

ELINEIDE BARBOSA DA SILVEIRA

**VARIABILIDADE DE *Acidovorax avenae* subsp.
citulli E EPIDEMIOLOGIA DA
MANCHA-AQUOSA DO MELÃO**

RECIFE - PE

JUNHO, 2002

ELINEIDE BARBOSA DA SILVEIRA

**VARIABILIDADE DE *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* E
EPIDEMIOLOGIA DA MANCHA-AQUOSA DO MELÃO**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Fitossanidade da Universidade
Federal Rural de Pernambuco, como parte dos
requisitos para obtenção do grau de Doutor em
Fitopatologia.**

RECIFE - PE

JUNHO, 2002

Catálogo na fonte
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

S587v Silveira, Elineide Barbosa da

Variabilidade de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* e epidemiologia da mancha-aquosa o melão / Elineide Barbosa da Silveira. – 2002.

104f. : il

Orientador: Rosa de Lima Ramos Mariano

Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Agronomia.

Bibliografia

1. Fitopatologia
 2. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*
 3. *Cucumis melo*
 4. Mancha-aquosa
 5. Melão
 6. Variabilidade
 7. Epidemiologia
- I. Mariano, Rosa de Lima Ramos
II. Título

**VARIABILIDADE DE *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* E
EPIDEMIOLOGIA DA MANCHA-AQUOSA DO MELÃO**

ELINEIDE BARBOSA DA SILVEIRA

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano - Orientadora

Dr. Sami Jorge Michereff - Co-orientador

Dra. Sônia Maria Alves de Oliveira - Co-orientadora

RECIFE - PE

JUNHO, 2002

**VARIABILIDADE DE *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* E
EPIDEMIOLOGIA DA MANCHA-AQUOSA DO MELÃO**

ELINEIDE BARBOSA DA SILVEIRA

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em:

ORIENTADORA:

Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano (UFRPE)

EXAMINADORES:

Dra. Daniela Biaggione Lopes (EMBRAPA/CPATSA)

Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa (UFRPE)

Dra. Luciane Vilela Resende (UFRPE)

Dra. Maria Menezes (UFRPE)

Dr. Rui Sales Júnior (ESAM)

RECIFE - PE

JUNHO, 2002

Aos meus pais, José e Cleonice, e a minha sogra
Maria José, pelo exemplo de amor, força e determinação.

A Rosa Mariano, meu referencial profissional,
pela amizade, confiança e estímulo.

OFEREÇO

A Letícia, filha querida e luz da minha vida, pela
ingênua compreensão dos momentos de ausência.

A José Ramos, meu esposo, pelo amor, confiança
e paciência.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e presença constante, que me guia e me conforta em todos os momentos da vida.

À professora Rosa de Lima Ramos Mariano pela orientação e incentivos ao meu crescimento profissional.

Ao professor Sami Jorge Michereff pela amizade e orientação imprescindível à realização dos trabalhos.

Às professoras Sônia Maria Alves de Oliveira e Uided Maaze Tiburcio Cavalcante pela amizade e revisão crítica dos originais desta tese; e à professora Elvira Maria Régis Pedrosa pela contribuição nas análises estatísticas.

À Coordenação, professores e funcionários da Pós-Graduação em Fitossanidade, pelos préstimos e ensinamentos recebidos.

Às amigas Andréa Maria André Gomes e Viviane Jurema Lopes Borges Rodrigues, companheiras inseparáveis por toda a vida.

Aos colegas do Doutorado em Fitopatologia, em especial Suzana Alencar, pelo exemplo de luta e determinação, e pela boa convivência.

À turma do Laboratório de Fitobacteriologia, Dário, Edson, Elias, Flávio, George, Iale, Ivanise, Marcelo, Robson, Sayonara, Valdicléria, ao estudante de Agronomia Anselmo e ao Sr. Luiz da casa de vegetação, pela valiosa colaboração no trabalho em equipe.

A MSc. Idjane Santana de Oliveira e ao Dr. Rui Sales Júnior pela disponibilização de materiais necessários à execução dos trabalhos.

Aos colegas da Microbiologia pela compreensão, confiança e incentivo.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	vi
SUMÁRIO.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
Capítulo 1 – Introdução geral.....	13
Referência Bibliográficas.....	30
Capítulo II - Variabilidade de <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> no estado do Rio Grande do Norte.....	40
Resumo.....	41
Abstract.....	42
Material e Métodos.....	45
Resultados e Discussão.....	51
Agradecimentos.....	56
Referências Bibliográficas.....	57
Capítulo III - Influência do molhamento foliar e da concentração de inóculo de <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> na severidade da mancha-aquosa em meloeiro.....	66
Resumo.....	67
Abstract.....	68
Introdução.....	69

Material e Métodos	71
Resultados e Discussão	74
Agradecimentos	78
Referências Bibliográficas	79
Capítulo IV - Influência da temperatura, umidade, concentração de inóculo de <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> e idade de frutos no desenvolvimento da mancha-aquosa em melão	85
Resumo	86
Abstract	87
Introdução	89
Material e Métodos	90
Resultados e Discussão	92
Agradecimentos	96
Referências Bibliográficas	96
Conclusões Gerais	102

RESUMO

Foi estudada a variabilidade de 20 isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* quanto aos componentes da mancha-aquosa do melão e reação de hipersensibilidade, e analisada a transmissão da bactéria pelas sementes dos frutos inoculados. Foi também avaliada a influência da duração (0, 6, 24 e 48 horas) e início do período de molhamento foliar (0, 6, 24 e 48 horas após a inoculação), bem como da concentração de inóculo de *A. avenae* subsp. *citrulli* ($3,4 \times 10^1$ a $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹) na severidade da mancha-aquosa em meloeiro. A influência da temperatura (15, 20, 25, 30, 35 e 40° C), da umidade (0 e 6 horas de câmara úmida), da concentração de inóculo ($3,4 \times 10^1$ a $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹) e da idade do fruto (40, 50, 60 e 70 dias) no desenvolvimento da mancha-aquosa em melão, foram ainda verificadas. Sementes, plantas e frutos foram inoculados pelos métodos de infiltração a vácuo, pulverização e injeção subepidérmica, respectivamente. Plântulas e plantas foram avaliadas quanto ao período de incubação, índice de doença, área abaixo da curva do progresso da doença e taxa de progresso da doença, e os frutos, quanto ao período de incubação, diâmetro da lesão externa e profundidade da lesão. Os dados obtidos foram submetidos a testes de comparação de médias, testes de agrupamento ou análises de regressão. A análise da distância Euclidiana por ligações simples, confirmou a variabilidade entre os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, permitindo a separação destes em quatro grupos de similaridade. A transmissão da bactéria por sementes variou de 30 a 64 % e todos os isolados induziram reação de hipersensibilidade em folhas de fumo e tomate. As equações de regressão para as variáveis analisadas em meloeiros foram melhor ajustadas pelos modelos quadrático ou logarítmico. O período de incubação variou de 1,3 a 2,7 dias, e

maior nas plantas sem molhamento foliar, contudo o índice de doença e a área abaixo da curva de progresso da doença aumentaram com o incremento da duração do molhamento foliar. O início do período de molhamento foliar às 48 horas após a inoculação elevou o período de incubação e a taxa de progresso da doença em relação aos demais períodos. O incremento da concentração de inóculo elevou a taxa de progresso da doença, índice de doença e área abaixo da curva de progresso da doença, os quais atingiram valores máximos de 4,4 unidades de infecção/dia, 73,7 % e 18,9, respectivamente, na concentração $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹. A temperatura e umidade influenciaram significativamente a severidade da mancha-aquosa nos frutos, embora o período de incubação não tenha sido afetado. As maiores lesões externas foram observadas em frutos incubados a 35 e 30 ° C sem câmara úmida, e a 30° C em câmara úmida por seis horas. Com relação à profundidade, as lesões nos frutos incubados sem câmara úmida foram maiores às temperaturas de 25 e 30° C. Em câmara úmida, as lesões a 30° C foram maiores que as demais. Não foi observado desenvolvimento da mancha-aquosa em frutos incubados a 15 e 20° C. A umidade influenciou significativamente ($P=0,05$) o diâmetro e profundidade da lesão, exceto às temperaturas de 35 e 25° C, respectivamente. O diâmetro e profundidade das lesões aumentaram com a elevação da concentração de inóculo e foram reduzidos com o aumento da idade do fruto. Na concentração $3,4 \times 10^1$ UFC mL⁻¹ não foi observada a presença de sintomas da doença na casca e na polpa dos frutos com 60 e 70 dias.

ABSTRACT

The variability of 20 *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates in relation to melon fruit blotch components, hypersensitive reaction, and the bacterial transmission by seeds from inoculated fruits were studied. The influence of duration (0, 6, 24 and 48 h), the onset of leaf wetness period (0, 6, 24 and 48 h after inoculation), and inoculum concentration of *A. avenae* subsp. *citrulli* (3.4×10^1 to 3.4×10^7 CFU mL⁻¹) on severity of fruit blotch in melon plants were also evaluated. The effects of temperature (15, 20, 25, 30, 35 and 40° C), humidity (0 and 6 h of moist chamber), inoculum concentration (3.4×10^1 to 3.4×10^7 CFU mL⁻¹) and fruit age (40, 50, 60 and 70 days) on the development of melon fruit blotch were also verified. Seeds, plants and fruits were inoculated through vacuum infiltration, atomization and sub-epidermal injection, respectively. Seedlings and plants were assessed in relation to incubation period, disease index, area under disease progress curve and disease progress rate; incubation period, diameter of external lesion and lesion depth were assessed on the fruits. The data were submitted to mean comparison tests, clustering tests or regression analysis. The Euclidian distance–single linkage confirmed the variability among the *A. avenae* subsp. *citrulli* strains allowing their separation in four similarity groups. Seed transmission ranged from 30 to 64 % and all strains induced hypersensitive reaction on tobacco and tomato leaves. The regression equations for the analyzed variables in melon plants were better adjusted by the quadratic or logarithmic models. The incubation period ranged from 1.3 to 2.7 days and was higher in plants without leaf wetness, although the disease index and area under disease progress curve increased as the duration of leaf wetness increased. The beginning of the leaf wetness period at 48 h after inoculation elevated

the incubation period and disease progress rate in relation to the other periods. The disease progress rate, disease index and area under disease progress curve increased as the inoculum concentration increases, reaching maximum values of 4.4 infection units/day, 73.7 % and 18.9 at 3.4×10^7 UFC mL⁻¹, respectively, at 3.4×10^1 CFU mL⁻¹. The temperature and humidity influenced significantly (P=0,05) the severity of melon fruit blotch, however, the incubation period was not affected. The larger external lesions were observed in the fruits incubated at 35 and 30° C without moist chamber, and at 30° C in moist chamber for six h. In relation to lesion depth, those lesions in fruits incubated without moist chamber were deeper at 25 and 30° C. However, with moist chamber the lesions at 30° C were deeper than the others. No disease symptoms were observed on fruits incubated at 15 and 20° C. The humidity significantly (P=0,05) influenced the development of external lesions and lesions depth at 35 and 25° C, respectively. The diameter and depth of lesions increased as the inoculum concentration was higher and were reduced as the fruit age increased. No external or internal lesions were detected on fruits with 60 and 70 days inoculated with the pathogen at 3.4×10^1 CFU mL⁻¹.

Capítulo I

Introdução geral

O meloeiro (*Cucumis melo* L.), pertencente à família das cucurbitáceas, é uma espécie cujo centro de diversidade genética não está claramente estabelecido, sendo localizado por alguns autores na África, enquanto para outros no oeste da Ásia (Brandão Filho & Vasconcelos, 1998). É uma planta anual, herbácea, prostrada, de hastes trepadoras; folhas pecioladas, grandes, divididas em três a cinco lobos e com pilosidade de textura aveludada; flores amarelas e frutos geralmente amarelos, amarelados ou verdes; sementes de tamanho regular, ovaladas e comprimidas. O meloeiro é muito exigente quanto ao solo, preferindo os sílico-argilosos e argilo-silicosos, profundos e ricos em matéria orgânica (Gomes, 1978). O cultivo é feito em clima quente e seco, com temperatura ideal variando de acordo com o estágio fenológico da cultura. É propagado por sementes e a colheita ocorre entre 60 a 75 dias após o plantio, dependendo da cultivar ou do híbrido utilizado (Costa *et al.*, 2001a). O fruto é consumido *in natura*, com expressivo valor nutritivo na forma de hidratos de carbono e vitaminas, além de fósforo e cálcio (Costa *et al.*, 2001a), e tem propriedades estimulantes, diuréticas e laxativas (Gomes, 1978).

As variedades botânicas foram agrupadas e os principais melões produzidos comercialmente pertencem hoje a dois grupos: *Cucumis melo inodorus* Naud. e *C. melo cantaloupensis* Naud., que correspondem, respectivamente, aos melões inodoros e aos melões aromáticos. Os frutos pertencentes ao grupo *C. melo inodorus* são chamados melões de inverno, que apresentam casca lisa ou levemente enrugada, coloração amarela, branca ou verde escura. A polpa apresenta elevado teor de açúcares, com coloração variando entre branca e verde-clara. Os frutos pertencentes ao grupo *C. melo cantaloupensis* são muito aromáticos, sendo mais doces que os inodoros. Apresentam tamanho médio, com superfície reticulada, verrugosa ou escamosa, podendo apresentar

gomos e possuem polpa de coloração alaranjada, salmão ou, as vezes, verde. A classificação comercial do melão é feita em tipos. Um tipo corresponde a um grupo de cultivares e de híbridos que apresenta uma ou mais características semelhantes (Menezes *et al.*, 2000). São comuns os tipos Amarelo ou Espanhol (Amarelo rugoso, Amarelo liso), Verde Espanhol (Pele de Sapo e Tendral), Charentais (de casca lisa, de casca verde-escura e de casca reticulada), Gália, Cantaloupe (Menezes *et al.*, 2000) e Orange flesh (Fernandes, 1996). O melão do tipo Amarelo é caracterizado pela casca e polpa branco-creme, forma oval ou elíptica e tamanho grande; o verde Espanhol tem o fruto de tamanho grande, polpa verde e consistência firme; o Charentais apresenta a casca verde escura reticulada com polpa de cor salmão; o Gália apresenta forma arredondada, casca verde que muda para amarelo quando o fruto amadurece, a polpa é branca ou branca-esverdeada; o Cantaloupe é o mais produzido no mundo, caracterizando-se pela forma esférica, superfície reticulada, polpa de cor salmão e aroma muito intenso (Menezes *et al.*, 2000) e o Orange flesh tem formato arredondado, casca creme-esverdeada, polpa de textura crocante e cor laranja (Fernandes, 1996).

Esta cucurbitácea é uma das olerícolas mais populares do mundo (Costa *et al.*, 2001a), tendo sido cultivada no ano de 2001 em 74 países, ocupando uma área de 1, 15 milhões de hectares com produção de 21,27 milhões de toneladas de frutos. A China é o maior produtor, responsável por 38,3 % da oferta mundial, seguida pela Turquia, Estados Unidos e Irã com 8,5 %, 5,6 % e 4,7 %, respectivamente. A produtividade média mundial é de 18,47 t ha⁻¹. O Brasil com uma produção de 150 mil toneladas em 12 mil hectares de área cultivada, é o 20º produtor mundial e o maior produtor de melão da América do Sul, seguido pela Argentina e Chile, apresentando uma produtividade média de 12,5 t ha⁻¹ (FAO, 2002).

A região Nordeste no ano de 2000 foi responsável por 93 % da produção nacional, destacando-se como maiores produtores os estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Bahia e Pernambuco os quais responderam, respectivamente, por 54, 25, 11 e 3 % da oferta de melão (IBGE, 2001). O Rio Grande do Norte nesse ano apresentou uma área cultivada de 6.500 ha e produção aproximada de 165.000 t (Sales Júnior & Menezes, 2001), atingindo produtividade média de 25,4 t ha⁻¹. A produção nesse estado, concentra-se no pólo agrícola formado pelas regiões de Mossoró e Açu (Araújo & Costa, 1997).

Dentre as várias culturas que atualmente são exploradas no Nordeste, o meloeiro desponta com grande expressão econômica e social, graças às condições edafoclimáticas propícias ao cultivo e aos mercados interno e externo, capazes de absorver toda produção (Sales Júnior & Menezes, 2001). Aproximadamente 98 % do melão produzido no Brasil é do tipo Amarelo do qual fazem parte diversas cultivares e híbridos; os outros 2 % são dos tipos Pele-de-sapo, Gália, Charentais e Cantaloupe (Costa *et al.*, 2001a).

O Brasil exportou, no ano de 2000, 427.981 t de frutas frescas, sendo o melão responsável por 14,23 % desse montante, superado apenas pela laranja (*Citrus* spp.) (17,60 %), banana (*Musa* spp.) (16,78 %), manga (*Mangifera indica* L.) (15,69 %) e maçã (15,07 %) (DATAFRUTA, 2001). O Rio Grande do Norte destaca-se como o líder nacional de exportação de melão (Dias *et al.*, 1998). Além de gerar divisas para o país, é uma cultura de grande importância social para esse estado na geração de empregos, absorvendo na safra 2000-2001 mão de obra aproximada de 60.000 empregos diretos e indiretos (Sales Júnior & Menezes, 2001).

As doenças e pragas do meloeiro, como de outras culturas, podem causar prejuízos econômicos pela redução da quantidade e/ou qualidade de frutos comercializados (Menezes *et al.*, 2000). Entre as principais doenças se destacam o cancro das hastes, oídio, míldio, viroses, galhas, murcha de fusário e colapso do melão, e entre as principais pragas estão a mosca branca, pulgão, mosca minadora, tripses, ácaros, vaquinha e broca das cucurbitáceas (Costa *et al.*, 2001a). Atualmente, a principal doença que vem ocorrendo nessa cultura durante a estação chuvosa, ocasionando grandes perdas na produção e depreciação do valor comercial do fruto, é a mancha-aquosa causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad *et al.*) Willems *et al.* (Sin: *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* Schaad *et al.*; *Pseudomonas avenae* subsp. *citrulli* (Schaad *et al.*) Hu *et al.* (Sales Júnior & Menezes, 2001).

Em melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) esta doença foi descrita primeiramente nos Estados Unidos da América em 1965 (Webb & Goth, 1965) e tem sido relatada em várias regiões produtoras nas Ilhas Marianas (Wall & Santos, 1988), na Índia (Rane & Latin, 1990) e na Austrália (O'Brien & Martin, 1999). Na Flórida, foram registradas perdas acima de 50 % em áreas produtoras (Hopkins *et al.*, 1996). No Brasil, Robbs *et al.* (1991) relataram o patógeno causando manchas em frutos de melancia nos municípios de Assis, Marília e Presidente Prudente, no estado de São Paulo.

