



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL  
DE PERNAMBUCO**  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM FITOPATOLOGIA**

**Tese de Doutorado**

**Manejo da mancha aquosa do meloeiro: fontes de  
resistência genética e extratos aquosos de plantas da  
Caatinga**

**Emanuel Feitosa de Assunção**

**Recife - PE**

**2019**

**EMANUEL FEITOSA DE ASSUNÇÃO**

**MANEJO DA MANCHA AQUOSA DO MELOEIRO: FONTES  
DE RESISTÊNCIA GENÉTICA E EXTRATOS AQUOSOS DE  
PLANTAS DA CAATINGA**

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

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elineide Barbosa de Souza

Co-orientadora: Prof<sup>o</sup>. Dr. Glauber Henrique de Sousa Nunes

**RECIFE-PE  
JULHO - 2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

A851m Assunção, Emanuel Feitosa de.

Manejo da mancha aquosa do meloeiro: fontes de resistência genética e extratos aquosos de plantas da caatinga / Emanuel Feitosa de Assunção. – Recife, 2019.  
86 f.: il.

Orientador(a): Elineide Barbosa de Souza.

Coorientador(a): Glauber Henrique de Sousa Nunes.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, BR-PE, 2019.

Inclui referências.

1. *Acidovorax citrulli* 2. *Cucumis melo* 3. Controle alternativo 4. Microscopia eletrônica de varredura 5. Resistência genética I. Souza, Elineide Barbosa de, orient. II. Nunes, Glauber Henrique de Sousa, coorient. III. Título

CDD 632

**Manejo da mancha aquosa do meloeiro: fontes de resistência genética e  
extratos aquosos de plantas da Caatinga**

**EMANUEL FEITOSA DE ASSUNÇÃO**

Tese defendida e Aprovada pela Banca Examinadora em 31 de Julho de 2019.

**ORIENTADORA:**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elineide Barbosa de Souza

**EXAMINADORES:**

---

Prof<sup>o</sup> Dr. Adriano Márcio Freire Silva

---

Prof<sup>o</sup> Dr. Delson Laranjeira

---

Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Sant'Anna da Silva

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Jonas Alberto Rios

**RECIFE-PE  
JULHO - 2019**

*“Nossa maior fraqueza está em desistir.  
O caminho mais certo de vencer é tentar mais uma vez.”*

Thomas Edison

*Aos meus queridos pais, José Luiz (in memoria) e Maria Lucia; a minha madrinha Zenaide; aos meus irmãos José Uelson, Emaelson Lucélia e Luciano (in memoria); aos meus avos Manoel, Maria (in memoria), Francisco (in memoria) e Antônia; aos meus sobrinhos e a todos os familiares e amigos, pelo apoio, incentivo, amor e compreensão em todos os momentos.*

## **OFEREÇO**

*Aos amores da minha vida, minha querida esposa Raimunda e a minha filha Isis.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, e por ser bom o tempo todo.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela estrutura cedida e pela oportunidade de realização do doutorado. Ao Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudo.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e ao Laboratório de Produtos Naturais (Departamento de Bioquímica) pela estrutura cedida para realização de parte da pesquisa.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da UFRPE, pelos ensinamentos transmitidos com seriedade e compromisso.

À Professora Dr.<sup>a</sup> Elineide Barbosa de Souza, pela acolhida, ensinamentos, paciência e pela valiosa orientação, que muito contribuiu com minha formação pessoal e profissional, muito obrigado.

Ao Professor Dr.<sup>o</sup>. Glauber Henrique Sousa Nunes, pelos apoio e suporte na condução da pesquisa.

Ao Professor Dr.<sup>o</sup>. Marco Aurélio Siqueira da Gama, Professor Dr.<sup>o</sup>. Adriano Marcio Freire e a professora Dr.<sup>a</sup>. Rosa de Lima Ramos Mariano, pelos ensinamentos e ajuda na condução dos trabalhos.

A minha querida Claudeana - Clau, pela ajuda. Obrigada por tudo, você foi minhas mãos.

Aos amigos queridos Ana Dulce, Beatriz Letícia e Rezanio Martins, meu muito obrigado.

A Dr.<sup>a</sup> Elizabeth pelas valiosas contribuições. Muito obrigado.

Meu enorme agradecimento à toda a equipe e amigos que compõe o Laboratório de Fitobacteriologia (LAFIBAC) por todo companheirismo durante a execução deste trabalho: Leandro Velez, Joelma, Lucas Lucena, Pedro, Géssyka, Greeyce, Ana Karolina, Bárbara, Bruno, Leandro Victor, Lucas Correia, Roberto e Willams.

Aos estimados Luís Coelho, Romildo, Nathan, Luiz Silva, Darcy e Edna pela disposição e força. Obrigado.

Aos amigos e companheiros do programa de pós-graduação em Fitopatologia da UFRPE.

Finalmente, a todos que fazem parte da minha vida e que torcem por mim, muito obrigado.

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>CAPÍTULO I.....</b>  | <b>11</b> |
| Introdução Geral.....   | 12        |
| Origem e aspectos gerais da cultura do meloeiro.....  | 12        |
| Mancha aquosa do meloeiro.....  | 14        |
| Manejo da mancha aquosa.....  | 17        |
| Fontes de resistência à mancha aquosa.....  | 19        |
| Extratos vegetais no controle de bactérias.....   | 21        |
| Referências Bibliográficas.....   | 24        |
| <br>  |           |
| <b>CAPÍTULO II – Novas fontes de resistência a mancha aquosa em diferentes<br/>estádios fenológicos do meloeiro e múltiplos isolados de <i>Acidovorax citrulli</i>.....</b> | <b>35</b> |
| Resumo.....   | 35        |
| Introdução.....   | 36        |
| Material e Métodos.....   | 37        |
| Resultados.....   | 41        |
| Discussão.....  | 44        |
| Agradecimentos.....   | 49        |
| Referências Bibliográficas.....   | 49        |
| <br>  |           |
| <b>CAPÍTULO III - Extratos aquosos de plantas da Caatinga reduzem a severidade<br/>da mancha aquosa do meloeiro.....</b>  | <b>63</b> |
| Resumo.....   | 63        |
| Introdução.....   | 64        |
| Material e Métodos.....   | 65        |
| Resultados.....   | 69        |
| Discussão.....  | 71        |
| Agradecimentos.....   | 74        |
| Referências Bibliográficas.....   | 75        |
| <br>  |           |
| <b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>   | <b>86</b> |



## RESUMO GERAL

A mancha aquosa causada pela bactéria *Acidovorax citrulli* é uma das principais e importantes doenças da cultura do meloeiro nas áreas produtoras do Nordeste brasileiro e do mundo, devido ao seu potencial destrutivo e ausência de medidas de manejo eficazes. Diante disso, os objetivos principais do trabalho foram: (a) identificar acessos de meloeiro com fonte de resistência genética à mancha aquosa em diferentes estádios fenológicos da planta e testar a estabilidade dos acessos a múltiplos isolados de *A. citrulli*; (b) avaliar a eficácia de extratos aquosos de plantas do domínio fitogeográfico Caatinga no controle da mancha aquosa do meloeiro através do tratamento de sementes e plântulas. Adicionalmente, foi examinada a colonização de *A. citrulli* nos tecidos foliares das plântulas após infecção, sob análise de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Na seleção de fontes de resistência, *A. citrulli* CCRMAc1.12 foi inoculada em sementes (55 acessos), plântulas e plantas antes da floração (39 acessos), com severidade da mancha aquosa estimada com auxílio de escalas descritivas. Após o teste de estabilidade de seis acessos a três isolados da bactéria, foi avaliada a resistência dos acessos I-136 e A-43 em plantas nos estádios de floração e frutificação, teste de transmissibilidade e análises de microscópicas. Os frutos desses acessos não apresentaram sintomas da mancha aquosa e a transmissibilidade de *A. citrulli* pelas sementes foi de apenas 0,6% (I-136) e 2,5% (A-43); análises microscópicas evidenciaram poucas modificações estruturais e temporal na colonização de *A. citrulli* no mesófilo foliar. Dentre os oito extratos aquosos testados no controle da mancha aquosa, *Croton heliotropiifolium*, *Ximena americana* e *Ziziphus joazeiro*, nas concentrações brutas, foram selecionados como os mais promissores, pois foram eficientes tanto no tratamento de sementes quanto na pulverização de plântulas, com níveis de controle de 56,76 a 94,14 %. As análises de microscopia óptica mostraram pouca colonização de *A. citrulli* nas folhas cotiledonares tratadas com esses três extratos e as estruturas celulares do mesófilo (parênquima paliádico e lacunoso) estavam estruturadas e organizadas. Pouca agregação de células bacterianas, com pouca ou nenhuma colonização dos estômatos também foi verificado na MEV. Com os resultados obtidos sugere-se que os acessos A-43 e I-136 podem ser doadores de genes de resistência à mancha aquosa e os extratos aquosos de *C. heliotropiifolium*, *X. americana* e *Z. joazeiro* podem ser explorados como uma nova tecnologia para o manejo da mancha aquosa do meloeiro.

**Palavras-chaves:** *Acidovorax citrulli*, *Cucumis melo*, controle alternativo, microscopia eletrônica de varredura, resistência genética.

## GENERAL ABSTRACT

The bacterial fruit blotch (BFB) caused by the bacterium *Acidovorax citrulli* is one of the main and important diseases of the melon culture in the producing areas of Northeast Brazil and the world due to its destructive potential and absence of effective management measures. In view of this, the main objectives of the work were: (a) to identify accessions of melon with source of genetic resistance to the fruit blotch in different phenological stages of the plant and to test the stability of the accessions to multiple isolates of *A. citrulli*; (b) to evaluate the efficacy of aqueous extracts of plants of the phytogeographical domain Caatinga in the control of the fruit blotch of the melon by the treatment of seeds and seedlings. In addition, the colonization of *A. citrulli* in leaf tissues of the seedlings after infection was examined under optical microscopy and scanning electron microscopy SEM. In the selection of resistance sources, *A. citrulli* CCRMAc1.12 was inoculated in seeds (55 accessions), seedlings and plants before flowering (39 accessions), with severity of the fruit blotch estimated with the aid of descriptive scales. After the stability test of six accessions to three strains of the bacterium, the resistance of the accessions I-136 and A-43 was evaluated in plants in the flowering and fruiting stages, transmissibility test and microscopic analysis. The fruits of these accesses did not show symptoms of the watery spot and the transmissibility of *A. citrulli* by the seeds was only 0,6% (I-136) and 2.5% (A-43); microscopic analyzes showed little structural and temporal changes in the colonization of *A. citrulli* in the leaf mesophyll. Among the eight aqueous extracts tested in the control of the fruit blotch, the extracts of *Croton heliotropiifolium*, *Ximenia americana* and *Ziziphus joazeiro* were selected as promising in gross concentration, as they were efficient in both seed treatment and seedling spraying, with levels of control from 56.76 to 94.14% respectively. Optical microscopy showed little colonization of *A. citrulli* on cotyledonary leaves treated with these three extracts, and mesophilic cell structures (palisade and lacunar parenchyma) were structured and organized. Little aggregation of bacterial cells, with little or no colonization of the stomata was also verified in SEM. With the results obtained it is suggested that accessions A-43 and I-136 may be donors of resistance genes to the fruit blotch and the aqueous extracts of *C. heliotropiifolium*, *X. americana* and *Z. joazeiro* can be exploited as a new technology for management of bacterial fruit blotch of melon.

**Keywords:** *Acidovorax citrulli*, *Cucumis melo*, alternative control, scanning electron microscopy, genetic resistance.

# Capítulo I

---

## Introdução Geral

# MANEJO DA MANCHA AQUOSA DO MELOEIRO: FONTES DE RESISTÊNCIA GENÉTICA E EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS DA CAATINGA

## INTRODUÇÃO GERAL

### 1- Origem e Aspectos Gerais da Cultura do Meloeiro

A diversidade climática do Brasil permite o cultivo de várias espécies frutíferas e olerícolas, dentre estas, destaca-se o meloeiro (*Cucumis melo* L.). O material genético passou por um intenso processo de seleção e cruzamento, que resultou na obtenção de muitas cultivares locais adaptadas as mais variadas condições de solo e clima do Brasil (DELWING *et al.*, 2007). A adaptação da cultura do meloeiro na região Nordeste do Brasil se deu devido às condições edafoclimáticas favoráveis, pois o clima semiárido é propício ao desenvolvimento da planta, a produtividade e a qualidade dos frutos (MOURA *et al.*, 2011).

A origem histórica do meloeiro segue sendo motivo de debates. Alguns estudiosos acreditam que a espécie teve origem na África, por apresentar o mesmo número de cromossomo, observado em muitas espécies africanas (KERJE; GRUM, 2000; DHILLON *et al.*, 2007). Já outros pesquisadores acreditam que a Ásia é o centro de origem da espécie, uma vez que *Cucumis picrocarpus* F. Muell. e *C. melo*, ambas da Austrália, são espécies irmãs e provavelmente progenitores de *Cucumis trigonus* Roxburgh e *Cucumis callosu* (Rottler.) Cong, -que são espécies Asiáticas (SEBASTIAN *et al.*, 2010; JOHN, 2012). O centro-sul da Ásia se constitui o centro de diversificação primários (TZITZIKAS *et al.*, 2009), já o centro secundário compreende as regiões do leste asiático e Mediterrâneo (LOPEZ-SESE *et al.*, 2003; MONFORTE *et al.*, 2004; BLANCA *et al.*, 2012). No Brasil sua introdução se deu pela região Nordeste, por escravos africanos e imigrantes europeus durante o século XVI (DELWING *et al.*, 2007).

A espécie *C. melo* é subdividida em duas subespécies em função da presença e comprimento de pelos do ovário (JEFREY, 1980). Os genótipos cujo ovário são de pelos longos pertencem à subespécie *agrestis*, já os que possuem ovários com pelos curtos são classificados como sendo da subespécie *melo*. As variedades ou grupos botânicos *acidulus*, *conomon*, *momordica*, *makuwa*, *chinensis* e *tibish*, pertencem à subespécie *C. melo* subsp. *agrestis*, enquanto os grupos botânicos *chate*, *flexuosus*, *adana*, *ameri*, *cantalupensis*, *chandalak*, *reticulatus*, *inodorus* e *dudaim* estão inseridos dentro da subespécie *C. melo* subsp. *melo* (PITRAT *et al.*, 2013). É correto mencionar que algumas destas variedades não são bem definidas, devido ao fato de grande parte de suas características serem heterogêneas. Além disso, os tipos intermediários dificultam, em muitos casos, sua classificação (PITRAT, 2008).

Dentro das variedades ou grupos botânicos, os tipos de melões comercializados no Brasil são os Amarelo, Honey Dew e Pele de sapo, que pertencem à variedade botânica *inodorus* e se caracterizam por serem frutos sem aroma, boa resistência ao transporte e elevada conservação pós-colheita. Os melões do tipo Cantaloupe (americano), Charentais (europeu) e Gália são do tipo aromáticos e tem elevados teores de sólidos solúveis e baixa conservação pós-colheita (KARCHI, 2000). Esses tipos de melões podem ser cruzados entre si, e as diferentes características fenotípicas podem ser combinadas e exploradas em programas de melhoramento, proporcionado a produção e obtenção de genótipos superiores (PITRAT *et al.*, 2000).

Apesar da grande diversidade de tipos de melões cultivados na região Nordeste, o tipo Amarelo é o mais cultivado, devido provavelmente a suas características peculiares, uma vez que é de fácil crescimento, apresenta bom ponto de colheita, ampla vida de prateleira e grande demanda no mercado nacional e europeu (GUIMARÃES *et al.*, 2016).

A importância socioeconômica da cultura do meloeiro se deve ao seu elevado valor comercial associado a grande geração de empregos diretos e indiretos. Dentro deste cenário, participam empresas de médio e grande porte, além dos agricultores familiares, que contribuem significativamente com o agronegócio nacional (BUAINAIN; BATALHA, 2007; MOURA *et al.*, 2011).

Apesar do maior investimento em outros hortifrúti (HORTIFRUTI, 2018), e das questões hídricas que têm gerado grandes dificuldades para a cadeia produtiva do melão, a produção da fruta no Brasil segue sólida. Mesmo com a longa estiagem nas regiões produtoras nos últimos anos, as colheitas ainda se mantêm estáveis. Apesar do Brasil não ser um grande produtor mundial, as exportações brasileiras no ano de 2017 geraram uma receita de 162.916.237 milhões de dólares (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTICULTURA, 2018). Para dar conta do mercado, o setor produtivo conta com cerca de 22 mil hectares, sendo 20 mil na Chapada do Apodi, nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTICULTURA, 2018), e cerca de 1,4 mil hectares na região do Submédio do Vale do São Francisco, que compreende os estados de Pernambuco e Bahia (HORTIFRUTI, 2018). Somente o estado do Rio Grande do Norte, responde por 70% do cultivo nacional do meloeiro. Atualmente, cerca de 60% da produção é destinada para o mercado externo, o que coloca a fruta como a mais exportada quando se utiliza o critério de percentagem de produção (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTICULTURA, 2018).

Apesar da sua alta adaptação às condições edafoclimáticas predominantes na região Nordeste do Brasil, devido ao seu cultivo intensivo vários fatores têm contribuído para a queda da produtividade e da qualidade dos frutos, destacando-se a ocorrência de doenças (VIANA *et*

*al.*, 2001). Dentre as doenças que podem limitar a produção do meloeiro, a mancha aquosa causada por *Acidovorax citrulli* (Schaad *et al.*) Schaad *et al.* é responsável pela depreciação do fruto (OLIVEIRA *et al.*, 2007), causando grandes perdas, que podem chegar a 100% (SALES JUNIOR; MENEZES, 2001). *A. citrulli* é classificada no Domínio Bactéria, Filo Proteobacteria, Classe Betaproteobacteria, Ordem Burkholderiales, Família Comamonadaceae, Gênero *Acidovorax*. É uma bactéria em forma de bastonete, Gram negativa, aeróbica e móvel por um flagelo polar (SCHAAD *et al.*, 1978).

## **2 - Mancha Aquosa do Meloeiro**

A mancha aquosa do meloeiro começou a ganhar importância após surtos epidêmicos em campos de melancia nos Estados Unidos (EUA) no final da década de 80 e início da década 90 (WALL *et al.*, 1990; SOMODI *et al.*, 1991). Desde então, tem sido relatada em quase todos os continentes, estando presente nos seguintes países: Brasil, Costa Rica, Trindade e Tobago, Estados Unidos, China, Japão, Coreia, Taiwan, Tailândia, Grécia, Austrália, Guame e Ilhas Mariana do Norte (EPPO, 2018). Em meloeiro, o primeiro relato da mancha aquosa também se deu nos EUA, mais precisamente no Texas, com incidência em mais de 50 % dos frutos produzidos em campo (ISAKEIT *et al.*, 1997). No Brasil, embora já tivesse sido assinalada nessa cultura nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste (ROBBS *et al.*, 1991), foi somente em 1997, época em que foi detectada no Rio Grande do Norte, que a bactéria apresentou impacto econômico para o meloeiro devido aos altos índices de infecção (ASSIS *et al.*, 1999). Posteriormente, foi registrada no Ceará (SANTOS; VIANA, 2000), Rio Grande do Sul (UENO *et al.*, 2003), Minas Gerais (MACAGNAN *et al.*, 2003), Pernambuco, Bahia (MARIANO; SOUZA, 2004) e Piauí (Figura 1) (ATHAYDE SOBRINHO; NORONHA; BELMINO, 2007; CONCEIÇÃO *et al.*, 2017). Em melancia a doença já foi assinalada em alguns estados, mas sem causar perdas relevantes (Figura 1).

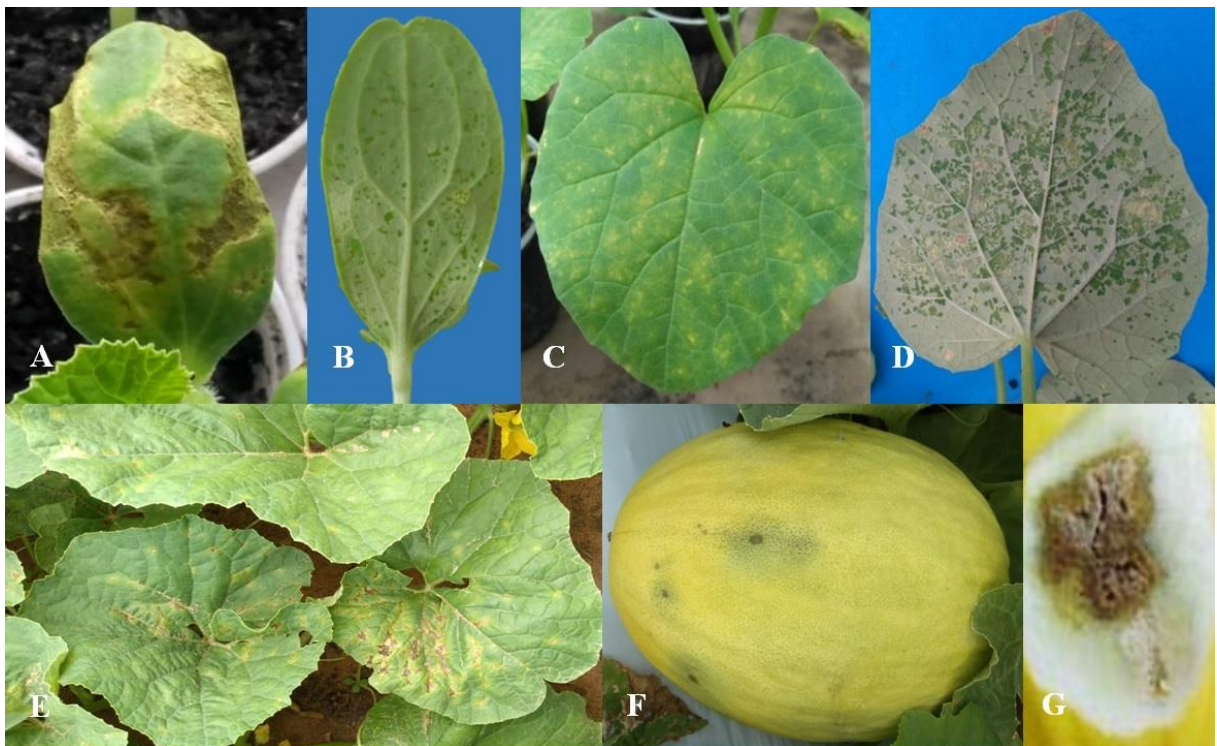
**Figura 1.** Distribuição de *Acidovorax citrulli* no território brasileiro (Adaptado de SOUZA *et al.*, 2016).



Os sintomas da doença podem se manifestar em diferentes órgãos da cultura como também em qualquer fase de desenvolvimento da planta. Nas plântulas os sintomas ocorrem nos cotilédones, onde se observam manchas com aspecto oleoso, e com a intensificação da doença as manchas se tornam necróticas, a plântula entrar rapidamente em colapso, murcha e morre (VIANA *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2006). Em condições favoráveis de temperatura e umidade em estufa, podem ser observados tombamento e cancos (rachaduras no caule). Nas folhas os sintomas se manifestam como pequenas manchas encharcadas, que se expandem e se tornam manchas necróticas se estendendo ao longo das nervuras, podendo ser confundidas com outras doenças. Geralmente as lesões variam do marrom claro ao marrom avermelhado (HOPKINS, 1994), são pequenas, encharcadas e angulares (WIEBE; HOPKINS; WALCOTT, 2004), com ou sem halo (HOPKINS *et al.*, 1996). Nos ramos, as lesões são encharcadas podendo

ou não se tornarem necróticas (WIEBE; HOPKINS; WALCOTT, 2004; WECHTER *et al.*, 2011). No geral, os sintomas mais comuns e facilmente diagnosticados ocorrem nos frutos, que exibem pequenas manchas oleosas que se expandem e se tornam marrons necróticas. O sintoma de rachadura em frutos é mais observado no grupo botânico *cantalupensis* (WECHTER *et al.*, 2011). Na parte interna do fruto ocorre uma podridão seca devido a colonização bacteriana na polpa (SANTOS; VIANA, 2000). Alguns sintomas da doença são observados na Figura 2.

**Figura 2.** Sintomas da mancha aquosa em meloeiro. Plântula: lesões face adaxial (A) e abaxial (B) das folhas cotiledonares; planta: lesões cloróticas e necróticas na face adaxial das folhas (C, E) e lesões aquosas na face abaxial (D); fruto: manchas oleosas na casca (F) e podridão seca na polpa (G) (Fonte: Assunção, 2019).



O ciclo da mancha aquosa inicia-se a partir de sementes contaminadas que originam plântulas doentes, que são responsáveis pelo aumento de mudas infectadas. A bactéria dissemina-se para plantas vizinhas à medida que as plantas vão crescendo no campo. As lesões nas folhas são a principal fonte de inóculo para desenvolvimento dos sintomas nos frutos (HOPKINS, 1994). Os frutos maduros infectados deixados no campo servem como fonte de inóculo para plantas saudáveis (LATIN, 1996) e os frutos colhidos, servem como fonte de inóculo limitada na pós-colheita (MARIANO; SOUZA, 2004). Sementes de frutos sintomáticos e



assintomáticos podem originar plântulas com sintomas típicos da doença (CARVALHO *et al.*, 2013).

