



AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MELÃO, VISANDO IDENTIFICAR FONTES DE RESISTÊNCIA A *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

Gláucia Salles Cortopassi Buso¹

Luciano Lourenço Nass¹

Abi Soares dos Anjos Marques¹

Carlos Alberto Lopes²

José Amauri Buso²

RESUMO

A produção de melão no Brasil, em 2002, foi de 283,3 mil toneladas em uma área de 14,1 mil hectares. Desse total foram exportadas 99 mil toneladas, correspondendo a cerca de 16% das exportações brasileiras de frutas frescas. A região Nordeste destaca-se como a principal produtora de melão, com concentração no Rio Grande do Norte, Ceará e Bahia, que responderam por 94% da produção nacional. É uma cultura que apresenta grande importância social, notadamente em regiões carentes de outras oportunidades econômicas. No Rio Grande do Norte estimou-se a criação de 18 mil empregos diretos e 13,5 mil indiretos no cultivo do melão. Apesar de sua excelente adaptação a essa região,

a cultura é afetada por numerosos problemas fitossanitários, entre as quais a mancha aquosa, causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Também conhecida por mancha bacteriana do fruto, a doença foi detectada pela primeira vez no Brasil em 1997, no Rio Grande do Norte, tornando-se uma séria ameaça ao cultivo de melão na Região Nordeste, causando perdas de até 100%, principalmente na cv. Valenciano Amarelo, a mais cultivada na região. Na Embrapa Hortaliças, existe uma coleção de germoplasma de melão com 531 acessos de diferentes origens, envolvendo cultivares, variedades de polinização aberta, híbridos, linhagens e espécies silvestres. Com o objetivo de identificar fontes de resistência a *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* foram iniciadas avaliações em condições de

¹ Eng^o. Agr^o., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng^o. Agr^o., Embrapa Hortaliças

telado. A primeira avaliação incluiu 76 acessos da coleção, sendo que os acessos mais promissores, com maior grau de resistência, foram selecionados para nova avaliação juntamente com outros materiais. Na segunda avaliação foram utilizados 43 acessos. Para tanto foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por vasos de três litros, com cinco plantas por vaso. A inoculação foi efetuada em plantas com quatro folhas definitivas pela pulverização da suspensão bacteriana contendo aproximadamente 108 ufc/ml do isolado "CNPH Maísa 2" da bactéria. As plantas inoculadas foram submetidas à câmara úmida, constituída por saco plástico transparente, por 48 h. O desenvolvimento de sintomas foi observado a partir do quinto dia após a pulverização. A avaliação da reação dos genótipos foi feita sete dias após a inoculação, em plantas individuais, utilizando-se escala de notas de 1 (ausência de sintomas) a 5 (queima total das folhas inoculadas). Foram observadas diferenças entre e dentro dos acessos, indicando alta variabilidade genética para resistência à mancha aquosa. Deve-se enfatizar que nenhum acesso foi classificado como totalmente resistente (média 1); entretanto, 23% dos acessos apresentaram média $\leq 2,5$. Tais acessos mostraram-se promissores e, oportunamente, serão multiplicados e submetidos a nova avaliação.

Termos para indexação:

Cucumis melo, mancha aquosa, germoplasma, resistência.

VALIATION OF MELON GENOTYPES, AIMING THE IDENTIFICATION OF RESISTENCE SOURCES TO *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