Em melão, o primeiro relato da doença foi nos Estados Unidos da América em 1996, com incidência em mais de 50 % dos frutos em campos agrícolas no Texas (Isakeit *et al.*, 1997). A mancha-aquosa em meloeiro também foi detectada na Austrália (O'Brien & Martin, 1999). No Brasil, *A. avenae* subsp. *citrulli* foi registrada em meloeiro nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste por Robbs *et al.* (1992).

Identificada no Rio Grande do Norte pela primeira vez em 1997 (Assis *et al.*, 1999), a mancha-aquosa foi registrada posteriormente no Ceará (Santos & Viana, 2000) e Pernambuco (Comunicação pessoal, MSc. Daniel Terao - EMBRAPA Semi-Árido). Essa doença é hoje um problema para a cultura do meloeiro nas áreas produtoras do Nordeste, principalmente nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. Os prejuízos acumulados na safra de 2000, sobretudo durante o período chuvoso, foram elevados, chegando a dizimar totalmente algumas lavouras nos municípios de Quixeré (Ceará) e Mossoró (Rio Grande do Norte) (Santos & Viana, 2000). Atualmente, estima-se que as perdas devido a essa doença no Rio Grande do Norte estejam em torno de 40 a 50 %, atingindo até 100 % (Sales Júnior & Menezes, 2001).

Os sintomas da mancha-aquosa podem se manifestar em qualquer fase de desenvolvimento da planta. Podem ocorrer em plântulas, folhas e frutos, sendo mais comuns e facilmente visualizados nos frutos (Santos & Viana, 2000).

Plântulas oriundas de sementes infectadas apresentam grandes manchas encharcadas de coloração verde-escura (Santos & Viana, 2000) e marrons no hipocótilo e cotilédones e, às vezes, necrose no hipocótilo, podendo resultar em colapso ou tombamento e morte das mudas após alguns dias (Hopkins *et al.*, 1996).

Nas folhas, as manchas são inicialmente pequenas, com aspecto oleoso e coloração verde-clara, assumindo posteriormente coloração marrom-escura (Santos & Viana, 2000), com ou sem halo (Hopkins *et al.*, 1996). Lesões são frequentemente observadas ao longo das nervuras ou nas margens da folha (O'Brien & Martin, 1999). Dependendo das condições climáticas e da cultivar, as manchas podem crescer e coalescer, e a necrose estender-se por quase totalidade da área foliar (Sales Júnior & Menezes, 2001). Mesmo quando a infecção na folha tem pouco ou nenhum efeito sobre

o desenvolvimento da planta, ela serve como reservatório da bactéria para infecção dos frutos (Isakeit, 1999). Somodi *et al.* (1991) detectaram epidemia em frutos de melancia na Flórida em 1989, onde lesões foliares não foram observadas, sugerindo que a bactéria se desenvolveu de forma sistêmica nas plantas, uma vez que grande quantidade de necrose desenvolveu-se rapidamente nos frutos próximo a maturidade. Outra explicação seria que as condições ambientais não foram favoráveis à doença tendo à bactéria sobrevivido epifiticamente, passando posteriormente aos frutos onde condições favoráveis desencadearam a epidemia. Segundo Robbs (2000), sem causar sintomas, as bactérias fitopatogênicas podem sobreviver epifiticamente em plantas hospedeiras, particularmente quando não estão associadas a microbiota antagônica ou competitiva em nutrientes.

Os sintomas mais visíveis da doença são observados nos frutos maduros, antes da colheita, embora a infecção ocorra durante a floração e formação do fruto. Nestes, as lesões localizam-se na superfície que não se encontra em contato com o solo (Isakeit, 1999). Na casca dos frutos, a doença caracteriza-se por manchas de coloração verde-oliva, aquosas, variando de 1 a 5 mm de diâmetro (Sales Júnior & Menezes, 2001), com ou sem halo, as quais progridem rapidamente, coalescem, tornando-se aquosas, marrom-claras ou marrom-escuras, atingindo grandes áreas do fruto (Santos & Viana, 2000). Podem ocorrer rachaduras no centro das lesões. Abortos de frutos também são observados (O'Brien, 1999). Os sintomas internos variam com a idade do fruto e com o estágio de desenvolvimento no momento da infecção. Geralmente há descoloração da polpa que se apresenta marrom avermelhada abaixo da casca (O'Brien, 1999). A necrose ou simples lesão na casca não reflete o dano que ocorre na polpa imediatamente abaixo, ou seja, a parte interna já pode estar bastante comprometida, mesmo quando essa lesão,

externamente, se mostra com apenas 0,5 cm a 2,0 cm de diâmetro. (O'Brien & Martin, 1999). Em fase mais avançada da doença, os frutos são rapidamente destruídos como resultado da ação de microrganismos secundários que penetram através das rachaduras (Costa *et al.*, 2001a). Após a colheita, a severidade dos sintomas da mancha-aquosa não aumenta drasticamente nos frutos de melancia infectados (Rushing *et al.*, 1997).

A bactéria *A. avenae* subsp. *citrulli* apresenta-se como bastonete Gram negativo, aeróbio e móvel por um flagelo polar; colônias brancas ou cremes na maioria dos meios de cultura e não fluorescentes em meio de King B; crescem à temperatura de 41° C, mas não a 4° C; não hidrolisam a arginina e apresentaram reação positiva para os testes de catalase, oxidase, urease e lipase (Schaad *et al.*, 1978). De acordo com a descrição do isolado tipo, a espécie não apresenta resposta de hipersensibilidade em fumo (Schaad *et al.*, 1978), contudo, trabalhos de Rane & Latin (1992) e Somodi *et al.* (1991) relatam que alguns isolados apresentam essa reação.

Além da melancia e meloeiro, a abóbora (*C. maxima* L.) (Langston *et al.*, 1999) é hospedeira de *A. avenae* subsp. *citrulli*. Hopkins & Thompson (2000) observaram transmissão do patógeno em sementes obtidas de frutos inoculados, mas sem sintomas, de abóbora, pepino (*Cucumis sativus* L.) e abobrinha (*Cucumis pepo* L.). Em estação de quarentena em Israel, a bactéria foi detectada em plântulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e berinjela (*Solanum melongena* L.) provenientes de sementes importadas dos Estados Unidos da América (Assouline *et al.*, 1997), porém não são conhecidas infecções naturais dessas culturas (O'Brien, 1999). No Brasil, Robbs *et al.* (1991) obtiveram sintomas da doença, inoculando o patógeno em pepino, abóbora e chuchu (*Sechium edule* L.).

No Nordeste, a mancha-aquosa ocorre principalmente em melões do tipo Pele de sapo e Amarelo, mas os tipos Gália, Orange e Cantaloupe também são susceptíveis a bactéria (Comunicação pessoal, Dr. Rui Sales Júnior- ESAM).

No campo, *A. avenae* subsp. *citrulli* sobrevive em plântulas voluntárias, ou seja, plântulas de meloeiro provenientes de sementes de frutos infectados deixados no campo, de um cultivo para outro, como também em hospedeiras alternativas como as cucurbitáceas nativas melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), bucha (*Luffa cylindrica* M. Roem.) (Santos & Viana, 2000) e maxixe (*Cucumis anguria* L.) (Comunicação pessoal, Dr. Rui Sales Júnior- ESAM), todas presentes em áreas de cultivo de meloeiro. Na Austrália, a planta invasora *Cucumis myriocarpus* L. foi assinalada como hospedeira de *A. avenae* subsp. *citrulli* ao Sul de Queensland (O'Brien & Martin, 1999). Aparentemente, a bactéria não sobrevive no solo mais do que algumas semanas (Isakeit, 1999), mas a semente é importante para sobrevivência de *A. avenae* subsp. *citrulli*. Este patógeno sobreviveu durante seis meses em sementes de melão procedentes de frutos infectados de áreas produtoras de Mossoró, armazenadas em condições de laboratório (Oliveira *et al.*, 2001).

A disseminação do inóculo a longa distância ocorre principalmente por sementes contaminadas e pelo transplântio de mudas de cucurbitáceas infectadas (Hopkins *et al.*, 1996). Assis *et al.* (1999) sugeriram que a introdução da mancha-aquosa no Rio Grande do Norte ocorreu da primeira forma, hipótese que também não deve ser descartada em relação ao surto da doença no estado do Ceará (Viana *et al.*, 2000). A transmissão de *A. avenae* subsp. *citrulli* por sementes é muito eficiente. O'Brien & Martin (1999) e Oliveira *et al.* (2001) verificaram transmissão em níveis variando de 33 a 91 % e 10 a 69 %, respectivamente. A transmissão dessa bactéria por sementes merece atenção

especial, devido ao uso pelos agricultores de sementes da própria lavoura para plantios futuros. Segundo Sales Júnior & Menezes (2001), esse é atualmente um dos fatores responsáveis pela ocorrência da doença na maioria dos campos de cultivo de meloeiro no Rio Grande do Norte. A disseminação também ocorre por água de chuva e irrigação, solos infestados, insetos, utensílios agrícolas, operários de campo (Santos & Viana, 2000) e por aerossóis (Hopkins *et al.*, 1992). Em condições favoráveis de temperatura e umidade, a bactéria pode disseminar-se rapidamente, e poucos sítios de infecção primária no campo podem resultar em 100 % de infecção de frutos na época da colheita (Hopkins *et al.*, 1992). A disseminação de *A. avenae* subsp. *citrulli* na pós-colheita pode ocorrer de forma limitada através do contato entre frutos sadios e doentes (Rushing *et al.*, 1997).

Em melancia, a bactéria penetra na folha ou no fruto através de estômatos ou ferimentos (O'Brien & Martin, 1999). Outras bactérias fitopatogênicas penetram em seus hospedeiros através de estômatos, como por exemplo, *A. avenae* subsp. *avenae* (Mans) Willems *et al.* em folhas de milho (*Zea mays* L.) (Gitaitis *et al.*, 1981) e *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (Wolf & Foster) Young *et al.* em folhas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) (Daub & Hagedorn, 1979). Frutos de melancia com duas a três semanas são mais suscetíveis à invasão pela bactéria, porque a medida que vão amadurecendo são cobertos com uma camada de cera que fecha os estômatos e previne a entrada da mesma (Hopkins *et al.*, 1992). A cera chega a cobrir 66-73 % dos estômatos cinco semanas após a antese (Hopkins *et al.*, 1993). Uma vez que a camada de cera se forma, frutos de melancia maduros podem ser invadidos por *A. avenae* subsp. *citrulli* apenas por ferimentos (Somodi *et al.*, 1991). Não existem estudos sobre a penetração da bactéria em frutos de melão no campo. Contudo, Araújo (2002) verificou

que a infecção em frutos maduros, pós-colheita, só ocorreu naqueles com ferimento. A bactéria pode colonizar a polpa do fruto até atingir as sementes, contaminando-as externa e internamente através da região do hilo (Isakeit, 1999). *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* parece não invadir sistemicamente as sementes de melão através do sistema vascular (Rane & Latin, 1992), embora Hopkins *et al.* (1996) tenham obtido sementes de melancia infectadas extraídas de frutos sem sintomas da mancha-aquosa, os quais estavam adjacentes a frutos tipicamente doentes.

Sumarizando o ciclo da mancha-aquosa, sementes infectadas ou infestadas originam plântulas doentes; a bactéria se dissemina entre as plântulas (Hopkins, 1993), sendo responsável por significativa proporção de mudas infectadas (Hopkins, 1994); à medida que as plantas vão crescendo no campo, o patógeno dissemina-se para novas folhas e plantas vizinhas; lesões nas folhas são a principal fonte de inóculo para frutos imaturos (Hopkins, 1995); frutos maduros infectados deixados no campo servem como fonte de infecção para plantas saudáveis (Latin, 1996) e os colhidos, como fonte de infecção pós-colheita (Rushing *et al.*, 1997). Esses aspectos revelam a natureza policíclica da doença com número limitado de ciclos por ano, tal como ocorre com a podridão negra das crucíferas (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson) (Kocks, 1998).

Não se dispõe atualmente de resultados concretos para controle da mancha-aquosa em meloeiro no Nordeste, sendo indicadas medidas preliminares, baseadas em experiências de outras regiões e resultados obtidos com outras culturas hospedeiras do mesmo patógeno (Viana *et al.*, 2000). Sabe-se, contudo, que uma vez introduzida em uma área, a erradicação é muito difícil (Sales Júnior & Menezes, 2001).

A primeira medida a ser tomada visando o controle da mancha-aquosa é a utilização de sementes livres da bactéria, de firmas credenciadas e em embalagens herméticas (Santos & Viana, 2000; Viana *et al.*, 2000). O controle químico, tratando-se as sementes com hipoclorito de sódio 0,5 % por 20 minutos, ácido clorídrico 1,8 % por 5 minutos (Rane & Latin, 1992), ácido láctico 2 % por 20 minutos (Santos & Viana, 2000) ou estreptomicina por 16 horas (1 mg/ mL) (Sowell & Schaad, 1979), têm diminuído consideravelmente a transmissão no campo, mas não consegue erradicar a bactéria dos lotes de sementes infectadas natural e/ou artificialmente. O controle físico, tratando as sementes com água quente a 52° C por 10 minutos, é uma medida recomendada, uma vez que não interfere na fisiologia da semente e consegue diminuir a transmissão no campo (Santos & Viana, 2000). Contudo, o isolamento do patógeno da casca e do embrião de sementes de frutos sintomáticos de melancia e de sementes inoculadas artificialmente, indica que estas são interna e externamente contaminadas, e o tratamento de sementes parece não ser uma medida de controle prática para essa doença (Rane & Latin, 1992).

Para evitar doença em cultivos estabelecidos, deve ser realizada a proteção da planta através de aplicações quinzenais ou semanais com fungicidas cúpricos, iniciando-se na floração ou antes e prolongando-se até a maturação dos frutos (Walcott *et al.*, 2001) quando parecem aumentar as barreiras morfológicas à penetração do patógeno (Giles Frankle *et al.*, 1993).

Outras medidas de controle, principalmente após a entrada de *A. avenae* subsp. *citrulli* no campo são: rotação de culturas por pelo menos três anos; evitar plantio em áreas úmidas ou em períodos de muitas chuvas; efetuar adubação equilibrada, evitando excesso de nitrogênio (Viana *et al.*, 2000); erradicar plântulas/plantas com sintomas e

plantas voluntárias; manter temperatura e umidade em níveis baixos em casa de vegetação e estufa (Dias *et al.*, 1998); destruir restos de culturas, principalmente em campos infectados; evitar movimentação de pessoas ou implementos no campo quando as plantas estiverem molhadas (orvalho, irrigação, chuva); evitar plantio direto (Isakeit, 1999; O'Brien & Martin, 1999); eliminar cucurbitáceas silvestres, como a bucha e o melão-de-são-caetano (Viana *et al.*, 2000).

Alternativas para controle da mancha-aquosa devem ser testadas e dentre elas cita-se o biocontrole, com exemplo de sucesso para outras doenças e vários produtos biológicos já disponíveis no mercado internacional (Fravel, 2001).

O manejo da doença através do desenvolvimento de cultivares resistentes é a medida de controle mais viável (Hopkins *et al.*, 1993). Contudo, tentativas para selecionar cultivares de melancia com resistência a *A. avenae* subsp. *citrulli* têm produzido resultados inconsistentes, o que segundo Hopkins *et al.* (1993) seria explicado pela variabilidade genética dos isolados.

Devido à alta plasticidade genética e ao grau de dependência em relação aos fatores ambientais, os agentes fitopatogênicos estão mais sujeitos a variações genotípicas e fenotípicas do que os vegetais superiores. Os principais mecanismos geradores de variabilidade em bactérias se resumem nos processos de mutação somática, conjugação, transformação, transdução e herança extracromossômica (plasmídios) (Azevedo, 1998). As mutações ocorrem devido a erros na duplicação cromossômica durante a mitose (mutação somática). Ainda que as taxas de mutação por locus sejam baixas, as populações desses organismos são, na maioria das vezes, suficientemente grandes para permitir que os alelos mutantes persistam ao longo do tempo gerando alta diversidade genética. Além disso, logo que um novo caráter para

virulência apareça em um mutante, este poderá fazer parte dos processos de recombinação gênica (transformação, conjugação e transdução), podendo gerar indivíduos com níveis diferentes de virulência daqueles isolados que o originaram. Três tipos de adaptação que acontecem por alteração no material genético têm se mostrado nos fitopatógenos. Assim, patógenos podem adquirir habilidades para tolerância a substâncias tóxicas, para utilizar novas substâncias para crescimento e para mudar à virulência em relação às plantas hospedeiras (Casela & Guimarães, 1996).

A variabilidade de isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* não tem sido bem demonstrada, porém está implícita pelo fato de que na Coleção Americana de Cultura Tipo (ATCC) o isolado tipo da espécie não induz reação de hipersensibilidade em fumo (Schaad *et al.*, 1978), enquanto outros isolados do patógeno causam esta reação (Somodi *et al.*, 1991). Em adição, o isolado tipo foi reportado como moderadamente virulento a frutos de melancia (Sowell & Schaad, 1979), enquanto isolados identificados desde então foram altamente virulentos (Somodi *et al.*, 1991). Variabilidade ao nível subespecífico foi determinada por Walcott *et al.* (2000) utilizando análise de ácidos graxos celulares e de "fingerprinting" de DNA de 121 isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, os quais foram separados, respectivamente, em dois grupos e 14 haplotipos.

