palavras-chave:** *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, Podridão do caule.

## GENERAL ABSTRACT

Pumpkins, *Cucurbita maxima* Duch. and *Cucurbita moschata* Duch., stand out among economically important cucurbits, particularly in the Northeast region of Brazil, where they are primarily cultivated by family farmers. Although considered hardy crops, their cultivation presents certain challenges, including infestation by pathogens, whether aerial or soilborne. Among soilborne pathogens, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. is prevalent in various crops, complicating production. Given the reported variability in *Cucurbita* germplasm, the selection of resistant genotypes could be a valuable tool for managing this pathogen in the crop. Thus, the objective of this study was to evaluate and select pumpkin accessions resistant to *Macrophomina phaseolina*, as well as to assess the physiological and biochemical responses of accessions inoculated with the pathogen. Two experiments were conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of the Semi-Arid Region (UFERSA), located in Mossoró, Rio Grande do Norte. The first experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) in a factorial scheme (17 x 3), with five replicates. The first factor consisted of accessions, including eight of *C. moschata* and seven of *C. maxima*, along with two commercial cultivars—Abóbora Sergipana and Moranga Coroa. The second factor was the isolates of *M. phaseolina* (MM1531, ME249, and ME50). The melon line C-14 was used as a resistance standard. For the second experiment, four accessions (ABO 153 and P114-03—*C. moschata*; ABPUN 202 and ABPUN 202 F4—*C. maxima*), selected from the first experiment, were inoculated with the ME249 isolate. In this experiment, in addition to resistance, evaluations were conducted to measure physiological parameters (net CO<sub>2</sub> assimilation rate (PN), transpiration rate (E), stomatal conductance (gS), vapor pressure deficit, and internal CO<sub>2</sub> concentration) and biochemical parameters (proline, soluble sugars, and amino acids). A CRD with five replicates was used. The cultivars Moranga Coroa and Abóbora Sergipana, as well as the melon line C-14, were also included. In both experiments, each plot consisted of one plant grown in 1L pots. Resistance evaluation was based on disease severity, using a rating scale from 0 to 6, where 0 = asymptomatic, 1 = less than 3% infected tissue, 2 = 3–10% infected tissue, 3 = 11–25% infected tissue, 4 = 26–50% infected tissue, 5 = more than 50% infected tissue, and 6 = dead plant. Based on the mean scores, the accessions were classified into five reaction classes: 0 = immune (I); 0.1–1.0 = highly resistant (HR); 1.1–2.0 = moderately resistant (MR); 2.1–4.0 = susceptible (S); and 4.1–6.0 = highly susceptible (HS). In the first experiment, the accessions ABO 153, ABPUN 206 F1, P97-1, P114-03, ABPUN 202, and ABPUN 202 F4 were classified as moderately resistant to the three isolates. In the second experiment, all accessions were resistant to the ME249 isolate. Regarding the physiological and biochemical responses, an increase in proline was observed in inoculated plants, and these plants exhibited higher transpiration rates.

**Keywords:** *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, Stem rot

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1 - INOCULAÇÃO DE *Macrophomina phaseolina* NA RESPOSTA DE REISTÊNCIA EM ACESSOS DE ABÓBORA

**Figura 1-** Temperatura do ar e Umidade relativa do ar às 16h00min durante o período da condução dos experimentos em casa de vegetação. Mossoró-RN. UFERSA, 2024. .... 19

**Figura 2 - A):** Infestação de palito com o fungo *M. phaseolina*. B): Inoculação de *M. phaseolina* no colo da planta utilizando o palito de madeira colonizado com o patógeno. .... 21

**Figura 3 - A):** 1 – menos de 3% dos tecidos infectados, com pequenas lesões. B): 2 – entre 3 a 10% da parte aérea infectados, com lesões medianas; C): 3 – entre 11 a 25% dos tecidos da parte aérea infectados; D): 4 – entre 26 a 50% dos tecidos da parte aérea infectado; E) 5 – mais de 50% dos tecidos da parte aérea infectados, ou necrose da planta. .... 223

**Figura 4-** Lâmina feita de tecido de caule de abóbora inoculada com *M. phaseolina*, em microscópio óptico, para visualizar escleródio, característicos da *M. phaseolina*. .... 23

**Figura 5 -** Frequência das classes de reação por isolado de acessos de abóbora (*C. moschata* e *C. maxima*), 34 dias após inoculação com *M. phaseolina*, utilizando o método do palito. IM- imune, AR- altamente resistente, MR- moderadamente resistente, SU- suscetível e AS- altamente suscetível. (G1-ABO007, G2-ABO153, G3-ABO154, G4-ABO163, G5- ABO168, G6- ABPUN212, G7-ABPUN202, G8-ABPUN202-F4, G9-ABPUN206-F1, G10- ABPUN213, G11- ABTOU802-F3, G12- ABTOU802-F4, G13= ASerg, G14- C-14, G15- Mcoroa, G16 P114-02, G17- P114-03 e G18-P97-1). .... 27

**Figura 6-** Frequência relativa das classes de reação de acessos de abóbora (*C. moschata* e *C. maxima*) 34 dias após inoculados com isolados de *M. phaseolina*, utilizando o método do palito colonizado. IM- imune, AR- altamente resistente, MR-moderadamente resistente, SU – suscetível e AS – altamente suscetível. Mossoró – RN, 2024 ..... 28

**Figura 7-** Frequência absoluta de classes de reações em acessos de abóbora inoculados com o isolado ME249 de *M. phaseolina* pelo método do palito. .... 30

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1 - INOCULAÇÃO DE *Macrophomina phaseolina* NA RESPOSTA DE REISTÊNCIA EM ABÓBORA.

**Tabela 1-** Identificação de acessos de *C. moschata* avaliados para resistência a *Macrophomina phaseolina*. ..... 20

**Tabela 2-** Identificação de acessos de *C. maxima* avaliados para resistência a *Macrophomina phaseolina*. ..... 20

**Tabela 3 -** Classificação de reação de acessos de abóbora (*Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*) ao fungo *Macrophomina phaseolina*. ..... 24

**Tabela 4-** Severidade da infecção e agressividade dos isolados de *Macrophomina phaseolina*. 26

**Tabela 5-** Patogenicidade de isolados de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid inoculados em acessos de abóbora (*Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*). ..... 27

**Tabela 6-** Efeito relativo de tratamento (ERT), desvio-padrão (DP), limite inferior (LI) e superior (LS) da severidade de acessos de abóbora inoculados com o isolado ME-249 de *Macrophomina phaseolina* pelo método do palito. .... 29

### CAPÍTULO 2 - RESPOSTAS BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DE ACESSOS DE ABÓBORA INOCULADOS COM *Macrophomina phaseolina*

**Tabela 1.** Acessos de *C. maxima* e *C. moschata* avaliados para resistência a *Macrophomina phaseolina*. ..... 36

**Tabela 2.** Valores de F de Snedecor e coeficiente de variação de três variáveis bioquímicas avaliadas em genótipos de abóbora com e sem inoculação com *M. phaseolina*. ..... 39

**Tabela 3.** Média de genótipos de abóbora com e sem inoculação de *M. phaseolina* de três variáveis bioquímicas. .... 40

**Tabela 4 .** Média de genótipos de abóbora com e sem inoculação para três variáveis bioquímicas. .... 41

**Tabela 5.** Resumo da análise de variância das variáveis (ANOVA) e valores de F de Snedecor para as variáveis taxa de transpiração (E), condutância estomática (gs), taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A), concentração interna de CO<sub>2</sub> (ci), eficiência do uso da água (EUA) e eficiência de carboxilação (EiC) avaliados em genótipos de abóbora sem e com inoculação por *M. phaseolina*. ..... 41

**Tabela 6.** Média de genótipos de abóbora com e sem inoculação por *M. phaseolina* para variáveis fisiológicas. .... 42

**Tabela 7.** Média de inoculação em genótipos de abóbora para variáveis fisiológicas. .... 43

## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO .....	14
CAPÍTULO 1 – .....	15
INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE <i>Macrophomina phaseolina</i> NA RESPOSTA DE REISTÊNCIA EM ABÓBORA .....	15
1 INTRODUÇÃO .....	17
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	19
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	24
4 CONCLUSÕES .....	30
REFERÊNCIAS .....	31
CAPITULO 2: RESPOSTAS BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DE ACESSOS DE ABÓBORA INOCULADOS COM <i>Macrophomina phaseolina</i> .....	33
1 INTRODUÇÃO .....	34
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	36
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
4 CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIA.....	44

## APRESENTAÇÃO

As cucurbitáceas, como a abóbora, são culturas de grande relevância econômica e nutricional, especialmente em regiões como o semiárido brasileiro. Espécies como *Cucurbita moschata* Duch. e *Cucurbita máxima* Duch. são amplamente cultivadas, contribuindo para a alimentação humana e a geração de renda, principalmente para pequenos produtores. No entanto, o cultivo dessas plantas enfrenta desafios significativos, especialmente relacionados a patógenos que comprometem a produtividade e a qualidade das culturas.

O semiárido brasileiro apresenta condições climáticas favoráveis ao cultivo de abóboras, como temperaturas elevadas e alta insolação. Esses fatores são essenciais para o desenvolvimento das plantas, tornando a região propícia para a produção. No entanto, apesar das vantagens climáticas, os produtores enfrentam obstáculos que limitam o potencial agrícola.

Embora as abóboras sejam consideradas culturas rústicas e de baixa dependência de insumos, elas são suscetíveis a diversos patógenos, especialmente os de solo. Entre esses patógenos, destaca-se o fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, que afeta gravemente o desenvolvimento das plantas. Esse patógeno causa lesões pretas nos caules, interfere na transferência de água e nutrientes e pode levar à morte da planta. Além disso, ele é responsável por sintomas como raízes secas e podridão cinzenta, comprometendo a saúde e a produtividade das culturas.

O fungo *M. phaseolina* é um patógeno de ampla distribuição, capaz de infectar mais de 500 espécies de plantas em diversas famílias botânicas. Sua capacidade de causar podridão de raízes e caules o torna uma ameaça global, especialmente em regiões quentes e tropicais. No contexto das abóboras, esse fungo representa um gargalo significativo para o cultivo, colocando em risco a produção e a rentabilidade dos agricultores.

As plantas estão sujeitas a condições de estresse, sejam bióticos (como patógenos) ou abióticos (como seca ou temperaturas extremas). Esses estresses podem desestabilizar o metabolismo das plantas, afetando seu crescimento, desenvolvimento e ciclo de vida. Em resposta, as plantas ativam mecanismos de defesa, incluindo alterações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas. No entanto, ainda há poucas pesquisas que explorem como as abóboras respondem à infestação por *M. phaseolina*, especialmente em termos de resistência e adaptação.

Diante desses desafios, este trabalho tem como objetivo avaliar as respostas fisiológicas, bioquímicas e de resistência em acessos de abóbora inoculados com *M. phaseolina*. A compreensão desses mecanismos é essencial para desenvolver estratégias que minimizem os impactos do patógeno e garantam a sustentabilidade do cultivo de abóboras, especialmente em regiões como o semiárido brasileiro.

