

Boletim de Pesquisa 70
e Desenvolvimento ISSN 1676 - 1340
Dezembro, 2004

**MANCHA-AQUOSA DO MELÃO CAUSADA POR
ACIDOVORAX AVENAE SUBSP. *CITRULLI*:
CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS**



República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

José Amauri Dimázio
Presidente

Clayton Campanhola
Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires
Dietrich Gerhard Quast
Sérgio Fausto
Urbano Campos Ribeiral
Membros

Diretoria-Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola
Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca
Herbert Cavalcante de Lima
Mariza Marilena T. Luz Barbosa
Diretores-Executivos

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

José Manuel Cabral de Souza Dias
Chefe-Geral

Maurício Antônio Lopes
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria Isabel de Oliveira Penteado
Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios

Maria do Rosário de Moraes
Chefe-Adjunto de Administração

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 70

MANCHA-AQUOSA DO MELÃO CAUSADA POR *ACIDOVORAX AVENAE* SUBSP. *CITRULLI*: CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS

Luciano de Aquino Melo
Alexandre Peron Mendes
Joanice Pereira dos Santos
Abi Soares dos Anjos Marques

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) –

Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624

<http://www.cenargen.embrapa.br>

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Maria Isabel de Oliveira Pentead*

Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

Membros: *Arthur da Silva Mariante*

Maria Alice Bianchi

Maria de Fátima Batista

Maurício Machain Franco

Regina Maria Dechechi Carneiro

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares de Campos Carneiro

Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*

Normalização Bibliográfica: *Maria Alice Bianchi e Maria Iara Pereira Machado*

Editoração eletrônica: *Maria da Graça S. P. Negrão*

1ª edição

1ª impressão (2004)

M 268 Mancha-aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*: caracterização de isolados / Luciano de Aquino Melo ... [et al.]. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. Xx p. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1676-1340; 70)

1. Melão – mancha-aquosa. 2. Cucumis melo. 3. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* – sorologia. 4. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* - teste de patogenicidade. I. Melo, Luciano de Aquino. II. Série.

635.61 – CDD 21.

**MANCHA-AQUOSA DO MELÃO CAUSADA
POR *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*:
CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS**

Luciano de Aquino Melo¹
Alexandre Peron Mendes²
Joanice Pereira dos Santos²
Abi Soares dos Anjos Marques³

¹ Engº. Agrº., Graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Assistente de pesquisa, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Engº. Agrº., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| RESUMO..... | 7 |
| ABSTRAC..... | 9 |
| INTRODUÇÃO | 10 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 12 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 14 |
| CONCLUSÕES | 16 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 17 |

**MANCHA-AQUOSA DO MELÃO CAUSADA POR *Acidovorax avenae* subsp.
citrulli: CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS**

RESUMO

O cultivo do melão tem se destacado em importância nas últimas décadas expandindo-se no nordeste brasileiro, principalmente no Estado do Rio Grande do Norte e constituindo-se em uma das mais importantes fontes de renda da região. A mancha-aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, também conhecida por mancha-bacteriana-do-fruto, foi identificada pela primeira vez, no Brasil, em 1997 e hoje é uma séria ameaça à cultura, por seu potencial de causar perdas totais. Considerando que o relato de ocorrência dessa bacteriose no Brasil é recente, diferentes equipes no país estudam o patossistema para subsidiar medidas de controle e para evitar a dispersão da mesma a outras áreas produtoras. Alguns estudos necessários englobam metodologias de inoculação, caracterização de isolados e o conhecimento da interação patógeno-hospedeiro-ambiente. A bactéria *A. avenae* subsp. *citrulli* é um patógeno de ocorrência limitada a Cucurbitáceas infectando plantas cultivadas como melancia (*Citrullus lanatus* L.), melão (*Cucumis melo* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), abóbora (*Curcubita pepo* L.) e espécies ditas espontâneas usadas para fins forrageiros [*Citrullus lanatus* var. *citroides* (Bailey) Mansf.]. Os objetivos deste trabalho foram: formar uma coleção de isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* pela coleta de plantas infectadas em áreas produtoras ou solicitação de isolados a laboratórios/pesquisadores que trabalham com a bacteriose; caracterizar a bactéria de acordo com a metabolização de nutrientes, composição de parede celular e diferentes testes de patogenicidade; otimizar método sorológico de identificação; estabelecer um método rápido e eficiente na avaliação da patogenicidade de isolados, comparando-se corte do ápice da folha e imersão em suspensão bacteriana, molhamento da face abaxial da folha pela fricção com gaze embebida em suspensão e inoculação em pecíolos destacados permitindo ganho de tempo na etapa de execução dos postulados de Koch no procedimento de

