



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
DOUTORADO EM FITOTECNIA

ANDREZZA KLYVIA OLIVEIRA DE ARAÚJO

**PATOGENICIDADE DE *Monosporascus* spp. E EFEITO DE
INDUTORES DE RESISTÊNCIA EM MELOEIRO**

MOSSORÓ

2021

ANDREZZA KLYVIA OLIVEIRA DE ARAÚJO

**PATOGENICIDADE DE *Monosporascus* spp. E EFEITO DE
INDUTORES DE RESISTÊNCIA EM MELOEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutora em Agronomia: Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Fitopatologia

Orientador: Prof. Dr. Rui Sales Junior

Co-orientadora: Prof^a Dra. Andréia Mitsa Paiva Negreiros

MOSSORÓ

2021

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Araújo, Andrezza Klyvia Oliveira.
Patogenicidade de *Monosporascus*
spp. e efeito de indutores de resistência em
meloeiro/
Andrezza Klyvia Oliveira Araújo. -
2021. 73 f. : il.
Orientadora: Rui Sales Júnior
Sales Junior. Coorientadora: Andréia Mitsa Paiva
Negreiros
Negreiros.
Tese (Doutorado) - Universidade
Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-
graduação em Fitotecnia, 2021.
1. Produtos sintéticos. 2.
Elicidores. 3. Curcubitaceae. I. Sales Junior,
Rui Sales Júnior, orient. II. Negreiros, Andréia

ANDREZZA KLYVIA OLIVEIRA DE ARAÚJO

**PATOGENICIDADE DE *Monosporascus* spp. E EFEITO DE
INDUTORES DE RESISTÊNCIA EM MELOEIRO**

Tese apresentada ao Doutorado em Fitotecnia do
Programa de Pós - Graduação em Fitotecnia da
Universidade Federal Rural do Semi - Árido,
como requisito para obtenção do título de Doutora
em Agronomia:

Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Fitopatologia

Defendida em: 27/ agosto / 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rui Sales Júnior
(UFERSA) Presidente

Prof.^a Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio
(UFERSA) Membro Examinador

Prof.^a Dra. Andréia Mitsa Paiva Negreiros
(UFERSA) Membro Examinador

Prof.^a Dra. Naama Jéssica de Assis Melo
(UFERSA) Membro Examinador

Prof.^a Dra. Kamila Câmara Correia
(UFCA) Membro Examinador

Prof.^a Dra. Elania Clementino Fernandes
(UFERSA) Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo imensurável amor, misericórdia e cuidado durante esta jornada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Ruraldo Semi-Árido - UFERSA, pela oportunidade de acesso ao ensino público de qualidade.

Ao Professor Dr. Sc. Rui Sales Júnior, orientador, pelos ensinamentos.

À Professora Dra. Andréia Mitsa Paiva Negreiros pelo empenho, tempo dedicado, ensinamento e amizade, foram essenciais para o projeto e para mim.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos durante todo meu doutorado.

A técnica do laboratório de Fitopatologia II - UFERSA, na pessoa da Dra. Naama Jessica de Assis Melo, muito obrigado pela amizade.

Aos amigos, Engenheiro agrônomo Thomaz Rauan e Mestre Wallyson Lima, pela ajuda no desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação profissional.

À minha mãe que me proporcionou uma vida digna, onde eu pudesse crescer, acreditando que tudo é possível, desde que sejamos honestos e íntegros de caráter. Sem eles nada disso seria possível.

RESUMO

Monosporascus, considerado principal patógeno radicular, está associado à “podridão de raízes e declínio de ramas em meloeiro” – PRDR, que causam prejuízos na produção de meloeiro amarelo. Para combater o fungo, as plantas podem desenvolver uma resistência ao ataque de patógeno, através de respostas bioquímicas ou fisiológicas, podendo ser proteínas relacionadas à patogênese (quitinase e β -1,3-glucanase) e enzimas envolvidas na rota dos fenilpropanóides, como a fenilalanina amônia-liase (FAL). Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o uso dos produtos Bion[®], Biobacter[®] e Unique[®] em meloeiro amarelo para as novas espécies de *Monosporascus*, bem como o conhecimento básico da patogenicidade destas novas espécies. Para o experimento foram utilizadas seis espécies de *Monosporascus*, (*M. cannonballus*, *M. brasiliensis*, *M. caatinguensis*, *M. mossoroensis*, *M. nordestinus* e *M. semiaridus*), inoculadas em vasos com solo contendo plântulas de meloeiro tratadas em pré e pós-semeadas. Para o experimento de indução de resistência, utilizou-se três plântulas e uma plântula, para o experimento de patogenicidade. No experimento de patogenicidade, foram avaliadas as seguintes variáveis: severidade e incidência da doença, comprimento da aérea (CPA) e do sistema radicular (CSR) e massa fresca da parte aérea (MFPA) e do sistema radicular (MFSR). Para indução de resistência em meloeiro, foram avaliados: incidência, severidade, CSR e CPA, MSSR e MSPA, MFSR e MFPA e atividade enzimática. Todas as espécies de *Monosporascus* ocasionaram doença em meloeiro, sendo as espécies *M. cannonballus* e *M. brasiliensis* as mais agressivas a cultura. Em contrapartida, *M. caatinguensis* foi o menos agressivo para o patossistema em estudo. O *M. semiaridus* induziu maior atividade das enzimas quitinase, β -1,3-glucanases e FAL, em plantas de meloeiro, em relação às outras espécies estudadas, ocorrendo uma redução na incidência e severidade da doença. Os produtos comerciais utilizados influenciaram positivamente, aumentando a atividade das enzimas quitinase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanases e, conseqüentemente, favoreceram a redução da incidência e severidade, que por sua vez foram benéficos para manter o desempenho nas características físicas.

Palavras-chave: Produtos sintéticos, Elicidores, Curcubitaceae.

ABSTRACT

Monosporascus, considered the main root pathogen, is associated with “root rot and vine decline in melon” – RRVD, where they cause damage in the production of yellow melon. To combat the fungus, plants can develop resistance to pathogen attack, such as biochemical or physiological responses, which may be proteins related to pathogenesis (chitinase and β -1,3-glucanase), and enzymes involved in the phenylpropanoid pathway, such as phenylalanine ammonia lyase (PAL). Thus, the objective of this research was to evaluate the use of Bion®, Biobacter® and Unique® products in yellow melon for the new species of *Monosporascus*, as well as basic knowledge of the pathogenicity of these new species. Six species of *Monosporascus* were used for the experiment, (*M. cannonballus*, *M. brasiliensis*, *M. caatinguensis*, *M. mossoroensis*, *M. nordestinus* and *M. semiaridus*), inoculated in pots with soil containing melon seedlings treated in pre and post-sown, for resistance induction, three seedlings and one seedling were used for pathogenicity experiment. In the pathogenicity experiment, the following variables were evaluated: disease severity and incidence, shoot length and root length and shoot fresh weight and root fresh weight. For induction of resistance in melon plants, incidence, severity, shoot length and root length and shoot fresh weight and root fresh weight, and also their dry weight. Enzymatic activity were evaluated as well. All species of *Monosporascus* caused disease in melon plants, with the species *M. cannonballus* and *M. brasiliensis* being the most aggressive to the crop. On the other hand, *M. caatinguensis* was the least aggressive for the pathosystem under study. *M. semiaridus* induced greater activity of chitinase, β -1,3-glucanases and PAL enzymes in melon plants, compared to the other species studied, with a reduction in the incidence and severity of the disease. The commercial products used had a positive influence, increasing the activity of the enzymes chitinase, phenylalanine ammonia-lyase and β -1,3-glucanases, and consequently favored the reduction of incidence and severity, which in turn were beneficial to maintain performance in physical characteristics.

Keywords: Synthetic products, Elicitors, *Curcubitaceae*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Incidência da doença causada pelas espécies de <i>Monosporascus</i> em meloeiro, em resposta a aplicação dos produtos comerciais Bion [®] , Biobacter [®] eUnique [®]	48
Figura 2	– Severidade da doença das espécies de <i>Monosporascus</i> em meloeiro, em resposta à aplicação dos produtos comerciais Bion [®] , Biobacter [®] e Unique [®]	49
Figura 3	– Atividade enzimática da quitinase, em raízes de Meloeiro, inoculados com espécies de <i>Monosporascus</i> em resposta a aplicação dos produtos comerciais Bion [®] (a), Biobacter [®] (b) e Unique [®] (c).....	59
Figura 4	– Atividade enzimática da β -1,3-glucanase, em raízes de meloeiro, inoculados com espécies de <i>Monosporascus</i> em resposta a aplicação dos produtos comerciais Bion [®] , Biobacter [®] e Unique [®]	61
Figura 5	– Atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase, em raízes de meloeiro, inoculados com espécies de <i>Monosporascus</i> em resposta a aplicação dos produtos comerciais Bion [®] (a), Biobacter [®] (b) e Unique [®] (c).....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Reação do meloeiro ‘Goldex’ à inoculação de diferentes espécies de <i>Monosporascus</i> nas variáveis severidade, incidência da doença, comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CSR) e massa fresca da raiz (MFR) e da parte aérea (MFPA).....	29
Tabela 2	– Efeito dos produtos comerciais nas variáveis morfológicas do meloeiro.....	52
Tabela 3	– Influência de espécies de <i>Monosporascus</i> nas variáveis morfológicas do meloeiro.....	54
Tabela 4	– Influência dos produtos comerciais e das espécies de <i>Monosporascus</i> nas variáveis morfológicas do meloeiro.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA	Batata dextrose ágar
BOD	Biochemical <i>Oxygen Demand</i>
CPA	Comprimento de Parte Aérea
CSR	Comprimento do Sistema Radicular
CMM	Coleção Maria Menezes
DAS	Dias após a semeadura
DNS	Dinitrosalicílico
EDTA	Etilenodiamino tetra-acético
FAO	Food and Agriculture Organization
FAL	Fenilalanina amônialiase
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MFPA	Massa Fresca da Parte Aérea
MFSR	Massa Fresca Sistema Radicular
MSPA	Massa Seca da Parte Aérea
MSSR	Massa Seca Sistema Radicular
PRMDR	Podridão de raízes por <i>Monosporascus</i> e declínio de ramas
PRDR	Podridão de Raízes e Declínio de Ramas em Meloeiro
PVPP	Polivinilpolipirrolidona
SAR	Resistência Sistêmica Adquirida