ABSTRACT

The melon production in Brasil, in 2002, was 283,3 mil tons in an area of 14,1 mil ha. From this total, 99 mil t was exported, corresponding to approximately 16% from Brazilian fresh fruits exportations. The Northeast region comes out as the main melon producer, with concentration in Rio Grande do Norte, Ceará and Bahia, which responded to 94% of the national production. It is a crop with great social importance, mainly in regions needed of other economic opportunities. In Rio Grande do Norte it was estimated the creation of 18 thousand direct jobs and 13,5 thousand indirect ones in melon cultivation. Besides its excellent adaptation to this region, this crop is affected by numerous phytosanitary problems, among them the bacterial fruit blotch, caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. The disease was detected for the first time in Brazil in Rio Grande do Norte state, turning into a serious problem for melon cultivation in the Northeast region, causing lost as high as 100%, mainly in the cv. Valenciano Amarelo, the most cultivated in the region. In Embrapa Hortaliças, there is a melon germplasm collection with 531 accessions of different origins, involving cultivars, open pollinated varieties, hybrids, lines and wild species. With the objective to identify resistance sources to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* it was initiated a screening in screen-house conditions. The first evaluation included 76 accessions, and the most interesting ones, with greater resistance degree, were selected for new evaluation together with other accessions. In the second evaluation it was used 43 accessions. In this experiment the design was random blocks with four repetitions. The blocks were composed of three pots (three liters), with five plants per pot. The inoculation was done in plants with four definitive leaves by the pulverization of bacteria suspension containing

approximately 108 cfu/ml of the bacteria isolate "CNPH Maísa 2". The inoculated plants were submitted to humid chamber, constituted of a transparent plastic bag, for 48 h. The development of symptoms was observed from the fifth day after pulverization. The genotypes evaluation was done seven days after the inoculation, in individual plants, using a grade scale of 1 (absence of symptoms) to 5 (total burning of inoculated leaves). Differences were observed between and within accessions, indicating high genetic variability for bacterial fruit blotch resistance. It should be emphasized that no accession was classified as totally resistant (average 1); however, 23% of accessions presented average $\leq 2,5$. These accessions were interesting and, soon, will be multiplied and submitted to new evaluation.

Index terms:

Cucumis melo, bacterial fruit blotch, germplasm, resistance.

1- INTRODUÇÃO

A produção mundial de melão, segundo dados da FAO, foi de 21,7 milhões de toneladas em 2002, sendo que a China, a Turquia, os Estados Unidos da América, o Irã e a Espanha responderam por mais de 60% da produção mundial. O melão é a oitava fruta produzida e está entre as dez principais frutas frescas mais exportadas, com mercado internacional estimado em mais de 1,6 milhões de toneladas por ano (FRUTISÉRIES..., [2003]).

Os principais países importadores são os Estados Unidos da América, Reino Unido, França, Canadá e Alemanha, os quais foram responsáveis por 68,3% das importações mundiais em 2002. As exportações passaram de 1,3 milhões de toneladas em 1997 para cerca de 1,6 milhões em 2002, representando um incremento de 23%.

Os principais países exportadores são Espanha, México, Estados Unidos da América, Costa Rica e França respondendo por 64% das exportações mundiais em 2002. O Brasil ocupa o sexto lugar respondendo por cerca de 7%.

A produção de melão no Brasil, em 2002, foi de 283,3 mil toneladas ocupando cerca de 14 mil hectares. Desse total foram exportadas 99 mil

toneladas, correspondendo a 16% das exportações brasileiras de frutas frescas.

A região Nordeste destaca-se como a principal produtora de melão, com concentração da produção nos Estados do Rio Grande do Norte, Ceará e Bahia, que responderam por 94% da produção nacional. A cultura de melão apresenta grande importância social, notadamente em regiões carentes de outras oportunidades econômicas. No Rio Grande do Norte estimou-se a criação de 18 mil empregos diretos e 13,5 mil indiretos relacionados ao cultivo do melão (FRUTISÉRIES..., [2003]).

Apesar de todos os cuidados inerentes à produção que é destinada à exportação, como por exemplo, a certificação da área produtora como “Área Livre” da mosca das frutas, numerosos problemas fitossanitários afetam a cultura do melão. A mancha aquosa, causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, é um sério problema para a cultura (SCHAAD et al., 2003). Esta doença foi detectada pela primeira vez no Brasil em 1997, no Rio Grande do Norte, tornando-se uma séria ameaça ao cultivo de melão na Região Nordeste (ASSIS et al., 1999), causando perdas de até 100%, principalmente no tipo Valenciano

Amarelo, o mais cultivado na região (SOUZA e SALES JÚNIOR, 2001).