Tanto no Brasil como em outros países as epidemias desta bacteriose se devem à alta transmissibilidade e rápida disseminação de *A. citrulli* pelas sementes e desenvolvimento da doença sob condições favoráveis (ZAMBOLIM *et al.*, 2011). A transmissão da bactéria por sementes, pode chegar a 63% (WALCOTT *et al.*, 2003; FESSEHAIE; WALCOTT 2005) e merece atenção especial, já que é responsável pela introdução da doença em áreas livres. Acredita-se que no Rio Grande do Norte a mancha aquosa tenha sido introduzida pela importação de sementes contaminadas (ASSIS *et al.*, 1999). Além disso, *A. citrulli* sobrevive eficazmente por períodos maiores que 30 anos em sementes de meloeiro e melanciaira (DUTTA *et al.*, 2016). Temperaturas elevadas e dias ensolarados com chuvas ao entardecer são condições favoráveis para que os sintomas da doença se desenvolvam e a bacteriose dissemina-se sobre folhas e frutos mais rapidamente (HOPKINS *et al.*, 1992).

A bactéria penetra nas folhas de meloeiro através dos estômatos e ferimentos e permanece nos espaços intercelulares dos tecidos infectados. Nos frutos, a penetração ocorre via estômatos e lenticelas e, devido à deposição de ceras na superfície dos frutos maduros, os frutos verdes são mais propícios à penetração por *A. citrulli* (SILVA NETO *et al.*, 2006). No entanto, os sintomas da doença nos frutos só aparecem quando estes estão próximos à maturidade de colheita (WALCOTT, 2005). Nas sementes, a bactéria ao penetrar pelo pericarpo do ovário da flor resulta na contaminação superficial da casca e camadas do perisperma-endosperma, e quando a penetração ocorre através do pistilo, há deposição no embrião (DUTTA *et al.*, 2012a).

Além das sementes, *A. citrulli* sobrevive em plântulas voluntárias e em hospedeiros alternativos presentes nos campos de produção, como as cucurbitáceas nativas: bucha (*Luffa cylindrica* Roemer) (SANTOS; VIANA, 2000), cabaça (*Lagenaria vulgaris* Ser.) (VIANA *et al.*, 2000), melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) e melão-pepino (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* Naud.) (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

### **3 - Manejo da Mancha Aquosa**

Para o manejo da mancha aquosa se faz necessário a integração de várias medidas de controle, nas diferentes etapas do processo de produção de sementes, mudas e frutos (BURDMAN; WALCOTT, 2012).

A detecção de *A. citrulli* em sementes e eliminação de plantas doentes durante o transplante, bem como nos campos de produção, são as medidas mais efetivas de manejo da mancha aquosa (BAHAR *et al.*, 2008; HOPKINS; LEVI, 2008).

Como as sementes contaminadas constituem a fonte primária de inóculo, tanto no campo como também em estufas (HOPKINS; THOMPSON, 2002), o foco do manejo se dá principalmente no tratamento de sementes. Diante disso, vários trabalhos foram desenvolvidos com o objetivo de eliminar a bactéria da semente. Estes incluem o tratamento químico com sulfato de estreptomicina 0,1%, kasugamicina 0,1% e oxiclreto de cobre 0,5% (SILVA NETO *et al.*, 2003); tratamento com calor seco, exposição por 9 h ao gás cloro (STEPHENS *et al.*, 2008); água eletrolisada ácida (FENG *et al.*, 2009a); e tratamento de sementes e plântulas com bactérias benéficas, tais como *Paenibacillus lentimorbus* MEN2 e *Bacillus* sp. RAB9 (MEDEIROS *et al.*, 2009). No entanto, nenhum dos tratamentos realizados até o momento foi capaz de eliminar a bactéria de forma eficiente, provavelmente devido o inóculo estar nos tecidos internos da semente (BURDMAN; WALCOTT, 2012; RANE; LATIN, 1992). Uma outra forma de manter os campos de produção livre dessa bacteriose é a otimização da detecção do patógeno em sementes através da reação em cadeia da polimerase (PCR) (BAHAR *et al.*, 2008).

Para o manejo em estufa de produção de mudas algumas práticas são recomendadas: aquisição de sementes livres da contaminação por *A. citrulli*; inspeções frequentes das sementeiras e, caso se encontre plântulas com sintomas da mancha aquosa, as mesmas devem ser destruídas, bem como as plantas vizinhas num raio de 5 metros, higienização (esterilização) de estufa, bandejas e substrato; pulverização das plântulas com produtos à base de cobre aplicados preventivamente; inspeção das áreas ao redor das estufas e destruição de ervas daninhas e outras espécies voluntárias pertencente à família das cucurbitáceas nas áreas de plantio, pois podem abrigar o patógeno. Destas práticas, as mais comumente empregadas são a desinfestação do material usado em casa de vegetação (hipoclorito; amônia quaternária); evitar fluxo de pessoas e manuseio de plantas desnecessário; destruir restos vegetais (queimar); manter baixa umidade e eliminar água livre nas folhas; fechar as abas laterais da estufa durante os períodos de vento; evitar manejar as plântulas quando estiverem molhadas; e o uso de barreiras entre as bandejas (HOPKIN; WALCOTT, 2001).

Uma vez que a bactéria tenha sido introduzida no campo está bacteriose só pode ser manejada usando múltiplas aplicações com produtos químicos que contenham cobre, tais como hidróxido, sulfato e oxiclreto de cobre (HOPKINS, 1991; HOPKINS; THOMPSON, 2002). Como estes produtos não são sistêmicos é necessário que tenham uma boa cobertura e retenção

na folha (RITCHIE, 2004), e para que tenham máxima eficiência devem ser aplicados de forma preventiva (BURDMAN; WALCOTT, 2012). Contudo, esses produtos não têm demonstrado eficiência o que vem levantando preocupações quanto ao surgimento de isolados resistentes ao cobre (LATIN; HOPKINS, 1995; WALCOTT *et al.*, 2004; WECHTER *et al.*, 2011).

Outras medidas de controle também têm sido adotadas nos campos de produção de frutos, como: rotação de culturas por pelo menos três anos; evitar o plantio em períodos chuvosos; efetuar adubação equilibrada (VIANA *et al.*, 2000); erradicar plântulas e plantas com sintomas, assim como as plantas voluntárias (DIAS *et al.*, 1998); eliminar cucurbitáceas silvestres, como a bucha e o melão-de-são-caetano (VIANA *et al.*, 2000); destruir restos de culturas, principalmente quando o campo estiver infectado; evitar circulação de pessoas ou implementos no campo sobre condições de chuva, orvalho ou mesmo irrigação (VIANA *et al.*, 2000).

O conjunto dessas medidas tem possibilitado a redução das perdas em plantios de diversas partes do mundo, no entanto, novas epidemias vêm sendo assinaladas, o que indica a necessidade da busca de novas alternativas para conter a doença.

Mundt (2014) considera a resistência de plantas hospedeiras a forma mais eficiente de manejo para doenças causadas por bactérias fitopatogênicas. Além do uso de cultivares resistentes, a busca por plantas detentoras de metabolitos secundários com atividade biológica contra fitopatógeno pode se tornar uma nova opção para o manejo das doenças de plantas (CASTRO, 2010).

#### **4 - Fontes de Resistência Genética à Mancha Aquosa**

Provavelmente a mais significativa contribuição do melhoramento genético de plantas à agricultura seja a obtenção de cultivares resistentes a fitopatógenos. Uma vez que, para algumas culturas de importância econômica, este método de controle pode ser o único disponível, de fácil implementação pelos produtores, mais econômico, além de ser menos danoso ao meio ambiental (LOPES; BOITEUX, 2012). É fundamental para o melhorista ter a sua disposição o maior número possível de genótipos detentores de genes de resistência, o que possibilita maiores chances de obtenção de cultivares comerciais resistentes à fitopatógenos. Uma primeira ação é a identificação de fontes de resistência no germoplasma disponível para ser incorporado em linhagens elite e em etapas subsequentes do programa visando resistência genética a um determinado fitopatógeno (SALES JÚNIOR *et al.*, 2015).

O meloeiro é considerado a espécie mais polimórfica do gênero *Cucumis* para um grande número de caracteres (LUAN *et al.*, 2009). Portanto, a escolha dos genótipos a serem

utilizados como doadores está diretamente relacionada com o sucesso do programa de melhoramento, por isso, é fundamental uma escolha criteriosa dos genitores a serem recombinados (THUROW; CASTRO; PEREIRA, 2018).

Até o momento não existe nenhuma variedade imune a mancha aquosa para melancia e meloeiro, apesar da grave ameaça representada por *A. citrulli* (BAHAR *et al.*, 2009). As dificuldades encontradas têm sido atribuídas principalmente as diferenças nas condições experimentais (HOPKINS; THOMPSON, 2002c; ARVALHO *et al.*, 2013). Além disso, interferem nos resultados da seleção a heterogeneidade genética relativamente alta dentro dos acessos em comparação com cultivares comerciais (BUSO *et al.*, 2004; BAHAR *et al.*, 2009), a capacidade de *A. citrulli* infectar os órgãos de plantas em diferentes estágios fenológicos da cultura (BAHAR *et al.*, 2009) e a alta variabilidade genética dos isolados da bactéria (WALCOTT *et al.*, 2000, 2004; BURDMAN *et al.*, 2005).

Embora a resistência à mancha aquosa seja necessária para todas as cucurbitáceas, o foco dos estudos nos últimos anos tem sido atribuído a cultura da melancia. Mudanças de melancia foram encontradas variando significativamente na sua resistência a mancha aquosa, sendo as cultivares Garrisonian, Mountain Hoosier e Wilhite Wonder consideradas as mais resistentes (GOTH; WEBB, 1981). Os genótipos de melancia PI 295843 e PI 299378, foram considerados fontes de resistência (SOWELL; SCHAAD, 1979), no entanto, entre os anos de 1989 e 1990, plântulas e frutos desses dois materiais, foram suscetíveis à mancha aquosa (HOPKINS *et al.*, 1993). Hopkins e Thompson (2002), testaram 1.344 genótipos de *Citrullus* spp. e *Praecitrullus fistulosus* (Stocks) Pangalo, sob condições climáticas de inverno e verão. Com base em avaliações de casa vegetação e campo, os genótipos PI 482279, PI 494817, PI 500303, PI 500331 e PI 482246 obtiveram a menor porcentagem de doenças em folhas de melancia em condições de campo e foram consideradas as melhores fontes de resistência. No Brasil, genótipos de melancia pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste Brasileiro (BAG) da Embrapa Semiárido, foram inoculados com *A. citrulli* em diferentes estágios de desenvolvimento da planta: sementes (74 genótipos), plântulas e plantas antes da floração (29 genótipos) e plantas durante a floração e frutificação (7 genótipos). Nenhum genótipo foi imune à mancha aquosa e a maioria apresentou variação em resposta à resistência. Porém, os genótipos BG CIA 979, BG CIA 34 e 'Sugar Baby' mostraram altos níveis de resistência na maioria dos estágios de desenvolvimento da planta, indicando possuírem genes para resistência à mancha aquosa (CARVALHO *et al.*, 2013).

Só mais recentemente foram avaliados genótipos de meloeiro a procura de fontes de resistência a mancha aquosa. Bahar *et al.* (2008) selecionaram 15 cultivares comerciais e 20

linhagens de meloeiro selvagens, onde foram observadas diferenças significativas no nível de susceptibilidade a doença. Genótipos de meloeiro apresentaram reações diferentes a mancha aquosa, porém alguns resultados consistentes foram encontrados, sendo selecionadas duas cultivares (ADIR339 e 6407) resistentes, quando sementes foram bacterizadas e plântulas inoculadas e duas linhagens (BLB-B e EAD-B) resistentes no ensaio em que as sementes foram bacterizadas. Trezentos e trinta e duas plantas de *Cucumis* spp. foram avaliadas quanto a resistência mancha aquosa, e apenas os genótipos PI 353814, PI 381171, PI 536573 e PI 614401, todos pertencentes à *C. melo* e PI 504558 (*C. ficifolius* A. Rich.) foram selecionados por apresentarem algum nível de resistência (WECHTER *et al.*, 2011).

No Brasil, Buso *et al.* (2004), avaliaram 76 genótipos do Banco Ativo de Germoplasma de Melão da Embrapa Hortaliças e encontraram cinco genótipos [4 (CNPH 83-068, Sib do Valência), 7 (CNPH 83-101, Golden Charm), 29 (CNPH 00881, AF 646), 33 (00-852, Summet F1) e 39 (CNPH 01-925, Seminole)] com um certo grau de resistência com relação aos demais, no entanto ambos susceptíveis a mancha aquosa. Até o momento, apenas essa pesquisa foi conduzida com o objetivo de selecionar fontes de resistência à mancha aquosa em meloeiro nas condições brasileiras (região Nordeste). No entanto essa seleção deve ser feita de forma regional devido à grande influência dos fatores ambientais no desenvolvimento da mancha aquosa, o que reforça a necessidade da busca de novas fontes de resistência genética à doença.

Os estudos mais recentes envolveram a identificação de Quantitative trait loci - QTLs, regiões do genoma responsáveis pela expressão de caracteres fenotípicos. Mapear um QTL significa identificar sua posição no genoma e estimar seus efeitos genéticos (TOLEDO *et al.*, 2008). Branham *et al.* (2019), identificaram seis QTLs em *Citrullus amarus* Schrad. associados à resistência a mancha aquosa, e concluíram que a resistência genética à mancha aquosa é complexa, fortemente influenciada pelos fatores ambientais, de baixa herdabilidade e de significativa interação genótipo-ambiente

## **5 - Extratos Vegetais no Controle de Bactérias**

Os defensivos agrícolas têm sido considerados a solução mais eficiente para controlar as doenças das plantas cultivadas. No entanto, esses mesmos defensivos, além de contaminarem os alimentos e meio ambiente, induzem resistência aos fitopatógenos, o que torna muitos deles ineficazes (SILVA *et al.*, 2016). Nesse sentido, tem sido constante a busca por produtos alternativos efetivos e ecologicamente corretos, que possam fornecer múltiplos e diferentes modos de ação com baixo risco e que acarrete um menor dano ao meio ambiente (REUVENI, 2019).

Dentro deste contexto, cresce cada vez mais o interesse por parte dos pesquisadores por novas opções para o controle de doenças na agricultura, e os extratos vegetais são uma alternativa em potencial (CHOI *et al.*, 2008). É sabido que os metabólitos secundários encontrados nos tecidos vegetais, como óleos essenciais e extratos vegetais, possuem atividades citotóxicas, inseticidas, acaricidas, antifúngicas e antibacterianas (TEPE *et al.*, 2004). Além dessa atuação direta contra patógenos, também podem atuar na indução de resistência de plantas, devido a características elicitoras (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2003).

Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos principais: compostos fenólicos, terpenoides e alcaloides (TAIZ; ZEIGER, 2013). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico e ácido mevalônico, como os flavonoides, taninos e ligninas; os terpenos são produzidos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto), a exemplo de óleos essenciais, saponinas, carotenoides e a maioria dos fitoreguladores; e os alcaloides são provenientes de aminoácidos aromáticos (triptofano e tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina), como a nicotina, cafeína e vincristina (ALVES, 2001; PERES, 2004).

O mecanismo de ação de muitos metabólitos antimicrobianos é complexo, e pode não ser a consequência de uma ação em um único alvo. Por exemplo, compostos fenólicos estão envolvidos em diferentes mecanismos de ação, os quais incluem ruptura da membrana, ligação a proteínas, inibição da síntese de proteínas, inibição enzimática, produção de complexos na parede celular, formação de pontes de dissulfeto e intercalação com parede celular e/ou DNA, entre outros (BOZDOGAN; APPELBAUM, 2004). Da mesma maneira, a ação antimicrobiana dos alcaloides pode ser na parede celular e/ou constituintes de DNA; enquanto, os terpenóides atuam na ruptura das membranas (COWAN, 1999).

O Brasil possui a maior diversidade de plantas do mundo, cerca de 20% da flora mundial (GIULIETTI, *et al* 2005; 2009) e nas regiões Norte e Nordeste concentram uma grande parcela dessa diversidade. O domínio fitogeográfico Caatinga ocupa 60% do território da região Nordeste, compreendendo uma área de aproximadamente 826.411 km<sup>2</sup> (MMA/IBAMA, 2010), abrangendo os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Sergipe, Alagoas, Bahia, sul e leste do Piauí e norte de Minas Gerais. É composto por uma infinidade de plantas, usadas tanto na culinária popular como também no tratamento de doenças. Apesar da grande diversidade de plantas da Caatinga, ainda existem poucos estudos sobre o potencial de compostos bioativos provenientes das plantas dessa região (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2016).

A maioria das pesquisas com plantas do domínio Caatinga está voltada para o tratamento de infecções bacterianas em humanos. Ahameethunisa e Hopper (2010), observaram amplo espectro de atividade antibacteriana do extrato de *Artemisia nilagirica* (Clarke) sobre onze patógenos clínicos: *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers; *Yersinia enterocolitica* (Schleifstein and Coleman) Frederiksen; *Basillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn; *Enterococcus faecalis* (Andrewes and Horder) Schleifer and Kilpper-Bälz; *Klebsiella pneumoniae* (Schroeter) Trevisan; *Salmonella typhi* (Schroeter) Warren and Scott; *Staphylococcus aureus* Rosenbach; *Enterobacter aerogenes* Hormaeche and Edwards; *Proteus vulgaris* Hauser; *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula e *Shigella flexneri* Castellani and Chalmers. As análises fitoquímicas mostraram presença de compostos biológicos com atividade antimicrobiana, como alcaloides, aminoácidos, flavonoides, fenóis, taninos e terpenoides.

A ação antibacteriana de 24 extratos de plantas da Caatinga foi avaliada no controle de *P. aeruginosa* (patógeno humano oportunista), sendo selecionados quatro extratos com potencial antagônico, dos quais três deles [*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillett e *Myracrodruon urundeuva* Allemão] apresentaram atividade antibiofilme e foram associados a completa inibição do crescimento da bactéria (TRENTIN *et al.*, 2014).

A atividade antibacteriana do óleo essencial de sementes de *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. foi testada *in vitro* na redução do crescimento de 17 isolados de *S. aureus* incluindo isolados resistentes, e a maioria (68,75%) foi sensível (BESSA *et al.*, 2016). Outros estudos também revelaram que as plantas desse domínio apresentam eficiência contra doenças causadas por *Staphylococcus epidermidis* (Winslow and Winslow) Evans (TRENTIN *et al.*, 2011) e *P. aeruginosa* (SILVA *et al.*, 2015). Os resultados promissores obtidos com patógenos humanos impulsionaram as pesquisas com fitopatógenos.

Pouco se sabe sobre o verdadeiro potencial dos extratos vegetais da Caatinga no controle de doenças bacterianas em plantas. Os estudos ainda estão em fases iniciais e a maioria envolve apenas testes *in vitro*. O extrato foliar de *A. nilagirica* apresentou atividade antibacteriana aos fitopatógenos *Erwinia* sp.; *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson; *Pseudomonas syringae* Van Hall e *Clavibacter michiganensis* Corrig. (Smith) Davis *et al.* (AHAMEETHUNISA; HOPPER; 2010).

Silva *et al.* (2016) determinaram a concentração inibitória mínima (CIM) de 12 extratos aquosos sob *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones) Hauben *et al.* e *A. citrulli*. Destacaram-se os extratos de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil*

Griseb., *Croton pedicellatus* Kunt. e *Eugenia brejoensis* Mazine com amplo espectro do efeito inibitório (CIM 3,12 a 12,5 mg/mL<sup>-1</sup>) sob as quatro espécies bacterianas.

O extrato aquoso de *Jacaranda rugosa* A. H. Gentry apresentou atividade antimicrobiana superior a 90%, enquanto *Harpochilus neesianus* Mart. ex Nees e *Myroxylon peruiferum* LF apresentaram atividade antibiofilme superior a 50% para os isolados de *R. solanacearum* testados. Contudo, *Croton heliotropiifolius* Kunth mostrou ambas as atividades, sendo assim muito promissor para aplicação no controle deste fitopatógeno (Malafaia *et al.*, 2018).

Recentemente, Conceição (2019) avaliou o efeito de cinco extratos de plantas da Caatinga no controle da mancha aquosa em condições de casa de vegetação. Sementes de meloeiro foram inoculadas com *A. citrulli* por infiltração ( $3,4 \times 10^7$  UFC/mL<sup>-1</sup>), e posteriormente imersas nas soluções dos extratos brutos em concentrações mínimas inibitórias (CIM), tendo sido observados aumentos dos períodos de incubação e reduções dos índices da doença de até 75,6 % com os extratos brutos de *Ximenia americana* L., *Maytenus rigida* Mart. e *Schinopsis brasiliensis* Engl., e uma CIM = 6,25 mg/mL sobre a bactéria com o extrato de *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) L. P. Queiroz). Os extratos de *S. obtusifolium* (bruto) e *S. brasiliensis* (CMB = 25 mg/mL) também se destacaram na proteção das plântulas de meloeiro com redução do índice da mancha aquosa.

Visando obter novas estratégias para o manejo da mancha aquosa em meloeiro, este trabalho teve como objetivos: a) avaliar a resistência de acessos de *C. melo* obtidas da coleção ativa de germoplasma da Universidade Federal de Mossoró - UFERSA inoculados com *A. citrulli* em diferentes estádios fenológicos e a estabilidade da resistência a múltiplos isolados do patógeno; e b) selecionar extratos de plantas da Caatinga com eficiência no controle da mancha aquosa.

## REFERÊNCIAS

AHAMEETHUNISA, A. R.; HOPPER, W. Antibacterial activity of *Artemisia nilagirica* leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 10, p. 1-6, 2010.

ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M.; ALMEIDA, C. F. C. B. R.; FLORENTINO, A. T. N.; FERRAZ, J. S. F. Useful plants of the semi-arid northeastern region of Brazil – a look at their conservation and sustainable use. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 125, p. 281-290, 2007.

ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, v. 3, p. 10-15. 2001.



**ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**. Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Editora, Gazeta Santa cruz, 2018. 88 p. Disponível em:<  
[http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2018/04/FRUTICULTURA\\_2018\\_dupla.pdf](http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2018/04/FRUTICULTURA_2018_dupla.pdf)>. Acesso em: jul. 2019.

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, p. 191, 1999.

ARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B. Mancha aquosa: importante bacteriose do meloeiro no Brasil. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Pernambuco, v. 1, p. 79-88, 2004.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; NORONHA, M. A.; BELMINO, C. S. **Ocorrência da mancha-aquosa da melancia no estado do Piauí**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2007. 3 p. (Comunicado técnico, 200).

BAHAR, O. G.; KRITZMAN; BURDMAN, S. Bacterial fruit blotch of melon: Screens for disease tolerance and role of seed transmission in pathogenicity. **European Journal of Plant Pathology**, 123:71-83, 2009.

BAHAR, O.; EFRAT, M.; HADAR, E., DUTTA, B., WALCOTT, R. R.; BURDMAN, S. New subspecies-specific polymerase chain reaction-based assay for the detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 57, p. 754-763, 2008.

BESSA, C. M. A. S.; NASCIMENTO, R. S.; ALVES, R. C. C.; ANSELMO, J. M.; SILVA, A. P. S.; SILVA, A. G.; LIMA, V. L. M.; TAVARES, J. F.; SILVA, L. C. N.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S. *Syagrus coronata* seed oils have antimicrobial action against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Medicinal Plants Research**, Lagos, v. 10, p. 310-317, 2016.

BLANCA, J. M.; ESTERAS, C.; AREITIOAURTENA, P. Z.; PEREZ, D.; FERNANDEZ-PEDROSA, V.; COLLADO, C.; PABLOS, R. R.; BALLESTER, A.; ROIGMONTANER, M. C.; CAÑIZARES, J.; PICO, M. B. Transcriptome sequencing for SNP discovery across *Cucumis melo*. **BMC Genomics**, London, v. 13, p. 280, 2012.

BOZDOGAN, B.; APPELBAUM P. C. Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Netherlands, v. 23, p. 113-119, 2004.

BRANHAM, S. E.; LEVI, A.; KATAWCZIK, M. L.; WECHTER, W. P. QTL mapping of resistance to bacterial fruit blotch in *Citrullus amarus*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 38, p. 1-9, 2019.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. (Coord.). **Cadeia produtiva de frutas**. Brasília, DF: IICA: MAPA/SPA, 2007. 102 p. (Agronegócios; v. 7).

BURDMAN, S.; KOTS, N.; KRITZMAN, G.; KOPELOWITZ, J. Molecular, physiological, and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 1339-1347, 2005.

BURDMAN, S.; WALCOTT, R. R. *Acidovorax citrulli*: Generating basic and applied knowledge to tackle a global threat to the cucurbit industry. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 13, p. 805-815, 2012.

BUSO, G. S. C.; NASS, L. L.; MARQUES, A. S. A.; LOPES, C. A.; BUSO J. A. **Avaliação de genótipos de melão, visando identificar fontes de resistência a *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli***. Brasília: EMBRAPA-SPI, 2004. p. 1-12 (Comunicado Técnico, 116)

CARVALHO, F. C. Q.; SANTOS, L. A.; DIAS, R. C. S.; MARIANO, R. L. R.; SOUZA, E. B. Selection of watermelon genotypes for resistance to bacterial fruit blotch. **Euphytica**, Wageningen, v. 190, p. 169-180, 2013.

CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Antifungal activity of the essential oils from *Eucalyptus globulus* L. on *Candida* spp. **Revista de Odontologia UNESP**, Araraquara, v. 3, n. 39, p. 179-184, 2010.