## CAPÍTULO 1 –

### INOCULAÇÃO DE *Macrophomina phaseolina* NA RESPOSTA DE REISTÊNCIA EM ABÓBORA

#### RESUMO:

Entre as cucurbitáceas de importância econômica para o agronegócio brasileiro, as abóboras, *Cucurbita moschata* Duch e *Cucurbita máxima* Duch, tem se destacado pelo seu valor alimentício e social, sendo indicada também como porta-enxertos para outras espécies, como melão e melancia. Embora as abóboras sejam consideradas cultura rústicas, o seu cultivo apresenta alguns desafios principalmente relacionada as infecções por patógenos, sendo estes de parte aérea ou de solo, como *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, encontrados em diversos cultivos, dificultando a produção, seja com sua ocorrência isolada ou em associação com outros patógenos. Considerando a variabilidade relatada para o germoplasma de *Cucurbita* conservado, a seleção de acessos resistentes pode se caracterizar em valiosa ferramenta para o manejo desse patógeno na cultura da abóbora. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar e selecionar acessos de abóbora resistentes à *M. phaseolina*. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação, localizada na Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró (RN). No primeiro experimento utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 17x3, com cinco repetições. O primeiro fator oito acessos de *C. moschata* e sete acessos de *C. maxima*; duas cultivares comerciais – Moranga Coroa e Abóbora Sergipana. A linhagem de Melão C-14 foi utilizada como padrão de resistência. O segundo fator foram os isolados de *M. phaseolina* (ME248, ME249 e ME250). Para o segundo experimento foram utilizados acessos selecionados no primeiro experimento e inoculados com o isolado ME249 que apresentou maior severidade no primeiro experimento. O delineamento também foi em DIC com cinco repetições, onde foram avaliados quatro acessos e as cultivares Moranga Coroa, Abóbora Sergipana e Melão C-14. Nos dois experimentos a parcela foi constituída de uma planta, conduzida em vaso com capacidade para 1L. A avaliação de resistência foi realizada de acordo com a severidade da doença, utilizando-se uma escala de notas de 0 a 6, onde 0: assintomática, 6: planta morta. Com base na média das notas, os acessos foram classificados em cinco classes de reação, variando de imune a altamente suscetível. Foram encontrados seis acessos classificados como moderadamente resistentes (ABO 153, ABPUN 202, ABPUN 202 F4, ABPUN 206 F1, P114-03 e P97-1) aos três isolados ME248, ME249 e ME250. Dois acessos classificados como altamente resistente (P114-03 e ABPUN 202) e dois acessos classificados como moderadamente resistente (ABPUN 202 F4 e ABO 153) ao isolado patogênico de *M. phaseolina* ME249 e evidenciando desta forma o potencial para uso de programas de melhoramento genético.

**Palavras-chave:** *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, estresse biótico

## ABSTRACT:

Among the cucurbits of economic importance for Brazilian agribusiness, pumpkins, *Cucurbita moschata* Duch. and *Cucurbita maxima* Duch., have stood out due to their nutritional and social value, and are also recommended as rootstocks for other species, such as melon and watermelon. Although pumpkins are considered hardy crops, their cultivation presents certain challenges, primarily related to infections by pathogens, whether aerial or soilborne, such as *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., found in various crops, complicating production, either through its isolated occurrence or in association with other pathogens. Considering the reported variability in conserved *Cucurbita* germplasm, the selection of resistant accessions could be a valuable tool for managing this pathogen in pumpkin cultivation. Thus, the objective of this study was to evaluate and select pumpkin accessions resistant to *M. phaseolina*. Two experiments were conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of the Semi-Arid Region (UFERSA), Mossoró, Rio Grande do Norte. In the first experiment, a completely randomized design (CRD) in a 17x3 factorial scheme with five replicates was used. The first factor consisted of eight accessions of *C. moschata* and seven accessions of *C. maxima*, along with two commercial cultivars—Moranga Coroa and Abóbora Sergipana. The melon line C-14 was used as a resistance standard. The second factor was the isolates of *M. phaseolina* (ME248, ME249, and ME250). For the second experiment, accessions selected from the first experiment were inoculated with the ME249 isolate, which showed the highest severity in the first experiment. The design was also CRD with five replicates, where four accessions and the cultivars Moranga Coroa, Abóbora Sergipana, and Melão C-14 were evaluated. In both experiments, each plot consisted of one plant grown in a 1L pot. Resistance evaluation was based on disease severity, using a rating scale from 0 to 6, where 0 = asymptomatic and 6 = dead plant. Based on the mean scores, the accessions were classified into five reaction classes, ranging from immune to highly susceptible. Six accessions were classified as moderately resistant (ABO 153, ABPUN 202, ABPUN 202 F4, ABPUN 206 F1, P114-03, and P97-1) to the three isolates ME248, ME249, and ME250. Two accessions were classified as highly resistant (P114-03 and ABPUN 202), and two accessions were classified as moderately resistant (ABPUN 202 F4 and ABO 153) to the pathogenic isolate *M. phaseolina* ME249, thus demonstrating their potential for use in plant breeding programs.

**Keywords:** *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, biotic stress

## INTRODUÇÃO

A abóbora, incluindo as espécies *Cucurbita moschata* Duch. e *Cucurbita máxima* Duch., vem desempenhando um papel significativo na economia global, contribuindo para a segurança alimentar, geração de renda e desenvolvimento agrícola. Algumas cultivares vem se destacando das demais cucurbitáceas por apresentarem alto rendimento, uniformidade na produção ao longo do tempo e maior nível de resistência a fitopatógenos (Verma et al., 2023). A área plantada com a cultura em todo o mundo progrediu de 1.746.293 ha em 2010 para 2.004.058 há em 2018, sendo a Ásia o continente com maior produção (1.11.656 ha plantados em produtividade de 16,12 t.ha<sup>-1</sup>), em seguida o continente africano (285.431 ha plantados e rendimentos de 6,76 t.ha<sup>-1</sup>), e depois a América do Sul (196.898 ha plantados e rendimentos de 15,56 t.ha<sup>-1</sup>)(FAO, 2023).

O cultivo apresenta grande importância social e econômica, principalmente para a região central do Brasil que vem se destacando como um polo de cultivo e comercialização. A região do semiárido brasileiro proporciona potencial para o cultivo de abóbora e de outras cucurbitáceas, devido as condições climáticas favoráveis, como climas quente e seco, temperaturas elevadas e altos níveis de insolação, fatores esses, que são essenciais para o desenvolvimento (Soares et al., 2016).

A abóbora é cultivada em várias áreas dessa região, principalmente por pequenos produtores que praticam agricultura de subsistência, sendo considerado uma ótima fonte de renda (Gomes et al., 2020; Hernández-Rosales et al., 2020). Além da importância direta na alimentação, as abóboras têm sido destacadas como grande potencial para uso como porta-enxertos para outras cucurbitáceas como o melão e a melancia, devido a rusticidade, podendo ser alternativa no manejo de patógeno de solo (Concurso et al., 2012; Karaağaç & Balkaya, 2013).

No entanto, o cultivo de abóbora vem sofrendo diversos obstáculos como escassez de sementes geneticamente melhoradas, infestações de pragas e infecções de doenças como a podridão do caule ocasionada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* (Hosen et al., 2021). *Macrophomina phaseolina* impacta economicamente, infectando mais de 500 espécies de plantas em mais de 100 famílias botânicas, causando doenças como podridão de raízes e podridão do caule (Nascimento et al., 2014). É o patógeno que mais se identifica em regiões quentes, temperadas e tropicais do mundo.

Para diminuir o impacto do fungo, os agricultores aplicam fungicidas sintéticos, fumigadores de solo e esteriliza máquinas de aração. Os fungicidas sintéticos apresentam

como desvantagem a contaminação do meio ambiente e o seu valor ser muito alto (Yasmin et al., 2020). Uma solução eficiente seria a utilização de plantas resistentes sendo ecologicamente e economicamente sustentáveis e viáveis.

Entretanto, conhecimentos sobre níveis de resistência dessas espécies sob inoculação com *Macrophomina phaseolina* em regiões semiáridas ainda são escassas. Dúvidas sobre quais isolados são mais severos e quais acessos de abóbora apresentam resistência podem ser utilizadas para uma tomada de decisão eficiente no tipo de manejo que deve ser utilizado nessas condições e assim não afetar o desenvolvimento dessa cultura.

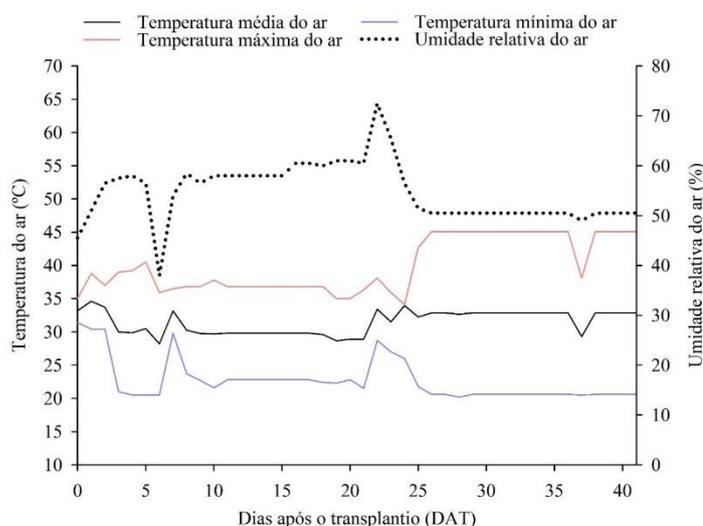
Sendo assim, visto que uma solução pertinente, são uso de cultivares resistentes a este patógeno, acredita-se que a inoculação de *Macrophomina phaseolina* em acessos de abóbora resulta no aumento de severidade da infecção, na manifestação de diferentes reações entre os acessos e na identificação de níveis de resistência ao patógeno. Identificar a diversidade de genótipos de abóbora é necessário para a conservação, utilização apropriada e desenvolvimento (Mahfouze & Ottai, 2011).

Com isso, objetivou-se avaliar e selecionar acessos de abóbora com resistência à *Macrophomina phaseolina*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Ciências Agrônomicas (DCAF), Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Campus Central, localizada em Mossoró-RN, Brasil. A região apresenta de acordo com a classificação de Koppen, clima local é BSw<sup>h</sup>, caracterizado como semiárido quente e seco, com duas estações climáticas: uma seca, que compreende o período de junho a janeiro e uma chuvosa, entre os meses de fevereiro e maio, possuindo altitude de 72m, temperatura média anual é superior a 27,4°C, umidade relativa média de 68,9% e precipitação média anual de 673,3mm (Carmo Filho et al., 1991).

Durante a condução dos experimentos foi realizado o monitoramento da temperatura e umidade relativa diariamente através do uso do termo-higrômetro instalado dentro da casa de vegetação (Figura 1).



