

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**EFEITOS DE PRODUTOS QUÍMICOS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE
*Paracidovorax citrulli***

MARIA CLARA LOPES LEITE

**Recife
2023**

MARIA CLARA LOPES LEITE

EFEITOS DE PRODUTOS QUÍMICOS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE
Paracidovorax citrulli

Monografia apresentada ao Curso de
Licenciatura Plena em Ciências
Biológicas/UFRPE como requisito parcial
para obtenção do grau de Licenciado em
Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Elineide Barbosa de Souza

Coorientador: MSc. David Duarte Ferreira

Recife
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L533e

Leite, Maria Clara Lopes

EFEITOS DE PRODUTOS QUÍMICOS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Paracidovorax citrulli* / Maria Clara Lopes Leite. - 2023.
35 f. : il.

Orientadora: Elineide Barbosa de Souza.
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura em Ciências Biológicas, Recife, 2023.

1. Melão. 2. Mancha aquosa. 3. Controle químico. 4. Hormese. I. Souza, Elineide Barbosa de, orient. II. Título

CDD 574

MARIA CLARA LOPES LEITE

EFEITOS DE PRODUTOS QUÍMICOS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE
Paracidovorax citrulli

Comissão Avaliadora:

Elineide Barbosa de Souza

Profº Drº – UFRPE Orientador

Grecy Mirian Rodrigues Albuquerque

Drª – CETENE Titular

Lucas Pontes Lucena

MSc – UFRPE Titular

Igor Alexsander de Melo Pimentel

MSc – UFRPE Suplente

Recife
2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Mônica Lopes e Júnior Leite, que sempre me incentivaram nos estudos e me apoiaram na vida, me ensinando qual caminho percorrer. As minhas irmãs Ully Beatriz e Monique Juna por todo o apoio, pela paciência e sermões infinitos durante toda a minha vida, oferecendo a mão quando precisei e estando ao meu lado nos momentos difíceis.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e todos os docentes que cruzaram meu caminho e que foram essenciais na minha formação, me proporcionando não somente o conhecimento racional, como também a manifestação do caráter e a afetividade da educação no processo de formação.

A minha professora orientadora, Elineide Barbosa de Souza, tenho certeza que fiz a escolha certa ao pedir sua orientação nesta fase final da graduação. O seu apoio, paciência, carinho e ensinamentos foram fundamentais para conclusão deste trabalho. Agradeço também ao meu coorientador David Duarte e ao professor Marco Aurélio Siqueira da Gama por ter me ajudado na concretização deste trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório de Fitobacteriologia, Lucas Lucena, Maria Clara Santos, Rodrigo Pimentel, Stefany Mendes, pelo acolhimento, ensinamentos, cafés e todas as risadas proporcionadas, em especial a Igor Alexsander pelo suporte, a David Duarte, Fernanda Larisse e Keyla Waleska por terem sido minhas almas gêmeas, pelas músicas cantadas, conversas compartilhadas, madrugadas de experimento e por me ensinarem tanto academicamente quanto como pessoa. Vocês são incríveis.

Aos meus amigos Jefferson Souza, Lucas Besse, Maria Clara da Nóbrega, Paloma Roberta e a todos os outros amigos do Departamento de Biologia, de Agronomia e de Educação Física, em especial a Marcelle França por todo o apoio nesses anos, por segurar minha mão, por ser minha parceira de vida e minha força.

As minhas amigas Danyelle Valença, Isabela Paixão, Lays Leal, Letícia Melo e Thallyta Espíndola por serem luz nessa minha jornada em todos os anos, por me ajudarem quando as coisas ficaram difíceis, por serem responsáveis pelos meus sorrisos e apoio quando chorei. Eu amo vocês.

Aos meus amigos, Carlos Daniel, Isabelly Costa, Clara e Ricson Rony, por serem incríveis e me proporcionarem tantas risadas e suporte todos esses anos.

Dedico a todas aquelas que sonharam antes de mim, que imaginaram uma educação e até onde uma mulher conseguiria chegar, para todas que foram apagadas pela história e não conseguiram ver o que alcançamos. Nós existimos e resistimos todos os dias.

“A liberdade e a prisão, ter um barco que percorra distâncias incríveis, saber remendar um sapato, encontrar um amor, amor de verdade. Ser vento, fogo ou carvão, tudo, tudo, tudo, menos esta ratoeira” - Pagu.

SUMÁRIO

1	1- Introdução	11
2	2- Fundamentação Teórica	12
3	2.1 - A cultura do meloeiro	12
4	2.2- Importância econômica do meloeiro.....	13
5	2.3- A mancha aquosa	15
6	2.4- <i>Paracidovorax citrulli</i>	15
7	2.5- Manejo da mancha aquosa	16
8	2- Metodologia	23
9	2.1- Isolados de <i>Paracidovorax citrulli</i>	23
10	2.2 - Patogenicidade dos isolados de <i>Paracidovorax citrulli</i>	24
11	2.3- Produtos químicos	24
12	3. Avaliação <i>in vitro</i> do efeito dos produtos fitossanitários sobre o crescimento dos isolados de <i>P.</i>	
13	<i>citrulli</i>	25
14	5. Resultados	26
15	5.1- Patogenicidade dos isolados de <i>P. citrulli</i>	26
16	Figura 1- Teste de patogenicidade de <i>Paracidovorax citrulli</i> em frutos de melão: isolado	
17	CCRMAc1.43 (A) e isolado CCRMAcM.1 (B).....	26
18	5.2- Avaliação <i>in vitro</i> dos produtos fitossanitários sobre o crescimento dos isolados de <i>P.</i>	
19	<i>citrulli</i>	26
20	6- Discussão	31
21	AGRADECIMENTOS	33
22	REFERÊNCIAS	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ranking mundial dos maiores produtores de melão em toneladas na safra de 2021	14
Tabela 2. Procedência dos isolados de <i>Paracidovorax citrulli</i> utilizados na pesquisa	24
Tabela 3. Produtos químicos ¹ selecionados para avaliação <i>in vitro</i> e concentrações ² utilizadas	25

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Teste de patogenicidade de <i>Paracidovorax citrulli</i> em frutos de melão evidenciando a presença de sintomas característicos da mancha aquosa: isolado CCRMAc 1.43 (A) e isolado CCRMAc M.1 (B)	26
Figura 2. Efeito <i>in vitro</i> de diferentes concentrações de Fegatex® no crescimento de <i>Paracidovorax citrulli</i> , isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1. C1 = 3.000ppm, C2 = 11.000ppm, C3 = 20.000ppm	27
Figura 3. Efeito <i>in vitro</i> de diferentes concentrações de Kasumin® no crescimento de <i>Paracidovorax citrulli</i> , isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1. C1 = 5.000ppm, C2 = 20.000ppm, C3 = 35.000ppm	28
Figura 4. Efeito <i>in vitro</i> de diferentes concentrações de Kocide® no crescimento de <i>Paracidovorax citrulli</i> , isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1. C1 = 0,3g, C2 = 1,35g, C3 = 2,4g	28
Figura 5. Efeito <i>in vitro</i> de diferentes concentrações de Quimifol Titanium S® no crescimento de <i>Paracidovorax citrulli</i> , isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1. C1 = 0,09ml, C2 = 0,8ml, C3 = 1,5ml	29
Figura 6. Efeitos de produtos químicos no crescimento de <i>Paracidovorax citrulli</i> . Controle: negativo a esquerda e positivo a direita (A); tratamento com Fegatex® (B); tratamento com Kasumin® na concentração de 5.000ppm (C).	29
Figura 7. Melões inoculados artificialmente com <i>Paracidovorax citrulli</i> submetida a tratamento com diferentes concentrações de Kasumin®, isolado CCRMAc1.43 (A) e isolado CCRMAcM.1 (B).	30
Figura 8. Melões inoculados artificialmente com <i>Paracidovorax citrulli</i> submetida a tratamento com diferentes concentrações de Quimifol Titanium S®, isolado CCRMAc1.43 (A) e isolado CCRMAcM.1 (B)	31

RESUMO

O meloeiro (*Cucumis melo L.*), é uma cultura de grande importância econômica para o Brasil, em especial para o Nordeste, região responsável por mais de 90% da produção de melão. Nas últimas décadas a produção de melão cresceu exponencialmente devido às condições climáticas favoráveis com baixa umidade e poucas chuvas, produzindo assim, frutos de ótima qualidade para os consumidores. Entretanto, a cultura é suscetível a vários fitopatógenos que comprometem a sua produtividade, levando a uma queda da qualidade dos frutos. Dentre estes destaca-se a bactéria *Paracidovorax citrulli*, causadora da mancha aquosa, uma doença cujos sintomas podem ser observados em qualquer fase de desenvolvimento do meloeiro, levando à perda de diversos cultivos. Apesar de existirem recomendações de tratamento para o controle desta bacteriose eles não têm se mostrado eficazes, levando à necessidade da realização de novas pesquisas para encontrar soluções mais eficientes. Deste modo, o objetivo do estudo foi testar *in vitro* a atividade antibacteriana de quatro produtos fitossanitários, Kasumin[®], Fegatex[®], Kocide[®] e Quimifol Titanium S[®], que são utilizados no controle da mancha aquosa. No teste *in vitro*, em placas de microtitulação, foram utilizados dois isolados de *P. citrulli* (CCRMaC1.43 e CCRMaC M.1) e três concentrações dos produtos fitossanitários, com oito repetições, sendo avaliada após 48h a inibição do crescimento fazendo a leitura para análise de absorbância. Para confirmar o efeito inibitório, suspensões de cada tratamento foram semeadas em meio de cultura NYDA e inoculadas em frutos de melão. Todas as concentrações dos produtos inibiram o crescimento dos isolados CCRMaC1.43 e CCRMaC M.1 de *P. citrulli*. O Fegatex[®] e o Kocide[®] demonstraram efeito bactericida, havendo inibição do crescimento bacteriano a partir da primeira concentração, que foram de 3.000ppm e 0,3g, respectivamente, não sendo observado crescimento no meio de cultura e ausência de sintomas da mancha aquosa nos frutos. Já o produto Kasumin[®] demonstrou ação bacteriostática com crescimento bacteriano inibido a partir da segunda concentração (5.000ppm), porém com sintomas da doença em todas as concentrações, com a possível ocorrência da condição de células viáveis, mas não cultiváveis (VBNC) uma vez que não foi observado crescimento no meio de cultura. Quando tratados com Quimifol Titanium S[®], os isolados tiveram seu crescimento inibido a partir da segunda concentração (0,8mL/150mL) e a bactéria cresceu no meio de cultura apenas quando tratada com a primeira concentração do produto (0,09mL/150mL), induzindo sintomas no fruto também nessa concentração.