CHOI, N. H.; CHOI, G. J.; JANG, K. S.; CHOI, Y. H.; LEE, S. O.; CHOI, J. E.; KIM, J. C. Antifungal activity of the metanol extract of *Myristica malabarica* fruit rinds and the active ingredients malabaricones against phytopathogenic fungi. **The Plant Pathology Journal**, Seoul, v. 24, p. 317-321, 2008.

CONCEIÇÃO, C. S. **Leveduras e extratos aquosos de plantas da Caatinga no controle da mancha aquosa do meloeiro**. 2019, 93f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

CONCEIÇÃO, C. S.; ASSUNÇÃO, E. F.; REZENDE, J. S.; MORAIS, R. F.; SILVA, A. M. F.; GAMA, M. A. S.; SOUZA, E. B. Ocorrência de mancha aquosa em melancia e meloeiro no estado do Piauí. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 50. 2017. Uberlândia. **Anais [...]**. Viçosa: SBF, 2017.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v.1 2, p. 564-582, 1999.

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

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: prospecções tecnológicas**. Brasília: SPI. p. 440-493, 1998.

DHILLON, N. L.; SINGH, P. P. Diversity among landraces of Indian snap melon (*Cucumis melo* var. *Momordica*). **Genetic Resources and Crop Evolution**, Heidelberg, v. 54, p. 1267-1283, 2007.

DUTTA, B.; SCHNEIDER, R. W.; ROBERTSON, C. L.; WALCOTT, R. R. Embryo localization enhances the survival of *Acidovorax citrulli* in watermelon seeds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 106, p. 330-338, 2016.

DUTTA, B.; AVCI, U.; HAHN, M. G.; WALCOTT, R. R. Location of *Acidovorax citrulli* in infested watermelon seeds is influenced by the pathway of bacterial invasion. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 102, p. 461-468, 2012a.

EPPO (2018). **European and Mediterranean Plant Protection Organization**. *Acidovorax citrulli* PSDMAC. Available at: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMAC/distribution>. (Accessed July, 2019).

FENG, J.; LI, J.; RANDHAWA, P.; BONDE, M.; SCHAAD, N. W. Evaluation of seed treatments for the eradication of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* from melon and watermelon seeds. **Canadian Journal Plant Pathology**, Canada, v. 31, p. 180-185, 2009.

FENG, J.; LI, J.; RANDHAWA, P.; BONDE, M.; SCHAAD, N.W. Evaluation of seed treatments for the eradication of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* from melon and watermelon seeds. **Can. Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 31, p. 180-185, 2009a.

FESSEHAIE, A.; WALCOTT, R. R. Biological control to protect watermelon blossoms and seed from infection by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 95, p. 413-419, 2005.

GUIMARÃES, I. P.; DOVALE, J. C.; ANTÔNIO, R. P.; ARAGÃO, F. A. S.; NUNES, G. H. S. Interference of genotype-by-environment interaction in the selection of inbred lines of yellow melon in an agricultural center in Mossoró-Assu. **Acta Scientiarum Agronomy**, Londrina, v. 38, p. 51-59, 2016.

GIULIETTI, A. N.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação de plantas no Brasil. **Megadiversidade**, São Paulo, v. 1 p. 52-61, 2005.

GIULIETTI, A. M.; RAPINI, A.; ANDRADE, M. J. G.; QUEIROZ, L. P.; SILVA, J. M. C. **Plantas raras do Brasil**. Belo Horizonte: Conservação Internacional, 2009. p. 498.

GOTH, R. W.; WEBB, R. E. Resistance of comercial watermelon (*Citrullus lanatus*) to *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*. **Plant disease**, Saint Paul, v. 65, p. 671-672, 1981.

HOPKINS, D. L. Chemical control of bacterial fruit blotch of watermelon. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Flórida, v. 104, p. 270-272, 1991.

HOPKINS, D. L.; STALL, R. E.; LATIN, R.; RUSHING, J.; COOK, W. P.; KEINATH, A. P. Bacterial fruit blotch of watermelon. **American Sunmelon**, p. 1-2, 1992 (Boletim).

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

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

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

HOPKINS, D. L.; LEVI, A. Progress in the development of Crimson Sweet-type watermelon breeding lines with resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, **Acta Horticulturae**, The Hague, p. 157-162, 2008.

HOPKINS, D. L.; THOMPSON, C. M. Evaluation of - sp. germplasm for resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 86, p. 61-64, 2002.

HOPKIN, D.; WALCOTT, R. Bacterial fruit blotch. Compendium of Cucurbit Diseases, **American Phytopathological Society Bulletin**, Georgia, p. 1-6, 2001.

**HORTIFRUIT**. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - ESALQ/USP.

Piracicaba - SP, 2018. 50 p. Disponível em: <

<https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/anuario-2018-2019.aspx> >. Acesso em: jul. 2019.

ISAKEIT, T.; BLACK, M. C.; BARNES, L. W.; JONES, J. B. First report of infection of honeydew with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 81, p. 694-700, 1997.

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

JOHN, K. J. On the occurrence, distribution, taxonomy and gene pool relationship of *Cucumis callosus* (Rottler) Cogn., the wild progenitor of *Cucumis melo* L. From India. **Genetic Resources and Crop Evolution**. Heidelberg, v. 59, p. 1-10, 2012.

KERJE, T.; GRUM, M. The origin of melon, *Cucumis melo*: a review of the literature. **Acta Horticulturae**. Netherlands, v. 510, v. 37-44, 2000.

LATIN, R. X. **Bacterial fruit blotch of cucurbits**. Saint Paul: Plant Health Progress-USA, 1996, p. 34-35.

LATIN, R. X.; HOPKINS, D. L. Bacterial fruit blotch of watermelon. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 61-76, 1995.

LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S. **Breeding for resistance bacterial diseases**. In: FRITSCHENETO, R.; BORÉM, A. Plant breeding for biotic stress resistance. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2012. p. 37-55.

LOPEZ-SESE, A. I.; STAUB, J. E.; GOMEZ-GUILLAMON, M. L. Genetic analysis of Spanish melon (*Cucumis melo* L.) germplasm using a standardized molecular marker array and reference accessions. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 108, p. 41-52, 2003.

LUAN, F.; SHENG, Y.; WANG, Y.; STAUB, J. E. Performance of melon hybrids derived from parents of diverse geographic Origins. **Euphytica**, Wageningen, v. 173, p. 116, 2009.

MACAGNAN, D.; ROMEIRO, R. S.; MENDONÇA, H. L.; BARRETO, R. W. Mancha bacteriana da melancia: uma nova doença no estado de Minas Gerais. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, p. 286-287, 2003.

MALAFAIA, C. B.; JARDELINO, A. C. S.; SILVA, A. G.; SOUZA, E.B.; MACEDO, A. J.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S.; Effects of Caatinga Plant Extracts in Planktonic Growth and Biofilm Formation in *Ralstonia solanacearum*, **Microbial Ecology**, New York, v. 75, p. 555-561, 2018.

MARIANO, R. L. R.; SOUZA, E. B. MANCHA AQUOSA: IMPORTANTE BACTERIOSE DO MELOEIRO NO BRASIL. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 1, p.79-88, 2004.

MEDEIROS, F. H. V.; MORAES, I. S. F.; SILVA NETO, E. B.; SILVEIRA, E. B.; MARIANO, R. L. R. Management of melon bacterial blotch by plant beneficial bacteria. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 37, p. 453-460, 2009.

MELO, E. A.; MARIANO, R. L. R.; LARANJEIRA, D.; SANTOS, L. A.; GUSMÃO, L. O.; SOUZA, E. B. Efficacy of Yeast in the Biocontrol of Bacterial Fruit Blotch in Melon Plants. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 40, p. 56-64, 2015.

MMA-IBAMA. **Monitoramento do bioma Caatinga 2002 a 2008**. Monitoramento do Desmatamento nos Biomas Brasileiros por Satélite. Acordo de Cooperação Técnica MMA/IBAMA. Centro de Sensoriamento Remoto do Ibama - CSR, Agência Brasileira de Cooperação - ABC e Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento - PNUD, Relatório Técnico, p.1-58, 2010.

MONFORTE, A. J.; OLIVER, M.; GONZALO, M. J.; ALVAREZ, J. M.; DOLCET-SANJUAN, R.; ARÚS, P. Identification of quantitative trait loci involved in fruit quality traits in melon (*Cucumis melo* L.). **Theoretical and Applied Genetics**. Berlin, v. 108, p. 750-758, 2004.

MOURA, M. C. F.; SILVA, S. G. A.; OLIVEIRA, L. C. S.; SANTOS, E. C. Atividades impactantes da cadeia produtiva do melão no agropólo Mossoró/Assú-N. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campina Grande, v. 7, p. 09-14, 2011.

MUNDT, C. C. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests. **Infection Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 27, p. 1-22, 2014.

OLIVEIRA, I. S.; SALES JÚNIOR, R.; MARIANO, R. L. R. Ocorrência da mancha-aquosa causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, em melão-pepino no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 686, 2003.

OLIVEIRA, A.; SANTOS, M. H. M.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A.; MARIANO, R. L. R. Biocontrole da mancha aquosa do meloeiro pelo tratamento de sementes com bactérias epifíticas e endolíticas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 373-377, 2006.

OLIVEIRA, J. C.; SILVEIRA, E. B.; MARIANO, R. L. R.; CARDOSO, E.; VIANA, I. O. Caracterização de Isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 480-487, 2007.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/Universidade de São Paulo, 2004. p. 1-10.

PITRAT, M. **Melon (*Cucumis melo* L.)**. In: PROHENS, J.; NUEZ, F. (eds) Handbook of crop breeding vol I: vegetables. Springer, New York, p. 283-315, 2008.

PITRAT, M. Phenotypic diversity in wild and cultivated melons (*Cucumis melo*). **Plant Biotechnology**, Tokyo, v. 30, p. 273-278, 2013.

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

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

REUVENI, M. Regev™ – a new potent hybrid product for the control of plant diseases: a mini review. **Outlooks on Pest Management**, Hemel Hempstead, v. 30, p. 33-35, 2019.

RITCHIE, D. Copper-containing fungicides/bactericides and their use in management of bacterial spot on peaches. **Southeast Regional Newsletter**, v. 4, p. 1-4, 2004.

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. 48, 1991.

SALES JÚNIOR, R., NUNES, G. H., SILVA, K. J., COSTA, G. G., GUIMARÃES, I. M.; MICHEREFF, S. J. Reaction of melon accessions to *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n 2, p. 196-202, 2015.

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

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

SCHAAD, N. W.; SOWELL, G.; GOTH, R. W.; COLWELL, R. R.; WEBB, R. E. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 28, p.117-125, 1978.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 554-556, 2003.

SEBASTIAN, P.; SCHAEFER, H.; TELFORD, I. R. H.; RENNER, S. S. Cucumber (*Cucumis sativus*) and melon (*C. melo*) have numerous wild relatives in Asia and Australia, and the sister species of melon is from Australia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, New Delhi, v. 107, p. 14269-14273, 2010.

SILVA, C. M. A.; COSTA, B. M. S.; SILVA, A. G.; SOUZA, E. B.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S.; SANT'ANNA, S. A. P.; MENEZES, L. V. L. Antimicrobial activity of several Brazilian medicinal plants against phytopathogenic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 10, p. 578-583, 2016.

SILVA, L. N.; TRENTIN, D. S.; ZIMMER, K. R.; ZIMMER, K. R.; TRETER, J.; BRANDELLI, C. L.; FRASSON, A. P.; TASCIA, T.; DA SILVA, A. G.; DA SILVA, M. V.; MACEDO, A. J. Anti-infective effects of Brazilian Caatinga plants against pathogenic bacterial biofilm formation. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v.53, p.464-468, 2015.

SILVA NETO, E. B.; MEDEIROS, F. H. V.; MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B. Controle químico da mancha-aquosa do melão pelo tratamento de sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. S340, 2003.

SILVA NETO, E. B.; SILVEIRA, E. B.; MARIANO, R. L. R.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L.; SANTOS, L. A. Penetração e colonização de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em folhas, frutos e sementes de melão amarelo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 84-88, 2006.

SOMODI, G. C.; JONES, J. B.; HOPKINS, D. L.; STALL, R. E.; KUCHAREK, T. A.; HODGE, N. C.; WATTERSON, J. C. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, p. 1053-1056, 1991.

SOUZA, E. B.; MARIANO, R. L. R. CONCEIÇÃO, C. S. Manejo da Mancha Aquosa em Meloeiro. In: GAMA, M A. S.; NICOLI, A.; GUIMARÃES, L. M. P.; LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. **Estado da Arte em Fitobacterioses Tropicais** 193:209, 2016.

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

STEPHENS, D. J.; SCHNEIDER R. W.; WALCOTT, R.; JOHNSON, C. E. A procedure, based on exposure to chlorine gas, for disinfesting watermelon seeds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 98, p.150-151, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TEPE, B.; DONMEZ, E.; UNLU, M.; CANDAN, F.; DAFERERA, D.; VARDAR-UNLU, G. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). **Food Chemistry**, Barking, v. 84, p. 519-525, 2004.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário. Piracicaba** – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/Universidade de São Paulo, 2004. p. 1-10.

THUROW, L. B.; CASTRO, C. M.; PEREIRA, A. S. Melhoramento de plantas visando à resistência a patógenos. In: DALLAGNOL, L. J. (ed.). **Resistência genética de plantas a patógenos**. 1. ed. Pelotas: UFPEL, 2018, p. 65-93.

TOLEDO, E. R.; LEANDRO, R. A.; SOUZA JUNIOR, C. L.; SOUZA, A. P. MAPEAMENTO DE QTLs: UMA ABORDAGEM BAYESIANA. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 107-114, 2008.

TRENTIN, D. D. S.; GIORDANI, R. B.; ZIMMER, K. R.; SILVA, A. G.; SILVA, S. M. V.; CORREIA, M. T. S.; BAUMVOL, I. J. R. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of ethnopharmacology**, Lausanne, v. 137, p. 327-335, 2011.

TRENTIN, D. S.; ZIMMER, K. R.; SILVA, M. R.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. plantas medicinais da caatinga brasileira: atividades antibiofilme e antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, p. 264-271, 2014.

TZITZIKAS, E. N.; MONFORTE, A. J.; FATIHI, A.; KYPRIOTAKIS, Z.; IACOVIDES, T. A.; IOANNIDES, I. M.; KALAITZIS, P. Genetic diversity and population structure of traditional Greek and Cypriot melon cultivars (*Cucumis melo* L.) based on simple sequence repeat variability. **HortScience**, Alexandria, v. 44, p. 1820-1824, 2009.

UENO, B.; COUTO, M. E. O.; UESUGI, C. H. Ocorrência de mancha-aquosa em melão no estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p.246-246, 2003.

VIANA, F. M. P.; SANTOS, A. A.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. Recomendações para o controle das principais doenças que afetam a cultura do melão na Região Nordeste. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**. 2001. 24 p. (Circular técnica, 12).

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).

VIEIRA, P. D. B.; SILVA, N. L. F.; SILVA, G. N.; SILVA, D. B.; LOPES, N. P.; GNOATTO, S. C. B.; SILVA, M. V.; MACEDO, A. J.; BASTIDA, J.; TASCIA, T. Caatinga plants: natural and semi-synthetic compounds potentially active against *Trichomonas vaginalis*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, v. 26, p. 2229-2236, 2016.

WALCOTT, R. R. **Bacterial fruit blotch of cucurbits**. The Plant Health Instructor, 2005. DOI: 10.1094/PHI-I-2005-1025-02.

WALCOTT, R. R.; FESSEHAIE, A.; CASTRO, A. C. Differences in pathogenicity between two genetically distinct groups of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on cucurbit hosts. **Journal of Phytopathology**, Pisa, v. 152, p. 277-285, 2004.

WALCOTT, R. R.; GITAITIS, R. D.; CASTRO, A. C. Role blossoms in watermelon seed infestation by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 93, p. 528-534, 2003.



WALCOTT, R. R.; GITAITIS, R. D. Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon seed using immunomagnetic separation and the polymerase chain reaction. **Plant Disease**, v. 84, p. 470-474, 2000.

WALL, G. C.; V. M.; SANTOS, F. J.; CRUZ, D. A.; NELSON, I. CABRERA. Outbreak of watermelon fruit blotch in the Mariana islands. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 74, n. 1, 1990.

WECHTER, W.P., LEVI, A.; LING, K. S.; COUSIN, C.; BLOCK, C. C. Identification of resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* among melon (*Cucumis* spp.) plant introductions. **HortScience**, Alexandria, v. 46, p. 207-212, 2011.

WIEBE, W. L.; HOPKINS, D. L.; WALCOTT, R. R. **Bacterial fruit blotch** - questions and answers with the experts. 2004. 12 p. (Bulletin). Disponível em: <<https://studylib.net/doc/11172441/bfb-bacterial-fruit-blotch-questions-andamp%3B-answers>>. Acesso em: jul. 2019.

ZAMBOLIM, L.; LOPES, C. A.; REIS, A. Controle integrado de doenças em hortaliças visando a produção de sementes de qualidade. In: NASCIMENTO, W. M. (Ed.) **Hortaliças: Tecnologia de produção de sementes**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2011. 316 p.

## Capítulo II

---

**Novas fontes de resistência a mancha  
aquosa em diferentes estádios  
fenológicos do meloeiro e múltiplos  
isolados de *Acidovorax citrulli***

1 **Novas Fontes de Resistência a Mancha Aquosa em Diferentes Estádios Fenológicos do**  
 2 **Meloeiro e Múltiplos Isolados de *Acidovorax citrulli***

3

4 Emanuel F. Assunção • Claudeana C. Souza • Elizabeth R. Alexandre • Marco A. S. Gama •

5 Glauber H. S. Nunes • Elineide B. Souza •

6

7 E.F. Assunção • C.C. Souza • E.R. Alexandre • M.A.S Gama • E.B. Souza



8 Departamento de Agronomia, Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,

9 Dois Irmãos, 52.171-900, Recife, PE, Brasil. Autor para correspondência:

10 elineidebs@yahoo.com.br

11 G.H.S. Nunes

12 Departamento de Ciências Vegetais, Universidade Federal do Semiárido, Costa e Silva,

13 59.625-900, Mossoró, RN, Brasil

14

15 **Resumo** A mancha aquosa, causada por *Acidovorax citrulli*, é uma das principais doenças da  
 16 cultura do meloeiro. Até o momento não existe cultivar comercial resistente a doença e as  
 17 medidas de manejos não têm se mostrado eficientes. Diante disso, o objetivo do trabalho foi  
 18 identificar acessos de meloeiro com fonte de resistência genética à mancha aquosa em  
 19 diferentes estádios fenológicos da planta e testar a estabilidade dos acessos a múltiplos isolados  
 20 de *A. citrulli*. A severidade da doença, estimada com auxílio de escalas descritivas, foi avaliada  
 21 pela inoculação de *A. citrulli* em sementes (55 acessos), plântulas e plantas antes da floração  
 22 (39 acessos). Após o teste de estabilidade de seis acessos a três isolados da bactéria (Aac1.39,  
 23 Aac1.43 e Aac5.3), foi avaliada a resistência em plantas nos estádios de floração e frutificação,  
 24 teste de transmissibilidade e análises de microscopia ótica e MEV com dois acessos  
 25 selecionados. A maioria dos acessos apresentaram respostas variadas (resistência vs.  
 26 suscetibilidade) para os diferentes estádios fenológicos do meloeiro, sem imunidade expressa.  
 27 No entanto, os acessos I-136 e A-43, apresentaram altos níveis de resistência na maioria dos  
 28 ensaios e no teste de estabilidade. Os frutos desses acessos não apresentaram sintomas da  
 29 mancha aquosa e a transmissibilidade de *A. citrulli* pelas sementes foi de apenas 0,6% (I-136)  
 30 e 2,5% (A-43). Análises microscópicas evidenciaram poucas modificações estruturais e  
 31 temporal na colonização de *A. citrulli* nos mesófilo foliar desses acessos, que podem estar  
 32 relacionados a resistência. Com os resultados obtidos sugere-se que os acessos A-43 e I-136  
 33 podem ser doadores de genes de resistência à mancha aquosa, os quais podem ser introduzidos  
 34 em cultivares comerciais via programa de melhoramento genético.

35

36 **Palavras chaves:** bacterial disease, *Cucumis melo*, genotypes source, selection, microscopic  
37 analysis

38

### 39 **Introdução**

40

41 O meloeiro é uma cultura de importância econômica para o Brasil, que tem na região  
42 Nordeste os principais pólos produtivos, responsáveis por mais de 90% da produção. O melão  
43 é a segunda fruta mais exportada em valor, e a primeira em volume, o que evidencia a relevância  
44 socioeconômica dessa cultura para o país (Anuário Brasileiro de Fruticultura 2018). Em 1997  
45 a mancha aquosa do meloeiro, causada por *Acidovorax citrulli*, foi assinalada no estado do Rio  
46 Grande do Norte (Assis et al. 1999) e hoje encontra-se distribuída em mais sete estados (EPPO  
47 2018), causando perdas de rendimentos variáveis, podendo chegar a 100% em condições  
48 favoráveis de temperatura e umidade (EPPO 2014).

49 A atividade humana tem disseminado amplamente os isolados de *A. citrulli*, aumentando  
50 seu impacto agrícola global para as cucurbitáceas, especialmente para melancia e meloeiro,  
51 motivo pelo qual *A. citrulli* é considerada uma praga quarentenária em vários países (EPPO  
52 2018). No Brasil a bactéria não é uma praga quarentenária e a importância econômica da  
53 mancha aquosa está restrita ao meloeiro (Carvalho et al. 2013), embora também já tenha sido  
54 assinalada em melancia (Macagnan et al. 2003; Halfeld-Vieira and Nechet 2007).

55 *A. citrulli* pode infectar cucurbitáceas cultivadas e selvagens em todas as fases de  
56 crescimento, resultando em lesões em plântulas, planta, hastes e podridão de frutos (Hopkins  
57 and Thompson 2002; Wechter et al. 2011; Popovic and Ivanovic 2015). Nos frutos os  
58 sintomas são observados como lesões inicialmente aquosas, que se tornam necróticas,  
59 correspondendo internamente a uma podridão seca (Oliveira et al. 2006; Wechter et al. 2011),  
60 inviabilizando a comercialização. As sementes são a principal fonte de inóculo da bactéria  
61 (Burdman and Walcott 2012), mas as mudas infectadas também podem resultar em ampla  
62 disseminação, se distribuídas aos produtores (Branham et al. 2019). Além disso, as plantas  
63 voluntárias contaminadas e ervas daninhas são capazes de manter o inóculo da bactéria nos  
64 campos de produção (Latin and Hopkins 1995; Isakeit et al. 1998; Hopkins and Thompson  
65 2002). Portanto, o manejo eficiente da mancha aquosa em meloeiro envolve um conjunto de  
66 medidas de controle nas três etapas do processo de produção (sementes, mudas e frutos).

67 Apesar das várias medidas adotadas no manejo da doença, as quais incluem a utilização  
68 de sementes e mudas livres da bactéria, diversas práticas culturais e pulverização das plantas

69 com cúpricos (Walcott 2005), novas epidemias da mancha aquosa ainda vêm sendo assinaladas  
70 em todo mundo (EPPO 2018). Não existem cultivares comerciais de meloeiro resistentes à  
71 mancha aquosa, o que seria uma forma eficiente de controle da doença. A primeira ação é a  
72 identificação de fontes de resistência no germoplasma para ser incorporado em linhagens elite  
73 em etapas subsequentes de programa visando resistência genética a determinado patógeno  
74 (Sales Júnior et al. 2015).

75 A maioria dos estudos com acessos, genótipos, linhagens, plantas introduzidas e  
76 cultivares em busca de fontes de resistência à mancha aquosa foram conduzidos em melanciaira  
77 (Sowell and Schaad 1979; Somodi et al. 1991; Hopkins et al. 1993; Hopkins and Thompson  
78 2002; Carvalho et al. 2013; Shen Ma and Wehner 2015; Branham et al. 2019) e apenas três em  
79 meloeiro (Buso et al. 2004; Bahar et al. 2008; Wetcher et al. 2011), mas nenhum genótipo  
80 imune foi encontrado até o momento. Estudos de herança da resistência em melanciaira  
81 indicaram que a resistência a mancha aquosa é atribuída a múltiplos genes com um modo  
82 complexo de herança (Hopkins and Levi 2008). Recentemente, foram identificados QTLs  
83 (quantitative trait locus) em *Citrullus amarus* associados à resistência a *A. citrulli* (Branham et  
84 al. 2019).

85 Os resultados das pesquisas sugerem que a grande variação na resposta de resistência à  
86 mancha aquosa pode ser explicada pela heterogeneidade genética relativamente alta dentro das  
87 linhagens/acessos em comparação com cultivares comerciais (Buso et al. 2004; Bahar et al.  
88 2009) e pela capacidade de *A. citrulli* infectar os órgãos de plantas em diferentes estágios de  
89 desenvolvimento (Bahar et al. 2009). Para essas limitações, podem-se adicionar os efeitos das  
90 condições ambientais na resposta da resistência a mancha aquosa (Hopkins and Thompson  
91 2002) e a alta variabilidade genética dos isolados de *A. citrulli* (Walcott et al. 2000, 2004;  
92 Burdman et al. 2005).