identificação de isolados bacterianos. A coleção formada por 12 isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* possui representantes provenientes dos dois hospedeiros principais (melão e melancia) e a caracterização nutricional foi obtida conforme a descrição da subespécie com exceção do teste de nitrato e utilização de glicose. Pelo teste DAS-ELISA confirmou-se a identificação dos isolados bacterianos eliminando-se dúvidas em relação ao teste de nitrato. O método de inoculação por ferimento em pecíolo destacado é o mais recomendado para *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* seguido pelo método de fricção de folhas com gaze embebida em suspensão bacteriana, pela rapidez com que os sintomas se manifestaram, permitindo completar a identificação.

Termos para indexação:

Cucumis melo, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, sorologia, teste de patogenicidade.

**BACTERIAL FRUIT BLOTCH OF MELON CAUSED BY *Acidovorax avenae*
subsp. *citrulli*: CHARACTERIZATION OF ISOLATES**

ABSTRACT

During the last decades, the melon crop has become of economic importance in Brazil, mainly in the Northeast region. In the Rio Grande do Norte state this vegetable crop is one of the most important income source. The bacterial fruit blotch caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* was firstly identified in Brazil in 1987, becoming a serious threat to this culture because of its devastating potential. Considering this recent outbreak of the disease in the country, there are only a small number of research groups dedicated to this problem, in order to establish control measures and to avoid dispersion to other producers' areas. Some of this research lines are inoculation methodologies, characterization of isolates and plant-pathogen interaction. *A. avenae* subsp. *citrulli* is a pathogen limited to a range of cucurbit hosts, as watermelon (*Citrullus lanatus* L.), melon (*Cucumis melo* L.), cucumber (*Cucumis sativus* L.), squash (*Curcubita pepo* L.) and forage species [*Citrullus lanatus* var. *citroides* (Bailey) Mansf.]. The overall objective of this study was to establish a collection of isolates, to characterize the bacteria according to its nutritional characters and pathogenicity; establish an efficient and fast method for pathogenicity evaluation and, optimize the serological identification. As results, the isolates work collection contained representatives from watermelon and melon, the *A. avenae* subsp. *citrulli* two mainly hosts; the nutritional characterization was accordingly to the profile described to the subspecies with the exception of the nitrate reduction test; all strains were confirmed as *A. avenae* subsp. *citrulli* by enzyme linked immunosorbent assay (DAS-ELISA). For the pathogenicity test, the inoculation by wounding a detached petiole seems to be the best, considering that the symptoms appeared in twenty four hours.

1- INTRODUÇÃO

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma olerícola de grande popularidade em todo mundo, tendo sua maior dispersão na Índia e tendo sido introduzido nas Américas por Cristovão Colombo (ALVARENGA e RESENDE, 2002).

Consumidos *in natura*, em saladas ou em doces e conservas, seus frutos são ricos em vitaminas A e C e podem suprir totalmente as necessidades do organismo, além de serem fontes significativas de nutrientes, açúcar, fibras, cálcio, iodo, potássio e fitoquímicos com propriedades preventivas e atributos anticancerígenos. Possuem, ainda, caráter terapêutico atuando na coagulação do sangue, na prevenção de hemorragias e na velocidade de descalcificação em idosos, pelo seu conteúdo de cálcio e potássio. (ALVARENGA e RESENDE, 2002).

