Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

**Caracterização e ocorrência de agentes causais de oídio em cucurbitáceas no
Brasil e reação de germoplasma de meloeiro**

Ana Carolina Fazza

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Fitopatologia**

Piracicaba
2006

Ana Carolina Fazza
Engenheiro Agrônomo

**Caracterização e ocorrência de agentes causais de oídio em cucurbitáceas no Brasil e reação
de germoplasma de meloeiro**

Orientador:
Prof. Dr. LUIS EDUARDO ARANHA CAMARGO

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Fitopatologia**

Piracicaba
2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Fazza, Ana Carolina

Caracterização e ocorrência de agentes causais de oídio em cucurbitáceas no Brasil e reação de germoplasma de meloeiro / Ana Carolina Fazza. - - Piracicaba, 2006.
60 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.

1. Cucurbitácea 2. Fungo fitopatogênico 3. Germoplasma 4. Melão 5. Oídio 6. Variedades vegetais I. Título

CDD 635.61

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus pais, Edson e Luci,
às minhas irmãs, Kari e Cris,
ao meu eterno namorado, Cristiano,
e às amigas, Gaia, Core e Mel,
pela paciência, companheirismo e amor
indispensáveis.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades e pela possibilidade de escolher em todas elas.

Ao Professor Aranha, pela atenção, paciência, orientação e dedicação plena.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pela formação acadêmica e pessoal e pelo maravilhoso parque, do qual pude desfrutar.

À Sakata Seed Sudamerica Ltda. (SDA), pela contribuição com o material vegetal, isolados fúngicos e estrutura física necessários à execução do trabalho.

Aos colaboradores do Laboratório de Genética Molecular (LGM): Fatima Aparecida da Silva Barreto, Ana Paula Matoso Teixeira, Sandra Marisa Mathioni, Daniel Dias Rosa, Juliana Érika de Carvalho Teixeira e Fernanda Guedes pelo auxílio técnico-científico durante a execução do trabalho.

Aos colaboradores da SDA: Olga Satie Suzuki, Rômulo Fujito Kobori, Paulo Tarso Della-Vecchia e Kátia Regiane Brunelli pelo auxílio técnico-científico durante a execução do trabalho.

Aos amigos do LGM: Reinaldo, Fatima, Aninha, Sandra, Juliana, Fernanda, Thayne, Júlia, Rapha, Érika, Cíntia, Lílían, Osmar e Daniel pela pronta disponibilidade, paciência suprema e eterna amizade.

Às amigas Vanessa, Alessandra e Marisa pelas conversas descontraídas.

À República Poisé pelo apoio e momentos de distração.

Aos colegas dos cursos de pós-graduação em Fitopatologia e em Genética e Melhoramento de Plantas pelos churrascos bastante oportunos.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia pelo exemplo profissional, ensinamentos e orientação durante todo o curso.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia: Helô, Fernanda, Rodolfo, Jeferson, Linda, Sr. Pedro, Liliane, Sílvia, Edivaldo, Carmem e Sandrinha pela presença, auxílio e disponibilidade.

Àqueles que colaboraram com a coleta e envio dos isolados fúngicos, em especial a Antonio Kenji Nomi, João Francisco, Márcio Lima, Ricardo Gioria, Márcio Jampani, Joelson Freitas, Márcio Totti, Antonio Carlos, Cristiano Moura, Rita de Cássia Dias, Carlos Nakajima, Jeanny e Maurício Castro Alves.

À FAPESP pela concessão da bolsa de estudo.

"Escolha um trabalho que tu ames e não terás que trabalhar um único dia em tua vida".

Confúcio

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO.....	9
Referências	11
2 LEVANTAMENTO DE RAÇAS DE <i>Podospaera xanthii</i> EM CUCURBITÁCEAS NO BRASIL	14
Resumo	14
Abstract.....	14
2.1 Introdução.....	15
2.2 Desenvolvimento	17
2.3 Conclusões.....	25
Referências	25
3 PROPOSTA DE SISTEMA PARA DETERMINAÇÃO DE RAÇAS DE <i>Podospaera xanthii</i>	30
Resumo	30
Abstract.....	30
3.1 Introdução.....	31
3.2 Desenvolvimento	33
3.3 Considerações Finais	40
Referências	40
4 REAÇÃO DE GERMOPLASMA COMERCIAL DE MELOEIRO A <i>Podospaera xanthii</i> ...	43
Resumo	43
Abstract.....	43
4.1 Introdução.....	44
4.2 Desenvolvimento	45
4.3 Considerações Finais	52
Referências	52
5 PROTOCOLO PARA A EXTRAÇÃO DE DNA DE <i>Podospaera xanthii</i> , AGENTE CAUSAL DO OÍDIO EM CUCURBITÁCEAS.....	56
Resumo	56
Abstract.....	56
5.1 Introdução.....	56
5.2 Desenvolvimento	57
5.3 Considerações Finais	59
Referências	59

RESUMO

Caracterização e ocorrência de agentes causais de oídio em cucurbitáceas no Brasil e reação de germoplasma de meloeiro

O meloeiro é uma cultura de relevância econômica no Brasil, principalmente na região Nordeste, onde grande parte da produção é exportada. Entre os fatores limitantes da cultura está o oídio, que pode ser controlado através do uso de variedades resistentes. No entanto, para que isto seja possível, é necessário que se tenha conhecimento sobre qual é o agente causal em ocorrência na região de produção e quais são as fontes de inóculo desta doença. O presente trabalho teve como objetivos o levantamento das espécies e raças de oídio com ênfase na região Nordeste, a verificação da patogenicidade de isolados provenientes de outras cucurbitáceas em relação ao meloeiro, a avaliação de germoplasma de meloeiro para resistência a *P. xanthii* raça 2 (francesa), a proposição de um sistema de cultivares de meloeiro para caracterização de raças de *P. xanthii* e a otimização de um protocolo de extração de DNA de *P. xanthii*. No total de 65 isolados analisados, observou-se que *Podosphaera xanthii* foi a única espécie encontrada entre as amostras. Dentre estas, as raças 1 e 2 foram as prevalentes. Também foram observadas as raças 0, 3, 4 e 5 em menor frequência. As culturas de abóbora, abobrinha, melancia e pepino apresentaram-se como fontes de inóculo de oídio para o meloeiro, uma vez que todos os isolados provenientes destas culturas colonizaram discos foliares de meloeiro. Em geral, os genótipos de melão cultivados comercialmente no Brasil apresentaram-se resistentes a raça 2 (francesa) de *P. xanthii*. A partir da observação das raças ocorrentes no país e de dados da literatura, propôs-se um sistema de cultivares de meloeiro diferenciadoras para raças de *P. xanthii* a ser empregado em monitoramentos do patógeno. Um protocolo para extração de DNA de *P. xanthii* também foi obtido com a finalidade de facilitar estudos genéticos sobre o patógeno com base em marcadores moleculares.

Palavras-chave: *Podosphaera xanthii*; Oídio; Cucurbitáceas; Melão; PCR

ABSTRACT

Characterization and occurrence of causal agents of powdery mildew in cucurbits in Brazil and reaction of melon germplasm

Melon is an economically important crop in Brazil, mainly in the north-east region, where most of the production is exported. Among the limiting factors of the crop is powdery mildew, which can be controlled by using resistant varieties. However, to make it possible, it is necessary to know the causal agent in occurrence in the production region and what are the inoculum sources of this disease. The present work had as objectives the survey of the powdery mildew species and races with emphasis in the north-east region; the verification of the strains pathogenicity deriving from others cucurbits in melon; the evaluation of melon germplasm to *Podosphaera xanthii* race 2 (french) resistance; the proposition of a system of melon cultivars to characterize the *P. xanthii* races and the optimization of a protocol to *P. xanthii* DNA extraction. Over all of the 65 strains analysed, it was observed that *P. xanthii* was the unique specie encountered between the samples. Within that, the races 1 and 2 were prevalents. Also were observed the races 0, 3, 4 and 5 at low frequency. Squash, zucchini, watermelon and cucumber crops showed up like inoculum sources of powdery mildew to melon. Usually, the melon genotypes commercially cultivated in Brazil showed up resistant to *P. xanthii* race 2 (french). After the observation of races in occurrence and datas from literature, a system of melon cultivars was proposed to differentiate *P. xanthii* races to be used in surveys of the pathogen. A protocol to extraction *P. xanthii* DNA also was proposed with the purpose to facility genetics studies about the pathogen basis on molecular markers.

Key words: *Podosphaera xanthii*; Powdery mildew; Cucurbits; Melon; PCR

1 INTRODUÇÃO

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma fruta conhecida e cultivada há muitos séculos no mundo todo. Em geral, o ciclo da cultura dura de 70 a 100 dias, porém, para algumas cultivares mais precoces pode ser de 60 dias. Provavelmente é originário da Ásia e da África e posteriormente foi levado para a Europa (EL TAHIR; YOUSIF, 2004). O melão pertence à família das cucurbitáceas, que compreende também o pepino (*Cucumis sativus*), a abóbora (*Cucurbita maxima*), a abobrinha (*Cucurbita pepo*) e a melancia (*Citrullus lanatus*) dentre outras. Segundo Silva e Costa (2003), o melão é uma fruta muito apreciada e de popularidade ascendente no Brasil, sendo consumida em larga escala também na Europa, Japão e Estados Unidos. Neste último país o consumo per capita anual de melão e melancia é de 11,6 Kg, somente superado pela banana, que é de 12,6 Kg (PAIVA, 2006).

Esta cultura contribui significativamente para a geração de empregos e para a economia brasileira, principalmente na região Nordeste, uma vez que esta tem a maior participação na produção e exportação da fruta. Em 2004, nesta região, foram produzidas 319.544 toneladas do fruto em 12.648 hectares, produção que corresponde a 95 % do total produzido no Brasil divididos principalmente entre os estados do Rio Grande do Norte, do Ceará, da Bahia e de Pernambuco (IBRAF, 2006). No mesmo ano, cerca de 143.000 toneladas do fruto foram exportadas, correspondendo a US\$ 63,25 milhões. Até junho de 2005, 50.515 toneladas do fruto haviam sido exportadas, gerando US\$ 23,9 milhões (FNP, 2006). O melão foi a terceira fruta *in natura* mais exportada pelo Brasil durante 2004, sendo a banana e a maçã as primeiras em quantidade e a castanha de caju e a maçã as primeiras em valores, respectivamente (FNP, 2006). O sucesso do meloeiro na região Nordeste se explica, pois a cultura tem ótimo desenvolvimento em clima quente e seco, com temperatura ideal entre 25 e 32 °C, solos com baixa umidade e ricos em matéria orgânica.

Entre os fatores limitantes à manutenção da competitividade do Brasil no mercado de melão estão a reduzida exploração dos recursos naturais como água, solo e clima, o reduzido investimento na pesquisa e no desenvolvimento de novas tecnologias para melhorias no sistema de produção (SILVA; COSTA, 2003) e a resistência a somente algumas das principais doenças da cultura no país (COSTA; SILVA, 2003). Na região Nordeste, as doenças virais e fúngicas são as mais preocupantes, destacando-se os mosaicos, o cancro-da-haste e o oídio. No caso desta

última, o cultivo é problemático em áreas com baixa pluviosidade e somente cultivares resistentes podem ser cultivadas com sucesso (PAIVA, 2006).

O oídio, causado principalmente pelos fungos *Podosphaera* (sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castag.) U. Braun & N. Shish. (*Sphaerotheca fuliginea* (Schlechtend:Fr.) Pollacci) e *Golovinomyces cichoracearum* (*Erysiphe cichoracearum* DC. ex Merat), ocorre frequentemente em espécies cultivadas e selvagens e é uma das mais destrutivas doenças foliares de cucurbitáceas. Com crescimento branco e pulverulento correspondente a micélio, conidióforos e conídios, este patógeno causa redução da área fotossintética da planta, afetando seu desenvolvimento e formação dos frutos. A importância econômica desta doença depende da espécie e/ou cultivar envolvida e das condições ambientais onde ocorre. Diversas raças fisiológicas infectam espécies de cucurbitáceas, sendo algumas das espécies mais afetadas o melão, a abóbora e o pepino, enquanto que outras, como a melancia, geralmente apresentam maior resistência (McGRATH; THOMAS, 1996).

Não há dados atuais que quantifiquem as perdas geradas pela doença em cucurbitáceas, mas trabalhos sobre a reação de germoplasma foram realizados por vários pesquisadores, principalmente para as culturas de melão, abóbora e pepino (AHMED et al., 2000; AHMED; EL JACK; MOHAMED, 1997; COHEN et al., 1993; COHEN; HANAN; PARIS, 2003; FANOURLAKIS, 1990; JAIN; VERMA, 2000; PERCHEPIED et al., 2005; SANTOS; CRISÓSTOMO; CARDOSO, 2004; SOWELL; CORLEY, 1974). Os principais danos se refletem na perda de área foliar fotossintetizante, na redução do tamanho e número de frutos e no menor período produtivo das culturas. Em melão há menor acúmulo de sólidos solúveis, resultando em sabor menos adocicado, ao passo que em abóboras há menor durabilidade pós-colheita e descoloração ou murcha da casca e pescoço (McGRATH; THOMAS, 1996).

Um problema muito comum é a identificação dos principais agentes causais de oídio em melão, *Podosphaera xanthii* e *Golovinomyces cichoracearum*, quando estes são observados em sua forma imperfeita (BALLANTYNE, 1975). A fase perfeita, embora ofereça uma identificação acurada, raramente ocorre na natureza (STADNIK; KOBORI; BETTIOL, 2001). *P. xanthii* já foi relatado como agente causal do oídio no Brasil (REIFSCHNEIDER; BOITEUX; OCCHIENA, 1985). Em adição a isso, *P. xanthii* isolado de uma espécie de cucurbitácea pode infectar outras espécies da mesma família (del PINO et al., 2002). Portanto, plantas da família em locais

próximos à área de cultivo podem constituir potencial fonte de inóculo para a ocorrência da doença.

No Brasil, o oídio está presente tanto em cultivos em campo aberto como em cultivos protegidos. Contudo, não há descrições precisas sobre a ocorrência dos gêneros de oídio, nem de suas raças nas principais áreas produtoras de melão no Brasil, como a região Nordeste. O uso de cultivares resistentes é um dos melhores métodos para o controle de oídio de cucurbitáceas, por ser um método de baixo custo, não agressivo ao meio ambiente e eficaz. Contudo, somente para melão, pepino e algumas abóboras há disponibilidade de fontes apropriadas de resistência (STADNIK; KOBORI; BETTIOL, 2001). No entanto, a existência de raças fisiológicas do fungo, em diferentes frequências por todo o mundo, dificulta o avanço dos programas de melhoramento genético, pois um material resistente ao patógeno em um local pode ser suscetível em outro, dependendo da composição racial da população do patógeno ali presente. Por isso, uma condição fundamental para o sucesso no emprego de genes de resistência para o controle de oídios é o conhecimento prévio das raças do patógeno presentes nos locais de produção. Como a prevalência de uma raça sobre outra pode variar com o passar dos anos em uma mesma região (COHEN; BURGER; KATZIR, 2004), faz-se necessário um monitoramento da ocorrência destas raças em campos de produção nacionais.

Deste modo, os objetivos do presente trabalho incluíram um levantamento das espécies e raças de oídio com ênfase em cultivos de meloeiro na região Nordeste, a verificação da patogenicidade de isolados provenientes de outras cucurbitáceas em relação ao meloeiro, a avaliação de germoplasma de meloeiro para resistência a *P. xanthii* raça 2 (francesa), a proposição de um sistema de cultivares de meloeiro para caracterização de raças de *P. xanthii* e a otimização de um protocolo de extração de DNA a partir de micélio, conidióforos e conídios de *P. xanthii*.