Palavras-chave: Melão; Mancha Aquosa; Controle Químico; Hormese.

ABSTRACT

The melon tree (*Cucumis melo L.*) is a crop of great economic importance for Brazil, especially for the Northeast, region responsible for more than 90% of melon production. In recent decades, melon production has grown exponentially due to favorable climatic conditions with low humidity and little rain, thus producing excellent quality fruits for consumers. However, the crop is susceptible to several phytopathogens that compromise its productivity, leading to a decline in fruit quality. Among these, the bacterium *Paracidovorax citrulli* stands out, which causes watery spot, a disease whose symptoms can be observed at any stage of development of the melon tree, leading to the loss of several crops. Although there are treatment recommendations to control this bacteriosis, they have not been shown to be effective, leading to the need to carry out new research to find more efficient solutions. Therefore, the objective of the study was to test in vitro the antibacterial activity of four phytosanitary products, Kasumin[®], Fegatex[®], Kocide[®] and Quimifol Titanium S[®], which are used to control water spot. In the in vitro test, in microtiter plates, two isolates of *P. citrulli* (CCRMaC1.43 and CCRMaCM.1) and three concentrations of phytosanitary products were used, with eight repetitions, with growth inhibition being evaluated after 48 hours by reading for absorbance analysis. To confirm the inhibitory effect, suspensions of each treatment were seeded in NYDA culture medium and inoculated into melon fruits. All product concentrations inhibited the growth of *P. citrulli* isolates CCRMaC1.43 and CCRMaCM.1. Fegatex[®] and Kocide[®] demonstrated a bactericidal effect, with inhibition of bacterial growth from the first concentration, which were 3,000ppm and 0.3g, respectively, with no growth observed in the culture medium and no water spot symptoms in the fruits. The Kasumin[®] product demonstrated bacteriostatic action with bacterial growth inhibited from the second concentration (5,000ppm), but with symptoms of the disease at all concentrations, with the possible occurrence of the condition of viable but non-culturable cells (VBNC) once that no growth was observed in the culture medium. When treated with Quimifol Titanium S[®], the isolates had their growth inhibited from the second concentration (0.8mL/150mL) and the bacteria grew in the culture medium only when treated with the first concentration of the product (0.09mL/150mL), inducing symptoms in the fruit also at this concentration.

Keywords: Melon; Water stain; Chemical Control; Hormesis.

23 1- Introdução

24 O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma olerícola muito popular no Brasil com
25 popularidade crescente a nível mundial, sendo um fruto consumido em larga escala na Europa,
26 Japão e Estados Unidos (GOMES, 2007). O melão tem grande importância para o comércio de
27 exportação do Brasil, pois a concentração da safra brasileira coincide com a entressafra da
28 Espanha, de setembro a abril, o que favorece a exportação do produto. Em 2020, o Brasil
29 exportou mais de 37% do total produzido (356.705 toneladas), movimentando quase 150
30 milhões de dólares (IBGE, 2022).

31 O Nordeste é a principal região produtora de melão do Brasil, com destaque para os
32 estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Bahia e Pernambuco, em especial os polos produtivos
33 Mossoró-Assú no Rio Grande do Norte e Vale do Jaguaribe no Ceará. A adaptação do fruto na
34 região deve-se às condições ecoclimáticas do semiárido, uma vez que favorece tanto o
35 desenvolvimento da planta quanto a qualidade dos frutos produzidos (Moura *et al.*, 2011).

36 A cultura do meloeiro enfrenta diversos problemas devido a patógenos, especialmente
37 na época chuvosa, levando a um declínio na qualidade do fruto e conseqüentemente na sua
38 produção, chegando a dizimar a cultura (Frare, 2010). Dentre os fitopatógenos que acometem
39 o meloeiro, destaca-se a bactéria *Paracidovorax citrulli* (Schaad *et al.*) Du *et al.* (Du *et al.*
40 2023), causadora da mancha aquosa, o qual estima-se que as perdas causadas pela doença no
41 Rio Grande do Norte sejam de até 100% nos períodos chuvosos devido a disseminação da
42 bacteriose, sendo considerada umas das principais doenças da cultura (Sales Júnior; Menezes,
43 2001).

44 *Paracidovorax citrulli* é uma bactéria Gram negativa, aeróbia, baciliforme e com
45 mobilidade devido a presença de um flagelo apolar (monotríquia) (Mariano; Silveira, 2004;
46 Schaad *et al.*, 2000). Schaad *et al.* (2000), ainda relatam que a coloração das colônias da bactéria
47 são não amareladas em YDC/NA (Yeast Dextrose Carbonate/Nutriente-Ágar) e não
48 fluorescentes em meio KB, e sendo capaz de crescer a 40°C.

49 Os sintomas da mancha aquosa podem se manifestar em qualquer fase de
50 desenvolvimento da planta. As lesões no fruto permanecem aquosas por longo período e
51 progridem para uma cor amarronzada variando em tons mais fracos e fortes, afetando
52 diretamente a sua comercialização (Oliveira *et al.*, 2006).

53 *Paracidovorax citrulli* tem como principal fonte de disseminação a semente infectada,
54 sendo o controle da qualidade das sementes uma alternativa econômica e segura para o controle
55 da enfermidade no campo (FRARE, 2010), porém esta medida não vem apresentando muitos

56 resultados positivos. A curtas distâncias também ocorre a contaminação por meio de plântulas
57 vizinhas com ação da água, seja por chuva ou irrigação, por insetos, trabalhadores do campo,
58 solos infestados e utensílios agrícolas (Santos; Viana, 2000).

59 No campo, a bactéria sobrevive em plantas voluntárias, frutos infectados e restos de
60 cultura (Hopkins *et al.*, 1996; Mariano; Silveira, 2004). Além do meloeiro, a bactéria infecta
61 também hospedeiros alternativos, como a abobrinha e abóbora (Mariano; Silveira, 2004), bucha
62 e melão-são-caetano (Santos; Viana, 2000), berinjela, maxixe, moranga, pepino, pimentão e
63 tomate (Frare, 2010; Nascimento *et al.*, 2002).

64 Para o controle da mancha aquosa é recomendado o uso de bactericidas cúpricos, com
65 aplicação semanal e com dose completa caso haja presença de plantas infectadas, em caso de
66 ausência de plantas infectadas a aplicação deve ser feita a cada duas semanas e com a dose
67 completa ou semanalmente com metade da dose recomendada (Isakeit, 1999). Walcott *et al.*
68 (2008) recomendam a aplicação de fungicidas cúpricos a cada quinze dias ou semanalmente
69 como forma de prevenção. De acordo com Araújo *et al.* (2004), o uso de sementes saudáveis
70 certificadas é a principal forma de controle para a mancha aquosa, entretanto mesmo com
71 diversos meios de tratamento para a erradicação da bacteriose, nenhuma das medidas citadas é
72 completamente eficaz para o combate em lotes de sementes infectadas (Santos; Viana, 2000),
73 fato que Mariano e Silveira (2004) atribuem à capacidade da *P. citrulli* associar-se às sementes
74 tanto de forma externa como interna por meio do hilo. Apesar de existirem diversos estudos e
75 indicações de tratamento de controle para a fitobacteriose, eles não têm se mostrado eficazes, o
76 que impulsiona novos estudos para encontrar soluções com maior eficiência.

77 Desta forma, esse estudo teve por objetivo testar *in vitro* a eficácia de produtos
78 fitossanitários utilizados pelos produtores em áreas de plantio de meloeiro no manejo da
79 mancha aquosa.

80 **2- Fundamentação Teórica**

81 2.1 - A cultura do meloeiro

82 O gênero *Cucumis* é um dos maiores da família Cucurbitaceae, contendo pelo menos
83 três espécies cultivadas no Brasil: o meloeiro (*Cucumis Melo L.*) o pepineiro (*Cucumis sativus*
84 L.) e o maxixeiro (*Cucumis anguria L.*) (Lopes *et al.*, 1999). O meloeiro é uma planta de origem
85 ainda incerta, alguns pesquisadores afirmam que seu cultivo surgiu no Egito e no Irã, outros
86 defendem a teoria que seu surgimento se deu na África (Lana; Tavares, 2010). Apresenta uma

87 boa adaptabilidade a diferentes ambientes com temperaturas elevadas, baixa luminosidade,
88 pouca umidade e possui uma boa variabilidade genética (Silva *et al.*, 2000; Souza, 2017).

89 O meloeiro é uma dicotiledônea perene na natureza, possui sistema radicular superficial
90 e praticamente não há raízes adventícias levando a uma baixa capacidade de regeneração
91 quando danificado. Presença de caule herbáceo com crescimento prostrado provido de nós e
92 gemas, e a partir dessas gemas observa-se o desenvolvimento de gavinha, folha e novo caule
93 ou ramificação, já as folhas apresentam tamanho variável com as margens dentadas (Kirkbride,
94 1994)

95 O fruto é uma baga carnosa que apresenta tamanho, aspecto e forma variáveis. Os
96 grupos botânicos a qual pertencem os frutos variam de acordo com forma, sabor, comprimento,
97 peso, coloração e textura da casca, tipo e aroma da polpa, intensidade do rendilhamento e linhas
98 de sutura da casca (McCreight *et al.*, 1993). Existem diversas cultivares de melão onde podem
99 ser divididas em seis grupos básicos: valenciano, honey dew, cantaloupe, caipira, charentais e
100 pele de sapo (Lopes *et al.*, 1999).

