

Identificação de fontes de resistência em melancia a *Didymella bryoniae**¹

Rita de Cássia S. Dias¹; Manoel A. de Queiroz¹, Maria Menezes²

¹CPATSA/EMBRAPA, C. Postal 23, 56.300-000 Petrolina-PE; ²Depto. Fitossanidade, UFRPE/Agronomia, 52.171-900 Recife-PE.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi identificar fontes de resistência a *Didymella bryoniae* em melancia, em casa-de-vegetação. Foram avaliados 70 acessos procedentes da Bahia, Pernambuco e Maranhão, e uma introdução do USDA (Estados Unidos), em três experimentos. O inóculo ($3,18 \times 10^5$ conídios/ml) foi pulverizado na parte aérea das plantas, no estádio de emissão da primeira folha verdadeira, após a realização de ferimentos mecânicos nos cotilédones e folhas definitivas e através de picada de agulha na região do colo. Após a inoculação, as plantas foram mantidas por 48 horas em câmara úmida. O delineamento empregado nos experimentos I, II e III foi inteiramente casualizado, com respectivamente 3, 3 e 7 repetições, e quatro plantas por parcela. As avaliações foram feitas sete dias após a inoculação, com base em uma escala de notas (1=altamente resistente; 5=altamente suscetível). Os acessos MA16, PE11, MA7, PE12, BA6 e BA19 foram moderadamente resistentes em dois ensaios. Os acessos PI 189225 e BA5, suscetíveis no primeiro ensaio, mostraram-se respectivamente resistente e moderadamente resistente quando re-testados. Os resultados obtidos mostram a eficiência da metodologia na identificação da resistência a *D. bryoniae* em acessos de melancia.

Palavras-chaves: melancia (*Citrullus lanatus*), cancro da haste, resistência, doença

ABSTRACT

Identification of sources of resistance to *Didymella bryoniae* in watermelon.

The objective of this work was to identify sources of resistance to *Didymella bryoniae* in watermelon. Seventy accesses from the states of 'Bahia', 'Pernambuco' and 'Maranhão', and one from the United States Department of Agriculture (USDA) were screened against *D. bryoniae* in three trials. The inoculum (3.18×10^5 conidia/ml) was sprayed in the plant aerial parts after mechanical wounds had been made in the cotyledons and young leaves. Plants were also inoculated through the use of needles in the stem. After inoculation, the plants were submitted to wet chamber for 48 hours. The experimental design was completely randomized blocks, with respectively 3, 3 and 7 replications in the experiments I, II and III, and four-plant per plot. Plants were evaluated seven days after inoculation, based on a disease scale (1=highly resistant; 5=highly susceptible). Accesses MA16, PE11, MA7, PE12, BA6 and BA19 were moderately resistant to *D. bryoniae* in two experiments. Accesses PI 189225 and BA5, although susceptible in the first experiment, were respectively resistant and moderately resistant when re-checked. The methodology used in this study was considered efficient in screening resistance to *D. bryoniae* in watermelon.

Key-words: watermelon (*Citrullus lanatus*), gummy stem blight, resistance, disease

(Aceito para publicação em 12/04/96).

Em áreas irrigadas, o cultivo do solo durante todo o ano, freqüentemente sem rotação de culturas, contribui para a sobrevivência de patógenos e para o aumento da incidência de muitas pragas e doenças. Dentre as doenças que atacam a cultura da melancia, a podridão gomosa ou cancro das hastes, causada por *Didymella bryoniae* (Auersw) Rehm, vem despertando preocupação nos perímetros irrigados do Nordeste. Essa doença ocorre em diversas regiões do mundo e afeta grande número de cucurbitáceas.

O controle do cancro das hastes com fungicidas tem se mostrado ineficiente. Além de serem necessárias aplicações freqüentes, praticamente não há efeito dos fungicidas sobre infecções nos frutos e existem relatos de resistência do patógeno a fungicidas (Malathrakís & Vabalounakis, 1983). Assim, o controle

de doenças através de cultivares resistentes se reveste de grande importância.