A extensão e a frequência da ocorrência de determinada doença, assim como a severidade, são significativamente influenciadas pelo grau de desvio de cada condição ambiental, do ponto no qual o desenvolvimento da doença é ótimo. A temperatura e umidade na superfície da planta são os fatores ambientais que afetam mais intensamente o início e o desenvolvimento de doenças (Agrios, 1997). Em cultivos tropicais e subtropicais, a temperatura tem papel regulatório, modulando o progresso da doença, já que temperaturas limitantes aos fitopatógenos raramente ocorrem nos trópicos. Nessas

condições, é a umidade, especialmente o molhamento foliar, que determina o aparecimento de doenças (Martins & Amorim, 1999). A disponibilidade de água é essencial para que haja infecção pela maioria dos fungos e bactérias fitopatogênicas (Silva *et al.*, 2001). A colonização de folhas e frutos por *A. avenae* subsp. *citrulli* requer alta umidade (O'Brien & Martin, 1999) que juntamente com temperatura elevada favorecem o progresso da doença (Latin, 1996). Durante períodos de temperaturas elevadas e dias ensolarados com chuvas ao entardecer, os sintomas da doença desenvolvem-se e a bacteriose dissemina-se sobre folhas e frutos mais rapidamente. A doença parece não se desenvolver durante tempo frio e chuvoso (Hopkins *et al.*, 1992). Infecções bem sucedidas podem ocorrer num período de 30 minutos de molhamento na folha à temperatura de 26°C (Latin, 1996). Na pós-colheita, o fator que mais influencia a disseminação da doença é a temperatura de armazenamento (Rushing *et al.*, 1997).

No desenvolvimento de estratégias de controle de doenças de plantas é importante conhecer a epidemiologia e a variabilidade das populações do patógeno, o que pode determinar o potencial de adaptação do organismo às condições adversas. Uma vez que os tipos de variabilidade mais frequentemente estudados em populações de patógenos são adaptações a diferentes genótipos do hospedeiro e resposta a químicos, estudos envolvendo a biologia do patógeno e componentes epidemiológicos da doença constituem-se importantes instrumentos da investigação (Brown, 1998).

Período de incubação, índice de doença, taxa de progresso da doença e área abaixo da curva de progresso da doença constituem importantes instrumentos comparativos e analíticos da intensidade da doença. O período de incubação indica a velocidade com que o patógeno coloniza o hospedeiro, o índice de doença reflete a severidade da doença, a taxa de progresso da doença revela a velocidade de crescimento

da severidade da doença no tempo, enquanto a área abaixo da curva de progresso da doença, que constitui a integração da intensidade da doença entre dois períodos de tempo, é a melhor representação temporal de uma epidemia, sendo utilizada para sumarizar a curva de progresso da doença (Campbell & Madden, 1990). Esses componentes têm sido empregados com sucesso para descrever a variabilidade patogênica de várias espécies bacterianas, incluindo *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson (Costa *et al.*, 2001b) e *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (Silveira *et al.*, 1998). Considerando que os isolados de um patógeno podem variar na quantidade de doença induzida no hospedeiro e na velocidade de aparecimento de sintomas (Parlevliet, 1979), componentes da doença podem ser considerados na caracterização da variabilidade de isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* e no estudo da influência de fatores ambientais, concentração de inóculo e idade de frutos na severidade da mancha-aquosa do melão.

Na tentativa de determinar as condições mais favoráveis aos fitopatógenos, o conhecimento da interação patógeno-hospedeiro-ambiente é imprescindível. Assim, a idade em que a planta hospedeira se torna mais suscetível, a faixa de temperatura e o período de exposição a umidificação, bem como a concentração de inóculo adequada para o estabelecimento de altos níveis de doença, devem ser definidos para cada associação patógeno-hospedeiro (Borges Neto *et al.*, 2000). Dados quantitativos sobre a dinâmica de *A. avenae* subsp. *citrulli* e desenvolvimento da mancha-aquosa no Brasil em relação a essas variáveis são escassos, uma vez que poucos estudos sobre o patossistema meloeiro-*A. avenae* subsp. *citrulli* foram conduzidos.

Apesar da importância da mancha-aquosa do melão para o Nordeste do Brasil, principalmente para os estados do Rio Grande do Norte e Ceará, não existem estudos

aprofundados sobre a variabilidade do patógeno e aspectos epidemiológicos que possam contribuir para a adoção de medidas adequadas no manejo integrado da doença. Por conseguinte, este trabalho teve como objetivos: caracterizar a variabilidade de *A. avenae* subsp. *citrulli* no estado do Rio Grande do Norte, quanto aos componentes da doença e reação de hipersensibilidade (Capítulo 2); avaliar a influência da duração e início do período de molhamento foliar, bem como da concentração de inóculo de *A. avenae* subsp. *citrulli* na severidade da mancha-aquosa em meloeiro (Capítulo 3) e; verificar a influência da temperatura, umidade, concentração de inóculo de *A. avenae* subsp. *citrulli* e idade de frutos no desenvolvimento da mancha-aquosa em melão (Capítulo 4).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. Environmental effects on the development of infectious plant disease. In: AGRIOS, G. N. (Ed.). **Plant pathology**. 4. ed. London: Academic Press, 1997. cap. 7, p. 143-152.

ARAÚJO, D. V. **Métodos de inoculação e preservação de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* e sobrevivência em sementes de melão**. 2002. 61f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2002.

ARAÚJO, J. L. P.; COSTA, N. D. **Perfil da exploração do melão nas Regiões de Mossoró e Açu-RN e Baixo Jaguaribe-CE**. Petrolina: EMBRAPA Semi-Árido, 1997. 11p. (Documento, 81).

ASSIS, S. M. P. et al. Mancha-aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, no Estado do Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 191, 1999.

ASSOULINE, I. et al. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* transmitted by solanaceous seeds. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 25, n. 2, p. 117, 1997.

AZEVEDO, J. L. **Genética de microrganismos**. Goiânia: Editora da UFG, 1998. 490 p.

BORGES NETO, C. R. et al. Influência da idade da planta, período de umidificação e concentração de inóculo no desenvolvimento de sintomas provocados por *Cercospora caricis* em tiririca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 138-142, 2000.

BRANDÃO FILHO, J. U. T.; VASCONCELOS, M. A. S. A cultura do melão. In: GOTO, R.; TIVELLI, S. W. (Org.). **Produção de hortaliça em ambiente protegido: condições subtropicais**. São Paulo: Fundação Editora da UNESP. 1998. p. 161-193.

BROWN, J. K. M. Surveys of variation in pathogen population and their applications to disease control. In: JONES, G. (Ed.). **The epidemiology of plant disease**. Dordrecht: Kluwer, 1998. p. 73-102.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990. 532 p.

CASELA, C. B.; GUIMARÃES, F. B. Especialização fisiológica de fungos fitopatogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 75-93, 1996.

COSTA, N. D. et al. **A cultura do melão**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 2001a. 117 p. (Coleção Plantar -série vermelha - Fruteiras)

COSTA, V. S. O.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J. Variabilidade de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no Estado de Pernambuco. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 27, n. 2, p.182-189, 2001b.

DATAFRUTA. **Exportação brasileira de frutas frescas**. Comparativo das exportações brasileiras de frutas frescas. 2001. Disponível em: <<http://www.famato.org.br/modules.php?name=Sections&sop=printpage&artid=31>>. Acesso em: 18 fev. 2002.

DAUB, M. E.; HAGEDORN, D. J. Resistance of *Phaseolus* line WBR 133 to *Pseudomonas syringae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 69, n. 10, p. 946-951, 1979.

DIAS, R. C. S. et al. Cadeia produtiva do melão no Nordeste. In: CASTRO, A. M. G. et al. **Cadeias produtivas e sistemas naturais: prospeção tecnológica**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1998. p. 440-493.

FAO. **FAOSTAT** Agricultural statistics database. Rome: World Agricultural Information Centre, 2002. Disponível em: <<http://apps.fao.org/lim500/nph-wrap.pl>>. Acesso em: 02 jul. 2002.

FERNANDES, P. M. G. C. **Armazenamento ambiente e refrigerado de melão, híbrido Orange Flesh, submetido à aplicação pós-colheita de cloreto de cálcio**. 1996. 68 f. Dissertação. (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 1996.

FRAVEL, D. **Commercial biocontrol products for use against soilborne crop disease**. Beltsville: Institute of Plant Science – USDA, 2001. Disponível em: <<http://www.bar.usda.gov/psi/bpdl/bioprod.html>>. Acesso em: 21 jan. 2002.

GILES FRANKLE, W.; HOPKINS, D.L.; STALL, R.E. Ingress of watermelon fruit blotch bacterium into fruit. **Plant Disease**, St. Paul, v. 77, n. 11, p. 1090-1092, 1993.

GITAITIS, R. D.; SAMUELSON, D. A.; STANDBERG, J. O. Scanning electron microscopy of ingress and establishment of *Pseudomonas albopreciptans* in sweet corn leaves. **Phytopathology**, St. Paul, v. 71, n. 2, p. 171-175, 1981.

GOMES, R. P. O meloeiro. In: GOMES, R. P. **Fruticultura brasileira**. São Paulo: Nobel, 1978. p. 338-342.

HOPKINS, D. L. Bacterial fruit blotch of watermelon: the hypothetical exam question becomes reality. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n.8, p. 761-765, 1995.

HOPKINS, D. L. Field spread of bacterial fruit blotch of watermelon. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, n. 4, p. 466, 1993.

HOPKINS, D. L. Spread of bacterial fruit blotch of watermelon in the greenhouse. **Phytopathology**, St. Paul, v. 84, n. 7, p. 755, 1994.

HOPKINS, D. L.; CUCUZZA, J. D.; WATERWON, J. C. Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of watermelon. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n.5, p. 529-532, 1996.

HOPKINS, D. L.; THOMPSON, C. M. Seed transmission of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in cucurbits. Gainesville, Florida, 2000. Disponível em: <[http://apsnet.org/meetings/div./so\)\)abs.asp](http://apsnet.org/meetings/div./so))abs.asp)>. Acesso em: 14 dez. 2001.

HOPKINS, D. L.; THOMPSON, C. M.; ELMSTROM, G. W. Resistance of watermelon seedlings and fruit to the fruit blotch bacterium. **HortScience**, Alexandria, v. 28, p. 122-123, 1993.

HOPKINS, D. L. et al. **Bacterial fruit blotch of watermelon**. Florida: American Sunmelon, 1992. 3 p. (Bulletin).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Banco de dados agregados**. Brasília: Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA, 2001. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp>>. Acesso em: 14 abr. 2002.

ISAKEIT, T. **Bacterial fruit blotch in watermelon**. Texas: The Agricultural Extension Service - USA, 1999. Disponível em: <<http://www.cygnus.tamu.edu/extlabn/vegetables/Watermelon/wmelon.htm>>. Acesso em: 22 dez. 2000.

ISAKEIT, T. et al. First report of infection of honeydew with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 6, p. 694, 1997.

KOCKS, C. G. Survival and extinction of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in soil. *European Journal of Plant Pathology*, Dordrecht, v.104, p. 911-923, 1998.

LANGSTON, D. B. et al. First report of a fruit rot of pumpkin caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Georgia. **Plant Disease**, St. Paul, v. 83, n. 2, p. 199, 1999.

LATIN, R.X. **Bacterial fruit blotch of cucurbits**. St. Paul: Plant Health Progress-USA, 1996. Disponível em: <<http://www.planthealthprogress.org/current/management/bacterialblotch/article.htm>>. Acesso em: 23 dez. 2001.

MARTINS, M. C.; AMORIM, L. Efeito do período de molhamento foliar em componentes monocíclicos da ferrugem do pessegueiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, 1999.

MENEZES, J. B. et al. Características do melão para exportação. In: ALVES, R. R. (Org.). **Melão pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA, 2000. p. 13-22. (Frutas do Brasil, 10).

O'BRIEN, R. G. **Bacterial fruit blotch of melons**. Department of Primary Industries. Queensland, 1999. Disponível na internet: <<http://www.dpi.qld.gov.au/doinotes/hortic/vegetable/h99144.html>>. Acesso em: 02 ago. 2000.

O'BRIEN, R. G.; MARTIN, A. L. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 39, p. 479-485, 1999.

OLIVEIRA, I. S.; JÚNIOR, R. S.; MARIANO, R. L. R. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*: método de isolamento e transmissão por sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, suplemento, p. 302, 2001.

PARLEVLIET, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 17, p. 203-222, 1979.

RANE, K. K.; LATIN, R. X. Bacterial fruit blotch of watermelon: Association of the pathogen with seed. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, n. 5, p. 509-512, 1992.

RANE, K. K.; LATIN, R. X. Investigation of bacterial fruit blotch of watermelon. **Phytopathology**, St. Paul, v. 80, n. 10, p. 1070, 1990.

ROBBS, C. F. Sobrevivência e disseminação de bactérias patogênicas a plantas frutíferas no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 26, n. 1, p. 172-174, 2000.

ROBBS, C. F.; RODRIGUES NETO, J.; BERIAN, L. O. S. Podridões de frutos de melão em pós-colheita causadas por bactérias no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 195, 1992.

ROBBS, C. F.; RODRIGUES NETO, J.; RAMOS, R. S.; SINIGAGLIA, C. Mancha bacteriana da melancia no estado de São Paulo, causada por *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. XLVIII, 1991.

RUSHING, J. W.; COOK, W. P.; KEINATH, A. P. Postharvest behavior of watermelon fruit blotch. In: HOPKINS, D. et al. **Bacterial fruit blotch of watermelon**. Tampa: Citrus & Vegetable Magazine, 1997. p. 5-6.

SALES JÚNIOR, R.; MENEZES, J. B. **Mapeamento das doenças fúngicas, bacterianas e viróticas do cultivo do melão no Estado do RN**. Mossoró: Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 2001. 25 p. (Relatório Técnico)

SANTOS, A. A.; VIANA, F. M. **Mancha-aquosa do melão**. Fortaleza: EMBRAPA-SPI, 2000. 2 p.

SCHAAD, N. W. et al. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 28, p. 117-125, 1978.

SILVA, S.R.; RIOS, G.P.; SILVA, C.S. Influência da resistência e do período de molhamento na infecção e desenvolvimento de lesões de ferrugem do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 726-731, 2001.

SILVEIRA, E. B. et al. Variability of *Ralstonia solanacearum* populations causing wilt tomato in agreste of Pernambuco, Brasil. **Bacterial Wilt Newsletter**, Austrália, n. 15, p. 8-10, 1998.

SOMODI, G. C. et al. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. **Plant Disease**, St. Paul., v.75, n. 10, p.1053-1056, 1991.

SOWELL, G.; SCHAAD, N. W. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* on watermelon: seed transmission and resistance of plant introductions. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 63, p. 437-441, 1979.

VIANA, F. M. P. et al. **Surto da mancha-aquosa em frutos de melão nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte**: recomendações preliminares de controle. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 4 p. (Comunicado Técnico, 50)

WALCOTT, R.R. et al. **Guidelines for managing bacterial fruit blotch disease**. Georgia, 2001. Disponível em: <<http://www.stalals.com/flyer.htm> >. Acesso em: 20 dez. 2001.

WALCOTT, R.R. et al. Investigating intraespecific variation of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* using DNA fingerprinting and whole cell fatty acid analysis. **Phytopathology**, St. Paul, v. 90, n. 2 , p. 191-196, 2000.

WALL, G. C.; SANTOS, V. M. A new bacterial disease of watermelon in the Mariana Islands. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, n. 12 , p. 1605, 1988.

WEBB, R. E.; GOTH, R . W. A seedborne bacterium isolated from watermelon. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 48, p. 818-821, 1965.

Capítulo II

**Variabilidade de *Acidovorax avenae*
subsp. *citrulli* no estado do Rio Grande
do Norte**

**Variabilidade de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* no estado
do Rio Grande do Norte***

Elineide B. Silveira^{1*}, Rosa L. R. Mariano^{2**}, Sami J. Michereff^{2**}

¹ Departamento de Biologia, Área de Microbiologia, elineidebs@yahoo.com.br

² Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade; Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife, PE

* Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco. (2002)

** Bolsista do CNPq.

Aceito para publicação em:

RESUMO

Silveira, E.B.; Mariano, R.L.R.; Michereff, S.J. Variabilidade de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* no estado do Rio Grande do Norte. **Summa Phytopathologica**.

Vinte isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* obtidos de frutos de melão infectados, coletados em plantios comerciais do estado do Rio Grande do Norte, foram analisados quanto à variabilidade em relação a componentes da doença e reação de hipersensibilidade. Sementes, plantas com 20 dias e frutos de melão com aproximadamente 70 dias foram inoculados com suspensão bacteriana pelos métodos de infiltração a vácuo, pulverização e injeção subepidérmica, respectivamente, em

condições de casa de vegetação. Plântulas e plantas foram avaliadas quanto aos componentes da doença: período de incubação, índice de doença, área abaixo da curva do progresso da doença e taxa de progresso da doença. Nos frutos foram determinados o período de incubação, o diâmetro da lesão externa e a profundidade da lesão. Foi verificada ainda a transmissão de *A. avenae* subsp. *citrulli* por sementes dos frutos inoculados. O teste de hipersensibilidade foi realizado em folhas de fumo e tomate. Pelo teste de agrupamento de Scott-Knott ($P=0,05$) os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* apresentaram variabilidade quanto ao índice de doença e área abaixo da curva de progresso da doença em plântulas; período de incubação, índice de doença e área abaixo da curva de progresso da doença em plantas e; período de incubação, diâmetro da lesão externa e profundidade da lesão em frutos. A transmissão da bactéria por sementes variou de 30 a 64 % e todos os isolados induziram reação de hipersensibilidade em folhas de fumo e tomate. A análise da distância Euclidiana por ligações simples confirmou a variabilidade entre os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, permitindo a separação destes em quatro grupos de similaridade.

Palavras-chave adicionais: mancha-aquosa, *Cucumis melo*, bactéria, Nordeste do Brasil.

ABSTRACT

Silveira, E.B.; Mariano, R.L.R.; Michereff, S.J. Variability of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in the state of Rio Grande do Norte. **Summa Phytopathologica.**

Twenty strains of Acidovorax avenae subsp. citrulli, obtained from infected melon fruits collected in commercial plantations in the state of Rio Grande do Norte, were analyzed for variability in relation to disease components and hypersensitive reaction. Seeds, 20-day-old plants, and fruits with approximately 70 days were inoculated with bacterial suspension by using, respectively, vacuum infiltration, atomization and sub-epidermal injection, under greenhouse conditions. Seedlings and plants were evaluated in relation to the disease components incubation period, disease index, area under the disease progress curve and disease progress rate. Incubation period, external lesion diameter and lesion depth were assessed in the fruits. The transmission rate of A. avenae subsp. citrulli in the seeds of inoculated fruits was also determined. Hypersensitive tests were performed on leaves of tobacco and tomato. According to the Scott-Knott test ($P=0.05$) A. avenae subsp. citrulli strains presented variability in relation to disease index and area under the disease progress curve in seedlings; incubation period, disease index and area under the disease progress curve in plants, and incubation period, external lesion diameter and lesion depth in fruits. Seed transmission ranged from 30 to 64 % and all strains induced hypersensitive reaction on tobacco and tomato leaves. The Euclidean distance - single linkage confirmed the variability among the A. avenae subsp. citrulli strains allowing their separation in four similarity groups.