101 2.2- Importância econômica do meloeiro

102 O meloeiro é uma das cucurbitáceas mais produzidas em escala mundial. De acordo
103 com o levantamento da FAO (2021), a produção mundial em 2021 (Tabela 1) atingiu a marca
104 de 28,617 milhões de toneladas, correspondendo a uma área colhida de 1.077,369 milhões de
105 hectares. Em termos de produtividade, a China ocupou a liderança com 14 milhões de toneladas,
106 seguida da Turquia com 1 milhão e 638 mil de toneladas e Índia com 1 milhão e 478 mil
107 toneladas, ocupando o top três. O Brasil ocupa o décimo lugar com uma produção de 607 mil e
108 047 toneladas.

109 Tabela 1- Ranking mundial dos maiores produtores de melão em toneladas na safra de 2021.
110

<i>País</i>	<i>Valor</i>	<i>Ranking</i>
China	14.000.000,00	1
Turquia	163.863,800	2
Índia	147.800,000	3
Cazaquistão	139.517,092	4
Afeganistão	979.580,097	5
Guatemala	722.238,011	6
Irã	676.318,043	7
Espanha	652.600,000	8
Itália	607.380,000	9
Brasil	607.047,000	10

111 Fonte: FAO (2021)

112 Segundo o IBGE, no ano de 2021 a produção brasileira atingiu 607.047 toneladas, com
113 área colhida de 23.858 hectares, com uma produção equivalente a 628.322 milhões de reais,
114 onde o maior produtor nacional é o Rio Grande do Norte (IBGE, 2021). Atualmente, essa
115 olerícola possui uma grande expressão econômica para a região Nordeste do Brasil e é uma das
116 cucurbitáceas mais produzidas no mundo.

117 A época de maior concentração da oferta de melão no mercado doméstico concentra-se
118 nos meses de outubro a fevereiro, época que os maiores polos nacionais escoam grande parte
119 da produção, sendo eles Mossoró e Açú no Rio Grande do Norte (55,05%) e do Baixo de
120 Jaguaribe no Ceará (28,47%). Durante os outros meses do ano que correspondem ao período de
121 chuva nessas regiões, a produção cai permitindo que produtores do Submédio São Francisco
122 alcancem os grandes mercados consumidores, pois a região favorece a produção de melão
123 praticamente o ano inteiro (Costa, 2008).

124 A produção do melão na região Nordeste enfrenta diversos problemas no que se refere
125 ao processo de comercialização, dentre eles encontramos os de natureza fitossanitária, que são
126 responsáveis pela perda de uma grande quantidade de produção e qualidade. Segundo Willems
127 *et al.* (1992), existem diversos registros de doenças viróticas, fúngicas e bacterianas, e dentro
128 do grupo das bacterioses podemos elencar como uma das mais agressivas a mancha aquosa

129 doença provocada pela bactéria *P. citrulli*, um patógeno agressivo que pode causar depreciação
130 completa no fruto.

131 2.3- A mancha aquosa

132 A mancha aquosa, causada por *P. citrulli*, foi inicialmente detectada nos Estados
133 Unidos, com o primeiro relato na Flórida em 1989, posteriormente na Carolina do Sul, Carolina
134 do Norte, Maryland e Delaware. Desde então, a doença tem sido detectada todos os anos,
135 apresentando variação da intensidade em todo os Estados Unidos (Leahy, 2001).

136 Devido à transmissão da bactéria por sementes de cucurbitáceas, acredita-se que a
137 doença chegou no Brasil por meio da importação de sementes contaminadas dos Estados
138 Unidos, sendo que o primeiro relato com impacto econômico para o meloeiro aconteceu no Rio
139 Grande do Norte em 1997 (Assis *et al.* 1999). Essa fitobacteriose causou graves danos na
140 produção de melão no Nordeste do Brasil, e além dos registros do Rio Grande do Norte
141 atualmente a bactéria está amplamente distribuída nos estados da Bahia, Minas Gerais, Rio
142 Grande do Sul, Pernambuco, Ceará e Piauí (Assunção *et al.*, 2019).

143 A mancha aquosa pode ocorrer em qualquer fase de desenvolvimento do meloeiro, mas
144 os primeiros sintomas da doença aparecem frequentemente em mudas e plantas jovens
145 (Assunção *et al.*, 2019). As plântulas infectadas pela bactéria quando não são completamente
146 devastadas, podem subsequentemente apresentar grandes manchas encharcadas nas folhas
147 cotiledonares, levando à murcha ainda verde e assim, a morte (Viana *et al.*, 2000). Essas lesões
148 são importantes e servem como fontes de inóculo para os frutos, nestes as lesões são tidas como
149 fontes secundárias de contaminação no campo (Latin, 1996). Nos frutos, as lesões aparecem
150 inicialmente como pontos aquosos de 1 a 3mm de diâmetro, seguidamente formam-se manchas
151 de coloração marrom com rachaduras no centro. Essas rachaduras são responsáveis pela entrada
152 de outras bactérias que promovem o apodrecimento do fruto, afetando na sua produção. A
153 necrose, ou apenas a simples lesão na parte superficial do fruto não é indicativo da dimensão
154 do dano na polpa imediatamente abaixo, uma vez que a parte interna já pode estar bastante
155 comprometida (Viana *et al.*, 2000).

156 2.4- *Paracidovorax citrulli*

157 O agente causal da mancha aquosa foi inicialmente classificado como *Pseudomonas*
158 *pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* Schaad *et al.*, posteriormente como *Pseudomonas avenae*

159 subsp. *citrulli* (Schaad *et al.*) Hu *et al.*, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad *et al.*)
160 Willems *et al.* e *Acidovorax citrulli* (Schaad *et al.*). Em 2022 foi reclassificado como
161 *Paracidovorax citrulli* (Schaad *et al.*) Du *et al.* (Du *et al.*, 2023), a sua nomenclatura atual.

162 A *P. citrulli* é classificada no domínio Bacteria, filo Proteobacteria, classe
163 Betaproteobacteria, ordem Burkholderiales, família Comamonadaceae (Schaad *et al.*, 1978) e
164 gênero *Paracidovorax* (Du *et al.*, 2023).

165 *Paracidovorax citrulli* apresenta-se como uma bactéria Gram-negativa, aeróbia e móvel
166 por um flagelo polar (monotríquia); quanto às suas colônias, na maior parte dos meios de cultura
167 exibem coloração esbranquiçada ou creme. Não hidrolisa a arginina e possui reações positivas
168 para os testes de catalase, oxidase, urease e lipase (Schaad *et al.*, 1978). Cavalcanti *et al.* (2005),
169 analisando as condições favoráveis ao cultivo de quatro isolados de *P. citrulli*, observaram
170 crescimento da bactéria entre 5 e 45°C, com crescimento ótimo em 35°C; na faixa de pH de 5,0
171 a 9,0, com ótimo em pH 7,0; tolerância a concentrações de 1, 2, 3 e 4% de NaCl, com
172 crescimento máximo a 2% e mínimo a 4%; e utilização dos carboidratos fermentáveis glucose,
173 galactose, ramnose, sacarose, lactose, maltose, amido, inulina, manitol, dulcitol, sorbitol e
174 salicina (Silveira *et al.*, 2003). A espécie não induz reação de hipersensibilidade em fumo
175 (*Nicotiana tabacum* L.), contudo a reação já foi observada em diversos isolados da bactéria
176 (Rane; Latin, 1992; Silveira *et al.*, 2003; Somodi *et al.*, 1991).

177 2.5- Manejo da mancha aquosa

178 A mancha aquosa tornou-se uma doença importante devido à sua dificuldade de
179 controle. O método recomendado é o controle preventivo que consiste em evitar a entrada do
180 fitopatógeno na área utilizando sementes certificadas e livres de *P. citrulli*, pois uma vez que
181 for introduzida o controle se torna extremamente difícil (Costa *et al.*, 2006; Rane; Latin, 1992).
182 Algumas medidas de controle podem ser aplicadas após a entrada da bactéria no campo,
183 destacando-se a rotação de cultura com outras espécies que não sejam cucurbitáceas,
184 erradicação de plântulas ou plantas com sintomas e erradicação de plantas voluntárias (Davis
185 *et al.*, 1998).

186 Em cultivos já estabelecidos, as medidas preventivas consistem na proteção das plantas
187 por meio de aplicações de fungicidas cúpricos, ou seja, aqueles que são constituídos pelos
188 chamados “cobres fixos”, com ação bactericida, sendo eles: hidróxido de cobre, hidroxissulfato
189 de cobre ou oxiclreto de cobre, geralmente iniciando-se na floração e até a maturação dos
190 frutos (Walcott, 2005). Os fungicidas a base de Cobre (Cu), são frequentemente utilizados por

191 oferecerem baixo custo, baixa toxicidade a seres humanos e eficiência no controle, entretanto
192 seu uso exacerbado acarreta problemas no solo e na água, além de fitotoxicidade nas plantas e
193 desenvolvimento de microrganismos resistentes ao ativo (Pereira *et al.*, 2022).

194 Novas alternativas já foram testadas, sendo possível encontrar na literatura estudos
195 sobre a eficiência de diversos tratamentos para as sementes como por exemplo: hipoclorito de
196 sódio e água quente (Rane; Latin, 1992), ácido clorídrico (Hopkins *et al.*, 1996) e pelo ácido
197 láctico (Santos; Viana, 2000). Outros produtos também já são utilizados para o controle da
198 doença como é o caso do Kasumin[®], um antibiótico recomendado para controle de doenças
199 fúngicas e bacterianas que possui recomendação para variados fitopatógenos. A eficiência do
200 produto foi testada por alguns pesquisadores (Costa *et al.*, 2006; Sales *et al.*, 2005) que
201 apontaram o antibiótico como uma alternativa excelente para o controle da *P. citrulli*.