Poucos trabalhos de resistência a *D. bryoniae* em melancia são relatados. Sowell & Pointer (1962) estudaram 439 acessos ou introduções de melancia e identificaram resistência ao patógeno (isolado CS-1, obtido de melão) no acesso PI 189225, justificando o seu uso como fonte de resistência. Norton & Cospér (1985) relataram que a descoberta das introduções PI 189225 e PI 271778, que foram resistentes ao cancro das hastes e à antracnose raça 2, determinou o início de um projeto de melhoramento de melancia em 1971. As fontes de resistência foram utilizadas em retrocruzamentos com as cultivares 'Jubilee' e 'Crimson Sweet', resultando no lançamento de 'AU-Jubilant' e 'AU-Producer', respectivamente, em 1983. Estas duas cultivares mostraram resis-

tência a *D. bryoniae*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* e *Colletotrichum lagenarium* raça 2.

O presente trabalho teve por objetivo selecionar acessos de melancia resistentes à podridão gomosa que poderão ser utilizados para futuros trabalhos de melhoramento.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos três ensaios em casa-de-vegetação na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em Recife-PE, para avaliar o comportamento de 70 acessos de melancia existentes no Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (EMBRAPA/CPATSA), quanto à resistência a *D. bryoniae*. Dentre os acessos estudados, quinze foram provenientes da

*¹ Parte da dissertação de mestrado em Agronomia/Fitossanidade da primeira autora apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE.

região de Irecê (BA); outros quinze da região de Petrolina (PE); e um do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), que compuseram os tratamentos do experimento I (Tabela 1). Para compor o experimento II, foram utilizados 18 acessos da região da Chapada Diamantina (BA) e 21 da região de Pastos Bons (MA) (Tabela 1). Um ensaio comparativo (experimento III, Tabela 1) foi conduzido com acessos previamente identificados nos experimentos I e II. As condições climáticas prevalentes nos ensaios anteriores foram de maior umidade relativa do ar e menor luminosidade que as do experimento III. Cada acesso, para ser incluído no experimento III, deveria apresentar no mínimo 50% de plantas com notas 2 e 3. A cultivar Crimson Sweet foi usada como testemunha suscetível nos três experimentos.

Sementes dos acessos foram semeadas em bandejas de isopor, contendo substrato composto de cinzas vegetais e vermiculita, tratado com brometo de metila. As mudas foram transplantadas doze dias após a semeadura para sacos de polietileno azul, preenchidos com dez litros de solo esterilizado com brometo de metila, sendo colocadas quatro plantas por saco.

O isolado de *D. bryoniae* utilizado foi obtido de haste de melancia apresentando lesões típicas da doença, procedente do município de Petrolina-PE. Em câmara asséptica, efetuou-se a transferência de picnídios e micélio do patógeno para placas de Petri com meio BDA. As placas foram incubadas à temperatura de aproximadamente 25°C, em regime de luminosidade constante, sob luz negra, por dez dias. O inóculo consistiu de uma suspensão de conidiosporos na concentração de $3,18 \times 10^5$ conidiosporos/ml, em que adicionou-se espalhante adesivo Tween 80 a 0,005%.

A inoculação das plantas foi efetuada treze dias após a semeadura, através da pulverização da parte aérea das plantas, no estágio da emissão da primeira folha verdadeira e através de picada de agulha, na região do colo. Antes da inoculação foram feitos ferimentos mecânicos com gaze esterilizada nos cotilédones e folhas definitivas. Após a

Tabela 1- Classificação dos acessos de melancia, de acordo com a reação à *Didymella bryoniae*. UFRPE, Recife-PE, 1993