93 A necessidade de fontes de resistência a mancha aquosa em meloeiro é indiscutível.  
94 Diante disso, o objetivo da pesquisa foi avaliar a resistência de acessos de meloeiro de uma  
95 coleção ativa de germoplasma da Universidade Federal de Mossoró - UFERSA inoculados com  
96 *A. citrulli* em diferentes estádios fenológicos e a estabilidade da resistência a múltiplos isolados  
97 do patógeno. Transmissão de *A. citrulli* pelas sementes e análises microscópicas dos tecidos de  
98 acessos selecionados como fontes de resistência também foram realizadas.

99

## 100 **Material e Métodos**

101

### 102 **Obtenção dos isolados e preparo do inóculo**

103 Os isolados CCRMAc1.12 (Aac1.12), CCRMAc1.39 (Aac1.39), CCRMAc1.43  
104 (Aac1.43) e CCRMAc5.3 (Aac5.3) de *A. citrulli* utilizados nos experimentos foram obtidos da  
105 Coleção de Culturas Rosa Mariano (CCRM) do Laboratório de Fitobacteriologia da  
106 Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil. Todos os isolados foram cultivados em  
107 meio NYDA (Pusey and Wilson 1984) e mantidos em B.O.D. a 28°C por 48 h. Para as  
108 inoculações as suspensões foram ajustadas em espectrofotômetro (Analyser®) a uma DO<sub>570</sub> de  
109 0,25 que corresponde 3,4 x 10<sup>7</sup> UFC/mL. Tween 20 (0,005%) foi adicionado a suspensão  
110 bacteriana.

111

### 112 **Fontes de germoplasma**

113 Sementes de 55 acessos de meloeiro foram obtidas na Coleção Ativa de Germoplasma  
114 da Universidade Federal de Mossoró (UFERSA) localizada em Mossoró, Rio Grande do Norte,  
115 Nordeste do Brasil (Tabela 1). Os acessos encontravam-se preservados em câmara fria a  
116 temperatura de 15°C e 40% de umidade relativa, e pertencem a diferentes grupos botânicos:  
117 momordica (n = 29), cantaloupensis (n = 15), inodorus (n = 3), acidulus (n = 2), flexuosus (n =  
118 2), chinensis (n = 1), conomon (n = 2) e makuwa (n = 1). A cultivar Goldex foi utilizada como  
119 padrão de suscetibilidade a mancha aquosa em todos os ensaios.

120

### 121 **Inoculação em sementes**

122 As sementes dos acessos de meloeiro foram imersas por 2 h em 20 mL da suspensão de  
123 *A. citrulli* e colocadas para secar por 16 h a temperatura ambiente (26 ± 2 °C). Em seguida,  
124 foram semeadas em bandejas de poliestireno® (JKS industrial Ltda.), contendo substrato  
125 Basaplant® (Base Agro Indústria e Comércio Ltda.) e mantidas em casa de vegetação com  
126 temperaturas e umidades relativas médias de 42,5 °C e 73%, respectivamente. Após a  
127 emergência, as plântulas foram postas em câmara úmida por 24 h. A avaliação da severidade  
128 da doença foi realizada aos 10 dias após o plantio (d.a.p.), com auxílio de uma escala descritiva  
129 com notas variando de 0 a 5 (Araújo et al. 2005). O delineamento experimental foi inteiramente  
130 casualizado com quatro repetições constituídas por quatro plântulas cada.

131

### 132 **Inoculação em plântulas**

133 As plântulas foram cultivadas em vasos de 200 mL, contendo substrato. Cinco dias após  
134 a germinação as folhas cotiledonares foram inoculadas com a suspensão bacteriana até o ponto  
135 de escorrimento. As plântulas foram mantidas em câmara úmida de pré e pós-inoculação por  
136 24 h (Araújo et al. 2005). Durante os dois ensaios a temperatura e a umidade relativa do ar

137 médias na casa de vegetação foram, respectivamente, de 32 °C e 69%. A severidade da doença  
138 foi avaliada aos 11 dias após a inoculação (d.a.i.), com auxílio de escala descritiva de Araújo et  
139 al. (2005) com notas variando de 0 a 5. Devido a problemas de germinação foram avaliados  
140 apenas 39 acessos de meloeiro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com  
141 cinco repetições constituídas por quatro plântulas cada.

142

### 143 **Inoculação em plantas antes da floração**

144 As plantas de 39 acessos foram cultivadas em vasos de 500 mL contendo substrato.  
145 Dezoito dias após a germinação, o primeiro par de folhas definitivas foi pulverizado com a  
146 suspensão bacteriana até o ponto de escorrimento (Silveira et al. 2003). As plantas foram  
147 submetidas à câmara úmida de pré e pós-inoculação por 24 h, e mantidas em casa de vegetação  
148 com médias de 77,6% de umidade relativa do ar e 32 °C de temperatura. A severidade da doença  
149 foi avaliada aos 10 d.a.i. com auxílio de escala descritiva adaptada de Azevedo (1997), com  
150 notas variando de 0 a 6, onde: 0, sem sintomas; 1, 1 a 5% de área foliar infectada; 2, 6 a 12%  
151 de área foliar infectada; 3, 13 a 37% de área foliar infectada; 4, 38 a 62% de área foliar infectada;  
152 5, 63 a 87% de área foliar infectada; 6, 88 a 100% de área foliar infectada. O delineamento  
153 experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições constituídas por quatro plantas  
154 cada.

155

### 156 **Estabilidade da resistência de acessos de meloeiros a múltiplos isolados de *A. citrulli***

157 Seis acessos de meloeiro (CHA-F2, AC-16, A-43, C-61, I-136 e I-199), selecionados  
158 nos ensaios anteriores, foram testados quanto a estabilidade da resistência aos isolados  
159 CCRMAc1.39, CCRMAc1.43 e CCRMAc5.3 de *A. citrulli*, que possuem diferentes níveis de  
160 agressividade ao meloeiro (Oliveira et al. 2007; Silva et al. 2016). Os procedimentos de plantio,  
161 inoculação e avaliação foram os mesmos adotados no ensaio de inoculação em plantas antes da  
162 floração. Durante os ensaios, a temperatura e a umidade relativa do ar médias na casa de  
163 vegetação foram de 32,6 °C e 68,6%, respectivamente. O delineamento experimental foi  
164 inteiramente casualizado com quatro repetições constituídas por quatro plantas cada.

165

### 166 **Inoculação em plantas em estádios de floração e frutificação**

167 O experimento foi conduzido em casa de vegetação com os acessos A-43 e I-136,  
168 selecionados no teste de estabilidade. O semeio foi realizado em bandejas de poliestireno®  
169 preenchidas com substrato. Treze d.a.p. as plântulas foram transferidas para vasos de 5 L  
170 preenchidos com mistura de solo preparado:substrato (3:1), suplementado com solução

171 nutritiva nas fases de plântula (nitrato de cálcio 1767 g, nitrato de potássio 1100 g, MKP 440  
172 g, sulfato de magnésio 900 g, quelatec 51 g, ultraferro 51 g e ácido bórico 3,3 g) e floração  
173 (nitrato de cálcio 1050 g, nitrato de potássio 1500 g, MKP 500 g, sulfato de magnésio 950 g,  
174 quelatec 60 g, ultraferro 60 g e ácido bórico 4,25 g, cloreto de potássio 450 g e sulfato de  
175 potássio 300 g). As plantas foram tutoradas e irrigadas manualmente. Durante a floração, as  
176 flores femininas foram cruzadas artificialmente na proporção 3:1 (três flores masculinas para  
177 uma feminina), e inoculadas com a suspensão bacteriana, com auxílio de pulverizador manual,  
178 até o ponto de escorrimento. Em cada planta, um fruto em estágio de maturação (60 d.a.p.) foi  
179 novamente inoculado por pulverização até o escorrimento, e avaliado 20 d.a.i. quanto à  
180 incidência da doença. A temperatura e a umidade relativa do ar médias na casa de vegetação  
181 foram de 36,5 °C e 52%, respectivamente. O delineamento experimental foi inteiramente  
182 casualizado em arranjo fatorial, com cinco repetições constituídas por um fruto/planta.

183

#### 184 **Teste de transmissão em sementes**

185 Sementes de meloeiro dos frutos obtidos no ensaio anterior, com sintomas da mancha  
186 aquosa ou assintomáticos, foram extraídas, lavadas e secas a temperatura ambiente ( $28 \pm 2$  °C)  
187 por 20 dias. De cada fruto, 40 sementes foram semeadas em bandejas contendo substrato, em  
188 casa de vegetação com 58,8 % de umidade relativa do ar e 34,8 °C de temperatura. Após a  
189 emergência, as plântulas foram submetidas à câmara úmida por 24 h e aos 10 d.a.p. avaliadas  
190 quanto à incidência da doença. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com  
191 quatro repetições constituídas por 10 plântulas cada.

192

#### 193 **Análise de microscopia óptica do mesofilo de acessos de meloeiro com potencial para** 194 **resistência à mancha aquosa**

195 Fragmentos do tecido de plantas de meloeiro com 18 d.a.p. foram coletados 48 e 72 h  
196 após inoculação (h.a.i.) das folhas dos acessos A-43 e I-136 com *A. citrulli* (CCRMaC1.12). Os  
197 fragmentos foram fixadas em FAA (formaldeído 37%, álcool etílico PA 70% e ácido acético  
198 90%) e desidratados em diferentes concentrações de álcool, de acordo com protocolo de  
199 Makizumi et al. (2011). Em seguida, foram submetidos a clarificação com xilol e infiltração,  
200 inclusão em parafina e montagem dos blocos com secção em micrótomo em 3 µm. Os cortes  
201 obtidos foram colocados em lamina de vidro e corados com Hematoxilina-Eosina (Molinari et  
202 al. 2010). As imagens microscópicas (400 X) foram obtidas em microscópio de luz composto  
203 (Nikon Eclipse INU) para inferências qualitativas. Adicionalmente foi mensurado o  
204 comprimento correspondente da epiderme superior até epiderme inferior do mesofilo foliar



205 (CTM), que inclui parênquima paliçádico e parênquima esponjoso, no software NIKON  
206 Elements.

207

### 208 **Análise de microscopia eletrônica do mesofilo de acessos de meloeiro com potencial para** 209 **resistência à mancha aquosa**

210 As 48 e 72 h.a.i das folhas dos acessos de meloeiro A-43, I-136 com *A. citrulli*  
211 (CRCMAc1.12), fragmentos seccionados foram fixados em FAA, desidratados em álcool  
212 etílico PA a 70%. Utilizou-se a metodologia adaptada de Fonseca et al. (2005) onde fragmentos  
213 foram mantidos a -80 °C por 24 h e liofilizados. Após esse período, as amostras foram  
214 metalizadas com ouro a 10 nm em metalizador Desk V (DentomVaccum) e então foram  
215 observadas em microscópio eletrônico de varredura (TESCAN, VEGA 3) a um campo de  
216 emissão de 15 kV, e as imagens digitais avaliadas.

217

### 218 **Análises estatísticas**

219 Todos os experimentos foram conduzidos duas vezes. Os dados obtidos foram  
220 analisados por meio de testes de agrupamento (Scott-Knott), máxima diferença significativa  
221 (Tukey) ou não-paramétrico (Kruskal-wallis), ao nível de 5% de probabilidade, utilizando os  
222 softwares SISVAR<sup>®</sup> (Ferreira 1992), Agrostat (versão 1.1.0.712) ou STATISTIX 9.0  
223 (Analytical Software).

224

### 225 **Resultados**

226

#### 227 **Inoculação em sementes, plântulas e plantas antes da floração**

228 Os resultados das repetições dos experimentos de inoculação em sementes, plântulas e  
229 plantas antes da floração foram semelhantes dentro de cada um e os efeitos dos experimentos  
230 na severidade da mancha aquosa não foram significativos. Os dados dos dois experimentos  
231 foram, portanto, reunidos para análise.

232 Verificou-se diferença na reação dos acessos quando inoculados nos diferentes estádios  
233 fenológicos da planta (Tabelas 1, 2, 3). Quando as sementes de 55 acessos de meloeiro foram  
234 bacterizadas com a suspensão de *A. citrulli* os acessos foram separados em três níveis de  
235 resistência a mancha aquosa ( $p \leq 0,05$ ) com notas de severidade variando de 0,1 a 1,0. Treze  
236 acessos pertencentes do grupo 1 (C-22, C-91, Honey, AC-39, A-52, AC-19, A-50, A-51, A-23,  
237 A-41, CHA-F2, C-61 e I-199) foram os mais resistentes, com redução da severidade variando  
238 de 50 a 90% em relação a cultivar Goldex, padrão de suscetibilidade (Tabela 1). No entanto,

239 50% dos acessos apresentaram suscetibilidade à mancha aquosa similar ao controle. Nas folhas  
240 cotiledonares observou-se uma baixa severidade da doença.

241 No ensaio de inoculação em plântulas, 16 dos 55 acessos não germinaram, incluindo  
242 AC-19 e A-23, que reduziram a severidade da doença no ensaio de inoculação em sementes.  
243 Dos 39 acessos restantes, a severidade da doença variou de 0,4 para I-162 a 3,7 para C-91, que  
244 foram numericamente os mais resistente e suscetível a mancha aquosa, respectivamente (Tabela  
245 2). A maioria dos acessos apresentaram algum nível de resistência à mancha aquosa. Os cinco  
246 acessos mais resistentes, I-162, C-82, C61, I-136 e AMA, com médias de severidade variando  
247 de 0,4 a 1,5, diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) dos demais acessos e da cultivar Goldex  
248 (3,0). As reduções de severidade proporcionadas por esses acessos variaram de 46,7 a 86,7%.  
249 Outros 17 acessos também apresentaram médias de severidade da doença inferior ao tratamento  
250 controle, variando de 1,6 a 2,2.

251 Em plantas inoculadas antes da floração, os acessos foram divididos em dois grupos e  
252 apenas os seis acessos do grupo 1, CHA-F2, AC-16, A-43, C-61, I-136 e I-199, apresentaram  
253 diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao controle, com médias de severidade da doença  
254 variando de 3,6 a 4,8 (Tabela 3).

255 Foi encontrada uma baixa correlação na reação de resistência/suscetibilidade para a  
256 maioria dos acessos entre os ensaios de inoculação em sementes, plântulas e plantas antes da  
257 floração. Considerando o conjunto dos resultados, seis acessos que reduziram a severidade da  
258 doença em pelo menos um dos estádios fenológicos da cultura foram selecionados para o teste  
259 de estabilidade a múltiplos isolados do patógeno: C-61 (semente, plântula e planta), CHA-F2 e  
260 I-199 (semente e planta), I-136 (plântula e planta), e AC-16 e A-43 (planta).

261

### 262 **Estabilidade da resistência de acessos de meloeiros a múltiplos isolados de *A. citrulli***

263 A maioria dos acessos não mantiveram o comportamento dos ensaios anteriores,  
264 apresentando-se suscetível aos três isolados de *A. citrulli* testados. Inclusive, alguns foram mais  
265 suscetíveis do que a cultivar Goldex (Tabela 4). Nenhum acesso apresentou resistência ao  
266 isolado CCRMAc5.3. Apenas o acesso A-43 manteve a resistência aos isolados CCRMAc1.39  
267 e CCRMAc1.43, com nota de severidade da doença de 1,0 e 1,2, respectivamente, e o acesso I-  
268 136 ao isolado CCRMAc1.43 (1,8).

269

### 270 **Inoculação em plantas em estádios de floração e frutificação e transmissibilidade de *A.*** 271 ***citrulli* em sementes**

272 Os frutos dos acessos I-136 e A-43 não apresentaram sintomas externos e nem internos  
273 da mancha aquosa. No entanto, 15 frutos da cultivar Goldex (n = 20), apresentaram sintomas  
274 externos, caracterizados como pequenas manchas circulares de aspecto oleoso, e destes, apenas  
275 seis apresentaram sintomas internos iniciais.

276 Os frutos sintomáticos e assintomáticos abrigavam sementes contaminadas que  
277 originaram plântulas com sintomas da mancha aquosa. A incidência da doença nas plântulas foi  
278 de 14,1% para a cultivar Goldex, de 2,5% para o acesso A-43 e apenas 0,6% para o acesso I-  
279 136.

280

### 281 **Análise de microscopia óptica do mesofilo de acessos de meloeiro com potencial para** 282 **resistência à mancha aquosa**

283 As estruturas anatômicas dos acessos A-43 e I-136 visualizadas em microscopia ótica  
284 de luz mostraram que o CTM (Tabela 5) do mesófilo após colonização de *A. citrulli* diferem.  
285 O acesso I-136 apresentou comportamento similar ( $p \leq 0,05$ ) a cultivar Goldex (72 h.a.i)  
286 enquanto em A-43 o CTM estava mais organizado, medindo 113,99  $\mu\text{m}$ .

287 No tecido do acesso I-136 pode-se verificar espaços vacuolados nas células que indicam  
288 áreas infectadas com massa bacteriana já após 48 h da inoculação (Fig. 1 2b), que com o  
289 progresso da infecção (72 h.a.i) também levam as células a colapsos do tecido parenquimatoso  
290 (Fig. 1 3b), quando comparado ao tecido de I-136 (Fig. 1 1b) não inoculado com *A. citrulli*.  
291 Esse comportamento, embora em menor intensidade, é semelhante ao verificado no tecido de  
292 Goldex às 48 h e 72 h.a.i (Fig. 1 2c, 3c), evidenciado pela grande vacuolização do tecido, áreas  
293 colapsadas e massa bacteriana nos espaços intercelulares do parênquima. No entanto, nos  
294 tecidos de A-43 poucas áreas vacuolizadas foram observadas entre o tecido parenquimatoso 72  
295 h.a.i (Fig. 1 3a), bem como área restrita de massa bacteriana, no qual indica que houve pouco  
296 desenvolvimento de *A. citrulli* em tecido desse acesso. Em todas as testemunhas que  
297 correspondem aos tecidos não inoculados dos genótipos A-43 (Fig. 1 1a), I-136 (Fig. 1 1b) e  
298 Goldex (Fig. 1 1c) não foram observadas alterações celular e morfológica.

299 Esses resultados indicam que há uma evidente diferença temporal no acesso A-43,  
300 considerado resistente à mancha aquosa, que demonstrou os danos celulares só 72 h.a.i, daquele  
301 suscetível à doença (Goldex) com alterações em nível histológico observados 48 h.a.i da  
302 bactéria. Os danos histológicos coincidem com a severidade da doença observada nas folhas de  
303 meloeiro (Fig. 1).

304

305 **Análise de microscopia eletrônica do mesofilo de acessos de meloeiro com potencial para**  
306 **resistência à mancha aquosa**

307 Em nível estrutural, observada pela MEV, pode-se verificar a diferença dos acessos  
308 quanto à resistência da infecção de *A. citrulli* sob a área foliar do meloeiro (Fig. 2). Os tecidos  
309 do acesso A-43, 48 e 72 h.a.i ainda se mantiveram organizados (Fig. 2 2b, 3b), diferente do I-  
310 136 que às 48 h.a.i (Fig. 2 2a) já demonstrou uma significativa redução da organização celular,  
311 que ficou mais evidente 72 h.a.i (Fig. 2 3a), com tecido totalmente desestruturado em  
312 consequência da rápida colonização da bactéria (Fig. 2 2a), comportamento semelhante ao  
313 verificado no tecido da Goldex 72 h.a.i da bactéria (Fig. 2 3c). No acesso I-136 e Goldex (72 h  
314 após inoculação) muitos estômatos abertos foram observados (Fig. 2 1c, 3c), provavelmente  
315 pela intensa colonização de *A. citrulli* nesta organela, enquanto que, no acesso A-43, o tecido  
316 possuía poucos estômatos abertos. Nos tecidos não inoculados (testemunhas) dos genótipos I-  
317 136 (Fig. 2 1a), A-43 (Fig. 2 1b) e Goldex (Fig. 2 1c) não foram observadas alterações celular  
318 e morfológica.

319 Sob MEV pode-se constatar que a observação de desorganização estrutural do tecido  
320 coincide com a maior colonização da área foliar na ocasião da coleta (72 h.a.i) (dado não  
321 apresentados), em comparação a maior organização celular do acesso A-43.

322

323 **Discussão**

324 A resistência de plantas é considerada uma das medidas em potencial para o controle da  
325 mancha aquosa (Hopkins and Thompson 2002), entretanto, as dificuldades de encontrar fontes  
326 de resistência são evidentes conforme pesquisas realizadas (Sowell and Schaad 1979; Somodi  
327 et al. 1991; Hopkins et al. 1993; Hopkins and Thompson 2002; Buso et al. 2004; Bahar et al.  
328 2009; Wetcher et al. 2011; Carvalho et al. 2013; Shen and Wehner, 2015; Branham et al. 2019).  
329 Até agora, não foram desenvolvidas cultivares de cucurbitáceas com tolerância ou resistência à  
330 doença.

331 Este estudo avaliou a resistência de acessos de meloeiro à mancha aquosa pela  
332 inoculação de *A. citrulli* em sementes, plântulas, planta antes da floração, e plantas no estágio  
333 de floração e frutificação. A seleção de acessos resistentes utilizando esta abordagem pode ser  
334 considerada mais efetiva, uma vez que a planta é infectada em vários estádios fenológicos  
335 (Hopkins and Thompson 2002; Wechter et al. 2011; Popovicand and Ivanovic 2015), fato esse  
336 considerado um obstáculo na seleção para resistência (Bahar et al. 2009). Além disso, a  
337 combinação de resultados obtidos fará com que as fontes de resistência a mancha aquosa sejam  
338 mais confiáveis sob condições de ocorrência natural da doença (Carvalho et al. 2013).

339 A seleção de acessos resistentes por meio da inoculação de *A. citrulli* em sementes é de  
340 grande importância, visto que, os riscos de introdução da bactéria para novas áreas podem ser  
341 viabilizados pelo uso de sementes contaminadas, já que esta é a principal fonte de inóculo em  
342 estufa e campo (Hopkins and Thompson 2002). A bactéria coloniza as sementes tanto externa  
343 quanto internamente (Silva Neto et al. 2006), podendo ainda sobreviver na semente por mais  
344 de 30 anos sob condições ideais de armazenamento (Block and Shepherd 2008). A partir de  
345 uma única semente contaminada em um lote, pode ocorrer a transmissão da doença em níveis  
346 variando de 16,7 a 100% (Dutta et al. 2012).

347 No ensaio de inoculação em sementes, 50% dos acessos apresentara algum nível de  
348 resistência à mancha aquosa, com redução da severidade da doença entre 30-90%. No entanto,  
349 a severidade da doença para todos os tratamentos, incluindo o controle, foi considerada baixa  
350 (Tabela 1). Essa baixa severidade possivelmente está relacionada a alta temperatura (42,5 °C)  
351 na casa de vegetação durante os ensaios. Estes foram conduzidos no verão, onde predominam  
352 dias com altas temperaturas, o que pode ter contribuído para a baixa severidade da doença.  
353 Embora umidade relativa e temperatura elevadas sejam condições favoráveis ao  
354 desenvolvimento da mancha aquosa (Walcott 2005) observa-se em outros estudos de  
355 inoculação de *A. citrulli* em sementes que as temperaturas eram mais baixas, em torno de 25-  
356 32 °C (Bahar et al. 2009; Wechter et al. 2011; Carvalho et al. 2013).

357 Cerca de 29% das sementes não germinaram quando foi realizado o ensaio em plântulas,  
358 o que levou a uma redução do stand de acessos a serem avaliados. Problema de germinação de  
359 semente é comum em estudos com germoplasmas, como também foi verificado por Wechter et  
360 al. (2011) com plantas introduzidas de *Cucumis* sp.. Maior severidade da mancha aquosa foi  
361 observada para os acessos no estágio de plântula (Tabela 2) com notas variando de 0,4 a 3,7,  
362 quando comparado com o ensaio de inoculação em sementes, cujas médias de severidade  
363 variaram de 0,1 a 1,0 (Tabela 1), considerando a nota 5, o maior grau da escala diagramática,  
364 para os dois ensaios. Mesmo assim, 56,4% dos acessos apresentaram algum nível de resistência  
365 à doença, porém destes apenas C-61 e I-199 também se destacaram entre os melhores em  
366 sementes. A maior severidade da doença pode estar relacionada às condições de temperatura na  
367 ocasião da realização dos ensaios em plântulas, que foram em média de 32 °C, uma vez que foi  
368 observada pouca variação na umidade relativa do ar (semente = 73%, plântula = 69%). Um  
369 provável efeito das condições ambientais na resistência da cultivar/acessos a mancha aquosa  
370 foi previamente sugerido para melancieira (Hopkins e Thompson 2002; Carvalho et al. 2013).  
371 Além disso, meloeiros nos estádios inicial e final de desenvolvimento, ou seja, plântulas e  
372 frutos, são mais suscetíveis a mancha aquosa (Bahar et al. 2009).