Considerando que não há controle químico efetivo contra a bacteriose, preconiza-se o uso de medidas preventivas, como o uso de sementes saudas e de variedades resistentes. O objetivo deste trabalho foi identificar, na coleção de genótipos de melão da Embrapa Hortaliças, materiais portadores de resistência a *A. avenae* subsp. *citrulli*.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

No Banco Ativo de Germoplasma de Melão da Embrapa Hortaliças, existe uma coleção de germoplasma de melão com 531 acessos de diferentes origens, envolvendo cultivares, variedades de polinização livre, híbridos, linhagens e espécies silvestres. Com o objetivo de identificar fontes de resistência a *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* foram iniciadas avaliações em condições de telado.

A primeira avaliação incluiu 76 acessos, realizada na Embrapa Hortaliças, sendo que os acessos mais promissores, aqueles com maior grau de resistência, foram selecionados para uma nova avaliação juntamente com outros materiais. Na segunda avaliação foram utilizados 42 acessos (Tabela 1).

Para tanto foi realizado um experimento de avaliação da resistência utilizando o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por vasos de três litros, com cinco plantas por vaso.

A inoculação foi efetuada em plantas com três a quatro folhas definitivas, pela pulverização da suspensão bacteriana na face abaxial das folhas, com o auxílio de borrifador manual, até molhamento completo (HOPKINS e THOMPSON, 2002). O inóculo foi preparado a partir de culturas bacterianas em meio sólido, com 48 h, tendo sua concentração ajustada por medida da transmitância (56,5% a 590 nm) para aproximadamente 10^8 ufc/ml do isolado "CNPH Maísa 2" da bactéria. Esse isolado foi selecionado pela agressividade apresentada em ensaios anteriores. As plantas inoculadas foram submetidas à câmara úmida, constituída por saco plástico transparente, por 48 h, tendo-se observado a formação de filme d'água na superfície das folhas e a presença de manchas encharcadas quando da retirada da cobertura. O desenvolvimento de sintomas foi observado a partir do quinto dia após a pulverização, quando se apresentavam como manchas necróticas circundadas por halo amarelo claro, evoluindo para comprometimento das nervuras e

deformação foliar (SILVEIRA et al., 2003). A avaliação da reação dos genótipos foi realizada sete dias após a inoculação, em plantas individuais, em função da extensão dos sintomas, utilizando-se uma escala de notas (1 a 5), onde "1" se caracterizou pela ausência de sintomas e "5" pela queima total das folhas inoculadas, com os respectivos valores intermediários (Figura 1).

Após essa primeira etapa de avaliação, observou-se que os ensaios posteriores poderiam ser mais facilmente conduzidos se fosse possível inocular plantas mais jovens. Um ensaio foi instalado tendo como objetivo avaliar o desenvolvimento da infecção causada por *A. avenae* subsp. *citrulli* em função da idade da folha inoculada, visando utilizar plântulas precocemente.

Utilizou-se a cultivar Valenciano Verde Redondo e três idades de folha: a mais nova da haste (com no mínimo três centímetros de comprimento), a terceira e a quinta folhas descendentes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Para a inoculação, utilizou-se o método de ferimento seguido da deposição de 10 µl de suspensão bacteriana sobre o ferimento. Foi utilizado o mesmo isolado, na concentração 10^7 ufc/ml e água estéril

para a testemunha. Após a inoculação, as folhas foram submetidas à câmara úmida, feita com saco plástico transparente, por 48 horas.

A avaliação foi feita em função do incremento populacional nos períodos mencionados, pela contagem da população bacteriana, comparando-o com a população inicial enumerada uma hora após inoculação.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças significativas entre e dentro de acessos, indicando alta variabilidade genética para resistência à mancha aquosa (Tabela 2). Vale ressaltar a expressiva proporção observada da variância dentro (plantas por parcela), a qual representou 45,5% da variância genética total, como foi detectado por Hopkins e Thompson (2002). Este fato evidencia a existência de segregação genética entre plantas dentro dos acessos. Desta forma é possível selecionar plantas individuais com maior resistência à mancha-aquosa.

A distribuição das médias para os 42 acessos avaliados é apresentada na Figura 2. Os intervalos de confiança (IC) foram obtidos utilizando-se o ajustamento pelo critério de Tukey.