202 Outros defensivos agrícolas são utilizados para o controle de fitobacterioses e são
203 encontrados no comércio brasileiro e registrados voltado para produtos agrícolas, como é o caso
204 do Fegatex[®] (cloreto de etil benzalcônico e cloretos de benzalcônio) e Kocide[®] (hidróxido de
205 cobre) que atuam como fungicidas e bactericidas para diversas culturas, entretanto, não
206 possuem estudos sobre sua eficácia no controle de *P. citrulli*, em diferentes regiões.

207 Tendo em vista a importância do patógeno e a dificuldade de encontrar meios eficazes
208 de controle da mancha aquosa com um bom custo-benefício, o objetivo da pesquisa foi testar
209 *in vitro* a eficácia de produtos fitossanitários utilizados pelos produtores em áreas de plantio de
210 meloeiro na inibição do crescimento de *P. citrulli*.

REFERÊNCIAS

- 211 ARAÚJO, J. S. P. *et al.*, Manejo integrado de fitobacterioses de importância econômica no
212 Brasil. Parte 1. **Revisão anual de patologia de plantas**, v. 11, p. 107-131, 2003.
- 213 ASSIS, S. M. P. *et al.*, Mancha aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*,
214 no Estado do Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, p.191, 1999.
- 215 ASSUNÇÃO, E. F. *et al.*, Situação atual da mancha aquosa, importante bacteriose em meloeiro
216 e melanciaira. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 16, n. 1, p.
217 51-73, 2019.
- 218 CAVALCANTI, M. T. Crescimento de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* sob diferentes
219 temperaturas, pH, concentrações de cloreto de sódio e fontes de carbono. **Ciência Rural**, v. 35,
220 p. 1313-1318, 2005
- 221 COSTA, F. M. *et al.* Utilização de kasugamicina e hidróxido de cobre visando o controle da
222 bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, agente causal da mancha-aquosa no meloeiro.
223 **Biológico**, v.68, Suplemento, p.634-637, 2006.
- 224 DAVIS, R. M. Cucurbits bacterial fruit blotch. California: University of California. **Stae-wide**
225 **Integrated Pest Management Project** - 1998. Disponível em
226 <<http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r1161017.html>>. Acesso em 12 de setembro de 2023.
- 227 FAO. **Agricultural production, primary crops**. Disponível em: <<http://www.fao.org> >.
228 Acesso em 12 de setembro de 2023.
- 229 FRARE, V. C. **Tratamento de sementes de melão (*Cucumis melo L.*) para o controle de**
230 ***Acidovorax avenae* subsp. *citrulli***. Tese (Doutorado em Ciências. Área de concentração:
231 Fitopatologia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”,
232 Piracicaba, 2010.
- 233 Genetic Improvement of Vegetable Crops, **Pergamon**, 1993, p. 267-294, ISBN
234 9780080408262.
- 235 GOMES P.M. Cultivo de melão: manejo, colheita, pós-colheita e comercialização. **Serviço**
236 **Nacional de Aprendizagem Rural – SENAR**, p. 10, 2007
- 237 HOPKINS, D. L. *et al.*, Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of
238 watermelon. **Plant Disease**, v. 80, p. 529-532, 1996.
- 239 IBGE. **Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA**. Disponível em:
240 <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612#resultado>>. Acesso em: 01 de setembro de 2023.
- 241 Kirkbride JH: Revision of *Cucumella* (*Cucurbitaceae*, *Cucurbitoideae*, *Melothrieae*,
242 *Cucumerinae*). **Brittonia**. 1994, p.161-186. DOI:10.2307/2807230. Disponível em
243 <<https://doi.org/10.2307/2807230>> Acesso em 25 de maio de 2023.
- 244 LANA, M. M.; TAVARES, S. A. **Hortalças: como comprar, conservar e consumir**.
245 Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. Disponível em <
246 <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/854775> > Acesso em 25 de maio de 2023.
- 247 LATIN, R. X. Bacterial fruit blotch. **Compendium of cucurbit diseases**, p. 34-35, 1996.
- 248 LEAHY, R. **Bacterial fruit blotch of watermelon**. Disponível em:
249 <<http://doacs.state.fl.us/us/~pi/enpp/pathology/fruit-blotch.htm.2001>> Acesso em 25 maio de
250 2023.
- 251 MARIANO, R. L. R; SILVEIRA, E. B. Mancha aquosa: importante bacteriose do meloeiro no
252 Brasil. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 1, p. 79-88, 2004.
- 253 McCREIGHT, J.D. *et al.*, Melon: *Cucumis melo L.*, Editor(s): G. KALLOO, B.O. BERGH,
254 MELO, L. A. *et al.* Mancha-aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*:
255 caracterização de isolados. ISSN 1676 – 13402004, **Embrapa: Embrapa Recursos Genéticos**
256 **e Biotecnologia**, 2004, p. 24. Disponível em
257 <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/173620>> Acesso em 25 de maio
258 de 2023

259 MOURA, M. C. F. *et al.* Atividades impactantes da cadeia produtiva do melão no Agropólo
260 Mossoró/Assú-RN. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 7, n. 4, 2012.

261 NASCIMENTO A. R. Controle químico da mancha-bacteriana do tomate para processamento
262 industrial em campo. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 15-24, 2013.

263 NASCIMENTO, A. R. P. *et al.*, Hospedeiros alternativos de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*
264 no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. S66, 2002.

265 OLIVEIRA, A. *et al.* Biocontrole da mancha-aquosa do melão pelo tratamento de sementes
266 com bactérias epifíticas e endofíticas. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 373-377, 2006.

267 PEREIRA, J. *et al.* Advanced copper and copper alternatives for crop protection-a mini-review.
268 **Current Nanoscience**, v. 18, n. 4, p. 410-424, 2022.

269 RANE, K. K. *et al.* Bacterial fruit blotch of watermelon: Association of the pathogen with seed.
270 **Plant disease**, v. 76, n. 5, p. 509-512, 1992.

271 SALES JÚNIOR, R.; MENEZES, J. B. Mapeamento das doenças fúngicas, bacterianas e
272 viróticas do cultivo do melão no Estado do RN, Relatório Técnico **Escola Superior de**
273 **Agricultura de Mossoró**, 2001

274 SANTOS, A. A.; VIANA, F. M. Mancha-aquosa do melão: não deixe a mancha-aquosa do
275 melão entrar na sua lavoura: **Embrapa-SPI**, 2000.

276 SCHAAD, N. W. *et al.* *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov.
277 **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 28, n. 1, p. 117-
278 125, 1978.

279 SILVA, V.A.V., *et al.* Sobrevivência de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em meloeiro.
280 **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 381-386, 2006.

281 SILVEIRA, E. B. *et al.* Severidade da mancha-aquosa em meloeiro sob diferentes condições
282 de molhamento foliar e concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*.
283 **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 171-175, 2003.

284 SOUZA, H. C. X. **Produção de haplóides de melão (*Cucumis melo*) por meio de cruzamento**
285 **interespecífico entre melão e outras espécies da família Cucurbitaceae**. 2017. Disponível
286 em: < https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/30979/1/2017_tcc_hcxsouza.pdf > Acesso em
287 25 maio de 2023.

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

291 WALCOTT, R. R. Bacterial fruit blotch of cucurbits: the plant health instructor. **The American**
292 **Phytopathological Society**, 2005. DOI: 10.1094/PHI-I-2005-1025-02.

293 WALCOTT, R. R. Integrated pest management of bacterial fruit blotch of cucurbits.
294 In: Integrated management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria. **Dordrecht:**
295 **Springer Netherlands**, p. 191-209, 2008.

296 WILLEMS, A. *et al.*, Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax*
297 as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp.
298 *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. **International Journal**
299 **of Systematic Bacteriology**, v. 42, n. 1, p. 107-119, 1992.

EFICÁCIA DE PRODUTOS QUÍMICOS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE
Paracidovorax citrulli

Maria Clara Lopes Leite¹, David Duarte Ferreira², Keyla Walescka Lopes da Silva², Igor
Alexsander de Melo Pimentel², Maria Clara de Moura Santos², Fernanda Larisse dos Santos
Lim², Elineide Barbosa de Souza¹.

¹Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 52171-900, Brasil;

²Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 52171-900, Brasil;

RESUMO

300 A cultura do meloeiro (*Cucumis melo L.*) é suscetível a vários fitopatógenos que
301 comprometem a sua produtividade, levando a uma queda da qualidade dos frutos. Dentre estes,
302 destaca-se a bactéria *Paracidovorax citrulli*, agente causal da mancha aquosa, uma doença cujos
303 sintomas podem ser observados em qualquer fase de desenvolvimento do meloeiro, levando à
304 perda de diversos cultivos. Apesar de existirem recomendações de tratamento para o controle
305 desta bacteriose eles não têm se mostrado eficazes, levando à necessidade da realização de
306 novas pesquisas para encontrar soluções mais eficientes. Deste modo, o objetivo do estudo foi
307 testar *in vitro* a atividade antibacteriana de quatro produtos fitossanitários, Kasumin[®], Fegatex[®],
308 Kocide[®] e Quimifol Titanium S[®], que são utilizados no controle da mancha aquosa. No teste *in*
309 *vitro*, em placas de microtitulação, foram utilizados dois isolados de *P. citrulli* (CCRMAC1.43
310 e CCRMAM.1) e três concentrações dos produtos fitossanitários, com oito repetições, sendo
311 avaliada após 48h a inibição do crescimento fazendo a leitura para análise de absorvância. Para
312 confirmar o efeito inibitório, suspensões de cada tratamento foram semeadas em meio de cultura
313 NYDA e inoculadas em frutos de melão. Todas as concentrações dos produtos inibiram o
314 crescimento dos isolados CCRMAC1.43 e CCRMAM.1 de *P. citrulli*. O Fegatex[®] e o Kocide[®]
315 demonstraram efeito bactericida, havendo inibição do crescimento bacteriano a partir da
316 primeira concentração, que foram de 3.000ppm e 0,3g, respectivamente, não sendo observado
317 crescimento no meio de cultura e ausência de sintomas da mancha aquosa nos frutos. Já o
318 produto Kasumin[®] demonstrou ação bacteriostática com crescimento bacteriano inibido a partir
319 da segunda concentração (5.000ppm), porém com sintomas da doença em todas as
320 concentrações, com a possível ocorrência da condição de células viáveis, mas não cultiváveis
321 (VBNC) uma vez que não foi observado crescimento no meio de cultura. Quando tratados com
322 Quimifol Titanium S[®], os isolados tiveram seu crescimento inibido a partir da segunda
323 concentração (0,8mL/150mL) e a bactéria cresceu no meio de cultura apenas quando tratada
324 com a primeira concentração do produto (0,09mL/150mL), induzindo sintomas no fruto
325 também nessa concentração. Dentre os 4 produtos químicos testados não é recomendado o uso
326 do Kasumin[®], as doses de recomendação da bula de Kocide[®] e Fegatex[®] são eficazes para a
327 inibição do crescimento de *P. citrulli*, e comprovou-se o efeito de Quimifol Titanium S[®] como
328 bactericida.