Acessos	Severidade (nota)	Nível de Resistência ²	Acessos	Severidade (nota)	Nível de Resistência ²
experimento I ¹					
BA1	3,92	S	PE2	4,83	AS
BA2	4,25	S	PE3	4,67	AS
BA3	4,42	S	PE4	4,83	AS
BA4	4,25	S	PE5	4,58	AS
BA5	3,67	S*	PE6	4,33	S
BA6	3,50	MR**	PE7	4,17	S
BA7	3,92	S	PE8	4,42	S
BA8	4,58	AS	PE9	4,25	S
BA9	4,17	S	PE10	4,67	AS
BA10	4,25	S	PE11	3,25	MR**
BA11	4,25	S	PE12	3,33	MR**
BA12	4,58	AS	PE13	4,08	S
BA13	4,25	S	PE14	3,25	MR**
BA14	4,75	AS	PE15	4,42	S
BA15	4,83	AS	PI 189255	3,67	S*
PE1	4,83	AS	C. Sweet	4,67	AS
experimento II ¹					
MA1	3,83	S	MA22	4,42	S
M12	3,42	MR*	BA16	3,58	S
M13	4,17	S	BA17	4,08	S
M14	4,17	S	BA18	4,08	S
M15	4,50	S	BA19	3,50	MR**
M16	4,33	S	BA20	4,08	S
MA7	3,33	MR**	BA21	3,67	S
MA8	4,00	S	BA22	4,08	S
MA9	4,08	S	BA23	3,50	MR**
MA10	4,08	S	BA24	4,25	S
MA11	3,42	MR*	BA25	4,08	S
MA12	3,92	S	BA26	4,33	S
MA13	3,58	S	BA27	4,33	S
MA14	3,33	MR**	BA28	4,33	S
MA15	4,58	AS	BA29	3,92	S
MA16	2,92	MR**	BA30	3,92	S
MA17	3,33	MR	BA31	4,17	S
MA18	3,42	MR*	BA32	4,00	S
MA19	3,42	MR*	BA33	4,00	S
MA20	3,50	MR*	C. Sweet	4,42	S
experimento III ¹					
PE11	2,62	MR**	BA6	2,87	MR**
PE12	2,81	MR**	BA19	3,03	MR**
PI 189225	2,41	R**	MA7	2,69	MR**
BA5	2,75	MR**	C. Sweet	4,41	S
Controle 1,00 Não Inoculado					

(1) Médias de 12 plantas (experimentos I e II) e 32 plantas (experimento III).

(2) Resistente (R); Medianamente Resistente (MR); Suscetível (S); Altamente Suscetível (AS).

* Diferente significativamente a nível de 5% pelo contraste ortogonal entre a testemunha suscetível (cv. Crimson Sweet) e o acesso.

** Diferente significativamente a nível de 1% pelo contraste ortogonal entre a testemunha suscetível (cv. Crimson Sweet) e o acesso.

inoculação, as plantas foram mantidas por 48 horas em câmara úmida, formada por sacos plásticos transparentes e umedecidos internamente. As plantas utilizadas como controle, para cada acesso, sofreram o mesmo tratamento das plantas inoculadas, sendo o inóculo substituído por água destilada e esterilizada, com Tween 80 na mesma concentração.

O delineamento experimental empregado nos experimentos I, II e III foi inteiramente casualizado, com 3, 3 e 7 repetições, respectivamente, sendo cada parcela constituída por quatro plantas.

A avaliação da resistência dos acessos de melancia foi realizada sete dias após a inoculação, através de uma escala de notas, adaptada de Sowell & Pointer (1962) e Van Steekelenburg (1985), variando de 1 a 5, onde: 1 - ausência de sintomas visíveis (altamente resistente - AR); 2 - manchas pequenas, raras, de contorno bem delimitado e que não evoluem para necrose nas folhas jovens; nenhum escurecimento na região do colo (resistente - R); 3 - leve queima dos bordos dos cotilédones, suave má formação foliar e leve escurecimento na região do colo (medianamente resistente - MR); 4 - necrose dos cotilédones, má formação foliar, colo com acentuado escurecimento ou hiperplasia e início de fendilhamento; plantas com poucas chances de sobrevivência (susceptível - S); 5 - necrose severa dos cotilédones e das folhas jovens, acentuado fendilhamento no colo, incluindo morte da planta (altamente susceptível - AS).