Os acessos mais promissores para utilização como genitores em um programa de pré-melhoramento visando à resistência a *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* foram: 4 (CNPH 83-068, Sib do Valência), 7 (CNPH 83-101, Golden Charm), 29 (CNPH 00-881, AF 646), 33 (00-852, Summet F1) e 39 (CNPH 01-925, Seminole).

Deve-se enfatizar que nenhum acesso foi classificado como totalmente resistente (média 1); entretanto, 23% dos acessos apresentaram média 2,5. Tais acessos mostraram-se promissores e, oportunamente, serão multiplicados e submetidos a nova avaliação.

No ensaio 'desenvolvimento da infecção', os resultados mostraram que houve evolução populacional diferenciada para as três idades de folhas. Para uma população inicial média de 10^6 ufc/g de tecido, aos três dias estava em torno de $1,6 \times 10^7$ ufc/g de tecido na folha mais nova, 1×10^7 ufc/g na intermediária e $5,7 \times 10^6$ ufc/g na mais velha. Aos sete dias observou-se decréscimo na população das folhas mais velhas (4×10^6 ufc/g), a qual se manteve estável na folha de idade intermediária (1×10^7 ufc/g) e foi maior ($3,5 \times 10^7$) nas folhas mais novas (Figura 3). Observou-se, particularmente nas folhas mais novas, a presença de

encharcamento ao redor dos pontos de inoculação.

4- CONCLUSÕES

1. Foram observadas diferenças significativas entre e dentro de acessos, indicando alta variabilidade genética para resistência à mancha aquosa;
2. Nenhum dos acessos analisados foi classificado como totalmente resistente (média 1), entretanto, 23% dos acessos apresentaram média 2,5, ressaltando-se a expressiva proporção observada da variância dentro (plantas por parcela);
3. A reação diferenciada entre tecidos foliares de diferentes idades fisiológicas, com maior incremento da população nos mais novos, permite a utilização de plantas jovens para a seleção de genótipos resistentes à doença, o que determina um ganho de tempo nas avaliações de grupos de genótipos em programas de melhoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

FRUTISÉRIES: melão Ceará 2. Brasília: Ministério da Integração Nacional, Secretaria de Infra-estrutura Hídrica, [2003]. 12 p. Disponível em: <http://www.seagri.ce.gov.br/siga/frutiser ies_2_CE_Melao.pdf>. Acesso em: jul. 2004.

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

SCHAAD, N. W.; POSTNIKOVA, E.; RANDHAWA, P. **Emergence of *Acidovorax avenae* subsp. *ctrulli* as a crop-threatening pathogen of watermelon and melon.** In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON *PSEUDOMONAS SYRINGE*

PATHOVARS AND RELATED PATHOGENS, 6., 2002, Maratea, Italy. [Proceedings...]. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 573-581.

SILVEIRA, E. B.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Severidade da mancha-aquosa em meloeiro sob diferentes condições de molhamento foliar e concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *ctrulli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, n. 2, p. 171-175. 2003.

SOUZA, L. R.; SALES JÚNIOR, R. **Cadeia produtiva do melão no RN: aspectos fitossanitários.** Brasília: MAPA, 2001. 27 p.

Tabela 1. Acessos avaliados para resistência a *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*.