373 Em plantas antes da floração foi observada uma elevada severidade da doença, chegando  
374 a nota máxima da escala (6) para alguns acessos. Seis acessos foram eficientes em reduzir a  
375 severidade da doença em até 36,8 %, dos quais quatro, C-61, CHA-F2, I-136 e I-199 (Tabela  
376 3), estavam entre os melhores nos ensaios de semente e/ou plântula. As condições ambientais  
377 nesse ensaio eram semelhantes ao de plântula, mas a severidade da doença foi maior. Os  
378 resultados obtidos são contrários aos encontrados por Bahar et al. (2009) e Carvalho et al.  
379 (2013), onde os autores observaram maior severidade da mancha aquosa no estágio de  
380 desenvolvimento de plântula, tanto para meloeiro quanto para melancia. Alguns  
381 pesquisadores justificam a menor severidade da doença em plantas, pelo fato de plantas adultas  
382 serem relativamente mais resistentes à mancha aquosa, com sintomas muitas vezes  
383 imperceptíveis (Latin and Hopkins 1995; Bahar et al. 2009; Burdman and Walcott 2012). Tanto  
384 as infecções nas plântulas quanto nas plantas são importantes no ciclo da mancha aquosa. O  
385 transplante de mudas de cucurbitáceas infectadas é responsável pela disseminação do inóculo  
386 a longas distâncias (Hopkins et al. 1996) e, no campo, a bactéria é disseminada para as mudas  
387 ou plantas vizinhas através de chuva e irrigação, solos infestados, insetos, equipamentos  
388 agrícolas, trabalhadores de campo (Wiebe et al. 2001) e aerossóis (Hopkins et al. 1992). Lesões  
389 foliares contribuem para o desenvolvimento da mancha aquosa em frutos (Silva Neto et al.  
390 2006; Burdman and Walcott 2012).

391 Além da variação ambiental, a heterogeneidade genética dos acessos pode ter sido  
392 responsável pelas variações nas reações de resistência quando estes foram inoculados em  
393 diferentes estádios fenológicos do meloeiro. Adicionalmente, parece que genes diferentes ou  
394 outros mecanismos estão envolvidos na resistência nos estádios de cotilédones versus folhas  
395 verdadeiras (Watcher et al. 2011). A maioria dos acessos mostraram uma resistência  
396 relativamente alta em um dos ensaios e um nível intermediário no outro ou até mesmo alta  
397 sensibilidade. O exemplo mais claro foi o do acesso C-91, classificado entre os mais resistentes  
398 no ensaio em sementes (Tabela 1) e o mais suscetível nos ensaios em plântulas (Tabela 2) e  
399 plantas (Tabela 3). Apenas o acesso C-61 foi consistentemente classificado entre os acessos  
400 mais resistentes nesses ensaios. Essa variação na resposta a resistência à mancha aquosa  
401 também foi detectada por Hopkins et al. (1993) ao testar os acessos de melancia PI 295843 e  
402 PI 299378 que foram previamente selecionados por Sowell and Schaad (1979). Carvalho et al.  
403 (2013) também verificaram variações na resistência de acessos de melancia testados em  
404 diferentes estádios fenológicos da cultura.

405 A seleção de fontes de resistência deve considerar não apenas os diversos estádios  
406 fenológicos da planta de meloeiro suscetível a infecção, mas também a diversidade da

407 população de *A. citrulli*. Nos Estados Unidos foram encontrados dois grupos geneticamente e  
408 fisiologicamente distintos de *A. citrulli* (Walcott et al. 2000, 2004). O Grupo I, formado por  
409 isolados de uma vasta gama de espécies cucurbitáceas, incluindo o isolado do tipo ATCC29625,  
410 não utilizam L-leucina e são moderadamente virulentas para o melão cantaloupe, abóbora e a  
411 abobrinha; o Grupo II, isolados oriundos principalmente de melanciaira, utilizam a L-leucina e  
412 são mais agressivas para melanciaira do que em outros hospedeiros. O conhecimento dos grupos  
413 de *A. citrulli* existente em um determinado local pode ser valioso na triagem da resistência à  
414 mancha aquosa (Walcott et al. 2000). No Brasil, estudo com 34 isolados de *A. citrulli* obtidos  
415 de meloeiro, melanciaira e melão-pepino revelou baixa variabilidade na população e que todos  
416 os isolados pertenciam a um único grupo, o que corresponde ao Grupo I (Silva et al. 2016). No  
417 entanto, verifica-se que isolados possuem agressividade distintas quando inoculados em  
418 meloeiro (Oliveira et al. 2007; Melo et al. 2014; Silva et al. 2016), fator importante a ser  
419 considerado na melhoria, introdução e produção de cultivares resistentes para o controle da  
420 mancha aquosa.

421 Considerando diminuir a possibilidade de selecionar resistência específica para um  
422 único isolado da bactéria (Wechter et al. 2011), foi testada a estabilidade da resistência de seis  
423 acessos, selecionados dos ensaios anteriores, a mais três isolados de *A. citrulli* (CCRMaC1.39,  
424 CCRMaC5.3 e CCRMaC1.43), no estágio fonológico de plantas antes da floração. Os  
425 resultados obtidos mostram a importância de testar mais de um isolado do patógeno, pois apenas  
426 os acessos A-43 e I-136 comportaram-se como resistentes, e se mantiveram estáveis, frente a  
427 dois ou um isolado de *A. citrulli*, respectivamente (Tabela 4), enquanto que os demais acessos  
428 se comportaram como suscetíveis. É interessante notar que C-61, embora tenha apresentado um  
429 bom desempenho nos três ensaios anteriores, aparece como suscetível a todos os isolados do  
430 patógeno no teste de estabilidade.

431 Para avaliação da resistência em frutos, foi escolhida a inoculação das plantas durante a  
432 floração e após a fertilização. Sabe-se que *A. citrulli* pode penetrar através das flores e infectar  
433 frutos e sementes (Walcott et al. 2003; Carvalho et al. 2013) e penetrar nos frutos via estômatos  
434 e lenticelas, sendo os frutos verdes mais susceptíveis à penetração por *A. citrulli* do que os  
435 maduros (Wiebe et al. 2001; Silva Neto et al. 2006). Os sintomas da doença nos frutos só  
436 aparecem quando estes estão próximos à maturidade de colheita (Walcott 2005). Alta incidência  
437 da doença foi encontrada na cultivar Goldex, onde 75% dos frutos apresentavam sintomas  
438 típicos da mancha aquosa. Por outro lado, os frutos dos acessos I-136 e A-43 estavam  
439 assintomáticos. No entanto, o teste de transmissão de *A. citrulli* por sementes dos frutos  
440 confirmou o que já foi dito em trabalhos anteriores por diferentes autores (Walcott et al. 2003;

441 Bahar et al. 2009; Carvalho et al. 2013), que frutos assintomáticos e sintomáticos podem abrigar  
442 a bactéria na semente, principal via de disseminação. Essa é uma das dificuldades encontradas  
443 pelos produtores de sementes na obtenção de sementes livres de *A. citrulli*, especialmente sob  
444 condições que não favorecem o desenvolvimento de sintomas no fruto (Bahar et al. 2009). No  
445 presente estudo, uma pequena taxa de transmissão foi observada em frutos assintomáticos dos  
446 acessos I-136 (0,6%) e A-43 (2,5%), correlacionando esses resultados com os obtidos no teste  
447 de estabilidade (Tabela 4).

448 Dos 55 acessos de meloeiro testados, nenhum foi imune à mancha aquosa. Em geral, a  
449 reação de resistência a doenças variou de acordo com os diferentes estádios fenológicos das  
450 plantas, bem como diferentes isolados do patógeno. No entanto, os acessos I-136 e A-43  
451 mostraram altos níveis de resistência na maioria dos estádios fenológicos das plantas.

452 Essas considerações são reforçadas nas análises microscópicas, que indicaram  
453 diferenças estrutural e temporal na colonização de *A. citrulli* nos mesófilo foliar dos acessos A-  
454 43 e I-136 quando comparado com a cultivar Goldex, já que grande colonização (massa  
455 bacteriana) é perceptível 48 h.a.i em Goldex e em menor intensidade em I-136, e apenas 72  
456 h.a.i é observada pequena colonização no acesso A-43 (Fig. 1, 2), o que pode ter contribuído  
457 para a redução do progresso da doença. São resultados que se assemelham aos observados por  
458 Caldwell et al. (2017) na diferenciação da colonização de *Ralstonia solanacearum* em raízes de  
459 acessos de tomateiro suscetíveis e resistentes através da análise MEV e microscopia ótica,  
460 sugerindo que é uma habilidade da cultivar considerada resistente, restringir a colonização da  
461 bactéria.

462 O impacto estrutural no tecido do mesófilo foi constatado, pois a maior organização  
463 celular do mesófilo e da epiderme observada no acesso A-43 coincide com pouca ou nenhuma  
464 lesão necrótica sobre as folhas, em contraste com a desestruturação celular da Goldex e, em  
465 menor intensidade, do acesso I-136, onde lesões necróticas de grande extensão comprometeram  
466 a área foliar da planta, no tempo de até 72 h.a.i da bactéria (Fig. 1). Esse comprometimento vai  
467 além da estruturação e resistência do tecido à infecção, ele também afeta a fisiologia da planta.

468 A penetração da *A. citrulli* através dos estômatos após inoculação da bactéria na folha  
469 já é conhecida (Silva Neto et al. 2006), e quando se verifica a ocorrência das áreas vacuolizadas  
470 e desorganização dos tecidos do parênquima, a alteração, resulta no sintoma morfológico de  
471 mancha. Dessa forma, torna-se fácil avaliar e mensurar a reação à doença quanto a alterações  
472 morfológicas.

473 Os resultados mostraram de forma qualitativa e quantitativa os acessos que possuem  
474 maior potencial para resistência a mancha aquosa, e embora a forma de avaliar utilizada seja



475 considera simples e fácil dentro do controle genético (Camargo 2018), é um resultado promissor  
476 diante da inexistência até o momento de fontes de resistência de *C. melo* à bactéria *A. citrulli*  
477 (Zhao and Walcott, 2018), que de acordo com Silva et al. (2016) é uma doença endêmica nos  
478 cultivos comerciais no Nordeste brasileiro. Desta forma, os acessos A-43 e I-136 podem ser  
479 indicados como fontes de resistência genética em programas de melhoramento visando obter  
480 acessos (linhagens e híbridos simples) resistentes a mancha aquosa.

481

#### 482 **Agradecimentos**

483 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) pela  
484 concessão de bolsa de estudos a E. F. Assunção, e a Universidade Federal Rural de Pernambuco  
485 – Brasil (UFRPE), pelo apoio a pesquisa (Edital PRPPG 015/2018).

#### 486 **Referências Bibliográfica**

487 Anuário Brasileiro de Fruticultura. Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Editora, Gazeta Santa  
488 cruz, 2018. Disponível em:<[http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-](http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2018/04/FRUTICULTURA_2018_dupla.pdf)  
489 [content/uploads/2018/04/FRUTICULTURA\\_2018\\_dupla.pdf](http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2018/04/FRUTICULTURA_2018_dupla.pdf)>. Acesso em julho de 2019.

490 Araújo DV, Mariano RLR, Michereff SJ (2005) Métodos de inoculação de *Acidovorax avenae*  
491 subsp. *citrulli* em melão. Summa Phytopathologica, 31:69-73

492 Assis SMP, Mariano RLR, Silva-Hanlin DMW, Duarte V (1999) Mancha aquosa do melão  
493 causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* no Estado do Rio Grande do Norte. Fitopatologia  
494 Brasileira, Brasília, 24:191

495 Azevedo LAS (1997) Manual de quantificação de doenças de plantas. Novartis, São Paulo,  
496 1997, 114p

497 Bahar OG, Kritzman, Burdman S (2009) Bacterial fruit blotch of melon: Screens for disease  
498 tolerance and role of seed transmission in pathogenicity. European Journal of Plant Pathology  
499 123:71-83

500 Block, CC, Shepherd, LM (2008) Long-term survival and seed transmission of *Acidovorax*  
501 *avenae* subsp. *citrulli* in melon and watermelon seed. Plant Health Progress, 1:2

- 502 Buso GSC, Nass LL, Marques ASA, Lopes CA, Buso JA (2004) Avaliação de genótipos de  
503 melão, visando identificar fontes de resistência a *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Brasília:  
504 EMBRAPA-SPI, 2004. p. 1-12 (Comunicado Técnico, 116)
- 505 Burdman S, Walcott RR (2012) *Acidovorax citrulli*: Generating basic and applied knowledge  
506 to tackle a global threat to the cucurbit industry. Mol. Plant Pathol. 13:805-815
- 507 Burdman S, Kots N, Kritzman G, Kopelowitz J (2005) Molecular, physiological, and host-range  
508 characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in  
509 Israel. Plant Disease 89:1339-1347
- 510 Branham SE, Levi A, Katawczik ML, Wechter WP (2019) QTL mapping of resistance  
511 to bacterial fruit blotch in *Citrullus amarus*. Theoretical and Applied Genetics v. 132, p. 1463-  
512 1471
- 513 Caldwell D, Kim BS, IYER-PASCUZZI AS (2017) *Ralstonia solanacearum* differentially  
514 colonizes roots of resistant and susceptible tomato plants. Phytopathology, 107:528-536
- 515 Camargo LEA (2018) Controle genético. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A (ed.).  
516 Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p.133-  
517 147
- 518 Carvalho FCQ, Santos LA, Dias RCS, Mariano RLR, Souza EB (2013) Selection of watermelon  
519 genotypes for resistance to bacterial fruit blotch. Euphytica 190:169-180
- 520 Dutta B, Avci U, Hahn MG, Walcott RR (2012) Location of *Acidovorax citrulli* in infested  
521 watermelon seeds is influenced by the pathway of bacterial ingress. Phytopathology 102:461-  
522 468
- 523 EPPO (2014). European and Mediterranean Plant Protection Organization. *Acidovorax citrulli*.  
524 Mini data sheet on *Acidovorax citrulli*. Available at:  
525 <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMAC/documents>. (Accessed July, 2019)
- 526 EPPO (2018). European and Mediterranean Plant Protection Organization. *Acidovorax citrulli*  
527 PSDMAC. Available at: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMAC/distribution>. [Accessed July,  
528 2019]

- 529 Ferreira DF (1992) SISVAR (Sistema para análise de variância para dados balanceados).  
530 UFLA, Lavras
- 531 Fonseca SC, Silva CL, Xavier MF (2005) Microstructural analysis of fresh-cut red bell pepper  
532 (*Capsicum annuum* L.) for postharvest quality optimization. Eletronic Journal of  
533 Environmental, Agricultural and Food Chemistry 3:1081-1085
- 534 Halfeld-Vieira BA, Nechet KL (2007) Mancha-aquosa da melancia em Roraima. Fitopatologia  
535 Brasileira, Brasília, v. 32, p. 268, 2007 (Resumo)
- 536 Hopkins DL, Stall RE, Latin R, Rushing J, Cook WP, Keinath APB Bacterial fruit blotch of  
537 watermelon. Florida: American Sunmelon, 1992. 2 p. (Bulletin)
- 538 Hopkins DL, Cucuzza JD, Watterson JC (1996) Wet seed treatments for the control of bacterial  
539 fruit blotch of watermelon. Plant Disease 80:529-532
- 540 Hopkins DL, Thompson CM (2002) Evaluation of *Citrullus* sp. germ plasm for resistance to  
541 *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Plant Disease 86:61-64
- 542 Hopkins DL, Thompson CM, Elmstrom GM (1993) Resistance of watermelon seedlings and  
543 fruit to the fruit blotch bacterium. HortScience 28:122-123
- 544 Hopkins DL, Levi A (2008) Progress in the development of Crimson Sweet-type watermelon  
545 breeding lines with resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, Acta Horticulturae, The  
546 Hague, 157-162
- 547 Isakeit T, Black MC, Jones JB (1998) Natural infection of citronmelon with *Acidovorax avenae*  
548 subsp. *citrulli*. Plant Dis. 82:351
- 549 Latin RX, Hopkins DL (1995) Bacterial fruit blotch of watermelon. Plant Disease 79:61-76
- 550 Macagnan D, Romeiro RS, Mendonça HL, Barreto RW (2003) Mancha bacteriana da melancia:  
551 uma nova doença no estado de Minas Gerais. Summa Phytopathologica 29:286-287
- 552 Makizumi Y, Igarashi M, Gotoh K, Murao K, Yamamoto M, Udonsri N, Ochiai H,  
553 Thummabenjapone P, Kaku H (2011) Genetic diversity and pathogenicity of cucurbit-  
554 associated *Acidovorax*. Journal of General Plant Pathology 77: 24-32

- 555 Melo LA, Tebaldi ND, Mehta A, Marques ASA (2014) Comparing *Acidovorax citrulli* strains  
556 from melon and watermelon: Phenotypic characteristics, pathogenicity and genetic diversity.  
557 Tropical Plant Pathology 39:154-162
- 558 Molinaro EM, Caputo LFG, Amendoeiro MR (2010) Conceitos e métodos para a formação de  
559 profissionais em laboratórios de saúde: volume 2, cap. 3, p. 89-174
- 560 Sales Júnior R, Nunes GH, Silva KJ, Costa GG, Guimarães IM, Michereff SJ (2015) Reaction  
561 of melon accessions to *Rhizoctonia solani*. Horticultura Brasileira, 33:196-202
- 562 Schaad NW, Postnikova E, Randhawa P (2003) Emergence of *Acidovorax avenae* subsp.  
563 *citrulli* as a crop-threatening disease of watermelon and melon. In: N.S. Iacobellis et al., editors,  
564 Presentations from the 6th International Conference on *Pseudomonas syringae* Pathovars and  
565 Related Pathogens, Maratea. Kluwer Academic Publishers. Italy, p. 573-581
- 566 Shen MA, Wehner TC (2015) Flowering Stage Resistance to Bacterial Fruit Blotch in the  
567 Watermelon Germplasm Collection crop science. Crop Science, v. 55, p. 727-736.
- 568 Silveira EB, Michereff SJ, Mariano RLR (2003) Severidade da mancha-aquosa em meloeiro  
569 sob diferentes condições de molhamento foliar e concentração de inóculo de *Acidovorax avenae*  
570 subsp. *citrulli*. Fitopatologia Brasileira 28:171-175
- 571 Silva GM, Souza RM, Júnior RS, Medeiros FHV, Walcott RR (2016) Strain of the group I  
572 lineage of *Acidovorax citrulli* the causal agent of bacterial fruit blotch of cucurbitaceous crops,  
573 are predominant in Brazil. Phytopathology 106:1486-1494
- 574 Silva KMM, Xavier AS, Gama MAS, Lima NB, Lyra MSCP, Mariano RLR, Souza EB (2016)  
575 Polyphasic analysis of *Acidovorax citrulli* strains from northeastern Brazil. Scientia Agricola  
576 73:252-259
- 577 Silva Neto EB, Silveira EB, Mariano RLR, Nogueira NL, Rossi ML, Santos LA (2006)  
578 Penetração e colonização de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em folhas, frutos e sementes de  
579 melão Amarelo. Fitopatologia Brasileira 31:084-088
- 580 Somodi GC, Jones JB, Hopkins DL, Stall RE, Kucharek TA, Hodge NC, Watterson JC (1991)  
581 Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. Plant Disease 75:1053-1056

- 582 Sowell GJR, Schaad NW (1979) *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* on  
583 watermelon: Seed transmission and resistance of plant introductions. *Plant Disease* 63:437-441
- 584 Oliveira JC, Silveira EB, Mariano RLR, Cardoso E, Viana IO (2007) Caracterização de isolados  
585 de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Fitopatologia Brasileira* 32:480-487
- 586 Oliveira A, Santos MHM, Silveira EB, Gomes AMA, Mariano RLR (2006) Biocontrole da  
587 mancha aquosa do melão pelo tratamento de sementes com bactérias epifíticas e endofíticas.  
588 *Horticultura Brasileira*, Brasília, 24:373-377
- 589 Popović T, Ivanović Z (2015) Occurrence of *Acidovorax citrulli* Causing Bacterial Fruit Blotch  
590 of Watermelon in Serbia, *Plant Disease* 99:886-886
- 591 Pusey PL, Wilson CL (1984) Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus*  
592 *subtilis*. *Plant Disease* 68:753-756
- 593 Wechter WP, Levi A, Ling KS, Cousin C, Block CC (2011) Identification of resistance to  
594 *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* among melon (*Cucumis* spp.) plant introductions.  
595 *HortScience* 46:207-212
- 596  
597 Walcott RR **Bacterial fruit blotch of cucurbits**. The Plant Health Instructor, 2005. DOI:  
598 10.1094/PHI-I-2005-1025-02.
- 599 Walcott RR, Fessehaie A, Castro AC (2004) Differences in pathogenicity between two  
600 genetically distinct groups of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on cucurbit hosts. *J.*  
601 *Phytopathol.* 152:277-285
- 602 Walcott RR, Gitaitis RD, Castro AC (2003) Role blossoms in watermelon seed infestation by  
603 *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Phytopathology*, Saint Paul, 93:528-534
- 604 Walcott RR, Gitaitis RD (2000) Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon  
605 seed using immunomagnetic separation and the polymerase chain reaction. *Plant Dis.* 84:470-  
606 474
- 607 Wechter WP, Levi A, Ling KS, Kousik C (2011) Identification of resistance to *Acidovorax*  
608 *avenae* subsp. *citrulli* among melon (*Cucumis* spp.) *Plant Introduction HortScience* 46

609 Wiebe WL, Hopkins DL, Walcott RR (2001) Bacterial Fruit Blotch A commercial growers  
610 guide. Disponível em:< [http://calseed.org/documents/BFBEnglish\[1\].pdf](http://calseed.org/documents/BFBEnglish[1].pdf). >. Acesso em julho  
611 de 2019.

612 Zhao M, Walcott RR (2018) *Acidovorax citrulli*: history, epidemiology, and management of  
613 bacterial fruit blotch of cucurbits. In: (eds.) BURDMAN. S; WALCOTT, R. R. Plant  
614 Pathogenic *Acidovorax* Species, St. Paul, MN: American Phytopathological Society Press,  
615 p.39-57

616

617

618

619

620

621

622

623

624

625

626

627

628

629

630

631

632 **Tabela 1.** Reação de acessos de meloeiro a mancha aquosa, através de inoculação de  
 633 *Acidovorax citrulli* em sementes.

| 634 | Acesso  | Sev <sup>1</sup>   | Redução | Acesso | Sev   | Redução |
|-----|---------|--------------------|---------|--------|-------|---------|
| 635 |         |                    | Sev %   |        |       | Sev %   |
| 636 | C-22    | 0,1 a <sup>2</sup> | 90,0    | AC-15  | 0,8 c | 20      |
| 637 | C-91    | 0,3 a              | 70,0    | A-24   | 0,8 c | 20      |
| 638 | Honey   | 0,3 a              | 70,0    | AMA    | 0,8 c | 20      |
| 639 | AC-39   | 0,4 a              | 60,0    | CHA-F1 | 0,8 c | 20      |
| 640 | A-52    | 0,4 a              | 60,0    | I-115  | 0,8 c | 20      |
| 641 | AC-19   | 0,4 a              | 60      | A-36   | 0,8 c | 20      |
| 642 | A-50    | 0,4 a              | 60      | AC-11  | 0,8 c | 20      |
| 643 | A-51    | 0,4 a              | 60      | AC-37  | 0,8 c | 20      |
| 644 | A-23    | 0,4 a              | 60      | AC-27  | 0,8 c | 20      |
| 645 | A-41    | 0,5 a              | 50      | A-25   | 0,8 c | 20      |
| 646 | CHA-F2  | 0,5 a              | 50      | I-157  | 0,9 c | 10      |
| 647 | C-61    | 0,5 a              | 50      | C-95   | 0,9 c | 10      |
| 648 | I-199   | 0,5 a              | 50      | CHA-T  | 0,9 c | 10      |
| 649 | AC-02   | 0,6 b              | 40      | AC-16  | 0,9 c | 10      |
| 650 | AC-05   | 0,6 b              | 40      | C-18   | 0,9c  | 10      |
| 651 | AC-09   | 0,6 b              | 40      | C-82   | 0,9c  | 10      |
| 652 | I-136   | 0,6 b              | 40      | A-17   | 0,9c  | 10      |
| 653 | A-22    | 0,6 b              | 40      | A-45   | 0,9c  | 10      |
| 654 | I-162   | 0,6 b              | 40      | AC-08  | 0,9c  | 10      |
| 655 | Doublon | 0,6 b              | 40      | Mause  | 0,9c  | 10      |
| 656 | AC-18   | 0,6 b              | 40      | A-10   | 0,9c  | 10      |
| 657 | A-44    | 0,7 b              | 30      | A-31   | 1,0 c | -       |
| 658 | C-30    | 0,7 b              | 30      | A-43   | 1,0 c | -       |
| 659 | A-28    | 0,7 b              | 30      | A-53   | 1,0 c | -       |
| 660 | C-27    | 0,7 b              | 30      | C-32   | 1,0 c | -       |
| 661 | AC-07   | 0,7 b              | 30      | Goldex | 1,0 c | -       |
| 662 | A-12    | 0,7 b              | 30      | AC-14  | 1,0 c | -       |
| 663 | I-204   | 0,7 b              | 30      | A-32   | 1,0 c | -       |

663 <sup>1</sup>Sev= Severidade da doença, avaliada de acordo com escala de notas variando de 0 a 5 (Araújo  
 664 et al. 2005).

665 <sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste grupamento de Scott-  
 666 Knott a 5% de probabilidade.

667

668

669

670

671

672

673 **Tabela 2.** Reação de acessos de meloeiro a mancha aquosa, através da inoculação de *A. citrulli*  
 674 em plântulas.