Os acessos mais promissores como fonte de resistência, identificados nos experimentos I e II foram reavaliados em um ensaio comparativo (experimento III), exceto aqueles que apresentaram problemas de germinação. Também foram incluídos no experimento III os acessos considerados suscetíveis que apresentaram no mínimo 50% de plantas resistentes e medianamente resistentes. Para a média das notas, foi utilizada a seguinte faixa de variação: AR = 1; R = > 1 até 2,5; MR = 2,6 até 3,5; S = 3,6 até 4,5; AS = > 4,5 (Dias, 1993).

Foram feitos contrastes ortogonais (SAS, 1989) entre a testemunha suscetível e os acessos considerados resistentes ou moderadamente re-

sistentes e os suscetíveis que apresentaram mais de 50% de plantas com notas 2 e 3, bem como entre o controle e todos os acessos inoculados no experimento III.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes a severidade da doença obtidos no estudo do comportamento de melancia a *D. bryoniae*, quando submetidos à análise de variância, revelaram diferenças significativas.

Observou-se que somente quatro acessos dos 31 testados no experimento I mostraram um índice médio para severidade entre 3,25 - 3,5, a saber: BA6, PE12, PE11 e PE14, revelando mediana resistência ao patógeno (Tabela 1) e diferindo significativamente de 'Crimson Sweet' a 1% de probabilidade. O valor relacionado a cada acesso representa a média das notas das plantas avaliadas. Porém, em resposta à inoculação do patógeno, verificou-se variabilidade genética não só entre acessos, mas também dentro de um mesmo acesso, ocorrendo plantas resistentes (BA3, BA7, PE12, PE13, PE14 e PI 189225), suscetíveis e altamente suscetíveis simultaneamente em um mesmo acesso. A grande variabilidade genética entre e dentro dos acessos coletados pela EMBRAPA/CPATSA foi também observada por Queiroz (1993), em relação à cor da casca, da polpa, da semente e no tamanho e forma de fruto, além do teor de sólidos solúveis (brix). No presente trabalho, foram observadas nos acessos PE12 e PE14, respectivamente, 8,3 e 25% de plantas com reduzido número de pequenas manchas de contorno bem delimitado, que não evoluíram para necrose nas folhas jovens e nenhum escurecimento na região do colo. Tais plantas avaliadas em casa-de-vegetação e selecionadas como resistentes, caso mantenham em campo esta reação, poderão ser utilizadas como parentais em futuros trabalhos de melhoramento.

O acesso PI 189225, apesar de apresentar 16,6% e 41,7% de plantas respectivamente resistentes e medianamente resistentes foi classificado como suscetível. Ainda assim, diferiu significativamente no contraste da cv. 'Crimson Sweet' (Tabela 1), classi-

ficada como altamente suscetível. Sowell & Pointer (1962) classificaram o PI 189225 como resistente a *D. bryoniae*, considerando os resultados obtidos em três ensaios. No entanto, vale salientar que estes autores observaram 38,1% de plantas mortas em um dos ensaios. Possivelmente, as sementes de PI 189225 utilizadas por Sowell & Pointer (1962) não estavam em homozigose para o caráter resistência à doença, assim como também não estavam as utilizadas no presente trabalho.

A análise de variância para severidade da doença no experimento II mostrou diferenças significativas ao nível de 1% entre os acessos. De acordo com os resultados obtidos neste ensaio, dos 39 acessos avaliados, onze (BA19, MA20, BA23, MA2, MA11, MA18, MA19, MA14, MA7, MA17 e MA16) apresentaram um índice médio para severidade entre 2,9 - 3,5, comportando-se como medianamente resistentes ao patógeno (Tabela 1).