Additional keywords: fruit blotch, Cucumis melo, bacteria, Northeast of Brazil

O cultivo do meloeiro (*Cucumis melo* L.) tem expressiva importância para os estados do Rio Grande do Norte, Bahia, Ceará, Pernambuco e Paraíba, responsáveis no

ano de 2000 por 93 % da oferta de melão do país (11), destacando-se o primeiro estado como o líder nacional de exportação de frutos (06). A partir de 1997, quando ocorreu o primeiro relato da mancha-aquosa, causada pela bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad et al.) Willems et al., nos plantios de meloeiro no Rio Grande do Norte (02), essa doença vem se expandindo e, no ano de 2000, os prejuízos acumulados na safra, sobretudo no período chuvoso, foram elevados, chegando a dizimar totalmente as produções em algumas lavouras nos municípios de Quixeré (Ceará) e Mossoró (Rio Grande do Norte) (25).

O controle da mancha-aquosa é baseado principalmente na utilização de sementes sadias, tratamento químico e físico de sementes, proteção da planta com fungicidas cúpricos, rotação de culturas, erradicação de plantas doentes e cucurbitáceas silvestres, evitar plantios em áreas úmidas e épocas de chuva (25, 29). Contudo, outras estratégias de controle, como a utilização de cultivares resistentes, são necessárias para manejo eficiente dessa doença em meloeiro. Tentativas para selecionar cultivares de melancia com resistência a *A. avenae* subsp. *citrulli* têm produzido resultados inconsistentes, o que, segundo HOPKINS et al. (10), seria explicado pela variabilidade genética dos isolados testados.

O desenvolvimento e o sucesso de programas de melhoramento visando resistência a doenças depende do conhecimento sobre a variabilidade do patógeno (23). A existência de variabilidade poderá ter implicações no melhoramento para resistência à mancha-aquosa, especialmente na estabilidade e durabilidade da resistência. Tendo em vista que os isolados de um patógeno podem diferir na quantidade de doença induzida no hospedeiro e na velocidade de aparecimento dos sintomas (21), componentes da doença podem ser considerados na caracterização da variabilidade de isolados de um

patógeno. Componentes da doença têm sido empregados com sucesso para descrever variabilidade patogênica de várias espécies bacterianas, incluindo *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson (05) e *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. (27). Em função da diversidade de respostas induzidas por *A. avenae* subsp. *citrulli* no teste de hipersensibilidade em fumo (24, 28), esta característica também poderá ser utilizada em estudos de variabilidade desse patógeno.

Considerando a falta de informações sobre essa bactéria no Nordeste do Brasil, o presente trabalho teve como objetivo estudar a variabilidade de isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* oriundos de áreas de plantio da região do Vale do Açu, no estado do Rio Grande do Norte, quanto aos componentes da doença e reação de hipersensibilidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

Foram utilizados 20 isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* pertencentes à coleção de bactérias do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Esses isolados foram obtidos de frutos de melão apresentando sintomas característicos da mancha-aquosa, coletados em diversos plantios comerciais nos municípios de Mossoró (Aac1), Baraúna (Aac1.5, Aac1.12, Aac1.45, Aac1.49, Aac1.50, Aac1.70, Aac1.71, Aac1.72, Aac1.73, Aac5.1, Aac5.3, Aac5.20) e Upanema (Aac1.35, Aac1.37, Aac1.38, Aac1.39, Aac1.40, Aac1.43, Aac5.16), localizados no Rio Grande do Norte, no ano de 2001. Os isolados com prefixo Aac1 foram provenientes de melão tipo Amarelo e os Aac5, oriundos de melão tipo Pele de sapo.

Variabilidade de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* baseada em componentes da doença

A variabilidade de 20 isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, baseada em componentes da doença, foi estudada em plântulas e plantas de meloeiro do tipo Amarelo, híbrido AF-682, e em frutos comerciais do tipo Amarelo, oriundos de plantios do Rio Grande do Norte. Nesse estudo foram utilizadas suspensões bacterianas contendo Tween 20 (0,005 %) ajustadas à concentração de $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, conforme equação previamente determinada.

Análise baseada nos sintomas em plântulas. No estudo de variabilidade em plântulas foi efetuada a inoculação em sementes de melão pelo método de infiltração a vácuo (15). Após lavadas em água corrente por 10 minutos e secas a temperatura ambiente ($27 \pm 2^\circ$ C), as sementes foram imersas na suspensão bacteriana, colocadas em dessecador (2 L) e submetidas a vácuo de 450 mg de Hg por dois minutos, seguindo-se rápida liberação. Este processo de infiltração foi repetido por duas vezes, e as sementes inoculadas foram colocadas em pratos plásticos perfurados sobre papel toalha, para secagem por 16 horas, à temperatura ambiente. As sementes foram plantadas em bandejas de isopor (poliestireno expandido) contendo substrato Plantmax[®] e mantidas em casa de vegetação. Após emergência, as plântulas foram mantidas em câmara úmida por 48 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída por dez plântulas. As plântulas foram avaliadas diariamente, até oito dias após o plantio, quanto à incidência e severidade da mancha-aquosa nos cotilédones e hipocótilo, determinando-se os seguintes componentes da doença: a) período de incubação (PI), calculado pelo número

de dias entre o plantio das sementes inoculadas e o surgimento dos sintomas da doença;

b) índice de doença (IDO), avaliado aos oito dias após o plantio, calculado de acordo com McKINNEY (17) pela fórmula $IDO = \frac{\Sigma (\text{grau da escala} \times \text{frequência})}{n^{\circ} \text{ total de unidades} \times \text{grau máximo da escala}}$, utilizando-se os dados de severidade da doença, estimada com o auxílio de escala descritiva de 0 a 5 (01), onde: 0 = plântulas sem sintomas, 1 = plântulas com lesões marginais em até 50 % de uma ou ambas as folhas cotiledonares, 2 = plântulas com lesões marginais em até 75 % de ambas as folhas cotiledonares; poucas lesões no centro do limbo; deformação foliar leve, 3 = plântulas com lesões marginais em 100 % de ambas as folhas cotiledonares; muitas lesões no centro do limbo; deformação foliar acentuada; enfezamento, 4 = plântulas com lesões marginais em 100 % de ambas as folhas cotiledonares; muitas lesões no centro do limbo progredindo para o hipocótilo; deformação foliar total; enfezamento e, 5 = necrose total das folhas cotiledonares e hipocótilo; tombamento e morte; c) área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculada pela expressão: $AACPD = \frac{\Sigma (y_i + y_{i+1})}{2 \cdot d_{ii}}$, onde y_i e y_{i+1} são os valores de severidade observados em duas avaliações consecutivas e d_{ii} o intervalo entre as avaliações (26) e; d) taxa de progresso da doença (TPD), estimada pelo parâmetro b da equação de regressão linear simples, tendo a proporção da severidade diária da doença (y) (dados originais) como variável dependente e o tempo em dias após a inoculação (x) como variável independente (04).

Foi avaliada também a influência do patógeno na viabilidade da semente, comparando com a testemunha (sementes tratadas com água destilada) através das variáveis: porcentagem de germinação, obtida pela relação entre o número de sementes plantadas e plântulas emergidas; índice de velocidade de germinação, determinado pelo somatório das razões do número de plântulas germinadas no período, pelo número de

dias decorridos da semeadura até a germinação (16) e; duração média do processo germinativo, obtido pelo número de dias decorridos da semeadura até a germinação no último dia de avaliação (18).

Análise baseada nos sintomas em plantas. No estudo de variabilidade em plantas de meloeiro, o cultivo foi feito em recipientes plásticos de 250 mL contendo substrato Plantmax[®], por 20 dias, quando folhas definitivas foram pulverizadas até o escorrimento com a suspensão do patógeno. As plantas foram submetidas à câmara úmida por 48 horas antes e depois da inoculação, sendo mantidas em casa de vegetação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por duas folhas por planta. As avaliações foram realizadas diariamente, até oito dias após inoculação, quanto à incidência e severidade da mancha-aquosa, determinando-se PI, IDO, AACPD e TPD, conforme descrito anteriormente. A avaliação da severidade da doença foi realizada com o auxílio de escala diagramática de 0 a 6, adaptada da utilizada para determinação da severidade da mancha zonada do pepino causada por *Leandria momordicae* (03) onde, 0 = sem sintomas, 1 = 1 a 5 % de área foliar infectada, 2 = 6 a 12 % de área foliar infectada, 3 = 13 a 37 % de área foliar infectada, 4 = 38 a 62 % de área foliar infectada, 5 = 63 a 87 % de área foliar infectada e, 6 = 88 a 100 % de área foliar infectada.

Análise baseada nos sintomas em frutos. Frutos de melão com aproximadamente 70 dias de idade foram inoculados pelo método de injeção subepidérmica (28). Após lavagem com água e sabão e secagem, cada fruto foi marcado em quatro linhas perpendiculares ao seu comprimento, depositando-se 100 µL da suspensão bacteriana

logo abaixo da superfície da casca, nos espaços intercelulares, em três pontos de cada linha, com auxílio de uma seringa hipodérmica. Os frutos colocados em casa de vegetação, sendo mantidos individualmente em câmara úmida por 48 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída por três pontos de inoculação. Os frutos foram avaliados diariamente quanto à incidência, e aos oito dias após a inoculação quanto à severidade da mancha-aquosa, determinando-se PI, diâmetro da lesão externa (DLE) e profundidade da lesão (PL), medidos com o auxílio de uma régua milimetrada.

A transmissão de *A. avenae* subsp. *citrulli* pelas sementes dos frutos inoculados foi também determinada. As sementes de cada fruto foram lavadas em água corrente e deixadas secar a temperatura ambiente. Quinze dias após, 100 sementes de cada tratamento foram plantadas em bandejas de isopor contendo substrato Plantmax[®] e mantidas em casa de vegetação. Após a emergência, as plântulas foram submetidas a câmara úmida por 48 horas e avaliadas oito dias após o plantio, quanto à presença de sintomas característicos da doença. A transmissão da doença foi calculada pela porcentagem de plântulas doentes do total de plântulas emergidas.

Durante o período de realização dos experimentos, a temperatura média na casa de vegetação foi de $30 \pm 3^\circ \text{C}$ e a umidade relativa do ar média foi de $81 \pm 2,5 \%$.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P=0,05$).

Variabilidade de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* baseada na reação de hipersensibilidade em plantas de fumo e tomate

Suspensões dos 20 isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, ajustadas à concentração de $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, foram infiltradas nos espaços intercelulares da região contida entre duas nervuras laterais, na face dorsal das folhas expandidas de plantas de tomate (cultivar Santa Cruz Kada Gigante) e fumo (cultivar NC-95). Após a infiltração, as plantas foram incubadas em ambiente com baixa umidade relativa do ar. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por uma área de infiltração. A avaliação foi realizada de 12 a 24 horas após o teste, observando-se a reação de hipersensibilidade, caracterizada por necrose e dessecamento do tecido da região infiltrada (14).

Agrupamento dos isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

O agrupamento dos isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* foi realizado pela análise da distância Euclidiana por ligações simples, utilizando os dados de PI, IDO, AACPD e TPD em plântulas e plantas, e PI, DLE e PL em frutos. A comparação dos valores médios para essas variáveis foi efetuada pela análise de correlação de Pearson, ao nível de 5 % de probabilidade.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram efetuadas com o auxílio dos programas SAEG (Sistema de análises estatísticas e genéticas, Viçosa, UFV, 1997) e STATISTICA for Windows (StatSoft Inc., Tulsa - OK, USA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Variabilidade de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* baseada em componentes da doença

Quando inoculados nas sementes de melão, não foi verificada influência significativa dos isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* sobre a porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e duração do período germinativo, que variaram de 97,5 a 100 %, de 3,1 a 3,3 sementes/dia e de 3,0 a 4,5 dias, respectivamente.

Ficou evidente que os isolados comportaram-se de maneira diferente no que diz respeito aos componentes da doença, quando inoculados em sementes, plantas e frutos de melão. Foram constatadas diferenças significativas ($P=0,05$) entre os isolados do patógeno quando considerada a maioria dos componentes da doença separadamente (Quadro 1), variando o número de agrupamentos dos isolados conforme o órgão da planta inoculado e a variável considerada, pelo teste de Scott-Knott. Não foram verificadas diferenças significativas ($P=0,05$) entre os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* quanto ao PI em plântulas, uma vez que todos foram reunidos num mesmo grupo segundo o teste de Scott-Knott. Por outro lado, foram constatadas diferenças significativas ($P=0,05$) quando considerados os PI em plantas e frutos, agrupando os isolados em três e dois grupos de similaridade, respectivamente. Os PI médios foram de 4,1 dias para plântulas, 2,2 dias para plantas e 2,9 dias para frutos, indicando alta agressividade dos isolados. Os reduzidos períodos de incubação verificados indicam que os métodos de inoculação utilizados foram eficientes e que as condições de temperatura ($30 \pm 3^\circ \text{C}$) e umidade relativa do ar ($81 \pm 2,5 \%$) da casa de vegetação foram favoráveis

ao desenvolvimento da doença, a exemplo do destacado por LATIN (13). Esses resultados estão em discrepância com os obtidos por ARAÚJO (01), empregando a mesma metodologia do presente estudo, em relação ao período de incubação do isolado Aac1.12 (6,9 dias) em plântulas, o que se deve provavelmente, à utilização de sementes extraídas de frutos comercializados, com germinação desuniforme. Em plantas de melancia com 10-12 dias, inoculadas por pulverização, RANE & LATIN (22) também verificaram que os sintomas da mancha-aquosa ocorriam 48 horas após a inoculação. Utilizando o mesmo método de inoculação em frutos de melão, ISAKEIT et al. (12) observaram sintomas somente após 10 dias da inoculação, enquanto SOMODI et al. (28) verificaram sintomas em frutos de melancia após dois dias.

Os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* diferiram significativamente ($P=0,05$) quanto ao IDO e AACPD (Quadro 1). O IDO variou de 58,0 % (Aac1.37) a 88,0 % (Aac1.45) em plântulas e de 14,6 % (Aac1.43) a 93,8 % (Aac5.3) em plantas. A diferença entre os valores de IDO indica a existência de variabilidade na virulência entre os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, à semelhança do verificado em outros patossistemas envolvendo doenças bacterianas da parte aérea, como por exemplo *X. campestris* pv. *campestris* em repolho (05). Os valores da AACPD variaram de 7,2 (Aac1.49) a 11,5 (Aac1.45 e Aac1.70) em plântulas, e de 3,9 (Aac1.43) a 24,8 (Aac1.70) em plantas, indicando a existência de variabilidade entre os isolados. Segundo FRY (07), essa variável é uma forte medida da atuação do isolado no desenvolvimento da doença.

Os isolados não diferiram significativamente entre si quanto à TPD da doença em plântulas, porém foram separados em três grupos de similaridade quando inoculados em plantas (Quadro 1). A TPD variou de 0,63 (Aac1.37) a 1,00 unidade de infecção/dia

(Aac1.45) e de 0,12 (Aac1.43) a 0,82 unidade de infecção/dia (Aac5.3) em plântulas e plantas, respectivamente. As maiores TPD observadas nas plântulas devem-se, provavelmente, ao método de inoculação da bactéria, podendo ter contaminado a semente interna e externamente, sendo menos afetada pelas condições ambientais.

Inoculações nos frutos, considerando as variáveis DLE e PL, possibilitaram a separação dos isolados em quatro e três grupos de similaridade, respectivamente (Quadro 1). Aos oito dias após inoculação, o diâmetro médio das lesões foi de 13,5 mm, enquanto a profundidade média atingiu 9,7 mm. SOMODI et al. (28) verificaram que frutos de melancia inoculados com isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, pelo mesmo método utilizado nesse trabalho, produziram lesões de até 9,4 cm de diâmetro aos 14 dias após inoculação. Em frutos infectados naturalmente, observa-se geralmente que a polpa já está bastante comprometida mesmo quando a lesão externamente se mostra com apenas alguns centímetros de diâmetro (29). Contudo, verificou-se que o DLE foi maior do que a PL, o que poderia ser explicado pelo método de inoculação utilizado, que favoreceu o desenvolvimento da lesão na casca do fruto.

Acidovorax avenae subsp. *citrulli* foi transmitida pelas sementes em níveis variando de 30 a 64 %, com 15 isolados apresentando até 50 % de transmissão. Em sementes de melão, coletadas de frutos naturalmente infectados na região do Vale do Açu no Rio Grande do Norte, OLIVEIRA et al. (20) obtiveram transmissão variando de 10 a 69 %, enquanto O'BRIEN & MARTIN (19) verificaram taxas de transmissão de 33 a 91 % a partir de sementes de melão naturalmente infectadas. Utilizando sementes de melancia 'Charleston Gray', oriundas de frutos infectados artificialmente com essa bactéria, HOPKINS et al. (09) constataram transmissão da mancha aquosa de 45,2 a 80,0 %. A partir de sementes de frutos de melancia naturalmente infectados, RANE &

LATIN (22) obtiveram transmissão da mancha-aquosa da ordem de 87,7 %. De acordo com HOPKINS et al. (09), *A. avenae* subsp. *citrulli* foi transmitida por sementes de frutos de melancia com sintomas típicos de mancha-aquosa, frutos com lesões necróticas, pequenas, e até de frutos sadios adjacentes a frutos doentes. A presença da bactéria nas sementes de todos os frutos inoculados pelo método de injeção sugere que ao colonizar a polpa do fruto, mesmo sem sintoma aparente atingindo a cavidade central do fruto, a bactéria é capaz de contaminar as sementes. A alta percentagem de transmissão encontrada evidencia o papel primordial da semente como agente de introdução do patógeno em áreas onde a doença não ocorre. Portanto, o agricultor deve utilizar apenas sementes com certificado de isenção para a mancha-aquosa, evitando o aproveitamento de sementes da própria lavoura para plantios futuros. Esta medida é essencial para evitar a ocorrência de surtos epidêmicos, com conseqüentes implicações de ordem econômica e social.

Variabilidade de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* baseada na reação de hipersensibilidade em plantas de fumo e tomate

Todos os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* induziram resposta típica de hipersensibilidade em folhas de fumo e tomate, não diferindo entre si. Reações de hipersensibilidade também foram obtidas por RANE & LATIN (22) em fumo, e por SOMODI et al. (28) em fumo e tomate, com isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* obtidos de melancia. Apesar de SADDLER (24) relatar que existe variabilidade entre os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* com relação à hipersensibilidade, não se recomenda a utilização desta reação em plantas de fumo e tomate como caráter diferencial de

variabilidade de isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* do Vale do Açu, no Rio Grande do Norte.