No mundo, a China aparece como sendo o maior produtor de melão respondendo, em 2000, por 32,91% da produção. Para o mesmo ano o Brasil aparece em 15º lugar com uma área plantada de 15.000 ha e uma produção de 145.000 toneladas (ALVARENGA e RESENDE, 2002). Na América do Sul o Brasil é o maior produtor sendo o Estado do Rio Grande do Norte líder em área e produção, seguindo-se os Estados do Ceará, Bahia, Rio Grande do Sul e Pernambuco. Ainda, em relação ao Estado do Rio Grande do Norte, a cultura do melão é atualmente, uma das mais importantes fontes de renda da região, pois os bons sistemas de irrigação e a intensidade luminosa adequada permitem um alto índice de produtividade e o cultivo de, pelo menos, 14 diferentes variedades da espécie. O município de Baraúna, possui área plantada de 2076 ha, sendo assim, o principal município produtor do Brasil. (ALVARENGA e RESENDE, 2002). O crescimento nas exportações dessa olerícola representou, para o Brasil em 2002, 15,8% das exportações de frutas frescas (BRASIL, 2003).

As doenças de etiologias diversas que ocorrem em melão reduzem a produção ou causam perdas durante a comercialização. Leva-se em conta que, por ser uma cultura de ciclo curto, o melão, está sujeito a sofrer efeitos irreversíveis provocados por doenças, uma vez que pode não haver tempo suficiente para a recuperação da planta (COSTA et al., 2001).

A mancha-aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, também conhecida por mancha-bacteriana-do-fruto foi identificada pela primeira vez, no Brasil, em 1997 (ASSIS et al., 1999), no Estado do Rio Grande do Norte, e hoje

se constitui em séria ameaça à cultura, por seu potencial de causar perdas totais (SALES JÚNIOR e MENEZES, 2001). Considerando que o relato de ocorrência dessa bacteriose no Brasil é recente, torna-se necessário desenvolver estudos sobre a mesma, para subsidiar medidas para o controle e para evitar a sua dispersão a outras áreas produtoras. Alguns estudos necessários englobam, caracterização de isolados e o conhecimento da interação patógeno-hospedeiro-ambiente.

A bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* é um patógeno de ocorrência limitada a cucurbitáceas (LATIN e HOPKINS, 1995), relatado primeiramente infectando plantas cultivadas: melancia (*Citrullus lanatus* L.) (LATIN e RANE, 1990), melão (*Cucumis melo* L.) (ISAKEIT et al., 1997), pepino (*Cucumis sativus* L.) (MARTIN e O'BRIEN, 1999), abóbora (*Curcubita pepo* L.) (LANGSTON JUNIOR et al., 1999). Infecta também espécies ditas espontâneas e usadas para fins forrageiros [*Citrullus lanatus* var. *citroides* (Bailey) Mansf.] (ISAKEIT, 1998). Trata-se de um patógeno transmitido por sementes e é possível que a infestação de campos produtores de melão e melancia tenha se dado com o uso de sementes infectadas.

Acidovorax avenae subsp. *citrulli* é uma bactéria Gram-negativa, aeróbica, não fluorescente, que forma colônias mucóides de coloração creme em meio de cultura 523 e colônias lisas e esbranquiçadas em meio King-B. Segundo Gitaitis (1993), em meio semi-seletivo WFB 44 (o qual contém carboximetil celulose), a bactéria produz depressões e no meio WFB 68, reduz Tween 80, produzindo um precipitado visível.

Uma vez estabelecida a fitopatogenicidade de um organismo, torna-se necessária a avaliação de alguns parâmetros relacionados a características fenotípicas, bioquímicas e nutricionais que o classificarão dentro de um gênero e, a partir de então, dentro de uma devida espécie. A identificação de bactérias fitopatogênicas, isoladas de hospedeiros com sintomas, é feita com base em características tintoriais, culturais, bioquímicas e nutricionais entre outras. Alguns testes como a reação de hipersensibilidade e o teste de podridão mole em batata podem ser usados na diagnose precoce de fitobacterioses (MARIANO, 2000).

Os objetivos deste estudo foram: formar uma coleção de isolados de *Acidovorax. avenae* subsp. *citrulli* e caracterizá-los de acordo com a metabolização de nutrientes, composição de parede celular e diferentes testes de patogenicidade; avaliar o método sorológico de identificação e estabelecer um método rápido e eficiente na avaliação da patogenicidade de isolados.