**Figura 1-** Temperatura do ar e Umidade relativa do ar durante o período da condução dos experimentos em casa de vegetação. Mossoró-RN. UFERSA, 2024.

Os acessos utilizados pertencem a coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas da UFERSA. As sementes são conservadas em câmara fria a temperatura 10°C com variação de +- 2°C e umidade relativa de 50% (Tabela 1 e 2).

**Tabela 1-** Acessos de *Cucurbita moschata* Duch. avaliados para resistência a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

<b>GENÓTIPO*</b>	<b>ORIGEM</b>	<b>LOCALIZAÇÃO</b>
ABPUN 206 F1	Rio do Fogo (Punaú - Lote)	5° 16' 22" S 35° 22' 59" W
P114-02	Assú	5° 34' 56" S 36° 56' 40" W
P97-1	Origem desconhecida	-
ABO 168	Macaíba (Assentamento Quilombo dos Palmares)	05° 56' 31" S 35° 22' 04" W
P114-03	Assú	5°34' 56" S 36° 56' 40" W
ABO 163	Macaíba (Assentamento Quilombo dos Palmares)	05° 56' 31" S 35° 22' 04" W
ABO 154	Origem desconhecida	-
ABO 153	ORIGEM DESCONHECIDA	-

\*Código de acesso na Coleção de Germoplasma de Cucurbitácea da UFERSA.

**Tabela 2-** Acessos de *Cucurbita maxima* Duch. avaliados para resistência a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

<b>GENÓTIPO*</b>	<b>ORIGEM</b>	<b>LOCALIZAÇÃO</b>
ABTOU 802 F3	Touros (Sítio Boqueirão)	5° 11' 56" S 35° 27' 39" W
ABPUN 212	Rio do Fogo (Punaú – Lote)	5° 16' 22" S 35° 22' 59" W
ABTOU 802 F4	Touros (Sítio Boqueirão)	5°11' 56" S 35° 27' 39" W
ABO 007	Touros (Sítio Bico Torto)	-
ABPUN 202	Rio do Fogo (Punaú - Lote)	5° 16' 22" S 35° 22' 59" W
ABPUN 213	Rio do Fogo (Punaú - Lote)	5° 16' 22" S 35° 22' 59" W
ABPUN 202 F4	Rio do Fogo (Punaú - Lote)	5° 16' 22" S 35° 22' 59" W
Abóbora Sergipana <sup>1</sup> MORANGA COROA <sup>1</sup>	Feltrin Sementes  FELTRIN SEMENTES	Comércio local de Mossoró-RN COMÉRCIO LOCAR DE MOSSORÓ-RN

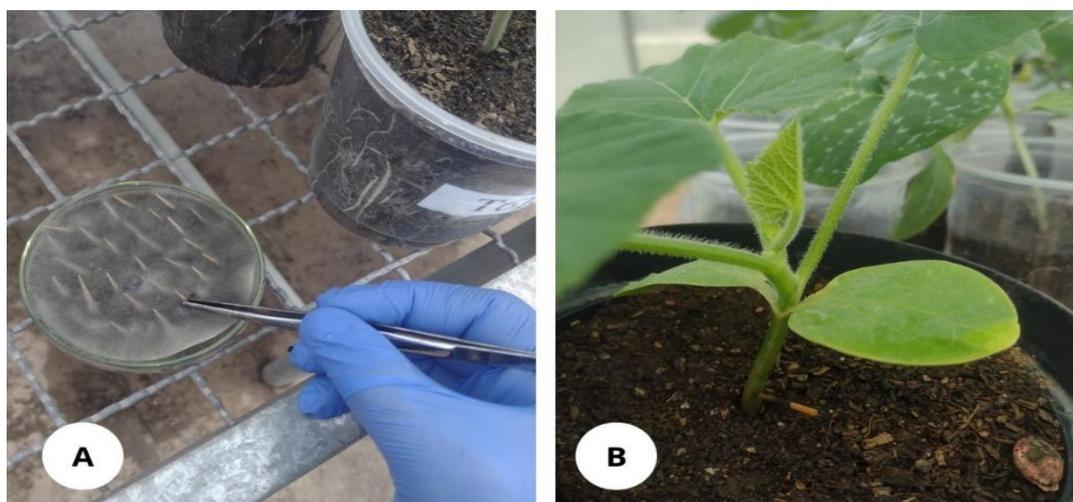
\*Código do acesso na Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas da UFERSA

<sup>1</sup> Cultivares comerciais adquiridas no comércio local.

Foram utilizados três isolados de *M. phaseolina*, MM1531, ME249 e ME250 provenientes da micoteca da UFERSA. Antes a inoculação os isolados foram submetidos a um teste de patogenicidade, onde foram inoculadas plantas de melancia, melão e abóbora.

Sementes dos acessos foram semeadas em bandejas de poliestireno com 128 células, preenchidas com substrato comercial TerraNutri para produção de mudas previamente autoclavado duas vezes, uma hora por dia com intervalos de 24h (120°C a 1 ATM por 1h). Quando apresentaram duas folhas expandidas as plântulas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade de 1L preenchidos com substrato comercial ZF 7856 previamente autoclavado duas vezes, uma hora por dia, com intervalo de 24 horas (120°C a 1ATM por 1h).

Transcorrido oito dias do transplântio foi realizada inoculação utilizando-se do método do palito (Figura 2b) usado por (Scandiani et al., 2011). Cada acesso foi inoculado com os três isolados de *M. phaseolina*, porém em plantas separadas.

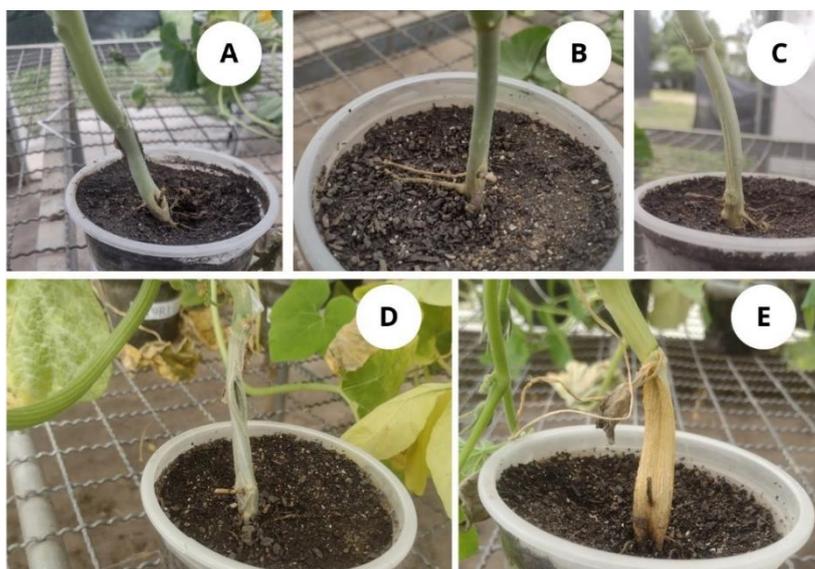


**Figura 2** - A): Infestação de palito com o fungo *M. phaseolina*. B): Inoculação de *M. phaseolina* no colo da planta utilizando o palito de madeira colonizado com o patógeno.

As plantas de cada acesso (*Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*) foram avaliados individualmente para a severidade da doença 30 dias após a inoculação. Para tanto, utilizou-se a escala proposta por Ravf e Ahmad (1998), atribuiu-se uma escala de 0 a 6 de acordo com a avaliação visual de sintomas presentes no hipocótilo da planta sendo 0 – ausência de sintomas; 1- menos de 3% de tecidos infectados, com pequenas lesões; 2- entre 3 e 10% de tecidos infectados, com lesões intermediárias; 3 – entre 11 e

25% de tecidos infectados; 4 – entre 26 e 50% de tecidos de brotos infectados, com possibilidade de acamamento da planta; 5 – mais de 50% dos tecidos dos brotos infectados ou necrose da planta e 6- planta morta (Figura 3 A, B, C, D e E), (Ambrósio et al., 2015).

A severidade média da doença foi calculada para cada acesso e usada para classificar os acessos em cinco classes de reação: 0 = imune (I); 0,1 – 1,0 = altamente resistente (AR); 1,1 – 2,0 = moderadamente resistente (MR); 2,1 – 4 = suscetível (SU); 4,1 – 5 = altamente suscetível (AS) (Salari et al., 2012).



**Figura 3** - A): 1 – menos de 3% dos tecidos infectados, com pequenas lesões. B): 2 – entre 3 a 10% da parte aérea infectados, com lesões medianas; C): 3 – entre 11 a 25% dos tecidos da parte aérea infectados; D): 4 – entre 26 a 50% dos tecidos da parte aérea infectado; E) 5 – mais de 50% dos tecidos da parte aérea infectados, ou necrose da planta.

Depois de realizar a avaliação de resistência as plantas imunes que não apresentaram sintomas e as plantas que obtiveram notas distintas de zero, foram levadas ao laboratório para confirmar a presença de lesões ocasionada pela estrutura do fungo.



**Figura 4-** Lâmina feita de tecido de caule de abóbora inoculada com *M. phaseolina*, em microscópio óptico, para visualizar escleródio, característicos da *M. phaseolina*.

Os dados foram avaliados de acordo com o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, ao nível de significância de 5% de probabilidade ( $\alpha = 0,05$ ). Procedimentos não paramétricos foram utilizados para analisar os dados. O efeito de genótipo foi testado com a estatística do tipo ANOVA, conforme apresentado por (Brunner et al., 2017). O *Relative Treatment Effect* (RTE) ou efeito relativo de tratamento foi utilizado para estimar a diferença entre os genótipos. O RTE indica a probabilidade de um caso, sorteado aleatoriamente de um grupo, exibir maior valor que outro caso, sorteado da amostra completa (Konietschke et al. 2010). Comparações múltiplas par a par foram realizadas de acordo com os procedimentos propostos por (Noguchi et al., 2020). Todas as análises foram realizadas utilizando o Software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2024).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 3 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA), onde observou-se efeito significativo pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $P < 0,0001$ ) para isolados e para os acessos, mas não houve interação significativa entre ambos.

**Tabela 3-** Análise fatorial não paramétrica dos efeitos dos genótipos de abóbora e meloeiro e isolados de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

FV	ATS	gl <sup>1</sup>	gl <sup>2</sup>	p
Genótipos (G)	8,60	13,89	84,01	0,0001**
Isolado (I)	13,04	1,99	84,01	0,0001**
G X I	1,09	24,20	84,01	0,3656 <sup>ns</sup>

Fatores de Variação; Estatística tipo Anova, gl: Graus de liberdade (1 e 2); p: Probabilidade; <sup>ns</sup> não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade;

A reação dos acessos de *Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima* à infestação por *Macrophomina phaseolina* apresentou variações significativas, evidenciando a variabilidade genética entre os acessos na resposta ao patógeno ( $p < 0,05$  ANOVA). As espécies utilizadas na pesquisa são alógamas, sendo que preferencialmente sua reprodução é por polinização cruzada, fator esse que favorece a variabilidade genética.