LISTA DE SÍMBOLOS

- @ Arroba
- © Copyright
- ® Marca registrada
- % Porcentagem

SUMÁRIO

	CAPÍTULO I.....	16
1	INTRODUÇÃO GERAL.....	16
	REFERÊNCIAS.....	20
	CAPÍTULO II - REAÇÃO DO MELOEIRO À <i>Monosporascus</i> spp	22
	Resumo	22
	Abstract	23
1	INTRODUÇÃO	24
2	MATERIAIS E METODOS.....	26
2.1	Preparo do Inóculo	26
2.2	Montagem do Experimento	27
2.3	Avaliações do experimento.....	28
2.4	Análise estatística.....	28
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4	CONCLUSÃO	32
	REFERÊNCIAS	34
	CAPÍTULO III - INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MELOEIRO	40
	CONTRA ESPÉCIES DE <i>Monosporascus</i>.....	
	Resumo	40
	Abstract	41
1	INTRODUÇÃO	42
2	MATERIAIS E METODOS.....	44
2.1	Preparo do Inoculo	44
2.2	Montagem do Experimento	45
2.3	Aplicação dos Produtos Sintéticos	45
2.4	Avaliações do experimento	46
2.5	Análises Enzimáticas.....	46
2.5.1	Preparo de extrato enzimático e extração de proteínas.....	46
2.5.2	β-1,3-glucanases.....	47
2.5.3	Quitinase.....	47
2.5.4	Fenilalanina amônia-liase.....	48
2.6	Análise Estatística.....	48

3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.1	Incidência e severidade da doença.....	48
3.2	Influência dos produtos e espécies de <i>Monosporascus</i> SPP nas variáveis morfológicas do meloeiro.....	52
3.3	Influência dos produtos comerciais no aumento da produção enzimática.....	60
4	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAL	66

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

Uma das principais causas da redução da produtividade, em culturas de interesse econômico, encontra-se vinculada a fungos habitantes do solo que ocasionam doenças radiculares em plantas e que podem ser encontrados em todas as regiões de cultivo no Brasil. Não obstante, outros microrganismos, como oomicetos, bactérias, nematóides e vírus, podem estar envolvidos nos processos de patogênese, (HILLOCKS e WALLER, 1997; CORREIA e MICHEREFF, 2018; KATAN, 2017).

Dentre as enfermidades ocasionadas por fungos, podemos citar um grupo de doenças conhecido como declínio de ramas (BRUTON et al., 1998), podridão de raízes (UEMATSU e SEKIYAMA, 1990), colapso ou morte súbita do meloeiro (ALFARO et al., 1993) e, mais recentemente, podridão de raízes e declínio de ramas (PRDR) (COHEN et al., 2011; MARTYN e MILLER, 1996; NEGREIROS et al., 2019), sendo responsáveis por limitar a produção de melão (*Cucumis melo* L.) em diversos países (SALES JÚNIOR et al., 2003).

O agente causal desta doença é o fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker, um dos principais agentes fitopatógenos associados à podridão de raízes por *Monosporascus* e declínio de ramas (PRMDR) em meloeiro, sendo relatado, até o presente momento, em 22 países, causando grandes perdas e reduzindo a produção do meloeiro (SALES JÚNIOR et al., 2003, 2004; COHEN et al., 2011; AL-MAWAALI et al., 2013; YAN et al., 2016; MARKAKIS et al., 2018; NEGREIROS et al., 2019).

Os sintomas do seu ataque em meloeiro incluem amarelecimento e morte das folhas mais velhas, com gradual declínio das ramas, seguidos de murcha e morte das plantas, na época próxima à formação dos frutos, podendo, em alguns casos, provocar perda total da cultura (MARTYN e MILLER, 1996). Com o ataque, as raízes apresentam coloração marrom que evoluem para podridão, ocasionando necrose do sistema radicular e perda de raízes secundárias e terciárias, tornando-se incapazes de absorver água e nutrientes (GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 2000; FITA et al., 2007).

Segundo Martyn e Miller (1996), *M. cannonballus* é um fungo termófilo (termotolerante) bem adaptado às condições semi-áridas e áridas, com temperatura ótima de crescimento variando entre 25 a 35 °C, sendo, no entanto, inibido em temperaturas

acima de 40 °C e abaixo de 15 °C. Entretanto, um isolado de *M. cannonballus*, oriundo da Líbia, obteve o seu ótimo de crescimento a 45 °C, tornando-se, dessa forma, considerado termotolerante (BRUTON et al., 1999; WOLFF, 2000; PIVONIA, 2002). De acordo com Pivonia et al. (2002), este caráter termotolerante pode indicar que este fungo é patogênico apenas em regiões quentes e saprofítico em regiões mais frias. Assim, levando em conta essa característica, a região Nordeste do Brasil se mostra como excelente ambiente para o desenvolvimento deste patógeno (REUVENI et al. 1983).

Até recentemente, havia cinco espécies pertencentes ao gênero *Monosporascus* descritas no mundo: *M. eutypoides* (Petra) von Arx (BEN SALEM et al., 2013; PETRAK e AHMAD, 1954), *M. monosporus* (Malloch & Cain) D. Hawksw. & Ciccar (MALLOCH e CAIN, 1971); *M. cannonballus* Pollack & Uecker (POLLACK e UECKER, 1974), *M. adenantherae* (S. D. & C. Ramesh) A. Pande (PATIL e RAMESH, 1987) e *M. ibericus* Collado, Ant. González, Stchigel, Guarro e Peláez (COLLADO et al., 2002). Não obstante, estudos filogenéticos e de caracteres morfológicos realizados em isolados de *Monosporascus*, provenientes de raízes de plantas daninhas (bredo - *Trianthema portulacastrum* L. e pega-pinto - *Boerhavia diffusa* L.), prevalentes em áreas de cultivo de cucurbitáceas, nos estados do Rio Grande do Norte – RN e Ceará – CE (Brasil), identificaram cinco novas espécies de *Monosporascus*: *M. brasiliensis* A. Negreiros, M. León, J. Armengol & R. Sales Júnior, *M. caatinguensis* A. Negreiros, M. León, J. Armengol & R. Sales Júnior; *M. mossoroensis* A. Negreiros, M. León, J. Armengol & R. Sales Júnior; *M. Nordestinus* A. Negreiros, M. León, J. Armengol & R. Sales Júnior, e *M. semiaridus* A. Negreiros, M. León, J. Armengol & R. Sales Júnior (NEGREIROS et al., 2019).

Para desenvolvermos estratégias de manejo da “podridão de raízes e declínio de ramas em meloeiro” – PRDR, foi essencial o conhecimento da variabilidade das populações de patógenos, através de estudos que envolvem a biologia do patógeno e a patogenicidade dos mesmos (BRUTON, 1999).

Com este conhecimento, podemos evitar o surgimento de populações resistentes, um problema que decorre devido do uso contínuo e indiscriminado de agrotóxicos, visto que o controle químico ainda é o mais utilizado (FONSECA et al., 2015).

A utilização irregular do controle químico tem ocasionado também problemas que vão desde desequilíbrios ambientais à contaminação de alimentos e intoxicação de seres humanos. Em decorrência destas práticas, a adoção de técnicas alternativas de controle de fitopatógenos se faz relevante. (FONSECA et al., 2015).

Dentre estas técnicas alternativas para controle de doenças, temos o uso de indutores de resistência, que exploram mecanismos de defesa em plantas, por agirem diretamente como moléculas sinalizadoras ou por induzirem a ativação de genes que codificam a síntese de fatores de resistência na planta (EL GHAOUTH et al., 1998).

O processo de indução de resistência de plantas contra patógenos está relacionado com a ativação de um conjunto diverso de mecanismos de defesa. A resposta envolve a transdução de sinais e ativação transcricional de numerosos genes relacionados à defesa e de enzimas pré-formadas para promover modificações específicas no metabolismo primário e secundário (CORDEIRO & SÁ, 1999).

Estes processos são desencadeados pela planta, iniciado pela certificação do patógeno, emitindo um sinal primário ou mensageiro que irá desencadear uma série de outros sinais e, por fim, ativa genes ligados à defesa ou aumento da atividade de enzimas importantes para reações de defesa (VAN LOON & VAN STRIEN, 1999).

Este reconhecimento, normalmente, se dá por meio da ligação de um elicitor, produzido pelo fitopatógeno, a um receptor presente na membrana plasmática da parede celular da célula vegetal. A partir desta ligação, ocorre a sinalização e a síntese de compostos de defesa (LABANCA, 2002).

Após o reconhecimento, a planta começa o processo de sinalização, onde recebe sinal primário (químico, bioquímico ou energético) que irá desencadear o início da resposta de defesa, por parte da planta, acionará genes relacionados ao processo de defesa no sítio de indução ou, sistemicamente, em locais mais distantes da planta, numa espécie de reação biológica em cadeia. (KUC, 1995; ROMEIRO, 2002; LABANCA, 2002).

A fase seguinte, após a sinalização, é o surgimento das respostas de defesa. Estas respostas são divididas em barreiras estruturais e em barreiras bioquímicas, podendo ser pré e pós-formados, isto é, existem antes da chegada do patógeno ou são ativados após sua chegada (EMBRAPA, 2008).

Dentre as barreiras estruturais pré-formadas, podemos citar fatores cutícula, tricomas estômatos e vasos condutores; para pós-formadas, temos lignificação, suberificação, formação de papilas e de camadas de abscisão, cortiça e tiloses. As barreiras bioquímicas pré-formadas envolvem a presença de fenóis, alcalóides, fototoxinas, glicosídeos cianogênicos e glicosídeos fenólicos e para as pós-formadas observamos o acúmulo de fitoalexinas, proteínas-PR, formação de radicais livres e ativação de enzimas (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

Dentre as enzimas ativadas, temos a fenilalanina amônia-liase, a qual atua na rota

dos fenilpropanóides, na síntese de compostos fenólicos, como as fitoalexinas e a síntese de lignina. Ainda temos β -1,3 glucanase e a quitinase, que são enzimas hidrolíticas que atuam na degradação da parede celular do patógeno, dificultando ou impedindo sua ação patogênica, bem como estão diretamente relacionadas à ativação da resistência (LABANCA, 2002; DURRAN e DONG, 2004).

Portanto, a resistência induzida consiste no aumento da resistência, por meio da utilização de agentes externos, sem qualquer alteração no genoma da planta (STADNIK, 2000), evitando ou atrasando a entrada de um microrganismo no interior da planta, bem como criando condições adversas para a colonização dos tecidos vegetais pelo mesmo (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo ter o conhecimento básico da patogenicidade das novas espécies de *Monosporascus* spp, bem como avaliar o efeito de indutores químicos de resistência em meloeiro.

