



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE
PERNAMBUCO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Dissertação de Mestrado

**PROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS DE PLANTAS DA
CAATINGA PARA O CONTROLE DA MANCHA AQUOSA
EM MELOEIRO**

Igor Alexsander de Melo Pimentel

Recife – PE

2022

IGOR ALEXSANDER DE MELO PIMENTEL

**PROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS DE PLANTAS DA CAATINGA PARA O
CONTROLE DA MANCHA AQUOSA EM MELOEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof^a. Dr^a. Elineide Barbosa de Souza

Coorientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Siqueira da Gama

Coorientador: Prof. Dr. Delson Laranjeira

**RECIFE-PE
JULHO-2022**

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

P644p

Pimentel, Igor Alexander de Melo

Prospecção de microrganismos de plantas da Caatinga para o controle da mancha aquosa em meloeiro / Igor Alexander de Melo Pimentel. - 2022.
69 f. : il.

Orientadora: Elineide Barbosa de Souza.

Coorientador: Marco Aurelio Siqueira da Gama.

Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, 2022.

1. Acidovorax citrulli. 2. Cucumis melo. 3. Pantoea sp.. 4. Rhodosporidiobolus fluvialis. 5. Controle biológico. I. Souza, Elineide Barbosa de, orient. II. Gama, Marco Aurelio Siqueira da, coorient. III. Título

CDD 632

**PROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS DE PLANTAS DA CAATINGA PARA
O CONTROLE DA MANCHA AQUOSA EM MELOEIRO**

IGOR ALEXSANDER DE MELO PIMENTEL

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 29/07/2022

ORIENTADOR:

Prof^a. Dr^a. Elineide Barbosa de Souza

EXAMINADORES:

Prof^a. Dr^a. Kedma Maria Silva Pinto (UFAPE)

Dr^a. Iwanne Lima Coelho (UFRPE)

**RECFE-PE
JULHO – 2022**

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente, agradeço o dom da vida, a saúde, a sabedoria e o amor.

A minha Família, em especial meus pais Emília e João, pela ajuda muitas vezes financeira, pela compreensão do isolamento que se faz necessário para a consecução da Dissertação;

A minha Orientadora Prof^ª. Dr^ª. Elineide Barbosa de Souza pelas colaborações e orientações por ela propostas, minha sincera admiração;

Aos Coorientadores Prof.^º Dr. ^º Marco Aurélio Siqueira da Gama e Prof.^º Dr. ^º Delson Laranjeira, pelo apoio e suporte na condução do trabalho;

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, em especial aqueles que tive o prazer ser aluno durante o curso: Marcos Paz Saraiva Câmara, Delson Laranjeira, Elineide Barbosa de Sousa, Marco Aurélio Siqueira da Gama e Humberson Rocha Silva, pela dedicação na transmissão do conhecimento em fitopatologia;

Aos meus amigos do Laboratório de Fitobacteriologia (LAFIBAC) e do Laboratório de Fungos de Solo (LAFSOL), sem os quais não seria possível a condução do trabalho: Messias, Lucas Amancio, Marcelle, Davi, Fernanda Corona, Fernanda Larisse, Greecy, Keyla, Leandro Santos, Lucas Lucena, Marcelo, Taciana, Wallison, Leo Velez, Lucas Nascimento, Iwanne, Sergio, Thais, pela colaboração, aconselhamentos e paciência;

Aos amigos que disponibilizaram o seu tempo na ajuda da execução deste trabalho, em especial: Messias, Iwanne, Sergio, Lucas Amancio, Davi Ferreira, Fernanda Corona, Marcelo;

A minha namorada Juliana Melo pelo companheirismo e compreensão nas horas mais difíceis do mestrado, além de sua companhia e parceria na vida e no profissional;

E, por fim, a todos aqueles que me ajudaram de maneira direta e indireta na construção do meu conhecimento durante o Curso de Mestrado em Fitopatologia.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO GERAL	vi
GENERAL ABSTRACT	vii
CAPÍTULO I – Introdução Geral	08
Referências Bibliográficas	21
CAPÍTULO II – Controle biológico da mancha aquosa em meloeiro por <i>Pantoea</i> <i>sp.</i> e <i>Rhodosporidiobolus fluvialis</i> obtidas de plantas da Caatinga	32
Resumo	33
Introdução	35
Material e Métodos	36
Resultados	42
Discussão	45
Agradecimentos	48
Referências	48
CONCLUSÕES GERAIS	67

RESUMO GERAL

A mancha aquosa é uma das principais ameaças ao meloeiro no Brasil, devido ao seu elevado potencial destrutivo. Essa doença tem como agente causal a bactéria *A. citrulli*. As medidas adotadas para controle da mancha aquosa não têm se mostrado eficazes, uma vez que novas epidemias estão sendo relatadas em todo o mundo, o que incentiva a busca por novas estratégias de controle. A Caatinga é um bioma situado na região semiárida do Brasil que possui plantas adaptadas as condições ambientais adversas, sendo uma fonte inesgotável de microrganismos que precisam ser estudados quanto a eficiência no biocontrole de fitopatógenos. Neste contexto, o objetivo da pesquisa foi selecionar microrganismos provenientes de plantas da Caatinga com potencial para o biocontrole da mancha aquosa em diferentes estádios fenológicos da cultura e determinar possíveis mecanismos desempenhados por esses biocontroladores. Das 29 amostras de espécies vegetais coletadas da Caatinga, foram isolados 98 microrganismos. No tratamento de plantas com os antagonistas, treze isolados (CCRMIP53, CCRMIP108, CCRMIP08, CCRMIP16, CCRMIP151, CCRMIP138, CCRMIP01, CCRMIP41, CCRMIP72, CCRMIP146, CCRMIP89, CCRMIP87 e CCRMIP21) destacaram-se como os mais eficientes na proteção de plantas, pois não diferiram significativamente da levedura *Rodothorola aurantiaca* CCRMLMA1, utilizada como controle positivo. Esses 13 isolados reduziram a severidade da doença (SEV) e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em mais de 62,3% e 75,6%, respectivamente. Quando testados novamente em relação a proteção de plantas, plântulas e em sementes contaminadas com *A. citrulli* mantiveram a eficácia de controle nos diferentes estádios fenológicos da cultura, com destaque para os isolados CCRMIP01 (bactéria) e CCRMIP21 (levedura). Esses isolados apresentaram como mecanismos de ação antagônica a antibiose, produção de biofilme e *quorum quenching*, além de fator *Killer* no caso da levedura. A bactéria antagonista CCRMIP01 foi identificada como *Pantoea* sp. e a levedura CCRMIP21, como *Rhodospiridiobolus fluvialis*. Portanto, a utilização desses microrganismos, aliada a outros métodos de controle, será uma importante alternativa de manejo para a mancha aquosa. Este trabalho também apresentou o primeiro relato de uma espécie de *Rhodospiridiobolus* como agente de biocontrole de fitopatógeno e mostrou o potencial de microrganismos de plantas do bioma Caatinga como uma nova fonte de agentes de biocontrole de fitobacterioses.

Palavras-chaves: *Acidovorax citrulli*; *Cucumis melo*; *Pantoea* sp.; *Rhodospiridiobolus fluvialis*; Controle biológico.

GENERAL ABSTRACT

The bacterial fruit blotch is one of the main threats to the melon plant in Brazil, due to its high destructive potential. This disease is caused by the bacterium *Acidovorax citrulli*. The measures adopted to control the bacterial fruit blotch haven't been effective, once new epidemics are being reported all over the world, which encourages the search for new control strategies. The Caatinga is a biome located in the Brazilian semi-arid that has plants adapted to adverse environmental conditions, being an inexhaustible source of microorganisms that need to be studied for efficiency in the biocontrol of phytopathogens. In this context, the objective of the research was to select microorganisms from Caatinga plants with potential for the biocontrol of bacterial fruit blotch at different phenological stages of the culture and determine possible mechanisms performed by these biocontrollers. Of the 29 samples of plant species collected from the Caatinga, 98 microorganisms were isolated. In the treatment of plants with antagonists, thirteen isolates (CCRMIP53, CCRMIP108, CCRMIP08, CCRMIP16, CCRMIP151, CCRMIP138, CCRMIP01, CCRMIP141, CCRMIP72, CCRMIP146, CCRMIP89, CCRMIP87, CCRMIP21), stood out as the most efficient in plant protection, as they did not differ significantly from the yeast *Rodothorola aurantiaca* CCRMLMA1, used as positive control. These 13 isolates reduced disease severity (SEV) and area under the disease progress curve (AACPD) by more than 68,8% and 75,96%, respectively. When tested again for protection of plant, seedlings and in seeds contaminated with *A. citrulli* maintained efficacy in the different phenological stages of the culture, with emphasis on the isolates CCRMIP01 (bacteria) and CCRMIP21 (yeast). These isolates presented as mechanisms of antagonistic action antibiosis, biofilm production and *quorum quenching*, in addition *killer* factor in the case of yeast. The antagonist bacterium CCRMIP01 was identified as *Pantoea* sp. and the yeast CCRMIP21, as *Rhodospiridiobolus fluvialis*. Therefore, the use of these microorganisms, combined with other control methods, will be an important management alternative to bacterial fruit blotch. This work also presented the first report of a species of *Rhodospiridiobolus* as a phytopathogen biocontrol agent and showed the potential of microorganisms from plants Caatinga biome as a new source of phyto-bacteriosis biocontrol agents

Keywords: *Acidovorax citrulli*; *Cucumis melo*; *Pantoea* sp., *Rhodospiridiobolus fluvialis*; Biologic control.

CAPÍTULO I

Introdução Geral

PROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS DE PLANTAS DA CAATINGA PARA O CONTROLE DA MANCHA AQUOSA EM MELOEIRO

INTRODUÇÃO GERAL

1. A cultura do meloeiro

O meloeiro (*Cucumis melo* L) é uma espécie hortícola pertencente ao gênero *Cucumis*, muito apreciada e de grande popularidade no mundo (RAHIMI-MIDANI *et al.*, 2020). Seu centro de origem genético não está nitidamente definido, mas alguns autores acreditam que seja da África enquanto outros, que seja do oeste da Ásia, sendo levado da Índia para todas as regiões do mundo (DEMARTELAERE, 2021). Sua introdução no Brasil foi realizada por intermédio dos escravos e imigrantes europeus em meados da década de 60, no Rio Grande do Sul, considerado o primeiro centro de cultivo do meloeiro, expandindo-se para São Paulo e posteriormente para as regiões Norte e Nordeste, especialmente nos estados do Ceará - CE e Rio Grande do Norte – RN (GERHARDT, 2012).

Os melões cultivados comercialmente pertencem a dois grupos botânicos: *Cucumis melo* var. *cantaloupensis* Naud. e *C. melo* var. *inodorus* Naud., que correspondem, respectivamente, aos melões aromáticos e aos melões inodoros (ALVES, 2000). Para uma melhor comunicabilidade no agronegócio do meloeiro, existe também a catalogação por tipo que agrupa híbridos ou cultivares com uma ou mais características semelhantes, identificadas com facilidade e diferenciadas dos demais, como por exemplo, o formato do fruto, o aspecto da casca, a cor da polpa, entre outras (ALVES, 2000).

Os melões pertencentes ao grupo *C. melo* var. *cantaloupensis* são muito aromáticos, sendo mais doces que os inodoros, possuem superfície rendilhada, verrugosa ou escamosa, polpa de tonalidade alaranjada, salmão ou às vezes verde e com aroma característico médio (MENEZES *et al.*, 2000). Já os frutos pertencentes ao grupo *C. melo* var. *inodorus* apresentam casca levemente enrugada ou lisa, tom amarelo, verde-escuro ou branco. A polpa possui uma coloração que varia de branco a verde-claro, com alto teor de açúcares e é, na maioria das vezes espessa (20 a 30 mm) (FERNANDES, 1996; FREITAS, 2003). Os tipos mais comercializados no Brasil são: Charentais (pertencentes à variedade *cantaloupensis*) e Amarelo, Pele de Sapo e Honey Dew (pertencentes à variedade *inodorus*) (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

O melão do tipo amarelo é responsável por aproximadamente 70% do melão produzido e comercializado no Brasil, sendo também o principal tipo que se destina ao mercado externo. Essa preferência deve-se ao potencial produtivo e a maior resistência do melão amarelo ao

transporte por extensas distâncias e no armazenamento em temperatura ambiente (DEMARTELAERE *et al.*, 2021).

Em 2020, o meloeiro atingiu uma produção de aproximadamente 28,5 milhões de toneladas, em mais de 1,07 milhões de hectares colhidos (FAO, 2022). O maior produtor é a China, seguida pelo Irã, Turquia, Índia e Cazaquistão (ZHANG *et al.*, 2021). De acordo com a FAO (2022), a produção total de *C. melo* nos cinco principais países produtores de melão representa mais de 67,9% da produção global. No mesmo ano, o Brasil ocupou a 10ª posição, contribuindo com aproximadamente 2,1% da produção mundial, superando mais de 613 mil toneladas de frutos produzidos (IBGE, 2022). Embora todas as regiões do Brasil produzam o melão, o Nordeste é responsável por mais de 95% da produção nacional (IBGE, 2022), pois o clima semiárido é bastante favorável ao desenvolvimento da planta (MOURA *et al.*, 2011).

Os estados do Rio Grande do Norte e do Ceará destacam-se como os principais produtores nacionais da fruta, contribuindo com 76% do total produzido no Brasil. A cultura do melão vem sendo o principal produto agrícola do Rio Grande do Norte, destinado ao mercado externo (DEMARTELAERE *et al.*, 2021), onde em 2020, exportou mais de 37% do total produzido (356.705 toneladas), movimentando quase 150 milhões de dólares (IBGE, 2022).

Apesar da grande adequação às condições edafoclimáticas predominantes na região Nordeste, o cultivo do meloeiro é limitado por diversas doenças e pragas que acometem essa cultura, causando perdas significativas na produtividade e qualidade dos frutos (GONZÁLEZ; ARMIJOS; GARCÉS-CLAVER, 2020). Segundo Martyn (2014) algumas dessas doenças foram caracterizadas recentemente, enquanto outras são conhecidas há mais de quatro décadas, como o caso da fitobacteriose mancha aquosa, causada pela bactéria *Acidovorax citrulli* (Schaad *et al.*) Schaad *et al.*, que é uma doença de grande impacto agrícola global nas culturas de cucurbitáceas, especialmente na melancia e meloeiro, sendo a bactéria considerada uma praga quarentenária em muitos países (EPPO, 2022). Embora não seja uma praga quarentenária no Brasil, *A. citrulli* possui uma grande importância econômica para o meloeiro, pois causa depreciação no valor comercial do fruto (OLIVEIRA *et al.*, 2007) e elevadas perdas na produção, que podem chegar a 100% (SALES JUNIOR; MENEZES, 2001).

2. Mancha aquosa do meloeiro (*Acidovorax citrulli*)

A *A. citrulli* é classificada no Domínio Bactéria, Filo Proteobacteria, Classe Betaproteobacteria, Ordem Burkolderiales, Família Comamonadaceae e Gênero *Acidovorax* (SCHAAD *et al.*, 1978). Essa bactéria tem como características a forma de bastonete, aeróbica, móvel por um flagelo polar e Gram negativa (PUSEY; WILSON, 1984). De acordo com SCHAAD *et al.* (1978), *A. citrulli* apresenta no crescimento *in vitro* colônias pequenas de 0,7 a 1,0 mm com coloração cremes ou brancas.

Descrita pela primeira vez em cultivos de meloeiro nos Estados Unidos na metade da década de 1990 (ISAKEIT *et al.*, 1999), *A. citrulli* atualmente está presente em quase todos os continentes (Figura 1) (EPPO, 2022). No Brasil foi constatada em 1997, acarretando grande impacto econômico para o meloeiro no Rio Grande do Norte, causando perdas maciças de rendimento, em condições favoráveis, devido aos elevados índices de infecção (ASSIS *et al.*, 1999). Atualmente, a bactéria está amplamente distribuída nos estados da Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Pernambuco, Ceará e Piauí (Figura 2) (ASSUNÇÃO *et al.*, 2019).

Figura 1. Distribuição Mundial de *Acidovorax citrulli*: ponto roxo significa, em processo de erradicação e, pontos amarelos, presença da bactéria (Fonte: EPPO, 2022).

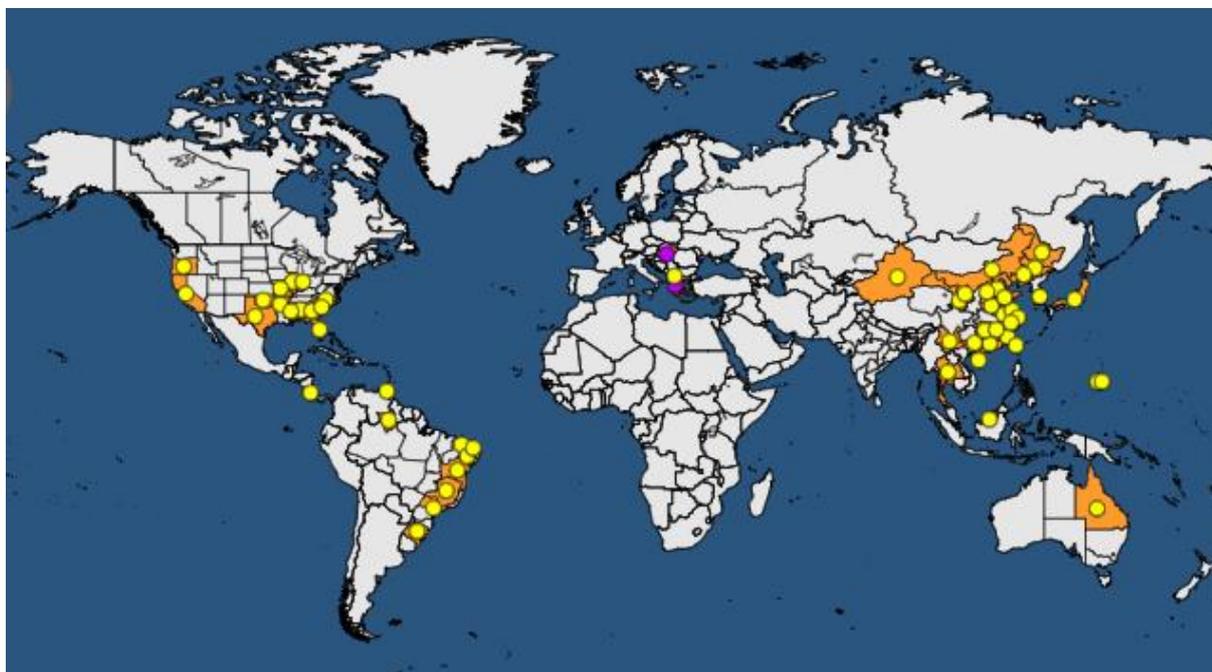
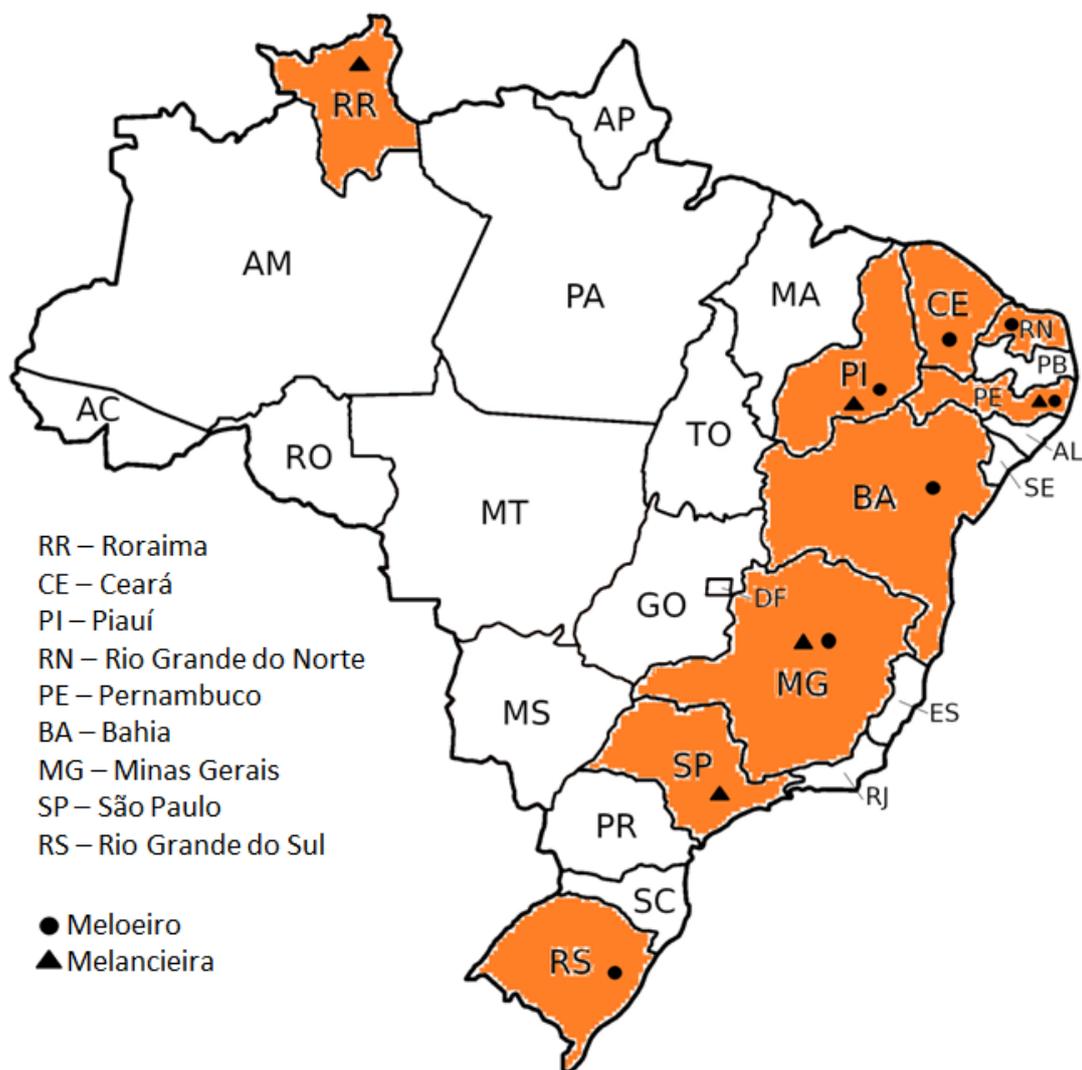


Figura 2. Distribuição de *Acidovorax citrulli* nos Estados brasileiros (Fonte: Adaptado de ASSUNÇÃO *et al.*, 2019).