Agrupamento dos isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

Foram constatadas correlações significativas ($P=0,05$) de alguns componentes da doença dentro e entre os órgãos da planta inoculados (Quadro 2). Em plântulas, o IDO foi correlacionado positivamente com AACPD e TPD, e AACPD com TPD; em plantas, PI foi correlacionado negativamente com IDO e TPD, e IDO foi correlacionado positivamente com AACPD e TPD, e AACPD com TPD. Não foram detectadas correlações entre as variáveis PI, DLE e PL analisadas em frutos.

Foram observadas correlações positivas ou negativas significativas ($P=0,05$) entre PI em plântulas com as variáveis PI, IDO, AACPD e TPD analisadas em plantas, e correlações positivas ou negativas de todas as variáveis de plantas com PI em frutos. Essas correlações indicam que inoculações em sementes, plantas e frutos podem ser utilizadas para estudo da variabilidade de *A. avenae* subsp. *citrulli*. Apesar da presença de correlação entre alguns componentes da doença, os valores do coeficiente de correlação não foram elevados em todas as situações, indicando, conforme evidenciado por HABTU & ZADOKS (08), compensação mútua entre os componentes quando considerados diferentes isolados do patógeno.

Utilizando os dados médios obtidos para as variáveis PI, IDO, AACPD e TPD em plântulas e plantas, e PI, DLE e PL em frutos, a análise da distância Euclidiana por ligações simples, à distância de ligação 10, possibilitou a separação dos 20 isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, em quatro grupos de similaridade (Figura 1). Os isolados Aac5.1 e Aac1.43 constituíram, individualmente, dois grupos de similaridade. Os

isolados Aac1, Aac1.72 e Aac1.39, um grupo e os demais isolados, Aac1.5, Aac1.50, Aac1.71, Aac1.40, Aac5.3, Aac1.70, Aac1.45, Aac1.12, Aac1.37, Aac1.49, Aac5.16, Aac5.20, Aac1.35, Aac1.73 e Aac1.38, outro grupo. Em um mesmo grupo de similaridade foram agrupados isolados obtidos de áreas distintas de plantio, como Aac1 (Mossoró) e Aac1.72 (Baraúna), bem como de frutos dos tipos Amarelo (Aac1.5) e Pele de Sapo (Aac5.3), indicando não ser o local de origem ou o tipo de meloeiro fatores que influenciam na variabilidade.

O agrupamento geral dos isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, realizado com base nos componentes da doença, permitiu a detecção da variabilidade entre os mesmos. Esses resultados são particularmente importantes porque enfatizam a necessidade de se testar diferentes isolados do patógeno em um programa de manejo integrado da mancha-aquosa na região de Vale do Açu, no Rio Grande do Norte, principalmente quando a base do programa for a utilização de cultivares resistentes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, e ao Dr. Rui Sales Júnior (ESAM/PROFRUTAS-CDSV-RN) pela concessão de sementes e frutos de melão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01.ARAÚJO, D. V. **Métodos de inoculação e preservação de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* e sobrevivência em sementes de melão.** 2002. 61f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2002.
- 02.ASSIS, S.M.P.; MARIANO, R.L.R.; SILVA-HANLIN, D.M.W.; DUARTE, V. Mancha-aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, no estado do Rio Grande do Norte. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.24, n.2, p.191. 1999.
- 03.AZEVEDO, L.A.S. **Manual de quantificação de doenças de plantas.** São Paulo: Luiz Azevedo, 1997. 114p.
- 04.CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology.** New York. John Wiley & Sons. 1990. 532p.
- 05.COSTA, V.S.O.; MARIANO, R.L.R.; MICHEREFF, S.J. Variabilidade de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no Estado de Pernambuco. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.27, n.2, p.182-189, 2001.
- 06.DIAS, R.C.S.; COSTA, N.D.; CERDAN, C.; SILVA, P.C.G.; QUEIROZ, M.A.; ZUZA, F.; KEITE, L.A.S.; PESSOA, P.F.A.P.; TERRAO, D.A. Cadeia produtiva do melão no Nordeste. In: CASTRO, A.M.G.; LIMA, S.M.V.; GOEDERT, W.J.;

- FILHO, A.F.; VASCONCELOS, J.R.P. (Eds.) **Cadeias produtivas e sistemas naturais: prospeções tecnológicas**. Brasília: SPI, 1998. p 440-493.
- 07.FRY, W.E. Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. **Phytopathology**, St. Paul, v.68, n. 11, p.1650-1655, 1978.
- 08.HABTU, A.; ZADOKS, J.C. Components of partial resistance in phaseolus beans against an Ethiopian isolate of bean rust. **Euphytica**, Dordrecht, v.83, p.95-102, 1995.
- 09.HOPKINS, D. L.; CUCUZZA, J. D.; WATERWON, J. C. Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of watermelon. **Plant Disease**, St. Paul, v.80, n.5, p.529-532, 1996.
- 10.HOPKINS, D.L.; THOMPSON, C.M.; ELMSTROM, G.W. Resistance of watermelon seedlings and fruit to the fruit blotch bacterium. **HortScience**, Alexandria, v.28, p.122-123, 1993.
- 11.INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Banco de dados agregados**. Brasília: Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA, 2001. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp>>. Acesso em: 14 abr. 2002.

12. ISAKEIT, T.; BLACK, M.C.; BARMES, L.W.; JONES, J.B. First report of infection of honeydew with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, n.6, p.694, 1997.
13. LATIN, R.X. **Bacterial fruit blotch of cucurbits**. St. Paul: Plant Health Progress-USA, 1996. Disponível em: <<http://www.planthealthprogress.org/current/management/bacterialblotch/article.htm>>. Acesso em: 23 dez. 2001.
14. MARIANO, R.L.R. Reação de hipersensibilidade a bactérias fitopatogênicas. In: MARIANO, R.L.R. (Coord.) **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife. Imprensa Universitária, 2000. p.65-66.
15. MARIANO, R.L.R.; ASSIS, S.M.P. Inoculação de bactérias fitopatogênicas. In: MARIANO, R.L.R. (Coord.) **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife. Imprensa Universitária, 2000. p.53-63.
16. MAGUIRE, J.D. Speed of germination - aid in selection and evolution for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madson, v.2, p.289-294, 1962.
17. McKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, p.195-218, 1923.
18. MINISTÉRIO DE AGRICULTURA E REFORMA AGRÁRIA - MARA. Teste de germinação. In: MARA. **Regras para análise de semente**. Brasília: MARA, 1992. cap. 5. p. 81-138.

- 19.O'BRIEN, R.G.; MARTIN, A.L. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v.39, p.479-485, 1999.
- 20.OLIVEIRA, I.S.; JÚNIOR, R.S.; MARIANO, R.L.R. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*: isolamento e transmissão por sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, suplemento, p.302, 2001.
- 21.PARLEVLIET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.17, p.203-222, 1979.
- 22.RANE, K.K.; LATIN, R.X. Bacterial fruit blotch of watermelon: Association of the pathogen with seed. **Plant Disease**, St. Paul, v.76, n.2, p.509-512, 1992.
- 23.RAVA, C.A.; ROMEIRO, R.S. Variabilidade de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* quanto a patogenicidade em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.16, n.3/4, p.225-232, 1990.
- 24.SADDLER, G.S. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. IMI descriptions of fungi and bacteria n° 1213. **Mycopathologia**, Dordrecht, v.128, p.47-48, 1994.
- 25.SANTOS, A.A.; VIANA, F.M. **Mancha-aquosa do melão**. Fortaleza: EMBRAPA. 2000. 2p.

26. SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v.67, n.8, p.1051-1056, 1977.
27. SILVEIRA, E.B.; GOMES, A.M.A.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R. Variability of *Ralstonia solanacearum* populations causing wilt tomato in agreste of Pernambuco, Brazil. **Bacterial Wilt Newsletter**, Australia, n.15, p.8-10, 1998.
28. SOMODI, G.C.; JONES, J.B.; HOPKINS, D.L.; STALL, R.E.; KUCHARAK, T.A.; HODGE, N.C.; WATERSON, J.C. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. **Plant Disease**, St. Paul, v.75, n.10, p.1053-1056, 1991.
29. VIANA, F.M.P.; SANTOS, A.A.; CARDOSO, J.E.; FREIRE, F.C.O.; LOPES, C.A. **Surto da mancha-aquosa em frutos de melão nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte: recomendações preliminares de controle**. Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2000. (Comunicado Técnico, 50)

Quadro 1 - Variabilidade de isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, com base em componentes da doença, avaliados em plântulas e plantas de meloeiro do híbrido AF-682 e frutos de melão do tipo Amarelo.

Isolado	Plântulas				Plantas				Frutos		
	PI ¹ (dias)	IDO (%)	AACPD	TPD (unidade de infecção/dia)	PI (dias)	IDO (%)	AACPD	TPD (unidade de infecção/dia)	PI (dias)	DLE (mm)	PL (mm)
Aac1	4,2 a ²	70,0 a	8,5 b	0,83 a	2,5 b	33,3 b	7,0 c	0,32 c	2,8 b	14,8 a	10,4 b
Aac1.5	4,0 a	73,5 b	9,2 a	0,83 a	2,0 c	83,3 a	19,1 a	0,64 a	2,5 b	14,8 a	9,4 c
Aac1.12	4,0 a	65,5 b	8,0 b	0,79 a	2,0 c	66,7 a	15,1 b	0,61 a	3,0 a	14,4 a	11,5 a
Aac1.35	4,0 a	76,0 a	9,8 a	0,83 a	2,2 c	75,0 a	17,1 b	0,67 a	3,0 a	10,8 d	9,4 c
Aac1.37	4,0 a	58,0 b	7,4 b	0,63 a	2,0 c	68,8 a	15,9 b	0,49 b	3,0 a	14,7 a	9,7 c
Aac1.38	4,0 a	77,5 a	8,7 b	0,93 a	2,0 c	62,5 a	13,8 b	0,58 a	3,0 a	14,2 b	11,8 a
Aac1.39	4,2 a	71,5 a	8,4 b	0,90 a	3,0 a	25,0 c	4,9 c	0,24 c	2,8 b	10,8 d	9,1 c
Aac1.40	4,0 a	80,0 a	9,7 a	0,90 a	2,0 c	89,6 a	24,2 a	0,45 b	3,0 a	13,9 b	10,2 b
Aac1.43	4,0 a	82,0 a	10,5 a	0,90 a	3,0 a	14,6 c	3,9 c	0,12 c	2,5 b	12,8 c	9,2 c
Aac1.45	4,0 a	88,0 a	11,5 a	1,00 a	2,0 c	79,2 a	20,0 a	0,42 b	3,0 a	13,1 b	9,1 c
Aac1.49	4,0 a	59,5 b	7,2 b	0,76 a	2,2 c	75,0 a	16,4 b	0,67 a	3,0 a	14,7 a	10,3 b
Aac1.50	4,0 a	78,5 a	9,7 a	0,88 a	2,0 c	83,3 a	18,6 a	0,73 a	3,0 a	14,8 a	10,3 b
Aac1.70	4,0 a	87,2 a	11,5 a	0,92 a	2,0 c	91,7 a	24,8 a	0,42 b	3,0 a	11,0 d	10,0 b
Aac1.71	4,0 a	80,5 a	10,7 a	0,84 a	2,0 c	83,3 a	20,2 a	0,69 a	3,0 a	15,5 a	9,3 c
Aac1.72	4,2 a	66,8 b	8,1 b	0,79 a	3,0 a	41,7 b	7,9 c	0,46 b	2,8 a	15,0 a	8,1 c
Aac1.73	4,0 a	76,0 a	9,7 a	0,86 a	2,0 c	71,1 a	16,6 b	0,62 a	3,0 a	15,0 a	9,5 c
Aac5.1	4,0 a	77,0 a	10,1 a	0,86 a	2,2 c	50,0 b	11,2 b	0,42 b	2,5 b	11,7 d	10,6 b
Aac5.3	4,0 a	83,0 a	10,0 a	0,92 a	2,0 c	93,8 a	21,4 a	0,82 a	3,0 a	13,7 b	9,5 c
Aac5.16	4,0 a	64,8 b	7,9 b	0,76 a	2,0 c	75,0 a	19,4 a	0,50 b	3,0 a	15,8 a	9,3 c
Aac5.20	4,0 a	68,2 b	8,4 b	0,77 a	2,0 c	75,0 a	16,2 b	0,49 b	2,8 b	13,7 b	10,2 b
Médias	4,1	73,4	9,1	0,84	2,2	64,6	15,1	0,50	2,9	13,5	9,7
CV (%)	2,2	15,9	18,3	15,84	13,7	22,4	24,6	29,45	9,6	6,6	6,8

¹ PI = período de incubação, calculado pelo número de dias entre o plantio das sementes (plântulas) ou a inoculação (plantas e frutos) e o surgimento dos sintomas da doença; IDO = índice de doença aos oito dias após o plantio (plântulas) ou inoculação (plantas), calculado de acordo com McKINNEY (17), utilizando-se os dados de severidade da doença, estimada com o auxílio de escalas diagramáticas (01, 03); AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença, calculada conforme SHANER & FINNEY (26); TPD = taxa de progresso da doença estimada por regressão linear simples, tendo a proporção da severidade diária da doença (dados originais) como variável dependente e o tempo em dias após a inoculação como variável independente (04); DLE e PL = diâmetro da lesão externa e profundidade da lesão em fruto, respectivamente, medida em mm, aos oito dias após a inoculação;

² Médias de dez (plântulas), cinco (plantas) e quatro (frutos) repetições. Médias seguidas da mesma letra, no sentido vertical, não diferem significativamente entre si ($P=0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

Quadro 2- Matriz de correlação dos componentes da doença período de incubação (PI), índice de doença (IDO), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e taxa de progresso da doença (TPD), avaliados em plântulas e plantas, e PI, diâmetro da lesão externa (DLE) e profundidade da lesão (PL) avaliados em frutos, analisados para 20 isolados de *Acidovorax avenae* subsp *citrulli*, em casa de vegetação.

Variável	Plântula				Planta				Fruto		
	PI	IDO	AACPD	TPD	PI	IDO	AACPD	TPD	PI	DLE	PL
PI ¹	1,00	-0,24	-0,30	-0,03	0,68*	-0,64*	-0,66*	-0,45*	-0,28	-0,07	-0,33
IDO ¹	-	1,00	0,95*	0,89*	-0,17	0,20	0,30	-0,05	0,00	-0,14	-0,08
AACPD ¹	-	-	1,00	0,76*	-0,18	0,23	0,33	-0,07	-0,03	-0,42	-0,19
TPD ¹	-	-	-	1,00	0,00	0,03	0,10	-0,13	-0,02	-0,42	0,02
PI ²	-	-	-	-	1,00	-0,82*	-0,81	-0,57*	-0,48*	-0,34	-0,43
IDO ²	-	-	-	-	-	1,00	0,98*	0,75*	0,61*	0,21	0,13
AACPD ²	-	-	-	-	-	-	1,00	0,62*	0,61*	0,15	0,10
TPD ²	-	-	-	-	-	-	-	1,00	0,53*	0,38	0,18
PI ³	-	-	-	-	-	-	-	-	1,00	0,21	0,18
DLE ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,00	0,05
PL ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,00

¹ Variáveis analisadas em plântulas;

² Variáveis analisadas em plantas;

³ Variáveis analisadas em frutos.

* Coeficientes de correlação de Pearson seguidos por asterisco são significativos a P=0,05.

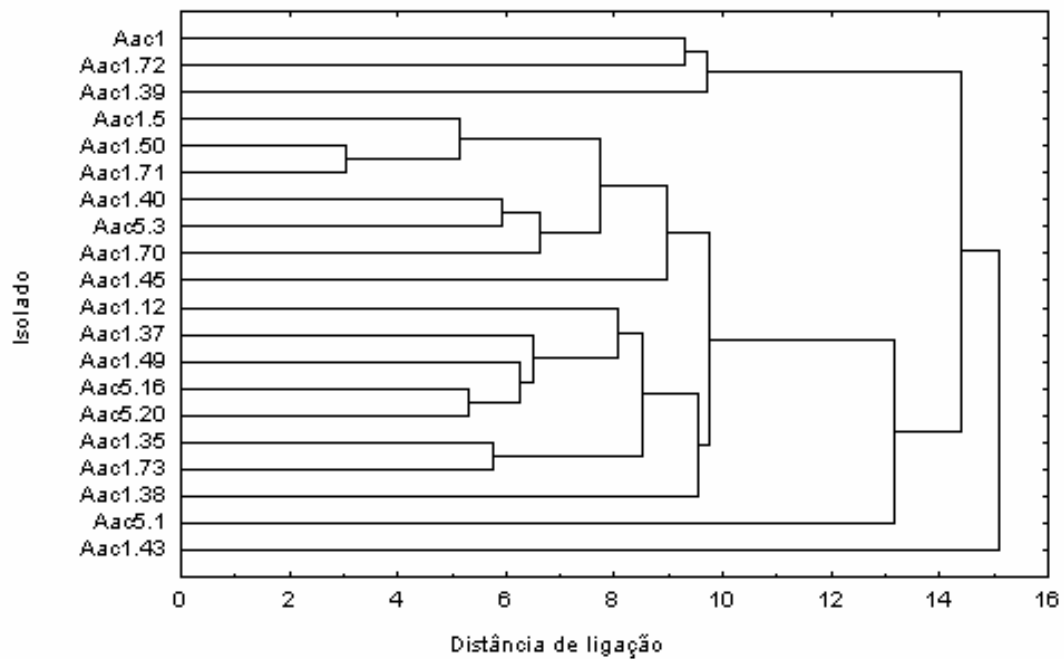


Figura 1 - Agrupamento de isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* procedentes de diferentes áreas de cultivo de meloeiro na região do Vale do Açu no Estado do Rio Grande do Norte, baseado na análise da distância Euclidiana por ligações simples, considerando os componentes da doença em plântulas e plantas (período de incubação, índice de doença, área abaixo da curva de progresso da doença e taxa de progresso da doença) e frutos (período de incubação, diâmetro da lesão externa e profundidade da lesão).