De acordo com a classificação da reação os acessos ABO 153, P114-03, ABPUN 202, P97-1, ABPUN 206 F1 e ABPUN 202 F4, que apresentaram as menores médias (1,20; 1,53; 1,57; 1,92; 1,93 e 2,0 respectivamente, sendo classificados com moderadamente resistente) (Tabela 4).

**Tabela 4 -** Classificação de reação de genótipos de abóbora (*Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*) ao fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

Genótipos*	Média	ERT	EP	LI	LS	Classe
ABO-007 <sup>1</sup>	3,47	0,700d	0,049	0,598	0,786	SU
ABO 153 <sup>2</sup>	1,20	0,316bc	0,049	0,227	0,420	MR
ABO 154 <sup>2</sup>	4,00	0,771de	0,049	0,660	0,854	SU
ABO 163 <sup>2</sup>	2,27	0,502c	0,056	0,394	0,611	SU
ABO 168 <sup>2</sup>	2,29	0,495c	0,072	0,357	0,634	SU
ABPUN 212 <sup>1</sup>	3,33	0,689de	0,077	0,524	0,817	SU
ABPUN 202 <sup>1</sup>	1,57	0,394b	0,070	0,268	0,536	MR
ABPUN 202 F4 <sup>1</sup>	2,00	0,476c	0,044	0,391	0,562	MR
ABPUN 206 F1 <sup>2</sup>	1,93	0,435cd	0,039	0,359	0,515	MR

ABPUN 213 <sup>1</sup>	3,20	0,668de	0,050	0,564	0,758	SU
ABTOU 802 F3 <sup>1</sup>	3,47	0,697de	0,052	0,587	0,788	SU
ABTOU 802 F4 <sup>1</sup>	2,40	0,515c	0,066	0,387	0,644	SU
Abóbora Sergipana <sup>3</sup>	0,80	0,236ab	0,050	0,152	0,347	AR
P97-1 <sup>2</sup>	1,92	0,454b	0,061	0,339	0,574	MR
M. coroa <sup>3</sup>	2,50	0,554d	0,051	0,452	0,651	SU
P114-02 <sup>2</sup>	3,13	0,619d	0,079	0,455	0,759	SU
P114-03 <sup>2</sup>	1,53	0,367b	0,069	0,244	0,510	MR
C-14 <sup>4</sup>	0,20	0,113a	0,019	0,079	0,158	AR

\*Código de acesso na Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas da UFERSA; Estatística tipo Anova, ERT: Efeito relativo de tratamento, EP: Erro padrão; (LI e LS): limite inferior e superior de intervalo de confiança; <sup>1</sup>Acessos de *C. maxima*; <sup>2</sup>Acessos de *C. moschata*; <sup>3</sup>Cultivares comerciais; <sup>4</sup>Padrão de resistência; Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si. IM – imune; AR – altamente resistente; MR – moderadamente resistente; S – suscetível; AS – altamente suscetível.

Além da variabilidade genética na resistência dos acessos, os resultados evidenciaram diferenças significativas na patogenicidade dos isolados ( $p < 0,05$ , ANOVA). Uma análise dos valores médios de severidade e do efeito relativo do tratamento (ERT) demonstra que o isolado ME249 apresentou maior severidade (2,68), seguindo do ME250 (2,46), enquanto o isolado ME248 (MM1531) foi o menos agressivo (1,73).

Considerando os diferentes isolados de *M. phaseolina*. Ambrósio et al. (2015) realizando uma triagem de uma coleção de germoplasma de variável de *Cucumis melo* L., utilizou os mesmos isolado (ME248, ME249 e ME250) e um isolado da Espanha (Soy Spain), verificaram que a patogenicidade dos três isolados brasileiros foi diferente, sendo o ME248 o mais agressivo. Essa variação na agressividade dos isolados pode estar associada a fatores de localidade onde estes isolados foram adquiridos, que influenciam sua capacidade de colonização e necrose nos tecidos dos genótipos. Os isolados de *M. phaseolina* brasileiros apresentaram maior patogenicidade.

O teste de comparação de média (Tukey,  $p < 0,05$ ) confirmou que ME249 e ME250 não diferem estatisticamente entre si, diferindo estatisticamente do isolado ME248, que apresentou menor severidade (Tabela 5). Esse resultado indica a variabilidade na agressividade dos isolados podendo influencia diretamente na resposta dos acessos. Os isolados ME248, ME249 e ME250 foram também utilizados na pesquisa de Lima et al. (2021) e todos os isolados mostraram patogenicidade distintas em acessos de abóboras, alguns desses acessos foram utilizados no presente estudo. A utilização de isolados altamente agressivos são indicadas para a otimização dos resultados.

Essa variação na agressividade dos isolados pode estar associada a fatores de localidade onde estes isolados foram adquiridos, que influenciam sua capacidade de colonização e necrose nos tecidos dos genótipos. Os resultados ressaltam a importância de considerar a variabilidade patogênica de *M. phaseolina* para avaliar a resistência dos acessos, pois uma seleção dos genótipos promissores deve levar em conta a capacidade do patógeno de se adaptar e superar mecanismos de defesa.

**Tabela 5-** Patogenicidade de isolados de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid inoculados em acessos de abóbora (*Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*).

Isolados	Média	ERT	EP	LI	LS
Me 248	1,73	0,398b	0,019	0,363	0,435
Me 249	2,68	0,561a	0,020	0,520	0,600
Me 250	2,46	0,541a	0,020	0,501	0,580

Média, efeito relativo de tratamento (ERT), erro padrão (DP), limites inferior e superior de intervalo de confiança (LI e LS) a 95% de probabilidade. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey.

Devido as diferenças observadas na classificação dos acessos quanto à resistência, e considerado que estes não estão em homozigose, foi realizado uma análise individual nas plantas mostrando que existe variação dentro do próprio acesso. Esse processo é importante para que sejam selecionadas plantas imunes e resistentes para a próxima etapa do programa de melhoramento.

Dessa forma, a Figura 5 apresenta a frequência de respostas de acessos de abóbora infectado com isolados de *M. phaseolina* (ME248, ME248 e ME250). Os resultados demonstram variabilidade na resposta individual das plantas aos diferentes isolados, permitindo identificar aquelas com maior potencial de resistência, ou seja, que apresentam indivíduos resistentes.

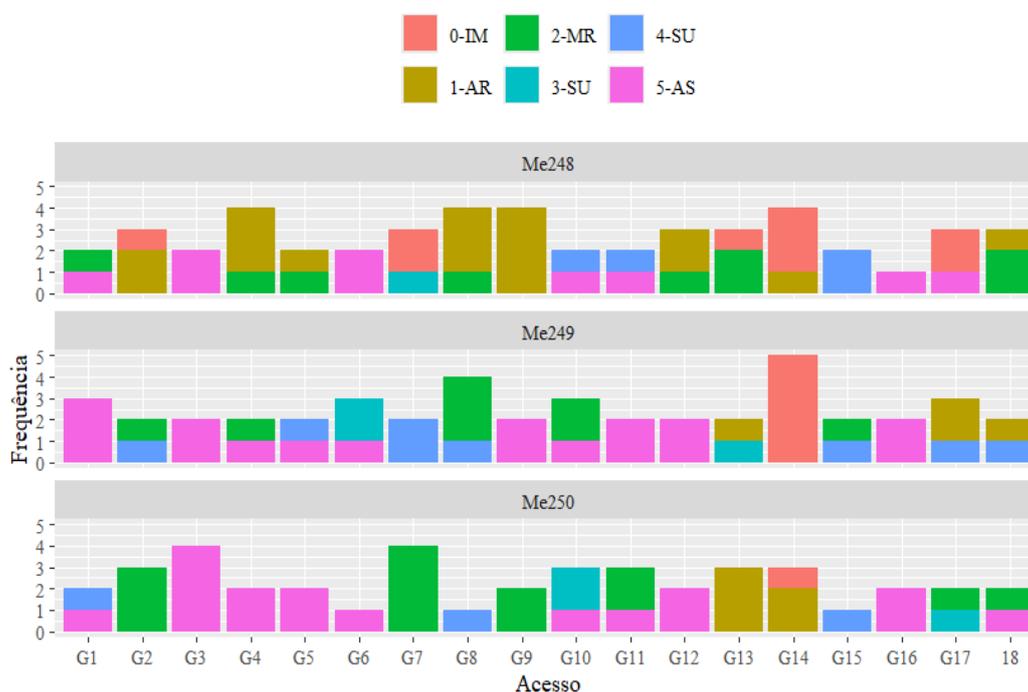
Para o isolado ME248, plantas individuais dos acessos ABO 153, ABPUN 202 e P114-03 apresentaram maior frequência de plantas imunes. Além disso, os acessos ABO 153, ABO 163, ABO 168, ABPUN 202-F4 e ABPUN 206-F1 destacaram-se com maior frequência de plantas altamente resistentes (Figura 5).

No isolado ME249, plantas individuais dos acessos ABO 153, ABTOU 802 F4 e ABPUN 202 apresentaram pelo menos uma planta classificada como imune. Os acessos ABO 153, P97-01, ABO 168, P114-02, P114-03, ABO 163, ABO 154 e ABTOU 202 F4 destacaram-se por apresentarem maior frequência de plantas altamente resistentes. Plantas moderadamente resistentes foram observadas nos acessos ABO 153, P97-01,

ABPUN 296 F1, P114-03, ABO 163, ABO 007, ABPUN 202, ABPUN 213 e ABPUN 202 F4 (Figura 5).

Para o isolado ME250, plantas dos acessos ABO 153, ABPUN 206 F1 e ABPUN 202 concentraram-se nas classificações de altamente resistente e moderadamente resistente, reforçando o potencial desses indivíduos para resistência. Por outro lado, plantas dos acessos ABO 154, ABO 007 e ABPUN 213 apresentaram alta frequência nas classificações altamente suscetível e suscetível (Figura 5).

Esses resultados reforçam a importância da seleção individual de plantas com potencial de resistência a *M. phaseolina*, contribuindo para o desenvolvimento de acessos de abóbora mais tolerantes ao patógeno. A diversidade da reação do genótipo da planta ao fungo, inclusive mesmo dentro do mesmo acesso e isolado, é responsável devido a variabilidade já documentada para as duas espécies de abóboras e para o patógeno de modo que a avaliação planta por planta é de suma importância.