Os primeiros sintomas da doença surgem normalmente em mudas e plantas jovens, no entanto, a mancha aquosa pode ocorrer em qualquer fase de desenvolvimento do meloeiro (ASSUNÇÃO *et al.*, 2019). Os sintomas característicos da doença incluem lesões encharcadas nos cotilédones, hipocótilos e folhas, que posteriormente progridem para verde-escuras e marrons. Nos frutos estão os sintomas mais típicos da mancha aquosa, com lesões aquosas pequenas e irregulares, de coloração verde-oliva que progridem através da casca, resultando em rachaduras que podem ocasionar a perda completa do melão (RAHIMI-MIDANI; CHOI, 2020).

As sementes infestadas ou infectadas com *A. citrulli* representam a fonte mais importante de inóculo primário para os surtos da mancha aquosa (ALVES *et al.*, 2018), mas as mudas infectadas, se distribuídas aos produtores, também podem resultar em ampla disseminação (BRANHAM *et al.* 2019). Após o crescimento das plantas de meloeiro no campo, a disseminação da *A. citrulli* ocorre para novas plantas e folhas vizinhas, principalmente através da irrigação e chuva, insetos, operários, solos infestados e utensílios agrícolas (ASSUNÇÃO *et*

al., 2019). Na pós-colheita, a disseminação pode acontecer de forma limitada por meio do contato entre os frutos sadios e doentes, pois a infecção só ocorre naqueles com ferimentos (BURDMAN; WALCOTT, 2012).

A bactéria possui a capacidade de sobreviver em folhas, frutos, sementes de cucurbitáceas contaminadas que permanecem no campo após a colheita do melão (MARIANO *et al.*, 2004). Dutta *et al.* (2016) relataram que a bactéria sobreviveu eficientemente em sementes de meloeiro e melanciaira por períodos maiores que 30 anos, situada no endosperma/embrião, o que acaba dificultando a erradicação. Além disso também sobrevive em tecidos foliares e frutos de meloeiro incorporados ao solo nas profundidades de 0,5 a 10 cm por 21 dias, e a 15 cm por 14 dias, mas na ausência de uma planta hospedeira sobrevive menos de uma semana (ALVES *et al.*, 2018). A sobrevivência da bactéria no campo também ocorre em hospedeiras alternativas como as cucurbitáceas nativas bucha (*Luffa cylindrica*), melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) (SANTOS; VIANA, 2000), cabaça (*Lagenaria vulgaris* Ser.) (VIANA *et al.*, 2000) e melão-pepino (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* Naud.) (OLIVEIRA; SALES JÚNIOR; MARIANO, 2003).

3. Manejo da mancha aquosa

Muitas estratégias de manejo foram implementadas e testadas para o controle da mancha aquosa, incluindo a seleção de cultivares resistentes ou tolerantes (BAHAR *et al.*, 2009), tratamentos com ácidos perocético (HOPKINS *et al.*, 2003), solução de quitosana (LI *et al.* 2013) e pulverização de plantas com compostos cúpricos (WALCOTT *et al.*, 2001). No entanto, todos esses métodos são insuficientes e limitados no combate à doença (HUSNI *et al.*, 2021). Então, para o controle eficiente da mancha aquosa é necessário um conjunto de medidas, nas diferentes fases do processo de produção (sementes, mudas e frutos de meloeiro) (ASSUNÇÃO *et al.*, 2019).

O tratamento de sementes é a estratégia mais aplicada no controle da mancha aquosa, visto que a exclusão de *A. citrulli* pelo uso de sementes livres do patógeno é a primeira medida a ser empregada, uma vez que a tolerância para a presença de sementes contaminadas com a bactéria é zero (WALCOTT, 2005). Esses tratamentos podem ser realizados através de métodos físicos e químicos, tais como: hipoclorito de sódio a 0,5% por 20 minutos; ácido láctico 2% por 20 minutos (VIANA *et al.*, 2000), estreptomicina por 16 horas (1mg/ mL) (SOWELL; SCHAAD, 1979); sulfato de estreptomicina 0,1 % + solução salina 1,5 % por 30 minutos; sulfato de estreptomicina a 0,1% por 30 minutos; Bion 0,01% (acibenzolar-S metil) por 20 minutos (MORAES; MEDEIROS; MARIANO, 2002); ácido peroxiacético 1.600 ug/mL por

30 minutos seguindo-se de secagem a baixa umidade a 40 °C por 24 horas (HOPKINS; THOMPSON, 2003); kasugamicina 0,1% e oxiclreto de cobre 0,5%, isoladamente ou em mistura por 30 minutos (SILVA NETO *et al.*, 2003); água quente a 52 °C por 10 minutos (SANTOS; VIANA, 2000). Embora essas medidas sejam indicadas, nenhuma consegue erradicar a bactéria totalmente, mas reduzem expressivamente a disseminação da bactéria para as plântulas (BURDMAN; WALCOTT, 2012). De acordo com Bahar *et al* (2011) a otimização na detecção da *A. citrulli* em sementes através do uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) é outra forma de manter os campos de produção livre dessa bactéria.

Uma vez detectado os sintomas da mancha aquosa nas folhas das plantas durante o desenvolvimento da cultura, recomenda-se a pulverização de produtos químicos que englobem cobre, tais como sulfato, oxiclreto e hidróxido de cobre (HOPKINS; THOMPSON, 2003). Entretanto, esses produtos não desempenham a eficácia desejada, além disso, podem favorecer o aparecimento de isolados resistentes ao cobre (WALCOTT *et al.*, 2004; WECHTER *et al.*, 2011).

Outras medidas de manejo utilizadas nos campos de produção de frutos são as culturais, como: evitar plantio em períodos chuvosos; realizar adubação equilibrada; rotação de culturas por pelo menos três anos; evitar circulação de pessoas ou implementos na área sobre condições de chuva, orvalho ou mesmo irrigação; destruir restos vegetais, especialmente quando o campo estiver infectado pela bactéria (VIANA *et al.*, 2000); erradicar plântulas e plantas com sintomas, como também as plantas voluntárias (DIAS *et al.*, 1998).

Mesmo que essas medidas adotadas possibilitem a diminuição das perdas em plantios (ASSUNÇÃO *et al.*, 2021), a mancha aquosa ainda é uma ameaça considerável à produção de melão, pois novas epidemias da *A. citrulli* estão sendo apontadas em todo o mundo (EPPO, 2022), causando grande impacto econômico mundial, o que impulsiona a necessidade da busca de novas alternativas para o controle dessa fitobacterioses, dentre as quais o controle biológico.

4. Controle biológico

A preocupação dos consumidores com o impacto dos agroquímicos no meio ambiente e da contaminação da cadeia alimentar vem modificando o cenário agrícola, acarretando grandes mudanças na produção de alimentos, das quais sem o uso de produtos químicos. O controle biológico é uma das alternativas mais debatidas para a diminuição do uso de agroquímicos podendo tanto aproveitar o controle biológico natural como também realizar a introdução de um agente de controle biológico (BETTIOL; MORANDI, 2009).

De acordo com Chet *et al.* (1997) o controle biológico pode ser definido como a influência de um organismo, o antagonista, sobre o outro, o patógeno, causando uma redução dos efeitos provocados pelo patógeno em determinada planta hospedeira. Estes microrganismos antagonistas, também conhecidos como agentes de controle biológico, possuem potencial para interferir nos processos vitais dos fitopatógenos e envolve, em sua maioria, indivíduos dos grupos de fungos e bactérias que podem ser de ocorrência natural ou de manipulação genética (MARIANO; SILVEIRA; GOMES, 2002).

O sucesso do biocontrole dependerá dos mecanismos de ação dos antagonistas e também das características desejáveis em um antagonista, tais como: ser geneticamente estável, ser efetivo a baixas concentrações, ter habilidade para sobreviver sob condições adversas, não ser exigente em requerimentos nutricionais e ser eficiente contra uma vasta gama de patógenos em várias hospedeiras (AMORIM; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2018), além da facilidade de gerenciamento e utilização (WISNIEWSKI; WILSON, 1989). Por isso, testes *in vitro* e *in vivo* são a base para selecionar e avaliar o potencial e a viabilidade dos microrganismos biocontroladores (FILIZOLA *et al.*, 2019).

A maioria dos microrganismos envolvidos no controle biológico operam por meio da antibiose, no qual um metabólito produzido por um microrganismo tem efeito nocivo sobre o outro, inibindo assim o seu crescimento. Esses metabolitos podem resultar na completa lise e dissolução da estrutura celular, independente do contato físico entre os microrganismos (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Muitas bactérias e leveduras antagonistas inibem os fitopatógenos através da produção de metabólitos secundários, que podem ser antibióticos ou enzimas líticas, da produção de toxinas killers e do *Quorum quenching* – QQ (Antibiofilme) (VISCONTI *et al.*, 2017). As toxinas *killer*, também denominadas fator *killer* ou proteínas *killer*, que são proteínas extracelulares de baixo peso molecular, de natureza proteica ou glicoproteica, com efeitos letais sobre outras leveduras e uma ampla variedade de bactérias, além de uma gama de fungos filamentosos (ÇORBACI; UÇAR, 2017). Essas toxinas foram detectadas pela primeira vez em 1963 por Bevan e Makower (1963), que conduziram uma pesquisa com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen, onde observaram que os isolados secretavam alguma substância que era letal para outras leveduras da mesma espécie. Desde então, outros gêneros de leveduras com atividade *killer* têm sido isolados em diferentes ambientes de diversas partes do mundo, existindo mais de 90 gêneros de leveduras, entre os quais: *Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Williopsis*, *Zygosacchomyces*, *Hansenula*, *Kloeckera*, *Metschnikowia*,

Rhodothorula, *Schwanniomyces*, *Torulopsis*, *Ustilago* e *Zigowillopsis* (FERRAZ; CUNHA; KUPPER 2018).

O biofilme, é um coagregado organizado de microrganismos, embebido numa matriz formada por glicoproteínas, água, polissacarídeos extracelulares e ácidos nucleicos (MARSH, 2009). Esses microrganismos agregados realizam uma comunicação celular, conhecida como *Quorum sensing* (QS), que possui um papel importante na coordenação das ações leveduriformes e bacterianas visando a proteção contra mecanismos de defesa do hospedeiro, as forças de cisalhamento e outros fatores locais (TEUGHELIS *et al.*, 2006). A produção desses biofilmes tem sido descrita como um importante fator de virulência em uma ampla variedade de fitopatógenos, uma vez que esses patógenos se tornam tolerantes as condições ambientais adversas e resistentes aos mecanismos de defesas impostas pelo hospedeiro, como a produção de antimicrobianos (MALAFAIA *et al.*, 2019). Portanto, a busca de novos mecanismos de biocontrole para inibir o QS são necessárias para o controle de fitobacterioses, a exemplo do QQ. Esse mecanismo inibe o processo de comunicação bacteriana através da degradação do AHL (acil homoserina lactona) ou pela produção em excesso de AHL para causar confusão do patógeno (WANG *et al.*, 2020). As estratégias do QQ não visam matar bactérias ou limitar seu crescimento. Em vez disso, eles afetam a expressão de uma função específica, exercendo um importante recurso de pressão seletiva mais limitada para a sobrevivência microbiana do que os tratamentos com biocidas (VADAKKAN *et al.*, 2022). De acordo com Zhao *et al.* (2020), no atual contexto da crescente resistência bacteriana aos antibióticos, este é um recurso valioso para o desenvolvimento de um controle sustentável.

Um dos casos mais conhecidos e estudados de controle biológico de uma fitobacteriose utilizando bactérias, é o controle da galha em coroa, doença causada por *Rhizobium radiobacter* (Beijerinck and van Delden) Young *et al.* (Sin. *Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend) Conn) pelo antagonista não fitopatogênico *R. radiobacter* (Sin. *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden) Conn). Até início dos anos 70, não havia nenhuma forma efetiva de controle reconhecida a não ser medidas preventivas, como utilizar propágulos e sementes livres da bactéria e evitar plantio em áreas infestadas. Nessa época, o grupo de trabalho do Dr. Allen Kerr, da Universidade de Adelaide, obteve de solo, isolados de *R. radiobacter* (saprófita) fortemente antagônicos *in vitro* a *R. radiobacter* (tumorigênica). Posteriormente pesquisas mostraram que esse biocontrole também ocorria *in vivo*, estabelecendo-se assim o primeiro caso de controle biológico de uma bacteriose de planta em cultivo comercial (ROMEIRO; GARCIA, 2003).

Nos últimos anos, vem sendo bastante estudado o desempenho das bactérias biocontroladoras, principalmente dos gêneros *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Enterobacter*, *Streptomyces* e *Pseudomonas*, contra microrganismos fitopatogênicos, incluindo fungos e bactérias, que ocasionam danos econômicos em vários setores do agronegócio, viabilizando assim o uso de práticas mais sustentáveis através do controle biológico (ABREU *et al.*, 2022; ADENIJI *et al.*, 2021; COCONUBO GUIO *et al.*, 2020; GEBILY, D. A. S. *et al.*, 2021; KAZERONI *et al.*, 2020). Em estudos realizados por vários autores, as bactérias do gênero *Pantoea* e *Bacillus* surgiram como grandes promotoras de crescimento de plantas, além de atuarem também no biocontrole de fitopatógenos, e dentre as mais estudadas estão as espécies *P. agglomerans* (Ewing & Fife) Gavini *et al.* e *B. amyloliquefaciens* Priest *et al.* (CISTERNAS-JAMET *et al.*, 2019; FARIA *et al.*, 2021; GODEBO; GERMIDA; WALLEY., 2020; RAMÍREZ *et al.*, 2022; RANI *et al.*, 2022). Recentemente estudos indicaram que a bactéria *P. agglomerans* foi capaz de produzir ácido indol-3-acético e metabólitos como bioestimulantes em viveiros de plantas (LUZIATELLI *et al.*, 2020), e também de produzir atividade antibiótica contra *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous *et al.*, *Monilinia fructigena* (Aderhold & Ruhland) Honey e *M. laxa* (Aderhold & Ruhland) Honey (HAIDAR *et al.*, 2021; LAHLALI *et al.*, 2020). Essas bactérias atuam através de mecanismos indiretos e diretos, como na aquisição de nutrientes (fosforo e nitrogênio), potencializando o crescimento de algumas plantas; na produção de fitormônios e lipopeptídeos; sintetizando compostos antifúngicos e enzimas (FARZAND *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020).

Em registros científicos são encontrados resultados promissores com a utilização de bactérias para o controle biológico da mancha aquosa. Santos *et al.* (2006) relataram ter conseguido o biocontrole por meio do tratamento de sementes infectadas com líquidos fermentados com ou sem presença das células de *B. pumilis* Meyer & Gottheil (isolado C116), *B. subtilis* (Ehrenberg) Cohn (R14), *Bacillus* sp. (MEN2), *B. megaterium* pv. *cerealis* Hosford (RAB7), tendo caracterizado que o mecanismo de ação destes isolados procedeu da antibiose e à presença de compostos ativos parcialmente caracterizados como lipopeptídeos. O isolado *Bacillus* sp. RAB9 mostrou eficiência no controle da doença através do tratamento de sementes infectadas (MEDEIROS *et al.*, 2002). JIANG *et al.* (2015) ao estudarem os mecanismos antagônicos do isolado *B. amyloliquefaciens* 54 contra a *A. citrulli*, relataram pela primeira vez o controle da mancha aquosa por meio dessa espécie antagonista e também descobriram que a bactéria pode promover o crescimento da planta, devido ao aumento dos teores de NPK absorvido pelas plantas. O isolado *B. subtilis* 9407 foi avaliado no biocontrole da mancha aquosa e reduziu em 61,7% a severidade da doença em plântulas, sendo associado a forte

atividade antibacteriana por meio da produção do composto surfactina (FAN *et al.*, 2017). Bactérias dos gêneros *Curtobacterium*, *Microbacterium* e *Pseudomonas* também são relatadas controlando *A. citrulli*, onde foram capazes de reduzir a incidência e severidade da doença, em plântulas de meloeiro, em até 79,47% e 41,49%, respectivamente (HORUZ; AYSAN, 2018). Horuz (2021), ao pulverizar *Pseudomonas oryzihabitans* (Ishiyama) Swings *et al.* em folhas verdadeiras de meloeiro, observou um potencial no controle da *A. citrulli*, pois o isolado antagonista reduziu a severidade da doença em mais de 65%.

Ultimamente, as leveduras também passaram a ser estudadas com maior frequência no controle de doenças de plantas, pois apresentam mecanismos antagonistas eficientes para o controle de muitos fitopatógenos. São organismos amplamente disseminados em todos os ambientes terrestres, estando presentes na microbiota epifítica e endófitica das plantas, ocupando, habitualmente, o solo, a rizosfera, a superfície das folhas, casca, frutas, flores e tecidos necróticos (QIN *et al.*, 2015). As leveduras produzem muitas substâncias, incluindo enzimas degradadoras da parede celular de outros fungos e bactérias, antibióticos e outros compostos, que atuam no crescimento e nos mecanismos de defesa biológica das plantas (MACHADO *et al.*, 2012), desempenhando importante papel no controle biológico e sendo consideradas, atualmente, um dos principais microrganismos que constituem os nichos microbiológicos (BUSBY *et al.*, 2016).

São várias as características que fazem das leveduras promissoras biocontroladoras, a facilidade de produção e manutenção *in vitro*, fácil adaptação nutricional, alta capacidade de proliferação e boa capacidade colonizadora (ROBIGLIO *et al.*, 2011). Dentre os gêneros de leveduras estudados como potenciais biocontroladores destacam-se *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Cryptococcus* e *Aureobasidium* (BETTIOL *et al.*, 2012). Atualmente apenas o produto Blossom Protect™, que tem como princípio ativo *Aureobasidium pullulans* (de Bary) G. Arnaud é registrado para o controle de fitobacteriose, a queima da macieira (COLLINGE *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, as leveduras também têm sido testadas para o controle de *A. citrulli*. Wang *et al.* (2009) ao realizarem uma pulverização foliar da levedura *Pichia anomala* (Hansen) Kurtzman em melão Hami, verificaram uma redução da incidência e da severidade da mancha aquosa. O tratamento das sementes de melão com extrato metabólico desta levedura reduziu a incidência da doença em plantas e a sua eficácia não diferiu significativamente do tratamento com sulfato de estreptomicina (0,1% p/v) e ácido hidrocloreídrico (2% v/v). No Brasil, Melo *et al.* (2015) obtiveram resultados promissores no controle da mancha aquosa em meloeiro, ao testar 60 isolados de leveduras. Os isolados *Rhodotorula aurantiaca* (Saito) Lodder e *P.*

anomala foram eficientes na proteção de plantas e no tratamento das sementes, reduzindo o índice da doença (58,6%) e área abaixo da curva de progresso da doença (47,2%).

Embora demonstre grande potencial, o biocontrole de *A. citrulli* no meloeiro, utilizando bactérias e leveduras antagonistas, ainda é pouco explorado nas pesquisas científicas brasileiras e, não existem produtos biológicos comerciais registrados para o controle dessa fitobacteriose, o que justifica a necessidade de pesquisas com o objetivo de identificar microrganismos antagonistas promissores.

5. Bioma Caatinga

Os microrganismos antagonistas podem ser obtidos da planta na qual se deseja realizar o biocontrole, mas também de habitats diversos, com características que imprimam a esses microrganismos uma maior resistência as condições ambientais, principalmente quando se deseja o controle de um fitopatógeno (BETTIOL; MORANDI, 2009).