REFERÊNCIAS

- AL-MAWAALI, Q. S. et al. Etiology, development and reaction of muskmelon to vine decline under arid conditions of Oman. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 52, n. 3, p. 457-465, Dez/2013.
- ALFARO, A. et al. Agentes asociados al "colapso del melón" en distintas zonas españolas. **Boletín de sanidad vegetal. Plagas**, v. 19, n. 3, p. 401-423, 1993.
- BEN SALEM, I. et al. *Monosporascus eutypoides*, a cause of root rot and vine decline in Tunisia, and evidence that *M. cannonballus* and *M. eutypoides* are distinct species. **Plant Disease**, v.97, n.7, p.37–743, Jun/ 2013.
- BRUTON, B. D. Soilborne diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: MCCREIGHT, J. (eds.). **Cucurbitaceae '98**. Alexandria: American Society for Horticultural Science Press, 1998.p. 143-166, 1998.
- BRUTON, B.D.; GARCÍA JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J. Análisis of the relationship between temperatura and vine declines caused by *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on muskmelon. **Subtropical Plant Science**, v. 51, p. 23-28. Jul/1999.
- COHEN, R. et al. Advances in the biology and management of *Monosporascus vine* decline and wilt of melons and other cucurbits. **Horticultural Reviews**, v. 39, p. 77-120, Jan/2011.
- CORDEIRO, M. C. R.; SÁ, M. de F. G. Biotecnologia e resistência a patógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 10, p. 34-39, Jan/1999
- COLLADO, J. et al. *Monosporascus ibericus* sp. nov., an endophytic ascomycete from plants on saline soils, with observations on the position of the genus based on sequence analysis of the 18S rDNA. **Mycological Research**, v.106, n. 1, p.118–127, Jan/2002.

CORREIA, K. C.; MICHEREFF, S. J. Fundamentos e desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. (Org.). **Desafios do Manejo de Doenças Radiculares Causadas por Fungos**. Recife: EdUFPRE, p. 1-16, 2018.

DURRAN, W. E.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance. *Annual Review of Phytopathology*, v. 42, n. 1, p.185-209, set/2004.

EL-GHAOUTH, A.; WILSON, C.L.; WISNIEWSKI, M. Ultrastructural and cytochemical aspects of the biological control of *Botrytis cinerea* by *Candida saitoana* in apple fruit. *Phytopathology*, v.88, n. 4, p.282-291, Abr/1998.

FONSECA, M. C. M.; LEHNER, M. D. S.; GONÇALVES, M. G.; JÚNIOR, P.; SILVA, A. F.; BONFIM, F. P. G. & PRADO, A. L. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, p.45-50, Mai/2015.

FITA, A., PICÓ, B., NUEZ, F. Melon roots under stress: melon vine decline. *Plant Stress*, Valência-Espanha, v. 1, p. 93- 104, May/2007.

GARCÍA-JIMÉNEZ, J. et al. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. *EPPO Bulletin*, v. 30, n.2, p.169-173, Jun/2000.

HILLOCKS, R. J.; WALLER, J. M. Soilborne diseases and their importance in tropical agriculture. In: HILLOCKS, R. J.; WALLER, J. M. (Eds.) **Soilborne diseases of Tropical Crops**. Wallingford. CAB International, p.3-16, .1997.

KATAN, J. Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. *Journal of Plant Pathology*, v. 99, n. 2, p. 305-315, Jan/2017.

KUC, J. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 33, p. 275- 297, Set/1995

LABANCA, E. R. G. Purificação parcial de elicitores presentes *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*). 2002. 118p. **Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2002.**

MALLOCH, D.; CAIN, R. F. New cleistothecial Sordariaceae and a new family, Coniochaetaceae. **Canadian Journal of Botany**, v. 49, n. 6, p. 869-880, Jun/1971.

MARKAKIS, E. A. et al. First report of root rot and vine decline of melon caused by *Monosporascus cannonballus* in Greece. **Plant Disease**, v. 102, n.5, p. 1036, Mai/2018.

MARTYN, R. D.; MILLER, M. E. *Monosporascus* root rot and vine decline: an emerging disease of melons worldwide. **Plant Disease**, v. 80, n. 7, p. 716- 725, Jan/1996.

NEGREIROS, A. M. P. et al. Prevalent weeds collected from cucurbit fields in Northeastern Brazil reveal new species diversity in the genus *Monosporascus*. **Annals of Applied Biology**, v. 174, n. 3, p. 349-363, 2019.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiros: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres. v. 1. N. 3, p. 417-453, 1995.

PATIL, S. D.; RAMESH, C. Notes on some fungi of *Pleosporaceae* (Loculoascomycetes) from Maharashtra (India). **Transactions of the Mycological Society of Japan**, v.28, n. 3, p.229–236, Jan/1987.

PETRAK, F.; AHMAD, S. Beiträge zur Pilzflora Pakistans. **Sydowia**, v.8, p.162–185, 1954.

PIVONIA, S. et al. Effect of soil temperature on disease development in melon plants infected by *Monosporascus cannonballus*. **Plant Pathology**, v. 51, n. 4, p. 472-479, Ago/2002.

POLLACK, F. G.; UECKER, F. A. *Monosporascus cannonballus* an unusual ascomycete in cantaloupe roots. **Mycologia**, v.66, n. 2, p.346–349, Jan/1974.

REUVENI, R.; KRIKUN J. E.; SHANI N. The role of *Monosporascus eutypoides* in a collapse of melon plants in an arid area of Israel. **Phytopathology**, v. 73, n. 9, p. 1223-1226, 1983.

ROMEIRO, R. S. ISR-SAR: Pesquisa com procariotas para indução de resistência em plantas a patógenos, na Universidade Federal de Viçosa. In: SIMPÓSIO DE BIOLOGIA MOLECULAR DA RESISTÊNCIA DE PLANTAS A PATÓGENOS, 1., 2002, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: UFLA, 2002. p. 87-119.

SALES JÚNIOR, R. et al. *Monosporascus cannonballus* agente causal do colapso em plantas de melão no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 567, Set-out/2003.

SALES JÚNIOR., R. et al. First report of *Monosporascus cannonballus* on melon in Brazil. **Plant Disease**, v. 88, n. 1, p.84, Jan/2004.

STADNIK, M. J. Indução de resistência a oídios. **Summa Phytopathologica**. v. 26, n. 1, p. 175-177. Jan/2000.

UEMATSU, S.; SEKIYAMA, K. Comparison of morphological characteristics and pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* Pollack and Uecker collected in Japan, distribution in melon plants with root rot symptoms, and survival in soils under laboratory conditions. **Soil Microorganisms**, n. 35, n. 1, p. 7-12, Jun/1990.

VAN LOON, L. C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiological and Molecular **Plant of Pathology**, v. 55, n. 2, p. 85-97, Ago/1999.

WOLFF, D. W. Evaluation of melon germplasm for resistance to *Monosporascus* root rot/vine decline symptom expression in melon (*Cucumis melo* L.). In: **Eucarpia meeting on cucurbit genetics and breeding. Cucurbits Toward**. p. 224-228, 2000.

YAN, L. Y. et al. First report of root rot and vine decline of melon caused by *Monosporascus cannonballus* in Eastern Mainland China. **Plant Disease**, St. Paul - EUA v. 100, n. 3, p. 651, Jan/2016.

CAPÍTULO II

REAÇÃO DO MELOEIRO À *Monosporascus* spp.

Resumo

O fungo *Monosporascus cannonballus* é um dos principais patógenos radiculares associados à “podridão de raízes e ao declínio de ramos em meloeiro” - PRDR. Estudos recentes de filogenia identificaram cinco novas espécies do gênero *Monosporascus* no mundo, presentes em áreas de produção de melão, associados a plantas daninhas, no Brasil. A compreensão da variabilidade patogênica das novas espécies de *Monosporascus* é um fator essencial para o desenvolvimento de estratégias, na gestão de doenças radiculares em meloeiro. Assim, o objetivo desta pesquisa é o conhecimento da patogenicidade das novas espécies de *Monosporascus* em meloeiro. Para o experimento de patogenicidade, foram avaliadas as seguintes variáveis: severidade e incidência da doença; comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CSR); e massa fresca da parte aérea (MFPA) e do sistema radicular (MFSR). Sementes de meloeiro amarelo ‘Goldex’ foram semeadas, em solo inoculado, com um isolado de referência de cada uma das seis espécies de *Monosporascus* (*M. brasiliensis*, *M. cannonballus*, *M. caatinguensis*, *M. mossoroensis*, *M. nordestinus* e *M. semiaridus*), acrescidas de uma testemunha absoluta. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e cinco repetições, sendo o mesmo realizado em duplicata. Cada parcela foi representada por um vaso contendo uma planta. Todas as espécies de *Monosporascus* inoculadas em meloeiro ocasionaram danos nas suas raízes, sendo as espécies *M. cannonballus* e *M. brasiliensis* as mais agressivas a cultura. Em contrapartida, *M. caatinguensis* ocasionou os menores índices para incidência e severidade da doença e os maiores valores para CPA, MFPA e MFR, sendo este considerado o menos agressivo para o patossistema em estudo.

Palavras-chave: Cucumis melo, declínio de ramos e podridão de raízes, inoculação, patogenicidade.

CHAPTER II

MELON REACTION TO *Monosporascus* spp.

Abstract

Fungus *Monosporascus cannonballus* is one of the main root pathogens associated with “root rot and vine decline in melon” - RRVD. Recent phylogeny studies have identified five new species of the genus *Monosporascus* in the world, present in areas of melon production, associated with weeds, in Brazil. Understanding the pathogenic variability of new species of *Monosporascus* is an essential factor for the development of strategies for the management of root diseases in melon. Thus, the objective of this work is to know the pathogenicity of new species of *Monosporascus* in melon. For the pathogenicity experiment, the following variables were evaluated: disease severity and incidence; shoot length and root length and shoot fresh weight and root fresh weight. 'Goldex' yellow melon seeds were sown in soil inoculated with a reference isolate of each of the six species of *Monosporascus* (*M. brasiliensis*, *M. cannonballus*, *M. caatinguensis*, *M. messoroensis*, *M. nordestinus* and *M. semiaridus*), plus an absolute witness. The experiment was carried out in a completely randomized design, with seven treatments and five replications, being the same carried out in duplicate. Each parcel was represented by a pot containing a plant. All species of *Monosporascus* inoculated on melon plants caused damage to its roots, with the species *M. cannonballus* and *M. brasiliensis* being the most aggressive to the crop. On the other hand, *M. caatinguensis* caused the lowest rates for disease incidence and severity, and the highest values for shoot length, shoot fresh weight and root fresh weight, being considered the least aggressive for the pathosystem under study.

Keywords: *Cucumis melo*, vine decline, inoculation.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de frutas e hortaliças do mundo (FAO, 2021), sendo o meloeiro a hortaliça de maior expressão econômica comercial na região Nordeste, com mais de 83,8% de sua produção concentrada nos estados do Rio Grande do Norte (RN), Ceará (CE) e Bahia (BA). O estado do RN é o maior produtor e exportador de melão do país, respondendo por 60,7% da produção nacional (IBGE, 2020).