Referências

AHMED, E. A.; EL JACK, A. E.; MOHAMED, Y. F. Breeding for resistance to powdery mildew in snake melon (*Cucumis melo* var. *flexuosus*) in Sudan. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, North Carolina, v. 20, p. 30 – 31, 1997.

AHMED, E. A.; IBN OAF, H. S.; SULIMAN, M. E.; EL JACK, A. E.; MOHAMED, Y. F. Selection of snake melon lines (*Cucumis melo* var. *flexuosus*) resistant to different races of powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht ex Fr.) Poll. in Sudan. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, North Carolina, v. 23, p. 27 – 29, 2000.

BALLANTYNE, B. Powdery mildew on Cucurbitaceae: identity, distribution, host range and sources of resistance. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales**, Sydney, v. 99, p. 100-120, 1975.

COHEN, R.; HANAN, A.; PARIS, H. S. Single-gene resistance to powdery mildew in zucchini squash (*Cucurbita pepo*). **Euphytica**, Netherlands, v. 130, p. 433 – 441, 2003.

COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 32, p. 174-183, 2004.

COHEN, R.; LEIBOVICH, G.; SHTIENBERG, D.; PARIS, H. S. Variability in the reaction of squash (*Cucurbita pepo*) to inoculation with *Sphaerotheca fuliginea* and methodology of breeding for resistance. **Plant Pathology**, Oxford, v. 42, p. 510 – 516, 1993.

COSTA, N. D.; SILVA, H. R. Cultivares. In: **Melão: produção aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Hortaliças, Embrapa Semi-árido, Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 29 – 34.

del PINO, D.; OLALLA, L.; PEREZ-GARCIA, A.; RIVERA, M.E.; GARCIA, S.; MORENO, R.; VICENTE, A.; TORES, J.A. Occurrence of races and pathotypes of cucurbit powdery mildew in southeastern Spain. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 30, p. 459-466, 2002.

EL TAHIR, I. M.; YOUSIF, M. T. Indigenous melons (*Cucumis melo* L.) in Sudan: a review of their genetic resources and prospects for use as sources of disease and insect resistance. **Plant Genetic Resources Newsletter**. FAO – IPGRI, 2004, v. 138, p. 36 – 42. Disponível em: <<http://www.ipgri.cgiar.org/pgmnewsletter>>. Acesso em: 16 mar. 2006.

FANOURAKIS, N. E. Screening procedures for powdery mildew resistance in the cucumber. **Acta Horticulturae**, Belgium, v. 287, p. 147 – 154, 1990.

FNP CONSULTORIA & AGROINFORMATIVOS. Melão. In _____. **Agrianual 2006**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2006. p. 333-384.

Instituto Brasileiro de Frutas IBRAF. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/x-es/f-esta.html>>. Acesso em: 05 maio 2006.

JAIN, J.; VERMA, V. K. Characterization of identified disease resistant lines in melon, *Cucumis melo* L. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, North Carolina, v. 23, p. 37 – 40, 2000.

McGRATH, M.T.; THOMAS, C.E. Powdery Mildew. In: ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. (Ed.). **Compendium of cucurbit diseases**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1996, p. 28-30.

PAIVA, W. O. Melhoramento genético do melão. Fortaleza: Embrapa, 2006. 12 p. Disponível em: <<http://www.cpatia.embrapa.br/catalogo/livroorg/melao.pdf>>. Acesso em: 04 maio 2006.

PERCHEPIED, L.; BARDIN, M.; DOGIMONT, C.; PITRAT, M. Relationship between loci conferring downy mildew and powdery mildew resistance in melon assessed by quantitative trait loci mapping. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 95, p. 556 – 565, 2005.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; BOITEUX, L.S.; OCCHIENA, E.M. Powdery mildew of melon (*Cucumis melo*) caused by *Sphaerotheca fuliginea* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 69, p. 1069–1070, 1985.

SANTOS, A.A.; CRISÓSTOMO, J.R.; CARDOSO, J.W. Avaliação de híbridos de melão quanto às principais doenças nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 14p.

SILVA, H. R.; COSTA, N. D. Melão: produção aspectos técnicos. Brasília: Embrapa Hortaliças, Embrapa Semi-árido, Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 144 p.

SOWELL JUNIOR, G.; CORLEY, W. L. Severity of race 2 of *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht.) Poll. on muskmelon introductions reported resistant to powdery mildew. **HortScience**, Alexandria, v. 9, p. 398 – 399, 1974.

STADNIK, M.J.; KOBORI, R.F.; BETTIOL, W. Oídios de cucurbitáceas. In: STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. (Ed.). **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001, cap. 9. p. 217-254.

2 LEVANTAMENTO DE RAÇAS DE *Podosphaera xanthii* EM CUCURBITÁCEAS NO BRASIL

Resumo

Oídio é uma doença fúngica de ocorrência comum em cucurbitáceas e pode ser causada por *Podosphaera xanthii* ou *Golovinomyces cichoracearum*. No Brasil, a doença é importante nas culturas de abóbora, pepino e melão, devido à relevância econômica destas culturas. Sua importância deve-se aos prejuízos às plantas e aos frutos. Sessenta e cinco isolados de oídio obtidos de culturas de abóbora, abobrinha, melancia, melão e pepino foram identificados em nível de espécie e caracterizados quanto à raça por meio de inoculações em cultivares de meloeiro diferenciadoras de raças de *P. xanthii*. Somente a espécie *Podosphaera xanthii* foi identificada. Foram observadas as raças 0, 1, 2 e 3, com predominância das raças 1 e 2. Notou-se que as populações são dinâmicas, uma vez que relatos da raça 2 no Brasil eram raros e neste trabalho as frequências das raças 1 e 2 foram equivalentes. Apenas quatro isolados provenientes de melancia foram caracterizados como raça 0 e cinco isolados, provenientes de meloeiro, como raça 3. Todos os isolados foram patogênicos ao meloeiro, independente do hospedeiro de origem. Este é o primeiro relato da raça 0 de *Podosphaera xanthii* no Brasil e também da patogenicidade de isolados de *P. xanthii* oriundos de melancia em meloeiro.

Palavras-chave: *Podosphaera xanthii*; Oídio; Melão; Raça; Fungo biotrófico; Cucurbitáceas

Abstract

Survey of *Podosphaera xanthii* races in cucurbits in Brazil

Powdery mildew is a fungic disease of commom occurrence in cucurbits and it can be caused by *Podosphaera xanthii* or *Golovinomyces cichoracearum*. In Brazil, the disease is important to squash, cucumber and melon due to the economic relevance of these cultures. Its importance is owing to damages to plants and fruits. Sixty five powdery mildew strains taken from squash, zucchini, watermelon, melon and cucumber were identified at specie level and characterized for race by inoculations in melon cultivars. Only the *P. xanthii* specie was identified. Races 0, 1, 2 and 3 were observed, with predominance of races 1 and 2. It was observed that populations are dynamics, once reports of race 2 in Brazil were rare and in this work the frequency of races 1 and 2 were equivalent. Only four strains obtained from watermelon were characterized like race 0 and five isolates obtained from melon were race 3. All strains were pathogenic to melon, independent of the origin host. This is the first report of *P. xanthii* race 0 in Brazil and also of pathogenicity of *P. xanthii* strains derived from watermelon in melon.

Key words: *Podosphaera xanthii*; Powdery mildew; Melon; Race; Biotrophic fungus; Cucurbits

2.1 Introdução

Oídios de cucurbitáceas são causados, principalmente, pelos fungos biotróficos *Podosphaera* (sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castag.) U. Braun & N. Shish. (*Sphaerotheca fuliginea* (Schlechtend:Fr.) Pollacci) e *Golovinomyces cichoracearum* (*Erysiphe cichoracearum* DC. ex Merat) (JAHN; MUNGER; McCREIGHT, 2002; LEIBOVICH; COHEN; PARIS, 1996). No Brasil, no entanto, só há relatos da ocorrência da primeira espécie (FAZZA et al., 2005; KOBORI et al., 2002; KOBORI et al., 2005; REIFSCHNEIDER; BOITEUX; OCCHIENA, 1985; REIS; BUSO; VIEIRA, 2002; REIS; BUSO, 2004; REIS et al., 2005), comumente observada em sua fase imperfeita, correspondente a *Oidium* sp. (BEDENDO, 1995).

A doença é caracterizada pelo aparecimento de um crescimento branco e pulverulento correspondente a micélio, conidióforos e conídios do fungo. Em casos de alta suscetibilidade da hospedeira, estes sinais podem ser vistos em grande parte de ambas faces foliares, pecíolos e hastes (McGRATH; THOMAS, 1996). A ocorrência da doença é favorecida por clima seco, uma vez que os conídios não germinam na presença de filme de água sobre a folha. No entanto, necessitam de umidade relativa próxima a 95%. Temperaturas entre 20 e 25°C favorecem o desenvolvimento da doença (KUROZAWA; PAVAN; REZENDE, 2005). As perdas em cucurbitáceas ocorrem pela redução da área foliar fotossintetizante (STADNIK; KOBORI; BETTIOL, 2001), pela redução do tamanho ou número de frutos ou também pela redução do período produtivo das culturas (McGRATH; THOMAS, 1996). No caso do meloeiro, com a desfolha a qualidade dos frutos é prejudicada devido à exposição ao sol e pelo amadurecimento prematuro, resultando em menor acúmulo de sólidos solúveis e sabor menos adocicado (McGRATH; THOMAS, 1996).

Por se tratar de um fungo biotrófico, *P. xanthii* apresenta especialização com relação ao hospedeiro, evidenciada pela ocorrência de raças fisiológicas. Existem vários sistemas de classificação de raças de *P. xanthii* (COHEN; BURGER; KATZIR, 2004; HOSOYA et al., 1999; HOSOYA et al., 2000; JAHN; MUNGER; McCREIGHT, 2002; MOHAMED et al., 1995; THOMAS, 1978; THOMAS et al., 1984) que diferem entre si pelas cultivares empregadas na diferenciação de raças e no número de raças identificadas. O sistema de Thomas (1978), por exemplo, define as raças 1, 2 e 3 com base na utilização das cultivares ‘Hale’s Best Jumbo’, ‘PMR 45’, ‘PMR 5’, ‘PMR 6’ e ‘Edisto 47’. Já Thomas et al. (1984) modificaram o sistema de

Thomas (1978) e propuseram uma lista com o mínimo de cultivares de meloeiro necessárias para o monitoramento das raças 1, 2 e 3, retirando as cultivares ‘PMR 5’ e ‘Edisto 47’. ‘Hale’s Best Jumbo’ é a cultivar suscetível a todas as raças de *P. xanthii*. ‘PMR 45’ é a cultivar mais comumente empregada para a caracterização de raças de *P. xanthii*, apresentando um gene dominante para resistência à raça 1, denominado *Pm-1* (EPINAT; PITRAT; BERTRAND, 1993; JAGGER; WHITAKER; PORTER, 1938; PITRAT, 2002). ‘PMR 6’ possui o gene *Pm-2*, que é parcialmente dominante e interage com *Pm-1*, conferindo resistência à raça 2 (PITRAT, 2002). ‘Védraçais’ não tem genes de resistência descritos na literatura, no entanto é resistente à raça 0 de *P. xanthii* e suscetível às raças 1, 2 (americana), 2 (francesa), 3, 4 e 5 (JAHN; MUNGER; McCREIGHT, 2002; MOHAMED et al., 1995).

No Brasil, o sistema de classificação mais usado é o de Thomas et al. (1984). Com base neste sistema, a raça 1 foi primeiramente identificada por diversos autores em vários estados a partir da década de 80 (REIFSCHNEIDER; BOITEUX; OCCHIENA, 1985; REIS; BUSO; VIEIRA, 2002; REIS; BUSO, 2004; REIS et al., 2005). A raça 2 foi observada primeiramente em 2000 no estado de São Paulo (KOBORI et al., 2004), em seguida no Distrito Federal (REIS; BUSO, 2004), Petrolina (KOBORI et al., 2005) e Rio Grande do Norte (FAZZA et al., 2005). As raças 3, 4 e outras duas ainda não caracterizadas foram observadas no Nordeste do Brasil (REIS et al., 2005). Não obstante estas informações, faltam levantamentos sistemáticos da frequência de raças nas principais regiões produtoras. Reis e Buso (2004), por exemplo, realizaram um levantamento de raças de *P. xanthii* em alguns estados brasileiros, mas com ênfase no Distrito Federal, observando a ocorrência das raças 1 e 2. No entanto, os autores ressaltaram a necessidade de um levantamento na região Nordeste, que é a principal região produtora de melão no Brasil. Santos; Crisóstomo e Cardoso (2004), ao avaliarem híbridos comerciais de melão em relação à resistência ao oídio no Nordeste do Brasil, também alertaram para a falta de informações sobre a ocorrência das raças de *P. xanthii* neste local.

O controle de *P. xanthii* baseia-se principalmente no emprego de variedades resistentes e de produtos químicos (BEDENDO, 1995; PITRAT; DOGIMONT; BARDIN, 1998). Apesar da eficiência do controle químico, seu alto custo e seus efeitos adversos à saúde e ao meio ambiente representam desvantagens na sua utilização (McGRATH, 1996). Desta forma, o desenvolvimento de variedades resistentes é altamente desejável. A resistência em meloeiro é predominantemente monogênica e dominante (KENIGSBUCH; COHEN, 1989; KENIGSBUCH; COHEN, 1992),

embora existam também genes recessivos e modificadores (BOHN; WHITAKER, 1964; HARWOOD; MARKARIAN, 1968; JAHN; MUNGER; McCREIGHT, 2002). Até o momento já foram descritos 10 genes de resistência a *Podosphaera xanthii* (PITRAT, 1991, 2002). No entanto, o emprego de resistência monogênica é grandemente dificultado pela alta variabilidade e dinâmica das populações de *P. xanthii* (REIS et al., 2005). Para tanto, em áreas de produção de cucurbitáceas, se faz necessário o monitoramento de populações do patógeno com relação à frequência de raças, de modo a direcionar os programas de melhoramento genético (REIS; BUSO, 2004; THOMAS et al., 1984). Desta forma, o presente trabalho teve como objetivos avaliar a ocorrência de raças de *P. xanthii* em áreas de produção de cucurbitáceas no Brasil e, em especial, na região Nordeste, assim como analisar a patogenicidade de isolados de *P. xanthii* de outras cucurbitáceas em meloeiro.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e Métodos

Isolamento e identificação de agentes causais de oídio

Isolados oriundos de plantas de melão foram coletados nos Estados do Rio Grande do Norte e Pernambuco, que perfazem a principal área de produção do fruto no Brasil (FNP, 2006). Isolados de plantas de abóbora, abobrinha, melancia e pepino foram coletados em diversos estados brasileiros (Tabela 1.1). Com exceção dos isolados R1 e R2, todos os outros foram obtidos entre 2004 e 2005.