O bioma Caatinga situado na região semiárida, compreende cerca de dez Estados brasileiros, estendendo-se pela região Nordeste e o estado de Minas Gerais, com aproximadamente 844,453 Km², o que corresponde a quase 50% do Nordeste brasileiro e 10,1% do território nacional (IBGE, 2020). O termo Caatinga é originário do tupi-guarani e significa mata branca, que caracteriza bem a paisagem esbranquiçada apresentada pela vegetação durante o período seco, onde grande parte das plantas perde as folhas e os troncos tornam-se esbranquiçados e secos (BELEZA, 2021). É considerado como o único bioma exclusivamente brasileiro e apesar de sua biodiversidade ainda ser pouco conhecida é a mais diversa do que qualquer outro bioma o qual esteja exposto às mesmas condições de clima (CAVALCANTI *et al.*, 2018).

De acordo com Martins (2007) o bioma da Caatinga é uma floresta sazonalmente seca que apresenta um mosaico com tipos de vegetações bastante diversos, caracterizados, geralmente, por formações vegetais lenhosas, decíduas, xerófilas, com muitas espécies espinhosas, compreendendo um estrato arbóreo esparso (8 a 12 metros), outro arbóreo-arbustivo (2 a 5 metros) e um herbáceo estacional (abaixo de 2 metros), de acordo com a época das chuvas. Dentre as espécies vegetais mais comuns da Caatinga, estão o marmeleiro (*Cydonia oblonga* Mill), o xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.) Bly. ex Rowl.), a jurema (*Mimosa tenuiflora* (Mart.) Benth.), o mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.), o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr.), o pinhão-bravo (*Jatropha molíssima* (Pohl) Baill.) e a faveleira (*Cnidoscolus quercifolius* Pohl).

A Caatinga caracteriza-se por ter condições ambientais diferenciadas, com elevadas temperaturas, médias anuais entre 25 °C e 30 °C, diferentes disponibilidades de nutrientes que variam de acordo com os tipos de solos encontrados e baixa disponibilidade hídrica (MOURA *et al.*, 2015). As elevadas temperaturas associadas à alta insolação provocam uma demanda evaporativa alta e conseqüentemente a dessecação do solo, justificando o déficit hídrico da região (LEAL *et al.*, 2003; TROVÃO *et al.*, 2007).

Devido as suas condições ambientais, espécies provenientes deste bioma desenvolveram adequações fisiológicas e reprodutivas para viver nesta região. Por isso, apresentam diferentes tipos de metabolismo e respostas adaptativas interessantes no âmbito científico e potencialmente exploráveis nos processos biotecnológicos (CAVALCANTI *et al.*, 2018). Drumond *et al.* (2000) relataram que a Caatinga é um ecossistema rico em recursos genéticos, com alta biodiversidade quando comparada a outras regiões semiáridas no mundo, pois apresentam uma variada cobertura vegetal, em grande parte determinada pelo clima, relevo e embasamento geológico. Sua flora nativa apresenta características anatômicas, morfológicas e funcionais especializadas para a sobrevivência destas plantas a estas condições de clima e solo. Com o crescente interesse da indústria de biotecnologia pelo uso de microrganismos e plantas como biofábricas de substâncias para diversos fins, a Caatinga pode funcionar como reservatório de biofábricas de microrganismos potenciais, por exemplo, para o uso no controle biológico de doenças de plantas (COSTA, 2011).

Como área promissora na investigação de novas biomoléculas com atividade biológica, a Caatinga vem se destacando devido às espécies vegetais e os microrganismos estarem adaptadas às condições extremas de estresse ambiental, o que é bem característico das regiões semiáridas, com baixa pluviosidade, temperaturas elevadas e altas taxas de evapotranspiração e incidência de luz UV (CARRARA, 1996). A expansão das pesquisas voltadas para a bioprospecção de metabólitos secundários oriundos de plantas da Caatinga é extremamente importante, uma vez que as plantas tropicais têm sido fonte de materiais para a descoberta de novos medicamentos. Logo, se torna potencial na busca de novas alternativas também para a agricultura (ARCOVERDE *et al.*, 2014). Recentemente, pesquisas utilizando extratos vegetais dessas plantas, têm sido realizadas para o controle de doenças causadas por fungos e bactérias fitopatogênicas, inclusive para o controle da mancha aquosa (ASSUNÇÃO, 2019; CONCEIÇÃO, 2014). Além disso, Morais *et al.* (2022) verificaram que linhagens de *Trichoderma* do ecótono Cerrado-Caatinga apresentaram um significativo potencial de biocontrole contra fungos patogênicos de culturas, demonstrando a importância de estudar os recursos biológicos desta área, ainda pouco explorada.

Diante do exposto, o objetivo da pesquisa foi selecionar microrganismos provenientes de plantas da Caatinga com potencial para o biocontrole da mancha aquosa em diferentes estádios fenológicos da cultura e determinar possíveis mecanismos relacionados ao controle, para auxiliar nas estratégias de manejo da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, L. D. P. S.; BERBERT, P. A.; DE SOUZA, T. C. E.; MARTINAZZO, A. P. Alternativa sustentável de uso da *Bacillus amyloliquefaciens* no biocontrole de fungos fitopatogênicos: uma revisão. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v. 16, n. 1, 2022.
- ADENIJI, A. A.; AYANGBENRO, A. S.; LOOTS, D. T. Genome sequence resource of *Pseudomonas fulva* HARBPS9.1 – candidate biocontrole agente. **Phytopathology**, Saint Paul, v.11, n. 5, p. 896-898, 2021.
- ALVES, A. O.; XAVIER, A.S; CONCEIÇÃO, C. S.; MARIANO, R. L. R.; SOUZA, E. B. Survival of *Acidovorax citrulli* in infected melon tissues and in diferente edafoclimatic conditions. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 40, n. 5, p. 1-10, 2018.
- ALVES, R. E. (Org.) **Melão: pós-colheita**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 43 p. (Frutas do Brasil, 10).
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. Controle Biológico de Doenças de Plantas. In: MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. (ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018. p. 261-274.
- ARAÚJO, D. V.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J. Métodos de inoculação de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em melão. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 1, p. 69-73, 2005.
- ARCOVERDE, J. H.; CARVALHO, A. D. S.; DE ALMEIDA NEVES, F. P.; DIONÍZIO, B. P.; PONTUAL, E. V.; PAIVA, P. M. G.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. D. G. Screening of Caatinga plants as sources of lectins and trypsin inhibitors. **Natural Product Research**, Abingdon, v. 28, n. 16, p. 1297-1301, 2014.
- ASSIS, S. M. P.; MARIANO, R. L. R.; SILVA-HANLIN, D. M. W.; DUARTE, V. Mancha aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, no Estado do Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, p.191, 1999.
- ASSUNÇÃO, E. F.; CONCEIÇÃO, C. S.; MARIANO, R. D. L. R.; SOUZA, E. B. Situação atual da mancha aquosa, importante bacteriose em meloeiro e melanciaira. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 16, n. 1, p. 51-73, 2019.
- ASSUNÇÃO, E. F. **Manejo da mancha aquosa do meloeiro: fontes de resistência genética e extratos aquosos de plantas da Caatinga**. 2019. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

ASSUNÇÃO, E. F.; CONCEIÇÃO, C. S.; ALEXANDRE, E. R.; GAMA, M. A. S.; NUNES, G. H. S.; SOUZA, E. B. New sources of melon accessions with resistance to bacterial fruit blotch at different phenological stages of melon growth and to multiple strains of *Acidovorax citrulli*. **Euphytica**, Wageningen, v. 217, n. 5, p. 1-15, 2021.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; NORONHA, M. A.; BELMINO, C. S. **Ocorrência da mancha aquosa da melancia no estado do Piauí**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2007. 3 p. (Comunicado técnico, 200).

BAHAR, O.; KRITZMAN, G.; BURDMAN, S. Bacterial fruit blotch of melon: screens for disease tolerance and role of seed transmission in pathogenicity. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 123, n. 2, p. 71-83, 2009.

BAHAR, O.; LEVI, N.; BURDMAN, S. The cucurbit pathogenic bacterium *Acidovorax citrulli* requires a polar flagellum for full virulence before and after host-tissue penetration. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 24, n. 9, p. 1040-1050, 2011.

BELEZA, A. J. F. **Pesquisa de enterobactérias resistentes a antimicrobianos em aves silvestres de vida livre do bioma Caatinga no Estado do Ceará**. 2021. 197 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J. V.; CORRÊA, E. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p.

BETTIOL, W. M. A. B.; MORANDI, M. A. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341p.

BEVAN, E. A.; MAKOWER, M. The physiological basis of the *killer* character in yeast. **Proceedings of the International Congress Genetics**, Netherlands, v. 1, p. 202-212, 1963.

BRANHAM, S. E.; LEVI, A.; KATAWCZIK, M. L.; WECHTER, W. P. QTL mapping of resistance to bacterial fruit blotch in *Citrullus amarus*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 132, p. 1463-1471, 2019.

BURDMAN, S.; WALCOTT, R. *Acidovorax citrulli*: generating basic and applied knowledge to tackle a global threat to the cucurbit industry. **Molecular Plant Pathology**, Saint Paul, v. 13, n. 8, p. 805-815, 2012.

BUSBY, P. E.; RIDOUT, M.; NEWCOMBE, G. Fungal endophytes: modifiers of plant disease. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 90, n. 6, p. 645-655, 2016.

CARRARA, Â. A. O “sertão” no espaço econômico da mineração, LPH. **Revista de História da Universidade Federal de Sergipe**, Sergipe, v. 1, n. 6, p. 40-48, 1996.

CARVALHO, I. D. E.; DA SILVA, K. D.; FERREIRA, P. V.; DE OLIVEIRA, F. D. S.; DA SILVA, M. T. Caracterização descritiva de progênies de meios irmãos de melão. **Revista Verde**, Juazeiro, v. 8, p. 116-119, 2013.

CAVALCANTI, R. M. F.; SILVA, D. P. D.; PAZ, M. C. F.; QUEIROZ, J. C. F. Avaliação do potencial de síntese de biossurfactantes por fungo da Caatinga. **Revista Saúde & Ciência**, Campina Grande, v. 7, n. 2, p. 240-251, 2018.

CHET, I.; INBAR, J.; HADAR, I. Fungal antagonists and mycoparasites. In: WICKLOW, D. T., SODERSTROM, B. (ed.) **The mycota IV: Environmental and microbial relationships**. Berlin: Springer-Verlag. 1997. p. 165-184.

CISTERNAS-JAMET, J.; SALVATIERRA-MARTÍNEZ, R.; VEGA-GÁLVEZ, A.; URIBE, E.; GOÑI, M. G.; STOLL, A. Root inoculation of green bell pepper (*Capsicum annum*) with *Bacillus amyloliquefaciens* BBC047: Effect on biochemical composition and antioxidant capacity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 99, n. 11, p. 5131-5139, 2019.

COCONUBO GUIO, L. C.; SINUCO LEÓN, D. C.; CASTELLANOS HERNÁNDEZ, L. Fungicidal activity of volatile organic compounds from *Paenibacillus* bacteria against *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Colombiana de Química**, Bogotá, v. 49, n.1, p. 20-25, 2020.

COLLINGE, D. B.; JENSEN, D. F.; RABIEY, M.; SARROCCO, S.; SARROCCO, M. W.; SHAW, R. H. Biological control of plant diseases—what has been achieved and what is the direction? **Plant Pathology**, Saint Paul, v. 71, p. 1024-1047, 2022.

CONCEIÇÃO, C. S.; ASSUNÇÃO, E. F.; REZENDE, J. S.; MORAIS, R. F.; SILVA, A. M. F.; GAMA, M. A. S.; SOUZA, E. B. Ocorrência de mancha aquosa em melancia e meloeiro no estado do Piauí. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 50. 2017. Uberlândia. **Anais [...]**. Viçosa: SBF, 2017.

CONCEIÇÃO, C. S.; FELIX, K. C. S.; MARIANO, R. L.; MEDEIROS, E. V.; SOUZA, E. B. Combined effect of yeast and silicon on the control of bacterial fruit blotch in melon. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 174, p. 164-170, 2014.

COSTA, N. D.; GRAGEIRO, L. V.; FARIA, C. M. B.; TAVARES, S. C. C. H.; ALENCAR, J. A.; ARAÚJO, J. L. P. **A cultura do melão**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 2001. 117 p. (Coleção Plantar – série vermelha – fruteiras).

COSTA, N.D.; GRANGEIRO, L.C. Composição química do fruto e usos. In: SILVA, H.R. da; CCSTA, N.D. (Ed). **Melão: produção aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2003. cap.4, p 22.

COSTA, A. M. Prospecção gênica e bioinformática. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JUNIOR, F. B. (ed). **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. 1. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011. p. 121-141.

ÇORBACI, C. UÇAR, F. B. Production and optimization of killer toxin in *Debaryomyces hansenii* strains. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 60, 2017.

DE MELO, E. A.; DE LIMA, R. M., LARANJEIRA, D.; DOS SANTOS, L. A.; DE OMENA, L. G.; DE SOUZA, E. B. Efficacy of yeast in the biocontrol of bacterial fruit blotch in melon plants. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 40, n. 1, p. 56-64, 2015.

DEMARTELAERE, A. C. F.; PRESTON, H. A. F.; PRESTON, W.; DA COSTA, W. P. L. B.; DA MATA, T. C.; NICOLINI, C.; DE SOUZA SILVA, S. I. Métodos Biológico e Alternativo no Controle da Mancha Aquosa no Meloeiro / Biological and Alternative Methods To Control Watery Spot Melon. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v. 7, n. 1, p. 4979-5003, 2021.

DIAS, R. C. S.; COSTA, N. D.; CERDAN, C.; SILVA, P. C. G.; QUEIROZ, M. A.; ZUZA, F.; KEITE, L. A. S.; PESSOA, P. F. A. P.; TERAPO, D. A. Cadeia produtiva do melão no Nordeste. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; GOEDERT, W. J.; FREITAS FILHO, A.; VASCONCELOS, J. R. P. (Eds.). **Cadeias produtivas e sistemas naturais: prospecções tecnológicas**. Brasília: EMBRAPA SPI, 1998. p. 440-493.

DRUMOND, M. A.; KILL, L. H. P.; LIMA, P. C. F.; OLIVEIRA, M. C.; OLIVEIRA, V. R.; ALBUQUERQUE, S. G.; CAVALCANTI, J. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da Caatinga. In: SEMINÁRIO PARA AVALIAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE AÇÕES PRIORITÁRIAS PARA A CONSERVAÇÃO, UTILIZAÇÃO SUSTENTÁVEL E REPARTIÇÃO DE BENEFÍCIOS DA BIODIVERSIDADE DO BIOMA CAATINGA. **Anais [...]**. Petrolina: Embrapa/Cpatsa, UFPE e Conservation International do Brasil, 2000. p. 330-340.

DUTTA, B.; SCHNEIDER, R. W.; ROBERTSON, C. L.; WALCOTT, R. R. Embryo localization enhances the survival of *Acidovorax citrulli* in watermelon seeds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 106, p. 330-338, 2016.

EPPO. New data on quarantine pests and pests of the EPPO Alert List. **EPPO Reporting Service**, Paris, v. 195, n. 3, 2018. Disponível em: <https://gd.eppo.int/reporting/article-6040>. Acesso em: 15 maio, 2022.

FAN, H.; ZHANG, Z.; LI, Y.; ZHANG, X.; DUAN, Y.; WANG, Q. Biocontrol of bacterial fruit blotch by *Bacillus subtilis* 9407 via surfactin-mediated antibacterial activity and colonization. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v.8, p.1973, 2017.

FAO. Faostat – **Statistics Database** (2020). Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em 04 Mai. 2022.

FARIA, P. S. A.; OLIVEIRA MARQUES, V.; SELARI, P. J. R. G.; MARTINS, P. F.; SILVA, F. G.; FÁTIMA SALES, J. Multifunctional potential of endophytic bacteria from *Anacardium othonianum* Rizzini in promoting in vitro and ex vitro plant growth. **Microbiological Research**, Jena, v. 242, p. 11-21, 2021.

FARZAND, A., MOSSA, A.; ZUBAIR, M.; KHAN, A. R.; AYAZ, M.; MASSAWE, V. C.; GAO, X. Transcriptional profiling of diffusible lipopeptides and fungal virulence genes during *Bacillus amyloliquefaciens* EZ1509-mediated suppression of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 110, n. 2, p. 317-326, 2020.

FERNANDES, P. M. G. C. **Armazenamento ambiente e refrigerado de melão, híbrido Orange Flesh, submetido à aplicação pós-colheita de cloreto de cálcio**. 1996. 68 f. Dissertação. (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

FERRAZ, L. P.; CUNHA, T.; KUPPER, K. C. Mecanismos de ação de isolados de leveduras envolvidos no biocontrole de *Penicillium digitatum*, agente causal do bolor verde em frutos cítricos. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 39, p. 1-11, 2018.

FERREIRA, H. A. **Silício no controle da mancha aquosa em meloeiro (*Cucumis melo* L.)**. 2009. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

FILIZOLA, P. R. B.; LUNA, M. A. C.; SOUZA, A. F.; COELHO, I. L.; LARANJEIRA, D.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Biodiversity and phylogeny of novel Trichoderma isolates from mangrove sediments and potential of biocontrole against Fusarium strains. **Microbial cell factories**, Chichester, v. 18, n. 1, p. 1-14, 2019.

FONTES, P. C. R.; PUIATTI, M. Cultura do melão. In: FONTES, P.C.R. (Ed.). Olericultura: teoria e prática. Viçosa: UFV, 2005. cap.26, p. 407-428.

FREITAS, J. A. D. **Normas técnicas e documentos de acompanhamento da produção integrada de melão**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 89p. (Embrapa agroindústria tropical. documentos, 68).

GAŠIĆ, K.; OBRADOVIĆ, M.; KUZMANOVIĆ, N.; ZLATKOVIĆ, N.; IVANOVIĆ, M.; RISTIĆ, D.; OBRADOVIĆ, A. Isolation, characterization and draft genome analysis of bacteriophages infecting *Acidovorax citrulli*. **Frontiers in microbiology**, Lausanne, v. 12, p. 789-803, 2021.

GERHARDT, M. Os caboclos e a história da paisagem. In: ZARTH, P. A. (Org). **História do campesinato na fronteira sul**. Porto Alegre: Letra & Vida, 2012. 240-253 p.

GEBELY, D. A.; GHANEM, G. A.; RAGAB, M. M.; ALI, A. M.; SOLIMAN, N. E. D. K.; EL-MOITY, A.; TAWFIK, H. Characterization and potential antifungal activities of three *Streptomyces* spp. as biocontrol agents against *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary infecting green bean. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, Giza, v. 31, n. 1, p. 1-15, 2021.

GODEBO, A. T.; GERMIDA, J. J.; WALLEY, F. L. Isolation, identification, and assessment of soil bacteria as biocontrol agents of pea root rot caused by *Aphanomyces euteiches*. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 100, n. 3, p. 206-216, 2020.

GONZÁLEZ, V.; ARMIJOS, E.; GARCÉS-CLAVER, A. Fungal endophytes as biocontrol agents against the main soil-borne diseases of melon and watermelon in Spain. **Agronomy**, Madison, v. 10, n. 6, p. 820-821, 2020.

Haidar, R.; YACOUB, A.; ROUDET, J.; FERMAUD, M.; REY, P. Application methods and modes of action of *Pantoea agglomerans* and *Paenibacillus* sp., to control the grapevine trunk disease-pathogen, *Neofusicoccum parvum*. **OENO One**, Villenave d'Ornon, v. 55, n.3, p. 1-16, 2021.

HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 38, p. 272-272, 1996.

- HOPKINS, D. L.; CUCUZZA, J. D.; WATTERSON, J. C. Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of watermelon. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 80, p. 529-532, 1996.
- HOPKINS, D. L.; THOMPSON, C. M. Evaluation of *Citrullus* sp. germplasm for resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 86, p. 61-64, 2003.
- HOPKINS, D. L.; THOMPSON, C. M.; ELMSTROM, G. W. Resistance of watermelon seedlings and fruit to the fruit blotch bacterium. **HortScience**, Alexandria, v. 28, n. 2, p. 122-123, 1993.
- HORUZ, S. *Pseudomonas oryzihabitans*: a potential bacterial antagonist for the management of bacterial fruit blotch (*Acidovorax citrulli*) of cucurbits. **Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 103, n. 3, p. 751-758, 2021.
- HORUZ, S.; AYSAN, Y. Biological control of watermelon seedling blight caused by *Acidovorax citrulli* using antagonistic bacteria from the genera *Curtobacterium*, *Microbacterium* and *Pseudomonas*. **Plant Protection Science**, Morávia, v. 54, n. 3, p. 138-146, 2018.
- HUSNI, A. A. A.; ISMAIL, S. I.; JAAFAR, N.; ZULPERI, D. Etiology, diagnostic approaches and management strategies of *Acidovorax citrulli*, a bacterial fruit blotch pathogen of cucurbits. **Plant Protection Science**, Morávia, v. 57, n. 2, p. 75-94, 2021.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapa de biomas e de vegetação**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 06 de Jun. 2021.
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612#resultado>>. Acesso em: 04 Mai. 2022.
- ISAKEIT, T. Bacterial fruit blotch of watermelon. **Texas FARMER Collection**, 1999.
- JIANG, C. H.; WU, F.; YU, Z. Y.; XIE, P.; KE, H. J.; LI, H. W.; GUO, J. H. Study on screening and antagonistic mechanisms of *Bacillus amyloliquefaciens* 54 against Bacterial fruit blotch (BFB) caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Microbiological research**, Jena, v. 170, p. 95-104, 2015.
- KAZEROONI, E. A.; AL-SHIBLI, H.; NASEHI, A.; AL-SADI, A. M. Endhophytic *Enterobacter cloacae* exhibits antagonistic activity against *Pythium* damping-off of cucumber. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50(8), p. 1-7, 2020.
- LAHLALI, R.; AKSISSOU, W.; LYOUSFI, N. EZRARI, S.; BLENZAR, A.; TAHIRI, A.; AMIRI, S. Biocontrol activity and putative mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* (SF14 and SP10), *Alcaligenes faecalis* ACBC1, and *Pantoea agglomerans* ACBP1 against brown rot disease of fruit. **Microbial pathogenesis**, London, v. 139, p. 10-39, 2020.
- LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Recife: Editora Universitária UFRPE, 2003. 804 p.