2- MATERIAL E MÉTODOS

Isolados bacterianos

A coleção de isolados foi formada pela solicitação a laboratórios/pesquisadores com publicações sobre a bacteriose, além dos isolamentos do próprio laboratório. A preservação destes foi feita por: dessecação em papel de filtro (TAKATSU, 1980), suspensão em água (KLEMENT et al., 1990), em meio de cultura YDC (Yeast Dextrose Carbonate) coberto com óleo mineral (TUIITE, 1969) e glicerol (MILLER, 1972). Para os três primeiros métodos fez-se o uso de culturas com 48 horas, em meio de cultura 523 sólido. Para a preservação em glicerol utilizou-se isolados crescidos por 24 horas, em meio de cultura 523 líquido, sob agitação.

Identificação bioquímica, patogênica e sorológica

Colônias apresentando morfologia compatível com *A. avenae* subsp. *citrulli* foram submetidas à identificação de acordo com a metabolização de nutrientes, composição de parede celular e diferentes testes de patogenicidade. Os protocolos para os teste bioquímicos foram realizados de acordo com Schaad et al. (2001). Os testes realizados foram: hipersensibilidade em folhas de fumo, reação de Gram pelo método de KOH, metabolismo de glucose (O/F), catalase, produção de Levan, oxidase, arginina dehidrolase, crescimento a 40 °C, produção de pigmento fluorescente no meio B de King, teste de podridão mole em batata, utilização de carboidratos e compostos relacionados (manitol, β -alanina, etanol, D-manose, sacarose e glicose), redução de nitrato, urease, hidrólise de gelatina, motilidade, característica de colônias em YDC e patogenicidade em plântulas de melão.

Para caracterização sorológica empregou-se a técnica DAS-ELISA, como o uso do “AGDIA-PathoScreen Kit” e o teste foi executado de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante.

Para ambos ensaios acima citados utilizou-se um isolado de *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* (Emb.A265), para comparação de resultados.

Testes de patogenicidade

Procurou-se estabelecer um método rápido e eficiente na avaliação da patogenicidade dos isolados, reproduzindo o quadro sintomatológico no hospedeiro susceptível permitindo ganho de tempo na etapa de execução dos postulados de Koch. Para a execução do experimento utilizou-se plantas de melão do cv. Amarelo, com um mês de idade e seis isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli* (Emb.A11-19; Emb.A11-21; Emb.A11-22; Emb.A11-23; Emb.C586; Emb.C587) em concentração de 10^8 ufc/mL. Foram avaliados três métodos de inoculação: corte do ápice da folha e imersão na suspensão bacteriana; molhamento da superfície abaxial da folha pela fricção com gaze embebida em suspensão e inoculação por ferimento em pecíolos destacados, com a deposição de 10 μ L da suspensão bacteriana e incubação em placas de Petri com fina camada de agar-água (ROMEIRO, 2001). Após as inoculações as plantas foram mantidas em câmara úmida por 72 h em casa de vegetação telada e as placas em estufa a 28 °C. As leituras, para os três tratamentos foram feitas a cada 24 horas. A avaliação dos métodos de inoculação foi feita em função da velocidade de surgimento dos sintomas característicos.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Formou-se uma coleção de 12 isolados de diferentes origens e hospedeiros (Tabela 1). Os isolados mantiveram suas características patogênicas nas quatro formas de preservação utilizadas, sendo a preservação em água a mais facilmente manipulada e a mais utilizada quando foi necessário recuperar os isolados. O método de preservação por dessecação em tirinhas de papel de filtro é relatado como sendo o mais eficiente e pode garantir a viabilidade do patógeno preservada por até 10 anos (ROMEIRO, 2001).

Os isolados bacterianos analisados apresentaram os resultados característicos da subespécie (SCHAAD et al., 2001) para os testes realizados excetuando-se o teste de redução de nitrato e utilização de glicose (Tabela 2). Relata-se que *A. avenae* subsp. *citrulli* apresenta redução de nitrato e utilização de glicose negativos (SCHAAD et al., 1978 ; SCHAAD et al., 2001), mas os isolados testados apresentaram redução de nitrato utilização de glicose positivos. Ainda, o isolado Emb.D348 apresentou resultado positivo ao teste de utilização de etanol, diferente do referido em Schaad et al. (1978). O teste de nitrato foi repetido três vezes, sendo que na última vez, todos os reagentes foram substituídos por preparações recentes. O resultado se manteve para todos os isolados. Observou-se que os isolados de melão produziram coloração mais intensa (vermelho-escuro) na leitura do teste.