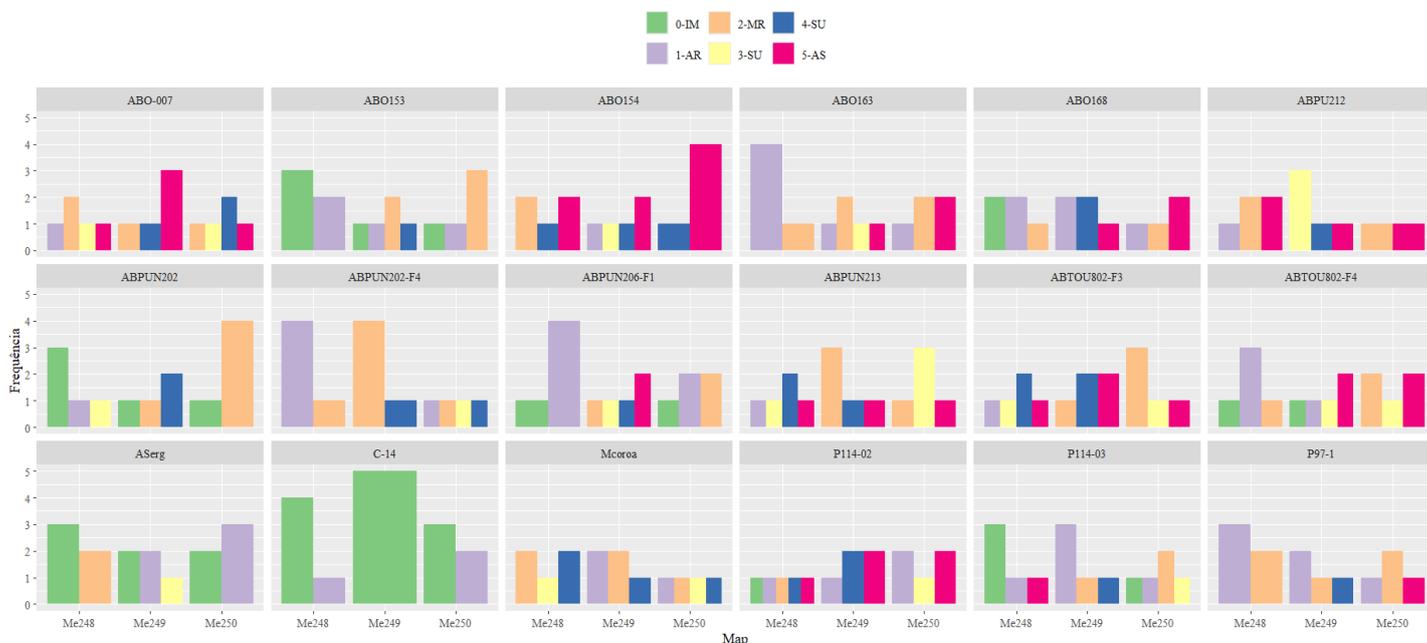


**Figura 5** - Frequência das classes de reação por isolado de acessos de abóbora (*Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*), 34 dias após inoculação com *Macrophymina phaseolina* (Tassi) Goid, utilizando o método do palito. IM- imune, AR- altamente resistente, MR- moderadamente resistente, SU- suscetível e AS- altamente suscetível. (G1-ABO007, G2-ABO153, G3-ABO154, G4-ABO163, G5- ABO168, G6-ABPUN212, G7-ABPUN202, G8-ABPUN202-F4, G9-ABPUN206-F1, G10- ABPUN213, G11-ABTOU802-F3, G12- ABTOU802-F4, G13= ASerg, G14- C-14, G15- Mcoroa, G16 P114-02, G17- P114-03 e G18-P97-1).

Os acessos ABO153, ABPUN206 F1, ABO168, ABO 163, ABTOU 802 F4, ABPUN 202, a cultivar comercial Abóbora Sergipana e Melão C-14 (padrão de resistência) foram os que apresentaram maior frequência de plantas resistentes na população, enquanto ABO 154, ABPUN 212, ABO 007, ABTOU 802 F3, ABPUN 213 e a cultivar comercial Moranga Coroa os mais suscetíveis com sintomas severos em 100% das plantas (Figura 6).

Em relação ao isolado ME249 (Figura 6) o Melão C-14 apresentou 100% de imunidade, a cultivar comercial Abóbora Sergipana apresentou 40% das plantas imunes, 40% altamente resistentes e 20% suscetíveis. Acessos como, ABO 153, P97-01, P114-03 e a cultivar comercial Moranga Coroa apresentaram resistência.

O isolado ME250 e o isolado ME249 anterior causou maior severidade e consequentemente os piores sintomas em todos os acessos (Figura 6), apresentando, portanto, resultados semelhantes ao isolado ME249 (Figura 6), O melão C-14 apresentou 60 % de plantas imunes e 40% de plantas altamente resistentes, simultaneamente com a cultivar Abóbora Sergipana que teve 40% das plantas imunes e 60% das plantas altamente resistente. Os acessos ABO 153, ABPUN 20206 F1, P114-03, ABPUN 202 e ABPUN 202 F4 apresentaram reação moderadamente resistente.



**Figura 6-** Frequência relativa das classes de reação de acessos de abóbora (*Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*) inoculados com isolados de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, utilizando o método do palito colonizado. IM- imune, AR- altamente resistente, MR-moderadamente resistente, SU – suscetível e AS – altamente suscetível. Mossoró – RN, 2024

Sete acessos de abóbora (quatro acessos de *Cucurbita moschata* e três acessos de *Cucurbita maxima*) usados na presente pesquisa foi relatado resistentes em estudos anteriores como o de Lima et al. (2021), quando inoculados com os mesmos isolados de *Macrophomina phaseolina*. Os acessos ABO 168, ABPUN 206 F1, P114-02, P97-1, ABTOU 804 F4, ABTOU 804 F3 e ABPUN 212 no entanto, no estudo acima acessos de *Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima* mostraram-se também resistentes, mas apresentaram variações dentro do próprio acesso.

No segundo experimento observou-se efeito significativo dos acessos ( $p=0,07$ ). Os acessos P 114-02 e ABPUN 202 foram classificados como altamente resistente com média de 0,4 e 0,8, respectivamente. Os acessos ABPUN 202 F4 e ABO 153 foram classificados como moderadamente resistente, apresentando uma média de 1,6 e 1,4, respectivamente.

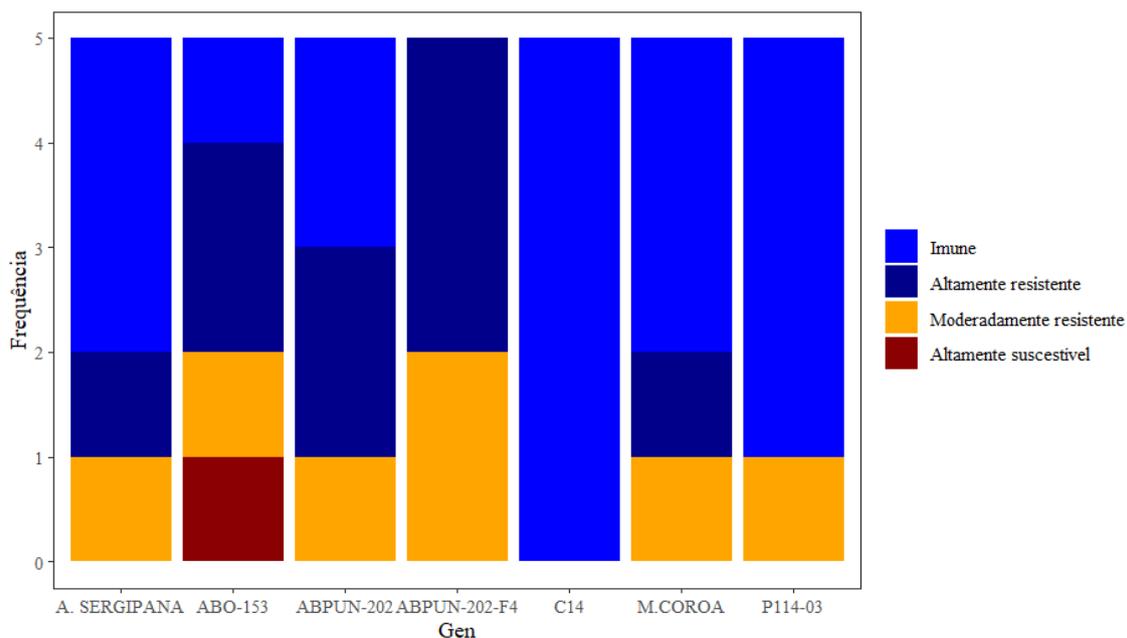
**Tabela 6-** Efeito relativo de tratamento (ERT), desvio-padrão (DP), limite inferior (LI) e superior (LS) da severidade de acessos de abóbora (*Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*) inoculados com o isolado ME249 de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid pelo método do palito.

GENÓTIPO	ERT ± DP	LI	LS	Severidade
A.Sergipana <sup>3</sup>	0,46±0,12 a	0,25	0,68	0,6 (AR)
ABO 153 <sup>2</sup>	0,68±0,11 a	0,44	0,86	1,6 (MR)
ABPUN 202 <sup>1</sup>	0,53±0,10 a	0,33	0,73	0,8 (AR)
ABPUN 202 F4 <sup>1</sup>	0,73±0,06 a	0,59	0,84	1,4 (MR)
M. Coroa <sup>3</sup>	0,46±0,12 a	0,25	0,68	0,6 (AR)
P114-03 <sup>2</sup>	0,38±0,11 a	0,19	0,61	0,4 (AR)
C14 <sup>4</sup>	0,26±0,04 a	0,19	0,33	0,0 (IM)

$F^* = 2,39$  ( $gl_1 = 4,78$ ;  $gl_2 = 21,43$ ,  $p = 0,07$ )

\* Estatística tipo Anova conforme Brunner e et al, (2017), gl: Grau de liberdade, Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ajustado com log Odds conforme procedimento proposto por Noguchi et al, (2020). IM – imune; AR – altamente resistente; MR – moderadamente resistente; S – suscetível; AS – altamente suscetível. <sup>1</sup>*Cucurbita maxima*; <sup>2</sup>*Cucurbita moschata*; <sup>3</sup>Cultivares comerciais de abóbora <sup>4</sup> Linhagem de melão padrão de resistência.

Quando analisamos as plantas individuais, a análise de frequência absoluta (Figura 7) permite observar que o acesso P114-03 apresentou imunidade de 80%, enquanto os acessos ABO 153 e ABPUN 202 apresentaram imunidade de 20 e 40%, respectivamente. Já o acesso ABPUN 202 F4 mostrou 60% de resistência. As cultivares comerciais Abóbora Sergipana e Moranga Coroa apresentaram 60% de imunidade cada. Esses resultados destacam diferenças marcantes na resposta ao patógeno entre os acessos (Figura 7).



**Figura 7-** Frequência absoluta de classes de reações em acessos de abóbora (*Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*) inoculados com o isolado ME249 de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid pelo método do palito.

## CONCLUSÕES

Os acessos ABO 153, ABPUN 202, P114-03, P97-1, ABPUN 206 F1 e ABPUN 202 F4 são resistentes aos isolados ME248, ME249 e ME250 de *Macrophomina phaseolina*.

Os acessos P114-03 e ABPUN 202 tem maior frequência de resistência para o isolado ME249.