LI, B.; SHI, Y.; SHAN, C.; ZHOU, Q.; IBRAHIM, M.; WANG, Y.; SUN, G. Effect of chitosan solution on the inhibition of *Acidovorax citrulli* causing bacterial fruit blotch of watermelon. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 93, n. 5, p. 1010-1015, 2013.

LUZIATELLI, F.; FICCA, A. G.; BONINI, P.; MULEO, R.; GATTI, L.; MENEGHINI, M.; RUZZI, M. A genetic and metabolomic perspective on the production of indole-3-acetic acid by *Pantoea agglomerans* and use of their metabolites as biostimulants in plant nurseries. **Frontiers in microbiology**, Lausanne, v. 11, p. 1-17, 2020.

MA, S.; WEHNER, T. C. Flowering stage resistance to bacterial fruit blotch in the watermelon germplasm collection. **Crop Science**, Madison, v. 55, n. 2, p. 727-736, 2015.

MACAGNAN, D.; ROMEIRO, R. D. S.; MENDONÇA, H. L.; BARRETO, R. W. Mancha bacteriana da melancia: uma nova doença no estado de Minas Gerais. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 29, n. 3, p. 286-287, 2003.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C.F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, n. 26, p. 274-288, 2012.

MALAFAIA, C. B.; HOULLOU, L. M.; BARBOSA, M. O.; DE SOUZA, E. B.; MACEDO, A. J.; DA SILVA, A. G.; DA SILVA, M. V. Effects of *Myroxylon peruiferum* L. f. organic extracts in planktonic growth and *Ralstonia solanacearum* biofilm formation. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, Recife, v. 4, p. 180-186, 2019.

MARIANO, R. L. R.; SILVA, V. A. V.; SILVA, A. M. F.; MEDEIROS, F. H. V.; VIANA, I. O. Ocorrência da mancha aquosa do melão na Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 147-148, 2004.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B. Mancha-aquosa: importante bacteriose do meloeiro no Brasil. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, 2004 v. 1, p. 79-88.

MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B.; GOMES, A.M.A. Controle biológico de doenças radiculares. In MICHEREFF, S. J.; MENEZES, M (Eds.) **Ecologia de Patógenos Radiculares**. Recife: UFRPE, 2002. p. 3-7.

MARSH, P. D. Dental plaque as a biofilm: the significance of pH in health and caries. **Compendium of continuing education in dentistry**, Lawrenceville, v. 30, n. 2, p. 76-83, 2009.

MARTINS, E. S. P. R. **Mapeamento e avaliação do potencial hídrico subterrâneo dos aluviões em zonas semiáridas utilizando técnicas de sensoriamento remoto e SIG**. Fortaleza: FUNCEME, 2007. 184p. (Relatório Técnico).

MARTYN, R. D. Fusarium wilt of watermelon: 120 years of research. **Horticultural reviews**, New York, v. 42, p. 349-442, 2014.

MDIC – Sistema de análise das informações de comércio exterior via internet do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Disponível em: <<http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br/>>. Acesso em: 04 Mai. 2022.

MEDEIROS, F. H. V.; MORAES, I. S. F.; MARIANO, R. L. R. Utilização de sementes para o controle da mancha aquosa do melão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 64, 2002.

MELO, E. D.; LIMA, R. M.; LARANJEIRA, D.; SANTOS, L. A.; OMENA GUSMÃO, L.; SOUZA, E. B. Efficacy of yeast in the biocontrol of bacterial fruit blotch in melon plants. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 40, n. 1, p. 56-64, 2015.

MENEZES, J. B.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; MAIA, C. E.; ANDRADE, G. D.; ALMEIDA, J. D.; VIANA, F. M. P. **Melão: pós-colheita**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p. 13-22, 2000.

MORAES, I. S. F.; MEDEIROS, F. H. V.; MARIANO, R. L. R. Tratamento de sementes para o controle da mancha aquosa do melão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. S65-S66, 2002. Resumo.

MORAIS, E. M.; SILVA, A. A. R.; SOUZA, F. W. A. D.; AZEVEDO, I. M. B. D.; SILVA, H. F.; SANTOS, A. M. G.; ARAÚJO, F. D. D. S. Endophytic Trichoderma strains isolated from forest species of the Cerrado-Caatinga ecotone are potential biocontrol agents against crop pathogenic fungi. **Plos One**, Califórnia, v. 17, n. 4, p. 265-280, 2022.

MOURA, M. C. F.; SILVA, S. G. A.; OLIVEIRA, L. C. S.; SANTOS, E. C. Atividades impactantes da cadeia produtiva do melão no agropólo. Mossoró/Assú – RN. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 7, n. 3, p. 09 – 14, 2011.

MOURA, P. A.; BEZERRA FILHO, C. M.; SILVA, L. C. N.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S. Caatinga plants as weapons against microorganisms: advances and challenges. In: MENDEZ-VILAS A. (ed.). **The battle against microbial pathogens: basic science, technological advances and educational programs**. Badajoz: Formatex Research Center, 2015. p. 117-124.

MUNDT, C. C. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests. **Infection Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 27, p. 1-22, 2014.

NARUZAWA, E. S.; VALE, R. K. D.; SILVA, C. M.; CAMARGO, L. E. A. Estudo da diversidade genética de *Podoshiera xanthii* através de marcadores AFLP e sequências ITS. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 2, p. 94-100, 2011.

O'BRIEN, R. G.; MARTIN, A. L. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v. 39, p. 479-485, 1999.

OLIVEIRA, I. S.; SALES JÚNIOR, R.; MARIANO, R. L. R. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*: método de isolamento e transmissão por sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 302, 2001.

- OLIVEIRA, I. S., SALES JÚNIOR, R.; MARIANO, R. L. R. Ocorrência da mancha aquosa causada por *Acidovorax citrulli* subsp. *citrulli*, em melão-pepino no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 686, 2003.
- OLIVEIRA, L. A.; JESUS, M. A.; JACKISCH MATSUURA, A. B.; OLIVEIRA, J. G. S.; GASPAROTTO, L.; LIMA-NETO, R. G.; ROCHA, L. C. Fungos de um nicho ancestral: fungos fitopatogênicos em pteridófitas no Brasil. **Fungos**, Manaus, p. 75, 2019.
- OLIVEIRA, L.A.; KORNDORFER, G.H.; PEREIRA, A.C. Acumulação de silício em arroz em diferentes condições de pH da rizosfera. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 31, p.685-690, 2007.
- PEREIRA, F. H. F.; PUIATTI, M.; FINGER, F. L.; CECON, P. L.; DE AQUINO, L. A. Produção e qualidade de frutos de melões amarelo e charentais cultivados em ambientes sombreados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 9, p. 944-950, 2010.
- PERTOT, I.; PUOPOLO, G.; HOSNI, T.; PEDROTTI, L.; JOUDAN, E.; ONGENA, M. Limited impact of abiotic stress on surfactin production in planta and on disease resistance induced by *Bacillus amyloliquefaciens* S499 in tomato and bean. **FEMS microbiology ecology**, Amsterdam, v. 86, n. 3, p. 505-519, 2013
- PRESTON, H. A. F. **Potencial de fontes de silício no manejo da mancha aquosa em meloeiro**. 2013. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.
- PUSEY, P. L.; WILSON, C. L. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 68, p. 753-756, 1984.
- QIN, X.; XIAO, H.; XUE, C.; YU, Z.; YANG, R.; CAI, Z.; SI, L. Biocontrol of gray mold in grapes with the yeast *Hanseniaspora uvarum* alone and in combination with salicylic acid or sodium bicarbonate. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 100, p. 160–167, 2015.
- RAHIMI-MIDANI, A.; CHOI, TAE-JIN. Bacteriophage biocontrol of *Acidovorax citrulli*, the causal agent of bacterial fruit blotch. **Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings**, Basel, v. 50, n. 1, p. 10, 2020.
- RAMÍREZ, V.; MARTÍNEZ, J.; BUSTILLOS-CRISTALES, M. D. R.; CATAÑEDA-ANTONIO, D.; MUNIVE, J. A.; BAEZ, A. *Bacillus cereus* MH778713 elicits tomato plant protection against *Fusarium oxysporum*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 132, n. 1, p. 470-482, 2022.
- RANI, P.; SINGH, M.; PRASHAD, H.; SHARMA, M. Evaluation of Bacterial formulations as potential biocontrol agents against the Southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, Giza, v.32, n.1, p. 1-9, 2022.
- ROBBS, C. F.; RODRIGUES NETO, J.; RAMOS, R. S.; SINIGAGLIA, C. Mancha bacteriana da melancia no estado de São Paulo, causada por *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 48, 1991.

- ROBIGLIO, A.; SOSA, M. C.; LUTZ, M. C.; LOPES, C. A.; SANGORRÍN, M. P. Yeast biocontrol of fungal spoilage of pears stored at low temperature. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 147, n. 1, p. 211-216, 2011.
- ROMEIRO, R. S.; GARCIA, F. A. O. Controle Biológico de enfermidades de plantas incitadas por bactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 11, n. 1, p. 195-228, 2003.
- SALES JÚNIOR, R.; MENEZES, J. B. Mapeamento das doenças fúngicas, bacterianas e viróticas do cultivo do melão no estado do Rio Grande do Norte RN. Mossoró. **Escola Superior de Agricultura de Mossoró**, 2001. 25p. (Relatório Técnico).
- SANTOS, A. A.; VIANA, F. M. **Mancha aquosa do melão**. Fortaleza: EMBRAPA – SPI, 2000. 2 p.
- SANTOS, E. R.; GOUVEIA, E. R.; MARIANO, R. L. R.; SOUTO-MAIOR, A. M. Controle biológico da mancha aquosa do melão por compostos bioativos produzidos por *Bacillus* spp. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, p. 376-378, 2006.
- SCHAAD, N. W.; SOWELL JR, G.; GOTH, R. W.; COLWELL, R. R.; WEBB, R. E. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Londres, v. 28, n. 1, p. 117-125, 1978.
- SCHMITT, M. J.; BREINIG, F. The viral killer in yeast: from molecular biology to application. **FEMS Microbiology**, Cambridge, v. 26, p. 257-276, 2002.
- SILVA NETO, E. B.; MEDEIROS, F. H. V.; MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B. Controle químico da mancha aquosa do melão pelo tratamento de sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. S340, 2003.
- SOWELL, G.; SCHAAD, N. W. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* on watermelon: seed transmission and resistance of plant introductions. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 63, n. 6, p. 437-441, 1979.
- TEUGHELDS, W.; VAN A. N.; SLIEPEN, I.; QUIRYNEN, M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. **Clinical Oral Implants Research**, Copenhagen, v. 17, n. S2, p. 68-81, 2006.
- TROVÃO, D. M. B. M.; FERNANDES, P. D.; ANDRADE, L. A.; DANTAS NETO, J. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 11, n. 3, p. 307-311, 2007.
- UENO, B.; COUTO, M. E. O.; UESUGI, C. H. Ocorrência de mancha aquosa em melão no estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, suplemento, p. S246, 2003.
- VADAKKAN, K.; VIJAYANAND, S.; HEMAPRIVA, J.; GUNASEKARAN, R. Quorum quenching attenuation of rhizobacteria *Chromobacterium violaceum* virulence by *Desmodium gangeticum* root extract. **Rhizosphere**, Saskatoon, v. 22, p. 100490, 2022.

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

VISCONTI, A.; ZAMBONIM, F. M.; MARIGUELE, K. H.; LONE, A. B. Métodos alternativos para o controle de fitopatógenos habitantes do solo: parte II – controle biológico. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 30, n. 3, p. 33-36, 2017. Disponível em: <<https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/RAC/article/view/29>>. Acesso em: 10 mai. 2022.

WALCOTT, R. R.; LANGSTON, D.; GITAITIS, R.; GAY, D.; HOPKINS, D.; KUCHARREK, T.; LATIN, R.; EGEL, D.; COOK, K.; KEINATH, A.; LOVIC, B. **Guidelines for managing bacterial fruit blotch disease**. Georgia, 2001. Disponível em: <<http://www.stalals.com/flyer.htm>> Acesso em: 24/09/2022.

WALCOTT, R. R. Bacterial fruit blotch of cucurbits. **The Plant Health Instructor**, Minnesota, 2005.

WALCOTT, R. R.; FESSEHAIE, A.; CASTRO, A. C. Differences in pathogenicity between two genetically distinct groups of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on cucurbit hosts. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, n. 5, p. 277-285, 2004.

WANG, H.; LIAO, L.; CHEN, S.; ZHANG, L. H. A quorum quenching bacterial isolate contains multiple substrate-inducible genes conferring degradation of diffusible signal factor. **Applied and environmental microbiology**, Washington, v. 86, n. 7, p. e02930-19, 2020.

WANG, C. J.; WANG, Y. Z.; CHU, Z. H.; WANG, P. S.; LIU, B. Y.; LI, B. Y.; LUAN, B. H. Endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* YTB1407 elicits resistance against two fungal pathogens in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 253, p. 153-260, 2020.

WANG, X.; LI, G.; JIANG, D.; HUANG, H. C. Screening of plant epiphytic yeasts for biocontrol of bacterial fruit blotch (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) of hami melon. **Biological Control**, Orlando, v. 50, n. 2, p. 164-171, 2009.

WEBB, R. E.; GOTH, R. W. A seedborne bacterium isolated from watermelon. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 48, p. 818-821, 1965.

WECHTER, W.P., LEVI, A.; LING, K. S.; COUSIN, C.; BLOCK, C. C. Identification of resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* among melon (*Cucumis* spp.) plant introductions. **HortScience**, Alexandria, v. 46, p. 207-212, 2011.

WISNIEWSKI, M. WILSON, CHARLES; HERSHBERGER, W. Characterization of inhibition of *Rhizopus stolonifer* germination and growth by *Enterobacter cloacae*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 67, n. 8, p. 2317-2323, 1989.

ZHANG, J.; WANG, P.; XIAO, Q.; CHEN, J. Effect of phosphate-solubilizing bacteria on the gene expression and inhibition of bacterial fruit blotch in melon. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 282, p. 110-118, 2021.

ZHAO, R.; YU, K.; ZHANG, J.; ZHANG, G.; HUANG, J.; MA, L.; LI, B. Deciphering the mobility and Bacterial hosts of antibiotic resistance genes under antibiotic selection pressure by metagenomic assembly and binning approaches. **Water Research**, New York, v.186, p. 116-318, 2020.

CAPÍTULO II

**CONTROLE BIOLÓGICO DA MANCHA AQUOSA EM MELOEIRO POR *Pantoea*
sp. E *Rhodsporidiobolus fluvialis* OBTIDAS DE PLANTAS DA CAATINGA**

1 **Controle biológico da mancha aquosa em meloeiro por *Pantoea* sp. e *Rhodsporidiobolus***
2 ***fluvialis* obtidas de plantas da caatinga**

3

4 Igor A. M. Pimentel¹, Marcelle A. S. Ferreira¹, Wallison O. Vieira¹, Lucas C. S. Amancio¹,
5 Iwanne L. Coelho¹, Márcia V. Silva, Marcos A. S. Gama¹, Delson Laranjeira & Elineide B.
6 Souza³

7

8 ¹Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900,
9 Recife, PE, Brazil; ²Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco,
10 50670-901, Recife, PE, Brazil; ³Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de
11 Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brazil

12 Autor para correspondência: Elineide B. Souza, email: elineide.souza@ufrpe.br

13

14 **RESUMO**

15 A mancha aquosa, causada pela bactéria *A. citrulli*, é uma das principais doenças do
16 meloeiro em muitas áreas produtoras do Nordeste brasileiro, provocando elevadas perdas na
17 produtividade. As medidas recomendadas para o manejo da doença não têm se mostrado
18 eficientes, uma vez que novas epidemias estão sendo relatadas, o que impulsiona a busca por
19 novas estratégias de controle. Neste contexto, o objetivo da pesquisa foi selecionar
20 microrganismos provenientes de plantas da Caatinga com potencial para o biocontrole da
21 mancha aquosa em diferentes estádios fenológicos da cultura e determinar possíveis
22 mecanismos relacionados ao controle. Das 29 amostras de espécies vegetais coletadas da
23 Caatinga, foram isolados 98 microrganismos. No tratamento de plantas com os antagonistas,
24 treze isolados destacaram-se como os mais eficientes na proteção de plantas, pois reduziram a
25 severidade da doença em mais de 62,3% e não diferiram significativamente da levedura
26 *Rodothorola aurantiaca* CCRMLMA1, utilizada como controle positivo. Quando testados
27 novamente na proteção de plantas e plântulas e em sementes contaminadas com *A. citrulli*
28 mantiveram a eficácia de controle nos diferentes estádios fenológicos da cultura, com destaque
29 para os isolados CCRMIP01 (bactéria) e CCRMIP21 (levedura). Esses isolados apresentaram
30 como mecanismos de ação antagonica a antibiose, produção de biofilme e *quorum quenching*,
31 além de fator *Killer* no caso da levedura. A bactéria antagonista CCRMIP01 foi identificada
32 como *Pantoea* sp. e a levedura CCRMIP21, como *Rhodsporidiobolus fluvialis*. Portanto, a
33 utilização desses microrganismos, aliada a outros métodos de controle, será uma importante
34 alternativa de manejo para a mancha aquosa.

35

36 **Palavras-chaves:** *Acidovorax citrulli* · Biocontrole · *Cucumis melo* · *Quorum quenching* ·
37 Toxinas *killer*.

38

39 **ABSTRACT**

40 The bacterial fruit blotch, caused by the bacterium *Acidovorax citrulli*, is one of the
41 main diseases of melon in many producing areas of the Brazilian Northeast, causing high losses
42 in productivity. The recommended measures for the management of the disease haven't been
43 shown efficient, once new epidemics are being reported, which impulse the need to search for
44 new strategies of control. In this context, the objective of this work was to select
45 microorganisms from Caatinga plants with potential for the biocontrol of bacterial fruit blotch
46 at different phenological stages of the culture and to determine possible mechanisms related to
47 the control. Of the 29 samples of plant species collected from the Caatinga, 98 microorganisms
48 were isolated. In the treatment of plants with antagonists, thirteen isolates stood out as the most
49 efficient in plant protection, as they reduced disease severity by more than 62,3% and did not
50 differ significantly from the yeast *Rodothorola aurantiaca* CCRMLMA1, used as a positive
51 control. When tested again for protection of plant, seedlings and in seeds contaminated with *A.*
52 *citrulli* maintained efficacy in the different phenological stages of the culture, with emphasis
53 on the isolates CCRMIP01 (bacteria) and CCRMIP21 (yeast). These isolates presented as
54 mechanisms of antagonistic action antibiosis, biofilm production and *quorum quenching*, in
55 addition *killer* factor in the case of yeast. The antagonist bacterium CCRMIP01 was identified
56 as *Pantoea* sp. and the yeast CCRMIP21, as *Rhodospiridiobolus fluvialis*. Therefore, the use
57 of these microorganisms, combined with other control methods, will be an important
58 management alternative for bacterial fruit blotch.

59 **Keywords:** *Acidovorax citrulli* · biocontrol · *Cucumis melo* · *quorum quenching* · toxinas *killer*.

60

61 **INTRODUÇÃO**

62 O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma hortaliça amplamente consumida em todo o
63 mundo e de grande importância econômica para o Brasil (Assunção et al. 2021). A região
64 Nordeste é responsável por mais de 95% da produção nacional de meloeiro (IBGE, 2022), pois
65 o clima semiárido é bastante favorável ao desenvolvimento da planta (Moura et al. 2011). A
66 mancha aquosa, causada por *Acidovorax citrulli* (Schaad et al.) Schaad et al., é uma das doenças
67 mais graves que acometem a cultura. Essa doença foi constatada pela primeira vez no Brasil
68 em 1997, acarretando grande impacto econômico para o meloeiro no Rio Grande do Norte, com

69 perdas de rendimento elevadas, em condições favoráveis, devido aos elevados índices de
70 infecção (ASSIS et al. 1999). Atualmente a bactéria está amplamente distribuída nos estados
71 da Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Pernambuco, Ceará e Piauí (EPPO 2022).