Palavras-chave: Melão; Mancha Aquosa; Controle Químico; Hormese.

329 **Introdução**

330 O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma olerícola muito popular no Brasil e com
331 popularidade crescente a nível mundial, sendo um fruto consumido em larga escala na Europa,
332 Japão e Estados Unidos (GOMES, 2007). O melão tem grande importância para o comércio de
333 exportação do Brasil, pois a concentração da safra brasileira coincide com a entressafra da
334 Espanha, de setembro a abril, o que favorece a exportação do produto. Em 2020, o Brasil
335 exportou mais de 37% do total produzido (356.705 toneladas), movimentando quase 150
336 milhões de dólares (IBGE, 2022).

337 O melão fortalece a representatividade brasileira na agricultura por meio do principal
338 polo produtivo no Nordeste, sendo Rio Grande do Norte (RN), Ceará (CE), Bahia (BA) e
339 Pernambuco (PE), em especial Mossoró-Assú no Rio Grande do Norte e Vale do Jaguaribe no
340 Ceará. A adaptação do fruto na região do Nordeste deve-se às condições ecológicas do
341 semiárido, uma vez que favorece tanto o desenvolvimento da planta quanto a qualidade dos
342 frutos produzidos (Moura *et al.*, 2011).

343 A cultura do melão enfrenta diversos problemas devido a patógenos, especialmente na
344 época chuvosa da Região Nordeste, levando a um declínio na qualidade do fruto e
345 conseqüentemente na sua produção, chegando a dizimar a cultura (Frare, 2010). Dentre os
346 fitopatógenos que acometem o meloeiro, destaca-se a bactéria *Paracidovorax citrulli* (Schaad
347 *et al.*) Du *et al.* (Du *et al.* 2023) causadora da mancha aquosa. Estima-se que as perdas causadas
348 pela doença no Rio Grande do Norte são de até 100% nos períodos chuvosos pois o clima
349 aumenta as chances de disseminação da bacteriose, sendo considerada umas das principais
350 doenças da cultura (Sales Júnior; Menezes, 2001).

351 A disseminação da bactéria ocorre à longa distância, especialmente, por sementes
352 infectadas (O'Brien; Martin, 1999; Silva *et al.*, 2006), assim como também por transplante de
353 mudas infectadas (Hopkins *et al.*, 1992). A disseminação do patógeno dá-se também entre
354 plântulas e plantas vizinhas, como de folha para frutos quando há a intervenção de respingos de
355 água da chuva ou de irrigação (Santos; Viana, 2000). No campo, a bactéria sobrevive em plantas
356 voluntárias, frutos infectados e restos de cultura (Hopkins *et al.*, 1996; Mariano; Silveira, 2004).

357 No fruto a penetração ocorre via estômatos e lenticelas, sendo os frutos verdes mais
358 suscetíveis devido à deposição de cera nos frutos maduros, que por sua vez dificultam a
359 penetração do patógeno (Frankle; Hopkins; Stall, 1993; Silva *et al.*, 2006; Silva *et al.*,
360 2006). As lesões no fruto permanecem aquosas por longo período e progridem para uma cor

361 amarronzada variando em tons mais fracos e fortes, afetando diretamente a sua comercialização
362 (Oliveira *et al.*, 2006).

363 *P. citrulli* tem como principal fonte de disseminação a semente infectada, sendo o
364 controle da qualidade das sementes uma alternativa econômica e segura para o controle da
365 enfermidade no campo (FRARE, 2010), porém esta medida não vem apresentando muitos
366 resultados positivos.

367 Para o controle da mancha aquosa é recomendada a aplicação de bactericidas
368 cúpricos, com aplicação semanal e com dose completa caso haja presença de plantas infectadas,
369 em caso de ausência de plantas infectadas a aplicação deve ser feita a cada duas semanas com
370 a dose completa, ou semanalmente com metade da dose recomendada (Isakeit, 1999). Walcott
371 *et al.* (2005) recomendam a aplicação de fungicidas cúpricos a cada quinze dias, ou
372 semanalmente como forma de prevenção. Outras medidas de manejo utilizadas são: evitar
373 plantio em períodos chuvosos; realizar adubação equilibrada; rotação de culturas por pelo
374 menos três anos; evitar circulação de pessoas ou implementos na área sobre condições de chuva,
375 orvalho ou mesmo irrigação; destruir restos vegetais (Viana *et al.*, 2000); erradicar plântulas e
376 plantas com sintomas (Dias *et al.*, 1998). Mesmo que essas medidas adotadas possibilitem a
377 diminuição das perdas em plantios (Assunção *et al.*, 2021), a mancha aquosa ainda é uma
378 ameaça considerável à produção de melão, pois novas epidemias da *A. citrulli* estão sendo
379 apontadas em todo o mundo (EPPO, 2022).

380 Desta forma, esse estudo teve por objetivo testar *in vitro* a eficácia de produtos
381 fitossanitários utilizados pelos produtores em áreas de plantio de meloeiro na inibição do
382 crescimento de *P. citrulli*.

383 **2- Metodologia**

384 **2.1- Isolados de *Paracidovorax citrulli***

385 Foram utilizados dois isolados (Tabela 2) para esse estudo, que pertencem a Coleção de
386 Culturas Rosa Mariano (CCRM) do Laboratório de Fitobacteriologia da UFRPE. Os isolados
387 passaram pelo processo de recuperação em meio NYDA - extrato de levedura-dextrose-ágar
388 (10g dextrose, 3g extrato de carne, 5g extrato de levedura, 5g peptona e 20g ágar/L) e
389 posteriormente foram preservados pelo Método Castellani após teste de patogenicidade em
390 frutos de meloeiro.

391 Para a preservação foram utilizados tubos criogênicos com capacidade de 2ml com água
392 destilada esterilizada (ADE) adicionada até 1,5ml da capacidade. Os isolados bacterianos
393 cultivados em meio de cultura NYDA tiveram a massa bacteriana transferida com auxílio de
394 alças esterilizadas de poliestireno descartáveis para os tubos, que logo em seguida foram
395 vedados e armazenados em temperatura ambiente.

396 Tabela 2 - Procedência dos isolados de *Paracidovorax citrulli* utilizados na pesquisa.
397

ISOLADO	CULTURA	PROCEDÊNCIA
CCRMAc1.43	Melão Amarelo	Baraúna, RN - Brasil
CCRMAcM.1	Melão Amarelo	Ribeira do Amparo, BA - Brasil

398

399

400 **2.2 - Patogenicidade dos isolados de *Paracidovorax citrulli***

401

402 Frutos comerciais do tipo melão valenciano, obtidos em mercados da cidade de Recife-
403 PE, foram previamente lavados com água e sabão, secos com papel toalha, pulverizados com
404 álcool 70% e novamente secos e submetidos ao teste de patogenicidade.

405 Para cada isolado foi realizada uma suspensão com ADE, ajustada no
406 espectrofotômetro ($A_{570} = 0,25$) na concentração de $3,4 \times 10^7$ UFC/ml. Seguindo a metodologia
407 de Song *et al.* (2020), a inoculação do fruto foi realizada por meio de uma perfuração com uma
408 ponteira de 200µl a uma profundidade aproximada de 1,5cm e, com o auxílio de uma pipeta,
409 50µl de suspensão bacteriana foi depositada na punção.

410 Foram utilizados 5 pontos de inoculação para cada isolado. Os frutos foram colocados
411 em bandeja que continha papel toalha umedecido, foram cobertos com sacos plásticos e
412 mantidos em temperatura ambiente entre por 8 dias, quando foram avaliados quanto à presença
413 ou ausência dos sintomas da mancha aquosa.

414

415 **2.3- Produtos químicos**

416

417 Foram utilizados quatro produtos fitossanitários comerciais (Tabela 3) para a avaliação
418 da sensibilidade *in vitro*, pertencentes à classe dos bactericidas e fungicidas com componentes
419 ativos e grupamento químico distintos.

420 Tabela 3- Produtos químicos¹ selecionados para avaliação *in vitro* e concentrações² utilizadas

Marca Comercial	Grupo Químico	Ingrediente Ativo	Formulação*	Conc. (g-ml/L)**	Conc. 1	Conc. 2	Conc. 3
Kasumin	Antibiótico	Kasugamicina	SL	20g	3.000ppm (0,30%)	11.500ppm (1,15%)	20.000ppm (2%)
Fegatex	Amônio Quaternário	Cloretos de etilbenzalcônios e benzalcônios	SL	100g	5.000ppm (0,5%)	20.000ppm (2%)	35.000ppm (3,5%)
Quimifol Titanium S	Fertilizante mineral misto para aplicação foliar	Cobre (Cu) + Manganês (Mn) + Zinco (Zn)	Solução	0,4-0,8ml	0,3g	1,35g	2,4g
Kocide XDG Bioactive	Inorgânico	Hidróxido de Cobre	WG	2g	0,09ml	0,8ml	1,5ml

421 ¹Classificação de acordo com o Sistema de Produtos Fitossanitários, AGROFIT.422 ²Concentração referente a solução estoque de 150ml

423 *Concentrado Solúvel (SL), Grânulos Dispersíveis em Água (WG).