## REFERÊNCIAS

- AMBRÓSIO, M. M. Q. et al. Screening a variable germplasm collection of *Cucumis melo* L. for seedling resistance to *Macrophomina phaseolina*. **Euphytica**, v. 206, n. 2, p. 287–300, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1452-x>.
- BRUNNER, E. et al. Rank-Based Procedures in Factorial Designs: Hypotheses About Non-Parametric Treatment Effects. **Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology**, v. 79, n. 5, p. 1463–1485, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rssb.12222>.
- CONDURSO, C. et al. Effects of different rootstocks on aroma volatile compounds and carotenoid content of melon fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 148, p. 9–16, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.09.015>.
- FAO. FAOSTAT: Crops and livestock products. 2023. <http://www.fao.org/faostat/>.
- GOMES, R. S. et al. Brazilian germplasm of winter squash (*Cucurbita moschata* D.) displays vast genetic variability, allowing identification of promising genotypes for agromorphological traits. **PLOS ONE**, v. 15, n. 6, p. e0230546, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230546>.
- HERNÁNDEZ-ROSALES, H. S. et al. Phylogeographic and population genetic analyses of *Cucurbita moschata* reveal divergence of two mitochondrial lineages linked to an elevational gradient. **American Journal of Botany**, v. 107, n. 3, p. 510–525, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajb2.1424>.
- HOSEN, M. et al. Pumpkin (*Cucurbita* spp.): A Crop to Mitigate Food and Nutritional Challenges. **Horticulturae**, v. 7, n. 10, p. 352, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100352>.
- KARAAGAÇ, O.; BALKAYA, A. Interspecific hybridization and hybrid seed yield of winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) lines for rootstock breeding. **Scientia Horticulturae**, v. 149, p. 9–12, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.10.021>.
- KONIETSCHKE, F. et al. Testing and estimation of purely nonparametric effects in repeated measures designs. **Computational Statistics & Data Analysis**, v. 54, n. 8, p. 1895–1905, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.csda.2010.02.019>.
- LIMA, F. L. dos S. et al. Resistance of *Cucurbita* spp. germplasm to the fungus *Macrophomina phaseolina*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 52, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20210067>.
- MAHFOUZE, S. A.; OTTAI, M. E. S. Assessment of Genetic Variability for Some *Hyoscyamus* Species Using Biochemical and Molecular Markers. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 7, n. 12, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/265801310>.
- NASCIMENTO, S. R. de C. et al. Meios de cultura semi-seletivos para *Macrophomina phaseolina*. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 4, p. 334–337, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2014>.
- NOGUCHI, K. et al. Nonparametric multiple comparisons. **Behavior Research Methods**, v. 52, n. 2, p. 489–502, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3758/s13428-019-01247-9>.

RAVF, B. A.; AHMAD, I. Studies on correlation of seed infection to field incidence of *Alternaria alternata* and *Macrophomina phaseolina* in Sunflower. 13th Iranian Plant Protection Congress-Karaj, p. 113, 1998.

SALARI, M. et al. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 87, p. 15324–15329, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJB12.799>.

SCANDIANI, M. M. et al. Comparison of inoculation methods for characterizing relative aggressiveness of two soybean sudden-death syndrome pathogens, *Fusarium virguliforme* and *F. tucumaniae*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 3, p. 133–140, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1982-56762011000300001>.

SOARES, M. G. de O. et al. Ocorrência de patógenos em cultivos de melancia e abóbora no sertão da Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 1, p. 07–13, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.18378/rvads.v11i1.3704>.

VERMA, N. et al. Genetics of begomovirus resistance in *Cucurbita moschata* Duchesne: A novel resistant source PVR-1343. **Scientia Horticulturae**, v. 322, p. 112393, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112393>.

YASMIN, H. et al. Identification of New Biocontrol Agent against Charcoal Rot Disease Caused by *Macrophomina phaseolina* in Soybean (*Glycine max* L.). **Sustainability**, v. 12, n. 17, p. 6856, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su12176856>.

## CAPITULO 2: RESPOSTAS BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DE ACESSOS DE ABÓBORA INOCULADOS COM *Macrophomina phaseolina* (TASSI) GOID

**Resumo:** A alta infestação de *Macrophomina phaseolina*, nas cucurbitáceas dificulta a produção dessas culturas, causando prejuízos para os produtores. Com isso a falta de informação sobre as respostas bioquímicas e fisiológicas em plantas de abóbora submetida à inoculação por *M. phaseolina* impossibilita o uso eficiente de técnica de manejo para uma produção eficiente. Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito da inoculação com *M. phaseolina* na expressão de características fisiológicas e bioquímicas. O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada na Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições. Os tratamentos consistiram de dois acessos de *Cucurbita moschata* e dois acessos de *Cucurbita maxima*, duas cultivares comerciais Abóbora Sergipana e Moranga Coroa. Os acessos foram inoculados com o isolado *M. phaseolina* ME249. A parcela foi constituída de uma planta, conduzida em vasos com capacidade para 1L. Para cada planta inoculada foi conduzida uma planta sem inoculação. A reação dos acessos a inoculação foi avaliada de acordo com a severidade da doença, utilizando-se uma escala de notas de 0 a 5. Foram medidas características bioquímicas (açúcar solúvel total, aminoácidos e prolina) e fisiológicas (transpiração(E), condutância estomática (gs), taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A), concentração interna de CO<sub>2</sub> (ci), eficiência do uso da água (EUA) e eficiência de carboxilação (EiC)). Os dados foram submetidos a análise de variância e medidas agrupadas pelo teste de Scott-Knott. Os genótipos infestados com o isolado de *M. phaseolina* ME249 apresentaram maior teor de prolina e uma maior taxa de transpiração.

**Palavras-chave:** *Cucurbita moschata*; *Cucurbita máxima*; Patógeno de solo, prolina, açúcares solúveis totais

**ABSTRACT:** The high infestation of *Macrophomina phaseolina* in cucurbits hinders the production of these crops, causing significant losses for producers. Consequently, the lack of information on the biochemical and physiological responses in pumpkin plants subjected to inoculation by *M. phaseolina* prevents the efficient use of management techniques for effective production. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of inoculation with *M. phaseolina* on the expression of physiological and biochemical traits. The experiment was conducted in a greenhouse located at the Federal Rural University of the Semi-Arid Region (UFERSA) in the municipality of Mossoró, Rio Grande do Norte. The trial was carried out in a completely randomized design (CRD) with five replicates. The treatments consisted of pumpkin genotypes (two accessions of *C. moschata* and two accessions of *C. maxima*, and two commercial cultivars, Abóbora Sergipana and Moranga Coroa). The genotypes were inoculated with the *M. phaseolina* isolate ME249. Each experimental unit consisted of one plant grown in a 1L pot. For each inoculated plant, a non-inoculated control plant was also maintained. The reaction of the genotypes to inoculation was evaluated based on disease severity using a rating scale from 0 to 5. Biochemical traits (total soluble sugar, amino acids, and proline) and physiological traits (transpiration (E), stomatal conductance (gs), CO<sub>2</sub> assimilation rate (A), internal CO<sub>2</sub> concentration (ci), water use efficiency (WUE), and carboxylation efficiency (CE)) were measured. The data were subjected to analysis of variance, and means were grouped using the Scott-Knott test. The genotypes infested with the *Macrophomina phaseolina* isolate ME249 showed higher proline content and higher transpiration rates.

**Keywords:** *Cucurbita moschata*; *Cucurbita maxima*; Soilborne pathogen; Proline; Total soluble sugars.

## INTRODUÇÃO

*Cucurbita moschata* Duch (*Cucurbita moschata*) e *Cucurbita maxima* Duch (*Cucurbita maxima*) são espécies de abóboras cultivadas comercialmente em muitos países. São adaptadas em climas diversos, desde zonas temperadas até tropicais (Xu et al., 2024; Yuan et al., 2022). A ampla adaptabilidade dessas espécies a diferentes climas contribui para sua importância econômica. Essas espécies são utilizadas para diversos fins culinários, medicinais e ornamentais. São fontes de óleo, podem ser utilizadas como recipientes e instrumentos musicais (Yu et al., 2023).

Devido a sua resistência a estresses, a abóbora é geralmente utilizada como porta-enxerto para outras cultivares de cucurbitáceas para resistir a doenças transmitidas pelo solo (Guo et al., 2023; Yan et al., 2023). O Semiárido proporciona potencial para o cultivo de abóbora e de outras cucurbitáceas, devido as condições climáticas favoráveis, como climas quente e seco, temperaturas elevadas e altos níveis de insolação, fatores esses, que são essenciais para o seu desenvolvimento (Soares et al., 2016).

As plantas estão sujeitas a condições de estresses podendo ser de caráter biótico ou abiótico influenciando e desestabilizando o metabolismo das plantas. Quando extremas pode acarretar no desequilíbrio e prejudicar o crescimento, desenvolvimento e ciclo da planta. Condições não favoráveis refletem na planta e acarretam em transdução de sinalização e ativação de expressão gênica, direcionando a respostas bioquímicas, fisiológicas e morfológicas (Schwachtje et al., 2019b). As respostas das plantas no que se refere aos níveis fisiológicos e bioquímicos têm sido usados como critérios importantes para entender a extensão da interação entre patógeno e hospedeiro sob condições favoráveis.

No que se refere à estresse biótico, devido ao cultivo contínuo, patógenos transmitidos pelo solo são problemas crescentes resultando na redução de rendimento. Entretanto, diversos fatores são responsáveis pela redução na produção dessas cultivares, entre esses fatores, destacam-se, as doenças causadas por fungos, pontualmente os fungos transmitidos pelo solo, como *Macrophomina phaseolina*.

*Macrophomina phaseolina* causa grande impacto econômico, infectando mais de 500 espécies de plantas em mais de 100 famílias botânicas, causando doenças como podridão de raízes e podridão do caule (Nascimento et al., 2014). O fungo liga-se ao

tecido da planta através de proteínas de ligação à celulose e introduz o tecido disponibilizando enzima degradadoras da parede celular (Marquez et al., 2021b). O patógeno fúngico, infecta as raízes do hospedeiro e se desloca sistematicamente em direção às folhas. Assim que o fitopatógeno infecta as folhas, ele reduz diretamente a capacidade fotossintética, conseqüentemente o desenvolvimento geral da planta (Kaur et al., 2024).

Com isso, objetivou-se avaliar as respostas fisiológicas e bioquímicas de acessos de abóbora infestado com *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid no semiárido. Os objetivos específicos desse estudo se basearam na avaliação e determinação das trocas gasosas e parâmetros bioquímicos como açúcares solúveis totais, aminoácidos e prolina.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Universidade Federal do Semi-Árido, em casa de vegetação, no período de outubro a dezembro de 2024. De acordo com classificação de Koppen, Mossoró possui um clima do tipo BSwh', classificado como semiárido quente e seco e com estação chuvosa no verão, condições ideais para o patógeno.