675

| 676 | Acesso      | Sev <sup>1</sup>   | Redução<br>Sev % | Acesso | Sev   | Redução<br>Sev % |
|-----|-------------|--------------------|------------------|--------|-------|------------------|
| 677 | I-162       | 0,4 a <sup>2</sup> | 86,7             | C-32   | 2,2 b | 26,7             |
| 678 | C-82        | 0,9 a              | 70               | AC-37  | 2,2 b | 26,7             |
| 679 | C-61        | 1,2 a              | 60               | A-52   | 2,4 c | 20               |
| 680 | I-136       | 1,3 a              | 56,7             | C-18   | 2,4 c | 20               |
| 681 | AMA         | 1,5 a              | 50               | A-51   | 2,5 c | 16,7             |
| 682 | A-43        | 1,6 b              | 46,7             | I-157  | 2,5 c | 16,7             |
| 683 | AC-27       | 1,7 b              | 43,3             | AC-15  | 2,5 c | 16,7             |
| 684 | Honey       | 1,9 b              | 36,7             | A-53   | 2,6 c | 13,3             |
| 685 | AC-09       | 1,9 b              | 36,7             | CHA-T  | 2,6 c | 13,3             |
| 686 | AC-39       | 1,9 b              | 36,7             | AC-02  | 2,6 c | 13,6             |
| 687 | C-30        | 1,9 b              | 36,7             | I-199  | 2,7 c | 10               |
| 688 | AC-16       | 1,9 b              | 36,7             | AC-07  | 2,7 c | 10               |
| 689 | A-12        | 1,9 b              | 36,7             | A-45   | 2,8 c | 6,7              |
| 690 | I-204       | 1,9 b              | 36,7             | A-41   | 2,8 c | 6,7              |
| 691 | CHA-F2      | 2,0 b              | 33,3             | AC-25  | 2,8 c | 6,7              |
| 692 | AC-08       | 2,1 b              | 30               | C-95   | 2,9 c | 3,3              |
| 693 | AC-22       | 2,1 b              | 30               | Goldex | 3,0 c | -                |
| 694 | Doublon     | 2,1 b              | 30               | AC-14  | 3,3 c | -                |
| 695 | A-50        | 2,2 b              | 26,7             | C-91   | 3,7 c | -                |
| 696 | Mauser      | 2,2 b              | 26,7             | -      | -     | -                |
| 696 | CV% = 26,24 |                    |                  |        |       |                  |

697 <sup>1</sup>Sev= Severidade da doença, avaliada de acordo com escala de notas variando de 0 a 5  
 698 (Araújo et al. 2005).

699 <sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste agrupamento de  
 700 Scott-Knott a 5% de probabilidade.

701

702

703

704

705

706

707

708

709

710

711



712 **Tabela 3.** Reação de acessos de meloeiro a mancha aquosa, através da inoculação de  
 713 *Acidovorax citrulli* em plantas antes da floração

| 714 | Acesso           | Sev <sup>1</sup>   | Redução<br>Sev % | Acesso  | Sev   | Redução<br>Sev % |
|-----|------------------|--------------------|------------------|---------|-------|------------------|
| 715 | CHA-F2           | 3,6 a <sup>2</sup> | 36,8             | AC-07   | 5,4 b | 5,0              |
| 716 | AC-16            | 4,0 a              | 29,8             | C-30    | 5,5 b | 3,5              |
| 717 | A-43             | 4,2 a              | 26,3             | A-39    | 5,5 b | 3,5              |
| 718 | CHA-T            | 4,3 a              | 24,6             | C-82    | 5,6 b | 1,7              |
| 719 | C-61             | 4,6 a              | 19,3             | I-204   | 5,7 b | -                |
| 720 | I-136            | 4,6 a              | 19,3             | AC-27   | 5,7 b | -                |
| 721 | I-199            | 4,8 a              | 15,8             | C-22    | 5,7 b | -                |
| 722 | A-45             | 5,0 b              | 12,3             | Goldex  | 5,7 b | -                |
| 723 | Mauser           | 5,1 b              | 10,5             | AC-14   | 5,8 b | -                |
| 724 | A-52             | 5,1 b              | 10,5             | AC-37   | 5,8 b | -                |
| 725 | A-50             | 5,1 b              | 10,5             | A-53    | 5,8 b | -                |
| 726 | C-32             | 5,1 b              | 10,5             | AC-08   | 5,8 b | -                |
| 727 | Honey            | 5,3 b              | 7,0              | AMA     | 5,8 b | -                |
| 728 | A-41             | 5,3 b              | 7,0              | C-18    | 5,9 b | -                |
| 729 | AC-15            | 5,3 b              | 7,0              | AC-25   | 5,9 b | -                |
| 730 | I-162            | 5,4 b              | 5,0              | C-95    | 6,0 b | -                |
| 731 | A-12             | 5,4 b              | 5,0              | AC-02   | 6,0 b | -                |
| 732 | A-51             | 5,4 b              | 5,0              | Doublon | 6,0 b | -                |
| 733 | AC-09            | 5,4 b              | 5,0              | C-91    | 6,0 b | -                |
| 734 | I-157            | 5,4 b              | 5,0              | -       | -     | -                |
| 735 | C.V. (%) = 13,22 |                    |                  |         |       |                  |

736 <sup>1</sup>Sev= Severidade da doença, avaliada de acordo com escala de notas variando de 0 a 6,  
 737 adaptada de Azevedo (1997).

738 <sup>2</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste agrupamento de  
 739 Scott-Knott a 5% de probabilidade.

740

741

742

743

744

745

746

747

748

749

750



785 **Tabela 5.** Comprimento das células do mesofilo de plantas de meloeiro com 18 dias de plantio,  
 786 após 72 h de inoculação e colonização de *Acidovorax citrulli*.

| Acesso | CTM ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>               |
|--------|--|
| A-43   | 113,99 a <sup>2</sup> ( $\pm 1,6$ ) <sup>3</sup> |
| I-136  | 128,63 b ( $\pm 2,3$ )                           |
| Goldex | 118,82 a ( $\pm 2,5$ )                           |

787 <sup>1</sup>CTM= comprimento total do mesófilo de meloeiro (inclui o comprimento da epiderme  
 788 superior, parênquima paliçádico, parênquima esponjoso até a epiderme inferior).

789 <sup>2</sup>Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste não-paramétrico de Kruskal-wallis a 5%  
 790 de probabilidade.

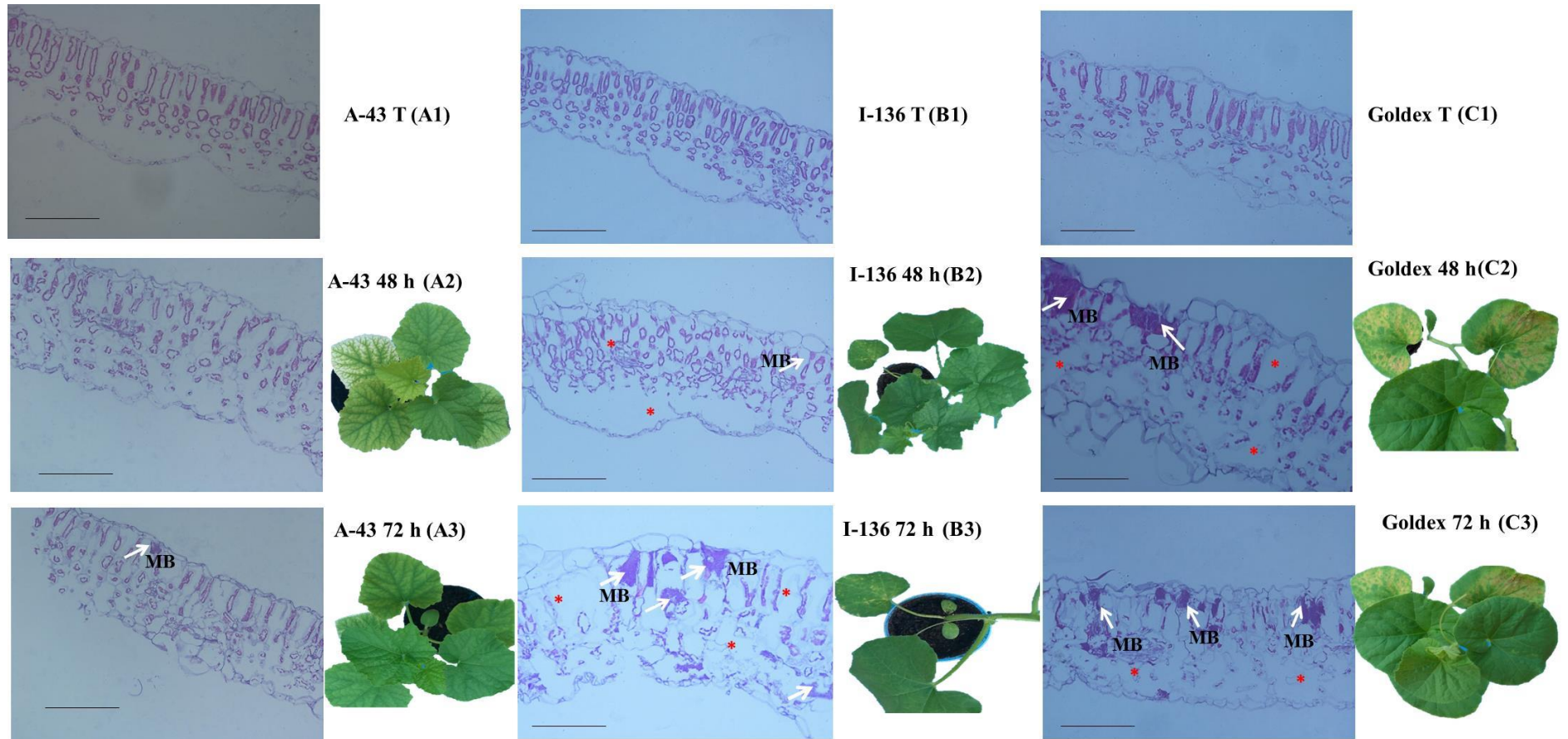
791 <sup>3</sup>Erro padrão da média entre parênteses.

792

793

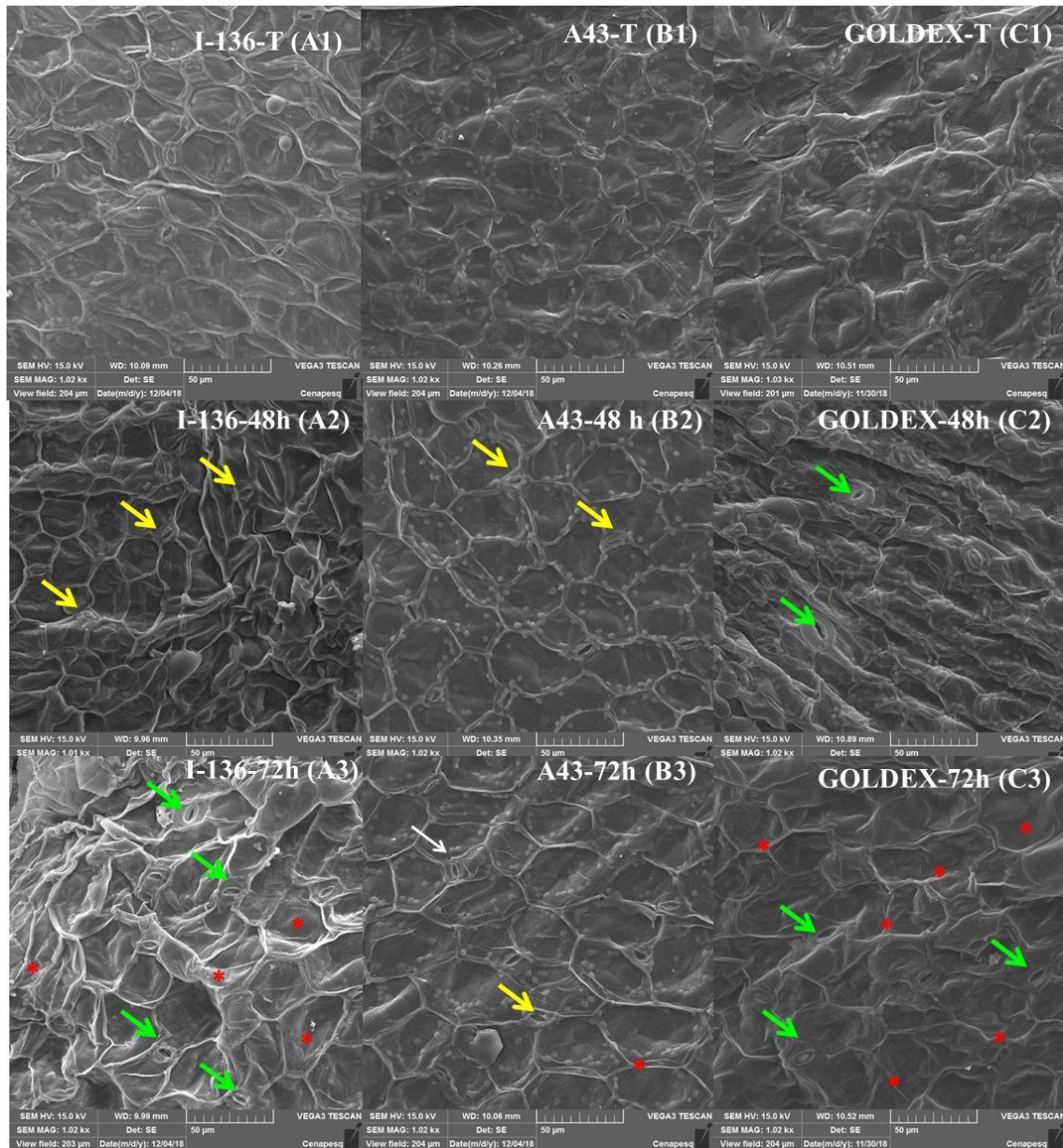
794

795



796

797 **Fig. 1** Reação dos acessos (18 dias após plantio) de meloeiro versus *Acidovorax citrulli* CRRMac1.12 após 48 e 72 h da inoculação da bactéria  
 798 sob microscopia óptica. MB = massa bacteriana de *A. citrulli*, \* = espaços vacuolados e degradados do tecido vegetal colonizado. A-43 e I-36  
 799 acessos com potencial resistência à mancha aquosa, Goldex – cultivar comercial suscetível à mancha aquosa. Barra = 50µm (400 x)



800

801 **Fig. 2** Micrografias de microscopia eletrônica de varredura da reação de acessos de meloeiro  
 802 versus *Acidovorax citrulli* (CRRMac1.12) após 48 e 72 h da inoculação da bactéria. Setas  
 803 verdes = estômatos abertos, setas brancas = estômatos fechados. \* = área de tecido  
 804 parenquimatoso vacuolado e desorganizado sob a colonização da bactéria. A-43 e I-136 acessos  
 805 com potencial resistência à mancha aquosa, Goldex – cultivar comercial suscetível à mancha  
 806 aquosa. Barra = 50µm (400 x). Magnificação = 1,02 kx. Campo de emissão MEV = 15 kV.b.

## **Capítulo III**

---

**Extratos aquosos de plantas da Caatinga  
reduzem a severidade da mancha aquosa do  
meloeiro**

## **Extratos aquosos de plantas da Caatinga reduzem a severidade da mancha aquosa do meloeiro**

**Emanuel F. Assunção<sup>a</sup>; Claudeana S. da Conceição<sup>a</sup>; Elizabeth Rodrigues Alexandre<sup>a</sup>; Ana Paula Sant'Anna da Silva<sup>b</sup>; Márcia Vanusa da Silva<sup>b</sup>; Marco Aurélio S. da Gama<sup>a</sup>; Elineide B. de Souza<sup>c</sup>**

<sup>a</sup>Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brasil;

<sup>b</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

<sup>c</sup>Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brasil;

Autor para correspondência: Elineide B. Souza, e-mail: elineidebs@yahoo.com.br

### **Resumo**

O domínio fitogeográfico Caatinga, localizado na região Nordeste do Brasil e uma pequena parte do norte de Minas Gerais, é formado por uma infinidade de plantas, cujo potencial de compostos bioativos ainda é pouco explorado no controle de doenças de plantas. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de oito extratos aquosos de plantas da Caatinga no controle da mancha aquosa do meloeiro através do tratamento de sementes e plântulas. As concentrações mínimas inibitórias (CMI) e bactericidas (CMB) dos extratos foram também determinadas e as microscopias óptica e eletrônica de varredura (MEV) foram utilizadas para examinar a colonização de *Acidovorax citrulli* nos tecidos foliares. Com base na razão CMB/CMI três extratos foram bactericidas, dois bacteriostáticos e três não tiveram efeito direto sobre a bactéria. Os extratos apresentaram eficácias distintas no controle da mancha aquosa, sendo mais eficazes quando aplicados por pulverização, onde a maioria protegeu as plântulas da infecção, aumentando o período de incubação da doença e reduzindo o índice de doença. Foram selecionados como mais promissores os extratos aquosos brutos de *Croton heliotropiifolium* (bactericida), *Ximenia americana* (bacteriostático) e *Ziziphus joazeiro* (sem atividade antibacteriana), pois podem ser utilizados tanto no tratamento de sementes quanto na pulverização de plântulas, com níveis de controle de 41,53 a 62,37 % e 56,76 a 94,14 %, respectivamente. As análises de microscopia óptica mostraram pouca colonização de *A. citrulli* nas folhas cotiledonares tratadas com os extratos de *X. americana* e *Z. joazeiro* e as estruturas



celulares do mesofilo (parênquima paliçádico e lacunoso) estavam estruturadas e organizadas. Pouca agregação de células bacterianas, com pouca ou nenhuma colonização dos estômatos também foi verificado na MEV. Diante do exposto, os extratos aquosos brutos de *C. heliotropiifolium*, *X. americana* e *Z. joazeiro* podem ser explorados como uma nova tecnologia para o manejo da mancha aquosa do meloeiro.

## **Introdução**

*Acidovorax citrulli*, agente causal da mancha aquosa, é uma séria ameaça a produção de melancia e meloeiro em todo o mundo, devido ao seu potencial destrutivo e ausência de medidas de manejo eficientes (BURDMAN; WALCOTT 2012). Novas epidemias continuam ocorrendo, estando a doença presente em mais de 13 países (EPPO, 2018). Em setembro de 2014 essa bactéria foi adicionada à lista de pragas quarentenárias A1 pelo conselho do European and Mediterranean Plant Protection Organization – EPPO, cujo objetivo é desenvolver estratégias internacionais contra a introdução e propagação de pragas de importância econômica, e promover métodos seguros e eficazes de controle (EPPO, 2014).

Até o momento, nenhum tratamento de sementes é completamente eficaz contra a doença e cultivares comerciais de cucurbitáceas resistentes à mancha aquosa ainda não estão disponíveis (GIOVANARDI *et al.*, 2018). Já nos campos de produção a mancha aquosa tem sido manejada usando múltiplas aplicações com produtos químicos à base de cobre, dentre eles hidróxido, sulfato e oxiclreto de cobre (HOPKINS, 1991; HOPKINS; THOMPSON, 2002). Contudo, esses produtos não têm demonstrado a eficiência desejada o que vem causando preocupações quanto ao surgimento de populações de isolados resistentes ao cobre (LATIN; HOPKINS, 1995; WALCOTT *et al.*, 2004; WECHTER *et al.*, 2011).

As plantas possuem diversos compostos químicos que podem ser usados como alternativa aos defensivos agrícolas de natureza sintética, com efetiva redução dos efeitos nocivos ao homem e meio ambiente (DUBEY *et al.*, 2011). Os metabólitos secundários encontrados nos tecidos vegetais, como óleos essenciais e extratos vegetais, podem apresentar atividades citotóxicas, inseticidas, acaricidas, antifúngicas e antibacterianas (TEPE *et al.*, 2004). Além dessa atuação direta contra patógenos, também podem atuar na indução de resistência de plantas, devido a características elicitoras (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2003).

O Brasil possui a maior diversidade de plantas do mundo (GIULIETTI *et al.*, 2005; 2009). O domínio fitogeográfico Caatinga, região que abrange os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Sergipe, Alagoas, Bahia, sul e leste do Piauí e norte de Minas Gerais, é composto por diversas plantas, que são utilizadas tanto na culinária popular como



também no tratamento de doenças. Contudo, pouco se sabe sobre o verdadeiro potencial de compostos bioativos provenientes das plantas dessa região (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2016).

Os estudos com extratos da Caatinga para o controle de doenças de plantas são poucos, e ainda estão em fase inicial, com a maioria dos resultados apenas de testes *in vitro*. Silva *et al.* (2016) avaliaram 12 extratos vegetais contra quatro bactéria fitopatogênicas (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Ralstonia solanacearum* (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e *A. citrulli*), e todos exercem efeitos bactericidas contra os patógenos. O efeito dos extratos aquosos de *Croton heliotropiifolius*, *Eugenia brejoensis* e *Libidibia ferrea* foi demonstrado pela inibição da formação de biofilme de *R. solanacearum*, possivelmente associada com a rápida mortalidade do patógeno, além de atividade antimicrobiana dos mesmos (MALAFAIA *et al.*, 2018). Conceição (2019) avaliou o efeito de cinco extratos de plantas da Caatinga no controle da mancha aquosa em condições de casa de vegetação. Através do tratamento de sementes os extratos de *Ximenia americana*, *Maytenus rigida*, *Schinopsis brasiliensis* e *L. ferrea* aumentaram o período de incubação e reduziram o índice da doença em até 75,6 % enquanto os extratos de *Sideroxylon obtusifolium* e *S. brasiliensis* pulverizadas nas plântulas antes da inoculação da bactéria também reduziram o índice da mancha aquosa.

Diante do potencial dos extratos da Caatinga no controle de fitopatógenos, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de extratos de plantas da Caatinga no controle da mancha aquosa do meloeiro através do tratamento de sementes e plântulas e determinar as concentrações mínimas inibitórias (CMI) e bactericidas (CMB) dos extratos vegetais e examinada a colonização de *A. citrulli* nos tecidos foliares das plântulas após infecção, sob análise de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura.

## **Material e Métodos**

### **Isolado bacteriano e condições de cultivo**

O isolado CCRMAc1.12 (Aac1.12) de *A. citrulli* utilizado nos experimentos foi obtido de fruto de meloeiro, pertencente à Coleção de Culturas Rosa Mariano (CCRM) do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE. O cultivo da bactéria foi realizado em meio ágar nutritivo-dextrose-extrato de levedura (NYDA) (PUSEY; WILSON, 1984), com incubação por 48 h a  $28 \pm 2$  °C. Antes do procedimento de inoculações, procede-se o ajuste das suspensões em espectrofotômetro (Analyser 500 M, Brasil) para  $A_{570} = 0,25$ , que corresponde a  $3,4 \times 10^7$  UFC mL<sup>-1</sup>.

### **Material vegetal e preparo dos extratos aquosos**

As espécies vegetais foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau – PE, região situada dentro do domínio fitogeográfico Caatinga (Tabela 1). As espécies coletadas foram devidamente identificadas e depositadas em Herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, e um Voucher para cada espécime foi gerado.

Os fragmentos vegetais colhidos foram separados e secos a 40 °C por 3 a 4 dias, triturados em liquidificador industrial até que virasse pó e armazenados a 4 °C. Posteriormente, procedeu-se a extração por decocção dos extratos (10 g) em água destilada esterelizada (100 mL) em banho-maria a 100 °C por 30 min. A solução obtida foi agitada manualmente e filtrada em camada de gaze esterilizada e acondicionada em recipientes de vidro (CONCEIÇÃO, 2019).

### **Determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB) dos extratos vegetais**

O experimento foi realizado usando o método CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute) para a determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB) (CLSI, 2009). A bactéria foi cultivada por 48 h a 30 °C. As amostras dos extratos (100 mg) foram dissolvidas em 1 mL<sup>-1</sup> de água destilada esterilizada (ADE). As diluições foram preparadas em placas de microtitulação de 96 poços, contendo 100 µL do meio líquido NYD, para obtenção de concentrações finais variando de 0,39 a 100 mg mL<sup>-1</sup>. Finalmente, 10 µL da suspensão bacteriana foram depositados nas microplacas. As placas foram incubadas a 30 °C por 24 h. Para o controle da suscetibilidade do fitopatógeno foi adicionado um tratamento com o antibiótico de amplo espectro cloranfenicol (50 mg/L<sup>-1</sup>). As placas foram coradas com resazurina (0,005 mg em 50 mL de ADE), depositando-se 20 µL em cada poço; em seguida cobertas com papel alumínio e mantidas no escuro. Após 30 minutos, avaliou-se o resultado deste teste colorimétrico, sendo a cor azul para bactérias mortas ou poço sem bactérias, e a cor rosa para bactérias vivas. A menor concentração de extrato na qual não foi visível o crescimento da bactéria foi definida como CMI.

A CMB foi determinada antes dos poços serem corados com a resazurina. De cada poço foi coletado 10 µL da suspensão, e depositados em placas de Petri com meio NYDA e incubado a 30 °C por 24 h. A completa ausência de crescimento na superfície do meio na menor concentração da amostra foi definida como o CMB. Os testes foram realizados em triplicatas e repetidos duas vezes. A razão entre os valores da CMB e CMI foi utilizada para distinguir se as substâncias presentes no extrato possuem ação bactericida ou bacteriostática (BIYITI *et al.*, 2004).