Tabela 1.1 - Isolados de *P. xanthii* provenientes de regiões produtoras de cucurbitáceas no Brasil

(continua)

Isolado	Cultura de origem	Raça de <i>P. xanthii</i>	Patogenicidade em relação ao meloeiro	Local de coleta		Sistema de cultivo
				cidade	estado	
3611	abóbora	1	presente	Joanópolis	SP	Campo aberto
3425	abóbora	1	presente	Tupã	SP	Campo aberto
3282	abóbora	1	presente	Barão de Antonina	SP	Estufa
3514-3	abóbora	1	presente	São Miguel Arcanjo	SP	Estufa
3484	abóbora	1	presente	Tupã	SP	Campo aberto
3265	abóbora	1	presente	Parapuã	SP	Campo aberto
3704-1	abóbora	1	presente	Salto	SP	Estufa
3499	abóbora	1	presente	Paracatu	MG	Campo aberto
3567	abóbora	1	presente	Uberlândia	MG	Campo aberto
3337	abóbora	2	presente	Pará de Minas	MG	Campo aberto
3580	abóbora	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3323	abobrinha	1	presente	Ibiúna	SP	Estufa
3259	abobrinha	1	presente	Campinas	SP	Campo aberto
3576-2	abobrinha	1	presente	Ibiúna	SP	Campo aberto
3614-1	abobrinha	1	presente	Teresópolis	RJ	Campo aberto
3614-2	abobrinha	1	presente	Teresópolis	RJ	Campo aberto
3371	melancia	0	presente	Tupã	SP	Campo aberto
WMN 5.06	melancia	1	presente	Luiziânia	SP	Campo aberto
WMN 7.02	melancia	0	presente	Tupã	SP	Campo aberto
WMN 9.01	melancia	1	presente	Queiroz	SP	Campo aberto
WMN 9.03	melancia	0	presente	Queiroz	SP	Campo aberto
WMN 11.03	melancia	0	presente	Tupã	SP	Campo aberto
R1	melão	1	presente	Bragança Paulista	SP	Estufa
R2	melão	2	presente	Bragança Paulista	SP	Estufa
E 47 A	melão	2	presente	Bragança Paulista	SP	Estufa
E 47 B	melão	2	presente	Bragança Paulista	SP	Estufa

Tabela 1.1 - Isolados de *P. xanthii* provenientes de regiões produtoras de cucurbitáceas no Brasil

(continuação)

Isolado	Cultura de origem	Raça de <i>P. xanthii</i>	Patogenicidade em relação ao meloeiro	Local de coleta		Sistema de cultivo
				cidade	estado	
E 47 C	melão	2	presente	Bragança Paulista	SP	Estufa
E 47 F	melão	1	presente	Bragança Paulista	SP	Estufa
E 47 E	melão	1	presente	Bragança Paulista	SP	Estufa
PET 1	melão	2	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
PET 2	melão	2	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
PET 3	melão	2	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
3485-2	melão	2	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
3020-2	melão	2	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
3020-3	melão	2	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
3710-1	melão	2	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
3710-3	melão	3	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
3712-1	melão	3	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
3712-2	melão	2	presente	Petrolina	PE	Campo aberto
3507	melão	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3508	melão	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3509	melão	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3510	melão	2	presente	Mossoró	RN	Campo aberto
3579	melão	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3584	melão	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3585	melão	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3586	melão	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3587	melão	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3588	melão	2	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
BAR 8	melão	3	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
BAR 10	melão	3	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
BAR 11	melão	3	presente	Baraúna	RN	Campo aberto

Tabela 1.1 - Isolados de *P. xanthii* provenientes de regiões produtoras de cucurbitáceas no Brasil

Isolado	Cultura de origem	Raça de <i>P. xanthii</i>	Patogenicidade em relação ao meloeiro	Local de coleta		Sistema de cultivo
				cidade	estado	
BAR 12	melão	1	presente	Baraúna	RN	Campo aberto
3119	pepino	2	presente	Bragança Paulista	SP	Estufa
3573	pepino	1	presente	Capão Bonito	SP	Estufa
3575	pepino	1	presente	Itapetininga	SP	Estufa
3568-2	pepino	1	presente	Uberlândia	MG	Campo aberto
3556-1	pepino	2	presente	Poty do Alferes	RJ	Campo aberto
SAP 1.2	pepino	2	presente	Santo Antônio da Platina	PR	Estufa
SAP 1.3	pepino	1	presente	Santo Antônio da Platina	PR	Estufa
SAP 2.2	pepino	2	presente	Santo Antônio da Platina	PR	Estufa
SAP 2.3	pepino	1	presente	Santo Antônio da Platina	PR	Estufa
SAP 3.1	pepino	1	presente	Santo Antônio da Platina	PR	Estufa
SAP 3.2	pepino	1	presente	Santo Antônio da Platina	PR	Estufa
SAP 3.3	pepino	1	presente	Santo Antônio da Platina	PR	Estufa

Folhas infectadas foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos sob câmara úmida e enviadas por correio ao laboratório. O patógeno foi isolado transferindo-se cadeias de conídios para cotilédones da cultivar suscetível de pepino ‘Safira’ com auxílio de um pincel de cílio humano colado a uma pipeta Pasteur. Plântulas de ‘Safira’ foram cultivadas em bandeja contendo vermiculita até a fase de abertura total dos cotilédones (aproximadamente sete dias após a semeadura). Antes da inoculação, os cotilédones foram desinfestados superficialmente por imersão em álcool 70% por 30 segundos, em hipoclorito de sódio 0,3% por 30 segundos e duas rinsagens em água destilada estéril. Após este procedimento, os cotilédones foram transferidos para placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada, ambos estéreis. Após a inoculação, os cotilédones foram incubados em câmara de germinação (Tecnal[®] - modelo TE – 401) sob temperatura de 22±2°C e fotoperíodo 12/12 horas (luz/escuro). Isolados geneticamente homogêneos foram obtidos por repicagens monoconidiais três vezes consecutivas, a cada 15 dias.

Após este período, os isolados foram mantidos por meio de sucessivas repicagens em pepino ‘Safira’ até o momento de sua utilização.

A identificação em nível de espécie foi realizada de acordo com os critérios propostos por Ballantyne (1975) para diferenciação entre *P. xanthii* e *G. cichoracearum*, observando-se a forma dos conídios (ovóide em *P. xanthii* e cilíndrica em *G. cichoracearum*), a presença de corpos de fibrosina nos conídios após tratamento por alguns segundos em solução 3% de KOH (presentes em *P. xanthii* e ausentes em *G. cichoracearum*) e o formato dos tubos germinativos nos conídios após a incubação dos mesmos em lâmina de vidro sob câmara úmida em placa de Petri por 24 horas a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ (às vezes bifurcados em *P. xanthii* e sem bifurcação em *G. cichoracearum*).

Caracterização de raças

As cultivares diferenciadoras ‘PMR 45’, ‘PMR 6’ e ‘Hale’s Best Jumbo’ foram utilizadas para a identificação das raças de *P. xanthii* segundo Thomas et al. (1984) modificado por Jahn; Munger e McCreight (2002) pela adição da cultivar ‘Védrantais’, abrangendo as raças 0, 1, 2 e 3 (Tabela 1.2). As plantas foram cultivadas em vasos plásticos de 500 ml contendo substrato Plantmax Hortaliças HA Eucatex®, em uma câmara de crescimento sob fotoperíodo de 12 h de escuro e 12 h de luz com lâmpadas fluorescentes de 40 W Osram Universal luz do dia especial. Discos foliares de 15 mm de diâmetro retirados da terceira folha totalmente expandida de cada planta foram dispostos em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada, ambos estéreis. Os discos foram inoculados com conídios, conidióforos e micélio de *P. xanthii* com auxílio de pincel de cílio e incubados em câmara de germinação (Tecnal® - modelo TE – 401) sob temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo 12 h de luz e 12 h escuro. Foram utilizados doze discos foliares para cada cultivar dispostos em duas placas de Petri (6 discos/placa). A avaliação foi feita visualmente, notando-se a presença ou ausência de desenvolvimento de micélio, conidióforos e conídios dos isolados dez dias após a inoculação.

Tabela 1.2 - Relação e reação esperada de cultivares de meloeiro utilizadas para identificação de raças de *Podosphaera xanthii*. Adaptado de Jahn; Munger e McCreight (2002) e Thomas et al. (1984)

Cultivares de meloeiro	Raça 0	Raça 1	Raça 2 E.U.A.	Raça 2 França	Raça 3	Raça 4	Raça 5
Védrantais	R	S	S	S	S	S	S
Hale’s Best Jumbo	S	S	S	S	S	S	S
PMR 45	R	R	S	S	S	S	S
PMR 6	S	R	R	R	S	NT	NT

S = Suscetível; R = Resistente; NT = não testado

Patogenicidade de isolados de *P. xanthii* isolados de outras cucurbitáceas ao meloeiro

A cultivar de melão ‘Hale’s Best Jumbo’ foi empregada como um padrão de suscetibilidade para a análise da patogenicidade de isolados de *P. xanthii* provenientes de plantas de abóbora, abobrinha, melancia e pepino. O cultivo das plantas de ‘Hale’s Best Jumbo’, o preparo dos discos foliares, a inoculação, a condução experimental e a avaliação foram os mesmos descritos para o ensaio de caracterização de raças descrito acima. Isolados que colonizaram e reproduziram-se nos discos foliares de ‘Hale’s Best Jumbo’ foram considerados patogênicos ao meloeiro.

2.2.2 Resultados

Todos os 65 isolados apresentaram conídios ovóides e corpos de fibrosina nos conídios. A presença de tubos germinativos bifurcados foi observada, em média, em 20% dos conídios de cada isolado (dado não apresentado). Estas características indicaram que todos os isolados pertencem à espécie *P. xanthii* (Figura 2.1).

Figura 2.1 – A = Conídios de *P. xanthii* isolados e em cadeias (setas). B = Corpos de fibrosina em conídios de *P. xanthii* (seta). C = Tubo germinativo bifurcado em conídio de *P. xanthii*

Após a identificação dos isolados quanto à espécie, todos foram caracterizados quanto à raça e patogenicidade em meloeiro. Com base no sistema classificatório de Thomas et al. (1984) modificado pela adição de ‘Védrantais’ (JAHN; MUNGER; McCREIGHT, 2002), as raças 1 e 2 foram as mais frequentes, correspondendo a 86 % dos isolados (56 isolados no total), ao passo que apenas cinco isolados foram caracterizados como raça 3 e quatro como raça 0 (Tabela 1.1).

A raça 2 foi a prevalente na cultura de melão em áreas de produção comercial, sendo que 43 % dos isolados (28 isolados no total) pertenceram a esta raça e destes, 78,6 % foram encontrados em meloeiro, enquanto que a raça 1 foi detectada nas culturas de abóbora, abobrinha e pepino (Tabela 1.1). Isolados da raça 3 foram identificados em melão nos estados de Pernambuco e Rio Grande do Norte (região Nordeste), onde o clima quente é predominante. Todos os quatro isolados da raça 0 de *P. xanthii* foram coletados em melancia, sendo este o primeiro relato desta raça no Brasil.

Não foi observada correlação entre sistema de cultivo e ocorrência das raças 1 e 2, pois ambas foram encontradas tanto em campo aberto como em estufas (Tabela 1.1). Todos os isolados obtidos de plantas de abóbora, abobrinha, melancia e pepino infectaram e colonizaram discos foliares de 'Hale's Best Jumbo'.

2.2.3 Discussão

A predominância de *P. xanthii* em regiões brasileiras já havia sido observada anteriormente (REIFSCHNEIDER; BOITEUX; OCCHIENA, 1985; REIS; BUSO, 2004). A ocorrência de *P. xanthii* e a não detecção de *G. cichoracearum* em cucurbitáceas no Brasil condiz com a hipótese de adaptação da primeira espécie a locais de clima tropical e subtropical (BAKA; ALDESUQUY, 1992; BARDIN; CARLIER; NICOT, 1999; CASTAÑÓN; ALVAREZ; ALVAREZ, 1987; del PINO et al., 2002; KABITARANI, 1993; SITTERLY, 1978), enquanto que a segunda está presente em locais de clima temperado (BARDIN; CARLIER; NICOT, 1999). A ocorrência de *P. xanthii* em regiões mais quentes no Brasil representa um sério problema para a cultura do meloeiro, que é cultivado principalmente na região Nordeste do Brasil onde temperaturas elevadas são típicas.

A ocorrência de isolados raça 3 na região Nordeste condiz com a observação de Cohen; Burger e Katzir (2004), que verificaram uma maior frequência desta raça durante o verão em Israel, indicando sua adaptação a clima quente. Até 2004 a raça 1 predominava nas regiões produtoras de cucurbitáceas no país (REIS; BUSO, 2004; STADNIK; KOBORI; BETTIOL, 2001). Até este ano, só havia dois relatos da raça 2 no Brasil (KOBORI et al., 2004; REIS; BUSO, 2004). No entanto, no presente trabalho, observou-se que a frequência das raças 1 e 2 foi similar, evidenciando um rápido aumento na frequência desta última especialmente em meloeiro.

Mudanças bruscas na composição racial de populações de *P. xanthii* foram relatadas em outros países. Sowell Júnior (1982), por exemplo, notou uma mudança populacional em isolados de oídio de *P. xanthii* da raça 2 para a raça 1 nos E.U.A. num período de cinco anos. Na Espanha, del Pino et al. (2002) notaram que num período de três anos a população da raça 1, que representava inicialmente 60 % dos isolados, foi substituída por indivíduos da raça 2, e provavelmente também das raças 4 e 5. Frente a este dinamismo populacional, fica evidente a necessidade de um sistema padrão para o monitoramento periódico de raças de *P. xanthii*, a exemplo do estabelecido para diversos patógenos de cereais (BAYLES; CLARKSON; SLATER, 1997). A heterogeneidade populacional de *P. xanthii* dificulta o emprego do controle genético por meio de cultivares resistentes. Neste aspecto, o genótipo resistente ideal seria aquele obtido através da associação de diferentes genes de resistência.

A presença de isolados raça 2 tanto em campo aberto como em estufa contradiz os trabalhos de McGrath e Thomas (1996), Kobori et al. (2002) e Reis e Buso (2004) que descreveram a ocorrência da raça 2 como predominante em ambiente protegido (casa-de-vegetação ou estufa). Isto indica que isolados raça 2 também estão adaptados a cultivos desprotegidos, constituindo assim um problema maior do que o interpretado até então. A raça 0 já havia sido descrita na França (BARDIN et al., 1997) e em Israel (COHEN; BURGER; KATZIR, 2004), em pepino. Aparentemente, esta raça não tem uma ocorrência generalizada em cucurbitáceas, pois os relatos são raros. É possível que, no Brasil, esta raça esteja mais adaptada à cultura da melancia, já que ela não foi observada entre os isolados das outras culturas amostradas no presente trabalho.

Todos os isolados demonstraram que são patogênicos a melão e que as culturas de abóbora, abobrinha, melancia e pepino consistem em fontes de inóculo para esta cultura. De especial relevância foi o fato de isolados de melancia terem infectado meloeiro, uma vez que há relatos que sugerem que isolados de melancia são específicos desta cultura. Cohen et al. (2000), por exemplo, não observaram colonização na cultivar 'En Dor' de melão quando inoculada com isolado de *P. xanthii* de melancia. Em outro experimento, neste mesmo relato, um isolado da raça 2 de *P. xanthii* coletado em meloeiro foi inoculado em plantas de pepino, melão e melancia, sendo observada alta severidade da doença nas duas primeiras, enquanto que as plantas de melancia foram pouco colonizadas. O inóculo que se desenvolveu nestas plantas colonizou apenas melancia, indicando a seleção de uma população específica a esta cultura. Este fato

corroborar as observações de Reis e Buso (2004) que não notaram o desenvolvimento de oídio em plantas de melão inoculadas com isolados de *P. xanthii* provenientes da cultura de melancia e também concluíram existir uma especificidade dos isolados por esta cultura. A discrepância entre estes dois relatos e os resultados do presente trabalho pode ser devido à existência de uma população específica à cultura da melancia, como sugerido nos relatos citados, ocorrendo em menor frequência concomitantemente às demais raças que podem colonizar o meloeiro e outras cucurbitáceas, como observado no presente trabalho. A ocorrência de populações heterogêneas, contendo diferentes raças em uma mesma planta ou local de cultivo já foi observada (COHEN; BURGER; SHRAIBER, 2002; HOSOYA et al., 1999), do mesmo modo este fato pode estar ocorrendo em plantas de melancia, com algum fator ambiental influenciando no dinamismo populacional. Estudos envolvendo um maior número de isolados de *P. xanthii* de plantas de melancia de diversas localidades, com ênfase na diversidade genética entre os mesmos, são necessários para uma descrição mais precisa desta população.