Os contrastes entre a testemunha suscetível e os acessos medianamente resistentes (MR) revelam diferenças significativas ao nível de 1% para os acessos MA7, MA14, MA16 e MA17 e significativas ao nível de 5% para os acessos BA19, BA23, MA2, MA11, MA18, MA19 e MA20. As considerações feitas quanto à variabilidade genética dos acessos avaliados no experimento I também são válidas para os acessos do experimento II. Vale salientar que, dos acessos avaliados nos dois ensaios, MA16 apresentou 16,7% de plantas resistentes e revelou apenas 8,3% de plantas suscetíveis, o que corresponde ao menor percentual encontrado. No entanto, este acesso foi um dos que apresentou problemas de germinação e por isso não foi incluído no ensaio comparativo (experimento III). Outro aspecto a ser considerado no presente ensaio é a maior frequência de plantas resistentes dentro dos acessos coletados na região de Pastos Bons (MA). Possivelmente, o ambiente úmido existente naquele local tenha favorecido à seleção natural de genes para resistência a *D. bryoniae*.

A análise de variância para severidade no experimento III revelou diferença significativa ao nível de 1% entre os acessos. Os índices médios de

severidade em todos os acessos variaram de 3,03 a 2,41, permitindo classificá-los como medianamente resistentes e resistentes (Tabela 1). Dos acessos estudados neste experimento, PI 189225 destacou-se com índice médio para severidade de 2,41, apresentando o maior nível de resistência.

Os resultados obtidos confirmam a mediana resistência dos acessos PE11, PE12, BA6, BA19 e MA7, avaliados anteriormente, mas diferem em relação aos acessos PI 189225 e BA5, que, neste experimento, se apresentaram como resistente e medianamente resistente a *D. bryoniae*, respectivamente. A diferença de comportamento dos acessos entre os experimentos pode ser devido ao fato de estarem segregando para o caráter. Além disso, o índice médio para severidade de todos os acessos foi menor que o obtido nos ensaios anteriores. Possivelmente, a maior umidade relativa do ar proporcionou um maior grau de severidade da doença nos experimentos I e II. Segundo Arny & Rowe (1991) a infecção em folhas e pecíolos de pepino por *D. bryoniae* foi mais influenciada pela duração da umidade na superfície das plantas que pela temperatura. Da mesma forma, Van Steekelenburg (1985) mencionou que em folhas de pepino a doença era muito mais severa quando a superfície foliar estava sempre úmida, assim como, para expansão das lesões, era necessária maior persistência da umidade nas mesmas. De acordo com Prabhu & Moraes (1993), as diferenças genotípicas são expressas em graus variáveis em relação à resistência a doenças de acordo com o ambiente, pois este afeta a adaptação do patógeno, a resistência do hospedeiro e a interação hospedeiro-patógeno.

Os valores de F de alguns contrastes ortogonais revelaram diferenças significativas entre o padrão de suscetibilidade, cv. 'C. Sweet', e o conjunto dos acessos avaliados. O acesso PI 189225, que no experimento III apresentou o mais baixo índice com relação a severidade, também se distinguiu dos demais acessos avaliados neste experimento. O acesso BA19, que no experimento III apresentou o maior índice de severidade entre os acessos avaliados,

quando comparado à cv. 'Crimson Sweet', mostrou-se significativamente distinto. Com referência a BA19 e BA5, observou-se comportamento semelhante, não havendo diferença estatística entre eles. Portanto, no experimento III, exceto pelo PI 189225, todos os acessos foram estatisticamente semelhantes entre si.