Confirmou-se a identificação dos isolados utilizados pelo teste DAS-ELISA, com o aparecimento da característica coloração amarelada como resultado positivo, idêntico ao controle positivo liofilizado, fornecido no kit, e diferindo da testemunha, que permaneceu transparente (Figura 1).

Os resultados indicam que o método da inoculação por ferimento em pecíolos destacados e o de fricção com gaze são os mais eficientes, pois, os primeiros sintomas se evidenciaram 24 e 48 horas após a inoculação, respectivamente. Para o método de corte do ápice da folha, apenas 4,1% das plantas apresentaram sintomas característicos.

Nos pecíolos os sintomas são caracterizados por lesões de aspecto encharcado, com 2 cm de extensão em média, por vezes com exsudato bacteriano (Figura 2). Para o método da fricção com gaze, os sintomas visíveis após este período foram manchas angulares encharcadas de aspecto oleoso e coloração

verde-clara, como descrito por Viana et al. (2000), em 80% das plantas observadas, os quais evoluíram, no quinto dia após a inoculação, para manchas necrosadas com halo amarelo (Figura 3). Nas plantas submetidas ao método do corte do ápice das folhas observaram-se manchas oleosas encharcadas. Estas, ao final do 12º dia, apresentaram todo o bordo das folhas necrosado, com incidência de manchas necróticas com halo amarelo e coalescentes, na superfície foliar (Figura 4).

4- CONCLUSÕES

- 1) A coleção de 12 isolados de *A. avenae* subsp. *citrulli*, contém representantes dos dois hospedeiros principais, melancia e melão. Os métodos de preservação foram eficientes e garantem a disponibilidade dos isolados para trabalhos futuros;
- 2) Os isolados bacterianos utilizados no trabalho apresentaram os resultados característicos da subespécie para os testes realizados excetuando-se o teste de redução de nitrato, utilização de glicose e utilização de etanol para o isolado Emb.D348;
- 3) A utilização do teste ELISA como auxiliar no processo de identificação de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* forneceu um resultado preciso eliminando dúvidas causadas pelo resultado do teste de nitrato;
- 4) O teste de patogenicidade pela inoculação de pecíolos foliares destacados mostrou-se ser o mais eficiente, apresentando resultados em 24 horas.

5) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, M. A. R.; RESENDE, G. M. **Cultura do melão**. Lavras: Editora UFLA, 2002. 149 p. (Textos Acadêmicos, n. 20).

ASSIS, S. M. P.; MARIANO, R. L. R.; SILVA-HANLIN, D. M. W.; DUARTE, V. Mancha-aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, no Estado do Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 191, 1999.

BRASIL. Ministério da Integração Nacional. Secretaria de Infra-Estrutura Hídrica. Departamento de Desenvolvimento Hidroagrícola. **Melão**. Brasília, 2003. (FrutiSéries. Ceará, 2).

COSTA, N. D.; GRANJEIRO, L. C.; FARIA, C. M. B.; TAVARES, S. C. C. H.; ALENCAR, J. A.; ARAÚJO, J. L. P. **A cultura do melão**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2001. 114 p. (Coleção Plantar. Série Vermelha, 44).

GITAITIS, R. D. **Development of seedborn assay for watermelon fruit blotch**. In: COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION PLANT DISEASE, 1993, Ottawa, Canadá. Proceedings... [S.l.: s.n., 1993]. p. 9-18.

ISAKEIT, T. Natural infection of citronmelon with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Disease**, Saint Paul, US, v. 82, n. 3, p. 351, 1998.

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, US, v. 81, n. 6, p. 694, 1997.

KLEMENT, Z.; RUDOLPH, K.; SANDS, D. C. **Methods in phytobacteriology**. Budapest: Akademiai Kiadó, 1990. 568 p.

LANGSTON JUNIOR, D. B.; WALCOTT, R. R.; GITAITIS, R. D.; SANDERS JUNIOR, F. H. **First report of a fruit rot of pumpkin caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Georgia**. **Plant Disease**, Saint Paul, US, v. 83, p. 199, 1999.

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

LATIN, R. X.; RANE, K. K. **Bacterial fruit blotch of watermelon in Indiana**. **Plant Disease**, Saint Paul, US, v. 74, p. 331, 1990.