2.3 Conclusões

- *P. xanthii* foi a única espécie causadora de oídio em cucurbitáceas detectada nas regiões amostradas no Brasil;
- As raças 1 e 2 de *P. xanthii* ocorreram com similar frequência entre os isolados amostrados;
- Nas culturas de abóbora, abobrinha e pepino houve a prevalência da raça 1 sobre a raça 2;
- Na cultura de melão houve a prevalência da raça 2 sobre a raça 1;
- Foi observada a ocorrência da raça 0 entre isolados provenientes da cultura da melancia;
- Foi observada a ocorrência da raça 3 entre isolados obtidos de meloeiro;
- As culturas de abóbora, abobrinha, melancia e pepino são potenciais fontes de inóculo de oídio para o meloeiro.

Referências

BAKA, Z.; ALDESUQUY, H.S. Studies on the powdery mildew fungus *Sphaerotheca fuliginea*: ultrastructure and host response. **Acta Botanica Hungarica**, Budapest, v. 37, p. 15–31, 1992.

BALLANTYNE, B. Powdery mildew on Cucurbitaceae: identity, distribution, host range and sources of resistance. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales**, Sydney, v. 99, p. 100-120, 1975.

BARDIN, M.; CARLIER, J.; NICOT, C. Genetic differentiation in the French population of the *Erysiphe cichoracearum*, a causal agent of powdery mildew of cucurbits. **Plant Pathology**, Oxford, v. 48, p. 531-540, 1999.

BARDIN, M.; NICOT, P.C.; NORMAND, P.; LEMAIRE, J.M. Virulence variation and DNA polymorphism in *Sphaerotheca fuliginea*, causal agent of powdery mildew of cucurbits. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 103, p. 545-554, 1997.

BAYLES, R.A.; CLARKSON, J.D.S.; SLATER, S.E. The UK cereal pathogen virulence survey. In: CRUTE, I.R.; HOLUB, E.B.; BURDON, J.J. (Eds.). **The gene-for-gene relationship in plant-parasite interactions**. Guildford: CAB International, 1997. chap. 6, p. 103-117.

BEDENDO, I.P. Oídios. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. cap. 47. p. 866-871.

BOHN, G.W.; WHITAKER, T.W. Genetics of resistance to powdery mildew race 2 in muskmelon. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 54, p. 587-591, 1964.

CASTAÑÓN, M.A.M.; ALVAREZ, R.E.; ALVAREZ, M.G.C. Contribución al conocimiento etiológico del oídio de cucurbitáceas cultivadas en el nordeste argentino. **Fitopatologia**, Lima, v. 22, p. 21-29, 1987.

COHEN, R.; BURGER, Y.; SHRAIBER, S. Physiological races of *Sphaerotheca fuliginea*, Factors affecting their identification and the significance of this knowledge. In: MAYNARD, D.N. (Ed.). **Cucurbitaceae 2002**. Alexandria: ASHS Press, 2002. p. 181-187.

COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 32, p. 174-183, 2004.

COHEN, Y.; BAIDER, A.; PETROV, L.; SHECK, L.; VOLOISKY, V. Cross-infectivity of *Sphaerotheca fuliginea* to watermelon, melon, and cucumber. **Acta Horticulturae**, Belgium, v. 510, p. 85-88, 2000.

del PINO, D.; OLALLA, L.; PEREZ-GARCIA, A.; RIVERA, M.E.; GARCIA, S.; MORENO, R.; VICENTE, A.; TORES, J.A. Occurrence of races and pathotypes of cucurbit powdery mildew in southeastern Spain. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 30, p. 459-466, 2002.

EPINAT, C.; PITRAT, M.; BERTRAND, F. Genetic analysis of resistance of five melon lines to powdery mildews. **Euphytica**, Netherlands, v. 65, p. 135-144, 1993.

FAZZA, A.C.; KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.S.; CAMARGO, L.E.A. Ocorrência da raça 2 de *Podosphaera xanthii* em melão em Mossoró (RN). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 38., 2005, Brasília. **Resumos...** Fitopatologia Brasileira, v. 30, p. S 136, 2005. Resumo 482.

FNP CONSULTORIA & AGROINFORMATIVOS. Melão. In _____. **Agrianual 2006:** anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2006. p. 333-384.

HARWOOD, R.R.; MARKARIAN, D. The inheritance of resistance to powdery mildew in the cantaloupe variety Seminole. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 59, p. 126-130, 1968.

HOSOYA, K.; NARISAWA, K.; PITRAT, M.; EZURA, H. Race identification in powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on melon (*Cucumis melo*) in Japan. **Plant Breeding**, Berlin, v. 118, p. 259-262, 1999.

HOSOYA, K.; KUZUYA, M.; MURAKAMI, T.; KATO, K.; NARISAWA, K.; EZURA, H. Impact of resistant melon cultivars on *Sphaerotheca fuliginea*. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, p. 286-288, 2000.

JAGGER, I.C.; WHITAKER, T.W.; PORTER, D.R. A new biologic form of powdery mildew on muskmelons in the Imperial Valley of California. **Plant Disease Report**, Saint Paul, v. 22, p. 275-276, 1938.

JAHN, M.; MUNGER, H.M.; McCREIGHT, J.D. Breeding cucurbit crops for powdery mildew resistance. In: BÉLANGER, R.R.; BUSHNELL, W.R.; DIK, A.J.; CARVER, L.W. **The Powdery mildews:** A Comprehensive treatise. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 2002. chap. 15, p. 239-248.

KABITARANI, A. Sexuality and pathological specialization in *Sphaerotheca fuliginea*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 46, p. 50-53, 1993.

KENIGSBUCH, D.; COHEN, Y. Independent inheritance of resistance to race 1 and race 2 of *Sphaerotheca fuliginea* in muskmelon. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 73, p. 206-208, 1989.

KENIGSBUCH, D.; COHEN, Y. Inheritance and allelism of genes for resistance to races 1 and 2 of *Sphaerotheca fuliginea* in muskmelon. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 76, p. 626-629, 1992.

KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.; WIERZBICKI, R.; VECCHIA, P.T.D.; CAMARGO, L.E.A. Ocorrência da raça 2 de *Sphaerotheca fuliginea* em melão no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 35., 2002, Recife. **Resumos...** Fitopatologia Brasileira, v. 27, p. 123, 2002. Resumo 318.

KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.; WIERZBICKI, R.; VECCHIA, P.T.D.; CAMARGO, L.E.A. Occurrence of *Podosphaera xanthii* race 2 on *Cucumis melo* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, p. 1161, 2004.

KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.S.; WIERZBICKI, R.; VECCHIA, P.T.D; FAZZA, A.C.; CAMARGO, L.E.A. Ocorrência da raça 2 de *Podosphaera xanthii* em melão no estado de Pernambuco. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 28., 2005, São Paulo. **Resumos...** Summa Phytopathologica, v. 31, p. 20, 2005. Resumo 30.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A.; REZENDE, J.A.M. Doenças das Cucurbitáceas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. cap. 32. p. 293-302.

LEIBOVICH, G.; COHEN, R.; PARIS, H. Shading of plants facilitates selection for powdery mildew resistance in squash. **Euphytica**, Netherlands, v. 90, p. 289–292, 1996.

McGRATH, M.T. Increased resistance to triadimifon and to benomyl in *Sphaerotheca fuliginea* populations following fungicide usage over one season. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 80, p. 633–639, 1996.

McGRATH, M.T.; THOMAS, C.E. Powdery Mildew. In: ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. (Ed.). **Compendium of cucurbit diseases**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1996. p. 28-30.

MOHAMED, Y.F.; BARDIN, M.; NICOT, P.C.; PITRAT, M. Causal agents of powdery mildew of cucurbits in Sudan. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 634–636, 1995.

PITRAT, M. Linkage groups in *Cucumis melo* L. **Journal of Heredity**, Berlin, v. 82, p. 406-411, 1991.

PITRAT, M.; DOGIMONT, C.; BARDIN, M. Resistance to fungal diseases of foliage in melon. In: McCREIGHT, J.D. (Ed.) **Cucurbitaceae '98: Evaluation and enhancement of cucurbit germplasm**. Alexandria: ASHS Press, 1998. p. 167-173.

PITRAT, M. **2002 Gene list for melon**. Cucurbit Genetic Cooperative Report, 2002. Disponível em: <<http://cucurbitsvr.hort.ncsu.edu/cgc/cgcgenes/gene02melon.pdf>>. Acesso em: 06 mar. 2006.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; BOITEUX, L.S.; OCCHIENA, E.M. Powdery mildew of melon (*Cucumis melo*) caused by *Sphaerotheca fuliginea* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 69, p. 1069–1070, 1985.

REIS, A.; BUSO, J.A. Levantamento preliminar de raças de *Sphaerotheca fuliginea* no Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p. 462-465, 2004.

REIS, A.; BUSO, J.A.; VIEIRA, J.V. Seleção de linhagens de melão do tipo Valenciano para resistência a *Sphaerotheca fuliginea* raça 1. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 35., 2002, Recife. **Resumos...** Fitopatologia Brasileira, v. 27, p. 156, 2002. Resumo 466.

REIS, A.; DIAS, R.C.S.; ARAGÃO, F.A.S.; BOITEUX, L.S. Caracterização do perfil patogênico de isolados de *Podosphaera xanthii* obtidos em cucurbitáceas na região nordeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45., 2005, Fortaleza. **Resumos...** Horticultura Brasileira, v.23, p. 362, 2005. Resumo 154.

SANTOS, A.A.; CRISÓSTOMO, J.R.; CARDOSO, J.W. Avaliação de híbridos de melão quanto às principais doenças nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 14p.

SITTERLY, W.R. The powdery mildews of cucurbits. In: SPENCER, D. (Ed.). **The powdery mildews**. London: Academic Press, 1978. p. 359–379.

SOWELL JUNIOR, G. Population shift of *Sphaerotheca fuliginea* on muskmelon from race 2 to race 1 in the southeastern United States. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 66, p. 130–131, 1982.

STADNIK, M.J.; KOBORI, R.F.; BETTIOL, W. Oídios de cucurbitáceas. In: STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. (Ed.). **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001, cap. 9. p. 217-254.

THOMAS, C.E. A new biological race of powdery mildew of cantaloups. **Plant Disease Report**, Saint Paul, v.62, p.223, 1978.

THOMAS, C.E.; KISHABA, A.N.; McCREIGHT, J.D.; NUGENT, P.E. The importance of monitoring races of powdery mildew on muskmelon. **Cucurbit genetics cooperative report**, North Carolina, v.7, p.58-59, 1984.

3 PROPOSTA DE SISTEMA PARA DETERMINAÇÃO DE RAÇAS DE *Podospaera xanthii*

Resumo

Oídio, causado por várias raças do fungo biotrófico *Podospaera xanthii*, é uma das principais doenças foliares de cucurbitáceas. Entre as culturas de importância econômica desta família, encontra-se o meloeiro e o melhor método de controle desta doença em melão é o uso de cultivares resistentes. Para que estas cultivares sejam obtidas via seleção de plantas em programas de melhoramento, é necessário que se tenha conhecimento da raça do fungo a ser inoculada nos genótipos. Atualmente, existem diversos sistemas de cultivares de meloeiro diferenciadoras de raças de *P. xanthii* que definem um número vasto de raças muitas vezes com características sobrepostas, o que causa certa confusão. A partir de levantamentos realizados no Brasil e com vista ao que ocorre em diversos países, observou-se a necessidade de um sistema de cultivares de meloeiro diferenciadoras de raças de *P. xanthii*. Deste modo, a partir de dados descritos na literatura e de raças de *P. xanthii* e cultivares de meloeiro disponíveis no Brasil, foi proposto um sistema para a classificação de raças de *P. xanthii* com base na reação das cultivares 'Hale's Best Jumbo', 'Védrantais', 'PMR 45', 'PMR 5', 'PMR 6', 'WMR 29', 'Edisto 47' e 'PI 414723'. Vinte e dois isolados de *P. xanthii* foram empregados na validação do sistema. Discos foliares de cada cultivar foram inoculados com cada um dos isolados de *P. xanthii*. A avaliação foi realizada dez dias após a inoculação e a reação destas hospedeiras foi classificada em resistente ou suscetível. Seis raças já descritas na literatura foram caracterizadas, sendo as raças 0, 1, 2 (francesa), 3, 4 e 5. Duas raças não descritas foram observadas e permaneceram indefinidas. Uma raça descrita na literatura, mas não observada entre os isolados também foi incluída no sistema, sendo a raça 2 (americana). As raças 0, 2 (francesa) e 2 (americana) foram renomeadas como raças 7, 2 e 6, respectivamente.

Palavras-chave: Melão; Cultivares; Oídio; *Podospaera xanthii*

Abstract

Proposal of system for determination of *Podospaera xanthii* races

Powdery mildew is caused by many races of the biotrophic fungus *Podospaera xanthii* and is one of the principal foliar diseases of cucurbits. Among the economically important crops of this family, occurs melon's crop and the best method to control this disease in melon is the use of resistant cultivars. To make it possible these cultivars are obtained by plant selection in breeding programs, hence it's necessary to know fungus race that will be inoculated in genotypes. Nowadays, there are many systems of differential melon cultivars to *P. xanthii* races that define a wide number of races many times with overlap of characteristics and it causes some confusion. After surveys realized in Brazil and with knowledge about what happen in many countries, it was observed the necessity of a system of melon differential cultivars to *P. xanthii* races. With datas from literature and with *P. xanthii* races and melon cultivars available in Brazil, a system to

classify *P. xanthii* races was proposed basis on the reaction of ‘Hale’s Best Jumbo’, ‘Védrantais’, ‘PMR 45’, ‘PMR 5’, ‘PMR 6’, ‘WMR 29’, ‘Edisto 47’ e ‘PI 414723’ cultivars. Twenty two *P. xanthii* strains were used to test the system. Foliar disks of each cultivar were inoculated with each *P. xanthii* strain. The evaluation was realized ten days after the inoculation and hosts reaction was classified like resistant or susceptible. Six races already described in literature were observed, being the races 0, 1, 2 (french), 3, 4 and 5. Two races that weren’t described before were observed and remained indefinite. One race described at literature, but didn’t observed among the strains also was included in the system, being the race 2 (american). Races 0, 2 (french) and 2 (american) were designated races 7, 2 and 6, respectively.

Key words: Melon; Cultivars; Powdery mildew; *Podosphaera xanthii*

3.1 Introdução

Oídio é uma doença de ocorrência mundial, presente em condições de campo e casa-de-vegetação e é considerado um dos principais problemas na produção de cucurbitáceas (McGRATH; THOMAS, 1996). Conídios, conidióforos e micélio, que colonizam folhas, pecíolos e ramos, mas raramente os frutos, caracterizam a doença, apresentando-se como um pó branco, com aparência de talco. *Podosphaera xanthii*, antes denominado *Sphaerotheca fuliginea* e também *Sphaerotheca fusca*, é o principal agente causal da doença, sendo reportado mundialmente (STADNIK; KOBORI; BETTIOL, 2001). Este é um fungo biotrófico, representado por distintas raças fisiológicas detectadas em diversas cucurbitáceas e diferenciadas em cultivares de meloeiro.