Capítulo III

Influência do molhamento foliar e da concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* na severidade da mancha-aquosa em meloeiro

**INFLUÊNCIA DO MOLHAMENTO FOLIAR E DA CONCENTRAÇÃO
DE INÓCULO DE *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* NA SEVERIDADE DA
MANCHA-AQUOSA EM MELOEIRO**

ELINEIDE B. SILVEIRA^{1*}, SAMI J. MICHEREFF^{2} &**

ROSA L. R. MARIANO^{2}**

¹ Departamento de Biologia, Área de Microbiologia, e-mail:

elineidebs@yahoo.com.br; ² Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade;

Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife, PE.

(Aceito para publicação em / /)

Autor para correspondência: Elineide B. Silveira

SILVEIRA, E.B., MICHEREFF, S.J. & MARIANO, R.L.R. Influência do molhamento foliar e da concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* na severidade da mancha-aquosa em meloeiro. Fitopatologia Brasileira

RESUMO

Avaliou-se a influência da duração do período de molhamento foliar (0, 6, 12, 24 e 48 horas), início do período de molhamento foliar (0, 6, 12, 24 e 48 horas após inoculação) e da concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ($3,4 \times 10^1$ a $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹) na severidade da mancha-aquosa em meloeiro. Foram

utilizados três isolados do patógeno e os híbridos de meloeiro tipo Amarelo, AF-646 e AF-682. As folhas das plantas com 20 dias foram pulverizadas com a suspensão bacteriana e mantidas em casa de vegetação, sendo determinados período de incubação, taxa de progresso da doença, índice de doença e área abaixo da curva de progresso da doença. As equações de regressão para as variáveis analisadas foram melhores ajustadas pelos modelos quadrático ou logarítmico. O período de incubação variou de 1,3 a 2,7 dias e foi maior nas plantas sem molhamento foliar. O índice de doença e a área abaixo da curva de progresso da doença aumentaram com o incremento da duração do molhamento foliar. Mesmo na ausência do molhamento foliar ocorreram sintomas da mancha-aquosa com índice de doença e área abaixo da curva de progresso da doença de 43,4 e 8,9, respectivamente. O início do período de molhamento foliar às 48 horas após inoculação elevou o período de incubação e a taxa de progresso da doença em relação aos demais períodos. A taxa de progresso da doença, índice de doença e área abaixo da curva de progresso da doença aumentaram com o incremento da concentração de inóculo de *A. avenae* subsp. *citrulli*, atingindo os valores máximos de 4,4 unidades de infecção/dia, 73,73 % e 18,9, respectivamente, na concentração $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹.

Palavras-chave: *Cucumis melo*, epidemiologia, bacteriose, Nordeste do Brasil.

ABSTRACT

Influence of leaf wetness and inoculum concentration of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on the severity of the melon fruit blotch

The influence of leaf wetness period (0, 6, 12, 24 and 48 h), beginning of the leaf wetness period (0, 6, 12, 24 and 48 h after inoculation) and inoculum concentration (3.4×10^1 to 3.4×10^7 CFU mL⁻¹) of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on severity of melon fruit blotch was evaluated. Three pathogen strains and the yellow hybrids AF-

646 and AF-682 were utilized. Leaves of 20-day-old plants were atomized with a bacterial suspension, placed in a greenhouse and assessed daily for the determination of incubation period, disease progress rate, disease index and area under disease progress curve. The regression equations for the analyzed variables were better adjusted by the quadratic or logarithmic models. The incubation period ranged from 1.3 to 2.7 days and was higher in plants without leaf wetness. The disease index and area under disease progress curve increased as the leaf wetness period increased. Even in the absence of leaf wetness, disease index and area under disease progress curve were 43.4% and 8.9, respectively. The beginning of the leaf wetness period at 48 h after inoculation elevated the incubation period and disease progress rate in relation to the other periods. The disease progress rate, disease index and area under disease progress curve increased as the inoculum concentration increased, reaching maximum values of 4.4 infection units/day, 73.73 % and 18.9, respectively, at 3.4×10^7 CFU mL⁻¹.

* Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco. (2002)

** Bolsista do CNPq

INTRODUÇÃO

Em 1997, a mancha-aquosa, causada pela bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad *et al*) Willems *et al.*, foi observada pela primeira vez em campos comerciais de meloeiro (*Cucumis melo* L.) no estado do Rio Grande do Norte, causando lesões em frutos (Assis *et al.*, 1999). Atualmente, essa doença ocorre nas zonas produtoras desse estado de forma epidêmica, com perdas na produção de até 100 %

(Sales Júnior & Menezes, 2001). A mancha-aquosa em meloeiro também foi assinalada nos Estados Unidos da América (Isakeit *et al.*, 1997) e na Austrália (O'Brien & Martin, 1999). A bactéria é transmitida por sementes e a doença pode ter sido introduzida no Brasil inadvertidamente pela importação de sementes infectadas (Assis *et al.*, 1999).

Os sintomas da mancha-aquosa ocorrem em plântulas, folhas e frutos, sendo mais comuns e facilmente visualizados nos frutos (Santos & Viana, 2000). Mesmo quando a infecção na folha tem pouco ou nenhum efeito sobre o desenvolvimento da planta, representa importante reservatório da bactéria para infecção nos frutos (Isakeit, 1999).

Em cultivos tropicais e subtropicais, a temperatura tem papel regulatório, modulando o progresso da doença, já que temperaturas limitantes a fitopatógenos raramente ocorrem nos trópicos. Nessas condições, a umidade, especialmente o molhamento foliar, determina o aparecimento de doenças (Martins & Amorim, 1999). Medida em termos de quantidade e duração, a umidade é essencial para infecção pela maioria dos fungos e bactérias fitopatogênicas (Silva *et al.*, 2001). Para *A. avenae* subsp. *citrulli*, alta umidade é requerida para colonização de folhas e frutos (O'Brien & Martin, 1999), que juntamente com temperatura elevada, favorece o progresso da doença (Latin, 1996).

Apesar da importância da mancha-aquosa, pesquisas sobre a epidemiologia da doença em meloeiro não existem no Brasil e são escassas mundialmente. Este trabalho teve como objetivo estudar a influência da duração e do início do período de molhamento foliar, bem como da concentração do inóculo de *A. avenae* subsp. *citrulli* na severidade da mancha-aquosa em meloeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Em todos os experimentos foram utilizados os isolados Aac1.50, Aac1.72 e Aac 1.39 de *A. avenae* subsp. *citrulli* pertencentes à coleção de bactérias do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Esses isolados foram obtidos de frutos de melão tipo Amarelo apresentando sintomas característicos da mancha-aquosa, coletados em diversos plantios comerciais nos municípios no Rio Grande do Norte, no ano de 2001.

Influência da duração do período de molhamento foliar na severidade da mancha-aquosa em meloeiro

Meloeiros com 20 dias de idade, cultivados em copos plásticos de 250 mL contendo substrato Plantmax[®], foram pulverizados até o escorrimento com suspensão de *A. avenae* subsp. *citrulli* contendo Tween 20 (0,005 %), ajustada à concentração de $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, conforme equação previamente estabelecida. As plantas foram submetidas à câmara úmida constituída por saco plástico transparente previamente umedecido, por 48 horas antes da inoculação, e após a inoculação, aos períodos de molhamento de 0, 6, 12, 24 e 48 horas. Os diferentes períodos de molhamento foliar foram realizados com a retirada da câmara úmida após cada tempo desejado. O período zero de molhamento correspondeu à ausência da câmara úmida após a inoculação. As plantas foram mantidas em condições de casa de vegetação (temperatura média de $30 \pm 3^\circ$ C e umidade relativa do ar média de $81 \pm 2,5$ %), durante todo o ensaio. A irrigação foi efetuada pela deposição de água nos recipientes plásticos colocados na base dos copos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial, representado por três isolados do patógeno, dois híbridos de meloeiro e cinco períodos de molhamento foliar, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por duas

folhas da planta. As avaliações foram realizadas diariamente, até oito dias após a inoculação, determinando-se os seguintes componentes da doença: a) período de incubação (PI), calculado pelo número de dias entre a inoculação e o surgimento dos sintomas da doença; b) índice de doença (IDO), aos oito dias após a inoculação, calculado de acordo com McKinney (1923) pela fórmula $IDO = \frac{\Sigma (\text{grau da escala} \times \text{frequência}) \times 100}{n^{\circ} \text{ total de unidades} \times \text{grau máximo da escala}}$, utilizando-se os dados de severidade da doença, estimada com o auxílio de escala de notas de 0 a 6, adaptada da escala diagramática para determinação da severidade da mancha zonada do pepino causada por *Leandria momordicae* (Azevedo, 1998) onde, 0 = sem sintomas, 1 = 1 a 5 % de área foliar infectada, 2 = 6 a 12 % de área foliar infectada, 3 = 13 a 37 % de área foliar infectada, 4 = 38 a 62 % de área foliar infectada, 5 = 63 a 87 % de área foliar infectada e, 6 = 88 a 100 % de área foliar infectada; c) área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculada pela expressão: $AACPD = \Sigma (y_i + y_{i+1}) / 2 \cdot d_i$, onde y_i e y_{i+1} são os valores de severidade observados em duas avaliações consecutivas e d_i o intervalo entre as avaliações (Shaner & Finney, 1977) e; d) taxa de progresso da doença (TPD), estimada pelo parâmetro b da equação de regressão linear simples, tendo a proporção da severidade diária da doença (y) (dados originais) como variável dependente e o tempo em dias após a inoculação (x) como variável independente (Campbell & Madden, 1990).

Influência do início do período de molhamento foliar na severidade da mancha-aquosa em meloeiro

Os meloeiros foram submetidos a pré-tratamento em câmara úmida por 48 horas e inoculados de acordo com a metodologia descrita anteriormente. O molhamento foliar

teve início 0, 6, 12, 24 e 48 horas após a inoculação, e as plantas permaneceram nas câmaras úmidas por 48 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial, representado por três isolados do patógeno, dois híbridos de meloeiro e cinco inícios de períodos de molhamento, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por duas folhas da planta. As plantas foram avaliadas quanto ao PI, IDO, AACPD e TPD.

Influência da concentração do inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* na severidade da mancha-aquosa em meloeiro

Os meloeiros foram inoculados com os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, nas concentrações de 0; $3,4 \times 10^1$; $3,4 \times 10^2$; $3,4 \times 10^3$; $3,4 \times 10^4$; $3,4 \times 10^5$; $3,4 \times 10^6$ e $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, sendo mantidos em câmara úmida por 48 horas antes e após a inoculação, seguindo a metodologia descrita anteriormente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial, representado por três isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, dois híbridos de meloeiro e oito concentrações de inóculo, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por duas folhas da planta. As plantas foram avaliadas quanto ao PI, IDO, AACPD e TPD.

Análises estatísticas

Os dados dos experimentos foram submetidos à análise de regressão linear e não-linear, visando selecionar os modelos que propiciassem os melhores ajustes às curvas de severidade da mancha-aquosa, com base na plotagem do resíduo, no coeficiente de determinação (R^2) e no quadrado médio do resíduo (QMR), considerando-se os valores

recalculados, com auxílio do programa SAS User'S guide: statistics, Version 8 (SAS Intitute Inc., Cary, USA, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tentativa de determinar as condições mais favoráveis aos fitopatógenos, o conhecimento da interação patógeno-hospedeiro-ambiente é imprescindível, principalmente quando se buscam alternativas de controle. Não foi verificada influência significativa dos isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* e dos híbridos de meloeiro na severidade da mancha-aquosa, motivo pelo qual foram analisados conjuntamente. As interações entre isolados, híbridos e molhamento foliar ou concentração de inóculo do patógeno também não foram significativas. Assim, são apresentados apenas os dados da influência da duração do molhamento foliar, do início do período de molhamento e da concentração de inóculo na severidade da mancha-aquosa em meloeiro.

A duração do período de molhamento foliar influenciou significativamente ($P \leq 0,05$) o período de incubação (PI), o índice de doença (IDO) e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Dos três modelos matemáticos testados (linear, logarítmico e quadrático), os que apresentaram melhores ajustes para duração do período de molhamento foliar foram o logarítmico para PI e o quadrático para IDO e AACPD (Figura 1). A duração do período de molhamento foliar não influenciou significativamente a taxa de progresso da doença. O PI da doença variou de 1,3 a 2,7 dias, sendo maior nas plantas sem molhamento foliar, correlacionando-se com menor severidade da doença avaliada pelo IDO e AACPD. O IDO aumentou com o prolongamento do molhamento foliar, sendo o maior índice (80,3 %) obtido com 48 horas. A AACPD aumentou até 24 horas de período de molhamento, a partir do qual

começou a declinar. Segundo Godoy *et al.* (1999), a resposta da duração do período de molhamento na severidade de doenças normalmente é descrita por modelos não-lineares que assumem as premissas básicas de que a severidade aumenta com a duração do período de molhamento e tende a um limite superior quando o período de molhamento é prolongado. Mesmo na ausência de molhamento verificaram-se sintomas da mancha-aquosa com valores de IDO e AACPD de 43,4 e 8,9, respectivamente, indicando que o desenvolvimento da doença pode ocorrer sem a presença de água livre na superfície das folhas de meloeiro. É possível que *A. avenae* subsp. *avenae*, aplicada em alta concentração e em plantas submetidas ao pré-tratamento em câmara úmida, tenha penetrado através das aberturas naturais, principalmente estômatos e, uma vez no interior da folha, iniciado o processo de infecção. Além disto, a umidade relativa do ar de $81 \pm 2,5$ % na casa de vegetação foi favorável à doença. O aumento do IDO e AACPD com a elevação da duração do período de molhamento foliar confirma a hipótese de que apesar de não ser essencial, a água livre é um fator que favorece o aumento da severidade da doença. Segundo Latin (1996), infecções bem sucedidas de *A. avenae* subsp. *citrulli* em melão podem ocorrer com período de 30 minutos de molhamento foliar à temperatura de 26° C. A umidade foi relatada como importante fator para o desenvolvimento de epidemias da mancha-aquosa em melancia. Na Austrália, durante 1996 e 1997, plântulas de melão infectadas, provenientes de viveiros ao Norte de Queensland, não iniciaram epidemia quando transplantadas para o campo em época seca. Porém, em 1998, as condições de umidade favoreceram a infecção causando perdas substanciais (O'Brien & Martin, 1999). Apesar dos resultados demonstrarem a capacidade de *A. avenae* subsp. *citrulli* causar infecção mesmo na

ausência ou após curto período de molhamento, este fator é muito importante na previsão de epidemias da mancha-aquosa.

O início do período de molhamento foliar influenciou significativamente ($P \leq 0,05$) as variáveis PI e TPD, sendo o modelo quadrático o que apresentou melhor ajuste das equações, com coeficientes de determinação (R^2) de 65 e 82 %, respectivamente (Figura 2). O PI manteve-se praticamente constante (2,0 dias) nos períodos de 0 a 24 horas, sendo o maior valor (2,3 dias) verificado nas plantas submetidas a molhamento foliar 48 horas após inoculação, embora nestas a doença tenha progredido mais rapidamente, com TPD de 0,8 unidades de infecção/dia. O início do período de molhamento foliar não influenciou significativamente o IDO e a AACPD. Esses resultados indicam que após a chegada do inóculo na superfície foliar, na ausência de molhamento foliar, a população bacteriana inicia a infecção, como observado no primeiro experimento, com lesões incipientes e pouco visíveis embora homoganeamente distribuídas no limbo foliar. Com a elevação da umidade, a infecção torna-se generalizada e as lesões progridem rapidamente, coalescendo e formando grandes áreas necrosadas. Isto foi demonstrado pelo aumento da TPD. No campo, estando o inóculo na superfície da folha, chuvas ou mesmo irrigações por aspersão proporcionam condições favoráveis ao aumento da infecção. Embora não perceptível, é provável que no Rio Grande do Norte a mancha-aquosa esteja no campo durante todos os meses de plantio. Contudo, maior incidência e severidade da doença ocorrem após as chuvas. Nos Estados Unidos da América, a severidade da mancha-aquosa em melancia está associada à temperatura e umidade elevadas, comuns nas áreas de produção de frutos e mudas (Latin, 1996).

Outro aspecto importante do molhamento foliar, mas que não foi objeto do presente estudo, é a atuação na disseminação do patógeno. Segundo O'Brien & Martin (1999), a disseminação secundária no viveiro ou campo, ocorre pela chuva ou irrigação por aspersão, a partir de folhas infectadas. A bactéria pode disseminar-se rapidamente, e poucos sítios de infecção primária podem resultar em 100% de infecção nos frutos na época da colheita (Hopkins *et al.*, 1992). No Rio Grande do Norte a irrigação por gotejamento é um fator que não favorece a umidade foliar sendo, portanto, uma prática recomendável no manejo da doença.

A análise de regressão indicou influência significativa ($P \leq 0,05$) da concentração do inóculo de *A. avenae* subsp. *citrulli* nas variáveis analisadas (Figura 3). Dos modelos testados, o modelo logarítmico proporcionou um bom ajuste para PI e TPD, com coeficientes de determinação (R^2) de 87 e 74 %, respectivamente, e o quadrático para as variáveis IDO ($R^2 = 78$ %) e AACPD ($R^2 = 75$ %). Verificou-se redução do PI e aumento da TPD com o incremento da concentração de inóculo. Contudo, o IDO e a AACPD mantiveram-se praticamente constantes até a concentração $3,4 \times 10^5$ UFC mL⁻¹, atingindo valores máximos de 73,7 % e 18,9, respectivamente na concentração $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹. Até mesmo a concentração de inóculo de $3,4 \times 10^1$ UFC mL⁻¹ foi suficiente para promover infecção, com e IDO e AACPD de 13,9 % e 2,7, respectivamente. Isto indica elevada viabilidade dos propágulos de *A. avenae* subsp. *citrulli* e que as condições ambientais de temperatura ($30 \pm 3^\circ$ C) e umidade relativa do ar ($81 \pm 2,5^\circ$ C) da casa de vegetação foram favoráveis à infecção. Pelos dados obtidos, considera-se que a concentração de inóculo de $3,4 \times 10^6$ UFC/mL é a mais indicada para inoculação de meloeiros visando estudos de alternativas para controle da doença.