MARIANO, R. L. R. (Coord.). **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: UFRPE, 2000. 171 p.

MARTIN, H. L.; O'BRIEN, R. G. **First report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as a pathogen of cucumber**. **Plant Disease**, Saint Paul, US, v. 83, n. 10, p. 965, 1999.

MILLER, J. H. **Experiments in molecular genetics**. Cold Spring: Cold Spring Harbor Laboratory, 1972. 466 p.

ROMEIRO. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: UFV, 2001. 279 p.

SALES JÚNIOR, R.; MENEZES, J. B. **Mapeamento das doenças fúngicas, bacterianas e viróticas do cultivo do melão do Estado do RN**. Mossoró: Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 2001. Relatório Técnico.

SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. 3. ed. St. Paul: APS Press, 2001. 398 p.

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

TAKATSU, A. Preservação de bactérias fitopatogênicas pelo método de dessecação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, p. 461-462, 1980.

TUITE, J. **Plant pathological methods**. Minneapolis: Burgess Pub. Company, 1969. 239 p.

VIANA, F. M. P.; SANTOS, A. A.; CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. H.; LOPES, C. A. **Surto de mancha-aquosa em frutos de melão nos Estados do Ceará e do Rio Grande do Norte: Recomendações preliminares de controle**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 4 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, n. 50).

Tabela 1: Coleção de trabalho de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* da Unidade de Bacteriologia, Laboratório de Quarentena Vegetal.

| ISOLADO | HOSPEDEIRO | ORIGEM | ANO DE AQUISIÇÃO |
|----------------|-------------------|------------------------------|-------------------------|
| Emb.A11-19 | Melão | Fazenda São João, Baraúna-RN | 2000 |
| Emb.A11-21 | Melão | Fazenda São João, Baraúna-RN | 2000 |
| Emb.A11-22 | Melão | Fazenda São João, Baraúna-RN | 2000 |
| Emb.A11-23 | Melão | Fazenda São João, Baraúna-RN | 2000 |
| Emb.C586 | Melão | UFRPE Aac 1.12 | 2002 |
| Emb.C587 | Melão | UFRPE Aac 1.31 | 2002 |
| Emb.D348 | Melão | Aac-CNPH Maísa 2 | 2003 |
| Emb.D349 | Melão | Aac-CNPH 1213 | 2003 |
| Emb.E114 | Melancia | Ac8-Viçosa | 2004 |
| Emb.E115 | Melancia | Ac9-Viçosa | 2004 |
| Emb.E116 | Melancia | Ac12-Viçosa | 2004 |
| Emb.E117 | Melancia | Ac14-Viçosa | 2004 |

Tabela 2: Caracteres culturais e bioquímicos para identificação de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*.

| Isolados | RH** | Levan | Oxidase | Batata | Arginina | O/F | Gram | Urease | Cresc.40°C | Fluoresc. | Nitrato | Gelatina | Motilidade | Catalase | Manitol | β -alanina | Etanol | D-manose | Sacarose | Glicose | Melão**** |
|--|------|-------|---------|--------|----------|-----|------|--------|------------|-----------|---------|----------|------------|----------|---------|------------------|--------|----------|----------|---------|-----------|
| <i>A. avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> * | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | - | (+) | - | + | - | + | + | - | - | - | + |
| Emb.A11-19 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.A11-21 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.A11-22 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.A11-23 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.C586 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.C587 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.D348 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | - | - | - | + | + |
| Emb.D349 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.E114 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.E115 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.E116 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Emb.E117 | + | - | + | - | - | O | - | + | + | - | + | (+) | - | + | - | + | + | - | - | + | + |
| <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> Emb.A265*** | + | + | - | - | - | O | - | - | - | + | - | - | - | + | - | ND | ND | ND | - | ND | - |

*Perfil diferencial descrito na literatura (Schaad *et al.*, 1978, 2001).
** Reação de hipersensibilidade.
***Isolado de *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*, usado como referência.
****Patogenicidade em plantas de melão (*Cucumis melo* L.)
()Reação fraca ou sem resposta aos 7 dias e positiva após 21 dias.
ND – Não determinado.