Há relatos da ocorrência de oídio em cucurbitáceas desde 1800 (McGRATH; THOMAS, 1996), mas foi em 1925 que esta doença foi reconhecida como destrutiva em meloeiro, quando observada no ‘Imperial Valley’ na Califórnia (E.U.A.). Em 1936 foi lançada a cultivar ‘PMR 45’ resistente a raça 1. Em 1938, alguns campos de ‘PMR 45’ apresentaram a doença, sendo identificada a raça 2. Entre 1942 e 1943 foram lançadas as cultivares ‘PMR 5’, ‘PMR 6’ e ‘PMR 7’, resistentes à raça 2 (McCREIGHT, 2002). Atualmente a raça 2 é separada em ‘americana’ e ‘francesa’ com base na reação das cultivares ‘Edisto 47’ e ‘PI 414723’, que são suscetíveis à raça 2 ‘americana’ e resistentes à raça 2 ‘francesa’. Até o momento especula-se que esta raça seja composta por uma população que aguarda uma definição mais precisa (JAHN; MUNGER; McCREIGHT, 2002). A raça 3 foi observada nos E.U.A. entre 1976 e 1977, quando a cultivar ‘PI 321005’, relatada como resistente às raças 1 e 2, foi colonizada pelo patógeno. A identificação

desta raça foi confirmada pela suscetibilidade das cultivares ‘PMR 5’ e ‘PMR 6’ (THOMAS, 1978).

Thomas et al. (1984) propuseram uma série com três cultivares de meloeiro diferenciadoras de raças de *P. xanthii*, sendo elas ‘Hale’s Best Jumbo’, ‘PMR 45’ e ‘PMR 6’, com as quais foi possível caracterizar as raças 1, 2 e 3. Estas cultivares passaram a ser consideradas como clássicas para experimentos de caracterização de raças de *P. xanthii* (BERTRAND, 2002). A partir de então, em diversos países surgiram novas suspeitas de quebras de resistência em genótipos usualmente cultivados ou empregados em programas de melhoramento, levando a relatos de raças que ainda não haviam sido observadas e à formação de novos sistemas de classificação. Por exemplo, Mohamed et al. (1995) prepararam, a partir de dados da literatura, um sistema para classificação de raças, levando em conta a reação das cultivares ‘Iran H’, ‘Védrantais’, ‘PMR 45’, ‘PI 414723’, ‘PMR 5’, ‘Nantais oblong’ e ‘Edisto 47’, revelando assim as raças 0, 1, 2 (americana), 2 (francesa) e 3. Jahn; Munger e McCreight (2002) propuseram o uso das cultivares ‘Iran H’, ‘Védrantais’, ‘Top Mark’, ‘Ananas’, ‘PMR 45’, ‘PMR 5’, ‘WMR 29’, ‘Edisto 47’, ‘PI 414723’, ‘MR-1’ e ‘PI 124112’ para a identificação das raças 0, 1, 2 (americana), 2 (francesa), 3, 4 e 5.

Em 1998, no Japão, Hosoya et al. (1999) identificaram duas raças que ainda não haviam sido descritas, denominadas N1 e N2, virulentas a ‘PI 414723’ e a ‘Fuyu 3’ e somente N2 colonizou ‘PMR 45’. A cultivar ‘Fuyu 3’ apresentou-se como suscetível a todas as raças testadas. Em seguida, ainda no Japão, Hosoya et al. (2000) identificaram mais duas raças, então denominadas N3 e N4, as quais foram virulentas a ‘Fuyu 3’ e ‘Edisto 47’ e somente N3 foi virulenta a ‘PI 414723’. Na França, a raça 6 de *P. xanthii* foi identificada em experimentos rotineiros de programas de melhoramento, nos quais foram empregadas as cultivares ‘AR - Hale’s Best Jumbo’ (AR - HBJ) e ‘AR - Topmark’, conhecidas como resistentes à raça 5. AR - HBJ e ‘AR - Topmark’ foram obtidas a partir de retrocruzamento para a introdução da resistência a afídios de ‘PI 414723’. É possível que um gene de resistência a oídio de ‘PI 414723’ seja ligado ao gene de resistência a afídio e tenha sido introduzido ao mesmo tempo nas duas cultivares. Em um dos experimentos, AR - HBJ apresentou-se como suscetível a um isolado até então definido como raça 5, demonstrando que se tratava de uma nova raça. Desta forma, Bertrand (2002) sugeriu que AR - HBJ fosse empregada como diferenciadora de raças juntamente com ‘Védrantais’, ‘PMR 45’, ‘WMR 29’, ‘Edisto 47’, ‘PI 414723’, ‘PMR 5’, ‘MR - 1’ e ‘PI 124112’.

Estes diversos sistemas para a diferenciação e classificação dos isolados têm causado certa confusão na determinação das raças de *P. xanthii*, dificultando programas de melhoramento que precisam empregar as diferentes raças para a seleção de plantas. Cohen; Burger e Katzir (2004) identificaram quatro raças também ainda não descritas com o emprego das cultivares ‘Ananas Yoqne’am’, ‘PMR 45’, ‘PMR 6’ e ‘Noy Yizre’el’ e definiu-as como ‘a’, ‘b’, ‘c’ e ‘d’.

Em 1992, o Clube do Oídio (McCREIGHT; PITRAT, 1993) se propôs primeiramente a obter linhagens de meloeiro que possuísem cada uma, apenas um gene de resistência a oídio. Em segundo, a testar estas linhagens com diferentes isolados de diversos locais em todo o mundo e, por último, a realizar testes de alelismo entre os genes de resistência a oídio. Recentemente, McCreight (2006) reuniu 28 raças relatadas em diferentes países com base em 31 cultivares de meloeiro, no entanto somente duas cultivares foram testadas quanto à reação a todas as raças, fato este que ainda dificulta a caracterização das mesmas.

A partir de levantamentos realizados no Brasil (FAZZA et al., 2005; KOBORI et al., 2005; REIS; BUSO, 2004) foi confirmada a necessidade de um sistema de cultivares e um modelo padrão para a instalação de testes, a fim de que todas as raças fossem identificadas em quaisquer locais sob as mesmas condições. A instalação de experimentos em discos foliares das cultivares como sugerido por Cohen (1993) tem sido bastante empregada e bem sucedida. Deste modo, o presente trabalho propõe um sistema de classificação para raças de *P. xanthii* baseado na metodologia descrita por este autor.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e Métodos

Isolados de *P. xanthii*

Folhas infectadas foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos sob câmara úmida e enviadas por correio ao laboratório. O patógeno foi isolado transferindo-se cadeias de conídios para cotilédones da cultivar suscetível de pepino ‘Safira’ com auxílio de um pincel de cílio humano colado a uma pipeta Pasteur. Plântulas de ‘Safira’ foram cultivadas em bandeja contendo vermiculita até a fase de abertura total dos cotilédones (aproximadamente sete dias após a semeadura). Antes da inoculação, os cotilédones foram desinfestados superficialmente por

imersão em álcool 70% por 30 segundos, em hipoclorito de sódio 0,3% por 30 segundos e duas rinsagens em água destilada estéril. Após este procedimento, os cotilédones foram transferidos para placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada, ambos estéreis. Após a inoculação, os cotilédones foram incubados em câmara de germinação (Tecnal[®] - modelo TE – 401) sob temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo 12/12 horas (luz/escuro). Isolados geneticamente homogêneos foram obtidos por repicagens monoconidiais três vezes consecutivas, a cada 15 dias. Após este período, os isolados foram mantidos por meio de sucessivas repicagens em pepino ‘Safira’ até o momento de sua utilização.

Caracterização de raças

Isolados de *P. xanthii* previamente caracterizados em raças de acordo com o sistema de Thomas et al. (1984) adaptado pela adição de ‘Védrantais’ (JAHN; MUNGER; McCREIGHT, 2002) foram empregados para testar o sistema de cultivares de melão diferenciadoras proposto. Os isolados selecionados para a inoculação das cultivares de meloeiro foram caracterizados como raça 0 (isolados 3371, WMN 7.02, WMN 9.03, WMN 11.03), raça 1 (isolados 3259, E 47 E, E 47 F, 3514-3, 3567, 3323, WMN 5.06, WMN 9.01), raça 2 (isolados R2, E 47 A, E 47 B, E 47 C, 3579, PET 2, 3020-3 e 3712-2) e raça 3 (isolados 3712-1 e 3710-3) (Tabela 3.1) como descrito no item 2.2.1 e foram mantidos em cotilédones de pepino ‘Safira’.

Para compor o sistema de classificação de raças de *P. xanthii*, foram empregadas as cultivares de melão diferenciadoras ‘Védrantais’, ‘PMR 45’, ‘PMR 5’, ‘PMR 6’, ‘Edisto 47’, ‘PI 414723’, ‘WMR 29’ e ‘Hale’s Best Jumbo’, que definem as raças 0, 1, 2 (americana), 2 (francesa), 3, 4 e 5. As plantas foram cultivadas em vasos plásticos de 500 ml contendo substrato Plantmax Hortaliças HA Eucatex[®], em uma câmara de crescimento sob fotoperíodo de 12 h de escuro e 12 h de luz com lâmpadas fluorescentes de 40 W Osram Universal luz do dia especial. Discos foliares de 15 mm de diâmetro retirados da terceira folha totalmente expandida de cada planta foram dispostos em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada, ambos estéreis. Os discos foram inoculados com conídios, conidióforos e micélio de *P. xanthii* com auxílio de pincel de cílio e incubados em câmara de germinação (Tecnal[®] - modelo TE – 401) sob temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo 12 h de luz e 12 h escuro. Foram utilizados doze discos foliares para cada cultivar em duas placas de Petri (6 discos/placa). A avaliação foi feita

visualmente sob lupa, notando-se o desenvolvimento de micélio, conidióforos e conídios dos isolados dez dias após a inoculação.

Tabela 3.1 - Isolados de *P. xanthii* classificados em raças como descrito no item 2.2.1

Isolado	Raça de <i>P. xanthii</i>	Cultura de origem	Local de coleta	estado	Sistema de cultivo
3371	0	melancia	Tupã	SP	Campo aberto
WMN 7.02	0	melancia	Tupã	SP	Campo aberto
WMN 9.03	0	melancia	Queiroz	SP	Campo aberto
WMN 11.03	0	melancia	Tupã	SP	Campo aberto
3514-3	1	abóbora	São Miguel Arcanjo	SP	Estufa
3567	1	abóbora	Uberlândia	MG	Campo aberto
3259	1	abobrinha	Campinas	SP	Campo aberto
3323	1	abobrinha	Ibiúna	SP	Estufa
WMN 5.06	1	melancia	Luiziânia	SP	Campo aberto
WMN 9.01	1	melancia	Queiroz	SP	Campo aberto
E 47 E	1	melão	Bragança Paulista	SP	Estufa
E 47 F	1	melão	Bragança Paulista	SP	Estufa
R2	2	melão	Bragança Paulista	SP	Estufa
E 47 A	2	melão	Bragança Paulista	SP	Estufa
E 47 B	2	melão	Bragança Paulista	SP	Estufa
E 47 C	2	melão	Bragança Paulista	SP	Estufa
3579	2	melão	Baraúna	RN	Campo aberto
PET 2	2	melão	Petrolina	PE	Campo aberto
3020-3	2	melão	Petrolina	PE	Campo aberto
3712-2	2	melão	Petrolina	PE	Campo aberto
3712-1	3	melão	Petrolina	PE	Campo aberto
3710-3	3	melão	Petrolina	PE	Campo aberto

3.2.2 Resultados

O sistema proposto se trata de uma modificação dos sistemas de Jahn; Munger e McCreight (2002) e Thomas et al. (1984) onde as cultivares ‘Védrantais’, ‘PMR 5’, ‘WMR 29’, ‘Edisto 47’ e ‘PI 414723’ foram empregadas como descrito por Jahn; Munger e McCreight (2002) e as cultivares ‘Hale’s Best Jumbo’, ‘PMR 45’ e ‘PMR 6’ foram empregadas como descrito por Thomas et al. (1984). Foram classificadas as raças 0, 1, 2 (francesa), 2 (americana), 3, 4 e 5. A raça 0 foi renomeada como raça 7, a raça 2 (francesa) como raça 2 e a raça 2 (americana) como raça 6. As raças 1, 3, 4 e 5 permaneceram com estas mesmas definições. A raça 5 ainda não havia sido observada no Brasil.

As reações de resistência ou suscetibilidade de todas as cultivares apresentam-se na Tabela 3.2. Destacam-se as cultivares ‘Hale’s Best Jumbo’ e ‘Védrantais’ que diferem apenas pela reação à raça 7, assim como ‘PMR 5’ e ‘PMR 6’. A cultivar ‘Hale’s Best Jumbo’ foi suscetível aos isolados de todas as raças. ‘Védrantais’ foi resistente somente aos isolados da raça 7. ‘PMR 45’ foi resistente somente às raças 1, 7, E 47 E e E 47 F. ‘PMR 5’ foi suscetível apenas à raça 3. ‘PMR 6’ foi suscetível somente às raças 3 e 7. ‘WMR 29’ foi resistente às raças 1, 2, 7 e E 47 A e suscetível às raças 3, 4 e 5. ‘Edisto 47’ foi suscetível às raças 3, 5, 6, E 47 A, E 47 E e E 47 F e resistente às raças 1, 2, 4 e 7. ‘PI 414723’ foi suscetível somente à raça 6. A cultivar ‘WMR 29’ permaneceu com a reação não testada para a raça 6, pois nenhum isolado desta raça foi encontrado entre as amostras.

Observou-se também que as folhas de ‘PI 414723’ apresentaram manchas amareladas mesmo na ausência de patógenos ou pragas (Figura 3.1) e que alguns discos foliares de ‘PMR 5’ e ‘PMR 6’ necrosaram, o que não foi notado nos discos das demais cultivares.

Com este sistema (Tabela 3.2) alguns isolados foram reclassificados em raças, enquanto que outros se mantiveram como previamente caracterizados. Os isolados E 47 B, E 47 C e 3020-3 antes classificados como raça 2, foram reclassificados como raça 5, o isolado 3712-2 antes definido como raça 2, foi reclassificado como raça 4. O isolado E 47 A antes definido como raça 2, tornou-se indefinido, pois a cultivar ‘WMR 29’ foi resistente, o que impediu a classificação precisa deste isolado. Os isolados E 47 E e E 47 F, antes definidos como raça 1, tornaram-se indefinidos, pois as cultivares ‘WMR 29’ e ‘Edisto 47’ foram suscetíveis, também impedindo a

classificação exata destes isolados. Os outros isolados testados para a validação do sistema mantiveram-se como as raças previamente caracterizadas (Tabela 3.3).