424 **Concentração do ingrediente ativo (g ou ml/L) do produto comercial.

425 3. Avaliação *in vitro* do efeito dos produtos fitossanitários sobre o crescimento dos

426 isolados de *P. citrulli*

427 Foram utilizadas placas para microtitulação de 96 poços com capacidade de trabalho de
428 260µl. Para cada isolado, foram depositados nos poços 50µL meio de cultura, 100µL das
429 respectivas concentrações dos produtos e 10µL da suspensão bacteriana, além do controle
430 negativo (água e meio de cultura) e o positivo (meio de cultura, água e a bactéria). As
431 microplacas foram mantidas em BOD com temperatura de 30°C. A avaliação foi realizada 48
432 horas por meio de leitura da absorbância no equipamento Multiskan FC para análise de
433 absorbância.

434 As concentrações utilizadas dos produtos químicos foram determinadas a partir da
435 dosagem recomendada em bula por g-ml/L, uma intermediária e uma alta dosagem, sendo
436 diferentes para cada produto conforme a Tabela 3.

437 Para confirmar a ausência de crescimento bacteriano ou se o produto apresentava efeito
438 bacteriostático, foram escolhidos três poços das placas de microtitulação aleatoriamente de cada
439 tratamento, e com a alça de descartável foi realizado semeio em meio de cultura NYDA contido
440 em placas de Petri, com três repetições cada, avaliando a presença ou ausência de crescimento
441 bacteriano após 48 horas.

442 A partir das suspensões de um dos poços das placas de microtitulação de cada
443 tratamento foi realizada a inoculação em frutos de melão, conforme descrito no teste de

444 patogenicidade. Controle negativo (ADE e meio de crescimento) e controle positivo (ADE,
445 meio de crescimento e suspensão bacteriana) foram realizados, os frutos foram mantidos em
446 câmara úmida por 7 dias em temperatura ambiente e avaliados quanto à presença ou ausência
447 de sintomas, realizando-se cortes transversais no centro da área inoculada.

448 A avaliação da agressividade dos isolados se deu por meio da observação visual dos
449 sintomas da mancha aquosa no fruto do meloeiro, levando como parâmetro de comparação os
450 controles negativo e positivo.

451 **5. Resultados**

452 **5.1- Patogenicidade dos isolados de *P. citrulli***

453 Os dois isolados induziram sintomas característicos da mancha aquosa, confirmando a
454 sua patogenicidade, com maior agressividade observada no isolado CCRMAc1.43 (Figura 1).

455 Figura 1- Teste de patogenicidade de *Paracidovorax citrulli* em frutos de melão: isolado
456 CCRMAc1.43 (A) e isolado CCRMAcM.1 (B).

457



458

459

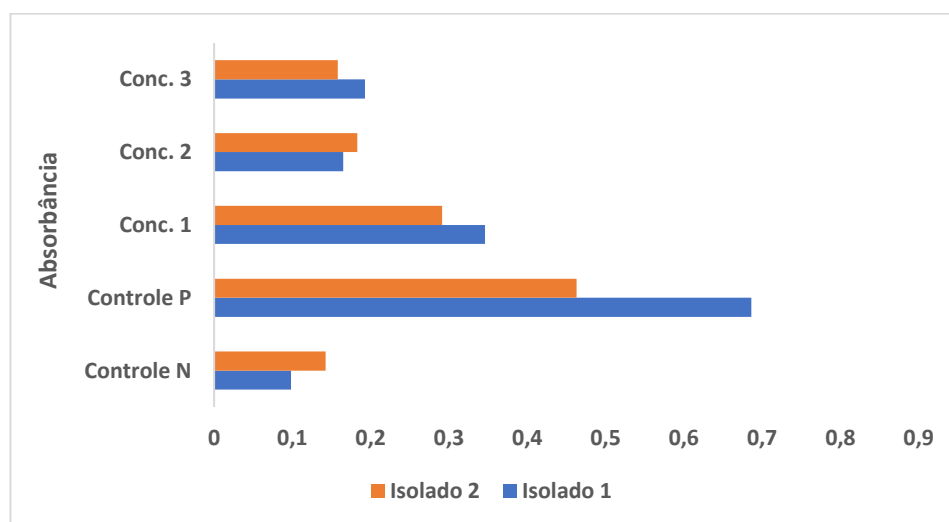
460 **5.2- Avaliação *in vitro* dos produtos fitossanitários sobre o crescimento dos isolados de *P.*** 461 ***citrulli***

462 Os dois isolados de *P. citrulli* se comportaram de forma semelhante de acordo com os
463 diferentes produtos fitossanitários. Os produtos inibiram o crescimento bacteriano em todas as
464 concentrações testadas (Figuras 2, 3, 4 e 5). Observou-se uma menor atividade antibacteriana

465 dos produtos Kasumin[®], Kocide[®] e Quimifol Titanium S[®] na segunda concentração testada de
466 20.000ppm, 1,35g e 0,8mL, respectivamente, que equivale a concentração intermediária entre
467 a indicada na bula e a utilizada em campo pelos produtores.

468 Figura 2 – Efeito *in vitro* de diferentes concentrações de Fegatex[®] no crescimento de
469 *Paracidovorax citrulli*, isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1. C1 = 3.000ppm, C2 =
470 11.000ppm, C3 = 20.000ppm

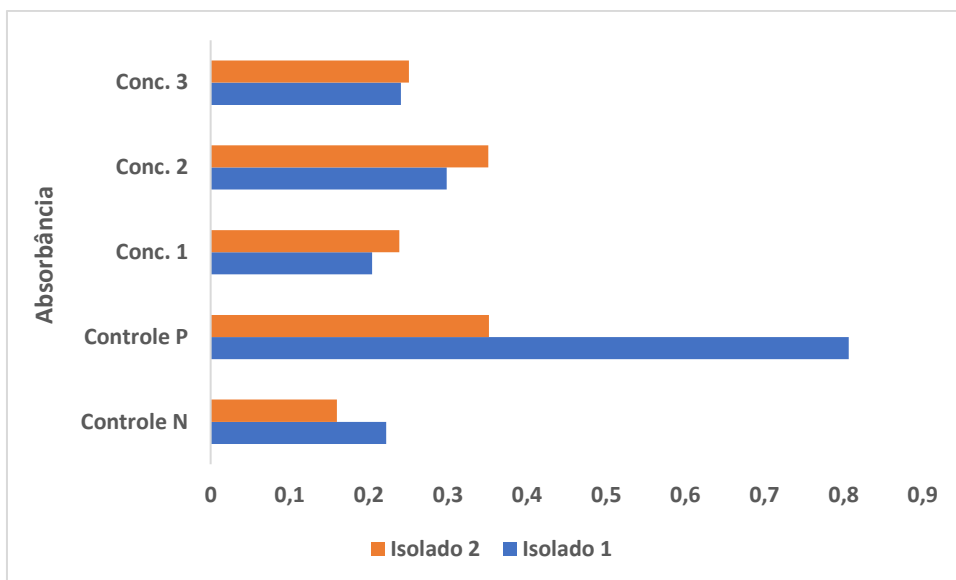
471



472

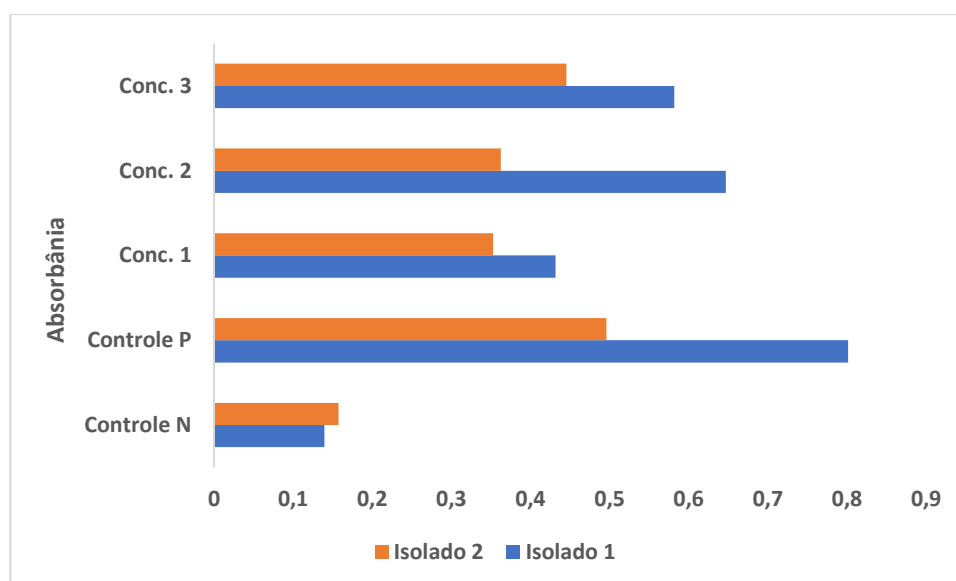
473

474 Figura 3 – Efeito *in vitro* de diferentes concentrações de Kasumin® no crescimento de
475 *Paracidovorax citrulli*, isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1. C1 = 5.000ppm, C2
476 =20.000ppm, C3 = 35.000ppm
477