### **Tratamento de sementes de meloeiro com extratos aquosos**

Neste experimento foram utilizados os oito extratos aquosos, nas concentrações de 100 mg mL<sup>-1</sup> (extrato bruto) e nas CMBs ou na concentração de 50 mg mL<sup>-1</sup>, quando a CBM foi igual a do extrato bruto ou o extrato não inibiu o crescimento da bactéria. Sementes de meloeiro da cultivar Goldex foram utilizadas em todos os experimentos. As sementes foram bacterizadas por duas horas em 20 mL de suspensão de *A. citrulli* e postas para secar por 16 h a temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Posteriormente tratadas por 30 minutos, separadamente, em 25 mL da solução dos extratos aquosos. Após a bacterização e tratamento com as soluções dos extratos, as sementes foram semeadas em bandejas de polietileno (JKS industrial LTDA<sup>®</sup>), contendo substrato Basaplant (BaseAgro<sup>®</sup>), e mantidas em casa de vegetação com médias de temperatura e umidade relativa do ar de 32 °C e 77,6 %, respectivamente. O controle positivo consistiu de sementes tratadas com acibenzolar-S-methyl (ASM) (Bion500 WG, Syngenta) na concentração de 50 mg i.a. L<sup>-1</sup> (CABRAL *et al.*, 2010). Para melhor aderência da solução acrescentou-se Tween 20 (0,005 %). Cinco dias após o plantio, as plântulas emergiram e foram submetidas a câmara úmida por um período de 24 h. As plântulas foram avaliadas por seis dias, quanto ao aparecimento dos sintomas com auxílio de escala descritiva (Araújo *et al.*, 2005) com notas variando de 0 a 5. De posse dos dados foram determinados os componentes epidemiológicos período de incubação (PI) (IAMSUPASIT *et al.*, 1993); e índice de doença (ID), de acordo com (MCKINNEY, 1923). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 12 tratamentos e cinco repetições, sendo que, cada repetição foi constituída por 10 sementes.

### **Proteção de plântulas de meloeiro com extratos aquosos**

Folhas cotiledonares de plântulas com seis dias foram tratadas com a solução dos extratos aquosos brutos e/ou CMBs e submetidas à câmara úmida por 24 h, em casa de vegetação. Após esse período foram pulverizadas com a suspensão de *A. citrulli* até o escorrimento e submetidas a câmara úmida de pós-inoculação por 24 h. O controle positivo consistiu no tratamento de plântulas com ASM (50 mg i.a. L<sup>-1</sup>). Para melhor aderência da solução a superfície foliar acrescentou-se Tween 20 (0,005 %). As plântulas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura e umidade relativa do ar médias de 32 °C e 77,6 %, respectivamente. Procedeu-se a avaliação da doença diariamente até seis dias após a inoculação, utilizando a escala descritiva, com notas variando de 0 a 5 (ARAÚJO *et al.*, 2005). Com os dados obtidos foram calculados o PI e o ID. O delineamento experimental foi inteiramente

casualizado com 12 tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição constituída por cinco plântulas.

### **Análise de microscopia óptica de folhas cotiledonares de meloeiro tratados com extratos aquosos**

Fragmentos de 5 mm<sup>2</sup> de folhas cotiledonares de meloeiro oriundos de plântulas previamente tratadas com os extratos aquosos brutos de *C. heliotropiifolium*, *X. americana* e *Z. joazeiro* (100 mg mL<sup>-1</sup>) e inoculadas 24 h após com *A. citrulli*, foram fixados em FAA (formaldeído 5 %, álcool etílico 5,0 % e ácido acético 90 %) por 48 h e preservados em álcool etílico (P.A) a 70 %. Em seguida, foram desidratados em diferentes concentrações crescentes de álcool etílico (P.A), diafanizada (clarificação) em xilol e impregnados em parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 59°C e inclusos em parafina. Os blocos montados contendo os fragmentos foram cortados em micrótomo ajustado para 3 µm. Os cortes obtidos foram colocados em lâmina de vidro e corados com Hematoxilina-Eosina, e untadas com albumina de MAYR de acordo com (MOLINARO *et al.*, 2010). Para análise das imagens histológicas, as preparações microscópicas foram observadas e fotografadas por câmera digital acoplada ao microscópio óptico (Nikon Eclipse INU), e conectada a um computador contendo uma placa de captura de imagem para inferências qualitativas, nas objetivas de 10X e 20X. Como comparativo, foram utilizadas folhas cotiledonares sem tratamento (controle absoluto) e folhas cotiledonares inoculadas com *A. citrulli* (controle relativo).

### **Análise de microscopia eletrônica de varredura de folhas cotiledonares de meloeiro tratados com extratos aquosos**

Fragmentos do mesófilo de folhas cotiledonares de meloeiros, tratados e inoculados como descrito na análise anterior, foram fixados em FAA e desidratados em álcool etílico PA a 70 %. Utilizou-se a metodologia adaptada de Fonseca *et al.* (2005) onde fragmentos foram mantidos a -80 °C por 24 h e liofilizados. Após esse período, as amostras foram metalizadas com ouro a 10 nm em metalizador Desk V (Dentom Vaccum) e então observadas em microscópio eletrônico de varredura (TESCAN, VEGA 3) a 15 kV, e as imagens digitais capturadas foram analisadas no Laboratório de Microscopia eletrônica do Centro de apoio à Pesquisa-CENASPESQ/UFRPE. Como comparativo foram utilizadas folhas cotiledonares sem nenhum tratamento (controle absoluto) e inoculadas com *A. citrulli* (controle positivo).

### **Análises estatísticas**

Todos os experimentos foram realizados duas vezes. Quando não houve diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre as variâncias dos experimentos os dados foram analisados conjuntamente como repetição no tempo. Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e comparados pelo teste T de Student ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software STATISTIX 9.0 (Analytical Software).

## Resultados

### Determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e da concentração mínima bactericida (CMB) dos extratos

Os extratos aquosos de *C. odorata*, *C. heliotropiifolius* e *C. pyramidalis* inibiram o crescimento de *A. citrulli* com CMB de 25, 50 e 3,1 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente, apresentando efeito bactericida. Com CMI de 12,5 e 3,1 mg mL<sup>-1</sup> e CMB de 50 e 12,5 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente, os extratos de *S. ferruginea* e *X. americana* exibiram efeito bacteriostático. Os demais extratos (*A. pyriformium*, *H. impetiginosus* e *Z. joazeiro*) não tiveram efeito direto sobre o patógeno, e o controle com cloranfenicol foi bactericida com uma CMI de 0,39 mg mL<sup>-1</sup> e CMB 0,78 mg mL<sup>-1</sup> (Tabela 2).

### Tratamento de sementes e proteção de plântulas de meloeiro com extratos aquosos

Diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) no controle da mancha aquosa foram observadas quando sementes e plântulas de meloeiro foram tratadas com extratos aquosos de plantas do domínio Caatinga (Tabela 3). Nas plântulas oriundas das sementes inoculadas com *A. citrulli* e tratadas com os extratos aquosos de *C. heliotropiifolium*, *X. americana* e *Z. joazeiro*, nas duas concentrações testadas, foram observados aumentos do PI, que variaram de 2,62 a 3,44 dias em comparação com o controle que foi de 1,54 dias (Tabela 3). O mesmo comportamento foi constatado com os extratos aquosos de *C. pyramidalis* (3,1 mg mL<sup>-1</sup>) e *S. ferruginea* (bruto). O PI nesses tratamentos variou de 2,34 a 3,44 dias. Com exceção de *S. ferruginea*, esses extratos também reduziram o ID, variando de 41,5 % (*X. americana* – 12,5 mg mL<sup>-1</sup>) a 62,38 % (*C. heliotropiifolium* - bruto).

No experimento em que as plântulas de meloeiro foram pulverizadas com a solução dos extratos aquosos visando a proteção contra a infecção por *A. citrulli* (Tabela 3), todos os tratamentos aumentaram significativamente o PI ( $p \leq 0,05$ ), variando de 3,4 a 6,49 dias, enquanto que no tratamento controle o PI foi de 2 dias. Apenas os extratos de *A. pyriformium* (50 mg mL<sup>-1</sup>), *C. pyramidalis* (3,1 mg mL<sup>-1</sup>) e *S. ferruginea* (25 mg mL<sup>-1</sup>) não reduziram o ID. Os demais

tratamentos reduziram o ID, alguns com comportamento similar ao ASM (50 mg i.a. L<sup>-1</sup>), variando de 56,76 % (*C. heliotropiifolium* - bruto) a 94,14 % (*X. americana* - bruto).

Baseado nesses resultados os extratos aquosos brutos de *C. heliotropiifolium*, *X. americana* e *Z. joazeiro*, que aumentaram o PI e reduziram o ID quando aplicados tanto em sementes quanto em plântulas, foram selecionados para as análises microscópicas. Esses extratos em plântulas foram tão eficientes quanto o ASM no controle da mancha aquosa.

### **Análise de microscopia óptica de folhas cotiledonares de meloeiro tratados com extratos aquosos**

Em plântulas tratadas com extrato de *C. heliotropiifolium* o tecido mostrou-se pouco estruturado (Figura 1-D) com intensa degradação das células do parênquima paliçádico (PP) e do parênquima esponjoso (PE) (Figura 2-A1), e parede celular pouco espessa. Também se verificou áreas de formação de agregados da massa bacteriana (MB) de *A. citrulli*, confirmando a intensa colonização, observada pelas manchas coalescentes de aspecto oleoso nas folhas cotiledonares (Figura 2-A2).

O tecido de plântulas tratadas com extrato de *X. americana* apesar de se estarem mais estruturados (Figura 1-E) com PP e PE mais organizado (Figura 2-B1) mostra uma parede celular que permitiu a penetração e colonização da bactéria. Isso é evidenciada pela MB (Figura 2-B1), que embora pouco agregada, resultou em lesões pontuais de aspecto oleoso (Figura 2-B2) nas folhas cotiledonares.

O extrato de *Z. joazeiro* mostrou o melhor efeito sobre as estruturas anatômicas do mesofilo do meloeiro, já que as células de PP e PE (Figura 1D) estavam regulares, estruturadas e com parede celular mais espessa e íntegra (Figura 2-C1), sem crescimento bacteriano evidente, corroborando para tecidos assintomáticos (Figura 2-C2) conforme visualizamos nas folhas cotiledonares. O comportamento desse extrato se assemelha com a estrutura celular da testemunha absoluta (inoculadas com ADE) (Figura 1-A), onde os tecidos PP e PE se mostram bem estruturados (Figura 2-D1), sem nenhum sintoma (Figura 2-D2) já que não houve inoculação da bactéria.

Já para a testemunha relativa inoculadas apenas com *A. citrulli*, observou-se intensa desorganização celular (Figura 1-BC), com espaçamento das células do PP (Figura 2-E1) e degradação do PE e da parede celular, além de intensa MB (Figura 2E-1), correspondente à intensa colonização das folhas cotiledonares levando a sintomas severos da mancha aquosa, que incluíram manchas necróticas coalescentes (Figura 2-E2).

### **Análise de microscopia eletrônica de varredura de folhas cotiledonares de meloeiro tratados com extratos aquosos**

As micrografias de MEV revelaram uma menor colonização epifítica de *A. citrulli* na superfície das folhas cotiledonares de meloeiro tratadas com os extratos de *X. americana* (Figura 3C) e de *Z. joazeiro* (Figura 3E), assemelhando-se ao tecido da testemunha absoluta (Figura 3I). O extrato de *C. heliotropiifolium* não exerceu efeito sobre a redução da colonização de *A. citrulli* sendo observado um tecido desorganizado estruturalmente (Figura 3A) com intensa formação de MB. Além disso, agregadas de muitas células de *A. citrulli* sobre o tecido também puderam ser verificadas, semelhante ao tecido que não recebeu tratamento com extratos (testemunha relativa) onde há intensa colonização da bactéria (Figura 3G).

Verificou-se também que os estômatos abertos estavam colonizados, possivelmente devido ao rápido crescimento bacteriano na superfície foliar em tecidos tratados com o extrato de *C. heliotropiifolium* (Figura 3B) comparado à testemunha relativa (Figura 3H).

Nos tecidos de meloeiro tratados com os extratos de *X. americana* (Figura 3D) e de *Z. joazeiro* (Figura 3F) observou-se um grande precipitado do extrato sob a superfície foliar, diferindo da superfície do mesofilo da testemunha absoluta (Figura 3J).

### **Discussão**

O manejo integrado da mancha aquosa para todas as cucurbitáceas é medida primordial, e devem estender-se ao longo de todo o processo de produção sementes, plântulas e campos de produção (BURDMAN; WALCOTT, 2012). Como não se dispõe de cultivar resistentes ou imune a mancha aquosa, a medida ideal para evitar novos surtos seria manter a bactéria longe dos campos de produção por meio da exclusão, da detecção de *A. citrulli* em sementes e da eliminação de plantas doentes e voluntárias (HOPKINS; LEVI, 2008, BAHAR *et al.*, 2008).

A pesar de muitos estudos relatarem a atividade antibacteriana de extratos vegetais contra patógenos humanos, e suas aplicações farmacêuticas (GIBBONS, 2004), não se tem muito conhecimento sobre o potencial dos extratos aquosos no controle de patógenos de plantas (MALAFAIA *et al.*, 2018). Este é um dos primeiros estudos utilizando extratos aquosos de plantas do domínio fitogeográfico Caatinga como uma nova tecnologia para o manejo da mancha aquosa do meloeiro.

A comparação dos valores de CMI e CMBs permite uma melhor avaliação do efeito antibacteriano dos extratos de plantas. Os oito extratos aquosos testados, exerceram efeitos distintos sobre o crescimento de *A. citrulli*, com CMI e CMBs variados, sendo três destes

extratos detentores de efeitos bactericidas, e dois com efeitos bacteriostáticos (Tabela 2). Três extratos não exerceram efeito direto sobre a bactéria, não inibindo o seu crescimento.

Alguns estudos mostraram que os extratos de plantas da Caatinga possuem atividade inibitória (bacteriostática/bactericida) contra bactérias fitopatogênicas. O extrato foliar de *Artemisia nilagirica* apresentou atividade antibacteriana sobre *Erwinia* sp., *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas syringae* e *Clavibacter michiganensis* (AHAMEETHUNISA; HOPPER; 2010). Outros autores já verificaram que os extratos metanólicos de *Nigella sativa*, *Geranium robertianum*, *Aizoon canariense* e *Rubia peregrino* foram eficientes contra *Pseudomonas syringae* pv. tomato (ELKHALFI *et al.*, 2013). Os extratos de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil*, *Croton pedicellatus* e *E. brejoensis* apresentaram efeito inibitório sob *Ralstonia solanacearum*, *X. campestris* pv. *campestris*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* e *A. citrulli* (SILVA *et al.*, 2016). El-Hefny *et al.* (2017) também demonstraram atividade antibacteriana dos extratos de *Callistemon viminalis*, *Eucalyptus camaldulensis* e *Conyza Dioscoridis* contra *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *R. solanacearum*, *Dickeya* spp. e *Rhizobium radiobacter*. Extratos de *Jacaranda rugosa* e *C. heliotropiifolius* também são citados com atividade antibacteriana a *R. solanacearum* (MALAFAIA *et al.*, 2018). *C. heliotropiifolius* na concentração de 50 mg mL<sup>-1</sup> no presente estudo inibiu o crescimento de *A. citrulli* que é uma das mais importantes fitobactérias à cultura do meloeiro no Nordeste brasileiro.

Todos os extratos, independente de terem ou não inibido o crescimento *in vitro* de *A. citrulli*, foram testados quando a capacidade de impedir o processo de infecção em plântulas de meloeiro, através do tratamento de sementes e proteção de plântulas. Os extratos apresentaram efeitos distintos no controle da doença, sendo mais eficazes quando aplicados por pulverização, onde a maioria protegeu as plântulas da infecção, aumentando o PI e reduzindo o ID (Tabela 3).

Os extratos aquosos de *C. heliotropiifolium*, *X. americana* e *Z. joazeiro* nas concentrações brutas foram selecionados como mais promissores, mesmos não tendo diferido estatisticamente algumas vezes das concentrações diluídas, pois podem ser utilizados tanto no tratamento de sementes quanto na pulverização de plântulas, com eficiência similar a ASM na proteção de plântulas. Os níveis de controle atingidos por esses extratos foram expressivos, variando de 41,53 a 62,37 % em sementes e 56,76 a 94,14 % em plântulas. Esses resultados são bastantes satisfatórios, considerando que as lesões nas folhas oriundas de sementes e plântulas contaminadas/infectadas são a principal fonte de inóculo para desenvolvimento dos sintomas nos frutos (HOPKINS, 1994).



Como já mencionado, a maioria dos artigos publicados com extratos da Caatinga foram com experimentos realizados *in vitro*. Contudo, recentemente, Conceição (2019) avaliou o efeito de cinco extratos de plantas da Caatinga no controle da mancha aquosa em condições de casa de vegetação com resultados promissores. Foram observados aumentos do PI e reduções do IDO de até 75,6 % com os extratos brutos de *X. americana* (folha), *M. rigida* e *S. brasiliensis*, e *L. ferrea* na concentração de 6,25 mg mL<sup>-1</sup>. Os extratos de *S. obtusifolium* (bruto) e *S. brasiliensis* (CMB = 25 mg mL<sup>-1</sup>) também se destacaram na proteção das plântulas de meloeiro com redução do ID. No presente estudo, o extrato aquoso de *X. americana* obtido da casca da planta também controlou a mancha aquosa.

São citados na literatura como metabólitos secundários de extratos vegetais responsáveis pelo efeito antibacteriano os compostos fenólicos, terpenóides e alcalóides (TAIZ; ZEIGER, 2013). Os extratos aquosos de *C. heliotropiifolium* e *X. americana* inibiram o crescimento de *A. citrulli in vitro* (Tabela 2). O extrato de *X. americana*, por exemplo, é rico em compostos ácidos e fenóis, que são efetivos contra bactérias fitopatogênicas e bactérias patogênicas a humanos (KIESSOUN *et al.*, 2018), além de ser rico em flavonóides, substâncias benéficas utilizadas no tratamento de doenças vasculares (UCHÔA *et al.*, 2016).

Vegetais são fontes abundantes de compostos bioativos que podem ser usados no controle de microrganismos, por meio de diferentes mecanismos de ação, a partir da descoberta de novas moléculas antimicrobianas (MUTALIB *et al.*, 2015). Isto implica dizer que produtos à base de extratos vegetais podem ser considerados uma nova tecnologia para o manejo da mancha aquosa em cucurbitáceas. Reuveni (2019), por exemplo, a procura de um produto inovador, combinou o fungicida difenoconazol com extrato da árvore do chá criando um produto híbrido que fornece múltiplos e diferentes modos de ação, a diferentes fungos fitopatogênicos, como fungos da ordem *Erysiphales* (oídio), *Venturia inaequalis* (sarna da macieira), *Mycosphaerella fijiensis* (sigatoka negra da bananeira), espécies de *Alternaria*, *Cercospora*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Pyricularia*, *Helminthosporium*, *Sclerothium*.

Além dessa atuação direta contra patógenos, extratos vegetais também podem atuar na indução de resistência de plantas, devido a características elicitoras (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2003). O extrato de *Z. joazeiro*, apesar de não ter atividade antibacteriana reduziu a severidade da mancha aquosa (Tabelas 2 e 3), provavelmente, essa espécie possui outro mecanismo de ação, tal como a indução de resistência. O efeito desse extrato contribuiu de forma eficiente na restrição da colonização de *A. citrulli*, pois não se observaram áreas vacuolizadas entre o tecido parenquimatoso, nem desintegração das células (Figura 2C). Como se trata de uma bactéria Gram negativa, relatada ser pouco sensível quanto aos efeitos de

extratos vegetais sobre MIC e MBC (GOMES; AMORIM, 2015), esses resultados impulsionam mais estudos e o potencial emprego deste tratamento em escala comercial. Recentemente, Oliveira *et al.* (2019) mostraram que o extrato bruto de folhas de *Allamanda blanchetii*, oriunda da Caatinga, induziu a expressão de genes de resistência a *Sporisorium scitamineum* em cana-de-açúcar.

As análises de microscopia óptica revelaram pouca ou nenhuma colonização de *A. citrulli* nas folhas cotiledonares tratadas com os extratos aquosos de *X. americana* e *Z. joazeiro*, e as estruturas celulares do mesófilo (parênquima paliçádico e lacunoso) estavam estruturadas e organizadas (Figuras 1 e 2). Pouca agregação de células bacterianas, com pouca ou nenhuma colonização dos estômatos também foi verificado na MEV como consequência da ação desses extratos (Figura 3). Esses extratos são constituídos de compostos ácidos ricos em fenóis com comprovado efetivo sobre bactérias Gram negativas e Gram positivas (KIESSOUN *et al.*, 2018). A deposição de resíduos dos extratos de *X. americana* e *Z. joazeiro*, conforme verificado em MEV, respectivamente Figuras 3D e 3F, favoreceu a redução da incidência da mancha aquosa, motivando a novos estudos que caracterizem os compostos secundários majoritários e minoritários desses extratos.

Dentre os três extratos analisados por microscopia, *C. heliotropiifolium* foi o que permitiu uma maior colonização de *A. citrulli*, com intensa formação de MA, desorganização estrutural dos tecidos (Figuras 1 e 2A) e colonização dos estômatos (Figura 3A). Mesmo permitindo essa maior colonização, esse extrato apresentou atividade antibacteriana *in vitro* (Tabela 2) e reduziu a severidade da doença (Tabela 3).

Os Resultados microscópicos são similares aos que foram observados em folhas cotiledonares de meloeiro tratadas com extratos de *X. americana* (folha), *M. rigida* (casca), *S. brasiliensis* (folha) e *L. ferrea* (folha) e inoculadas com *A. citrulli* (CONCEIÇÃO, 2019), e somam mais uma forma alternativa de manejar a doença.

Este estudo mostrou que folhas de *C. heliotropiifolium* e *Z. joazeiro* e casca de *X. americana* possuem potencial para uso no controle de mancha aquosa, importante bacteriose da cultura do meloeiro. Estudos posteriores podem detectar quais compostos eliciadores biologicamente ativos estão atuando no controle da doença. Os resultados aqui obtidos ampliam os conhecimentos sobre o potencial das plantas da caatinga no controle de doenças de plantas.

## **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos a E. F. Assunção, e a Universidade Federal Rural de Pernambuco – Brasil (UFRPE), pelo apoio a pesquisa (Edital PRPPG 015/2018).

## REFERÊNCIAS

AHAMEETHUNISA, A. R.; HOPPER, W. Antibacterial activity of *Artemisia nilagirica* leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 10, p. 1-6, 2010.

ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M.; ALMEIDA, C. F. C. B. R.; FLORENTINO, A. T. N.; FERRAZ, J. S. F. Useful plants of the semi-arid northeastern region of Brazil – a look at their conservation and sustainable use. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 125, p. 281-290, 2007.

ARAÚJO, D. V.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J. Inoculation methods of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in melon. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, p. 69-73, 2005.

BAHAR, O.; EFRAT, M.; HADAR, E., DUTTA, B., WALCOTT, R. R.; BURDMAN, S. New subspecies-specific polymerase chain reaction-based assay for the detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 57, p.754-763, 2008.

BIYITI, L. F.; MEKO, D. J. L.; AMVAMZOLLO, P. H. Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales Camerounaises. **Pharmacologie et Médecine Traditionnelle en Afrique**, v. 13, p. 11-20, 2004.

BRANHAM, S. E.; LEVI, A.; KATAWCZIK, M. L.; WECHTER, W. P. QTL mapping of resistance to bacterial fruit blotch in *Citrullus amarus*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 132, p. 1463-1471, 2019.

BURDMAN, S.; WALCOTT, R. *Acidovorax citrulli*: generating basic and applied knowledge to tackle a global threat to the cucurbit industry. **Molecular Plant Pathology**. Oxford, v. 13, p. 805-815, 2012.

CABRAL, C. P.; GAMA, M. A. S.; ALEXANDRE, E. R.; MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B. Efeito de acibenzolar-S-metil, mananoligossacarídeo e bioflavonóides cítricos no controle da mancha-aquosa e no crescimento do meloeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, p. 119-123, 2010.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved Standard – 8th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute: Pennsylvania, 2009. (CLSI document M07-A8).

CONCEIÇÃO, C. S. **Leveduras e extratos aquosos de plantas da Caatinga no controle da mancha aquosa do meloeiro**. 2019, 93f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

DUBEY, N. K.; SHUKLA, R.; KUMAR, A.; SINGH, P.; PRAKASH, B. Global scenario on the application of natural products in integrated pest management programmes. In: Dubey NK (ed.). **Natural products in plant pest management**. Oxfordshire: CAB International, 2011. p. 2-14.

ELKHALFI, B.; ESSARI, A.; SERRANO, A.; SOUKRI, A. Antibacterial activity of plant methanolic extracts on a field isolate of *Pseudomonas syringae* pv tomato from the Casablanca region (Morocco). **Advances in Bioscience and Biotechnolog**, v. 4, p. 1-9, 2013.

EL-HEFNY, M.; ASHMAWY, N. A.; SALEM, M. Z. M.; SALEM, A. Z. M. Antibacterial activities of the phytochemicals-characterized extracts of *Callistemon viminalis*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Conyza dioscoridis* against the growth of four phytopathogenic bacteria, **Microbial Pathogenesis**. London, v. 113, p. 348-356, 2017.

EPPO. **European and Mediterranean Plant Protection Organization. *Acidovorax citrulli* (PSDMAC)**, 2014. Disponível em: < <https://gd.eppo.int/reporting/article-3251> >. Acesso em: 14 jul. 2019.

EPPO. **European and Mediterranean Plant Protection Organization. *Acidovorax citrulli* (PSDMAC)**, 2018. Disponível em: < <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMAC/distribution> >. Acesso em: 14 jul. 2019.