Tabela 3.2 - Proposta de sistema de cultivares de meloeiro diferenciadoras para raças de *Podosphaera xanthii*. Dados adaptados de Jahn; Munger e McCreight (2002) e Thomas et al. (1984)

Cultivares de meloeiro	Raças de <i>Podosphaera xanthii</i>								
	Classificação antiga								
	Raça 1	Raça 2	Raça 3	Raça 4	Raça 5	Raça 2	Raça 0	..	..
	francesa				americana				
	Classificação proposta								
Raça 1	Raça 2	Raça 3	Raça 4	Raça 5	Raça 6	Raça 7	E 47 A	E 47 E / E 47 F	
Hale’s Best Jumbo	s	s	s	s	s	s	s	s	s
Védrantais	s	s	s	s	s	s	R	s	s
PMR 45	R	s	s	s	s	s	R	s	R
PMR 5	R	R	s	R	R	R	R	R	R
PMR 6	R	R	s	R	R	R	s	R	R
WMR 29	R	R	s	s	s	NT	R	R	s
Edisto 47	R	R	s	R	s	s	R	s	s
PI 414723	R	R	R	R	R	s	R	R	R

s = suscetível; R = resistente; NT = não testado por este sistema

Figura 3.1 – Discos foliares da cultivar 'PI 414723', apresentando manchas amareladas na ausência de inóculo de *P. xanthii*

Tabela 3.3 - Isolados de *P. xanthii* classificados em raças com os sistemas antigo e proposto

Isolado	Raça de <i>P. xanthii</i> Sistema antigo	Raça de <i>P. xanthii</i> Sistema proposto
3371	0	0
WMN 7.02	0	0
WMN 9.03	0	0
WMN 11.03	0	0
3514-3	1	1
3567	1	1
3259	1	1
3323	1	1
WMN 5.06	1	1
WMN 9.01	1	1
E 47 E	1	Indefinido 1
E 47 F	1	Indefinido 1
R2	2	2
E 47 A	2	Indefinido 2
E 47 B	2	5
E 47 C	2	5
3579	2	2
PET 2	2	2
3020-3	2	5
3712-2	2	4
3712-1	3	3
3710-3	3	3

3.2.3 Discussão

Somente a raça 5 de *P. xanthii* ainda não havia sido descrita no Brasil. A raça 1 foi primeiramente observada por Reifschneider; Boiteux e Occhiena (1985). A raça 2, sem definição

de francesa ou americana, foi observada primeiramente em 2000 por Kobori et al. (2004). As raças 3 e 4 foram observadas por Reis et al. (2005). A raça 0, então renomeada como raça 7, foi observada no levantamento de raças de *P. xanthii* descrito no item 2.

A cultivar ‘WMR 29’ não foi testada em relação à raça 6 de *P. xanthii* de acordo com o sistema proposto, visto que nenhum isolado desta raça foi observado entre as amostras. Jahn; Munger e McCreight (2002) definiram a reação desta cultivar como heterogênea em relação à raça 2 (americana), aqui definida como raça 6. Seria interessante que outros isolados desta raça pudessem ser testados com esta cultivar, no entanto sua ocorrência ainda não foi observada no Brasil.

Bertrand (2002) também notou que sob condições *in vitro* os discos foliares de ‘PI 414723’ tenderam a amarelecer e necrosar, o que poderia afetar o desenvolvimento de oídio independente do mecanismo de resistência e ainda ressalta que fatores como estes em hospedeiros selvagens podem ser outra razão a considerar no uso de linhagens melhoradas para estudos envolvendo a determinação de raças. Jahn; Munger e McCreight (2002) sugeriram o termo necrose autogênica para os casos em que ocorre a necrose foliar em genótipos resistentes mesmo na ausência de patógenos e também descrevem este tipo de reação em ‘PMR 5’, ‘PMR 6’ e ‘PMR 45’. A existência desta reação em genótipos resistentes também observada no presente trabalho faz com que a condução e manipulação das plantas sejam realizadas com mais cuidado, a fim de que os genótipos passem pelo mínimo estresse possível e não desenvolvam a necrose nos discos foliares empregados nos experimentos.

A reclassificação de raças já havia sido observada por del Pino et al. (2002) que adicionaram as cultivares ‘WMR 29’ e ‘Edisto 47’ ao sistema de Thomas et al. (1984) e notaram que isolados definidos como raça 2 puderam ser caracterizados como raças 2, 4 ou 5. A adição de outras cultivares ao sistema de Thomas et al. (1984), como realizado em diversos países (BERTRAND, 2002; COHEN; BURGER; KATZIR, 2004; del PINO et al., 2002; HOSOYA et al., 1999; HOSOYA et al., 2000; MOHAMED et al., 1995) leva a uma certa confusão, pois nem sempre todas estas cultivares estão disponíveis em todos os países e os relatos apresentam reações incompletas para as cultivares que não são testadas com todas as raças já observadas. Deste modo, é evidente que a proposta do Clube do Oídio de obter linhagens com a única diferença nos genes de resistência às raças de *P. xanthii* se faz muito importante.

As cultivares de meloeiro ‘HN21’, ‘Quincy’, ‘Earl’s Knight Natsu 2’, ‘Earl’s Miyabi Natsu 2’ (HOSOYA et al., 2000), ‘Noy Yizre’el’ (COHEN; BURGER; KATZIR, 2004) e ‘AR – Hale’s Best Jumbo’ (BERTRAND, 2002) recentemente sugeridas como diferenciadoras de raças de *P. xanthii* não foram adicionadas ao sistema proposto, pois não foram testadas para todas as raças descritas neste sistema. As raças N1, N2, N3, N4 (HOSOYA et al., 2000), a, b, c, d (COHEN; BURGER; KATZIR, 2004) e 6 (BERTRAND, 2002) também não foram adicionadas ao sistema. Seria interessante que estas cultivares tivessem suas reações definidas para todas as raças e que estas raças fossem caracterizadas a partir da reação de todas as cultivares, completando assim o sistema. Para tanto, um intercâmbio de cultivares de meloeiro poderia ser realizado entre os países, o que definiria a real ocorrência das raças nestes locais. Espera-se que este sistema proposto seja útil para a descrição das raças de *P. xanthii* em ocorrência nas culturas de cucurbitáceas.

3.3 Considerações Finais

O sistema proposto mostrou-se útil para a diferenciação das raças 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, como renomeadas neste trabalho. Outras raças já relatadas em diversos países e também cultivares sugeridas como diferenciadoras devem ser testadas a fim de agregarem dados ao sistema proposto. Foi observada a ocorrência da raça 5 entre os isolados analisados, até então inédita no Brasil.

Referências

- BERTRAND, F. AR Hale’s Best Jumbo, a new differential melon variety for *Sphaerotheca fuliginea* races in leaf disk tests. In: MAYNARD, D. N. (Ed.). **Cucurbitaceae 2002**. Alexandria: ASHS Press, 2002. p. 234 – 237.
- COHEN, R. A leaf disk assay for detection of resistance of melon to *Sphaerotheca fuliginea* race 1. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 77, p. 513 – 517, 1993.

COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 32, p. 174-183, 2004.

del PINO, D.; OLALLA, L.; PEREZ-GARCIA, A.; RIVERA, M.E.; GARCIA, S.; MORENO, R.; VICENTE, A.; TORES, J.A. Occurrence of races and pathotypes of cucurbit powdery mildew in southeastern Spain. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 30, p. 459-466, 2002.

FAZZA, A.C.; KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.S.; CAMARGO, L.E.A. Ocorrência da raça 2 de *Podosphaera xanthii* em melão em Mossoró (RN). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 38., 2005, Brasília. **Resumos...** Fitopatologia Brasileira, v. 30, p. S 136, 2005. Resumo 482.

HOSOYA, K.; NARISAWA, K.; PITRAT, M.; EZURA, H. Race identification in powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on melon (*Cucumis melo*) in Japan. **Plant Breeding**, Berlin, v. 118, p. 259-262, 1999.

HOSOYA, K.; KUZUYA, M.; MURAKAMI, T.; KATO, K.; NARISAWA, K.; EZURA, H. Impact of resistant melon cultivars on *Sphaerotheca fuliginea*. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, p. 286-288, 2000.

JAHN, M.; MUNGER, H.M.; McCREIGHT, J.D. Breeding cucurbit crops for powdery mildew resistance. In: BÉLANGER, R.R.; BUSHNELL, W.R.; DIK, A.J.; CARVER, L.W. **The Powdery mildews: A comprehensive treatise**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 2002. chap. 15, p. 239-248.

KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.; WIERZBICKI, R.; VECCHIA, P.T.D.; CAMARGO, L.E.A. Occurrence of *Podosphaera xanthii* race 2 on *Cucumis melo* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, p. 1161, 2004.

KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.S.; WIERZBICK, R.; VECCHIA, P.T.D.; FAZZA, A.C.; CAMARGO, L.E.A. Ocorrência da raça 2 de *Podosphaera xanthii* em melão no estado de Pernambuco. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 28., 2005, São Paulo. **Resumos...** Summa Phytopathologica, v. 31, p. 20, 2005. Resumo 30.

McCREIGHT, J. D. Powdery mildew race 1 in Imperial Valley, Califórnia. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, North Carolina, v. 25, p. 20 – 21, 2002.

McCREIGHT, J. D. Melon-powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. **Journal of the American Society for the Horticultural Science**, Alexandria, v. 131, p. 59 – 65, 2006.

McCREIGHT, J. D.; PITRAT, M. Club mildew: working group on resistance of melon to powdery mildew. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, North Carolina, v. 16, p. 39, 1993.

McGRATH, M.T.; THOMAS, C.E. Powdery Mildew. In: ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. (Ed.). **Compendium of cucurbit diseases**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1996. p. 28-30.

MOHAMED, Y.F.; BARDIN, M.; NICOT, P.C.; PITRAT, M. Causal agents of powdery mildew of cucurbits in Sudan. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 634–636, 1995.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; BOITEUX, L.S.; OCCHIENA, E.M. Powdery mildew of melon (*Cucumis melo*) caused by *Sphaerotheca fuliginea* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 69, p. 1069–1070, 1985.

REIS, A.; BUSO, J.A. Levantamento preliminar de raças de *Sphaerotheca fuliginea* no Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p. 462-465, 2004.

REIS, A.; DIAS, R.C.S.; ARAGÃO, F.A.S.; BOITEUX, L.S. Caracterização do perfil patogênico de isolados de *Podosphaera xanthii* obtidos em cucurbitáceas na região nordeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45., 2005, Fortaleza. **Resumos...** Horticultura Brasileira, v.23, p. 362, 2005. Resumo 154.

STADNIK, M.J.; KOBORI, R.F.; BETTIOL, W. Oídios de cucurbitáceas. In: STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. (Ed.). **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001, cap. 9, p. 217-254.

THOMAS, C.E. A new biological race of powdery mildew of cantaloups. **Plant Disease Report**, Saint Paul, v.62, p.223, 1978.

THOMAS, C.E.; KISHABA, A.N.; McCREIGHT, J.D.; NUGENT, P.E. The importance of monitoring races of powdery mildew on muskmelon. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, North Carolina, v.7, p.58-59, 1984.

4 REAÇÃO DE GERMOPLASMA COMERCIAL DE MELOEIRO A *Podosphaera xanthii*

Resumo

O oídio de cucurbitáceas, causado pelo fungo biotrófico *Podosphaera xanthii*, apresenta expressiva ocorrência em locais com clima quente e seco. A colonização ocorre nos órgãos da parte aérea da planta, no entanto raramente nos frutos. Até 2004, a raça 1 de *P. xanthii* era relatada como prevalente no Brasil, quando a ocorrência da raça 2 passou a ser observada com maior frequência. No entanto, grande parte das cultivares comerciais de melão havia sido selecionada para resistência à raça 1, sem estudos sobre a reação em relação à raça 2. Deste modo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar germoplasma comercial de meloeiro para a resistência a raça 2 (francesa) de *Podosphaera xanthii*. Foram avaliados vinte genótipos de meloeiro, sendo seis cultivares diferenciadoras de raças de *P. xanthii* e 14 híbridos comerciais. O ensaio foi realizado *in vitro* com discos foliares inoculados com uma mistura de isolados da raça 2 (francesa) de *P. xanthii* e avaliados 10 dias após a inoculação. Os híbridos comerciais de meloeiro apresentaram-se, na maioria, resistentes à raça 2 (francesa) de *P. xanthii*.

Palavras-chave: *Cucumis melo* L.; *Podosphaera xanthii*; Avaliação de doença; Resistência

Abstract

Reaction of melon commercial germplasm to *Podosphaera xanthii*

The powdery mildew of cucurbits, caused by the biotrophic fungus *Podosphaera xanthii*, presents expressive occurrence in locals with warm and dry weather. The colonization occurs in the organs of aerial part of plant, however rarely in fruits. Until 2004, *P. xanthii* race 1 was reported as prevalent in Brazil, when the frequency of race 2 became high. However, most of melon commercial varieties had been selected to race 1 resistance, without studies about the reaction to race 2. The present work had as objectives to evaluate melon commercial germplasm for *P. xanthii* race 2 (french) resistance. Twenty melon genotypes were evaluated, being six differential cultivars for *P. xanthii* races and 14 commercial hybrids. The assay was realized *in vitro* with foliar disks inoculated with a mix of *P. xanthii* race 2 (french) strains and evaluated 10 days after inoculation. The melon commercial hybrids presents, in majority, resistant to *P. xanthii* race 2 (french).

Key words: *Cucumis melo* L.; *Podosphaera xanthii*; Disease evaluation; Resistance

4.1 Introdução

No Brasil, a cultura do meloeiro (*Cucumis melo* L.) tem importância econômica relevante, principalmente em relação à exportação dos frutos, ocupando o terceiro lugar em valores (US\$ 63,25 milhões) e quantidade (143.000 toneladas) nesta categoria em 2004 (FNP, 2006). A principal região produtora é o Nordeste brasileiro que produziu 319.544 toneladas de frutos em 2004, correspondendo a 95 % da produção nacional (IBRAF, 2006).

Uma das principais doenças que afeta a cultura é o oídio, causado pelo fungo biotrófico *Podosphaera* (sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castag.) U. Braun & N. Shish. que pode reduzir o tamanho, o número de frutos ou o período de colheita e afetar o sabor dos frutos (McGRATH; THOMAS, 1996) uma vez que reduz o teor de sólidos solúveis totais (SALES JÚNIOR et al., 2002). *P. xanthii* é patógeno típico da parte aérea das plantas, onde coloniza ambas as faces foliares, os pecíolos e ramos (McGRATH; THOMAS, 1996). Distingui-se por apresentar um crescimento branco e pulverulento, correspondente ao micélio, conidióforos e conídios (KUROZAWA; PAVAN; REZENDE, 2005).

O controle de *P. xanthii* geralmente é obtido pelo uso de fungicidas, no entanto nem sempre a doença é totalmente controlada como nos casos em que o fungo tem sua sensibilidade aos produtos químicos reduzida (HOLLOMON; WHEELER, 2002). De modo geral, o controle genético é bastante apropriado, pois preventivamente reduz a incidência e a severidade da doença tanto em condições de campo como em cultivos sob estufas, podendo ser somado a outros métodos de controle. O monitoramento de oídio também faz parte da produção integrada do meloeiro que objetiva a elevação da competitividade da produção para os mercados interno e externo, de modo a tornar a cultura uma atividade sustentável no Brasil (VIANA et al., 2002).

A ocorrência de *P. xanthii* é comum em locais de clima tropical e subtropical (REIFSCHNEIDER; BOITEUX; OCCHIENA, 1985) e raças fisiológicas deste patógeno já foram observadas em diversos países (BARDIN; CARLIER; NICOT, 1999; COHEN; BURGER; KATZIR, 2004; HOSOYA et al., 2000; MOHAMED et al., 1995; PERCHEPIED et al., 2005; REIFSCHNEIDER; BOITEUX; OCCHIENA, 1985). No Brasil, recentemente foram relatadas as raças 2 (FAZZA et al., 2005; KOBORI et al., 2002, KOBORI et al., 2005; REIS; BUSO, 2004), 3 e 4 (REIS et al., 2005). No entanto, a seleção dos principais genótipos comerciais de melão havia

sido direcionada para a resistência à raça 1, tornando necessário um estudo sobre o comportamento destes em relação à raça 2.