No.	CNPH	Nome comum	Tipo	Origem
1	82-015	Amarelo	Valenciano	Agroceres (Pai recorrente do Eldorado)
2	82-038	Valência	Valenciano	Dessert Seed
3	83-040	Napoletano	Valenciano	FAO
4	83-068	Sib do Valência	Valenciano	Dessert Seed
5	83-077	USDA 164320	*Outros	Índia
6	83-099	cv. 229 Gold Beauty		USDA (acrescentei)
7	83-101	Golden Charm	*Outros	USDA
8	83-102	Farmies Yellow	Cantaloupe	USDA
9	84-172	BRA 000621	Valenciano	Valência-Espanha
10	84-201	B633.3	Cantaloupe	INRA-França
11	86-277	Santarém		Belém
12	87-306	Amarelo	Valenciano	Comercial
13	87-338	Eldorado	Valenciano	CNPH
14	88-374	Valenciano verde redondo	Valenciano	Supermercado-DF
15	88-375	Valenciano verde elíptico	Valenciano	Supermercado-DF
16	88-410	Valência	Valenciano	Autofecundação 82-038
17	88-428	Elizabeth PMR F1	*Outros	Japão Mikado Co.
18	89-537	Panaú Amarelo	Valenciano	Ceará Mirim-RN
19	98-848	Amarelo Polpa Branca	Valenciano	University of Wisconsin
20	AF-682	Híbrido	Valenciano	Agroflora (semente com. c/ Luis Povia)
21	AF-646	Híbrido	Valenciano	Agroflora (semente com. c/ Luis Povia)
22	Rochedo	Híbrido	Valenciano	Asgrow (semente com. c/ Luis Povia)
23	Gold Mine	Híbrido	Valenciano	Petoseed (semente com. c/ Luis Povia)
24	00-884	Hy-Mark Híbrido	Cantaloupe	Petoseed
25	00-885	Mission Híbrido	Galia	Asgrow
26	00-886	Yellow King Híbrido	Valenciano	Asgrow
27	00-887	Yellow Queen Híbrido	Valenciano	Asgrow
28	00-880	AF 682	Valenciano	Agroflora
29	00-881	AF 646	Valenciano	Agroflora
30	00-882	Rochedo	Valenciano	Asgrow
31	00-883	Gold Mine	Valenciano	Petoseed
32	00-888	Gold Pride	Valenciano	Asgrow
33	00-852	Summet F1		
34	00-895	Billeberga		Suécia
35	00-896	Aroma F1		Suécia
36	00-908	Kiskoros		Hungria
37	00-919	Taktaharkany		Hungria
38	01-923	Green Icemuskmelon		USA
39	01-925	Seminole		USA
40	01-945	M53A2		Espanha
41	01-947	M63A17		Espanha (acrescentei)
42	01-956	193248		Piratini-RS
43	01-962	PI 420150	Amarelo	China

Tabela 2. Resumo da análise de variância, seus respectivos componentes e erros-padrão associados.

Fontes de Variação	Componentes de variância (\pm erro-padrão)	Variância Total (%)
Blocos	0,01869 (\pm 0,017)	2,6
Acessos	0,19697 (\pm 0,057)	27,4
Erro	0,17677 (\pm 0,032)	24,5
Planta (parcela)	0,32760 (\pm 0,019)	45,5