A severidade da mancha-aquosa aumentou em função da concentração de inóculo, ressaltando a importância do controle da bactéria nas fontes de inóculo para infecções nas folhas, tais como hospedeiras voluntárias, hospedeiras alternativas e sementes. A infecção nas folhas serve como reservatório da bactéria para infecção nos frutos (Isakeit, 1999). Em muitos casos, os sintomas nas folhas não são muito típicos e podem ser facilmente confundidos com os de outras doenças ou não serem detectados pelo agricultor (Hopkins *et al.*, 1992). Para evitar que infecções foliares sirvam como fonte de inóculo para os frutos, deve-se proteger a planta através de aplicações quinzenais ou semanais com fungicidas cúpricos, iniciando-se na floração, ou antes, e prolongando-se até a maturação (Walcott *et al.*, 2001), quando aumentam as barreiras morfológicas à penetração do patógeno (Giles Frankle *et al.*, 1993). O controle de infecções foliares pode reduzir o nível de inóculo abaixo do necessário para infecção no fruto e resultar em controle da doença. Entretanto, a eficiência do controle é mínima se as condições ambientais forem altamente favoráveis ao desenvolvimento da doença (Latin, 1996).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSIS, S.M.P., MARIANO, R.L.R., SILVA-HANLIN, D.M.W. & DUARTE, V.
Mancha-aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, no Estado do Rio Grande do Norte. *Fitopatologia Brasileira* 24:191. 1999.
- AZEVEDO, J.L. *Genética de Microrganismos*. Goiânia. Editora da UFG. 1998.
- CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L.V. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York. John Willey & Sons. 1990.
- GILES FRANKLE, W., HOPKINS, D.L. & STALL, R.E. Ingress of watermelon fruit blotch bacterium into fruit. *Plant Disease* 77:1090-1092. 1993.
- GODOY, C.V., AMORIM, L. & BERGAMIN FILHO, A. Influência da duração do período do molhamento foliar e da temperatura no desenvolvimento da ferrugem do milho causada por *Puccinia polysora*. *Fitopatologia Brasileira* 24:160-165. 1999.
- HOPKINS, D.L., KUCHARÉK, T., GAY, D., GITAITIS, R., COOK, W. & WEINATH, A. Bacterial fruit blotch of watermelon. Florida. *American Sunmelon*. 1992. (Bulletin).
- ISAKEIT, T. Bacterial fruit blotch in watermelon. Texas: The Agricultural Extension Service - USA, 1999. Disponível em: <<http://www.cygnus.tamu.edu/extlabn/>>

vegetables/Watermelon/wmelon.htm>. Acesso em: 22 dez. 2000.

ISAKEIT, T., BLACK, M.C., BARNES, L.W. & JONES, J.B. First report of infection of honeydew with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Plant Disease 81:694. 1997.

LATIN, R.X. Bacterial fruit blotch of cucurbits. St. Paul: Plant Health Progress-USA, 1996. Disponível em: <<http://www.planthealthprogress.org/current/management/bacterialblotch/article.htm>>. Acesso em: 23 dez. 2001.

MARTINS, M.C. & AMORIM, L. Efeito do período de molhamento foliar em componentes monocíclicos da ferrugem do pessegueiro. Fitopatologia Brasileira 24:552-555. 1999.

McKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. Journal of Agricultural Research 26:195-218. 1923.

O'BRIEN, R.G. & MARTIN, A.L. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Australian Journal of Experimental Agriculture 39:479-485. 1999.

SALES JÚNIOR, R. & MENEZES, J.B. Mapeamento das doenças fúngicas, bacterianas e viróticas do cultivo do melão no Estado do RN. Mossoró. Escola Superior de Agricultura de Mossoró. 2001. (Relatório Técnico).

SANTOS, A.A. & VIANA, F.M. Mancha-aquosa do melão. Fortaleza. EMBRAPA-SPI. 2000.

SHANER, G. & FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 67:1051-1056. 1977.

SILVA, S.R., RIOS, G.P. & SILVA, S.C. Influência da resistência e do período de molhamento na infecção e desenvolvimento de lesões de ferrugem no feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira* 26:726-731. 2001.

WALCOTT, R.R., LANGSTON, D., GITAITIS, R., GAY, D., HOPKINS, D., KUCHAREK, T., LATIN, R., EGEL, D., COOK, K., KEINATH, A. & LOVIC, B. Guidelines for managing bacterial fruit blotch disease. Georgia, 2001. Disponível em: <<http://www.stalals.com/flyer.htm>>. Acesso em: 20 dez. 2001.

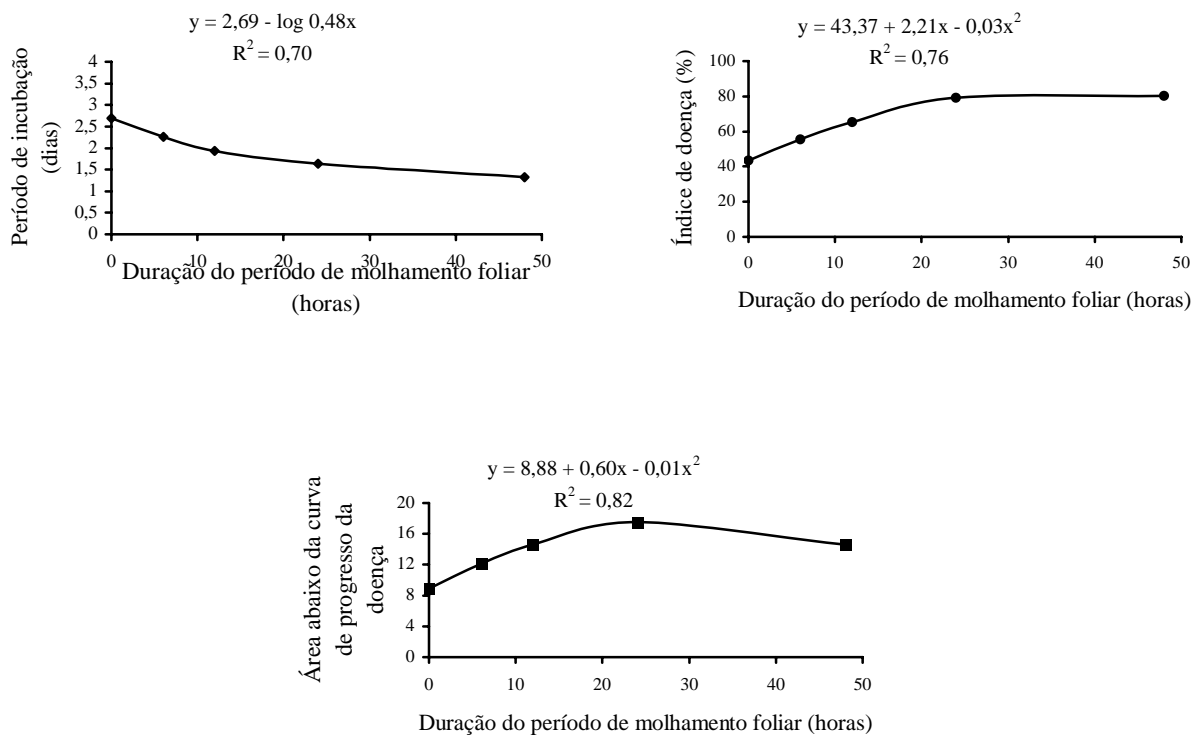


FIG. 1 - Influência da duração do período de molhamento foliar no período de incubação, área abaixo da curva de progresso da doença e índice da mancha-aquosa em meloeiros com 20 dias, inoculados artificialmente, em condições de casa de vegetação.

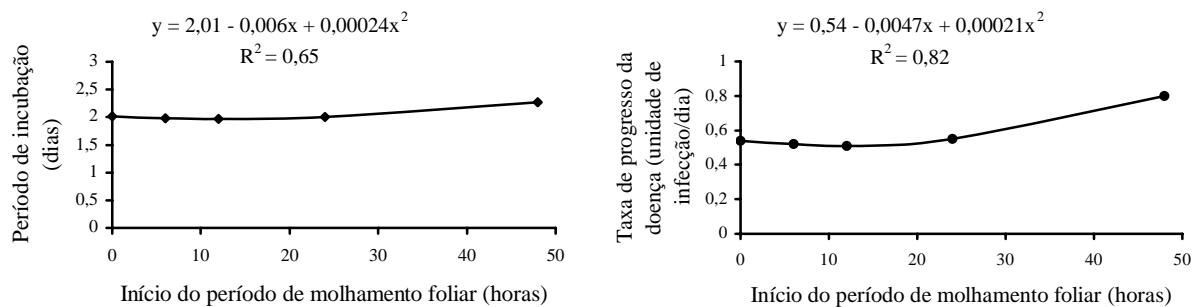


FIG. 2 - Influência do início do período de molhamento foliar no período de incubação e taxa de progresso da mancha-aquosa em meloeiros com 20 dias, inoculados artificialmente, em condições de casa de vegetação.

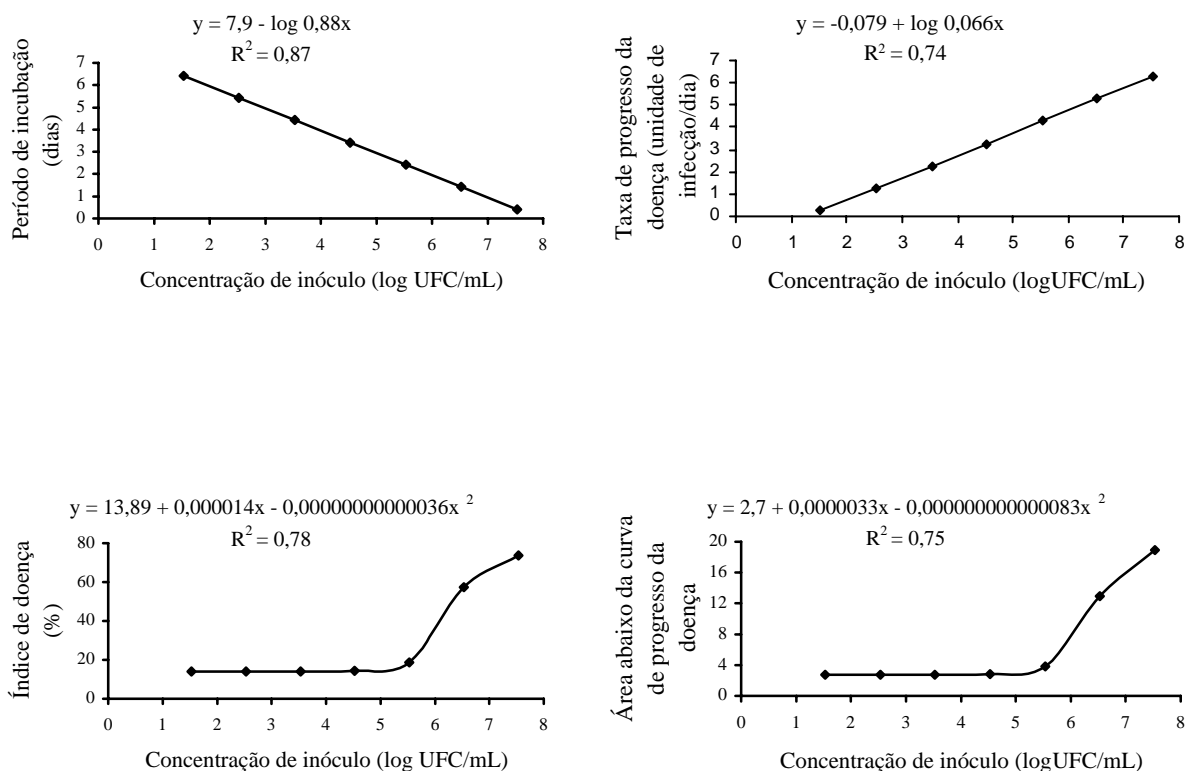


FIG. 3 - Influência da concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* no período de incubação, taxa de progresso da doença, área abaixo da curva de progresso da doença e índice da mancha-aquosa em meloeiros com 20 dias, inoculados artificialmente, em condições de casa de vegetação.

Capítulo IV

Influência da temperatura, umidade, concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* e idade de frutos no desenvolvimento da mancha-aquosa em melão

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA, UMIDADE, CONCENTRAÇÃO DE
INÓCULO DE *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* E IDADE DO FRUTO NO
DESENVOLVIMENTO DA MANCHA-AQUOSA EM MELÃO**

ELINEIDE B. SILVEIRA¹, ROSA L. R. MARIANO^{2},
SAMI J. MICHEREFF^{2**} & SÔNIA M. A. OLIVEIRA²**

¹ Departamento de Biologia, Área de Microbiologia, e-mail:
elineidebs@yahoo.com.br; ² Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade;
Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife, PE.

(Aceito para publicação em / /)

Autor para correspondência: Elineide B. Silveira

SILVEIRA, E.B., MARIANO, R.L.R., MICHEREFF, S.J. & OLIVEIRA, S.M.A.
Influência da temperatura, umidade, concentração de inóculo de *Acidovorax
avenae* subsp. *citrulli* e idade do fruto no desenvolvimento da mancha-aquosa
em melão. Fitopatologia Brasileira

RESUMO

Foram analisadas as influências da temperatura (15, 20, 25, 30, 35 e 40° C),
umidade (0 e 6 horas em câmara úmida), concentração de inóculo de *Acidovorax
avenae* subsp. *citrulli* (0; 3,4 x 10¹; 3,4 x 10²; 3,4 x 10³; 3,4 x 10⁴; 3,4 x 10⁵; 3,4 x 10⁶ e 3,4 x

10^7 UFC.mL⁻¹) e da idade do fruto (40, 50, 60 e 70 dias) na severidade da mancha-aquosa em frutos de melão do tipo Amarelo. Os frutos foram inoculados pelo método de injeção subepidérmica e determinados os componentes da doença: período de incubação, diâmetro da lesão externa e profundidade da lesão. A temperatura e umidade influenciaram significativamente a severidade da doença (P=0,05) a severidade da mancha-aquosa em frutos de melão, embora o período de incubação não tenha sido afetado. As maiores lesões externas foram observadas nos frutos incubados a 35° C (15,3 mm) e 30° C (14,1 mm) sem câmara úmida, e a 30° C (19,5 mm) em câmara úmida por seis horas. Com relação à profundidade, as lesões nos frutos incubados sem câmara úmida foram maiores nas temperaturas de 25° C (11,7 mm) e 30° C (11,3 mm). Em câmara úmida, as lesões a 30° C (17,5 mm) foram maiores que as demais. Não foi observado desenvolvimento de mancha-aquosa em frutos incubados a 15 e 20° C. A umidade influenciou significativamente (P=0,05) o diâmetro de lesão externa e profundidade da lesão, exceto às temperaturas de 35 e 25° C, respectivamente. O diâmetro e profundidade das lesões aumentaram com a elevação da concentração de inóculo e foram reduzidos com o aumento da idade do fruto. Na concentração $3,4 \times 10^1$ UFC mL⁻¹ não foi observada a presença de sintomas da doença na casca e na polpa dos frutos com 60 e 70 dias.

Palavras-chave: *Cucumis melo* var. *inodorus*, epidemiologia, fitobacteriose, Nordeste do Brasil.

ABSTRACT

Influence of temperature, humidity, inoculum concentration of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* and fruit age on the melon fruit blotch development.

The influence of temperature (15, 20, 25, 30, 35 and 40° C), humidity (0 and 6 h in moist chamber), inoculum concentration of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (0; 3.4×10^1 ; 3.4×10^2 ; 3.4×10^3 ; 3.4×10^4 ; 3.4×10^5 ; 3.4×10^6 and 3.4×10^7 CFU.mL⁻¹) and fruit age (40, 50, 60 and 70 days) on the severity of fruit blotch of melon yellow type was studied. The fruits were inoculated by the sub-epidermal injection method and the disease components: incubation period, external lesion diameter and lesion depth were determined. The temperature and humidity influenced significantly (P=0,05) the severity of fruit blotch, however, the incubation period was not affected. The larger external lesions were observed on fruits incubated at 35° C (15.3 mm) and 30 ° C (14.1 mm) without moist chamber and at 30° C (19.5 mm) in moist chamber for six h. In relation to lesion depth, those lesions in fruits incubated without moist chamber were deeper at 25° C (11.7 mm) and 30° C (11.3 mm). However, with moist chamber, the lesions at 30° C (17.5 mm) were deeper than the others. No disease symptoms were observed on fruits incubated at 15 and 20° C. The humidity significantly (P=0,05) influenced the development of external lesions and lesions depth except at 35 and 25° C, respectively. The diameter and depth of lesions increased as the inoculum concentration was higher and were reduced as the fruit age increased. No external or internal lesions were detected on fruits with 60 and 70 days inoculated with the pathogen at 3.4×10^1 CFU mL⁻¹.

* Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco. (2002)

** Bolsista do CNPq

INTRODUÇÃO

A mancha-aquosa, causada pela bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad *et al.*) Willems *et al.*, vem ocorrendo em diversas regiões produtoras de melão (*Cucumis melo* L.) dos estados do Ceará e Rio Grande do Norte, constituindo fator de depreciação do valor comercial dos frutos (Santos & Viana, 2000). Segundo esses mesmos autores, os sintomas da doença são mais comuns e facilmente visualizados nos frutos. Na casca, as lesões caracterizam-se inicialmente por pequenas manchas verde-claras e oleosas que se tornam marrom-claras ou marrom-escuras, atingindo grande extensão da superfície do fruto. Internamente, ocorre descoloração da polpa que se apresenta marrom-avermelhada (O'Brien, 1999).

A grande importância da mancha-aquosa para a cultura do meloeiro no Rio Grande do Norte pode ser explicada pelas condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento de *A. avenae* subsp. *citrulli*, principalmente nos períodos chuvosos (Sales Júnior & Menezes, 2001). Segundo Latin (1996), o progresso da mancha-aquosa em melancia é favorecido por temperatura e umidade elevadas.

Na tentativa de determinar condições mais favoráveis a fitopatógenos, conhecimento da interação patógeno-hospedeiro-ambiente é imprescindível. Assim, a idade em que a planta hospedeira se torna mais suscetível, a faixa de temperatura e a taxa de umidade relativa, bem como a concentração de inóculo do patógeno adequada para estabelecimento de altos níveis de doença, devem ser definidos para cada associação patógeno-hospedeiro (Borges Neto *et al.*, 2000). Por se tratar de uma doença registrada recentemente em meloeiro no Rio Grande do Norte, em 1997 (Assis *et al.*, 1999), existem poucos estudos sobre o patossistema meloeiro-*A. avenae* subsp. *citrulli*, principalmente relacionados a aspectos epidemiológicos em frutos em condições de

campo e pós-colheita. Mesmo na cultura da melancia, onde a doença é mais pesquisada, os estudos têm focado a produção de mudas em casa de vegetação e perdas de frutos no campo. Informações a respeito do comportamento da doença após a colheita são escassas (Rushing *et al.*, 1997), mas fundamentais para estabelecimento de técnicas e procedimentos que desfavoreçam o desenvolvimento de *A. avenae* subsp. *citrulli* na pós-colheita de frutos de melão.