Diante de todo o crescimento na área plantada com melão e os avanços tecnológicos usados na sua produção (sementes híbridas, irrigação por gotejamento, mulching etc.) nos principais estados produtores da região Nordeste brasileira, cabe destacar que inúmeros problemas de ordem biótica acometem essa cultura (fungos, bactérias, nematóides e vírus). Isso se deve, possivelmente, em função das condições climáticas da região, período de exploração do cultivo (contínuo e intensivo) e sem rotação de cultura. (DIAS-ARIEIRA, 2008; LOPES et al., 2008; FIGUEIREDO et al., 2017).

Dentre as enfermidades que acometem o meloeiro nos Estados do RN e CE, destacam-se aquelas produzidas por patógenos radiculares, tais como *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. e *Rhizoctonia solani* Kuhn (ANDRADE et al., 2005; SALES JÚNIOR et al., 2004, 2010). Todos esses fitopatógenos estão associados a uma enfermidade denominada “podridão de raízes e declínio de ramos” (PRDR), que têm como características o amarelecimento, murcha, seca e morte das plantas de meloeiro em momentos próximos a colheita (MARTYN e MILLER, 1996). Isso ocorre devido ao ataque desses fitopatógenos ao sistema radicular do meloeiro, levando a um apodrecimento das raízes, o que vem a ocasionar um desequilíbrio entre a demanda hídrica da planta e o aporte do suprimento de água pelas raízes (MARTYN e MILLER, 1996; BRUTON, 1998; GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 2000; BELTRÁN et al., 2006; COHEN et al., 2011).

Estudos indicam que *M. cannonballus* é um dos principais agentes da “podridão de raízes por *Monosporascus* e declínio de ramos” (PRMDR) em meloeiro e melanciaira (*Citrullus lanatus* [Thunb.] Matsum & Nakai), causando grandes perdas e reduzindo a sua produção (MARTYN e MILLER, 1996; BRUTON, 1998; GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 2000; SALES JÚNIOR et al., 2004; BELTRÁN et al., 2006; SALES JÚNIOR et al., 2010; COHEN et al., 2011).

Atualmente, *M. cannonballus* é relatado ocasionando doenças em meloeiro e melancia em 22 países (SALES JÚNIOR et al., 2004, 2010; COHEN et al., 2011; AL-MAWAALI et al., 2013; YAN et al., 2016; MARKAKIS et al., 2018). Trata-se de um fitopatógeno habitante do solo, termófilo com temperatura ótima de crescimento, variando entre 25 e 35 °C, adaptado a regiões de climas quentes, de características áridas e semiáridas (com solos salinos ou alcalinos, alta luminosidade, baixos índices pluviométricos e reduzida umidade relativa do ar) (MARTYN e MILLER, 1996; COHEN et al., 2011; CELIN, 2014). Diante dessas características de adaptabilidade, as condições climáticas do semiárido brasileiro se apresentam favoráveis ao desenvolvimento deste patógeno (ALVARES et al., 2014). Estudos desenvolvidos por Pivonia et al. (2002) e Stanghellini et al. (2004) demonstraram que temperaturas mais elevadas favorecem a penetração das hifas de *M. cannonballus* nas raízes de meloeiro, sendo as mesmas determinantes para ocorrência do colapso desta cultura.

Estudos recentes identificaram 35 isolados de *Monosporascus*, obtidos de raízes de *Trianthema portulacastrum* L. (brejo) e *Boerhavia diffusa* L. (pega-pinto), oriundas dos Estados do RN e CE. Essas novas espécies pertencem a esse gênero com base em análises filogenéticas e caracteres morfológicos (NEGREIROS et al., 2019).

Estes novos isolados de *Monosporascus* foram denominadas de *M. brasiliensis*, *M. caatinguensis*, *M. mossoroensis*, *M. nordestinus* e *M. semiaridus* (A. Negreiros, M. León, J. Armengol & R. Sales Júnior). Dessa forma, existem relatadas atualmente, em nível mundial, oito espécies no gênero *Monosporascus*, nas quais acrescentam-se as descritas anteriormente, *M. ibericus* Collado, Ant. González, Stchigel, Guarro e Peláez (COLLADO et al., 2002), e *M. eutypoides* (Petra) von Arx (PETRAK e AHMAD, 1954; BEN SALEM et al., 2013).

Vários estudos de patogenicidade foram realizados para confirmar a patogenicidade de *M. cannonballus* em plantas de meloeiro, sendo o primeiro deles realizado em Israel em 1983 (REUVENI; KRIKUN; SHANI, 1983). Posteriormente, outros estudos foram realizados no Japão, tomando o melão como hospedeiro (UEMATSU et al., 1985; UEMATSU e SEKIYAMA, 1990), e Estados Unidos (MERTELY et al., 1991; MARTYN e MILLER, 1996; AEGERTER et al., 2000), os quais confirmaram que *M. cannonballus* é o agente responsável pelo declínio de ramas em meloeiro.

Diante da importância de *M. cannonballus* para a cultura do meloeiro, bem como da descoberta de novas espécies do gênero e da falta de informação sobre a

patogenicidade das mesmas à referida cultura, este trabalho apresenta como objetivos verificar a severidade, incidência e o efeito nas variáveis biométricas em meloeiro inoculado com as seis espécies do gênero *Monosporascus*, oriundas do Nordeste brasileiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação no município de Mossoró - RN, no período de Junho/Dezembro 2019, com o objetivo de avaliar a patogenicidade das diferentes espécies de *Monosporascus* presentes no Nordeste brasileiro. Com base na classificação de Köppen, o clima da região é caracterizado como BSh (semi-árido quente) (ALVARES et al., 2014).

A pesquisa foi conduzida obedecendo a um delineamento estatístico inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos, e cinco repetições. Os tratamentos constaram de seis isolados das espécies de *Monosporascus*, (*M. brasiliensis* - CMM4839, *M. caatinguensis* - CMM4833, *M. cannonballus* - CMM2429, *M. mossoroensis* - CMM4857, *M. nordestinus* - CMM4846 e *M. semiaridus* - CMM4830), e uma testemunha absoluta (sem inoculação). A unidade experimental foi representada por um vaso com uma planta, sendo o experimento realizado em duplicata.

Os isolados das novas espécies de *Monosporascus* foram obtidos das raízes das plantas daninhas brejo e pega-pinto, presentes nas áreas de produção de melão e melancia nos Estados do RN e CE e o isolado de *M. cannonballus* foi isolado de raízes de meloeiro. Todos os isolados utilizados neste experimento foram identificados mediante estudos filogenéticos (NEGREIROS et al., 2019) e uma cópia de cada isolado está depositada na coleção de fungos “Profa. Maria Menezes” (CMM), na Universidade Federal Rural de Pernambuco (Pernambuco, Recife, Brasil).

2.1 Preparo do inóculo

Os isolados de *Monosporascus* spp. foram repicados para placas Petri com meio batata dextrose ágar - BDA e mantidos em estufa climatizada a 27 ± 2 °C, por dez dias, no escuro.

O preparo dos inóculos foi realizado em grãos de trigo (*Triticum* spp.), conforme metodologia sugerida por Ben Salem et al. (2015), com modificações. Foram preparados frascos Erlenmeyers de 250 mL com 37,5 g de grãos de trigo embebidos em água por 12h e deixados para secar em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) sobre bandeja de polietileno. Posteriormente, os Erlenmeyers foram autoclavados três vezes por 60 min a 121 °C, com intervalo de 24 h entre cada autoclavagem. Em seguida, cada frasco de Erlenmeyer contendo os grãos de trigo foi inoculado com uma espécie de *Monosporascus*, sendo utilizados cinco discos de BDA (8 mm de diâmetro), cortado da borda das culturas fúngicas, com dez dias de crescimento ativo em placa de Petri. Os Erlenmeyers foram incubados, em estufa climatizada por 30 dias, à temperatura de 30 ± 2 °C, em completa escuridão, objetivando a multiplicação do fungo. Os frascos foram agitados manualmente, uma vez por semana, com o objetivo de homogeneizar o inóculo.

A testemunha absoluta foi composta apenas por grãos de trigo autoclavados sem inoculação.

2.2 Montagem do experimento

Para execução do experimento foram utilizados vasos plásticos de 2,0 L de capacidade, os quais foram preenchidos com uma mistura de composto de solo areno-argiloso, composto orgânico (Ecofértil[®]) e substrato (Tropstrato[®] HT), na proporção de 2:1:1 em volume, previamente autoclavados duas vezes durante 60 minutos a 121 °C., com intervalos de 24 horas.

A infestação do substrato foi realizada no momento do preenchimento dos vasos, cinco dias antes da semeadura, com 7,5g do inóculo fúngico, para cada vaso. Essa operação foi realizada para que o inóculo pudesse colonizar o solo antes da semeadura das sementes.

A semeadura foi realizada utilizando sementes de melão amarelo híbrido ‘Goldex’ da empresa Fitó[®], sendo colocadas três sementes por vaso. Dez dias após a semeadura, (DAS) foi realizado o desbaste, deixando apenas uma planta por vaso.

A avaliação do ensaio foi realizada aos 35 dias após a semeadura (DAS), sendo as plantas de meloeiro removidas cuidadosamente dos vasos e sua parte aérea e raízes cuidadosamente lavadas em água corrente para retirada do substrato.

2.3 Avaliações do experimento

A incidência da doença foi determinada através do número de plantas infectadas por cada espécie de *Monosporascus*, e expressa em porcentagem. Foram realizados isolamentos das raízes, em placas Petri com meio BDA + antibiótico (sete fragmentos de raízes / placa), para a confirmação dos Postulados de Koch.

A avaliação da severidade da doença foi classificada de acordo com a escala diagramática de notas usada por Aleandri et al. (2010), atribuindo-se notas de 0 a 5, onde: 0 (raiz da planta saudável, sem sintomas); 1 (apresentando 25% da superfície da raiz com lesões); 2 (com 50% da superfície da raiz com lesões); 3 (com 75% da superfície da raiz com lesões); 4 (com raízes extensivamente lesionadas) e 5 (raízes muito deterioradas ou planta morta).

Foram avaliadas as variáveis biométricas: comprimento do sistema radicular (CSR) e comprimento de parte aérea (CPA), realizadas com o auxílio de uma régua graduada (cm); e matéria fresca da raiz (MFR) e matéria fresca de parte aérea (MFPA), pesadas em balança de precisão e expressa em mg.

2.4 Análise estatística

Os dados obtidos nestes experimentos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o *software* estatístico ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2009). Para as variáveis incidência e severidade da doença, em que os dados não apresentaram normalidade, a comparação das médias foi realizada através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade. Para as variáveis CSR, CPA, MFR e MFPA, em que os dados apresentaram normalidade, a comparação das médias foi realizada utilizando o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste experimento demonstraram haver variabilidade patogênica entre as diferentes espécies de *Monosporascus* usadas neste estudo.