A seleção de plantas para resistência ao oídio normalmente é conduzida em campo ou em casa-de-vegetação, fazendo com que pesquisadores deparem-se com problemas como a manutenção das plantas até estádios avançados de desenvolvimento, desuniformidade da doença em condições de campo e custos elevados para a obtenção de casas-de-vegetação climatizadas (COHEN, 1993). O emprego de discos foliares para a seleção de genótipos resistentes a oídio tem sido uma alternativa segura e aceita para as cucurbitáceas, economizando tempo e espaço e eliminando as variações ambientais observadas em campo (COHEN, 1993; COHEN et al., 1993; COHEN; BURGER; KATZIR, 2004; FANOURLAKIS, 1990).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a resistência de cultivares e híbridos de meloeiro em relação à raça 2 de *Podosphaera xanthii in vitro*.

4.2 Desenvolvimento

4.2.1 Material e Métodos

Material vegetal

Foram utilizados vinte genótipos de meloeiro, sendo seis cultivares diferenciadoras de raças de *P. xanthii* e 14 híbridos comerciais classificados de acordo com Robinson e Decker-Walters (1997), McCreight (1996) e Costa e Silva (2003) (Tabela 4.1). As plantas foram cultivadas em vasos plásticos de 500 ml contendo substrato Plantmax Hortaliças HA Eucatex[®], em uma sala livre de oídio. O fotoperíodo foi mantido em 12 h de escuro e 12 h de luz com lâmpadas de 40 W Osram Universal luz do dia especial. As plantas permaneceram nestas condições até a fase de abertura total da terceira folha (aproximadamente 35 dias após semeadura), quando esta foi retirada para uso no experimento e as plantas descartadas.

Tabela 4.1 - Características dos genótipos de meloeiro avaliados para resistência a *P. xanthii*

Cultivares e híbridos comerciais de meloeiro	Grupos de meloeiro	Tipos de meloeiro	Respostas ao oídio (dados comerciais)
Védrantais	Cantalupensis	Charantais	Resistente a <i>P. xanthii</i> raça 0
Hale's Best Jumbo	Cantalupensis	Cantaloupe	Suscetível a <i>P. xanthii</i>
PMR 45	Cantalupensis	Cantaloupe	Resistente a <i>P. xanthii</i> raças 0 e 1
PMR 6	Cantalupensis	Cantaloupe	Resistente a <i>P. xanthii</i> raças 1, 2 E.U.A. e 2 França
Edisto 47	Cantalupensis	Cantaloupe	Resistente a <i>P. xanthii</i> raças 0, 1, 2 França e 4
PI 414723	Momordica	momordica	Resistente a <i>P. xanthii</i> raças 0, 1, 2 França, 3, 4 e 5
AF-646 ^x	Inodorus	Amarelo	Resistente a <i>P. xanthii</i> raça 1
Frevo ^x	Inodorus	Amarelo	Resistente a <i>P. xanthii</i> raça 1
Gold Mine ^x	Inodorus	Amarelo	Resistente a <i>P. xanthii</i> raças 1 e 2
Goldex Fitó ^x	Inodorus	Amarelo	Tolerância a <i>P. xanthii</i>
Hybrix ^x	Inodorus	Amarelo	
Jangada ^x	Inodorus	Amarelo	Resistente a <i>P. xanthii</i> raça 1
Kousto ^x	Cantalupensis	Gália	
Mandacaru ^x	Inodorus	Amarelo	
Natal ^x	Inodorus	Amarelo	
RML 5006 ^x	Inodorus	Amarelo	
Rochedo ^x	Inodorus	Amarelo	Resistente a <i>P. xanthii</i> raças 1 e 2
Tropical Fitó ^x	Inodorus	Amarelo	Tolerância a <i>P. xanthii</i>
Vera Cruz ^x	Cantalupensis	Cantaloupe	Tolerância a <i>P. xanthii</i> raças 1 e 2
Vereda ^x	Inodorus	Amarelo	Resistente a <i>P. xanthii</i> raça 1

^xHíbridos F1

Preparo do inóculo

O inóculo foi preparado a partir de três isolados monoconidiais de *P. xanthii* provenientes de Bragança Paulista (SP), Petrolina (PE) e Baraúna (RN), obtidos em meloeiro e caracterizados como raça 2 (francesa) de acordo com o sistema de classificação de Thomas et al. (1984) adaptado pela adição de 'Védrantais' (JAHN; MUNGER; McCREIGHT, 2002) conforme descrito a seguir (Tabela 4.2).

Para a caracterização dos isolados, seis discos foliares de 15 mm de diâmetro por repetição foram retirados da terceira folha de cada cultivar diferenciadora com auxílio de um furador de rolha e colocados em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada, ambos estéreis. Cada isolado foi repicado para cada disco foliar com auxílio de um pincel de cílio. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com duas repetições. A avaliação ocorreu após dez dias, observando-se o desenvolvimento de cada isolado nos discos foliares. Foram determinadas resistentes as cultivares em que não houve desenvolvimento do fungo e suscetíveis as cultivares em que houve.

Com auxílio de um pincel de cílio, os três isolados foram repicados em conjunto para os mesmos cotilédones de pepino Safira previamente desinfestados em álcool 70 % (30 segundos), hipoclorito de sódio 0,3 % (30 segundos) e duas lavagens em água destilada estéril e em seguida foram mantidos em placa de Petri com papel de filtro umedecido com água destilada, ambos estéreis. Após o desenvolvimento deste primeiro inóculo foram realizadas outras duas repicagens a fim de se obter um inóculo homogêneo dos três isolados em conjunto, originando-se a fonte de inóculo para a inoculação das cultivares e híbridos. O inóculo e os isolados foram mantidos em câmara de germinação (Tecnal[®] - modelo TE – 401) sob temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo 12 h de luz e 12 h escuro.

Tabela 4.2 - Relação e reação esperada de cultivares de meloeiro utilizadas para identificação de raças de *Podosphaera xanthii*. Adaptado de Thomas et al. (1984) e Jahn; Munger e McCreight (2002)

Cultivares de meloeiro	Raças de <i>Podosphaera xanthii</i>						
	Raça 0	Raça 1	Raça 2 E.U.A.	Raça 2 França	Raça 3	Raça 4	Raça 5
Védrantais	R	s	s	s	s	s	s
Hale's Best Jumbo	s	s	s	s	s	s	s
PMR 45	R	R	s	s	s	s	s
PMR 6	s	R	R	R	s	NT	NT
Edisto 47	R	R	s	R	s	R	s
PI 414723	R	R	s	R	R	R	R

S = Suscetível; R = Resistente; NT = não testado

Inoculação

Discos foliares de 15 mm de diâmetro foram retirados da terceira folha de cada material vegetal com auxílio de um furador de rolha. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com duas repetições. A parcela experimental foi composta por seis discos foliares de cada genótipo dispostos em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada, ambos estéreis. Cada disco foi inoculado com estruturas do fungo provenientes da fonte de inóculo citada anteriormente e depositadas no centro dos mesmos com auxílio de um pincel de cílio. Após a inoculação, os discos foram incubados sob temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo 12 h de luz e 12 h escuro.

Avaliação da doença

A colonização dos discos foliares foi observada com auxílio de uma lupa, 7 a 10 dias após a inoculação. Para distinguir possíveis níveis de resistência entre os genótipos, foi empregado como critério a frequência de conidióforos e o comprimento das cadeias de conídios. Em genótipos resistentes (R) não se observou a colonização e reprodução do patógeno; genótipos com alto nível de resistência (ANR) apresentaram pequeno crescimento de micélio e de conidióforos e cadeias curtas de conídios; genótipos com médio nível de resistência (MNR) apresentaram crescimento de micélio, poucos conidióforos e cadeias longas de conídios e genótipos suscetíveis (S) apresentaram abundante crescimento de micélio, grande quantidade de conidióforos e cadeias longas de conídios.

4.2.2 Resultados

De acordo com o conjunto de cultivares de meloeiro diferenciadoras de raças de *P. xanthii* adaptado de Thomas et al. (1984) e Jahn; Munger e McCreight (2002), os isolados e a mistura de isolados utilizados foram classificados como raça 2 francesa. Deste modo, os genótipos aqui avaliados quanto a resistência à raça 2 de *P. xanthii* têm esta reação caracterizada para uma mistura de isolados do tipo francês e não americano.

Os híbridos comerciais ‘AF – 646’, ‘Frevo’, ‘Jangada’, ‘RML 5006’, ‘Vera Cruz’ e ‘Vereda’ apresentaram-se resistentes à mistura de isolados da raça 2 francesa (Tabela 4.3). Estes genótipos possuem também resistência ou tolerância à raça 1, verificado através dos dados

comerciais (Tabela 4.1). ‘Goldex Fitó’ e ‘Tropical Fitó’ apesar de relatados comercialmente como tolerantes ao oídio, apresentaram médio e alto níveis de resistência à raça 2, respectivamente. ‘Gold Mine’, ‘Mandacaru’ e ‘Natal’ apresentaram alto nível de resistência; ‘Hybrix’ e ‘Rochedo’ médio nível de resistência e ‘Kousto’ baixo nível de resistência. A Figura 4.1 mostra detalhes de um disco foliar resistente (cultivar ‘PI 414723’) e de um disco foliar suscetível (cultivar ‘PMR 45’). A Figura 4.2 refere-se ao detalhe de um disco foliar de ‘Védrantais’, exemplificando um genótipo com médio nível de resistência.

Tabela 4.3 - Reação de cultivares e híbridos de meloeiro à inoculação com *P. xanthii* raça 2 (francesa)

Cultivares e híbridos de meloeiro	Resposta de discos foliares ao inóculo de <i>P. xanthii</i> raça 2
Védrantais	MNR
Hale’s Best Jumbo	S
PMR 45	S
PMR 6	R
Edisto 47	R
PI 414723	R
AF-646 ^x	R
Frevo ^x	R
Gold Mine ^x	ANR
Goldex Fitó ^x	MNR
Hybrix ^x	MNR
Jangada ^x	R
Kousto ^x	S
Mandacaru ^x	ANR
Natal ^x	ANR
RML 5006 ^x	R
Rochedo ^x	MNR
Tropical Fitó ^x	ANR
Vera Cruz ^x	R
Vereda ^x	R

^xHíbridos F1

R = resistente; ANR = alto nível de resistência; MNR = médio nível de resistência; S = suscetível

Figura 4.1 – Detalhes de discos foliares da cultivar ‘PI 414723’ com reação resistente (esquerda) e da cultivar ‘PMR 45’ com reação suscetível (direita)

Figura 4.2 - Cadeias de conídios em disco foliar da cultivar de meloeiro ‘Védrantais’. Onde: A = cadeias longas; B = cadeias curtas

4.2.3 Discussão

Isolados da raça 2 de *P. xanthii* podem ser classificados em franceses ou americanos a partir da reação das cultivares ‘Edisto 47’ e ‘PI 414723’. Estas cultivares são suscetíveis aos isolados americanos e resistentes aos isolados franceses. No Brasil não há relatos anteriores definindo a procedência da raça 2 de *P. xanthii*, se dos E.U.A. ou da França. Supõe-se que esta

raça tenha diferentes genes de virulência ou modificadores que causem estas diferenças (COHEN; BURGER; KATZIR, 2004), sendo uma população heterogênea aguardando uma delimitação mais precisa através de novos genes de resistência (JAHN; MUNGER; McCREIGHT, 2002). Ahmed et al. (2000) observaram a partir do cruzamento de 'PI 414723' e 'Shendi' que a raça 2 em ocorrência no Sudão era diferente da raça 2 francesa e da americana e concluíram que estudos com esta raça são necessários para o avanço dos programas de melhoramento de melão para resistência ao oídio no Sudão.

Os híbridos amostrados no presente trabalho são os mais utilizados atualmente pelos produtores de frutos de melão (COSTA; SILVA, 2003) e apresentaram, em grande parte, um alto potencial de resistência à raça 2 (francesa) de *P. xanthii*. No entanto, foram observadas discrepâncias entre alguns materiais. Por exemplo, o híbrido 'Natal' teve um alto nível de resistência, já o híbrido 'Kousto' foi suscetível à raça 2 (francesa) de *P. xanthii*. Santos; Crisóstomo e Cardoso (2004) ao avaliarem híbridos de melão quanto à reação ao míldio, cancro-da-haste e oídio na região Nordeste do Brasil, observaram que o híbrido 'CNPAT 32 x 02' foi o único resistente ao oídio (sem definição para espécie ou raça). Os híbridos 'TSX 32096' e 'PX 4910606' apresentaram resistência intermediária a esta doença. Ao contrário do observado no presente trabalho, os híbridos 'Vera Cruz', 'Gold Mine' e 'Rochedo' foram suscetíveis ao oídio e o híbrido 'AF 646' foi altamente suscetível a esta doença. Como os híbridos 'Gold Mine' e 'Rochedo' apresentam resistência às raças 1 e 2 de *P. xanthii*, como descrito nos dados comerciais (Tabela 4.1), é possível que outras raças estejam ocorrendo na região, sendo agressivas a estes híbridos.

'Edisto 47' e 'PI 414723' foram resistentes à raça 2 (francesa) de *P. xanthii*. McCreight (2002) analisou a reação de vinte cultivares de melão em relação à raça 2 americana de *P. xanthii* em casa-de-vegetação. Entre estas cultivares foram incluídas 11 cultivares diferenciadoras de raças de *P. xanthii*, sendo 'Iran H', 'Top Mark', 'Védrantais', 'PMR 45', 'PMR 5', 'WMR 29', 'Edisto 47', 'PI 414723', 'MR-1', 'PI 124111' e 'PI 124112' e outras nove cultivares, sendo 'Perlita', 'PI 234607', 'PI 236355', 'PI 179901', 'Seminole', 'Amarillo', 'Negro', 'Moscatel Grande' e 'PI 313970'. Entre as cultivares diferenciadoras apresentaram-se como resistentes 'PMR 5', 'MR-1', 'PI 124111' e 'PI 124112'. 'WMR 29' que tem reação heterogênea para raça 2 americana teve duas plantas resistentes entre nove avaliadas. Entre as outras cultivares avaliadas, foram resistentes 'Perlita', 'PI 234607', 'Seminole' e 'PI 313970'. Em comum com o presente

trabalho somente as cultivares diferenciadoras ‘Védrantais’, ‘PMR 45’, ‘Edisto 47’ e ‘PI 414723’ foram avaliadas, todas estas cultivares foram descritas como suscetíveis à raça 2 americana. Como ‘Edisto 47’ e ‘PI 414723’ foram resistentes no presente trabalho, apresentaram-se como potenciais fontes de resistência à raça 2 (francesa) de *P. xanthii*, podendo ser empregadas em programas de melhoramento de melão para resistência a esta raça.

‘PMR 6’ foi observada como resistente à raça 2 (francesa) de *P. xanthii* no presente trabalho. Sowell Junior e Corley (1974) relataram ‘PI 234607’, ‘PMR 6’ e ‘Georgia 47’ como as principais fontes de resistência à raça 2 (americana) de *P. xanthii* entre diversos genótipos avaliados. Este fato confirma o potencial de ‘PMR 6’ também como fonte de resistência à raça 2 (francesa) de *P. xanthii*.

Entre 400 genótipos de melão estudados, Pitrat et al. (1996) descreveram os genótipos provenientes da América do Norte, do oeste da Ásia e da Índia como resistentes às raças 1 e 2 de *P. xanthii*, observaram que a resistência dos genótipos americanos faz parte dos resultados de programas de melhoramento e que as fontes originais da resistência foram genótipos indianos. Jain e Verma (2000) ainda sugerem o emprego do mapeamento molecular de marcadores genéticos para o avanço da seleção assistida por marcadores e da clonagem de genes de resistência.

4.3 Considerações Finais

Os híbridos de meloeiro comercialmente cultivados no Brasil avaliados neste trabalho mostraram-se, em geral, resistentes a raça 2 (francesa) de *P. xanthii*.