72 A *A. citrulli* é disseminada, principalmente, por sementes de cucurbitáceas infectadas,
73 e uma vez infectadas, todas as partes das plantas hospedeiras são extremamente suscetíveis a
74 esta bactéria, principalmente as plântulas e frutos (Azman Husni et al. 2021). Os sintomas
75 característicos da mancha aquosa incluem lesões encharcadas nos cotilédones, hipocótilos e
76 folhas, que posteriormente progridem para verde-escuras e marrons (Hopkins 1994; VIANA et
77 al. 2000; Oliveira et al. 2006). As lesões aquosas de coloração verde-oliva nos frutos de melão
78 são pequenas e irregulares, mas progridem através da casca, podendo resultar em rachaduras
79 que ocasionam a perda do fruto (WECHTER et al. 2011). No interior do fruto, a bactéria
80 coloniza a polpa e contamina a semente, o que dificulta sua erradicação (Santos and Viana
81 2000).

82 Diferentes estratégias de manejo para o controle da doença foram testadas, incluindo
83 a seleção de cultivares resistentes (Bahar et al. 2009), pulverização de plantas com compostos
84 cúpricos (Walcott et al. 2001), tratamentos de sementes com ácido peroxiacético (Hopkins et
85 al. 2003) e solução de quitosana (Li et al. 2013). Ainda assim, a mancha aquosa continua sendo
86 uma ameaça considerável à produção de melão, pois novas epidemias da *A. citrulli* estão sendo
87 relatadas em todo o mundo (EPPO 2022), o que impulsiona a necessidade da busca de novas
88 medidas para o controle dessa fitobacteriose, a exemplo do controle biológico.

89 O controle biológico se destaca como alternativa para um desenvolvimento agrícola
90 mais sustentável, além de contribuir na conservação do meio ambiente, pois não utiliza
91 substâncias químicas e degradativas. Testes *in vitro* e *in vivo* são a base para selecionar e avaliar
92 o potencial e a viabilidade dos microrganismos biocontroladores (Filizola et al. 2019). Nos
93 últimos anos, o controle biológico com bactérias ou leveduras antagônicas tem sido considerado
94 uma abordagem promissora para o manejo da mancha aquosa (Horuz and Aysan 2018), a
95 exemplo das pesquisas realizadas por Santos et al. (2006), que relataram biocontrole por meio
96 do tratamento de sementes infectadas com *Bacillus* spp. e Melo et al. (2015) que ao testarem
97 isolados de leveduras obtiveram uma redução da severidade da mancha aquosa por *Rhodotorula*
98 *aurantiaca* e *Pichia anomala*.

99 O bioma da Caatinga caracteriza-se por apresentar condições ambientais diferenciadas,
100 com elevadas temperaturas, diferentes disponibilidades de nutrientes e baixa disponibilidade
101 hídrica (Moura et al. 2015). Devido a essas condições, espécies provenientes deste bioma
102 desenvolveram adequações fisiológicas e reprodutivas para viver nesta região. Por isso,

103 apresentam diferentes tipos de metabolismo e respostas adaptativas interessantes no âmbito
104 científico (Cavalcanti et al. 2018). Recentemente pesquisas utilizando extratos vegetais dessas
105 plantas têm sido realizadas para o controle de doenças causadas por fungos e bactérias
106 fitopatogênicas, inclusive para o controle da mancha aquosa (Assunção 2019; Conceição 2019).
107 No entanto, inexistem estudos com microrganismos da Caatinga para o controle de
108 fitobacterioses, tendo sido encontrado apenas o relato de *Trichoderma* obtido das plantas
109 *Mimosa tenuiflora*, *Myrcia tomentosa* (Aubl.) e *Cenostigma macrophyllum* com eficiência no
110 controle da doença fúngica fusariose do abacaxizeiro (Morais et al. 2022), demonstrando a
111 importância de estudar os recursos biológicos desta área, ainda pouco explorados. Diante do
112 exposto, o objetivo da pesquisa foi selecionar microrganismos provenientes de plantas da
113 Caatinga com potencial para o biocontrole da mancha aquosa em diferentes estágios
114 fenológicos da cultura e determinar possíveis mecanismos relacionados ao controle para
115 auxiliar nas estratégias de manejo da doença.

116

117 MATERIAL E MÉTODOS

118 Obtenção de *A. citrulli* e antagonistas

119 Os isolados de *A. citrulli* (CCRMa1.39) e de *Rhodotorula aurantiaca*
120 (CCRMLMA1), utilizados neste trabalho foram cedidos pela Coleção de Cultura Rosa Mariano
121 (CCRM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). O isolado CCRMa1.39 e
122 CCRMLMA1 foram reativados em meio de cultura NYDA - extrato de levedura-dextrose-ágar
123 (10g dextrose, 3g extrato de carne, 5g extrato de levedura, 5g peptona e 20g ágar L⁻¹) e
124 incubados em B.O.D. por 48h a 28±2°C. As suspensões de *A. citrulli* utilizadas nos
125 experimentos foram ajustadas em espectrofotômetro (Analyser 500M, Brasil) para A₅₇₀= 0,25,
126 que corresponde a 3,4 x 10⁷ UFC mL⁻¹.

127 Os possíveis microrganismos antagonistas foram isolados a partir de tecidos de folhas,
128 ramos e flores de materiais vegetais provenientes da Caatinga (Município Canindé do São
129 Francisco, Sergipe e Parque Nacional do Catimbau, Buíque-PE). Seis fragmentos de tecidos,
130 de cada órgão das plantas, foram transferidos para tubos de ensaio contendo 9 mL de água
131 destilada e esterilizada (ADE) e submetidos a banho de ultrassom durante 25 minutos, na
132 potência 10 (aproximadamente 40 Kz). A suspensão obtida foi diluída em série, transferindo-
133 se 0,5 mL para tubos de ensaio com 4,5 mL de ADE, até a diluição 10⁻³. Os tubos foram agitados
134 em vórtex, e uma alíquota de 0,1 mL foi depositada e semeada em placas de Petri (9 mm)
135 contendo meio NYDA (Mariano et al. 2016). As placas foram incubadas à temperatura de
136 25±2°C por 48 h em B.O.D. As colônias emergentes com distintas características morfológicas

137 como: tamanho, forma, bordos e coloração, dentro de uma mesma amostra, foram purificadas,
138 por sucessivos repiques em placas de Petri contendo meio NYDA e preservadas em tubos
139 criogênicos contendo ADE. Os isolados obtidos foram submetidos ao teste de coloração de
140 Gram e observação microscópica. As suspensões dos antagonistas e da levedura
141 (CCRMLMA1) para utilização nos experimentos foram ajustadas na concentração de $1,5 \times 10^8$
142 cel mL⁻¹, com o auxílio da escala nefelométrica de Mc Farland.

143

144 **Proteção de plantas**

145 Sementes de meloeiro tipo Amarelo (Cultivar GOLDEX F1) foram semeadas em vasos
146 de 500 mL, contendo substrato BASAPLANT[®] e, após 10 dias da data de germinação, as folhas
147 foram pulverizadas até o escorrimento com as suspensões de 98 isolados obtidos da Caatinga,
148 na concentração de $1,5 \times 10^8$ cel mL⁻¹. Após cinco dias, as folhas foram pulverizadas com a
149 suspensão de *A. citrulli* ($3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹) até o escorrimento (Araujo et al. 2005), sendo
150 submetidas à câmara úmida de pré e pós-inoculação por 24 h. Neste e nos demais experimentos,
151 o isolado CCRMLMA1 da levedura *R. aurantiaca* (Melo et al. 2015) e o antibiótico
152 casugamicina na concentração de 400 mL 100 L⁻¹ foram utilizados como controles positivos
153 (Costa et al. 2006), e como controle negativo as plantas foram inoculadas apenas com o
154 patógeno. Para melhor aderência o surfactante Tween 80 a 0,03% (v/v) foi acrescentado às
155 suspensões do patógeno e dos antagonistas. Os vasos foram mantidos em condições de casa-
156 de-vegetação com temperatura média de $37,8^\circ\text{C} \pm 2$ e umidade de $45\% \pm 5$.

157 Após a inoculação da *A. citrulli*, as plantas foram avaliadas diariamente por 10 dias,
158 quanto ao período de incubação (PI) e severidade da doença (SEV), estimada com auxílio de
159 uma escala descritiva com notas variando de 0 a 6 (Silveira et al. 2003), onde 0 indica folhas
160 sem sintomas e 1-6 indicando, respectivamente, 1-5%, 6-12%, 13-37%, 38-62%, 63-87% e 88
161 a 100% de área foliar infectada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado,
162 com quatro repetições, sendo cada repetição composta por duas folhas de meloeiro. O
163 experimento foi repetido com os isolados mais promissores no biocontrole da mancha aquosa.

164

165 **Proteção de plântulas**

166 As sementes de meloeiro foram desinfestadas por imersão em hipoclorito de sódio
167 (0,5% de NaClO) por 10 min, lavadas em água corrente e submetidas a secagem por 24 h.
168 Posteriormente, foram submersas durante 30 minutos em 100 mL da suspensão de cada um dos
169 13 isolados antagonistas, com concentração $1,5 \times 10^8$ cel mL⁻¹, e secas em temperatura ambiente
170 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) por 24 h. Após a secagem procedeu-se a semeadura em bandejas de poliestireno,

171 contendo substrato comercial BASAPLANT[®] e, após seis dias da data de germinação, foram
172 transplantadas para os vasos (500 mL). Decorrido 24 h, as folhas cotiledonares foram
173 pulverizadas até o escorrimento com a suspensão de *A. citrulli* ($3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹). As
174 plântulas foram submetidas à câmara úmida de pré e pós-inoculação por 24 h, sendo mantidas
175 em casa de vegetação sob temperatura média de 29°C±2 e umidade de 47%±5. Após a
176 inoculação da bactéria fitopatogênica, as plântulas foram avaliadas diariamente por 7 dias
177 quanto ao PI e a SEV em plântulas, estimada com auxílio de uma escala descritiva de Araújo
178 et al. (2005), variando de 0 a 5, na qual 0 = plântulas sem sintomas; 1 = plântulas com lesões
179 cobrindo até 25% de uma ou ambas as folhas cotiledonares; hipocótilo sem sintomas; 2 =
180 plântulas com lesões cobrindo de 26 a 50% de uma ou ambas as folhas cotiledonares; hipocótilo
181 sem sintomas; 3 = plântulas com lesões cobrindo de 51-75% de uma ou ambas as folhas
182 cotiledonares; hipocótilo sem sintomas; 4 = plântulas com lesões cobrindo de 76 a 100% de
183 uma ou ambas as folhas cotiledonares; hipocótilo sem sintomas; 5 = necrose total das folhas
184 cotiledonares; lesões ou necrose total do hipocótilo, tombamento e morte da plântula. O
185 delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada
186 repetição composta por uma plântula.

187

188 **Tratamento de sementes**

189 As sementes desinfestadas como descrito anteriormente, foram submersas durante 30
190 min em 100 mL de suspensão de *A. citrulli* ($3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹). Após 24 h, as sementes foram
191 imersas nas suspensões dos isolados antagonistas ($1,5 \times 10^8$ cel mL⁻¹) e submetidas a secagem
192 por 12 h. Em seguida, procedeu-se a semeadura em bandejas de poliestireno contendo substrato
193 comercial BASAPLANT[®], as quais foram mantidas em casa-de-vegetação com temperatura
194 média de 30°C±2 e umidade de 51,5%±5. Logo após a germinação, as plântulas foram
195 submetidas a câmara úmida por 48 h. Após esse período, as plântulas foram avaliadas
196 diariamente por 6 dias quanto o PI e a SEV em folhas cotiledonares, através da escala descritiva
197 com notas variando de 0 a 5 (Araújo et al. 2005), onde: 0 = plântulas sem sintomas; 1 = plântulas
198 com lesões marginais em até 50% de uma ou ambas as folhas cotiledonares; 2 = plântulas com
199 lesões marginais em até 75% de ambas as folhas cotiledonares; poucas lesões no centro do
200 limbo; deformação foliar leve; 3 = plântulas com lesões em 100% de ambas as folhas
201 cotiledonares; muitas lesões no centro do limbo; de formação foliar acentuada; enfezamento; 4
202 = plântulas com lesões marginais em 100% de ambas as folhas cotiledonares; muitas lesões no
203 centro do limbo progredindo para o hipocótilo; deformação foliar total; enfezamento; 5 =
204 necrose total das folhas cotiledonares e hipocótilo; tombamento e morte. O delineamento

205 experimental foi inteiramente casualizado, com dez repetições, sendo cada repetição constituída
206 por uma plântula.

207

208 **Determinação dos mecanismos de ação biocontroladora dos antagonistas**

209 As duas bactérias (CCRMIP01 e CCRMIP16) e as duas leveduras (CCRMIP21 e
210 CCRMIP41) selecionadas como as mais eficientes no controle da mancha aquosa nos diferentes
211 estágios fenológicos do meloeiro foram avaliadas quanto a antibiose, produção de toxinas *killer*,
212 produção de biofilme e atividade *Quorum quenching*.

213 *Sensibilidade in vitro de A. citrulli*- Alíquota de 0,1 mL da suspensão de *A. citrulli* ($3,4 \times 10^7$
214 UFC mL⁻¹) foi depositada na superfície do meio NYDA contido em placa de Petri e espalhada
215 com auxílio de “Swab” estéril. Discos de papel de filtro esterilizados foram embebidos na
216 suspensão dos antagonistas ($1,5 \times 10^8$ cel mL⁻¹) e após retirado o excesso da suspensão foram
217 depositados em três pontos equidistantes da placa. Discos embebidos em ADE foram utilizados
218 como tratamento controle. As placas de Petri foram incubadas por 48 h à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ em B.O.D.
219 A avaliação constou da observação da presença ou ausência do halo de inibição do crescimento
220 de *A. citrulli*, com a mensuração do tamanho desse halo. O delineamento experimental foi
221 inteiramente casualizado, com quatro repetições sendo cada uma constituída por três discos de
222 papel de filtro.

223 *Produção de toxinas killer*- As leveduras foram caracterizadas quanto à presença do fator *killer*,
224 de acordo com metodologia descrita por Ceccato-Antonini et al. (2004). As leveduras
225 *Kodamaea ohmeri* (isolados LCFS 008 e LCFS 044) e *Metschnikowia* sp. (isolado 003), cedidas
226 pela Coleção de Fungos do Solo (CFS) da Universidade Federal Rural de Pernambuco,
227 previamente caracterizadas como sensíveis quanto a atividade *killer*, foram cultivadas em placa
228 de Petri contendo meio ágar-YEPD (10 g L⁻¹ extrato de levedura, 10 g L⁻¹ peptona, 20 g L⁻¹
229 glucose, 20 g L⁻¹ ágar), e incubadas por 48h à $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Posteriormente, foram ressuspensas
230 em solução salina PBS na concentração de 1×10^6 células mL⁻¹, e 0,1 mL da suspensão foram
231 semeadas, com auxílio de “Swab estéril”, em meio ágar-YEPD acrescido de azul de metileno
232 (0,005%) e tamponado a pH 4,5 (Oliveira et al. 2011).

233 Após a secagem do meio de cultura, as leveduras antagonistas a serem testadas foram
234 depositadas em arranjos pontuais equidistantes (4 pontos), com o auxílio de “Swab estéril”. As
235 avaliações foram realizadas 48 h após o período de incubação e os isolados foram considerados
236 produtores de toxinas *killer* quando as colônias apresentaram um halo de inibição de
237 crescimento e zona azul adjacente, indicando morte celular da levedura sensível.

238

239 *Produção de Biofilme* - A formação de biofilme foi avaliada pelo método de quantificação
240 colorimétrica marcado com cristal violeta, de acordo com a metodologia descrita por Tretin et
241 al. (2011). Os experimentos foram realizados em microplacas de poliestireno de 96 poços com
242 fundo chato, usando os meios de cultura líquidos: NYD (NYDA sem ágar), Luria-Bertani – LB
243 (10 g L⁻¹ triptona, 5 g L⁻¹ extrato de levedura, 5 g L⁻¹ NaCl), meio 523 (KADO) (10 g L⁻¹
244 sacarose, 8g⁻¹L ácido-caseína hidrolisada, 4 g L⁻¹ de extrato de levedura, 2 g L⁻¹ K₂HPO₄, 0,3
245 g L⁻¹ MgSO₄ 7H₂O), extrato de levedura dextrose carbonato de cálcio (YDC) (10 g L⁻¹ extrato
246 de levedura, 20 g L⁻¹ dextrose, 20 g L⁻¹ carbonato de cálcio), triptona de soja (TS) (15 g L⁻¹
247 triptona, 5,0 g L⁻¹ digestão papaica de soja, 5,0 g L⁻¹ cloreto de sódio), Sabouraud dextrose (SD)
248 (40 g L⁻¹ dextrose, 10g g L⁻¹ peptonas) e YEPD líquido. Para o teste com as bactérias foram
249 utilizados os meios NYD, LB, KADO e YDC, e para as leveduras os meios NYD, YEPD, TS
250 e SD.

251 O patógeno *A. citrulli* foi cultivado em placas de Petri contendo meio NYDA por 48 h,
252 e a partir do crescimento foi preparada uma suspensão na concentração de 3,4 x 10⁷ UFC mL⁻¹.
253 Os isolados antagonistas, foram cultivados em meio NYDA por 48 h e após esse período
254 foram preparadas suspensões na concentração 1,5x 10⁸ cel mL⁻¹. Posteriormente, cada poço foi
255 preenchido com 140 µL do respectivo meio de cultura, 40 µL de suspensão dos isolados a serem
256 testados (*A. citrulli* ou antagonistas) e 20 µL de ADE. Após 24 h de incubação a 28 ± 2°C, o
257 conteúdo de cada poço foi descartado e lavado três vezes com solução salina estéril (0,9%). Os
258 microrganismos aderentes restantes foram fixados por calor em uma estufa de secagem a 60°C
259 por 1 h. Em seguida, 200 µL de cristal violeta (0,5%) foram adicionados a cada poço e
260 incubados por 15 min em temperatura ambiente (25± 2°C), para evidenciar a camada adesiva
261 do biofilme formado. Posteriormente o excesso de corante foi removido com água destilada, e
262 o cristal violeta aderido à camada de biofilme foi solubilizado com etanol a 99,5%. Após 30
263 min a absorbância foi medida a 570 nm, usando um leitor de microplacas (Biotek). No controle
264 negativo as suspensões dos isolados avaliados foram substituídas por 40 µL de ADE.

265 A formação de biofilme foi avaliada seguindo a classificação de Stepanovic et al.
266 (2000). O controle negativo (ODc) foi utilizado como base para classificar a formação de
267 biofilme para cada isolado (OD) em diferentes meios de cultura, onde: OD ≤ ODc – não
268 produção de biofilme; ODc < OD ≤ (2 x ODc) – produção de biofilme fraca; (2 x ODc) < OD
269 ≤ (4 x ODc) – produção de biofilme moderada; e (4 x ODc) < OD – forte produtor de biofilme.

270

271 *Atividade de Quorum quenching* - Os isolados foram caracterizados quanto à atividade de
272 *quorum quenching* por meio dos metabolitos produzidos, de acordo com a metodologia

273 adaptada de Malafaia et al. (2018). Neste experimento, foram utilizados microplacas de
274 poliestireno de 96 poços com fundo chato (KASVI®). O patógeno *A. citrulli* foi cultivado em
275 placas de Petri contendo meio NYDA por 48 h, e a partir do crescimento foi preparada uma
276 suspensão na concentração de $3,4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹. Os isolados antagonistas, foram cultivados
277 em meio líquido NYD, YDC e KADO sob mesa agitadora por 48 h. Os metabolitos foram
278 obtidos a partir do crescimento dos antagonistas em meio líquido com auxílio de um filtro
279 millipore. Posteriormente, 40 µL da suspensão bacteriana, 20 µL dos metabolitos e 140 µL de
280 meio líquido (NYD, YEPD e KADO) foram adicionados aos poços das microplacas, e logo em
281 seguida incubados a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24h. Após incubação os conteúdos das placas foram
282 removidos e os poços foram lavados três vezes com solução salina (0,9%). As células
283 bacterianas aderidas aos poços foram fixadas por calor a 60°C por 1h e logo depois foram
284 coradas com 0,5% de cristal violeta por 15 min à temperatura ambiente. Em seguida, foram
285 solubilizadas com etanol a 99,5% e após 30 min a absorbância foi medida a 570 nm em leitor
286 de placa de Elisa (Biotek). No controle negativo os metabolitos foram substituídos por 20 µL
287 contendo apenas meio de cultura (NYD, YDC ou KADO) e foi representado como 100%.
288 Valores superiores a 100% representam um estímulo à formação de biofilme em relação ao
289 controle.

290

291 **Identificação molecular dos isolados**

292 Os isolados CCRMIP01 (bactéria) e CCRMIP21 (levedura), selecionados a partir dos
293 resultados dos testes *in vivo* e *in vitro*, foram submetidos a identificação molecular. O isolado
294 bacteriano foi caracterizado através da comparação das sequências de rDNA, utilizando a
295 metodologia descrita por Senthilraj et al. (2016). Para a amplificação do DNA da região 16S
296 rDNA, foi utilizado os primers universais 27F (5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3') como
297 forward e 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') como reverse, que amplificam um
298 fragmento de 1500pb.