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram representados por dois acessos de *Cucurbita moschata*, dois acessos de *Cucurbita maxima*, 2 cultivares comerciais Abóbora Sergipana e Moranga Coroa obtidas no comércio local. Uma linhagem de Melão C-14 como padrão de resistência e um isolado de *Macrophomina phaseolina* (ME249). Para cada planta inoculada com o patógeno foi conduzida uma planta sem a presença fungo. Cada parcela foi representada por um vaso com capacidade de 1L, substrato comercial e contendo uma planta.

**Tabela 1.** Acessos de *Cucurbita maxima* e *Cucurbita moschata* avaliados para resistência a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

ACESSO*	ORIGEM	LOCALIZAÇÃO
ABPUN 202 <sup>1</sup>	Rio do Fogo (Punaú - Lote)	5° 16' 22" S 35° 22' 59" W
ABPUN 202 F4 <sup>1</sup>	Rio do Fogo (Punaú - Lote)	5° 16' 22" S 35° 22' 59" W
P97-1 <sup>2</sup>	Origem desconhecida	-
P114-03 <sup>2</sup>	ASSÚ	5°34' 56" S 36° 56' 40" W

\*Código de acesso na Coleção de Germoplasma de Cucurbitácea da UFERSA; <sup>1</sup> Acessos de *C. maxima*; <sup>2</sup> Acessos de *C. moschata*

Sementes dos acessos foram semeadas em bandejas poliestireno de 128 células com substrato comercial para produção de mudas previamente autoclavado. Quando apresentaram duas folhas expandidas as plântulas foram transplantadas para os vasos plásticos com capacidade de 1L preenchidos com substrato comercial ZF 7856 previamente autoclavado por duas horas, uma hora por dia, com intervalo de 24 horas (120°C a 1ATM por 1h). As plantas foram irrigadas de forma manual até o final do experimento.

O isolado ME249 utilizado para a infestação está preservado na Coleção de Cultura de Fungos da UFERSA. Esse isolado foi selecionado de acordo com o estudo

anterior, no qual três isolados foram testados para avaliar a resistência de 15 acessos de abóbora, o isolado escolhido para esse experimento foi o que apresentou maior patogenicidade e lesões, com base em uma classificação de notas. Posteriormente, o isolado foi subcultivado em meio de cultura batata-dextrose-ágar (PDA) com tetraciclina (0,05 gL<sup>-1</sup>) e então o isolado foi mantido em um Biotério Demanda de Oxigênio (DBO) incubadora a 28±2°C, por sete dias, para que pudesse ser utilizado na preparação do inóculo

O inóculo foi preparado utilizando as pontas de palitos de dente com aproximadamente 1,0cm. Que foram inseridos verticalmente em um disco de papel de filtro com uma dimensão equivalente ao diâmetro interno da placa de Petri. Posteriormente, colocadas nos pratos com as partes pontiagudas do palito para baixo, foi feito a esterilização em autoclave por 30 minutos 121°C (Medeiros et al., 2015b). Em seguida, os palitos foram colonizados com *M. phaseolina*, vertendo o meio de cultura PDA com exposição de 2mm da ponta do palito. Após solidificação, três discos com aproximadamente 0,5mm de diâmetro contendo micélio e microescleródios do patógeno foram subcultivados, com distribuição equidistante e incubados por uma semana em incubadora BOD a 28±2°C (Medeiros et al., 2015b).

Por fim, 15 dias após a semeadura dos acessos, quando os palitos foram completamente colonizados pelo isolado do patógeno, foi realizado a infecção nos hipocótilos (0,005mm do solo) das plantas. As plantas de cada acesso foram observadas diariamente quanto ao progresso da doença e avaliadas quanto à severidade da doença, aos 30 dias após a inoculação. Portanto, foram atribuídas notas de 0-5 de acordo com a severidade visual dos sintomas presentes no hipocótilo da planta, estimada por meio de escala descritiva, sendo 0 – ausência de sintomas; 1- menos de 3% de tecidos infectados, com pequenas lesões; 2- entre 3 e 10% de tecidos infectados, com lesões intermediárias; 3 – entre 11 e 25% de tecidos infectados; 4 – entre 26 e 50% de tecidos de brotos infectados, com possibilidade de acamamento da planta; 5 – mais de 50% dos tecidos dos brotos infectados ou necrose da planta (Ambrósio et al., 2015).

Dados de severidade da doença foram utilizados para agrupar os acessos em classe de resistência, de acordo com a escala proposta por Salari et al. (2012), a saber: 0 – imune; 0,1 a 1 – Altamente Resistente; 1,1 a 2 – Moderadamente Resistente; 2,1 a 4 – Suscetível; 4,1 a 5 – Altamente Resistente.

Após a avaliação de resistência dos acessos, foram realizadas avaliações fisiológicas e bioquímicas.

Para avaliar o impacto que o isolado ME249 de *Macrophomina phaseolina* nas trocas gasosas em acessos de abóbora, foram realizadas medidas de trocas gasosas após 35 dias após a infecção, entre 7h e 10h utilizando um Analisador de Sistema Portátil de Fotossíntese – IRGA – (GSF – 3000, Walz) com densidade de fótons fotossinteticamente ativos de (DFFFA) de  $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , em folhas fisiologicamente maduras amostradas no terço médio da planta. As variáveis analisadas da taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $P_N$ ), taxa de transpiração (E), condutância estomática (gS), déficit de pressão de vapor e concentração interna de  $\text{CO}_2$ . A partir dessas medidas foram estimados os parâmetros de uso da água das plantas (Pela relação  $P_N/E$ ) e o índice de carboxilação instantânea (Pela relação  $P_N/C_i$ ).

Para a determinação de açúcares solúveis totais, aminoácidos e prolina foi determinado depois das análises de resistência a partir de folhas de cada planta do experimento, estas foram acondicionadas em sacos plásticos em seguidas envolvidas em papel alumínio e armazenadas no gelo até serem encaminhadas ao laboratório.

Para estimativas de açúcares solúveis, prolina e aminoácidos foram estimados a partir de plantas inoculadas e plantas não inoculadas. Material vegetal da folha de cada planta foi separadamente triturado em tampão fosfato mM (pH 7) e etanol 80%, respectivamente. O conteúdo de prolina do extrato foliar de cada planta de tratamento foi estimado de acordo com o método de Bates et al. (1973). Para isso, um mL do extrato do filtro de folhas foi misturado em um mL do reagente ninidrina (5% ninidrina em ácido acético glacial: ácido fosfórico (100:80v/v) e incubado em banho-maria a  $100^\circ$  por 1h e resfriado em um recipiente com gelo. Isso foi seguido pela a adição de 1 mL de tolueno e o conteúdo de prolina da camada superior resultante da mistura de reação foi medido a 520 nm. A quantidade de conteúdo de prolina foi calculada a partir da curva padrão de prolina.

O conteúdo de açúcares solúveis foi realizado utilizando o reagente antrona. O material vegetal congelado e homogeneizado em nitrogênio líquido e extraído com álcool 80% seguido do aquecimento a  $75^\circ \text{C}$  por 10 minutos e centrifugado a  $10.000g$  por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e lavado com álcool 80% para garantir a máxima extração dos açúcares a reação foi conduzida com  $950 \mu\text{L}$  de Antrona (150 mg de antrona dissolvida em 100ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 72%) e  $50 \mu\text{L}$  da amostra, incubada em banho maria fervente por 10 minutos. Após o resfriamento, a absorbância foi medida em espectrômetro a 650 nm. A concentração de açúcares solúveis totais foi determinada por comparação com uma curva padrão de glicose (0-100 $\mu\text{g}$ ), e o resultado foi normalizado pelo peso seco

da amostra, permitindo uma análise precisa do conteúdo de açúcares (Yemm & Willis, 1954). O conteúdo de aminoácidos de cada extrato foi estimado de acordo com o método de Yemm et al. (1955).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as medidas foram agrupadas pelo teste Scott-Knott (1974). Todas as análises foram realizadas pelo programa R versão 4.4.1 (R core Team, 2023). Em todas as análises foi adotado um valor de alpha igual a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que não houve efeito significativo da inoculação, o genótipo ou da interação genótipo x inoculação quanto concentração total dos açúcares nas folhas. (Tabela 2).

Quando se refere ao conteúdo de aminoácidos nas folhas de abóbora, também não foi detectado efeito significativo da inoculação ou da interação. No entanto, o fator genótipo apresentou um efeito significativo ( $F= 3.6510$ ) ( $p<0,01$ ) indicando que há diferença entre genótipos em relação ao teor de aminoácidos, independente da presença do patógeno (Tabela 2).

Por outro lado, para prolina a inoculação teve um efeito significativo ( $p= 0.01545$ ;  $p<0,05$ ) indicando que a planta inoculada com o patógeno induziu um aumento na concentração de prolina, possivelmente como um mecanismo de resposta ao estresse. O fator genótipo, no entanto, não foi significativo, assim como a interação do genótipo x inoculação.

**Tabela 2.** Valores de F de Snedecor e coeficiente de variação de três variáveis bioquímicas avaliadas em genótipos de abóbora (*Cucurbita maxima* e *ucurbita moschata*) inoculados com *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

FV	F de Snedecor		
	Açúcares	Aminoácidos	Prolina
Inoc	1,88032 <sup>ns</sup>	0,5688 <sup>ns</sup>	6,3058 <sup>*</sup>
Gen	1,08728 <sup>ns</sup>	3,6510 <sup>**</sup>	0,8596 <sup>ns</sup>
G x I	0,81526 <sup>ns</sup>	0,9428 <sup>ns</sup>	1,9543 <sup>ns</sup>
CV%	26,27	41,02	29,98

<sup>ns</sup> não significativo; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade.

Esses resultados (Tabela 2) sugerem que a prolina pode estar envolvida na resposta ao estresse causando por *Macrophomina phaseolina*, enquanto os teores de aminoácidos não foram afetados pela infecção, com diferença entre os genótipos apenas para o teor de aminoácidos. Sendo que a prolina pode acumular em resposta ao estresse ocasionado por fungo, atuando como asomprotetor e antioxidante. Alterações no conteúdo de prolina foi encontrado na pesquisa de Chen et al. (2020) quando *Cucurbita moschata* foi infestada com oídio as plantas responderam com um aumento do teor de prolina.

Os teores de açúcar não apresentam diferença expressivas entre os genótipos, indicando que esse parâmetro bioquímico não foi influenciado significativamente pela infecção (Tabela 3).

Para aminoácidos, não houve variação significativa entre os genótipos, mas a cultivar comercial Abóbora Sergipana apresentou um teor maior, diferindo estatisticamente dos acessos e da cultivar comercial Moranga Coroa.

Já a prolina, associada à resposta ao estresse, apresentou variação entre os acessos, com destaque para as cultivares comerciais Abóbora Sergipana e Moranga coroa que exibiram os maiores valores (Tabela 3). A concentração de prolina é um dos principais indicadores de adaptação fisiológica em plantas.