FONSECA, S.C.; SILVA, C.L.; XAVIER, M.F. Microstructural analysis of fresh-cut red bell pepper (*Capsicum annuum* L.) for postharvest quality optimization. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, Porto, v.3, p 1081-1085, 2005.

GIBBONS, S. Anti-staphylococcal plant natural products. **Natural Product Reports**, London, v. 21, p. 263-277, 2004.

GIOVANARDI, D.; SUTTON, S.A.; STEFANI, E.; WALCOTT, R.R. Factors influencing the detection of *Acidovorax citrulli* in naturally contaminated cucurbitaceous seeds by PCR-based assays. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 46, p. 93-106, 2018.

GIULIETTI, A. N.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação de plantas no Brasil. **Megadiversidade**, São Paulo, v. 1 p. 52-61, 2005.

GOMES, A. K. S.; AMORIM, E.L.C. Avaliação da atividade antimicrobiana e dos teores de taninos e flavonoides de plantas medicinais da Caatinga. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13., 12, 2015, Recife. **Anais...** Pernambuco: UFPE, 2015. p. 12.

GURJAR, M. S.; ALI, S.; AKHTAR, M.; SINGH, K. S. Efficacy of plant extracts in plant disease management. **Agricultural Sciences**, v. 3, p. 425-433, 2012.

HOPKINS, D. Chemical control of bacterial fruit blotch of watermelon. **Florida State Horticultural Society**, Tallahassee, v. 104, p. 270-272, 1991.

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

HOPKINS, D. L.; LEVI, A. Progress in the development of Crimson Sweet-type watermelon breeding lines with resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Acta Horticulturae**, The Hague, p.157-162, 2008.

HOPKINS, D. L.; THOMPSON, C. M. Evaluation of Citrullus sp. germplasm for resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 86, p. 61-64, 2002.

IAMSUPASIT, N.; CHAKRABORTY, S.; CAMERON, D. F.; ADKINS, S. W. Components of quantitative resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloesporioides*) in tetraploid accessions of the pasture lemgume *Stylosanthes hamata*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Meubourne, v. 33, p. 855-860, 1993.

KIESSOUN, K.; ROLAND, M. N. T.; MAMOUNATA, D.; YOMALAN, K.; SYTAR, O.; SOUZ, A.; BRESTIC, M.; DICKO, M. H. Antimicrobial profiles, antidiarrheal and antipyretic capacities of phenol acid rich-fractions from *Ximenia americana* L., (Olacaceae) in wistar albino rats. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.10, p. 1-7, 2018.

LATIN, R. X.; HOPKINS, D. L. Bacterial fruit blotch of watermelon. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 61-76, 1995.

MALAFAIA, C. B.; JARDELINO, A. C. S.; SILVA, A. G.; SOUZA, E.B.; MACEDO, A. J.; SILVA, M. V. CORREIA, M. T. S.; Effects of Caatinga Plant Extracts in Planktonic Growth and Biofilm Formation in *Ralstonia solanacearum*, **Microbial Ecology**, New York, v. 75, p. 555-561, 2018.

MCKINNEY, R. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v. 6, p. 195-218, 1923.

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRO, M. R. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratório de saúde**. Fiocruz: São Paulo, 2010. p.89-174.

MUTALIB, L. Y.; NURADDIN, S. M.; TOMA, S.; AKA, H. Phytochemical screening, antibacterial and antibiofilm evaluation of *Lagenaria siceraria* fruit growing in Kurdistan Region\Iraq. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 4, p. 45-49, 2015.

OLIVEIRA, L. M. S.; ALMEIDA, C. M. A.; SILVA, A. G.; VERAS, B. O.; OLIVEIRA, F. G. S.; TENÓRIO, J. C. G.; CORREIA, M. T. S.; CAVALCANTI, L. S.; COELHO, R. S. B.; SILVA, M. V. Extracts From Leaves of *Allamanda blanchetti* Inducing Mechanism of Defense to Diseases in Sugarcane. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 11, p. 282-288, 2019.

REUVENI, M. Regev™ – a new potent hybrid product for the control of plant diseases: a mini review. **Outlooks on Pest Management**, Hemel Hempstead, v. 30, p. 33-35, 2019.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 554-556, 2003.

SILVA, C. M. A.; COSTA, B. M. S.; SILVA, A. G.; SOUZA, E. B.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S.; SANT'ANNA, S. A. P.; MENEZES, L. V. L. Antimicrobial activity of several Brazilian medicinal plants against phytopathogenic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 10, p. 578-583, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TEPE, B.; DONMEZ, E.; UNLU, M.; CANDAN, F.; DAFERERA, D.; VARDAR-UNLU, G. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). **Food Chemistry**, London, v. 84, p. 519-525, 2004.

UCHÔA, V. T.; SOUSA, C. M.; CARVALHO, A. A.; SANT'ANA, A. E. G.; CHAVES, M. H. Free radical scavenging ability of *Ximenia americana* L. stem bark and leaf extracts. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, p. 091-096, 2016.

VIEIRA, P. D. B.; SILVA, N. L. F.; SILVA, G. N.; SILVA, D. B.; LOPES, N. P.; GNOATTO, S. C. B.; SILVA, M. V.; MACEDO, A. J.; BASTIDA, J.; TASCA, T. Caatinga plants: natural and semi-synthetic compounds potentially active against *Trichomonas vaginalis*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, v. 26, p. 2229-2236, 2016.

WALCOTT, R. R.; FESSEHAIE, A.; CASTRO, A. C. Differences in pathogenicity between two genetically distinct groups of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on cucurbit hosts. **Journal of Phytopathology**, Pisa, v. 152, p. 277-285, 2004.

WEBB, R. E.; GOTH, R. W. A seedborne bacterium isolated from watermelon. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 49, p. 818-821, 1965.

WECHTER, W.P., LEVI, A.; LING, K. S.; COUSIN, C.; BLOCK, C. C. Identification of resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* among melon (*Cucumis* spp.) plant introductions. **HortScience**, Alexandria, v. 46, p. 207-212, 2011.

**Tabela 1.** Plantas coletadas na Caatinga, Pernambuco - Brasil, e empregadas neste estudo.

| Espécie                           | Nome popular | Família       | Órgão vegetal | Voucher  |
|-----------------------------------|--------------|---------------|---------------|----------|
| <i>Aspidosperma pyrifolium</i>    | Pereiro      | Apocynaceae   | Folha         | IPA85734 |
| <i>Cedrela odorata</i>            | Cedro        | Meliaceae     | Folha         | IPA59853 |
| <i>Croton heliotropiifolius</i>   | Velame       | Euphorbiaceae | Folha         | IPA84884 |
| <i>Handroanthus impetiginosus</i> | Ipê roxo     | Bignoniaceae  | Folha         | IPA86867 |
| <i>Caesalpinia pyramidalis</i>    | Catingueira  | Fabaceae      | Folha         | IPA95175 |
| <i>Simaba ferruginea</i>          | Amargoso     | Simaroubaceae | Folha         | IPA96269 |
| <i>Ximenia americana</i>          | Ameixa       | Olecaceae     | Casca         | IPA96261 |
| <i>Ziziphus joazeiro</i>          | Juá          | Rhamnaceae    | Folha         | IPA96264 |

**Tabela 2.** Concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB) de extratos aquosos de plantas da Caatinga contra o crescimento de *Acidovorax citrulli*.

| Extratos de Plantas         | CMI(mg mL <sup>-1</sup> ) | CMB(mg mL <sup>-1</sup> ) | CMB/CMI <sup>a</sup> |
|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|
| <i>A. pyriformium</i>       | - <sup>b</sup>            | -                         | -                    |
| <i>C. odorata</i>           | 25                        | 25                        | 1                    |
| <i>C. heliotropiifolius</i> | 50                        | 50                        | 1                    |
| <i>H. impetiginosus</i>     | -                         | -                         | -                    |
| <i>C. pyramidalis</i>       | 1,6                       | 3,1                       | 2                    |
| <i>S. ferrugínea</i>        | 12,5                      | 50                        | 4                    |
| <i>X. americana</i>         | 3,1                       | 12,5                      | 4                    |
| <i>Z. joazeiro</i>          | -                         | -                         | -                    |
| Clorafenicol                | 0,39                      | 0,78                      | 2                    |

<sup>a</sup> Razão CMB/CMI: ≤ 2 = bactericida >2 = bacteriostático; Não determinável = - Valores em negrito são considerados como atividade bacteriostática.

<sup>b</sup> (-) Ausência de atividade antibacteriana.



**Tabela 3.** Componentes epidemiológicos de sementes e plântulas de meloeiro sob efeito de tratamento com extratos aquosos de plantas do domínio fitogeográfico Caatinga no controle da mancha aquosa.

| Tratamento  | Sementes <sup>5</sup> |                       | Plântulas <sup>6</sup> |                    |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|
|   | Período de incubação  | Índice de doença      | Período de incubação   | Índice de doença   |
| Controle  | 1,54h <sup>4</sup>    | 122,8abc <sup>4</sup> | 2,0h <sup>4</sup>      | 44,4a <sup>4</sup> |
| ASM (50 mg i.a. L <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>              | 5,56a                 | 16,0h                 | 5,55abcd               | 7,40cdegh          |
| <i>A. pyriformis</i> (Bruto) <sup>2</sup>                   | 2,18efgh              | 75,04def              | 5,44abcd               | 8,0cdefgh          |
| <i>A. pyriformis</i> (25 mg mL <sup>-1</sup> ) <sup>3</sup> | 2,26defgh             | 100,8abcde            | 4,12fg                 | 17,6abcd           |
| <i>C. odorata</i> (Bruto)                                   | 1,74gh                | 123,0ab               | 6,52a                  | 10,8gh             |
| <i>C. odorata</i> (25 mg mL <sup>-1</sup> )                 | 2,3defgh              | 86,8bcdef             | 6,24ab                 | 5,2efgh            |
| <i>C. heliotropiifolium</i> (Bruto)                         | 3,44b                 | 46,2g                 | 4,69def                | 19,2bcde           |
| <i>C. heliotropiifolium</i> (25 mg mL <sup>-1</sup> )       | 3,36defg              | 69,6ef                | 4,39defg               | 13,4bcdef          |
| <i>H. impetiginosus</i> (Bruto)                             | 2,04fgh               | 110,8abcd             | 6,40a                  | 4,0gh              |
| <i>H. impetiginosus</i> (25 mg mL <sup>-1</sup> )           | 1,72gh                | 90,8bcdef             | 5,36abcde              | 9,2bcdefg          |
| <i>C. pyramidalis</i> (Bruto)                               | 2,2efgh               | 97,0abcdef            | 6,2ab                  | 4,0fgh             |
| <i>C. pyramidalis</i> (3,1 mg mL <sup>-1</sup> )            | 2,84bcde              | 65,2efg               | 4,16efg                | 21,2abc            |
| <i>S. ferruginea</i> (Bruto)                                | 2,34defg              | 142,0a                | 5,52abcd               | 7,4defgh           |
| <i>S. ferruginea</i> (25 mg mL <sup>-1</sup> )              | 2,02fgh               | 82,4cdef              | 3,4g                   | 20,2ab             |
| <i>X. americana</i> (Bruto)                                 | 3,16bc                | 63,2fg                | 6,48a                  | 2,6h               |
| <i>X. americana</i> (12,5 mg mL <sup>-1</sup> )             | 2,9bcde               | 71,8ef                | 4,96cdef               | 9,6bcdefg          |
| <i>Z. joazeiro</i> (Bruto)                                  | 3,02bcd               | 65,4fg                | 6,12abc                | 5,8efgh            |
| <i>Z. joazeiro</i> (50 mg mL <sup>-1</sup> )                | 2,62cdef              | 69,2ef                | 5,12bcdef              | 10,4bcdefg         |
| CV (%)  | 24,55                 | 7,49                  | 18,98                  | 42,97              |

<sup>1</sup> ASM = acibenzolar-S-methyl (Bion500 WG, Syngenta)

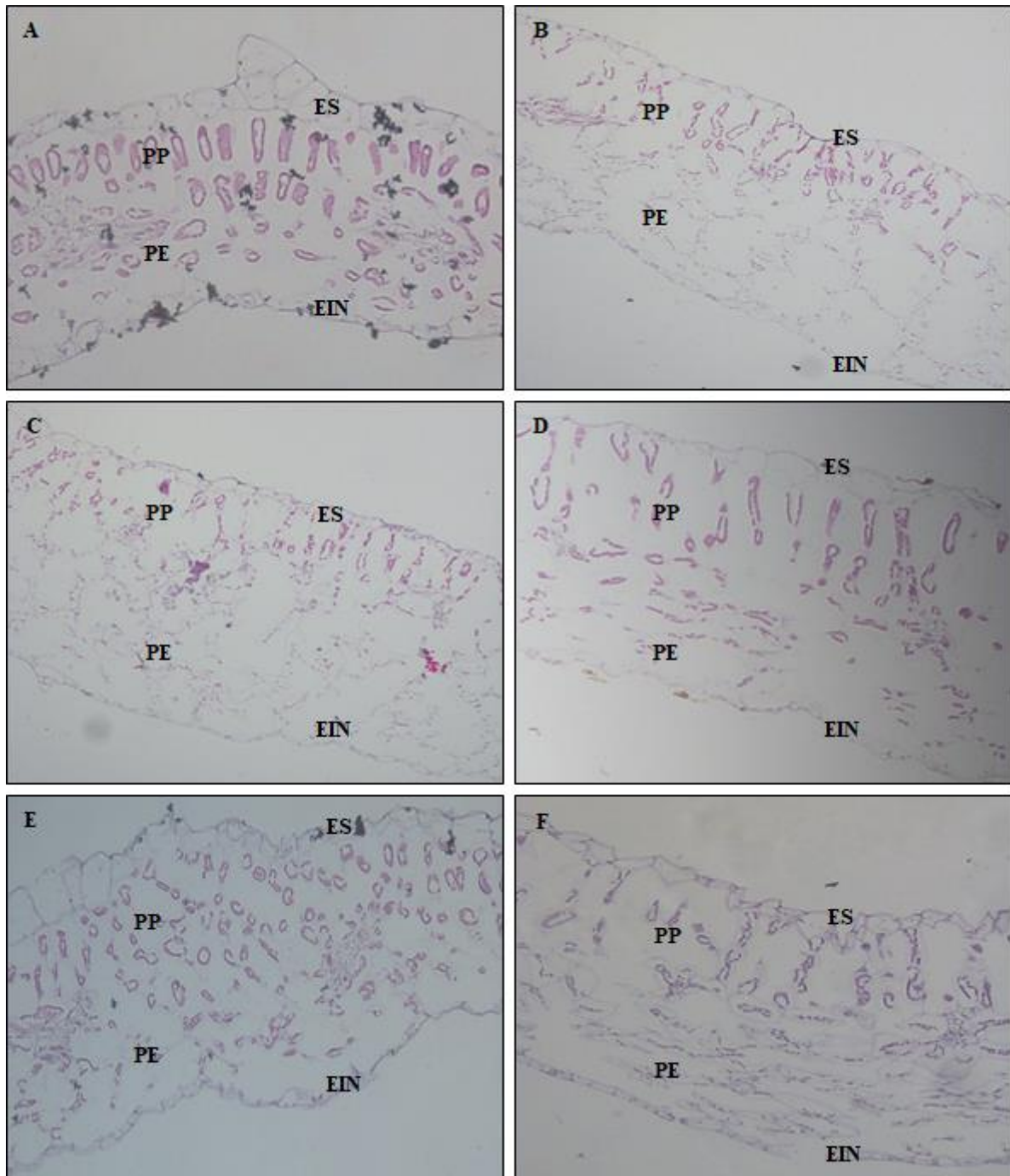
<sup>2</sup> Extrato Bruto = 100 mg mL<sup>-1</sup>;

<sup>3</sup> Extrato diluído = 25 mg mL<sup>-1</sup>; 3,1 mg mL<sup>-1</sup>; 12,5 mg mL<sup>-1</sup>; 50 mg mL<sup>-1</sup>

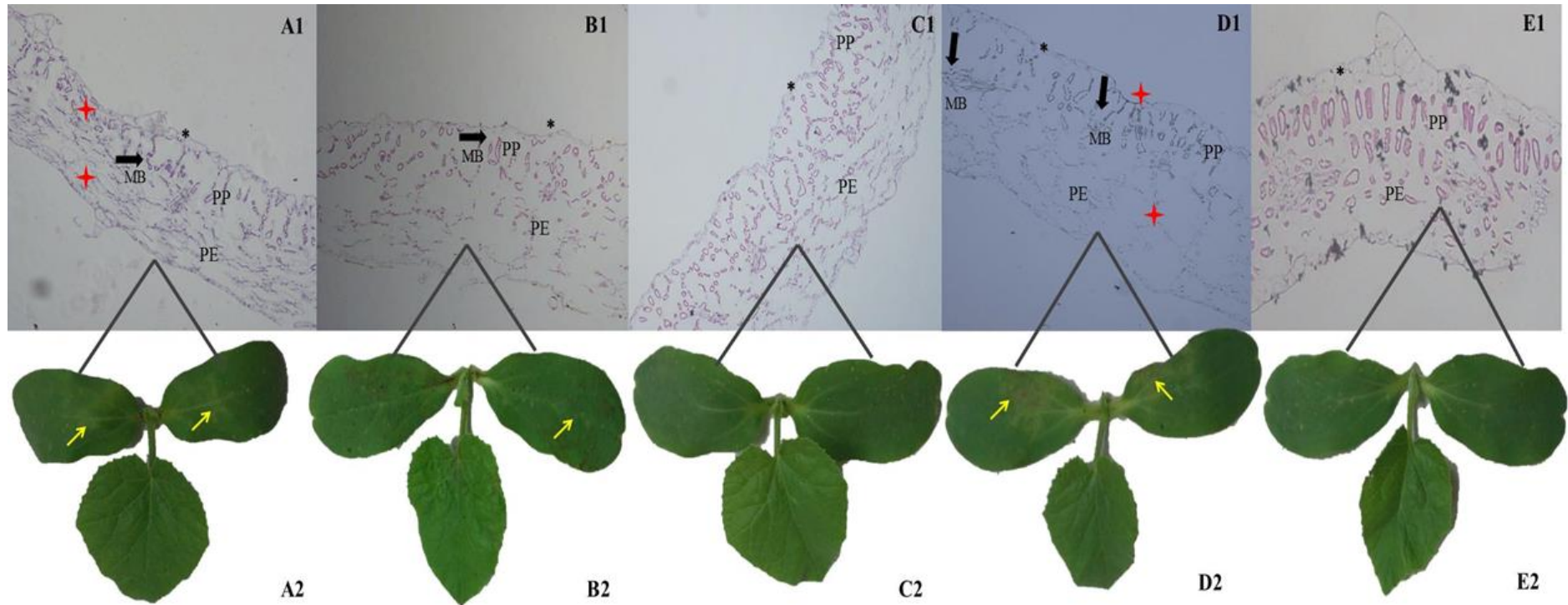
<sup>4</sup> Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste LSD de Fisher (P≤0,05);

<sup>5</sup> Dados transformados (log x+1);

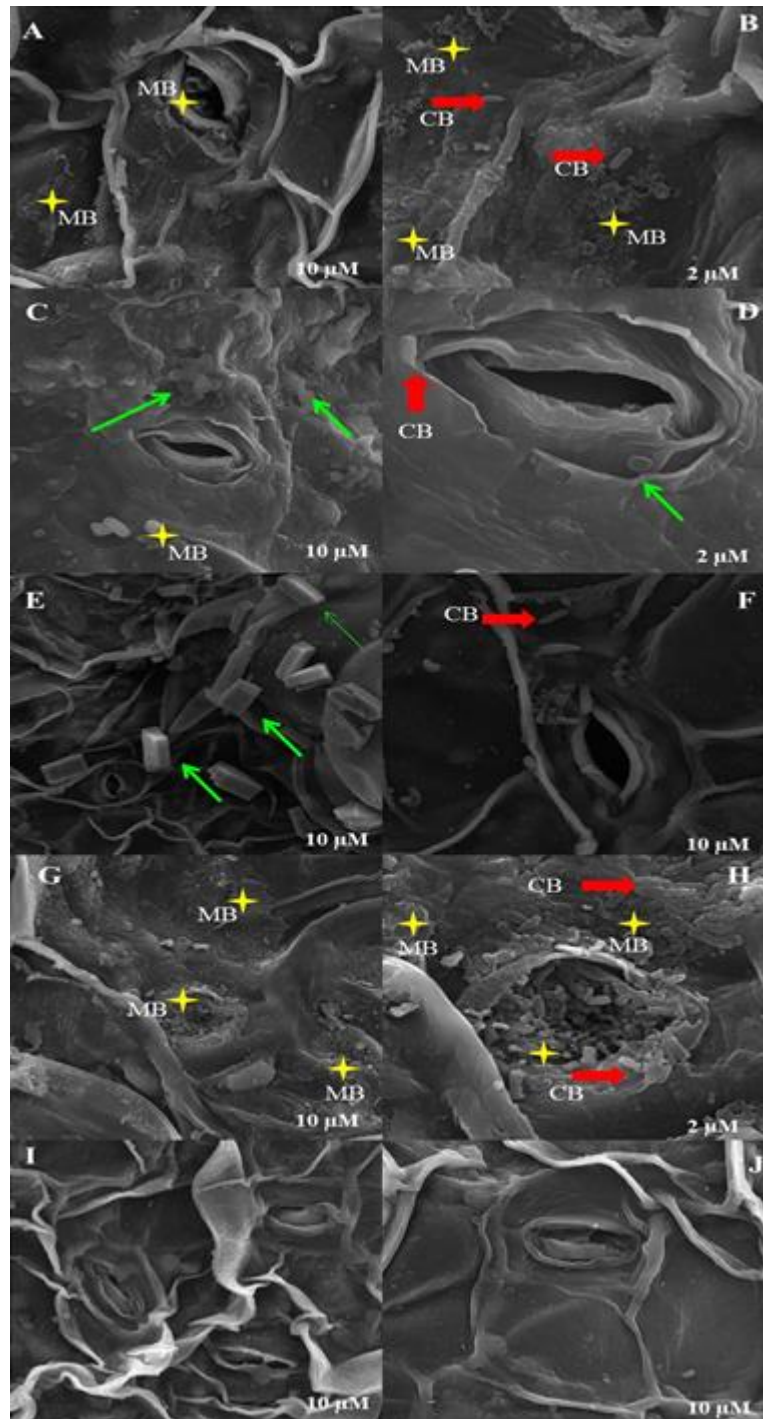
<sup>6</sup> Dados transformados  $\sqrt{x+0,5}$ .



**Figura 1.** Microscopia óptica de folhas cotiledonares de meloeiros tratados com extratos aquosos brutos. Controle absoluto – folhas não tratadas e não inoculadas (A); controle relativo – plântulas inoculadas com *Acidovorax citrulli* (B e C); plântulas tratadas com extratos de *Ximenia americana* (D); *Ziziphus joazeiro* (E) e *Cronton heliotropiifolium* (F) e inoculadas com *A. citrulli*. Epiderme superior - ES, epiderme inferior - EIN, parênquima paliçádico - PP, parênquima esponjoso - PE.



**Figura 2.** Efeitos de extratos aquosos brutos de plantas de Caatinga na redução da severidade da mancha aquosa através de observação por microscopia óptica da secção transversal do mesófilo foliar e detalhe da região do mesófilo superior de folhas cotiledonares de meloeiro inoculados com *Acidovorax citrulli*. Tratamentos: extrato de *Croton heliotropiifolius* (A1-A2), extrato de *Ximenia americana* (B1-B2), extrato de *Ziziphus joazeiro* (C1-C2), controle relativo (D1-D2) e controle absoluto (E1-E2). Notas: PP - parênquima paliádico; PE - parênquima esponjoso; \* asterisco vermelho = degradação celular; \* asterisco preto = parede celular; setas negras indicam massas bacterianas (MB); setas amarelas = sintomas de manchas bacterianas em tecidos colonizados. Escala das imagens: Imagem de escala A1, B1, C1, D1, E1 = 20 μm (10 X).



**Figura 3.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de folhas cotiledonares de meloeiros tratados com extratos aquosos brutos de *Cronton heliotropiifolium* (A-B), *Ximena americana* (C-D) e *Ziziphus joazeiro* (E-F) e inoculadas com *Acidovorax citrulli*. Controle relativo – plântulas inoculadas com *A. citrulli* (G-H), Controle absoluto – folhas não tratadas e não inoculadas (I-J). Massa bacteriana (MB), célula de *A. citrulli* (CB), seta verde= precipitado do extrato.

## **Capítulo IV**

---

### **Conclusões Gerais**

## CONCLUSÕES GERAIS

Os acessos de meloeiro A-43 e I-136 podem ser doadores de genes de resistência à mancha aquosa;

A colonização de *Acidovorax citrulli* foi limitada nas folhas dos acessos A-43 e I-136, com poucas modificações estrutural e temporal, podendo estar relacionada a resistência;

Os extratos aquosos brutos de folhas de *Croton heliotropiifolium* (Velame) e *Ziziphus joazeiro* (Juá), e casca de *Ximenia americana* (Ameixa), podem ser explorados como uma nova tecnologia para o manejo da mancha aquosa do meloeiro;

Os extratos de *X. americana* e *Z. joazeiro* inibiram a colonização de *A. citrulli* nas folhas cotiledonares de meloeiro.