299 Para a identificação do isolado de levedura foi realizada a comparação das sequências
300 de rDNA, com primers específicos para a região LSU- Nuclear large subunit rDNA: LROR (5'-
301 ACCCGCTGAACTTAAGC-3') e LR5 (5'-TCCTGAGGGAAACTTCG-3') e a região do
302 espaço de transcrição interna 1 e 2, incluindo o gene 5.8S rRNA (ITS), com os primers ITS1
303 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), que
304 amplificam um fragmento de 900pb e 1000pb, respectivamente (Valente et al. 1999).

305 Os produtos da PCR (amplicons) foram sequenciados e as sequências obtidas
306 depositadas no National Center for Biotechnology Information (NCBI) e comparadas com as
307 sequências depositadas no GenBank usando Blastn (Altschul et al. 1997).

308

309 **2.7 Análises estatísticas**

310 Todos os ensaios foram repetidos duas vezes para determinar a consistência dos
311 resultados e como não foram observadas diferenças significativas nas variâncias ($P \leq 0,05$), os
312 dados foram avaliados como repetições no tempo. As suposições de análise de variância
313 (ANOVA) foram verificadas usando o Testes Shapiro-Wilk e Levene na versão do software
314 Statistix 9.0 (Universidade Estadual da Flórida). Para os testes *in vivo* as médias foram
315 comparadas pelo teste Scott-Knott usando o software SAEG versão 9.0 (Universidade Federal
316 de Viçosa), ao nível de 5% de probabilidade.

317

318 **RESULTADOS**

319 **Obtenção e preservação dos antagonistas**

320 Das 29 amostras de espécies vegetais coletadas na Caatinga foram isolados 98
321 microrganismos, sendo 56 bactérias e 42 leveduras. Do total, 82 isolados foram obtidos de
322 folhas, 6 de flor e 10 de ramo (Tabela 1). Os isolados foram preservados pelo método de
323 Castellani e depositadas na coleção CCRM.

324

325 **Proteção de plantas**

326 No primeiro experimento, dos 98 isolados testados, apenas os isolados CCRMIP19,
327 CCRMIP06 e CCRMIP143 não diferiram significativamente ($P \leq 0,05$) do controle negativo
328 (inoculado apenas com *A. citrulli*) em relação a SEV e/ou AACPD (Tabela 2). No entanto, se
329 destacaram os isolados CCRMIP53, CCRMIP108, CCRMIP08, CCRMIP16, CCRMMF151,
330 CCRMMF138, CCRMIP01, CCRMIP41, CCRMIP72, CCRMIP146, CCRMIP89, CCRMIP87
331 e CCRMIP21, pois não diferiram significativamente da levedura CCRMLMA1, utilizada como
332 controle positivo, em relação a SEV e AACPD, combinado com a capacidade de aumentarem
333 o PI de 3 a 4 dias em relação ao controle negativo (Tabela 2). Esses 13 isolados reduziram a
334 SEV e a AACPD em mais de 68% e 76,3%, respectivamente, em relação ao controle negativo,
335 e por isso foram selecionados para um segundo experimento em plantas, para determinar a
336 consistência dos resultados, e para os experimentos *in vivo* em plântulas e sementes.

337 No segundo experimento todos os 13 isolados antagonistas diferiram significativamente
338 ($P \leq 0,05$) do controle negativo do antibiótico casugamicina (controle positivo) reduzindo a

339 SEV e a AACPD. No entanto, apenas os isolados CCRMIP41, CCRMIP16, CCRMIP21,
340 CCRMIP01, CCRMIP53 mantiveram os mesmos níveis de controle da levedura CCRMLMA1,
341 aumentando o PI e reduzindo a SEV em níveis superiores a 70% e a AACPD em mais de 66,8%
342 (Tabela 3).

343

344 **Proteção de plântulas**

345 Dos 13 isolados avaliados, todos diferiram significativamente ($P \leq 0,05$) do controle
346 negativo, e apresentaram sintomas leves nas folhas cotiledonares e verdadeiras, com PI
347 variando de 3 a 5 dias e SEV com notas de 4 a 1,43 (Tabela 4). Os melhores níveis de controle
348 foram obtidos com os isolados CCRMIP21, CCRMIP01, CCRMIP41, CCRMIP16 e
349 CCRMIP53, que aumentaram o PI em até 2,75 dias, diminuíram a SEV em até 62,6% e
350 reduziram a AACPD em até 67% em relação ao controle negativo. No entanto, apenas os
351 isolados CCRMIP21 e CCRMIP01 mantiveram os mesmos níveis de controle da levedura
352 CCRMLMA1.

353

354 **Tratamento de sementes**

355 O tratamento de sementes de meloeiro com os 13 isolados antagonistas e inoculação
356 com *A. citrulli*, resultou em plântulas em menor severidade dos sintomas da mancha aquosa,
357 diferindo significativamente do controle negativo ($P \leq 0,05$), com reduções da SEV e AACPD
358 superiores a 39,6% e 46,3%, respectivamente. Dentre todos os isolados avaliados, os melhores
359 resultados foram obtidos com CCRMIP01, CCRMIP16, CCRMIP21 e CCRMIP41 que
360 proporcionaram um aumento no PI de até 2,1 dias, uma redução da SEV superior a 78,3% e
361 uma diminuição na AACPD de mais de 61,3%, com comportamento similar a levedura
362 CCRMLMA1 (Tabela 5). O antibiótico casugamicina mostrou pouca ou nenhuma eficiência no
363 controle da mancha aquosa em todos os experimentos realizados em condições de casa de
364 vegetação.

365 Os isolados das bactérias CCRMIP01, CCRMIP16 e das leveduras CCRMIP21 e
366 CCRMIP41 foram selecionados para os estudos de determinação dos mecanismos associados
367 ao biocontrole.

368

369 **Determinação dos mecanismos de ação biocontroladora dos antagonistas**

370 Entre os quatro isolados avaliados, CCRMIP01 (Figura 1A), CCRMIP21 e CCRMIP16
371 inibiram o crescimento de *A. citrulli* com halos médios de 6,8 , 5,6 e 5,2 mm, respectivamente,
372 sendo verificada ausência de atividade antibiótica para o isolado CCRMIP41. As leveduras

373 CCRMIP21 (Figura 1B) e CCRMIP41 também apresentaram atividade *Killer*, caracterizada
374 pelo halo de inibição do crescimento das leveduras sensíveis *Kodamaea ohmeri* e
375 *Metschnikowia* sp., evidenciada por uma região azul clara, formada por células mortas coradas
376 pelo azul de metileno.

377 Todos os isolados selecionados e o patógeno (*A. citrulli*) foram capazes de aderir à
378 superfície inerte e formar biofilme nos meios de cultura utilizados, em diferentes níveis (fraco,
379 moderado e forte). Os isolados das bactérias antagonistas CCRMIP01 e CCRMIP16 foram
380 classificados como produtores moderados e fortes de biofilme nos meios de cultura NYD,
381 KADO e YDC. Os isolados das leveduras CCRMIP21 e CCRMIP41 se destacam, pois foram
382 classificados como produtores fortes de biofilme em todos os meios de cultura (NYD, YEPD,
383 TS e SD). Em contraste, o patógeno CCRMAc1.39 foi predominantemente fraco produtor de
384 biofilme nos meios NYD, KADO e YDC, mas no meio LB apresentou uma produção moderada
385 (Tabela 6).

386 Os isolados CCRMIP01 (bactéria) e CCRMIP21 (levedura) também apresentaram
387 atividade de *quorum quenching*, reduzindo, respectivamente, a formação de biofilme de *A.*
388 *citrulli* em 59,7 e 61,5% no meio de cultura NYD e em 38,7% e 46,5%, no meio de cultura LB
389 (Figura 2).

390

391 **Identificação molecular dos isolados**

392 A sequência do isolado bacteriano CCRMIP01, obtido da planta da Caatinga *Bauhinia*
393 *cheilantha*, foi idêntica (100% de similaridade) à do isolado *Pantoea* sp. (OL604374.1),
394 enquanto a sequência da levedura CCRMIP21, obtida da planta da Caatinga *Callisia cordifolia*,
395 foi idêntica (100% de similaridade) à da espécie *Rhodospiridiobolus fluvialis* (MK163556.1).

396

397 **DISCUSSÃO**

398 Os microrganismos antagonistas utilizados no presente estudo foram procurados em
399 plantas da Caatinga devido às condições ambientais extremas desse bioma, com elevadas
400 temperaturas e baixa disponibilidade hídrica a que essas plantas e seus endófitos coexistentes
401 estão adaptados. Além disso, o cultivo de meloeiro tem se expandido em áreas pertencentes a
402 Caatinga (AGRIANUAL, 2017), o que aumentaria a chance de encontrar agentes
403 biocontroladores com atividade antagonista a *A. citrulli*.

404 Uma série de experimentos foram realizados *in vivo* e *in vitro* para selecionar dentre
405 os 98 isolados microbianos obtidos os melhores isolados para o controle da mancha aquosa.
406 Visando a proteção das plantas contra a infecção de *A. citrulli*, 13 isolados apresentaram uma

407 redução da severidade da doença acima de 62% e comportamento similar ao isolado
408 CCRMLMA1 da levedura *R. aurantiaca*. Essa levedura, isolada de folhas de meloeiro, foi
409 utilizada como padrão positivo de controle por ter mostrado eficiência na redução da severidade
410 da mancha aquosa (Conceição et al. 2014; Melo et al. 2015). A seleção visando a proteção das
411 plantas é importante para reduzir no campo a quantidade de inóculo a ser disseminada para os
412 frutos, visto que no ciclo da mancha aquosa, as lesões foliares são uma grande fonte de inóculo
413 para os frutos de melão (Latin and Hopkins 1995).

414 Visando uma maior aplicabilidade dos antagonistas, foi testada a eficiência dos isolados
415 na proteção de sementes contra a infecção de *A. citrulli* durante a produção de mudas e no
416 tratamento de sementes contaminadas com a bactéria. O controle da mancha aquosa também
417 precisa ser realizado durante a produção de mudas, com o objetivo de diminuir a disseminação
418 da doença entre as plântulas e o transplântio de mudas sintomáticas e assintomáticas (Assunção
419 et al. 2019). Sabe-se ainda que as sementes de meloeiro infestadas com *A. citrulli* podem
420 facilmente introduzir epidemias de mancha aquosa em estufas comerciais e campos sob
421 condições favoráveis (Horuz and Aysan 2018). No nosso estudo, os 13 isolados mantiveram a
422 eficiência na proteção das plântulas e no tratamento das sementes, mas apenas dois
423 (CCRMIP01 e CCRMIP21) e quatro (CCRMIP01, CCRMIP16, CCRMIP21 e CCRMIP41)
424 isolados, respectivamente, apresentaram níveis de controle similares aos da levedura
425 CCRMLMA1. Outro aspecto importante é que esses antagonistas, além de aumentarem o PI e
426 reduzirem a SEV da doença, não influenciaram negativamente na germinação das sementes,
427 como observado em tratamentos físicos e químicos de sementes para o controle da mancha
428 aquosa (Hopkins and Thompson 2003).

429 Os agentes de biocontrole podem apresentar diversos mecanismos de ação, os quais
430 podem ser detectados por testes *in vitro* (Visconti et al. 2017), a exemplo de antibiose, atividade
431 killer, formação de biofilme e *quorum quenching*. A antibiose foi detectada como o mecanismo
432 de ação dos isolados bacterianos CCRMIP01 e CCRMIP16 e da levedura CCRMIP21 pois
433 inibiram *in vitro* o crescimento de *A. citrulli*. Muitas bactérias e leveduras, têm sido
434 frequentemente associadas ao mecanismo de antibiose pela produção de diferentes compostos
435 antimicrobianos (Ongena and Jacques 2008). Wang et al. (2009) ao testarem 463 leveduras
436 obtidas de folhas e flores de cucurbitáceas, verificaram que 24 isolados produziram antibiose
437 contra *A. citrulli*, destacando-se a levedura 0732-1 que também reduziu a incidência da doença
438 para 48,8%.

439 A produção de toxinas *killer* pelos isolados de levedura, CCRMIP21 e CCRMIP41,
440 corroboram com a afirmação de Platania et al. (2012) de que a produção de toxinas *killer* parece

441 ser uma característica comum de espécies de leveduras de diferentes gêneros. As toxinas *killer*,
442 quando presentes, configuram-se como um importante mecanismo, pois o resultado da ação
443 antimicrobiana por essas toxinas pode estar associado com a ação antibiótica produzida pelas
444 leveduras antagonicas e, por este motivo, é imprescindível a constatação de ocorrência ou não
445 desse mecanismo de biocontrole (Coelho et al. 2005). De acordo com os resultados obtidos,
446 apenas a levedura CCRMIP21 apresentou os mecanismos de antibiose e o fator *killer*.

447 Nesse estudo as leveduras antagonistas CCRMIP21 e CCRMIP41 apresentaram uma
448 alta formação de biofilme em todos os meios avaliados, indicando uma forte capacidade de
449 aderir a superfície foliar. Por outro lado, as bactérias CCRMIP01 e CCRMIP16 produziram
450 biofilme, mas em menor quantidade, a depender do meio de cultura utilizado. Os meios
451 nutritivos podem influenciar na formação de biofilme, visto que meios mais pobres favorecem
452 a formação de biofilme, devido à condição de estresse que as bactérias são submetidas
453 (Stepanoviy et al. 2004). A formação de biofilme, por leveduras e bactérias antagonistas é
454 importante, pois é um mecanismo a mais, como colonizadoras de ferimentos, que poderá agir
455 na proteção da planta e controle do fitopatógeno (Droby et al. 2009). O isolado CCRMAc1.39
456 de *A. citrulli* não mostrou ser um bom produtor de biofilme, sendo classificada como fraca ou
457 moderada produtora, a depender do meio de cultura utilizado. Resultados semelhantes foram
458 obtidos por Malafaia et al. (2018) ao avaliarem em meio NYD a formação de biofilme de outros
459 isolados de *A. citrulli*, onde Aac1.12, Aac1.5 e Aac1.78 não foram produtores de biofilme, e
460 Aac5.16 e Aac1.43 foram fracos produtores de biofilme.

461 A inibição da formação de biofilme (*quorum quenching*) foi reconhecida como uma
462 nova alternativa de mecanismo para o controle de doenças de plantas (Tian et al. 2019). Várias
463 bactérias fitopatogênicas, incluindo *Agrobacterium*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Enterobacter*,
464 *Ralstonia*, *Pectobacterium*, utilizam o *quorum sensing* para regular sua virulência, tornando um
465 alvo emergente para agentes de biocontrole que utilizam o *quorum quenching* como mecanismo
466 de ação antagonística (Garge and Nerurkar 2017). Os isolados CCRMIP01 e CCRMIP21
467 apresentaram atividade *quorum quenching*, pois reduziram a produção de biofilme da *A. citrulli*
468 no meio de cultura NYD, em que a bactéria foi classificada como fraca produtora de biofilme,
469 como também no meio LB, em que foi moderada produtora. O mecanismo de *quorum*
470 *quenching* tem sido associado ao biocontrole de *Dickeya dadantii* por *Bacillus cereus*, *B.*
471 *thuringiensis* e *Brevibacillus brevis* (Khoiri et al. 2016), *Xanthomonas campestris* pv.
472 *campestris* por *Cupriavidus* sp. (Tian et al. 2019) e de *Rhizobium rhizogenes* por *Rhodococcus*
473 *erythropolis* R138 (Bourigault et al. 2021).

474 As bactérias epifíticas do gênero *Pantoea*, o qual o isolado CCRMIP01 foi identificado,
475 são relatadas no biocontrole de doenças a mais de duas décadas, quando Johnson and Stockwell
476 (1998) encontraram isolados de *P. agglomerans* reduzindo a severidade da queima bacteriana
477 em macieira, causada por *Erwinia amylovora*. O isolado *P. agglomerans* EH24 também reduziu
478 a queima bacteriana em cerca de 76%, na cultura da pera (Ozaktan and Bora 2004). Uma
479 variedade de antibacterianos orgânicos ácidos e antibióticos peptídicos, como a fenazina e a
480 pantocina produzidos por espécies de *Pantoea* vêm sendo estudados no biocontrole de doenças
481 de plantas (Smits et al. 2019). Existem bioprodutos comercializados à base de *P. agglomerans*,
482 como o Bloomtime Biological (NAP[®]) que atua por competição por espaço e nutrientes e o
483 Blossom Bless (Grochem[®]) que age por exclusão de nicho mediada por antibiose, ambos
484 indicados para o controle da queima bacteriana em pera e maçã (Bettiol et al. 2012). Apesar
485 desses relatos de controle biológico, *P. agglomerans* é mais conhecida como uma rizobactéria
486 promotora de crescimento de plantas, sendo bastante utilizada como biofertilizantes, pois é uma
487 bactéria solubilizadora de fosfato (Goljanian-Tabrizi et al. 2016).

488 Este trabalho apresentou o primeiro relato de uma espécie de *Rhodospiridiobolus*, *R.*
489 *fluvialis* (CCRMIP21), controlando uma bactéria fitopatogênica, pois até o presente momento
490 não foram encontrados na literatura publicações de *Rhodospiridiobolus* spp. como agente de
491 biocontrole. Embora com outra finalidade biotecnológica, *R. fluvialis* é utilizada na indústria
492 alimentícia para produção de lipídios (Poontawee et al. 2018). Leveduras endófitas e epifíticas
493 obtidas de diversas plantas têm sido amplamente testadas como agentes de controle biológico,
494 pois uma grande parte da população desses microrganismos apresenta efeito inibitório a
495 fitopatógenos (Pretschre et al. 2018). Temos o exemplo de *R. aurantiaca* CCRMLMA1 que é
496 eficiente no controle da mancha aquosa (Melo et al. 2015) e foi utilizada no presente estudo
497 como padrão de controle positivo.

498 Este estudo selecionou a bactéria *Pantoea* sp. (CCRMIP01) e a levedura *R. fluvialis*
499 (CCRMIP21), obtidas de plantas da Caatinga, como eficientes agentes de controle da mancha
500 aquosa em diferentes estádios fenológicos da cultura do meloeiro, podendo ser indicadas para
501 o manejo dessa doença. Os isolados apresentam como mecanismos de ação antagônica a *A.*
502 *citrulli* a antibiose, produção de biofilme e *quorum quenching*, além de fator *Killer* no caso da
503 levedura. Este trabalho mostra o potencial de microrganismos de plantas do bioma Caatinga
504 como uma nova fonte de agentes de biocontrole de fitobacterioses.

505

506 **AGRADECIMENTOS**

507 Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo a Igor A. M. Pimentel, bolsa de pesquisa a
508 Elineide B. Souza (CNPq Proc. 311365/2020-5) e bolsa de PIBIC a José C. Messias, e a UFRPE
509 pelo suporte financeiro (Edital 015/2018-UFRPE PRPG).

510

511 REFERÊNCIAS

512 AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP: Consultoria & Comércio,
513 2017. 432p.

514

515 Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped
516 BLAST and PSI-BLAST: a new Generation of protein database search programs. *Nucleic Acids*
517 *Research*, 25(17): 3389-3402.

518

519 Araújo DV, Mariano RLR, Michereff SJ (2005) Métodos de inoculação de *Acidovorax avenae*
520 subsp. *citrulli* em melão. *Summa Phytopathol* 31:69-73.

521

522 Assis, SMP, Mariano RLR, Silva-Hanlin DMW, Duarte V (1999) Mancha aquosa do melão
523 causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, no Estado do Rio Grande do Norte.
524 *Fitopatologia Brasileira* 24:191.

525

526 Assunção EF (2019) Manejo da mancha aquosa do meloeiro: fontes de resistência genética e
527 extratos aquosos de plantas da Caatinga. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade
528 Federal Rural de Pernambuco, Recife.

529

530 Assunção EF, Conceição CS, Alexandre ER, Gama MAS, Nunes GHS, Souza, EB (2021) New
531 sources of melon accessions with resistance to bacterial fruit blotch at diferente phenological
532 stages of melon growth and to multiple strains of *Acidovorax citrulli*. *Euphytica* 217:1-15.

533

534 Assunção EF, Conceição CS, Mariano RDLR, SOUZA EB (2019) Situação atual da mancha
535 aquosa, importante bacteriose em meloeiro e melanciaira. *Anais da Academia Pernambucana*
536 *de Ciência Agronômica*,16: 51-73.

537

538 Azman Husni AA, Ismail SI, Jaafar N, Zulperi D (2021) Etiology, diagnostic approaches and
539 management strategies of *Acidovorax citrulli*, a Bacterial fruit blotch pathogen of cucurbits.
540 *Plant Protection Science* 57:75-94.

541

542 Bahar O, Kritzman G, Burdman S (2009) Bacterial fruit blotch of melon: screens for disease
543 tolerance and role of seed transmission in pathogenicity. *European Journal of Plant Pathology*.
544 123: 71-83.