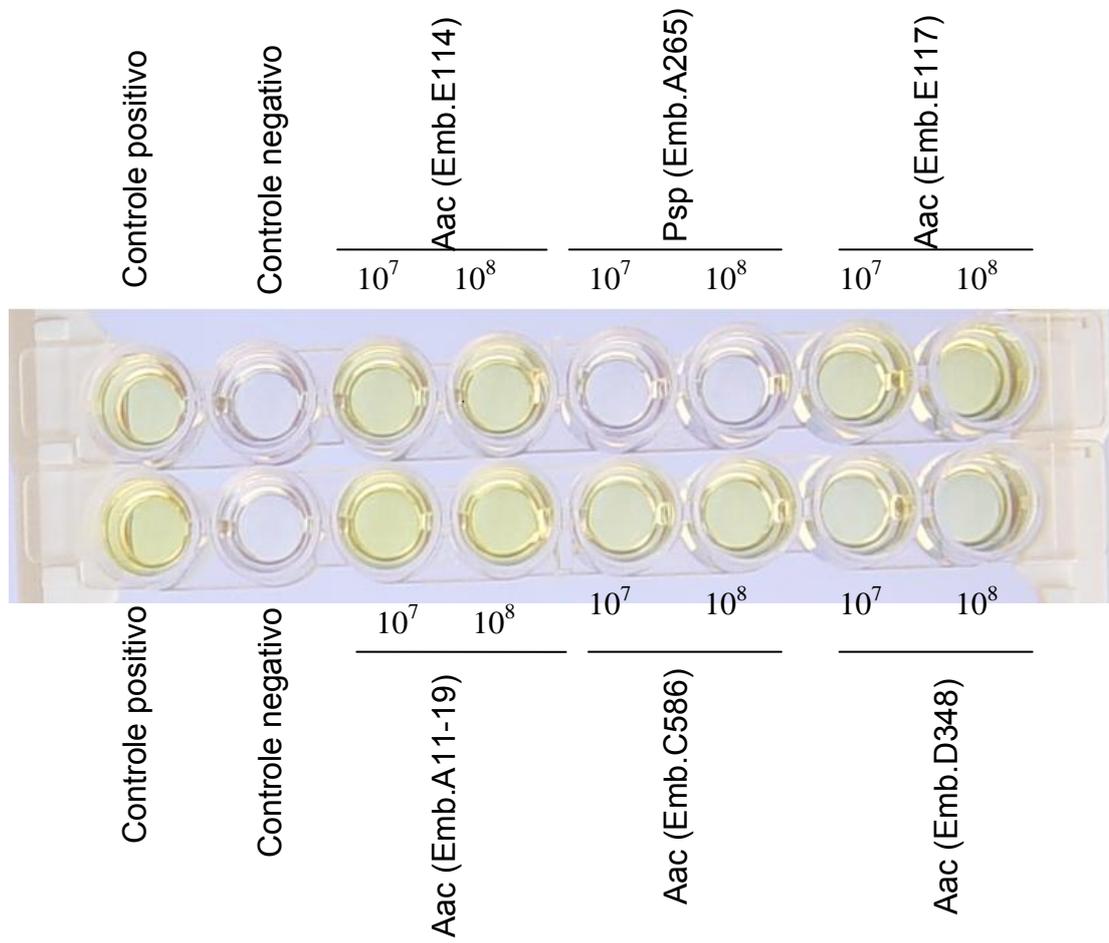


Figura 1: Teste DAS-ELISA usado na identificação de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*.



Figura 2: Sintoma em pecíolo destacado de melão 24 horas após inoculação com *A. avenae* subsp. *citrulli*. Lesão de aspecto encharcado com 2 cm de extensão em média, com exsudato bacteriano.



Figura 3: Em **A** manchas angulares encharcadas de aspecto oleoso e coloração verde-clara 48 horas após inoculação com *A. avenae* subsp. *citrulli*. Em **B** evolução do sintoma descrito acima, no quinto dia após a inoculação. Manchas necrosadas com halo amarelo.



Figura 4: Sintomas em plantas de melão submetidas ao método do corte do ápice da folha 12 dias após inoculação com *A. avenae* subsp. *citrulli*. Manchas necróticas com halo amarelo e coalescentes, na superfície foliar.