Cabe destacar a incidência que, com exceção da espécie *M. caatinguensis* (20%), todas as demais espécies de *Monosporascus* apresentaram valor de 100% de incidência da doença para o meloeiro avaliado (Tabela 1).

Tabela 1 - Reação do meloeiro ‘Goldex’ à inoculação de diferentes espécies de *Monosporascus*, nas variáveis severidade, incidência da doença, comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CSR) e massa fresca da raiz (MFR) e da parte aérea (MFPA).

Tratamentos	Severidade ¹		Incidência ¹		CPA ^{2,3}	CSR ^{2,3}	MFPA ^{2,3}	MFR ^{2,3}
	Rank	Média ³	Rank	Média ³				
<i>M. brasiliensis</i>	29,70 b	4,80	22,50 b	100	7,33 bc	3,25 c	0,82 bc	0,03 d
<i>M. caatinguensis</i>	6,40 a	1,00	8,50 ab	20	13,20 b	6,10 b	2,00 b	1,33 b
<i>M. cannonballus</i>	31,00 b	5,00	22,50 b	100	5,50 c	2,04 c	0,30 c	0,02 d
<i>M. mossoroensis</i>	14,40 ab	1,60	22,50 b	100	7,20 bc	5,40 b	1,20 bc	0,30 c
<i>M. nordestinus</i>	18,60 ab	2,60	22,50 b	100	9,40 bc	6,25 b	1,26 bc	0,08 cd
<i>M. semiaridus</i>	20,90 ab	3,20	22,50 b	100	7,80 bc	3,25 c	0,76 bc	0,04 d
Testemunha	5,00 a	0,00	5,00 a	0	32,26 a	10,03 a	18,32 a	2,98 a
CV (%)					26,83	19,35	19,60	17,26

¹ Valores seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade;

² Valores seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

³ Valores médios de 10 repetições por tratamento.

Estudos realizados por Lovic et al. (1996) observaram a existência da variação da agressividade dentro dos diferentes isolados espanhóis de *M. cannonballus*. Podendo os isolados irem desde fracamente virulento a altamente virulento, motivado devido às características genéticas dos isolados (MARTYN e MILLER, 1996).

A patogenicidade de *M. cannonballus*, em meloeiro, também foi confirmada por Pivonia et al. (1997), onde foram relatados, neste estudo, a associação direta entre a patogenicidade e mortalidade em plantas de meloeiro, ocasionadas por este fitopatógeno. Todas as espécies de *Monosporascus* testadas apresentaram nível de patogenicidade à meloeiro, com valores médios de severidade variando de 1,0 (*M. caatinguensis*) a 5,0 (*M. cannonballus*). No entanto, apenas as espécies *M. brasiliensis* (4,8) e *M. Cannonballus* (5,0), apresentaram índices de severidade que diferiram

estatisticamente da testemunha absoluta (0,0), demonstrando serem essas as espécies mais agressivas a este híbrido de meloeiro (Tabela 1).

Em relação a patogenicidade, observamos também, o trabalho realizado no Vale de Arava (Israel) em meloeiro, onde constataram que *M. cannonballus* é o agente mais agressivo envolvido no PRDR em cucurbitáceas, sendo a resistência desta cultura um fator fundamental para o manejo do colapso do meloeiro. (BRUTON et al., 2000; WOLFF et al., 2000).

A elevada severidade da doença ocasionada por *M. cannonballus* também foi comprovada, quando comparada com outros fungos envolvidos no "declínio de ramas", como *Acremonium cucurbitacearum* e *Rhizopycnis vagum* Farr., sendo *M. cannonballus* o agente patogênico que ocasionou maiores danos em raízes de meloeiro (AEGERTER et al., 2000; BIERNACKI e BRUTON, 2001). Esta forma distinta de resposta pode ser devida à variabilidade no grau de virulência das populações de isolados de *M. cannonballus*, sendo também afetada pelo nível e tipo de resistência envolvida, densidade do inóculo do patógeno no solo, variabilidade do patógeno, condições ambientais e a idade da planta, podendo vir a afetar diretamente na sua taxa de crescimento, como também podendo atuar como estímulos nas vias de desenvolvimento (BOUGHALLEB et al. 2005; DEACON et. al, 2006).

Dessa forma, cabe destacar a importância do conhecimento da variabilidade fitopatogênica dos isolados fúngicos, porque permite o estudo da estabilidade da resistência de genótipos do hospedeiro, frente aos isolados do patógeno (MAHMOUDI e GHASHGHAIE, 2012), sendo esta uma importante ferramenta frente à diversidade genética populacional de *M. cannonballus* encontrados no Nordeste brasileiro (BEZERRA et al. 2013).

O estudo da patogenicidade nos dá o conhecimento da variabilidade fitopatogênica de isolados de *M. cannonballus*, sendo o mesmo confirmado com trabalhos realizados por Correia et al. (2014), onde foi identificado diferentes grupos de virulência de isolados de *M. cannonballus*, em plantas de meloeiro. Segundo Anjos et al. (2018), esta variabilidade genética para resistência ou tolerância entre e dentro das espécies, influencia diretamente na taxa de incidência e severidade, conferindo a cada um diferente grau de virulência.

Essa afirmação vem a corroborar para a constatação da diferença na virulência dos isolados de *Monosporascus*, entre este trabalho e o desenvolvido por Cavalcante et al. (2020). Este último, ao utilizar os mesmos isolados usados nesta pesquisa, constatou que

todas as novas espécies de *Monosporascus* foram patogênicas a meloeiro amarelo ‘Titanium’, com valores médios de severidade de 1,2 para *M. nordestinus*, 1,3 para *M. caatinguensis* e 1,6 para *M. brasiliensis*, *M. cannonballus*, *M. mossoroensis* e *M. semiaridus*. Podemos observar que o híbrido de meloeiro, usado neste trabalho ‘Goldex’, se mostrou muito mais suscetível do que o híbrido utilizado por Cavalcante et al. (2020). Para as variáveis comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de sistema radicular (CSR), matéria fresca de parte aérea (MFPA) e matéria fresca de raiz (MFR), houve diferença estatística entre os tratamentos inoculados com as espécies de *Monosporascus* e a testemunha absoluta (Tabela 1).

De acordo com os dados obtidos, *M. cannonballus* foi a espécie que mais causou danos ao meloeiro, afetando diretamente as variáveis CPA (5,50 cm), CSR (2,04 cm), MFPA (0,3 g) e MFR (0,02 g) porém, o mesmo não diferiu estatisticamente do *M. brasiliensi*, onde este obteve os valores de CPA (7,33 cm), CSR (3,25 cm), MFPA (0,82 g) e MFR (0,03 g). Em contrapartida, para estas mesmas variáveis biométricas, o *M. caatinguensis* foi a espécie que menos ocasionou danos ao híbrido de meloeiro testado, com valores médios das variáveis CPA (13,2 cm), CSR (6,1 cm), MFPA (2,0 g) e MFR (1,33 g), o que pode vir a confirmar a sua baixa severidade ao meloeiro, ou uma possível tolerância deste genótipo de meloeiro, a essa espécie em particular (Tabela 1).

Resultados diferentes foram encontrados por Mertely et al. (1991) e Lovic et al. (1995) onde eles observaram graves danos causado ao sistema radicular em meloeiro por *M. cannonballus*.

De acordo com Wolf e Miller (1998), os resultados obtidos, em estudo de patogenicidade de *M. cannonballus* à meloeiro, permitiram concluir que o tamanho e vigor do sistema radicular são as características mais consideradas em relação ao PRDR nesta cultura. Estudo de patogenicidade, realizado em áreas produtoras de melão na Califórnia – EUA, por Aegerter et al. (2000), constataram que *M. cannonballus* ocasionou severos danos ao sistema radicular das plantas de meloeiro, reduzindo o comprimento das raízes em até 93%. O mesmo resultado foi relatado, neste mesmo ano, por Iglesias et al. (2000), estudando a patogenicidade de *M. cannonballus* em campo. Segundo os autores, as raízes de meloeiro apresentaram altos índices de gravidade correlacionados com os sintomas da doença. Mais recentemente, Sales Júnior et al. (2018) estudaram as reações de diferentes cucurbitáceas (abóbora, melancia, melão e pepino) frente à inoculação artificial com *M. cannonballus*. Todas as espécies de cucurbitáceas apresentaram lesões radiculares.

Por outro lado, foi observado o menor valor para a variável altura de plântula, em trabalho realizado por Gomes (2019), com isolado de *M. caatinguensis*, porém o mesmo estudo corroborou com os nossos resultados, para comprimento de sistema radicular. Evidenciando assim, a interferência da ação do fungo, no desenvolvimento e crescimento da planta de meloeiro.

Foi relatado por Cavalcante *et al.* (2020) uma diferença estatística significativa no comprimento das variáveis biométricas, em meloeiro, após inoculação com as diferentes espécies de *Monosporascus* estudadas e a testemunha absoluta. Onde observaram que todas as espécies se mostram patogênicas ao híbrido de meloeiro testado, apresentando uma redução de peso fresco e seco das raízes, corroborando com nosso experimento. Em contrapartida, para a variável CSR, os resultados obtidos, neste ensaio, indicam que todas as espécies de *Monosporascus* reduziram o CSR do híbrido de meloeiro testado, em relação à testemunha absoluta. Dado esse que difere dos resultados encontrados por Cavalcante *et al.* (2020), onde observou diferença estatística, em relação à testemunha absoluta, apenas para as espécies *M. cannonballus* e *M. semiaridus*. Sendo as variáveis de biomassa, peso e altura de plântula, de extrema importância para avaliar a gravidade de uma doença, no caso a doença causada por *M. cannonballus* em cucurbitáceas (CASTRO *et al.* 2020).

4. CONCLUSÕES

Todas as espécies de *Monosporascus* inoculadas em meloeiro ocasionaram danos nas suas raízes, sendo as espécies *M. cannonballus* e *M. brasiliensis* as mais agressivas a esta cultura.

Todas as espécies de *Monosporascus* inoculadas em meloeiro influenciaram negativamente nas variáveis biométricas analisadas. A espécie *Monosporascus caatinguensis* foi a espécie que obteve os melhores / maiores índices para as variáveis biométricas (CPA, CSR, MFPA e MFR), no híbrido de meloeiro inoculado, visto que a mesma espécie obteve os menores índices, para as variáveis incidência e severidade, interferindo positivamente nas características biométricas.