Referências

AHMED, E. A.; IBN OAF, H. S.; SULIMAN, M. E.; EL JACK, A. E.; MOHAMED, Y. F. Selection of snake melon lines (*Cucumis melo* var. *flexuosus*) resistant to different races of powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht ex Fr.) Poll. in Sudan. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, North Carolina, v. 23, p. 27 – 29, 2000.

BARDIN, M.; CARLIER, J.; NICOT, C. Genetic differentiation in the French population of the *Erysiphe cichoracearum*, a causal agent of powdery mildew of cucurbits. **Plant Pathology**, Oxford, v. 48, p. 531 – 540, 1999.

COHEN, R. A leaf disk assay for detection of resistance of melons to *Sphaerotheca fuliginea* race 1. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 77, p. 513 – 517, 1993.

COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasitica**, Rehovot, v.32, n.2, p. 147 – 183, 2004.

COHEN, R.; LEIBOVICH, G.; SHTIENBERG, D.; PARIS, H.S. Variability in the reaction of squash (*Cucurbita pepo*) to inoculation with *Sphaerotheca fuliginea* and methodology of breeding for resistance. **Plant Pathology**, Oxford, v. 42, p. 510 – 516, 1993.

COSTA, N.D.; SILVA, H.R. Cultivares. In: SILVA, H.R.; COSTA, N.D. **Melão produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Hortaliças / Embrapa Semi-árido / Embrapa Informação Tecnológica, 2003. cap. 6, p. 29-34.

FANOURLAKIS, N.E. Screening procedures for powdery mildew resistance in the cucumber. **Acta Horticulturae**, Belgium, v. 287, p. 147 – 154, 1990.

FAZZA, A.C.; KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.S.; CAMARGO, L.E.A. Ocorrência da raça 2 de *Podosphaera xanthii* em melão em Mossoró (RN). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 38., 2005, Brasília. **Resumos...** Fitopatologia Brasileira, v. 30, p. S 136, 2005. Resumo 482.

FNP CONSULTORIA & AGROINFORMATIVOS. Melão. In: _____. **Agrianual 2006: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2006. p. 333-384.

HOLLOMON, D.W.; WHEELER, I.E. Controlling powdery mildews with chemistry. In: BÉLANGER, R.R.; BUSHNELL, W.R.; DIK, A.J.; CARVER, T.L.W. (Ed.). **The Powdery Mildews: A Comprehensive Treatise**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 2002. chap. 16, p. 249-255.

HOSOYA, K.; KUZUYA, M.; MURAKAMI, T.; KATO, K.; NARISAWA, K.; EZURA, H. Impact of resistant melon cultivars on *Sphaerotheca fuliginea*. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, p. 286-288, 2000.

Instituto Brasileiro de Frutas IBRAF. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/x-es/f-esta.html>>. Acesso em: 05 maio 2006.

JAHN, M.; MUNGER, H.M.; McCREIGHT, J.D. Breeding cucurbit crops for powdery mildew resistance. In: BÉLANGER, R.R.; BUSHNELL, W.R.; DIK, A.J.; CARVER, T.L.W. (Ed.). **The Powdery Mildews: A Comprehensive Treatise**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 2002. chap. 15, p. 239-248.

- JAIN, J.; VERMA, V.K. Characterization of identified disease resistant lines in melon, *Cucumis melo* L. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, North Carolina, v. 23, p. 37–40, 2000.
- KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.; WIERZBICKI, R.; VECCHIA, P.T.D; CAMARGO, L.E.A. Ocorrência da raça 2 de *Sphaerotheca fuliginea* em melão no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 35., 2002, Recife. **Resumos...** Fitopatologia Brasileira, v. 27, p. 123, 2002. Resumo 318.
- KOBORI, R.F.; SUZUKI, O.S.; WIERZBICKI, R.; DELLA VECCHIA, P.T.; FAZZA, A.C.; CAMARGO, L.E.A. Ocorrência da raça 2 de *Podosphaera xanthii* em melão no estado de Pernambuco. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 28., 2005, São Paulo. **Resumos...** Summa Phytopathologica, v. 31, p. 20, 2005. Resumo 30.
- KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A.; REZENDE, J.A.M. Doenças das Cucurbitáceas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas. v. 2. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005, cap. 32, p. 293-302.
- McCREIGHT, J.D. Botany and Culture. In: ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. (Ed.). Compendium of cucurbit diseases. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1996. p. 2-6.
- McCREIGHT, J.D. Reactions of 20 melon cultigens to powdery mildew race 2U.S. **Cucurbitaceae 2002**, Naples, p. 72-77, 2002.
- McGRATH, M.T.; THOMAS, C.E. Powdery Mildew. In: ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. (Ed.). Compendium of cucurbit diseases. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1996. p. 28-30.
- MOHAMED, Y.F.; BARDIN, M.; NICOT, P.C.; PITRAT, M. Causal agents of powdery mildew of cucurbits in Sudan. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 634–636, 1995.
- PERCHEPIED, L.; BARDIN, M.; DOGIMONT, C.; PITRAT, M. Relationship between loci conferring downy mildew and powdery mildew resistance in melon assessed by quantitative trait loci mapping. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 95, p. 556-565, 2005.
- PITRAT, M.; RISSER, G.; BERTRAND, F.; BLANCARD, D.; LECOQ, H. **Evaluation of a melon collection for diseases resistances**. Málaga: Cucurbitaceae '96, 1996. Disponível em: <<http://cuke.hort.ncsu.edu/cgc/conferences/cuc96gene.html#paper5>>. Acesso em: 10 fev. 2006.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B.; BOITEUX, L.S.; OCCHIENA, E.M. Powdery mildew of melon (*Cucumis melo*) caused by *Sphaerotheca fuliginea* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 69, p. 1069–1070, 1985.
- REIS, A.; BUSO, J.A. Levantamento preliminar de raças de *Sphaerotheca fuliginea* no Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p. 462-465, 2004.

- REIS, A.; DIAS, R.C.S.; ARAGÃO, F.A.S.; BOITEUX, L.S. Caracterização do perfil patogênico de isolados de *Podosphaera xanthii* obtidos em cucurbitáceas na região nordeste do Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, Suplemento, p. 362, 2005.
- ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS, D.S. **Cucurbits**. Cambridge: CAB International, 1997. 226p.
- SALES JÚNIOR, R.; VILLELA, A.L.G.; AMARO FILHO, J.; SILVA, G.F.; COSTA, F.M. Eficiência de difenoconazole no controle de oídio do melão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, Suplemento, p.122, 2002.
- SANTOS, A.A.; CRISÓSTOMO, J.R.; CARDOSO, J.W. **Avaliação de híbridos de melão quanto às principais doenças nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 14p.
- SOWELL JUNIOR, G.; CORLEY, W.L. Severity of race 2 of *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht.) Poll. on muskmelon introductions reported resistant to powdery mildew. **HortScience**, v. 9, p. 398-399, 1974.
- THOMAS, C.E.; KISHABA, A.N.; McCREIGHT, J.D.; NUGENT, P.E. The importance of monitoring races of powdery mildew on muskmelon. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, North Carolina, v.7, p.58-59, 1984.
- VIANA, F.M.P.; SANTOS, A.A.; SALES JÚNIOR, R.; CARDOSO, J.E.; FREIRE, F.C.O. **Monitoramento de doenças na produção integrada do meloeiro**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. 33p.

5 PROTOCOLO PARA A EXTRAÇÃO DE DNA DE *Podosphaera xanthii*, AGENTE CAUSAL DO OÍDIO EM CUCURBITÁCEAS

Resumo

Um dos agentes causais do oídio em cucurbitáceas é o fungo biotrófico *Podosphaera xanthii*. Em geral, esta doença causa danos diretos à parte aérea da planta e indiretos aos frutos. Em estudos que envolvem a variabilidade genética do patógeno via reações de amplificação de fragmentos e digestão com enzimas, é necessário DNA em quantidade e qualidade adequadas. Por outro lado, sob condições artificiais, conídios, conidióforos e micélio, a partir dos quais realiza-se a extração de DNA, são obtidos em pouca quantidade. Deste modo, o presente trabalho propõe uma metodologia rápida para a extração de DNA de *P. xanthii*.

Palavras-chave: PCR; marcador molecular; Cucurbitaceae; fungo biotrófico

Abstract

Protocol to *Podosphaera xanthii* DNA extraction, the causal agent of powdery mildew of cucurbits

One of the causal agents of cucurbits powdery mildew is the biotrophic fungus *Podosphaera xanthii*. Usually, this disease causes direct damages to the aerial part of plants and indirect to the fruits. In studies that accost genetic variability of the pathogen by fragments amplification reactions and digestion with enzymes, DNA in adequates quantity and quality is necessary. On the other hand, under artificial conditions, conidia, conidiophores and micelium, from whom the DNA extraction is realized, are obtained at low quantity. In this way, the present work proposes a fast methodology for extraction of *P. xanthii* DNA.

Key words: PCR; Molecular marker; Cucurbitaceae; Biotrophic fungus

5.1 Introdução

Em cucurbitáceas, as perdas geradas por oídio são conseqüências da redução da área foliar fotossintetizante (STADNIK; KOBORI; BETTIOL, 2001), da redução do tamanho ou número de

frutos ou também da redução do período produtivo da cultura (McGRATH; THOMAS, 1996). Em meloeiro, com a desfolha a qualidade dos frutos é prejudicada devido à exposição ao sol e pelo amadurecimento prematuro, resultando em menor acúmulo de sólidos solúveis e sabor menos adocicado (McGRATH; THOMAS, 1996). Estudos sobre variabilidade genética de fungos por meio de marcadores moleculares fornecem importantes informações acerca da diversidade genética e das relações filogenéticas entre e dentro de espécies (MAJER et al., 1996). No entanto, para que estes estudos sejam possíveis, tanto a quantidade quanto a qualidade do DNA devem ser adequadas para a utilização em reações de digestão com enzimas de restrição e de PCR, por exemplo. Por tratar-se de um fungo biotrófico, *P. xanthii* não se desenvolve em meios de cultura artificiais, o que dificulta a obtenção de grandes quantidades de estruturas do fungo, em geral requeridas para a extração de DNA em protocolos convencionais. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo para extração de DNA do fungo *Podosphaera xanthii*.

5.2 Desenvolvimento

5.2.1 Material e Métodos

A metodologia descrita no presente trabalho foi adaptada a partir dos protocolos de Edwards; Johnstone e Thompson (1991) e McDermott et al. (1994). O protocolo de Edwards; Johnstone e Thompson (1991) é bastante conhecido e bem sucedido para a extração de DNA de folhas de plantas. Já o protocolo de McDermott et al. (1994) é empregado para a extração de DNA do fungo *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*, agente causal do oídio da cevada. Para a elaboração do protocolo de extração de DNA de *P. xanthii* foram utilizadas as etapas de extração com tampão, agitação em vortex, centrifugação e precipitação em isopropanol como citado por Edwards; Johnstone e Thompson (1991), porém com modificações nos tempos de cada processo e omissão da etapa de maceração das amostras. Para o preparo do tampão de extração, as concentrações dos reagentes foram empregadas de acordo com o descrito no protocolo de McDermott et al. (1994). Conídios, conidióforos e micélio de *P. xanthii* foram coletados de cotilédones de pepino Safira e transferidos para tubo Eppendorf graduado até atingir o volume de 50 µl. As estruturas do fungo foram homogeneizadas em 100 µl de tampão de extração (50 mM Tris HCl pH 7,5; 0,7 M NaCl; 10 mM EDTA pH 8,0; 0,5% SDS) à temperatura ambiente por

meio de agitação em vortex por 30 segundos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 13.000 g por 2 minutos e 90 µl do sobrenadante de cada amostra foram transferidos para novos tubos contendo igual volume de isopropanol e agitados manualmente por 2 minutos à temperatura ambiente. A seguir, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 13.000 g e o sobrenadante descartado. Os pellets de DNA foram secos à temperatura ambiente. O RNA contaminante foi eliminado através da ressuspensão do pellet em 20 µl de água milli-Q estéril contendo RNase (1mg/ml) e incubação por 2h a 37°C.

5.2.2 Resultados e discussão

O protocolo resultou na obtenção de DNA genômico em boa quantidade e qualidade, a julgar pela visualização em gel de agarose 1% (Figura 5.1A). Para demonstrar a aplicabilidade do método, as regiões ITS 1 e ITS 2 (internal transcribed spacer) e o gene 5.8S rDNA de *P. xanthii* foram amplificadas pela reação de polimerase em cadeia (PCR) com os iniciadores ITS 4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') e ITS 5 (5' GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 3') (WHITE et al., 1990) numa reação com volume final de 25 µl, contendo 1X tampão da enzima Taq DNA polimerase, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,1 µM de cada iniciador, 0,04 u/µl da enzima Taq DNA polimerase e 0,08 ng/µl do DNA genômico. A reação de amplificação, adaptada de Freeman et al. (2000), foi realizada em termociclador modelo PTC-100 (MJ Research), com desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 50°C e 1 minuto a 72°C. A eletroforese do produto de PCR foi realizada em gel de agarose 1,5 % a 98 V por uma hora e a visualização dos fragmentos amplificados foi obtida a partir de fotodocumentador (ImageMaster[®] VDS – Pharmacia Biotech). Em todas as amostras foram obtidos fragmentos de aproximadamente 600 pb (Figura 5.1B), tamanho este igual ao esperado para *P. xanthii*.

Figura 5.1 – A: Eletroforese de DNA genômico em gel de agarose 1%. Nas três primeiras canaletas estão os marcadores de peso molecular Lambda com 50, 25 e 10 ng/μl. De 1 a 19 estão representados os isolados de *P. xanthii*. B: Eletroforese de produto de PCR obtido a partir da amplificação da região ITS 1, ITS 2 e 5.8S através dos iniciadores ITS 4 e ITS 5. M = 100 pb Pharmacia. B = controle negativo. De 1 a 21 estão representados os isolados de *P. xanthii*

5.3 Considerações Finais

Esta metodologia de extração de DNA demonstrou-se bastante satisfatória, sendo rápida e com a vantagem de não requerer nenhuma extração com fenol ou clorofórmio.

Referências

- EDWARDS, K.; JOHNSTONE, C.; THOMPSON, C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.19, p.1349, 1991.
- FREEMAN, S.; MINZ, D.; JURKEVITCH, E.; MAYMON, M.; SHABI, E. Molecular analyses of *Colletotrichum* species from almond and other fruits. **Phytopathology**, Saint Paul, v.90, p.608-614, 2000.
- MAJER, D.; MITHEN, R.; LEWIS, B.G.; VOS, P.; OLIVER, R.P. The use of AFLP fingerprinting for the detection of genetic variation in fungi. **Mycological Research**, Cambridge, v.100, p.1107-1111, 1996.

McDERMOTT, J.M.; BRÄNDLE, U.; DUTLY, F.; HAEMMERLI, U.A.; KELLER, S.; MÜLLER, K.E.; WOLFE, M.S. Genetic variation in powdery mildew of barley: development of RAPD, SCAR, and VNTR markers. **Phytopathology**, Saint Paul, v.84, n. 11, p.1316-1321, 1994.

McGRATH, M.T.; THOMAS, C.E. Powdery mildew. In: ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. **Compendium of cucurbit diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1996. v.1, p. 28-30.

STADNIK, M.J.; KOBORI, R.F.; BETTIOL, W. Oídios de cucurbitáceas. In: STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. v.1, cap. 9. p. 217-254.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.D.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFRAND, D.H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J. **PCR protocols**. San Diego: Academic Press, 1990. p.315-322.