545

546 Bettiol W, Morandi MAB (Eds.) (2009) *Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas*.
547 1 Ed. Embrapa Meio Ambiente, São Paulo.

548

549 Bettiol W, Morandi MAB, Pinto ZV, Paula Júnior TJ, Corrêa EB, Moura AB, Bezerra JL
550 (2012). *Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas*. Embrapa
551 Meio Ambiente – Documentos (INFOTECA-E).

552

553 Bourigault Y, Rodrigues S, Crépin A, Chane A, Taupin L, Bouteiller M, Latour X (2021)
554 Biocontrol of Biofilm Formation: Jamming of Sessile-Associated Rhizobial Communication
555 by *Rhodococcal* Quorum-Quenching. *International journal of molecular sciences*, 22(15): 8241.

556

557 Cavalcanti RMF, Silva DPD, Paz MCF, Queiroz JCF (2018) Avaliação do potencial de síntese
558 de biossurfactantes por fungo da Caatinga. *Revista Saúde & Ciência*, 7: 240-251.

559

560 Ceccato-Antonini SR, Tosta CD, Silva AC (2004) Determination of yeast *Killer* activity in
561 fermentation sugarcane juice using selected ethanol-making strains. *Brazilian Archives of*
562 *Biology and Technology*, 47: 13-23.

563

564 Coelho AR (2005) Controle de *Penicillium expansum* biodegradação de patulina: perfil
565 cromatográfico de composto bioativo de leveduras *killer* visando aplicação pós-colheita. Tese de
566 Doutorado, Universidade Estadual de Londrina.

567

568 Conceição CS, Felix KCS, Mariano RL, Medeiros EV, Souza EB (2014) Combined effect of
569 yeast and silicon on the control of Bacterial fruit blotch in melon. *Scientia Horticulturae*,
570 174:164-170.

571

572 Costa FM, Júnior RS, Almeida FA, Lopes MV (2006) Eficiência de kasugamicina e hidróxido
573 de cobre no controle da bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, agente causal da “Mancha-
574 Aquosa” no meloeiro. *Revista de Biologia e Ciência da Terra*, 6(1):132.

575

- 576 Delshadi S, Ebrahimi M, Shirmohammadi E (2017) Influence of plant-growth-promoting
577 bacteria on germination, growth and nutrients uptake of *Onobrychis sativa* L. UNDER
578 DROUGHT STRESS. *Journal of Plant Interactions*, 12(1): 200-208.
- 579
- 580 Droby S, Chalutz E, Wilson CL, Wisniewski M (1989) Characterization of the biocontrol
581 activity of *Debaryomyces hansenii* in the control of *Penicillium digitatum* on grapefruit.
582 *Canadian Journal of Microbiology*, 35(8):794-800.
- 583
- 584 Droby, S, Wisniewski M, Macarasin D, Wilson C (2009) Twenty Years of postharvest
585 biocontrol research: is it time for a new paradigma?. *Postharvest biology and technology*,
586 52(2):137-145.
- 587
- 588 EPPO. *Acidovorax citrulli* PSDMAC, 2019. Disponível em:
589 <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMAC/distribution>. Acesso em: 15 maio, 2022.
- 590
- 591 EPPO. New data on quarantine pests and pests of the EPPO Alert List, 2017. Disponível em:
592 <https://gd.eppo.int/reporting/article-6040>. Acesso em: 15 maio, 2022.
- 593
- 594 Fallah NAA, Shariat S (2014) Effect of *Pseudomonas* and *Bacillus* bacteria on yield and
595 nutrient uptake in comparison with chemical and organic fertilizers in wheat, *Journal of Water*
596 *and Soil*, 8:976-986.
- 597
- 598 Fan H, Ru J, Zhang Y, Wang Q, Li Y (2017) Fengycin produced by *Bacillus subtilis* 9407 plays
599 a major role in the biocontrol of apple ring not disease. *Microbiological Research*, 199:89-97.
- 600
- 601 Ferreira DF (1992) SISVAR (Sistema para análise de variância para dados balanceados).
602 UFLA, Lavras.
- 603
- 604 Filizola PRB, Luna MAC, Souza AF, Coelho IL, Laranjeira D, Campos-Takaki GM (2019)
605 Biodiversity and phylogeny of novel *Trichoderma* isolates from mangrove sediments and
606 potential of biocontrol against *Fusarium* strains. *Microbial cell factories*, 18(1): 1-14.
- 607
- 608 García-Contreras R, Pérez-Eretza B, Jasso-Chávez R, Lira-Silva E, Roldán-Sánchez JÁ,
609 González-Valdez A, Wood TK (2015) High variability in quorum quenching and growth

- 610 inhibition by furanone C-30 in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from cystic fibrosis
611 patients. *Pathogens and disease*, 73(6)
612
- 613 Garge SS, Nerurkar AS (2017) Evaluation of quorum quenching *Bacillus* spp. for their
614 biocontrol traits against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum* causing soft rot.
615 *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 9: 48-57.
616
- 617 Gašić K, Obradović M, Kuzmanović N, Zlatković N, Ivanović M, Ristić D, Obradović A (2021)
618 Isolation, Characterization and Draft Genome Analysis of Bacteriophages Infecting *Acidovorax*
619 *citrulli*. *Frontiers in microbiology*, 12.
620
- 621 Goljanian-Tabrizi S, Amiri S, Nikaein D, Motesharrei Z (2016) The comparison of five low
622 cost liquid formulations to preserve two phosphate solubilizing bacteria from the genera
623 *Pseudomonas* and *Pantoea*, *Iranian Journal of Microbiology*, 8(6):377.
624
- 625 Hopkins DL, Thompson CM (2003) Evaluation of *Citrullus* sp. Germplasm for resistance to
626 *Acidovorax avenue* subsp. *citrulli*. *Plant Disease*, 86: 61-64.
627
- 628 Hopkins DL (1994) Spread of bacterial fruit blotch of watermelon in the greenhouse.
629 *Phytopathology*, 84: 755.
630
- 631 Horuz S, Aysan Y (2018) Biological control of watermelon seedling blight caused by
632 *Acidovorax citrulli* using antagonistic bacteria from the genera *Curtobacterium*,
633 *Microbacterium* and *Pseudomonas*. *Plant Protection Science*, 54:138-146.
634
- 635 IBGE. Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. Disponível em:
636 <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612#resultado>>. Acesso em: 04 Mai. 2022.
- 637 Isakeit T. Bacterial fruit blotch in watermelon. Texas: The Agricultural Extension Service-
638 USA, 1999. Disponível em: <
639 https://oaktrust.library.tamu.edu/bitstream/handle/1969.1/86751/pdf_1000.pdf?sequence=1 >.
640 Acesso em: 19 mai. 2022.
641
- 642 Jacobs CJ, Van Vurren HJJ (1991) Effects of diferente killer yeasts on wine fermentations.
643 *American journal of enology and viticulture*, 42(4): 295-300.

644

645 Jiang CH, Wu F, Yu ZY, Xie P, Ke HJ, Li HW, Guo JH (2015) Study on screening and
646 antagonistic mechanisms of *Bacillus amyloliquefaciens* 54 against Bacterial fruit blotch (BFB)
647 caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Microbiological research*, 170:95-104.

648

649 Johnson KB, Stockwell VO (1998) Management of Fire Blight: A case study in microbial
650 ecology. *Annual review of phytopathology*, 36(1): 227-248.

651

652 Khoiri S, Damayanti TA, Giyanto G (2016) Identification of quorum quenching bacteria and
653 its biocontrol potential against soft rot disease bacteria, *Dickeya dadantii*, *AGRIVITA*, Journal
654 of Agricultural Science, 39(1): 45-55.

655

656 Latin RX, Hopkins DL (1995). Bacterial fruit blotch of watermelon. The hypothetical exam
657 question becomes reality. *Plant Disease*, 79(8): 761-765.

658

659 Lovic BR, Hopkins DL (2003). Production steps to reduce seed contamination by pathogens of
660 cucurbits. *HorTechnology*, 13(1): 50-54.

661

662 Li B, Shi Y, Shan C, Zhou Q, Ibrahim M, Wang Y, Sun G (2013). Effect of chitosan solution
663 on the inhibition of *Acidovorax citrulli* causing bacterial fruit blotch of watermelon. *Journal of*
664 *the Science of Food and Agriculture*. 93: 1010-1015.

665

666 Malafaia CB, Barros MP, Macedo AJ, Guerra ML, Souza EB, Correia MTS, Silva MV (2018)
667 Biofilm Formation by Phytopathogenic Bacteria *Acidovorax citrulli* and *Ralstonia*
668 *solanacearum*. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 3(4): 347-355.

669

670 Malafaia CB, Jardelino ACS, Silva AG, Souza EB, Macedo AJ, Correia MTDS, Silva MV
671 (2018) Effects of Caatinga plant extracts in planktonic growth and biofilm formation in
672 *Ralstonia solanacearum*. *Microbial ecology*, 75(3):555-561.

673

674 Mariano RLR, Souza EB (2016) Manual de práticas em Fitobacteriologia. In: Mariano RLR,
675 Michereff SJ, Souza EB, Assis SMP, Gomes AMA, Melo EA (3^aEds.) Isolamento de bactérias
676 para testes de antagonismo. EDUFRPE, Recife. pp. 139-146.

677

- 678 Mello MRF, Silveira EB, Viana IO, Guerra ML, Mariano RLR (2011) Uso de antibióticos e
679 leveduras para controle da podridão-mole em couve-chinesa. *Horticultura Brasileira*, 29:78-83.
680
- 681 Melo EA, Lima RM, Laranjeira D, Santos LA, Omena LG, SOUZA EB (2015) Efficacy of
682 yeast in the biocontrole of Bacterial fruit blotch in melon plants. *Tropical Plant Pathology*,
683 40(1): 56-64.
684
- 685 Mohan R, Benton, M, Dangelmaier, E, Fu Z, Chandra Sekhar A (2018). Quorum sensing and
686 biofilm formation in pathogenic and mutualistic plant-bacterial interactions. In: Implication of
687 quorum sensing system in biofilm formation and virulence. Springer, Singapore. pp. 133-160.
688
- 689 Morais EM, Silva AAR, Souza FWAD, Azevedo IMBD, Silva HF, Santos AMG, Araújo FDDS
690 (2022). Endophytic *Trichoderma* strains isolated from forest species of the Cerrado-Caatinga
691 ecotone are potential biocontrole agentes against crop pthogenic fungi. *Plos one*, 17(4):
692 e0265824.
693
- 694 Moura MCF, Silva SGA, Oliveira LCS, Santos EC (2011) Atividades impactantes da cadeia
695 produtiva do melão no agropólo. Mossoró/Assú – RN. *Agropecuária Científica no Semiárido*
696 7: 09-14.
697
- 698 Moura PA, Bezerra Filho CM, Silva LCN, Silva MV, Correia MTS (2015) Caatinga plants as
699 weapons against microorganisms: advances and challeriges. In: Mendez-Vilas A (Eds.) *The*
700 *Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Techonological Avances and Educational*
701 *Programs*. Badajoz, Formatex Research Center. pp.117-124.
702
- 703 Mutalib LY, Nuraddin SM, Toma S, Aka H (2015) Phytochemical screening antibacterial and
704 antibiofilme evaluation of *Lagenaria siceraria* fruit growing in Kurdistan Region\Iraq. *Journal*
705 *of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4:45-49.
706
- 707 Oliveira AV, Rabelo PR, Silva Portes C, Coelho AR (2011) Biocontrole *in vitro* de *Botrytis*
708 *cinerea* por leveduras killer visando aplicação em morangos pós-colheita. *RECEN-Revista*
709 *Ciências Exatas e Naturais*, 13(3):353-364.
710

- 711 Oliveira A, Santos MHM, Silveira EB, Gomes AMA, Maraiano RLR (2006) Biocontrole da
712 mancha aquosa do meloeiro pelo tratamento de sementes com bactérias epifíticas e endolíticas.
713 Horticultura Brasileira, 24: 373-377.
714
- 715 Ongena M, Jacques P (2008) Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease
716 biocontrol. Trends Microbiol, 16(3): 25-115.
717
- 718 Özaktan H, Bora T (2004) Biological control of fire blight in pear orchards with a formulation
719 of *Pantoea agglomerans* strain EH 24. Brazilian journal of Microbiology, 35:224-229.
720
- 721 Platania C, Restuccia C, Muccilli S, Cirvilleri, G (2012) Efficacy of killer yeasts in the
722 biological control of *Penicillium digitatum* on Tarocco Orange fruits (*Citrus sinensis*). Food
723 microbiology, 30(1):219-225.
724
- 725 Poontawee R, Yongmanitchai W, Limtong S (2018) Lipid production from a mixture of
726 sugarcane top hydrolysate and biodiesel-derived crude glycerol by the oleaginous red yeast,
727 *Rhodospiridiobolus fluvialis*. Process Biochemistry, 66:150-161.
728
- 729 Pretscher J, Fischkal T, Branscheidt S, Jäger L, Kahl S, Schlander M, Thines E, Claus H (2018)
730 Yeasts from different habitats and their potential as biocontrol agents. Fermentation, 4(2): 31.
731
- 732 Rosa-Magri MM, Tauk-Tornisiello SM, Ceccato-Antonini SR (2011) Bioprospection of yeasts
733 as biocontrol agents against phytopathogenic mold. Brazilian archives of biology and
734 technology, 54:1-5.
735
- 736 Sales Júnior R, Menezes JB (2001) Mapeamento das doenças fúngicas, bacterianas e viróticas
737 do cultivo do melão no Estado do RN. Mossoró: Escola Superior de Agricultura de Mossoró 25
738 p. (Relatório Técnico).
739
- 740 Santos ER, Gouveia ER, Mariano RLR, Souto-Maior AM (2006) Controle biológico da mancha
741 aquosa do melão por compostos bioativos produzidos por *Bacillus* spp. Summa
742 Phytopathologica, 32:376-378.
743
- 744 Santos AA, Viana FM (2000) Mancha-aquosa do melão. EMBRAPA-SPI.

- 745
746 Sarikhani MR, Aliasghar zad N, Malboobi MA (2013) Improvement of wheat phosphorus
747 nutrition using phosphate solubilizing bacteria. *Journal of Soil Management and Sustainable*
748 *Production*, 3:39-57.
- 749
750 Smits TH, Duffy B, Blom J, Ishimaru CA, Stockwell VO (2019) Pantocin A, a peptide-derived
751 antibiotic involved in biological control by plant-associated *Pantoea* species. *Archives of*
752 *microbiology*, 201(6):713-722.
- 753
754 Stepanović S, Ćirković I, Ranin L, Švabić-Vlahović M (2004). Biofilm formation by
755 *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Letters in Applied*
756 *Microbiology*, 38: 428-432.
- 757
758 Tian Z, Liu R, Zhang H, Yang M, Zhang Y (2019) Developmental dynamics of antibiotic
759 resistome in aerobic biofilm microbiota treating wastewater under stepwise increasing
760 tige cycline concentrations. *Environment international*, 131: 105008.
- 761
762 Trentin DDS, Giordani RB, Zimmer KR, Silva AG, Silva MV, Correia MTS, Baumvol IJR,
763 Macedo AJ (2011) Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga)
764 against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. *Ethnopharmacol*,
765 137:327-335.
- 766
767 Viana FMP, Santos AA, Cardoso JE, Freire FCO, Lopes CA (2000) Surto da mancha-aquosa
768 em frutos de melão nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte: recomendações preliminares
769 de controle. EMBRAPA Agroindústria Tropical.
- 770
771 Visconti A, Zambonim FM, Mariguele KH, Lone AB (2017) Métodos alternativos para o
772 controle de fitopatógenos habitantes do solo: Parte II – controle biológico. *Agropecuária*
773 *Catarinense*, 30(3):33-36.
- 774
775 Wang X, Li G, Jiang D, Huang H (2009) Screening of plant epiphytic yeasts for biocontrol of
776 bacterial fruit blotch (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) of hami melon. *Biological Control*,
777 50: 164-171.
- 778

- 779 Ye T, Zhou T, Li Q, Xu X, Fan X, Zhang L, Chen S (2019) *Cupriavidus* sp. HN-2, a novel
780 quorum quenching bacterial isolate, is a potent biocontrol agent against *Xanthomonas*
781 *campestris* pv. *Campestris*. *Microorganisms*, 8: 45.
- 782
- 783 Walcott RR, Langston D, Gitaitis R, Gay D, Hopkins D, Kucharek T, Latin R, Egel D, Cook
784 K, Keinath A, Lovic B (2001) Guidelines for managing bacterial fruit blotch disease.
785 Disponível em: <<http://www.stalals.com/flyer.htm>> Acesso em: 24/09/2022.
- 786
- 787 Wechter WP, Levi A, Ling KS, Cousin C, Block CC (2011) Identification of resistance to
788 *Acidovorax avenae* subsp. *Citrulli* among melon (*Cucumis* spp.) plant introductions.
789 *HortScience*. 46: 207-212.
- 790
- 791 Zheng L, Zhang C, Wu X, Liu L, Zhang H (2021) Efficacy assessment of *Pantoea jilinensis*
792 D25 fermentation broth against *Botrytis cinerea*. *Process Biochemis*

Tabelas e Figuras

Tabela 1 – Plantas coletadas no bioma da Caatinga, no Município Canindé do São Francisco (Sergipe) e Parque Nacional do Catimbau em Buíque (Pernambuco), e número de isolados microbianos obtidos de cada espécie.

Espécie	Nome popular	Órgão vegetal	Número de Isolados
<i>Callisia cordifolia</i>	Engorda gado	Folha	3
<i>Bauhinia cheilantha</i>	Mororó	Folha	5
<i>Croton sonderianus</i>	Marmeleiro	Folha	4
<i>Mimosa tenuiflora</i>	Jurema Preta	Folha	3
<i>Schinopsis brasiliensis</i>	Baraúna	Folha	2
<i>Anadenanthera colubrina</i>	Angico monjolo	Folha	5
<i>Calatropis procera</i>	Algodão de Ceda	Folha	3
<i>Jatropha gossypifolia</i>	Pião-roxo	Folha	2
<i>Croton heliotropiifolius</i>	Velame	Folha	6
<i>Eugenia brejoensis</i>	Cutia	Ramo	2
<i>Waltheria indica</i>	Malva Branca	Flor	3
<i>Murraya paniculata</i>	Murta-de-cheiro	Folha	8
<i>Piptadenia stipulacea</i>	Jurema Branca	Ramo	3
<i>Herissantia tiubae</i>	Melabode	Folha	4
<i>Ziziphus joazeiro</i>	Juazeiro da Bahia	Folha	2
<i>Sideroxylon obtusifolium</i>	Quixabeira	Ramo	5
<i>Cenostigma pyramidale</i>	Catingueira	Folha	2
<i>Portulaca oleracea</i>	Beldroega	Flor	3
<i>Bromelia laciniosa</i>	Macanbirá	Folha	1
<i>Acacia glomerosa</i>	Espinheiro	Folha	3
<i>Capparis flexuosa</i>	Feijão Bravo	Folha	2
<i>Aspidosperma pyrifolium</i>	Pereiro	Folha	3
<i>Maytenus rigida</i>	Bom nome	Folha	1
<i>Bromelia laciniosa</i>	Macanbirá	Folha	2
<i>Myciasphaero carpam</i>	Cambuí	Folha	3
<i>Dillenia indica</i>	Maça do mato	Folha	3
<i>Myrtus communis</i>	Murta	Folha	6
<i>Urophyllum insulare</i>	Pau-caixão	Folha	4
<i>Algrizea minor</i>	Algrizia	Folha	5

Tabela 2 - Proteção de plantas de meloeiro contra a infecção por *Acidovorax citrulli* pela pulverização de bactérias e leveduras obtidas de plantas da Caatinga, em casa de vegetação.