REFERENCIAL

- AEGERTER, B. J.; GORDON, T. R.; DAVIS, R. M. Occurrence and e pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California. **Plant Disease**, v. 84, n. 3, p. 224-230, Mar/.2000.
- ALEANDRI, M. P. et al. Effect of chemical resistance inducers on the control of *Monosporascus* root rot and vine decline of melon. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 49, n. 1, p. 20, Abr/2010.
- AL-MAWAALI, Q. S. et al. Etiology, development and reaction of muskmelon to vine decline under arid conditions of Oman. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 52, n. 3, p. 457-465, Dez/2013.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, Jan/2014.
- ANDRADE, D. E. G. T. et al. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathologica**, v. 31, n. 4, p. 327—333, Dez/2005.
- ANJOS, I. V. et al. Reação de acessos de *Capsicum* spp. ao fungo *Fusarium solani*. **Summa Phytopathology**, v. 4, n. 44: p. 344-349, Jun/2018.
- BELTRÁN, R. Estudios epidemiológicos y de patogenicidad de *Monosporascus cannonballus* Pollack y Uecker. 2006. 315p. **Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidad Politécnica de Valencia**, Espanha, 2006.
- BEN SALEM, I. et al. *Monosporascus eutypoides*, a cause of root rot and vine decline in Tunisia, and evidence that *M. cannonballus* and *M. eutypoides* are distinct species. **Plant Disease**, v.97, n. 6, p. 37-743, Jun/2013.
- BEN SALEM, I. et al. Development of a screening test for resistance of cucurbits and Cucurbita hybrid rootstocks to *Monosporascus cannonballus*. **Tunisian Journal of Plant Protection**, v. 10, n. 1, p. 23-33, Dez/2015.

BEZERRA, C. S. et al. Population structure of *Monosporascus cannonballus* isolated from melons produced in Northeastern Brazil based on mycelial compatibility groups. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 2, p. 161-167, Abr-Jun/2013.

BIERNACKI, M.; BRUTON, B. D. Quantitative response of *Cucumis melo* inoculated with root rot pathogens. **Plant Disease**, v. 85, n. 1, p. 65-70, Jan/2001.

BOUGHALLEB, N.; ARMENGOL, J.; EL MAHJOUR, M. Detection of races 1 and 2 of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* and their distribution in watermelon fields in Tunisia. **Journal of phytopathology**, v. 153, n. 3, p. 162-168, 2005.

BRUTON, B. D. Soilborne diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. **International Society for Horticultural Science**, v.1, n. 1, p. 143-166, Dez/1998.

BRUTON, B. D. et al. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. **Plant Disease**, v.84, n.8, p.907-913, Ago/2000.

CASTRO, G. et al. Resistance in melon to *Monosporascus cannonballus* and *M. eutypoides*: Fungal pathogens associated with *Monosporascus* root rot and vine decline. **Annals of Applied Biology**, v. 177, n.1, p. 101–111, Jul/2020.

CAVALCANTE, A. L. A. et al. Characterization of Five New *Monosporascus* Species: Adaptation to Environmental Factors, Pathogenicity to Cucurbits and Sensitivity to Fungicides. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 3, p. 1-14, Set/2020.

CELIN, E. F. et al. Agronegócio brasileiro do melão na última década. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 53. **Horticultura brasileira**, v. 31, n. 2, p. 246-253, Jul/2014.

COHEN, R. et al. Advances in the biology and management of *Monosporascus* vine decline and wilt of melons and other cucurbits. **Horticultural Reviews**, v.39, n. 1, p. 77–120, Jan/2012.

COLLADO, J. et al. *Monosporascus ibericus* sp. nov., an endophytic ascomycete from plants on saline soils, with observations on the position of the genus based on sequence analysis of the 18S rDNA. **Mycological Research**, v. 106, n. 1, p. 118–127, Jan/2002.

CORREIA, K. C. et al. Fitness components of *Monosporascus cannonballus* isolates from northeastern Brazilian melon fields. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 03, p. 217-223, Mai-Jun/2014.

DEACON, J. Fungal Biology, Blackwell Publishing Ltd.: **Oxford, UK**, 4th ed.; p. 371., 2006.

DIAS-ARIEIRA, C. R. D. et al. Nematoides causadores de doenças em frutíferas. **Agro@ambiente** on-line, v. 2, n. 1, Jan-Jun/2008.

FAO. FAOSTAT: **Statistics Division**. Production Crops. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data> >. Acesso em: 08 Fev 2021.

FIGUEIREÊDO, M. C. B.; GONDIM, R. S.; ARAGÃO, F. A. S. **Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica**. Brasília, Brasil: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA-CNPAT, 2017. 302p.

GARCÍA-JIMÉNEZ, J. et al. Fungal pathogens associated with melon collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, v. 30, n. 2, p. 169-173, Jun/2000.

GOMES, T. R. R. **Patogenicidade de espécies de *Monosporascus* em meloeiro**. 2019. 30p. Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2019.

IGLESIAS, A.; PICÓ, B.; NUEZ, F. Artificial inoculations methods and selection criteria for breeding melons against vine decline. **Acta Horticulturae**, v. 510, n.1, p. 155-162, Jan/2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - **IBGE**. SIDRA - Sistema IBGE de Recuperação Automática. Rio de Janeiro, 2020.

LOPES, C. A.; REIS, A.; LIMA, M. F. **Principais doenças da cultura da melancia no Brasil**. **Brasília**: Embrapa hortaliças, (Circular Técnica nº 61), 2008, p. 10.

LOVIC, B. R. et al. Detection and identification of *Monosporascus* spp. with genus-specific PCR primers and nonradioactive hybridization probes. **Plant Disease**, v. 79, n.11, p. 1169, nov/1995.

- LOVIC, B. R.; MARTYN, R. D.; LOBO, M. Agresividad de los aislados españoles de *Monosporascus cannonballus*. Resúmenes del VIII CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGIA: 139., 1996, Córdoba. **Anais...** Córdoba: CNSEF, Sep, 1996.
- MAHMOUDI, S. B.; GHASHGHAIE, S. Reaction of sugar beet S1 lines and cultivars to different isolates of *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani* AG-2-2IIIB. **Euphytica**, v. 175, n. 11, p. 10-16, Nov/2012.
- MARKAKIS, E. A. et al. First report of root rot and vine decline of melon caused by *Monosporascus cannonballus* in Greece. **Plant Disease**, v. 102, n. 5, p. 1036, Mai/2018.
- MARTYN, R. D.; MILLER, M. E. *Monosporascus* root rot and vine decline: an emerging disease of melons worldwide. **Plant Disease**, v. 80, n. 7, p. 716- 725, Jan/1996.
- MERTELY, J. C. et al. Role of *Monosporascus cannonballus* and other fungi in a root rot/vine decline disease of muskmelon. **Plant Disease**. v.75, n.11, p.667–673, 1991.
- NEGREIROS, A. M. P. et al. Prevalent weeds collected from cucurbit fields in Northeastern Brazil reveal new species diversity in the genus *Monosporascus*. **Annals of Applied Biology**, v. 174, n. 3, p. 1-15, Fev/2019.
- PETRAK, F.; AHMAD, S. Beiträge zur Pilzflora Pakistans. **Sydowia**, v. 8, p. 162–185, 1954.
- PIVONIA, S. et al. Sudden wilt of melons in Southern Israel: fungal agents and relationship with plant development. **Plant Disease**, v. 81, n. 11, p.1264-1268, Jul/1997.
- PIVONIA, S. et al. Effect of soil temperature on disease development in melon plants infected by *Monosporascus cannonballus*. **Plant Pathology**, v. 51, n.4, p. 472-479, Ago/2002.
- REUVENI, R.; KRIKUN, J.; SHANI, U. The role of *Monosporascus eutypoides* in a collapse of melon plants in an arid area of Israel. **Phytopathology**, v.73, n.9, p.1223-1226. Mai/1983.
- SALES JÚNIOR, R. et al. First report of *Monosporascus cannonballus* on melon in Brazil. **Plant Disease**. St Paul, v. 88, n. 1, p. 84, Jan/2004.

SALES JÚNIOR, R. et al. First Report of *Monosporascus cannonballus* on watermelon in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 2, p. 278, Jan/2010.

SALES JÚNIOR, R. et al. Cotton, cowpea and sesame are alternative crops to cucurbits in soils naturally infested with *Monosporascus cannonballus*. **Journal of Phytopathology**, v. 166, n. 6, p. 396-402, Mar/2018.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009, Reno. Proceedings. Michigan: American Society of Agricultural and Biological Engineers, Michigan. **Anais...** Michigan: CCA, 2009. p.1.

STANGUELLINI, M. E. et al. Crop residue destruction strategies that enhance rather than inhibit reproduction of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Pathology**, Saint Paul, v. 53 n. 1, p. 50-53, Fev/2004.

UEMATSU, S.; ONOGI, S.; WATANABE, T. Pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* Pollack et Uecker in relation to melon root rot in Japan. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, Tokyo, Japan, v. 5 n. 3: p. 272-276, Jan/1985.

UEMATSU, S.; SEKIYAMA, K. Comparison of morphological characteristics and pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* Pollack et Uecker collected in Japan, distribution in melon plants with root rot symptoms and survival in soils under laboratory conditions. **Soil Microorganisms**, v. 3 n. 5, p.7-12. Jan/1990.

WOLFF, D. W. Evaluation of melon germoplasm for resistance root rot/vine decline symptom expression in melon (*Cucumis melo* L.). In. Eucarpia meeting on cucurbit genetics and breeding, 6. 2000, Málaga. **Proceedings**, Málaga: *Cucurbits toward*, 2000. p. 224 – 228.

WOLFF, D. W.; MILLER, M.E. Tolerance to *Monosporascus* root rot and vine decline in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm. **HortScience**, EUA, v. 33, n. 2, p. 287-290, Jan/1998.

YAN, L. Y. et al. First report of root rot and vine decline of melon caused by *Monosporascus cannonballus* in Eastern Mainland China. **Plant Disease**, St Paul, v. 100, n. 3, p. 651, Mar/2016.