⁷¹ estimativas obtidas com o método de máxima verossimilhança

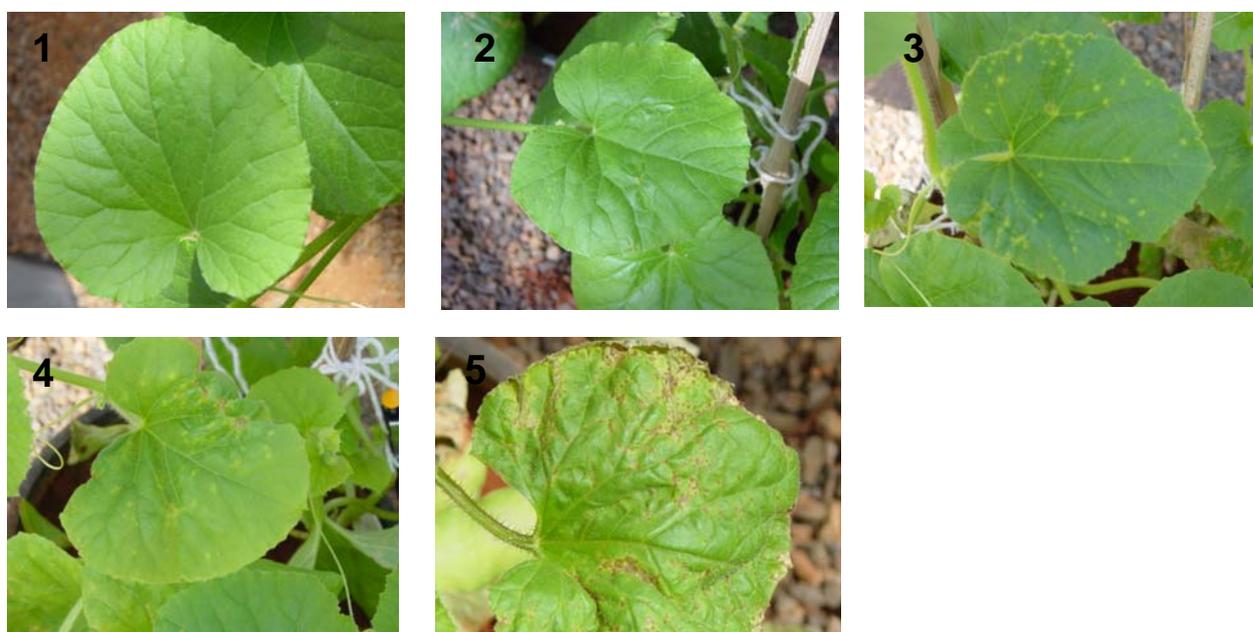


Figura 1. Avaliação da reação dos genótipos sete dias após a inoculação, em plantas individuais, em função da extensão dos sintomas, utilizando-se uma escala de notas (1 a 5), onde "1" se caracterizou pela ausência de sintomas e "5" pela queima total das folhas inoculadas, com os respectivos valores intermediários.