Considerando a importância da mancha-aquosa para a cultura do meloeiro no Ceará e Rio Grande do Norte, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da temperatura, umidade, concentração de inóculo do patógeno e da idade do fruto na severidade da doença em melão.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do inóculo e inoculação

Foi utilizado um isolado (Aac1.50) de *A. avenae* subsp. *citrulli*, pertencente à coleção de bactérias do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Esse isolado foi obtido de fruto de melão tipo amarelo apresentando sintomas característico da mancha-aquosa, coletado em plantio comercial no município de Baraúna, no estado do Rio Grande do Norte, no ano de 2001. Em todos os experimentos, os frutos foram inoculados pelo método de injeção subepidérmica (Somodi *et al.*, 1991). Após lavagem com água e sabão e secagem, cada fruto foi marcado em quatro linhas perpendiculares ao seu comprimento, injetando-se 100 µL da suspensão bacteriana logo abaixo da superfície da casca, nos espaços intercelulares, em três pontos de cada linha, com auxílio de seringa hipodérmica. Os frutos foram

avaliados diariamente até oito dias após a inoculação, quanto à incidência e/ou severidade da mancha-aquosa, determinando-se o período de incubação da doença (número de dias entre a inoculação e o surgimento dos sintomas), diâmetro da lesão externa e profundidade da lesão.

Influência da temperatura e da umidade na severidade da mancha-aquosa em frutos de melão

Frutos com 70 dias de idade foram inoculados com a suspensão de *A. avenae* subsp. *citrulli* contendo Tween 20 (0,005 %), ajustada à concentração de $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, conforme equação previamente determinada. Os frutos foram mantidos em incubadora do tipo B.O.D. (Biochemistry Oxygen Demand) às temperaturas de 15, 20, 25, 30, 35 e 40° C, em condições ou não de câmara úmida, por seis horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial, representado por seis temperaturas e duas condições de umidade, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por três pontos de inoculação.

Influência da concentração do inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* e da idade dos frutos de melão na severidade da mancha-aquosa

Suspensões de *A. avenae* subsp. *citrulli* nas concentrações de 0; $3,4 \times 10^1$; $3,4 \times 10^2$; $3,4 \times 10^3$; $3,4 \times 10^4$; $3,4 \times 10^5$; $3,4 \times 10^6$ e $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, contendo Tween 20 (0,005 %), foram inoculadas em frutos com 40, 50, 60 e 70 dias de idade. Os melões foram mantidos individualmente em câmara úmida por seis horas, à temperatura de 30° C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial,

representado por oito concentrações de inóculo do patógeno e quatro idades de frutos, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por três pontos de inoculação.

Análises estatísticas

Os dados obtidos no estudo de temperatura e umidade foram submetidos à análise de variância, sendo a separação das médias efetuadas pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade, com o auxílio do programa SANEST (Instituto Agronômico de Campinas, 1989). Os dados relativos à concentração de inóculo e idade dos frutos foram submetidos à análise de regressão linear e não-linear com o auxílio do programa STATISTICA for Windows (StatSoft Inc., Tulsa - OK, USA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O período de incubação da mancha-aquosa variou de 2,0 a 5,0 dias, não sendo influenciado significativamente pela temperatura e umidade, embora Friesland & Schrödter (1988) tenham destacado a influência da temperatura sobre o período de incubação de doenças de plantas.

A temperatura influenciou significativamente a severidade da mancha-aquosa em frutos de melão em relação ao diâmetro da lesão externa e à profundidade da lesão (Tabela 1). As maiores ($P=0,05$) lesões na casca foram observadas nos frutos incubados a 35° C (15,3 mm) e 30 ° C (14,1 mm) sem câmara úmida e a 30° C (19,5 mm) com câmara úmida durante 6 horas. Com relação à profundidade, as lesões nos frutos incubados sem câmara úmida foram maiores ($P=0,05$) à temperatura de 25° C (11,7

mm) e 30° C (11,3 mm). Em câmara úmida, as lesões a 30° C (17,5 mm) foram maiores que as demais.

Na temperatura de 40° C, verificou-se diminuição no diâmetro da lesão externa (7,4 mm) dos frutos incubados sem câmara úmida. Nessa temperatura, a profundidade da lesão nos frutos incubados sem (3,2 mm) e com câmara úmida (7,0 mm) foi menor ($P=0,05$) do que nos demais. Isto sugere que a 40° C houve redução do metabolismo da bactéria. Embora Schaad *et al.* (1978) tenham citado que *A. avenae* subsp. *citrulli* pode crescer à temperatura de 41° C em meio de cultura artificial, não existem relatos sobre a temperatura ótima para crescimento desta bactéria.

Segundo O'Brien & Martin (1999), a parte interna do fruto pode estar bastante comprometida, mesmo quando a lesão externa se mostra com apenas alguns centímetros de diâmetro. Contudo, os resultados mostraram um maior desenvolvimento da doença na casca dos frutos de melão, o que poderia ser explicado pelo método de inoculação utilizado, que favoreceu o desenvolvimento da lesão na casca do fruto.

Não foi verificado desenvolvimento de sintomas da doença nas temperaturas de 15 e 20° C, indicando que além de influenciar no metabolismo do fruto, a temperatura mais baixa afeta o desenvolvimento epidêmico da doença. De acordo com Arinze (1986), baixas temperaturas reduzem a atividade microbiana pela alteração da respiração do fruto e de reações enzimáticas que causam deterioração. O pré-resfriamento ao qual são submetidos os frutos de melão para exportação, com o objetivo de baixar a temperatura para 10 a 15° C, é uma medida de controle eficiente da mancha aquosa na fase pós-colheita, pois impede seu desenvolvimento. Contudo, no mercado interno, tanto no Rio Grande do Norte quanto em outros estados do Nordeste e outras regiões, o transporte em caminhões sem refrigeração e a comercialização em idênticas

condições em supermercados e/ou feiras livres favorecem a incidência da doença. Moretti (2000), realizando estudos de variação da temperatura de carga de melões durante o transporte rodoviário sem refrigeração, demonstrou que a temperatura nos frutos apresentava valores superiores a 29° C, atingindo picos de 40° C. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, nessa faixa de temperatura os frutos estariam suscetíveis à infecção, o que comprova a importância das baixas temperaturas no controle da mancha-aquosa em pós-colheita.

A umidade influenciou significativamente ($P=0,05$) o diâmetro da lesão externa e profundidade da lesão, exceto às temperaturas de 35 e 25° C, respectivamente (Tabela 1). A ocorrência de lesões externamente e internamente nos frutos, mesmo na ausência da câmara úmida, indica que a localização inicial de *A. avenae* subsp. *citrulli* nos espaços intercelulares é suficiente para o estabelecimento do processo de infecção. De acordo com os resultados as epidemias pós-colheita da mancha-aquosa do melão parecem ser mais influenciadas por diferenças na temperatura, uma vez que a presença da umidade não é essencial para o início da infecção, embora possa favorecer a maior severidade da doença.

A plotagem dos dados, tanto para o diâmetro da lesão externa quanto para a profundidade da lesão, mostrou que a severidade da doença em frutos de melão aumentou com a elevação da concentração de inóculo e foi reduzida com o aumento da idade do fruto (Figura 1). Dos oito modelos testados, o modelo linear $z = a + bx + cy$ proporcionou um bom ajuste aos dados de progresso da mancha-aquosa em frutos de melão com coeficientes de determinação (R^2) de 89,9 e 82,1 %, respectivamente para diâmetro da lesão externa e profundidade da lesão.

O diâmetro da lesão externa nos frutos de melão aumentou, de forma linear, com o incremento na concentração de inóculo de $3,4 \times 10^2$ para $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, e na polpa do fruto, de $3,4 \times 10^1$ para $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ (Figura 1). Na concentração $3,4 \times 10^1$ UFC mL⁻¹ não foi observada a presença de sintomas da doença na casca e na polpa dos frutos com 60 e 70 dias. O aumento da severidade da mancha-aquosa com a elevação da concentração de inóculo do patógeno, destaca a importância do controle da doença na parte aérea da planta, pela eliminação ou redução da população do patógeno, impedindo a infecção do fruto e/ou a manifestação da doença no campo e na pós-colheita.

Frutos de melão com 40, 50, 60 e 70 dias foram suscetíveis a *A. avenae* subsp. *citrulli* contudo, frutos com 40 e 50 dias foram mais afetados pela doença, tanto em relação ao diâmetro da lesão quanto à profundidade (Figura 1). Estes resultados discordam do que se verifica no campo, no Rio Grande do Norte, onde os sintomas são freqüentemente observados nos frutos maduros, à época da colheita. Uma possível explicação para a maior severidade obtida nos frutos com 40 e 50 dias, seria a ocorrência de alterações morfológicas e fisiológicas induzidas pela colheita prematura. Sabe-se que em melancia, a infecção por *A. avenae* subsp. *citrulli* ocorre durante a floração ou formação do fruto, embora a constatação mais freqüente de sintomas da doença seja feita também nos frutos maduros antes da colheita (Isakeit, 1999). Frutos de melancia com duas a três semanas de idade são mais suscetíveis à invasão pela bactéria, pois à medida que ocorre o amadurecimento são cobertos com uma camada de cera que fecha os estômatos e previne a entrada do patógeno (Hopkins *et al.*, 1992). Com a formação da camada de cera, os frutos maduros podem ser invadidos pela bactéria somente por ferimento (Somodi *et al.*, 1991). Não existem estudos de campo que

relacionem a penetração de *A. avenae* subsp. *citrulli* e o desenvolvimento da mancha-aquosa em frutos de melão. Acredita-se que por ser uma espécie da mesma família da melancia, o meloeiro apresente características morfológicas e fisiológicas semelhantes e, conseqüentemente, uma resposta similar à infecção pelo patógeno.

O conhecimento dos fatores que interferem no desenvolvimento da doença, no campo e pós-colheita, é de suma importância para o manejo da cultura do meloeiro nas diferentes áreas de produção, pois caso não sejam tomadas medidas urgentes de controle, essa doença poderá limitar a exportação e comercialização de frutos, continuando a causar grandes prejuízos à atividade meloeira dos estados produtores.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, bem como ao Dr. Rui Sales Júnior (ESAM/PROFRUTAS-CDSV-RN) pela concessão de frutos de melão.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

ARINZE, A. E. Post-harvest disease of tomato fruit in Southern Nigeria. *Fitopatologia Brasileira* 11:637-645. 1986.

ASSIS, S.M.P., MARIANO, R.L.R., SILVA-HANLIN, D.M.W. & DUARTE, V. Mancha-aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, no Estado do Rio Grande do Norte. *Fitopatologia brasileira* 24:191. 1999.

BORGES NETO, C.R., MELLO, S.C.M., RIBEIRO, Z.M.A., ÁVILA, Z.R., MALTBY J. & FONTES, E.M.G. Influência da idade da planta, período de umidificação e concentração de inóculo no desenvolvimento de sintomas provocados por *Cercospora caricis* em tiririca. *Fitopatologia Brasileira* 25:138-142. 2000.

FRIESLAND, H. & SCHRÖDTER, H. The analysis of weather factors in epidemiology. In: KRANZ, J. & ROTHEM, J. (Eds.). *Experimental techniques in plant diseases epidemiology*. Berlin. Springer-Verlag. 1988. pp. 115-133.

HOPKINS, D.L., KUCHARÉK, T., GAY, D., GITAITIS, R., COOK, W.; KEINATH, A. Bacterial fruit blotch of watermelon. Florida. *American Sunmelon*. 1992. (Bulletin).

ISAKEIT, T. Bacterial fruit blotch in watermelon. Texas: The Agricultural Extension Service - USA, 1999. Disponível em: <<http://www.cygnus.tamu.edu/extlabn/vegetables/Watermelon/wmelon.htm>>. Acesso em: 22 dez. 2000.

LATIN, R.X. Bacterial fruit blotch of Cucurbits. St. Paul: Plant Health Progress-USA, 1996. Disponível em: <<http://www.planthealthprogress.org/current/management/bacterialblotch/article.htm>>. Acesso em: 23 dez. 2001.

MORETTI, C.L.; Qualidade em tempo real. Cultivar-Hortaliças e Frutas 8:29-31. 2001.

O'BRIEN, R.G. Bacterial fruit blotch of melons. Department of Primary Industries. Queensland, 1999. Disponível em: <<http://www.dpi.qld.gov.au/doinotes/hortic/vegetable/h99144.html>>. Acesso em: 02 ago. 2000.

O'BRIEN, R.G. & MARTIN, A.L. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Australian Journal of Experimental Agriculture 39: 479-485. 1999.

RUSHING, J.W., COOK, W.P. & KEINATH, A.P. Postharvest behavior of watermelon fruit blotch. In: HOPKINS, D., STALL, R.E., LATIN, R., RUSHING, J., COOK, W.P. & KEIMATH, A.P. Bacterial fruit blotch of watermelon. Tampa. Citrus & Vegetable Magazine. 1997.

SALES JÚNIOR, R. & MENEZES, J.B. Mapeamento das doenças fúngicas, bacterianas e viróticas do cultivo do melão no Estado do RN. Mossoró. Escola superior de Agricultura de Mossoró. 2001. (Relatório Técnico).

SANTOS, A.A. & VIANA, F.M. Mancha-aquosa do melão. Ceará. EMBRAPA. 2000.

SCHAAD, N.W., SOWELL, G., GOTO, R.W., COLWELL, R.R. & WEBB, R.E. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology 28:117-125. 1978.

SOMODI, G.C., JONES, J.B., HOPKINS, D.L., STALL, R.E., KUCHARREK, T.A.,
HODGE, N.C. & WATERSON, J.C. Occurrence of a bacterial watermelon fruit
blotch in Florida. *Plant Disease* 75:1053-1056. 1991.

TABELA 1 - Influência da temperatura e da umidade na severidade da mancha-aquosa em frutos de melão com 70 dias de idade, inoculados artificialmente.

Temperatura	Diâmetro da lesão externa (mm)		Profundidade da lesão (mm)	
	Sem câmara úmida	Com câmara Úmida ¹	Sem câmara úmida	Com câmara úmida
25	12,0 b B ²	15,8 b A	11,7 a A	9,1 b B
30	14,1 ab B	19,5 a A	11,3 a B	17,5 a A
35	15,3 a A	14,7 b A	6,2 b B	8,8 b A
40	7,4 c B	13,2 b A	3,2 c B	7,0 c A
CV (%)		14,6		12,1

¹ Colocação dos frutos em câmara úmida por seis horas;

² Médias de quatro repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, dentro de cada variável, não diferem significativamente (P=0,05) entre si, pelo teste de Duncan.

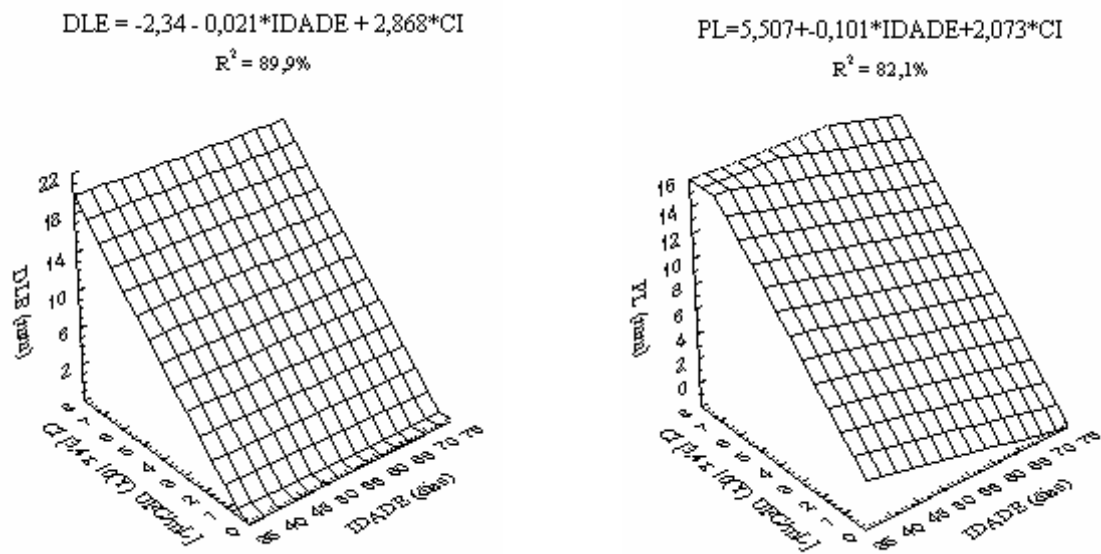


FIG. 1 - Influência da idade dos frutos de melão (IDADE) e da concentração de inóculo (CI) de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* na severidade da mancha-aquosa, em frutos inoculados artificialmente e mantidos em câmara úmida por seis horas a 30° C, determinada pelo diâmetro da lesão externa (DL) e profundidade da lesão (PL).

Conclusões gerais

CONCLUSÕES GERAIS

- 1- Os isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* obtidos de frutos de melão em plantios comerciais do Rio Grande do Norte apresentaram variabilidade quanto aos componentes da mancha-aquosa em plântulas, plantas e frutos de meloeiro;
- 2- A hipersensibilidade em folhas de fumo e tomate não foi uma característica diferencial para os isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* testados;
- 3- *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* foi transmitida por sementes de frutos infectados artificialmente;
- 4- A severidade da mancha-aquosa em plantas de meloeiro foi maior com o molhamento foliar de 48 horas;
- 5- O início do molhamento foliar até 48 horas após a inoculação não foi fator determinante na severidade da mancha-aquosa em plantas de meloeiro;
- 6- Quanto maior a concentração de inóculo de *A. avenae* subsp. *citrulli* foi maior a severidade da mancha-aquosa em plantas e frutos de meloeiro;
- 7- Temperaturas de armazenamento de 25 e 30° C favoreceram o desenvolvimento da mancha-aquosa em frutos de melão;

8- A umidade foi um fator importante no desenvolvimento de lesões externas e internas em frutos;

9- A infecção de frutos com *A. avenae* subsp. *citrulli* não ocorreu às temperaturas de 15 e 20° C;

10- Frutos de melão com 40 e 50 dias são mais suscetíveis ao desenvolvimento dos sintomas da mancha-aquosa.