CAPITULO III

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MELOEIRO CONTRA ESPÉCIES DE *Monosporascus*

Resumo

As plantas podem desenvolver resistência ao ataque de patógeno, podendo ser respostas bioquímicas ou fisiológicas, através da produção de agentes de defesa, onde os mesmos podem ser proteínas relacionadas à patogênese e enzimas envolvidas na rota dos fenilpropanóides. Estas respostas de defesa, podem ser geradas por alguns produtos comerciais, que têm a capacidade de induzir resistência em plantas. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos da aplicação pré e pós-semeadura dos produtos Bion[®], Biobacter[®] e Unique[®] contra doença colapso das ramas, sobre as principais características físicas, sanitárias e bioquímicas, em plantas de meloeiro amarelo. Para o experimento foram utilizadas seis espécies de *Monosporascus*, (*M. cannonballus*, *M. brasiliensis*, *M. caatinguensis*, *M. mossoroensis*, *M. nordestinus* e *M. semiaridus*), inoculadas em vasos com solo contendo três plântulas de meloeiro tratadas em pré e pós-semeadas com os produtos. O experimento foi conduzido em esquema fatorial (6 x 3 + 1), em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Cada parcela foi representada por um vaso contendo 3 plantas, que foram avaliadas nos períodos de 0, 7 e 14 dias após a emergência. Os dados de incidência, severidade, CSR, CPA, MFPA, MFSR, MSPA, MSSR e atividade enzimática foram avaliados, utilizando SISVAR. Os dados que não apresentaram normalidade foram comparados pelo teste Kruskal-Wallis e os que apresentaram normalidade, comparados pelo teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de probabilidade. Foi observada a eficiência dos três produtos comerciais, destacando-se Bion[®] e Biobacter[®], onde obtiveram as melhores respostas para o aumento da atividade das enzimas quitinase, β -1,3-glucanases e FAL. O *M. semiaridus* induziu maior atividade das enzimas quitinase, β -1,3-glucanases e FAL, em plantas de meloeiro, em relação às outras espécies estudadas, ocorrendo uma redução na incidência e severidade da doença e afetando diretamente as características físicas e sanitárias. Observamos, assim, a influência positiva dos produtos Bion[®] e Biobacter[®], em meloeiro, contra as espécies de *Monosporascus*.

Palavras-chave: Cucumis melo, Elicitores, Proteção de plantas.

CHAPTER III

INDUCTION OF RESISTANCE IN MELON PLANTS AGAINST SPECIES OF *Monosporascus*

Abstract

Plants can develop resistance to pathogen attack, which can be biochemical or physiological responses, through the production of defense agents where they can be, proteins related to pathogenesis and enzymes involved in the phenylpropanoid route, these defense responses can be generated by some commercial products, which have the ability to induce resistance in plants. Thus, the objective of this research was to evaluate the effects of pre- and post-sowing application of Bion®, Biobacter® and Unique® products against vine collapse disease, on the main physical, sanitary and biochemical characteristics of yellow melon plants. Six species of *Monosporascus* were used for the experiment, (*M. cannonballus*, *M. brasiliensis*, *M. caatinguensis*, *M. mossoroensis*, *M. nordestinus* and *M. semiaridus*), inoculated in pots with soil containing three melon seedlings treated in pre and post-sown with the products. The experiment was carried out in a factorial scheme (6 x 3 + 1) in a completely randomized design, with five replications. Each plot was represented by a pot containing three plants, which were evaluated at 0, 7 and 14 days after emergence. Incidence, severity, shoot length and root length and shoot fresh weight and root fresh weight and enzyme activity data were evaluated using SISVAR. Data that were not normal were compared using the Kruskal-Wallis test and those that were normal were compared using Tukey's test, both at a 5% probability level. The efficiency of the three commercial products was observed, highlighting Bion® and Biobacter® where they obtained the best responses to increase the activity of chitinase, β -1,3-glucanases and PAL enzymes. *M. semiaridus* induced greater activity of chitinase, β -1,3-glucanases and PAL enzymes in melon plants, compared to the other species studied, with a reduction in the incidence and severity of the disease, directly affecting the physical and sanitary characteristics. Thus, we observed the positive influence of the products Bion® and Biobacter® in melon against the species of *Monosporascus*.

Keywords: *Cucumis melo*, Elicitors, Plant protection.

1 INTRODUÇÃO

As plantas podem resistir a ações de ataques de patógenos, através de substâncias conhecidas como indutores ou eliciadores, capazes de induzirem o sistema de defesa das plantas, reduzindo tanto a possibilidade de infecção quanto a sua intensidade (KESSMANN et al., 1995; STASKAWICZ et al., 1995).

Esses indutores participam da primeira etapa de sinalização para a defesa vegetal, o reconhecimento, produzindo sinais que são reconhecidos por receptores que funcionam extra ou intracelularmente (BOLLER, 1995). Na maioria dos fungos, por exemplo, a sinalização é originária dos componentes da parede fúngica, tais como N-acetilglicosamina (componente da quitina), quitosana e glucana, além do ergosterol (componente da membrana plasmática) (BOLLER, 1995). Este processo de sinalização, desenvolvido pelas células vegetais, é dividido em três etapas básicas: percepção do sinal (ou reconhecimento, realizada por receptores celulares específicos ou inespecíficos que reconhecem um determinado sinal); transdução do sinal (transmissão do mesmo para seu sítio de ação dentro da célula) e; tradução do sinal (que consiste na conversão do sinal em respostas celulares específicas) (CÔTÉ et al., 1995).

Estes agentes indutores, envolvidos no processo de indução de resistência, podem ser de origem biótica ou abiótica. Conferindo uma proteção sistêmica adquirida na planta, com longa duração e amplo espectro. Sendo um fenômeno em que a planta apresenta um aumento de seu nível de resistência, sem alterações de sua base genética, resultando na mudança da constituição de compostos moleculares ligados à restrição do crescimento de fitopatógenos e na inibição ou diminuição dos sintomas da doença (RYALS et al., SMITH., 1996, STICHER et al., 1997).

Esta resposta ocorre em virtude da distribuição dos sinais dentro da planta, sendo induzida a sintetizar agentes de defesa através de respostas bioquímicas (DOREY et al., 1997; DURNER et al., 1997; HAMMOND-KOSACK e JONES, 2000), tais como acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (como peroxidases, quitinases e β -1,3-glucanases) e enzimas envolvidas na rota dos fenilpropanóides, como a fenilalanina amônialiase (FAL).

As enzimas peroxidases, quitinases, β -1,3-glucanases, e fenilalanina amônialiase apresentam, dessa forma, um elevado potencial para serem exploradas nos programas de indução de proteção em plantas (VAN LOON e PIETERSE, 2006).

Essa estratégia da defesa vegetal é composta de ‘padrões moleculares associados ao patógeno’, onde a planta tem capacidade de reconhecer e responder ao ataque. Este reconhecimento, por exemplo, pode ser fragmentos de parede celular liberados do patógeno por enzimas da planta, durante o contato entre eles, resultando na difusão de sinais moleculares para as demais partes da planta ativando assim o seu mecanismo de defesa (RESENDE et al., 2007; TRUMAN et al., 2007).

Este processo de defesa oferece a proteção duradoura contra um amplo espectro de microrganismos, causando uma ampla variedade de respostas metabólicas e fisiológicas, proporcionando menor pressão de seleção na população do patógeno (AGHDAM et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016).

Dessa forma, o desenvolvimento no campo dos indutores abióticos de resistência em plantas é de grande importância, podendo aumentar a resistência das plantas aos microrganismos. Dentre os produtos utilizados, temos os fertilizantes minerais de plantas como, por exemplo, o produto comercial Unique[®] e o Biobacter[®]. Sendo o Unique[®] um fertilizante à base de quelato de cobre, nutrientes que são utilizados para diversas finalidades como: precursor de hormônios vegetais endógenos, favorece a nutrição da planta, quelante de nutrientes, maior resistência ao estresse hídrico e alta temperatura, proporciona cicatrização de tecidos lesionados, também participa no desenvolvimento da resistência sistêmica adquirida (SAR) dentre outras funções (SAGRO, 2021).

Já o Biobacter[®], segundo o seu fabricante (GreenCorp Biorganiks), tem a função de indutor de resistência, possui compostos à base de produtos orgânicos (Biobactericida) que previne, controla e fortalece os órgãos susceptíveis ao dano, assegura um controle efetivo e induz a resistência sistêmica a nível fisiológico contra enfermidades, tem um amplo espectro de controle e funciona através de vários mecanismos de ação (GREENCORP, 2018).

Já para o produto comercial Bion[®] (Acibenzolar-S-methyl), que é uma substância sintética que atua na indução dos genes responsáveis pela codificação das proteínas PR (produzidas por ataques bióticos na planta), as mesmas são ativadas no processo de indução por essa substância e geralmente desencadeiam a produção de enzimas responsáveis pela desestruturação celular dos organismos que ataquem as plantas, além de processos responsáveis pela lignificação das paredes celulares (SIQUEIRA et al., 2019).

Porém, estes agentes abióticos, que ativam os mecanismos de defesa da planta devem ser aplicados preventivamente, pois uma planta injuriada necessita de maiores

taxas metabólicas para manutenção e respiração, resultando muitas vezes em redução do desempenho (FONTANA et. al. 2019).

Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos da aplicação pré e pós-semeadura dos produtos comerciais Bion[®], Biobacter[®] e Unique[®] na indução de resistência, contra doença colapso das ramas, causado pelo patógeno *Monosporascus*, sobre as principais características físicas, sanitárias e bioquímicas, em plantas de meloeiro amarelo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação e no Laboratório de Fitopatologia II, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Brasil. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e os tratamentos constaram de um isolado de cada espécie de *Monosporascus* (*M. cannonballus* - CMM2429, *M. brasiliensis* - CMM4839, *M. caatinguensis* - CMM4833, *M. mossoroensis* - CMM4857, *M. nordestinus* - CMM4846 e *M. semiaridus* - CMM4830), três produtos sintéticos (Bion[®], BioBacter[®] e Unique[®]), e uma testemunha absoluta (sem inoculação do fungo e sem aplicação dos produtos). Foram realizadas cinco repetições por tratamento, com cada repetição composta por três plantas. O experimento foi realizado em duplicata.

2.1 Preparo do inóculo

Os isolados fúngicos foram repicados para placas de Petri, com meio batata dextrose ágar - BDA e mantidos em incubadora do tipo *Biochemical Oxygen Demand* - BOD a 30 ± 2 °C, por dez dias, no escuro, para serem usados no preparo do inóculo.

O preparo dos inóculos foi realizado em grãos de trigo, conforme metodologia sugerida por Ben Salem et al (2015), com modificações. Foram preparados sete frascos Erlenmeyer de 250 mL com 37,5 g de trigo (*Triticum* spp.) cada, totalizando 262,5 g de grãos. Os grãos foram embebidos em água, por 12 horas e deixados para secar. Posteriormente, os frascos com os grãos foram autoclavados três vezes, por 60 minutos, a 121 °C, com intervalo de 24 horas entre cada autoclavagem. Em seguida, cada frasco foi inoculado com um isolado/espécie de *Monosporascus*, utilizando três discos de BDA

(8 mm de diâmetro), cortado da borda das culturas fúngicas, em crescimento ativo e, em seguida, incubados por 30 dias a 30 ± 2 °C, no escuro, objetivando a multiplicação do fungo. Um dos *frascos Erlenmeyer*, contendo grãos de trigo, não foi inoculado (*testemunha absoluta*). Os frascos foram agitados manualmente, uma vez por semana, com o objetivo de homogeneizar o inoculo.