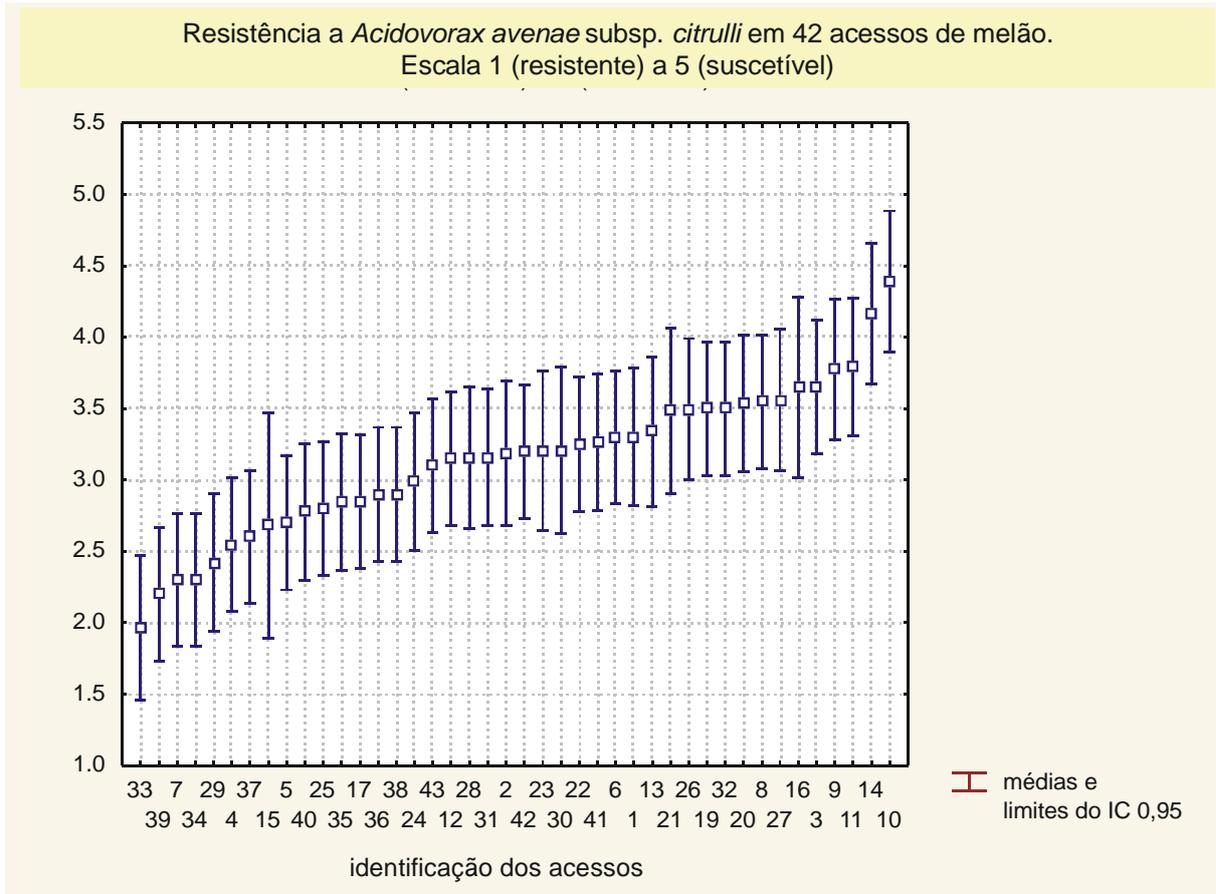


Figura 2. Distribuição das médias de 42 acessos de melão para resistência a *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*.

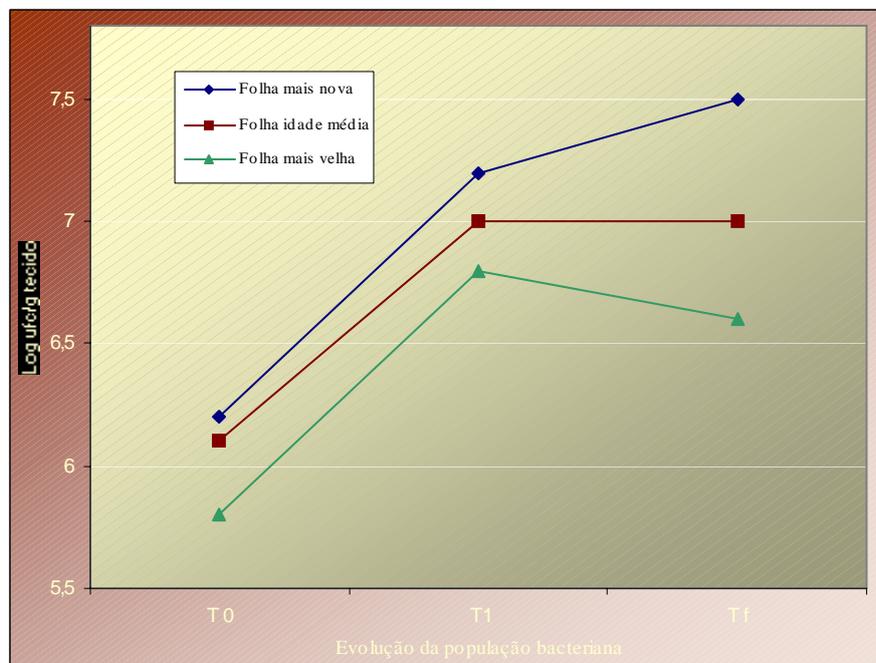


Figura 3 – Evolução da população bacteriana (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) em folhas de melão (*Cucumis melo* L.), de três idades diferentes, genótipo Valenciano Verde Redondo.

<p>Comunicado Técnico, 116</p> <p>Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento</p>	<p>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</p> <p>1ª edição 1ª impressão (2004):</p>	<p>Comitê de Publicações</p> <p>Expediente</p>	<p>Presidente: <i>Maria Isabel de Oliveira Penteado</i></p> <p>Secretário-Executivo: <i>Maria da Graça Simões Pires Negrão</i></p> <p>Membros: Arthur da Silva Mariante Maria Alice Bianchi Maria da Graça S. P. Negrão Maria de Fátima Batista Maria Isabel de O. Penteado Maurício Machain Franco Regina Maria Dechechi Carneiro Sueli Correa Marques de Mello Vera Tavares de Campos Carneiro</p> <p>Supervisor editorial: <i>Maria da Graça S. P. Negrão</i></p> <p>Normalização Bibliográfica: <i>Maria Alice Bianchi e Maria Iara Pereira Machado</i></p> <p>Editores eletrônicos: <i>Maria da Graça Simões Pires Negrão</i></p>
---	---	--	---