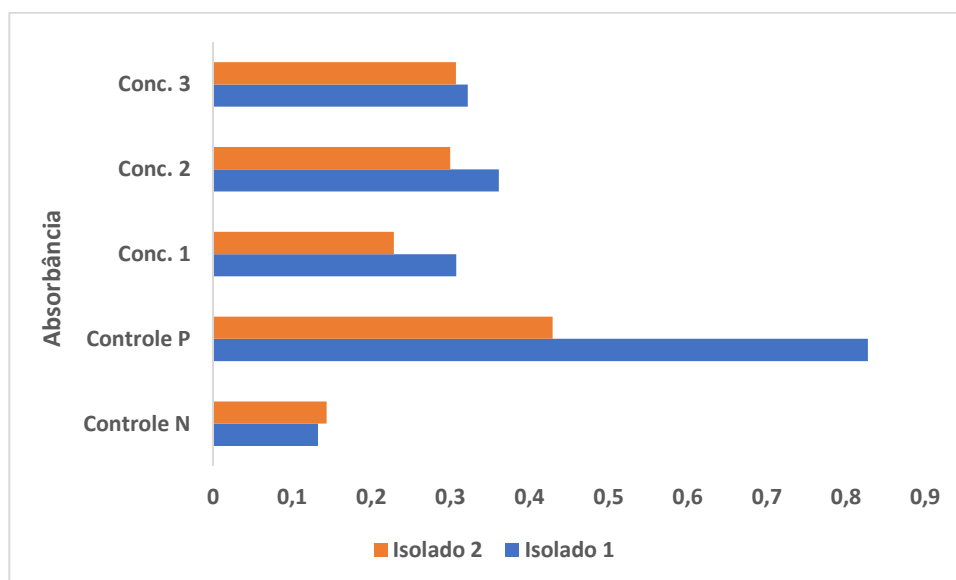
478

479 Figura 4 – Efeito *in vitro* de diferentes concentrações de Kocide® no crescimento de
480 *Paracidovorax citrulli*, isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1. C1 = 0,3g, C2 = 1,35g, C3 =
481 2,4g
482



483

484 Figura 5 – Efeito *in vitro* de diferentes concentrações de Quimifol Titanium S[®] no crescimento
485 de *Paracidovorax citrulli*, isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1. C1 =0,09ml, C2 =0,8ml,
486 C3 = 1,5ml

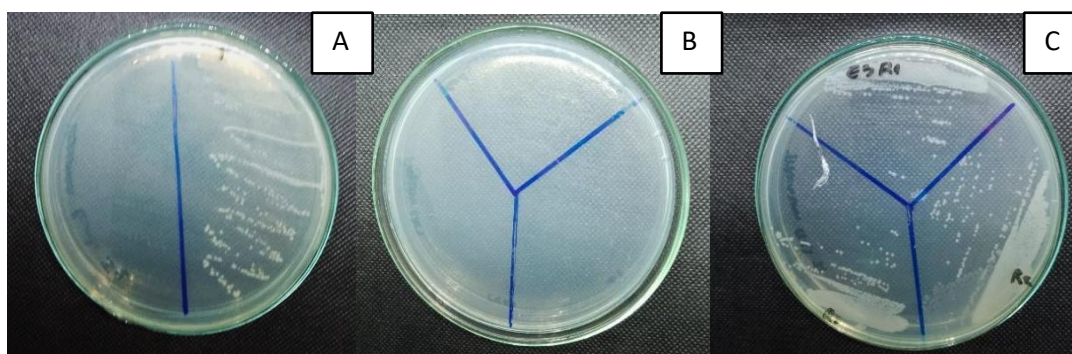


487

488 Quando as suspensões foram plaqueadas no meio de cultura NYDA, a partir dos poços
489 das placas de microtitulação, verificou-se crescimento dos dois isolados de *P. citrulli* apenas na
490 primeira concentração de Kasumin[®] e Quimifol Titanium S[®] (Figura 6).

491 Figura 6- Efeitos de produtos químicos no crescimento de *Paracidovorax citrulli*. (A) Controle:
492 negativo a esquerda e positivo a direita; (B) tratamento com Fegatex[®]; (C) tratamento com
493 Kasumin[®] na concentração de 5.000ppm.

494



495 Nas inoculações em fruto com os dois isolados de *P. citrulli* (controle positivo) e no
496 tratamento com todas as concentrações de Kasumin[®] verificou-se sintomas de mancha aquosa

497 (Figura 7), embora em meio NYDA não tenha sido observado crescimento bacteriano nas duas
498 concentrações mais elevadas (20.000 e 35.000ppm), indicando a presença de células viáveis
499 mas não cultiváveis (VBNC). Para o tratamento com Quimifol Titanium S[®] foi observado
500 sintoma da doença apenas na menor concentração (0,09 ml/150mL) em relação ao isolado
501 CCRMAcM-1 (Figura 8), embora em meio de cultura também tenha sido observado
502 crescimento do isolado CCRMAc1.43 nessa concentração. No entanto, nos tratamentos com
503 Fegatex[®] e Kocide[®] não foram detectados sintomas da doença. Já para o Fegatex[®] e o Kocide[®]
504 não foi observado crescimento em meio de cultura e também sintoma da doença, independente
505 da concentração testada, indicando que tiveram efeito bactericida.

506 Figura 7 - Melões inoculados artificialmente com *Paracidovorax citrulli* submetida a
507 tratamento com diferentes concentrações de Kasumin[®], isolado CCRMAc1.43 (A) e isolado
508 CCRMAcM.1 (B).

509

510

511

512

513

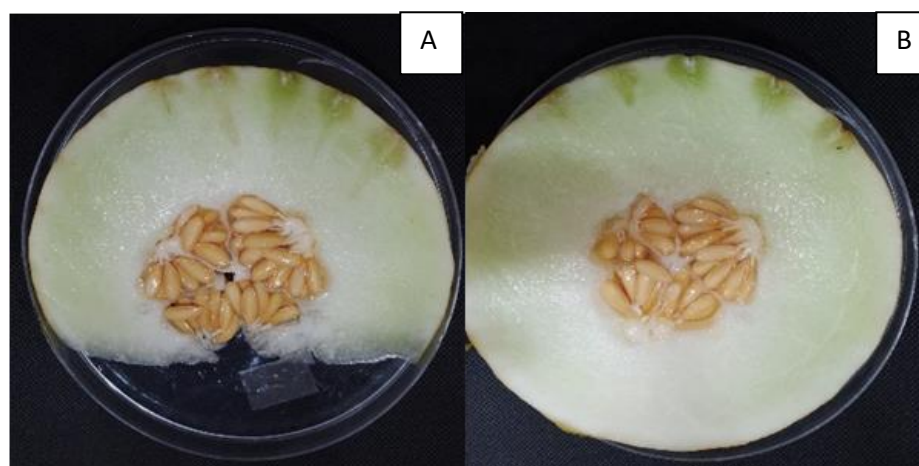
514

515

516

517

518



519 Lesões no fruto da esquerda para direita: controle negativo (azul), controle positivo (verde), concentrações de
520 Kasumin[®] - 5.000ppm (vermelho), 20.000ppm (amarelo), 35.000ppm (rosa).

521

522

523 Figura 8 - Melões inoculados artificialmente com *Paracidovorax citrulli* submetida a
524 tratamento com diferentes concentrações de Quimifol Titanium S[®], isolado CCRMAc1.43 (A)
525 e isolado CCRMAcM.1 (B).

526

527

528

529

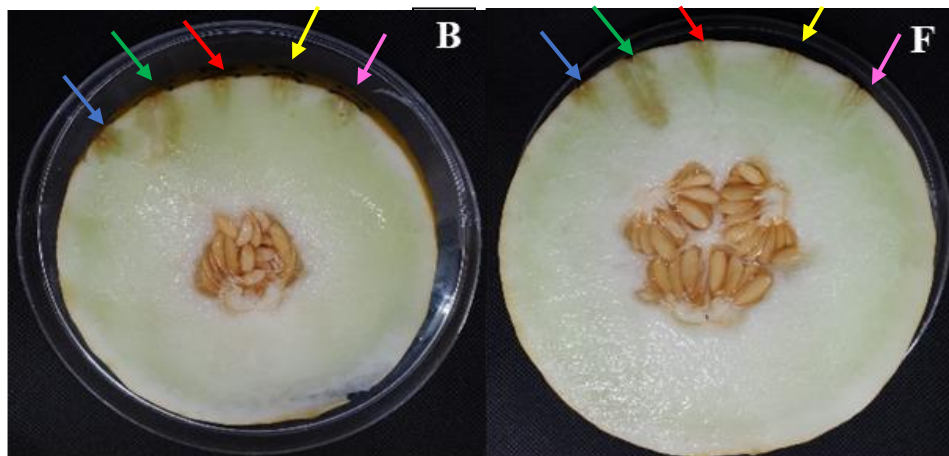
530

531

532

533

534



535 Lesões no fruto da esquerda para direita: controle negativo (azul), controle positivo (verde), concentrações de
536 Quimifol Titanium S[®] - 5.000ppm (vermelho), 20.000ppm (amarelo), 35.000ppm (rosa).

537 6- Discussão

538 Os produtos fitossanitários Fegatex[®], Kocide[®] e Kasumin[®] são indicados para o controle
539 da mancha aquosa em meloeiro (MAPA, 2023) e o Quimifol Titanium S[®] é utilizado como
540 fertilizante em campos de produção de meloeiro. Entretanto, no campo não têm sido observados
541 bons resultados de controle da doença (Informação pessoal Emanuel Assunção), motivo pelo
542 qual foi testada a eficiência dos produtos em inibir *in vitro* o crescimento de *P. citrulli*.

543 Os isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1 de *P. citrulli* apresentaram semelhanças de
544 reação frente aos produtos químicos utilizados, tendo seu crescimento já inibido na primeira
545 concentração (dose recomendada na bula) por todos os produtos utilizados na pesquisa, porém
546 na segunda concentração (dose intermediária) os mesmos apresentaram aumento de
547 crescimento seguido novamente de um decréscimo, com exceção do Fegatex[®] que após a
548 inibição na primeira concentração (3.000ppm), o aumento só ocorreu na terceira concentração
549 (20.000ppm), que é a dose utilizada pelos agricultores no campo. Este fato pode ser atribuído
550 ao conceito de hormese, onde há uma relação de dose-resposta caracterizada por um estímulo
551 sob baixas doses e inibição sob altas doses (Calabrese *et al.*, 2015), de modo que ao submeter
552 os isolados a diferentes concentrações recomendadas para o controle do patógeno em campo
553 observa-se a possível ocorrência do fenômeno.