**Tabela 3.** Aspectos bioquímicos avaliados em acessos de abóbora (*Cucurbita maxima* e *ucurbita moschata*) inoculados com *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

Genótipo	Média		
	Açúcares	Aminoácidos	Prolina
ABO 153 <sup>2</sup>	12,2585	0,7698b	2,272
ABPUN 202 <sup>1</sup>	13,8531	0,6168b	2,243
ABPUN202 F4 <sup>1</sup>	13,7522	0,9326b	1,977
AS <sup>3</sup>	13,8264	1,2507a	2,472
MC <sup>3</sup>	14,5679	0,9182b	2,560
P114-03 <sup>2</sup>	11,5237	0,7672b	2,326

<sup>1</sup>Acessos de *C. maxima*; <sup>2</sup>Acessos de *C. moschata*; <sup>3</sup> Cultivares comerciais; Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p>0,05$ ).

(1974).

A média de prolina nos genótipos infestados com *M. phaseolina* foi de 2.53267, enquanto nos genótipos não inoculados foi de 2.0840. Esse resultado indica um aumento significativo na concentração de prolina (Tabela 4).

**Tabela 4** . Respostas bioquímicas em acessos de abóbora (*Cucurbita maxima* e *ucurbita moschata*) inoculados com *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. e em acessos sem inoculação.

Inoculação	Média		
	Açúcares	Aminoácidos	Prolina
Sem	12,67843a	0,8409000a	2,084000b
Com	13,91550a	0,9108667a	2,532667a

Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ).

Na tabela 5, verificou-se que houve efeito significativo do fator isolado na variável de transpiração, mas não houve efeito significativo nas demais variáveis. O efeito do genótipo foi significativo apenas para a eficiência do uso da água e a eficiência de carboxilação, não sendo observado efeito significativo nas demais variáveis. Não houve interação significativa entre o isolado e o genótipo em nenhuma das variáveis analisadas.

**Tabela 5**. Resumo da análise de variância (ANOVA) e valores de F de Snedecor para as taxa de transpiração (E), condutância estomática (gs), taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A), concentração interna de CO<sub>2</sub> (ci), eficiência do uso da água (EUA) e eficiência de carboxilação (EiC) avaliados em acessos de abóbora (*Cucurbita maxima* e *ucurbita moschata*) inoculados com *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. e em acessos sem inoculação.

FV	F					
	E	gs	A	Ci	EUA	EiC
Inoc (I)	4,2417*	0,86727 <sup>ns</sup>	3,5705 <sup>ns</sup>	0,2426 <sup>ns</sup>	1,1145 <sup>ns</sup>	1,1145 <sup>ns</sup>
Gen (G)	0,4774 <sup>ns</sup>	0,60284 <sup>ns</sup>	2,2163 <sup>ns</sup>	1,1486 <sup>ns</sup>	2,9737*	2,9737*
G x I	0,2922 <sup>ns</sup>	0,27941 <sup>ns</sup>	0,3184 <sup>ns</sup>	0,6121 <sup>ns</sup>	1,3806 <sup>ns</sup>	1,3806 <sup>ns</sup>
CV%	39,08	50,78	44,79	14,03	50,07	50,07

<sup>ns</sup> não significativo; \* significativo a 5% de probabilidade. Taxa de transpiração (E); Condutância do vapor de água (GH<sub>2</sub>O ou GS); Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A); Fração molar de CO<sub>2</sub> intercelular (ci); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência de carboxilação (EiC).

Observou-se que aos 35 dias após a inoculação com o fungo não houve efeito da interação entre o patógeno e os genótipos para as variáveis condutância estomática,

assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, concentração interna de CO<sub>2</sub>, eficiência do uso da água e a eficiência instantânea de carboxilação. A taxa de transpiração apresentou efeito significativo (p<0,05) apenas para inoculado. Para a eficiência do uso da água e eficiência da carboxilação houve efeito isolado do genótipo (p<0,05) (Tabela 5).

**Tabela 6.** Respostas fisiológicas em acessos de abóbora (*Cucurbita maxima* e *ucurbita moschata*) inoculados com *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. e em acessos sem inoculação.

Gen.	Média					
	E	gs	A	Ci	EUA	EiC
ABO153	2,225a	113,4500a	6,2125a	306,038a	0,0525a	0,0525a
ABPUN 202	2,630a	154,6500a	5,4046a	340,950a	0,0393a	0,0394a
ABPUN202 F4	2,696a	157,0750a	6,0384a	321,375a	0,0463a	0,0464a
MC	2,441a	147,7143a	2,1914a	353,171a	0,0209b	0,0209b
P114-03	2,183a	125,0125a	3,8638a	334,350a	0,0321b	0,0321b

Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p>0,05). Taxa de transpiração (E); Condutância do vapor de água (GH<sub>2</sub>O ou GS); Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A); Fração molar de CO<sub>2</sub> intercelular (ci); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência de carboxilação (EiC).

A avaliação das trocas gasosas nos genótipos de abóbora com e sem inoculação e não inoculados com *M. phaseolina* mostrou diferenças significativas entre os genótipos para determinadas variáveis de trocas gasosas (Tabela 6). A taxa de transpiração (E) variou entre os genótipos P114-03 e ABPUN 202 F4 (2.183 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e 2.696 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente), o genótipo ABPUN 202 também apresentou uma alta taxa de transpiração. O genótipo ABO 153 e a cultivar comercial Moranga Coroa apresentou valores intermediários.

A condutância estomática (gs), apresentou maiores valores nos genótipos ABPUN 202 F4 E ABPUN 202, enquanto o genótipo P114-03 obteve a menor condutância. A assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), variou significativamente, com o genótipo ABO 153 apresentando maior valor e a cultivar comercial Moranga Coroa apresentando o menor valor. A concentração interna de CO<sub>2</sub> também tiveram ABO 153 com o maior valor e a cultivar comercial moranga coroa com menor valor (Tabela 6).

A eficiência e uso da água (EUA) e a eficiência de carboxilação (EiC) seguiram um padrão semelhante, ABO 153, ABPUN 202 e ABPUN 202 F4 obtiveram os maiores

valores de EUA, enquanto Moranga Coroa e P114-03 tiveram valores significativamente menores. O mesmo comportamento foi observado em EiC (Tabela 6).

**Tabela 7.** Respostas fisiológicas em acessos de abóbora (*Cucurbita maxima* e *ucurbita moschata*) inoculados com *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. e em acessos sem inoculação.

Inoculação	Média					
	E	gs	A	Ci	EUA	EC
Sem	2,1290a	129,085	3,9214	334,18	0,0355	0,0355
Com	2,7568a	150,200	5,7735	326,85	0,0421	0,0421

Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ). Taxa de transpiração (E); Condutância do vapor de água (GH<sub>2</sub>O ou GS); Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A); Fração molar de CO<sub>2</sub> intercelular (ci); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência de carboxilação (EiC).

De acordo com o teste de Scott-Knot ( $p > 0,05$ ) observou-se diferença significativa na taxa de transpiração (E) com e sem inoculação (Tabela 7), as demais variáveis não foram estatisticamente significativas, mas algumas variáveis devem ser observadas. A condutância estomática (gs) aumentou dos genótipos não inoculados para os genótipos inoculados. A assimilação líquida de CO<sub>2</sub> foi maior com inoculação. Por outro lado, a fração molar de CO<sub>2</sub> (ci) foi menor nos genótipos inoculados. A eficiência do uso da água (EUA) e a eficiência da carboxilação apresentaram uma tendência de aumento nos genótipos inoculados. Isso sugere que, apesar da infecção, as plantas foram capazes de manter um nível relativamente eficiente de fixação de CO<sub>2</sub>, em relação a perda de água.

## CONCLUSÕES

Acessos inoculados com o isolado de *Macrophomina phaseolina* ME249 apresentaram maior teor de prolina e um aumento na taxa de transpiração.

Teores de aminoácidos em acessos não inoculados foram superiores a acessos inoculados com *Macrophomina phaseolina*.

## REFERÊNCIA

- AMBRÓSIO, M. M. Q. et al. Screening a variable germplasm collection of *Cucumis melo* L. for seedling resistance to *Macrophomina phaseolina*. **Euphytica**, v. 206, n. 2, p. 287–300, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1452-x>.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205–207, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.
- CHEN, B.-H. et al. Photosynthetic properties and biochemical metabolism of *Cucurbita moschata* genotypes following infection with powdery mildew. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, n. 4, p. 1021–1027, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00564-9>.
- GUO, H. et al. Defense response of pumpkin rootstock to cadmium. **Scientia Horticulturae**, v. 308, p. 111548, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111548>.
- KAUR, S.; KUMARI, N.; SHARMA, V. Interplay of stress responses in mungbean cultivars subjected to combined exposure to *Macrophomina phaseolina* infection and drought stress. **Plant Stress**, v. 11, p. 100376, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100376>.
- LI, F. et al. Genome-wide identification of *CmaGH3* family genes, and expression analysis in response to cold and hormonal stresses in *Cucurbita maxima*. **Scientia Horticulturae**, v. 304, p. 111256, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111256>.
- MARQUEZ, N. et al. *Macrophomina phaseolina*: General Characteristics of Pathogenicity and Methods of Control. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.634397>.
- MEDEIROS, A. C. et al. Métodos de inoculação de *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* em meloeiro (*Cucumis melo*). **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 4, p. 281–286, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2083>.
- NASCIMENTO, S. R. de C. et al. Meios de cultura semi-seletivos para *Macrophomina phaseolina*. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 4, p. 334–337, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2014>.
- RODRÍGUEZ, R. M. et al. A large scale consensus reaching process managing group hesitation. **Knowledge-Based Systems**, v. 159, p. 86–97, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.knsys.2018.06.009>.
- SALARI, M. et al. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 87, p. 15324–15329, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJB12.799>.
- SCHWACHTJE, J. et al. Induced, Imprinted, and Primed Responses to Changing Environments: Does Metabolism Store and Process Information? **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00106>.
- SOARES, M. G. de O. et al. Ocorrência de patógenos em cultivos de melancia e abóbora no sertão da Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 1, p. 07–13, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.18378/rvads.v11i1.3704>.

XU, Y. et al. Comparing the differences in quality profiles and antioxidant activity in seven pumpkin cultivars (*Cucurbita moschata* and *Cucurbita maxima*) at harvest and during postharvest storage. **Food Chemistry: X**, v. 22, p. 101383, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101383>.

YAN, Z. et al. Prediction Model of Pumpkin Rootstock Seedlings Based on Temperature and Light Responses. **Agronomy**, v. 13, n. 2, p. 516, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy13020516>.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **The Analyst**, v. 80, n. 948, p. 209, 1955. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/an9558000209>.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508–514, 1954. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bj0570508>.

YU, J. et al. CuGenDBv2: an updated database for cucurbit genomics. **Nucleic Acids Research**, v. 51, n. 1, p. D1457–D1464, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac921>.

YUAN, T. et al. Structural characteristics and physicochemical properties of starches from winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch. ex Poir.). **Food Hydrocolloids**, v. 122, p. 107115, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107115>.