Um aspecto a ser considerado nos três experimentos se refere ao sistema de avaliação de sintomas através do emprego de uma escala de notas. Lhotsky *et al.* (1991) avaliaram espécies selvagens de *Cucumis* quanto à resistência a *D. bryoniae* utilizando uma escala de notas que considerava sintomas visíveis, leve e intenso amarelecimento ou lesões úmidas. Meer *et al.* (1978), por sua vez, consideraram que os sintomas nos cotilédones e pontos de crescimento não são bases consistentes para uma avaliação. Já Dusi *et al.* (1994), vertendo a suspensão de esporos diretamente no solo, avaliaram genótipos de melão quanto à resistência a *D. bryoniae*, 60 dias após a inoculação, com base em uma escala de notas que considerava o surgimento de lesão encharcada no colo da planta. No presente trabalho, adotou-se uma escala que possibilitou uma maior abrangência da reação das plantas inoculadas, permitindo uma melhor avaliação da resistência dos acessos de melancia a *D. bryoniae* em um curto espaço de tempo.

Nas condições em que o presente trabalho foi desenvolvido, destacaram-se os acessos PI 189225, PE11, PE12, BA6, BA19 e MA7 como fontes promissoras de resistência a *D. bryoniae*. Finalmente, os resultados obtidos nos experimentos de avaliação de acessos de melancia mostram a possibilidade de se avaliar um grande número de acessos com boa representatividade e assim selecionar genótipos mais promissores quanto à resistência a *D. bryoniae* no estádio juvenil, levando para o campo as plantas selecionadas. Tal metodologia poderá ser de grande utilidade em trabalhos de transferência da referida resistência para cultivares comerciais, bem como na avaliação das gerações segregantes, visando selecionar plantas resistentes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FACEPE e CNPq pelo financiamento parcial deste trabalho e ao pesquisador Carlos Alberto Vasconcelos de Oliveira, pelo apoio nas análises estatísticas.

LITERATURA CITADA

- ARNY, C.J. & ROWE, R.C. Effects of temperature and duration of surface wetness on spore production and infection of cucumbers by *Didymella bryoniae*. *Phytopathology*, v.81, n.2, p.206-209, 1991.
- DIAS, R. de C.S. Características fisiológicas de *Didymella bryoniae* (Auersw)Rehm e fontes de resistência em melancia (*Citrullus lanatus*) (Thunb) Mansf. Recife: UFRPE, 1993. 143p. (Tese de Mestrado).
- DUSI, A.N.; TASAKI, S.; VIEIRA, J.V. Metodologia para avaliação de resistência a *Didymella bryoniae* em melão. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.12, n.1, p.43-44, maio 1994.
- LHOTSKY, B.; LEBEDA, A.; ZVARA, J. Resistance of wild *Cucumis* species to gummy stem blight (*Didymella bryoniae*). *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, v.26, n.3-4, p.303-306, 1991.
- MALATHRAKIS, N.E. & VABALOUNAKIS, D.J. Resistance to benzimidazole fungicides in the gummy stem blight pathogen *Didymella bryoniae* in cucurbits. *Plant Pathology*, v.32, p.395-399, 1983.
- MEER, Q.P.; BENNEKON, J.L. van der.; GIESSEN, A.C. van der. Gummy stem blight resistance of cucumbers (*Cucumis sativus*). *Euphytica*, v.27, p.861-864, 1978.
- PRABHU, A.S. & MORAIS, O.P. Resistência às doenças de plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v.1, n.1, p.239-273, 1993.
- NORTON, J.D. & COSPER, R.D. Breeding watermelons for disease resistance. *Phytopathology*, v.75, n.10, p.1178, 1985.
- QUEIROZ, M.A. de. Potencial do germoplasma de cucurbitáceas no Nordeste Brasileiro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.11, n.1, p.7-9, maio 1993.
- SAS INSTITUTE INC. *SAS/STAT - User's Guide*, Version 6, 4ª Ed. Volume 2. Cary, NC: SAS Institute Inc, 1989. 846p.
- SOWELL, G.Jr. & POINTER, G.R. Gummy stem blight resistance of introduced watermelons. *Plant Disease Reporter*, v.46, n.12, p.883-885, 1962.
- VAN STEEKELENBURG, N.A.M. Influence of humidity on incidence of *Didymella bryoniae* on cucumber leaves and growing tips under controlled environmental conditions. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, v.91, p.277-283, 1985.