554 O fruto do meloeiro inoculado com os isolados sob tratamento de Kasumin[®]
555 (Kasugamicina) desenvolveu sintomas da mancha aquosa em todas as concentrações, mesmo
556 que em meio de cultura NYDA tenha apresentado crescimento apenas na primeira concentração
557 (5.000ppm), caracterizando como uma ação bacteriostática com a possível ocorrência da
558 condição de células viáveis, mas não cultiváveis (VBNC). Segundo Maertens *et al.* (2021), a
559 bactéria na presença do propulsor do estresse pode ser induzida a um estado celular regular.
560 Este estado celular é denominado de estado “viável, entretanto não cultivável”, ou seja, as
561 células bacterianas não podem ser cultivadas em meios laboratoriais, todavia mantêm a
562 integridade da membrana além de níveis baixos, porém mensuráveis, de metabolismo e
563 expressão gênica (Davey 2011; Schottroff *et al.*, 2018). A baixa eficiência do antibiótico pode
564 estar correlacionada ao seu uso isoladamente, uma vez que é comumente utilizado associado
565 com produtos cúpricos, como oxicloreto de cobre (Sales *et al.*, 2005) e hidróxido de cobre
566 (Costa *et al.*, 2006) potencializando o efeito no controle da bactéria. A resistência de bactérias
567 fitopatogênicas a compostos cúpricos foi notificada pela primeira vez em *Xanthomonas* spp.
568 por Marco e Stall (1983), alguns estudos foram realizados para entender como funciona esse
569 mecanismo, entre eles o controle da entrada de cobre e o seu resgate por proteínas presentes no
570 interior da célula e na sua membrana externa (Cooksey, 1993).

571 Os isolados CCRMAc1.43 e CCRMAcM.1 quando submetidos a tratamento de
572 Quimifol Titanium S[®] e inoculados no fruto, apresentaram sintomas da doença apenas na
573 primeira concentração (0,09 mL/150mL) em relação ao isolado CCRMAcM.1, mesmo que
574 tenha sido observado crescimento *in vitro* nessa mesma concentração no isolado CCRMAc1.43,
575 fato que pode ser atribuído a questão de adaptabilidade do isolado. O Quimifol é um fertilizante
576 com ação bactericida de aplicação na área foliar com composição rica em cobre, manganês e
577 zinco. Uma vez que uma das formas de disseminação de *P. citrulli* se dá por meio de plântulas,
578 plantas vizinhas e da folha para o fruto se houver respingos de chuva ou de irrigação (Silva *et.*
579 *al.*, 2006), seu uso como controlador químico dessa bactéria é viável, sendo uma alternativa
580 mais acessível e eficaz.

581 Nos tratamentos com Fegatex[®] e Kocide[®] não foi observado crescimento em meio de
582 cultura assim como sintoma da doença, independente da concentração testada, indicando que
583 tiveram efeito bactericida. Embora alguns estudos comprovem a baixa eficácia do uso de
584 hidróxido de cobre, ingrediente ativo do produto Kocide[®], no controle de *P. citrulli*, a sua
585 eficiência foi comprovada por Oliveira *et al.* (2007) ao avaliarem isolados sensíveis ao
586 composto a partir da concentração de 138,2µg/L. Já para o Fegatex[®], produto à base de cloretos

587 de etilbenzalcônios e cloretos de benzalcônios, não há estudos sobre seu uso em relação a este
588 patógeno apesar de recomendado para o controle da doença, existindo estudos sobre o seu uso
589 no controle de outras bacterioses como *Erwinia psidii* na cultura da goiabeira (Rezende, 2006)
590 e *Xanthomas* spp. no controle da mancha bacteriana em tomateiro (Nascimento *et. al.*, 2013).

591 Dentre os 4 produtos químicos testados não é recomendado o uso do Kasumin[®], que
592 se mostrou como o menos viável para o controle da *P. citrulli*, pois inibiu o crescimento da
593 bactéria nos testes *in vitro*, mas não impediu o desenvolvimento da doença nos frutos. As doses
594 de recomendação da bula de Kocide[®] e Fegatex[®] são eficazes para a inibição do crescimento
595 de *P. citrulli*, e comprovou-se o efeito de Quimifol Titanium S[®] como bactericida.

596 **AGRADECIMENTOS**

597 Ao CNPq pela concessão da bolsa de pesquisa a Elineide B. Souza (CNPq Proc.
598 311365/2020-5).

599 REFERÊNCIAS

- 600 ASSUNÇÃO, E. F.; CONCEIÇÃO, C. S.; ALEXANDRE, E. R.; GAMA, M. A. S.; NUNES,
601 G. H. S.; SOUZA, E. B. New sources of melon accessions with resistance to bacterial fruit
602 blotch at diferente phenological stages of melon growth and to multiple strains of *Acidovorax*
603 *citrulli*. *Euphytica*, Wageningen, v. 217, n. 5, p. 1-15, 2021.
- 604 CALABRESE, E.J. Hormese: Princípios e aplicações. **Homeopatia** 104:69-82. **Crossref**,
605 Medline, ISI, 2015.
- 606 Cooksey, D.A. Copper uptake and resistance in bacteria. **Molecular Microbiology**, 1993.
607 Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1993.tb01091.x>> Acesso em 11 de
608 setembro de 2023.
- 609 DAVEY, H.M. Life, death, and in-between: meanings and methods in microbiology. **Applied**
610 **and environmental microbiology**, v. 77, n. 16, p. 5571-5576, 2011.
- 611 DIAS, R. C. S. *et al.*, Cadeia produtiva do melão no Nordeste. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA,
612 S. M. V.; GOEDERT, W. J.; FREITAS FILHO, A.; VASCONCELOS, J. R. P. (Eds.). Cadeias
613 produtivas e sistemas naturais: prospecções tecnológicas. **EMBRAPA SPI**, 1998. p. 440-493.
- 614 DU, J., *et al.* Genome-based analyses of the genus *Acidovorax*: proposal of the two novel genera
615 *Paracidovorax* gen. nov., *Paenacidovorax* gen. nov. and the reclassification of *Acidovorax*
616 *antarcticus* as *Comamonas antarctica* comb. nov. and emended description of the genus
617 *Acidovorax*. **Archives of Microbiology**, v. 205, n. 1, p. 42, 2023.
- 618 EPPO. New data on quarantine pests and pests of the EPPO Alert List. **EPPO Reporting**
619 **Service**, v. 195, n. 3, 2018. Disponível em: <https://gd.eppo.int/reporting/article-6040>. Acesso
620 em: 15 maio, 2022.
- 621 FRARE, V.C. Tratamento de sementes de melão (*Cucumis melo* L.) para o controle de
622 *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Tese (Doutorado em Ciências. Área de concentração:
623 **Fitopatologia** - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”,
624 2010.
- 625 GOMES P.M. Cultivo de melão: manejo, colheita, pós-colheita e comercialização. **Serviço**
626 **Nacional de Aprendizagem Rural – SENAR**, p. 10, 2007
- 627 HOPKINS, D.L. *et al.* Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of
628 watermelon. **Plant Disease**, v. 80, n. 5, p. 529-532, 1996.
- 629 HOPKINS, D.L. *et al.* Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of
630 watermelon. **Plant Disease**, v.80, p.529- 532, 1996.
- 631 IBGE. Sistema IBGE de recuperação automática – **SIDRA**. Disponível em:
632 <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612#resultado>>. Acesso em 01 de setembro de 2023.
- 633 MAERTENS, L., *et al.* Characteristics of the copper-induced viable-but-non-culturable state in
634 bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 37, p. 1-9, 2021.
- 635 MARCO, G.M.; STALL, R.E. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of
636 *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. **Plant Disease**, v.67,
637 p.779-781, 1983.
- 638 MARIANO, R.L.R; SILVEIRA, E.B. Mancha aquosa: importante bacteriose do meloeiro no
639 Brasil. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 1, p. 79-88, 2004.
- 640 MOURA, M.C.F. *et al.* Atividades impactantes da cadeia produtiva do melão no Agropólo
641 Mossoró/Assú-RN. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 7, n. 4, 2012.
- 642 NASCIMENTO, A.R.P. *et al.* Hospedeiros alternativos de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*
643 no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.S66, ago. 2002. Suplemento.
644 Apresentado no **CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA**, 35., 2002, Recife.
- 645 OLIVEIRA, A. de *et al.* Biocontrole da mancha-aquosa do melão pelo tratamento de sementes
646 com bactérias epifíticas e endofíticas. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 373-377, 2006.

647 REZENDE, A.M.F.A. Estudo sobre resistência genética e produtos químicos no controle da
648 bacteriose da goiabeira (*Psidium guajava*) causada por *Erwinia psidii*. **Dissertação** (Mestrado
649 em Fitopatologia) - **Universidade de Brasília**, Brasília, 2006.

650 SALES JÚNIOR, R.; MENEZES, J.B. Mapeamento das doenças fúngicas, bacterianas e
651 viróticas do cultivo do melão no Estado do RN. **Escola Superior de Agricultura de Mossoró**,
652 2001.

653 SANTOS, A; VIANA, F.M.P. Mancha-aquosa do melão: não deixe a mancha-aquosa do melão
654 entrar na sua lavoura. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2000.

655 SCHAAD, N.W. *et al.* *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*. **International Journal**
656 **of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 1978.

657 SCHOTTROFF, F. *et al.* Sublethal injury and viable but non-culturable (VBNC) state in
658 microorganisms during preservation of food and biological materials by non-thermal processes.
659 **Frontiers in Microbiology**, p. 2773, 2018.

660 SILVA, V.A.V., *et al.* Sobrevivência de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em meloeiro.
661 Disponível em <<https://doi.org/10.1590/S0100-41582006000400008>> **Fitopatologia**
662 **Brasileira**, 2006.

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