Isolado ^a	PI ^b	SEV	AACPD
CCRMIP53	6±0,00 a ^c	0,75±0,14 ^e a	62,50±15,6 a
CCRMIP108	6±0,00 a	1,50±0,00 a	91,67±0,00 a
CCRMIP08	6±0,00 a	1,50±0,00 a	91,67±0,00 a
CCRMIP70	4±0,00 c	1,50±0,00 a	125,0±0,00 a
CCRMIP16	6±0,00 a	1,50±0,00 a	100,0±7,81 a
CCRMMF151	5±0,57 b	1,50±0,00 a	116,6±13,5 a
CCRMMF133	4±0,00 c	1,50±0,00 a	125,0±0,00 a
CCRMMF138	6±0,00 a	1,50±0,00 a	91,67±0,00 a
CCRMIP01	6±0,00 a	1,50±0,00 a	125,0±15,6 a
CCRMIP83	4 ±0,00 c	1,62±0,12 a	152,1±21,8 a
CCRMLMA1*	6±0,00 a	1,62±0,12 a	110,4±15,6 a
CCRMIP27	4,5±0,50 c	1,62±0,12 a	152,1±18,7 a
CCRMIP41	6±0,00 a	1,62±0,12 a	110,4±15,6 a
CCRMIP72	5±0,57 b	1,62±0,12 a	131,2±27,0 a
CCRMMF132	4±0,00 c	1,62±0,12 a	160,4±10,4 a
CCRMMF146	5±0,57 b	1,62±0,12 a	139,5±36,9 a
CCRMIP89	6±0,00 a	1,75±0,14 a	137,5±15,6 a
CCRMMF149	4±0,00 c	1,75±0,14 a	162,5±20,8 a
CCRMIP35	4±0,00 c	1,75±0,14 a	162,5±10,4 a
CCRMMF154	4±0,00 c	1,75±0,14 a	179,1±11,6 b
CCRMIP87	5±0,57 b	1,75±0,25 a	141,6±30,7 a
CCRMMF152	4±0,00 c	1,75±0,14 a	162,5±31,2 a
CCRMIP03	2±0,00 e	1,87±0,12 a	214,6±13,5 b
CCRMIP76	4,5±0,50 c	2,00±0,00a	191,6±6,25 b
CCRMIP49	4±0,00 c	2,00±0,20 a	175,0±26,1 b
CCRMIP21	5,5±0,50 b	2,12±0,12 a	110,4±18,2 a
CCRMMF144	4±0,00 c	2,12±0,12 a	177,0±20,8 b
CCRMIP102	3,5±0,50 c	2,12±0,24 a	187,5±21,3 b
CCRMIP47	6±0,00 a	2,25±0,25 b	187,5±15,6 b
CCRMIP61	4±0,00 c	2,25±0,14 b	170,8±20,8 b
CCRMIP62	4,5±0,50 c	2,25±0,14 b	129,2±31,2 a
CCRMIP106	4±0,00 c	2,25±0,25 b	154,2±10,4 a
CCRMMF128	4,5±0,50 c	2,25±0,14 b	170,8±20,8 b
CCRMIP84	4±0,00 c	2,37±0,24 b	239,6±11,4 b
CCRMIP10	6±0,00 a	2,37±0,24 b	189,6±23,4 b
CCRMMF157	6±0,00 a	2,37±0,24 b	156,3±34,4 a
CCRMMF135	3,5±0,00 c	2,37±0,24 b	214,6±36,6 b
CCRMMF123	2±0,00 e	2,50±0,29 b	255,5±69,3 c
CCRMIP17	4±0,00 c	2,62±0,12 b	143,7±5,73 a
CCRMMF122	2±0,00 e	2,62±0,24 b	308,3±29,2 d
CCRMMF126	4±0,00 c	2,62±0,24 b	239,6±34,4 b
CCRMIP14	6±0,00 a	2,75±0,14 c	195,8±30,2 b
CCRMIP04	6±0,00 a	2,75±0,32 c	204,1±23,4 b
CCRMIP73	4±0,00 c	2,75±0,48 c	216,6±25,0 b
CCRMIP31	5,5±0,50 b	2,75±0,14 c	129,2±28,1 b
CCRMMF159	3,5±1,00 c	2,75±0,14 c	245,8±30,1 b
CCRMMF148	4,5±0,50 c	2,75±0,14 c	195,8±10,4 b

CCRMMF124	2±0,00 e	2,87±0,12 c	288,8±37,5 d
CCRMMF127	4±0,00 c	3,00±0,00 c	241,7±2,500 b
CCRMIP99	2±0,00 e	3,12±0,37 c	333,3±26,5 d
CCRMMF147	3±0,57 e	3,12±0,12 c	252,0±41,7 c
CCRMIP65	3,5±0,50 c	3,12±0,12 c	213,8±56,8 c
CCRMMF140	3±0,57 d	3,12±0,12 c	243,7±32,8 b
CCRMMF158	4,5±0,50 c	3,12±0,12 c	227,1±33,3 b
CCRMMF160	3±1,00 d	3,25±0,14 d	419,4±71,9 e
CCRMIP92	4,5±0,50 c	3,25±0,14 d	302,7±41,1 d
CCRMMF141	2±0,00 e	3,25±0,14 d	283,3±56,2 d
CCRMMF145	4±0,00 c	3,37±0,12 d	230,5±23,9 c
CCRMMF136	6±0,00 a	3,37±0,12 d	291,6±7,81 d
CCRMMF156	4±0,00 c	3,37±0,12 d	325,0±17,2 d
CCRMIP64	4±0,00 c	3,37±0,24 d	291,6±17,2 d
CCRMMF137	4±0,00 c	3,50±0,20 d	236,1±28,1 c
CCRMIP107	6±0,00 a	3,50±0,20 d	241,7±22,9 b
CCRMIP98	2±0,00 e	3,50±0,20 d	347,2±38,5 d
CCRMMF139	4±0,00 c	3,75±0,14 d	208,3±23,4 c
CCRMIP113	4±0,00 c	3,75±0,25 d	330,5±14,6 d
CCRMIP109	4±0,00 c	3,75±0,14 d	316,6±10,9 d
CCRMMF161	4±0,00 c	3,75±0,14 d	336,1±19,8 d
CCRMMF153	2±0,00 e	3,75±0,14 d	247,2±15,6 c
CCRMIP96	4±0,00 c	3,87±0,12 e	238,8±14,6 c
CCRMIP77	2±0,00 e	3,87±0,24 e	347,2±42,7 d
CCRMIP111	2,5±0,50 d	4,00±0,29 e	258,3±33,3 c
CCRMMF131	4±0,00 c	4,12±0,12 e	266,6±16,7 d
CCRMIP13	2±0,00 e	4,12±0,31 e	280,5±3,65 d
Casugamicina*	4±0,00 c	4,25±0,25 e	372,2±13,5 d
CCRMIP15	2±0,00 e	4,25±0,14 e	375,0±14,1 d
CCRMIP74	3±1,00 d	4,25±0,25 e	397,2±67,7 d
CCRMIP11	2±0,00 e	4,25±0,25 e	438,8±50,0 e
CCRMIP32	6±0,00 a	4,25±0,14 e	237,5±10,9 b
CCRMIP112	3±0,57 d	4,25±0,14 e	455,5±54,2 e
CCRMIP05	3±0,57 d	4,37±0,37 e	241,6±68,7 c
CCRMIP71	4±0,00 c	4,37±0,24 e	327,7±19,8 d
CCRMMF120	4,5±0,50 c	4,50±0,20 f	252,7±32,3 c
CCRMIP69	2±0,00 e	4,62±0,31 f	291,6±71,9 d
CCRMIP07	5±0,57 b	4,62±0,12 f	247,2±40,6 c
CCRMIP104	2±0,00 e	4,62±0,24 f	480,5±38,5 e
CCRMIP42	2,5±0,50 d	4,75±0,14 f	427,7±64,6 e
CCRMIP22	2±0,00 e	4,75±0,59 f	294,4±55,2 d
CCRMIP29	2±0,00 e	4,75±0,25 f	272,2±37,5 d
CCRMMF155	4±0,00 c	4,87±0,12 f	186,1±58,3 c
CCRMMF142	2±0,00 e	4,87±0,24 f	316,6±36,5 d
CCRMIP09	4±0,00 c	4,87±0,43 f	330,5±26,0 d
CCRMIP12	4±0,00 c	5,12±0,38 g	191,6±46,9 c
CCRMIP55	4±0,00 c	5,12±0,32 g	338,8±41,7 d
CCRMIP24	2±0,00 e	5,12±0,24 g	447,2±38,5 e
CCRMIP28	2±0,00 e	5,25±0,25 g	416,6±28,1 e
CCRMMF143	4,5±0,50 c	5,50±0,20 h	338,8±41,7 d
Controle	2±0,00 e	5,62±0,24 h	580,5±27,6 f

CCRMIP19	2±0,00 e	5,62±0,12 h	583,3±20,3 f
CCRMIP06	2±0,00 e	5,75±0,14 h	655,5±25,0f
CV %	15,4	13,20	28,94

^{a*} Levedura (CCRMLMA1, *Rhodotorula aurantiaca*) e antibiótico (Casugamicina, 400 mL 100 L⁻¹) utilizados como controles positivos;

^b PI = período de incubação; SEV = severidade da doença; AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD);

^c Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott- Knott ($P \leq 0,05\%$);

^d Erro padrão da média.

Tabela 3. Proteção de plantas de meloeiro contra a infecção por *Acidovorax citrulli* pela pulverização de bactérias e leveduras obtidas de plantas da Caatinga, em casa de vegetação.

Isolado^a	PI^b	SEVERIDADE	AACPD
CCRMLMA1*	5,00±0,57 a ^{cd}	0,87±0,24 ^e a	140,0±33,2 a
CCRMIP41	3,00±0,50 b	1,12±0,13 a	157,5±21,0 a
CCRMIP16	3,00±0,57 b	1,25±0,25 a	165,0±33,0 a
CCRMIP21	3,50±0,00 b	1,37±0,13 a	205,0±38,4 a
CCRMIP01	3,00±0,00 b	1,37±0,13 a	135,0±18,5 a
CCRMIP53	2,25±0,00 c	1,50±0,20 a	195,0±36,2 a
CCRMIP87	2,00±0,00 c	1,75±0,14 b	292,5±22,5 b
CCRMIP89	2,00±0,00 c	2,00±0,20 b	302,5±31,2 b
CCRMIP72	2,00±0,00 c	2,00±0,20 b	215,0±13,2 a
CCRMMF151	2,00±0,00 c	2,00±0,00 b	302,0±19,7 b
CCRMMF138	2,00±0,00 c	2,12±0,13 b	287,5±35,9 b
CCRMIP08	2,00±1,50 c	2,12±0,38 b	275,0±23,3 b
CCRMIP108	2,00±0,00 c	3,00±0,00 c	347,5±31,2 b
CCRMMF146	2,00±0,00 c	3,00±0,00 c	472,5±7,50 c
Casugamicina*	2,00±0,25 c	3,75±0,14 d	287,5±21,0 b
Controle	2,00±0,00 c	5,00±0,00 e	617,5±23,9 d
CV %	16,11	16,34	19,66

^a* Levedura (CCRMLMA1, *Rhodotorula aurantiaca*) e antibiótico (Casugamicina, 400 mL 100 L⁻¹) utilizados como controles positivos;

^b PI = período de incubação; SEV = severidade da doença; AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD);

^c Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott- Knott ($P \leq 0,05\%$);

^d Dados de PI transformados em $\sqrt{x+0,5}$;

^e Erro padrão da média.

Tabela 4. Proteção de plântulas de meloeiro contra a infecção por *Acidovorax citrulli* pelo tratamento de sementes com bactérias e leveduras obtidas de plantas da Caatinga, em casa de vegetação.

Isolado ^a	PI ^b	SEVERIDADE	AACPD ^y
CCRMLMA1*	5,25±0,00 a ^c	1,43±0,00 a ^e	114,58±6,25 a
CCRMIP21	5,00±0,00 a	1,87±0,29 a	130,20±2,41 a
CCRMIP01	4,50±0,00 a	2,00 ±0,14 a	97,917±3,61 a
CCRMIP41	4,50±0,00 a	2,37±0,29 b	133,33±7,22 a
CCRMIP16	5,00±0,00 a	2,43±0,47 b	149,47±24,3 a
CCRMIP08	3,50±0,00 b	2,43±0,20 b	132,29±5,10 a
CCRMIP53	4,75±0,00 a	2,50±0,14 b	144,79±15,3 a
CCRMMF138	3,50±0,00 b	3,00±0,00 b	158,33±10,2 a
CCRMIP89	3,75±0,00 b	3,50±0,24 c	173,43±13,9 b
CCRMMF151	3,50±0,00 b	3,50±0,29 c	182,29±15,7 b
CCRMIP108	3,00±0,00 c	3,87±0,00 c	227,08±2,08 b
CCRMMF146	4,00±0,00 b	3,87±0,37 c	204,68±13,9 b
CCRMIP72	3,50±0,00 b	3,93±0,00 c	190,10±6,25 b
CCRMIP87	3,75±0,00 b	4,00±0,12 c	186,97±7,86 b
Casugamicina*	3,00±0,00 c	4,06±0,00 c	206,25±6,25 b
Controle	2,25±0,00 d	5,00±0,00 d	293,75±0,00 c
CV %	15,14	23,33	29,10

^a* Levedura (CCRMLMA1, *Rhodotorula aurantiaca*) e antibiótico (Casugamicina, 400 mL 100 L⁻¹) utilizados como controles positivos;

^b PI = período de incubação; SEV = severidade da doença; AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD);

^c Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott- Knott ($P \leq 0,05\%$);

^e Erro padrão da média.

Tabela 5 - Efeito de bactérias e leveduras obtidas de plantas da Caatinga no controle da mancha aquosa em sementes infectadas com *Acidovorax citrulli*, em casa de vegetação.

Isolado^a	PI^b	SEVERIDADE	AACPD
CCRMIP21	4,30±0,36 a ^{cd}	0,80±0,15 ^e a	73,50±10,3 a
CCRMIP41	4,40±0,30 a	0,90±0,15 a	104,0±6,62 a
CCRMIP01	4,60±0,48 a	0,92±0,15 a	88,00±10,8 a
CCRMIP16	4,10±0,39 a	0,97±0,15 a	110,0±10,3 a
CCRMLMA1*	4,05±0,40 a	0,97±0,15 a	86,50±9,67 a
CCRMIP08	3,00±0,00 b	1,60±0,12 b	140,0±8,71 b
CCRMIP53	2,65±0,39 b	1,70±0,13 c	121,5±11,2 b
CCRMMF138	2,95±0,00 b	2,10±0,19 c	141,0±15,1 b
CCRMIP108	3,65±0,36 a	2,22±0,19 c	143,5±10,9 b
CCRMMF151	3,05±0,40 b	2,25±0,31 c	134,5±19,8 b
CCRMIP89	4,10±0,10 a	2,32±0,36 c	126,0±20,7 b
CCRMIP72	2,80±0,00 b	2,47±0,17 c	152,5±11,7 b
CCRMMF146	2,80±0,30 b	2,50±0,39 c	147,5±33,2 b
CCRMIP87	3,55±0,00 a	2,70±0,21 c	149,0±14,3 b
Casugamicina*	2,70±0,10 b	3,40±0,36 d	202,0±25,2 c
Controle	2,50±0,00 b	4,47±0,19 e	284,0±29,6 d
CV %	16,40	24,98	20,50

^{a*} Levedura (CCRMLMA1, *Rhodotorula aurantiaca*) e antibiótico (Casugamicina, 400 mL 100 L⁻¹) utilizados como controles positivos;

^b PI = período de incubação; SEV = severidade da doença; AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD);

^c Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott- Knott ($P \leq 0,05\%$);

^d Dados de PI, SEV e AACPD foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$;

^e Erro padrão da média.

Tabela 6 - Capacidade de produção de biofilme por isolados de leveduras e bactérias obtidas de plantas da Caatinga e *Acidovorax citrulli*, em placas de microtitulação de poliestireno.

Meio de Cultura	Bactéria		Levedura		Patógeno
	CCRMIP01	CCRMIP16	CCRMIP21	CCRMIP41	<i>A. citrulli</i>
NYD	FP ^a	MP	FP	FP	FrP
LB	NP	FrP	-	-	MP
KADO	MP	FP	-	-	FrP
YDC	FP	MP	-	-	FrP
YEPD	- ^b	-	FP	FP	-
TS	-	-	FP	FP	-
SD	-	-	FP	FP	-

^a Classificação quanto a produção de biofilme (Stepanovic et al. 2000): NP= não produtor, FrP= fraco produtor, MP= Moderado produtor e FP= forte produtor.

^b Meio de cultura não avaliado (-).

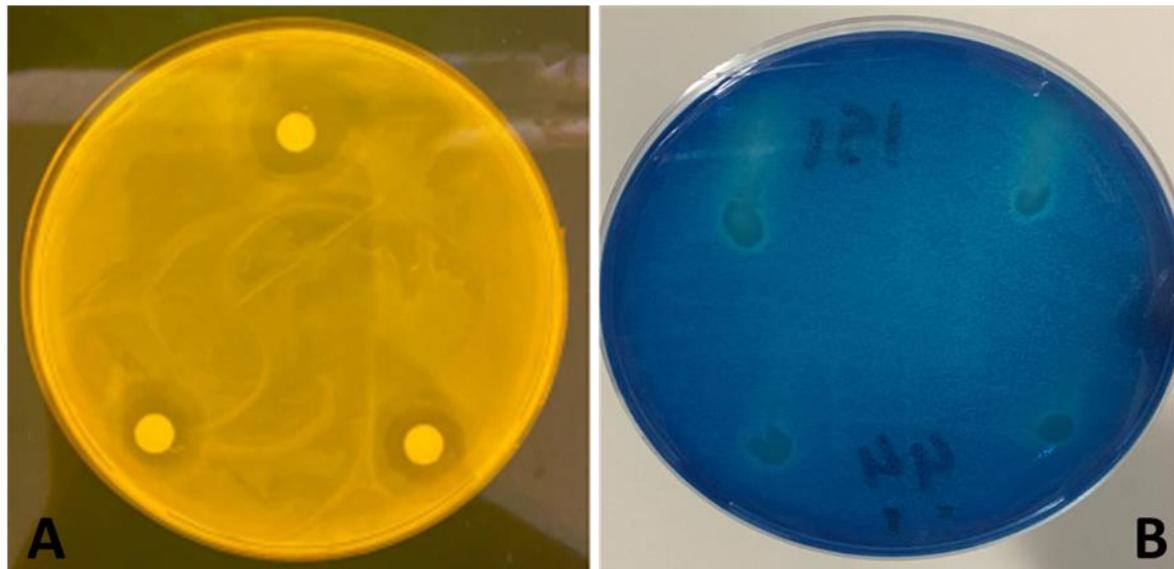


Figura 1 - Inibição do crescimento de *Acidovorax citrulli* devido a produção de antibiótico pela bactéria CCRMIP01 (A) e atividade Killer da levedura CCRMIP21 contra *Kodamaea ohmeri* (levedura sensível).

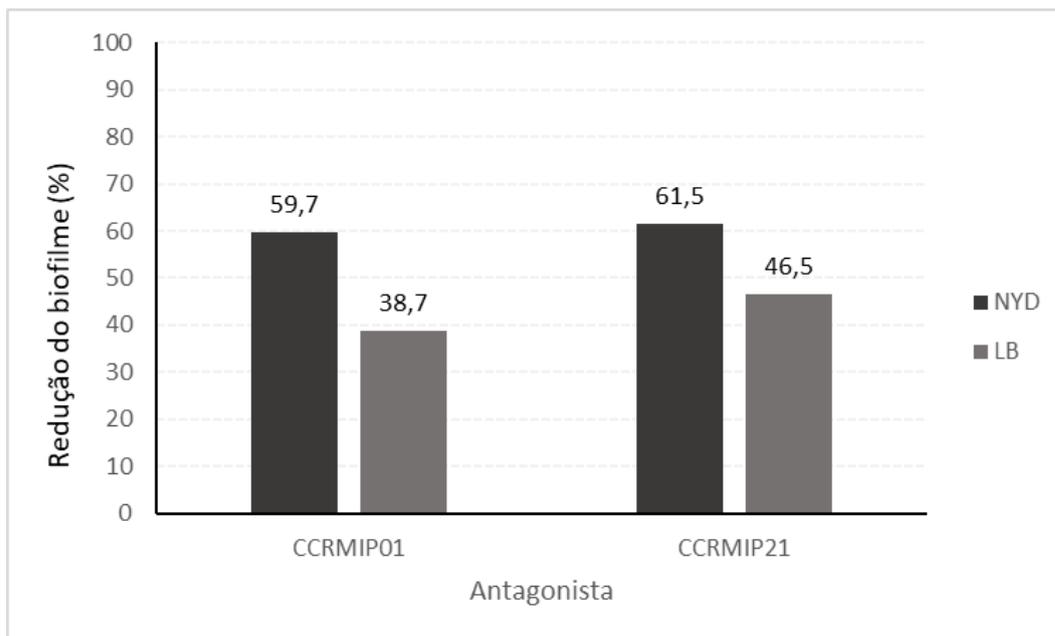


Figura 2 - Atividade de *quorum quenching* da bactéria *Pantoea* sp. (CCRMIP01) e da levedura *Rhodospiridiobolus* sp. (CCRMIP21), obtidas de plantas da Caatinga, na redução da produção de biofilme por *Acidovorax citrulli*.

CONCLUSÕES GERAIS



CONCLUSÕES GERAIS

- Dos 98 isolados de microrganismos obtidos de plantas da Caatinga, os isolados CCRMIP01 e CCRMIP21, foram os mais eficientes no controle da mancha aquosa pela proteção conferida às plantas e plântulas e pelo tratamento de sementes contaminadas com *Acidovorax citrulli*;
- Antibiose, formação de biofilme e atividade *quorum quenching* são os mecanismos de ação apresentados pela bactéria CCRMIP01 e pela levedura CCRMIP21 no controle de *A. citrulli*, além da atividade *Killer* pelo isolado CCRMIP21;
- O isolado CCRMIP01 pertence ao gênero *Pantoea* sp. e o isolado CCRMIP21, a espécie *Rhodospiridiobolus fluvialis*, sendo este o primeiro relato de uma espécie de *Rhodospiridiobolus* como agente de biocontrole;
- As plantas do bioma da Caatinga mostraram ser uma nova fonte de microrganismos antagonistas para o controle de fitobacterioses.