Todos os isolados de *Monosporascus*, utilizados neste ensaio, foram identificados molecularmente (NEGREIROS et al., 2019) e estão depositados na coleção de fungos fitopatógenos “Profª. Maria Menezes” (CMM), na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

2.2 Montagem do experimento

O substrato para as plantas utilizado foi a base de composto de solo areno-argiloso, composto orgânico (Ecofértil[®]) e substrato (Tropstrato[®] HT), na proporção de 2:1:1 em volume. O substrato foi autoclavado duas vezes, em intervalos de 24 horas, durante 60 minutos a 121°C.

Para realização do experimento foram utilizados vasos plásticos de 2,0 L preenchidos com a mistura de substrato citado anteriormente. A infestação do substrato foi realizada cinco dias antes da semeadura, com 7,5g do inóculo para cada vaso/tratamento. A semeadura foi realizada utilizando sementes de melão amarelo ‘Goldex’, da empresa de sementes Fitó[®], sendo semeadas quatro sementes por vaso. Após 7 dias da semeadura (DAS), foi realizado o desbaste, deixando três plantas por vaso.

2.3 Aplicação dos produtos sintéticos

Foram realizadas três aplicações com os produtos comerciais, sendo uma na pré-emergência (dia da semeadura) e duas na pós-emergência (7 e 14 dias após a semeadura - DAS), com os produtos: Bion[®] (Acibenzolar-S-metil, Syngenta Proteção de Cultivos); BioBacter[®] (Fertilizante à base de zinco, Powerfert) e Unique[®] (Fertilizante a base de quelato de cobre, Sagro).

Na aplicação da pré-emergência, as sementes foram embebidas por 2 minutos, em soluções contendo Bion[®] (0,18g 2L⁻¹), Unique[®] (0,01mL 2L⁻¹) e BioBacter[®] (2mL 2L⁻¹) cada uma contendo os respectivos produtos sintéticos. Para as aplicações de pós-

emergência, aos 7 e 14 DAS, as plântulas foram borrifadas com as mesmas soluções nas concentrações citadas anteriormente.

2.4 Avaliações do experimento

As avaliações foram realizadas após 7 dias de cada aplicação dos tratamentos (7, 14 e 21 dias), onde foram retiradas uma planta por vaso, para serem analisadas as variáveis: incidência da doença (%), severidade da doença, comprimento do sistema radicular (CSR) e da parte aérea (CPA), realizadas com o auxílio de uma régua graduada (cm), massa seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSPA), massa fresca da raiz (MFR) e da parte aérea (MFPA) expressa em miligrama (mg).

A severidade da doença foi avaliada utilizando uma escala diagramática de notas conforme Aleandri (2010), atribuindo-se notas de 0 a 5, onde: 0 (raiz da planta saudável, sem sintomas); 1 (apresentando 25% da superfície da raiz com lesões); 2 (com 50% da superfície da raiz com lesões); 3 (com 75% da superfície da raiz com lesões); 4 (com raízes extensivamente lesionadas) e 5 (raízes muito deterioradas ou planta morta). A incidência da doença foi determinada como o número total de plantas infectadas para cada espécie de *Monosporascus* e expresso em porcentagem (%).

Para a confirmação da presença das espécies de *Monosporascus* nas plantas foram realizados o reisolamento para confirmar, através dos Postulados de Koch, que o dado microrganismo (*Monosporascus*) é o agente causal da podridão radicular e declínio de ramas em meloeiro.

2.5 Análises Enzimáticas

2.5.1 Preparo de extrato enzimático e extração de proteínas

Amostras de raízes foram coletadas às 7h, pesadas e congeladas em N₂ líquido posteriormente transferidas para almofariz, onde foram maceradas após a adição de 50 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP) e 10 mL de nitrogênio líquido e, posteriormente, homogeneizada com 5 mL de solução tampão de acetato (0,1 M, pH 5,0) e 1 mL de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e postos em microtubos de centrifugação.

Após a homogeneização manualmente da mistura, os microtubos foram postos para centrifugar durante 10 minutos a 10.000 G e a temperatura de 4 °C. Alíquotas do sobrenadante foram retiradas para a quantificação do teor de proteínas e ensaios enzimáticos.

A concentração de proteínas totais foi determinada conforme metodologia proposta por Bradford (1976), tendo-se utilizado albumina de soro bovino como padrão.

Os ensaios enzimáticos para determinação espectrofotométrica da atividade enzimática de β -1,3-glucanase e quitinase foram realizados de acordo com protocolos desenvolvidos por Wirth e Wolf (1992) e, para a fenilalanina amônia-liase, seguiu-se a metodologia proposta por Umesha (2006).

2.5.2 β -1,3-glucanases

A determinação da atividade de β -1,3-glucanases foi realizada com alíquotas de 25 μ L do extrato proteico adicionado a tubo de ensaio, ao qual se acrescentou 200 μ L de solução de tampão acetato (0,1 M, pH 5,0) e 200 μ L de laminarina (15 mg mL⁻¹).

Posteriormente, os tubos com as alíquotas foram incubados por 30 min a 37 °C.

Após a incubação, foi determinado o teor de glicose produzido com a hidrólise da laminarina, pelo método de açúcares redutores com ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), como agente oxidante. Os valores foram corrigidos quanto aos teores de proteínas totais.

Os resultados de atividade de β -1,3-glucanases foram expressos em unidades de absorvância (UA) 540 nm por miligrama de proteína por hora.

2.5.3 Quitinase

Para a atividade da quitinase, alíquotas de 200 μ L dos extratos proteicos foram transferidas para 600 μ L da solução de tampão acetato (0,1 M, pH 5,0) de extração e 200 μ L da solução do substrato enzimático carboximetilquitina-remazol violeta brilhante utilizando 2 mg mL⁻¹ de CM-Chitin-RBV (Sigma). Em seguida, as alíquotas foram incubadas a 40 °C por 30 min. A reação foi interrompida pela adição de 200 μ L de solução de HCl 1 M e resfriamento por 10 min a -20 °C. Após a centrifugação (10.000 g, 5 min), a absorvância (550 nm) do sobrenadante foi medida em espectrofotômetro. Como controle, foi utilizada a solução dos reagentes sem o extrato radicular. Os valores da leitura em espectrofotômetro foram ajustados quanto aos teores de proteínas totais dos

extratos radiculares de cada amostra. Os resultados de atividade da quitinase foram expressos em UA a 550 nm por miligrama de proteína por hora.

2.5.4 Fenilalanina amônia-liase

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina (UMESHA, 2006). A reação foi composta de 100 µL do extrato proteico misturado com 400 µL do tampão Tris HCl 25 mM (pH 8,8) e com 500 µL de L-fenilalanina (50 mM em tampão Tris HCl 25 mM, pH 8,8), a qual foi incubada por 2 h a 40 °C. A absorbância das amostras foi determinada a 290 nm, contra tampão de extração, sendo subtraído de cada amostra o valor do controle (controle = 100 µL do extrato proteico + 900 µL de tampão Tris HCl 25 mM, pH 8,8).

A atividade enzimática foi expressa em µg de ácido trans-cinâmico /min /mg de proteína, utilizando uma curva padrão para o ácido.

2.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados com o auxílio do programa de análise estatística SISVAR (FERREIRA, 2000). Para os dados que não apresentaram normalidade, estes foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5 % de probabilidade. Para os dados que apresentaram normalidade, estes foram comparados pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

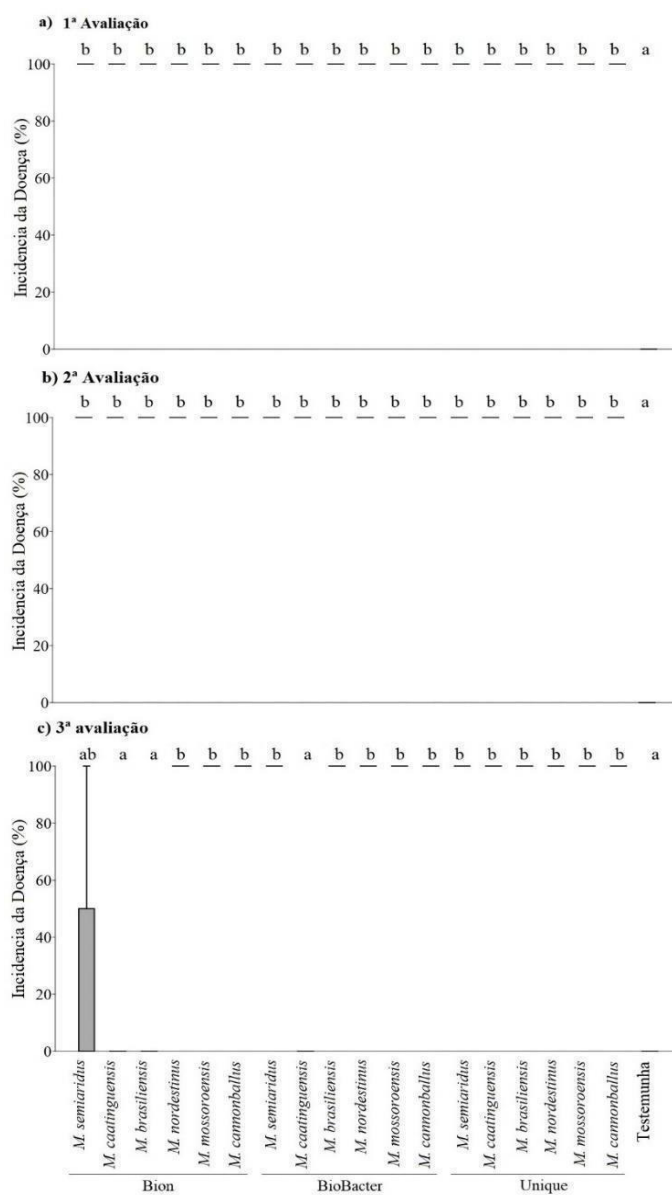
3.1 Incidência e severidade da doença

Houve diferença estatística para a incidência da doença, nos três períodos de avaliação, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade (Figura 1).

As espécies de *Monosporascus* diferiram da testemunha na primeira e segunda avaliação, porém para a terceira avaliação, no tratamento com Bion[®], as espécies *M.*

brasiliensis, *M. caatinguensis* e *M. semiaridus* e no tratamento com o BioBacter[®] a espécie *M. caatinguensis* não diferiram estatisticamente da testemunha.

Figura 1 – Incidência da doença causada pelas espécies de *Monosporascus* em meloeiro, em resposta a aplicação dos produtos comerciais (Bion[®], Biobacter[®] e Unique[®]).

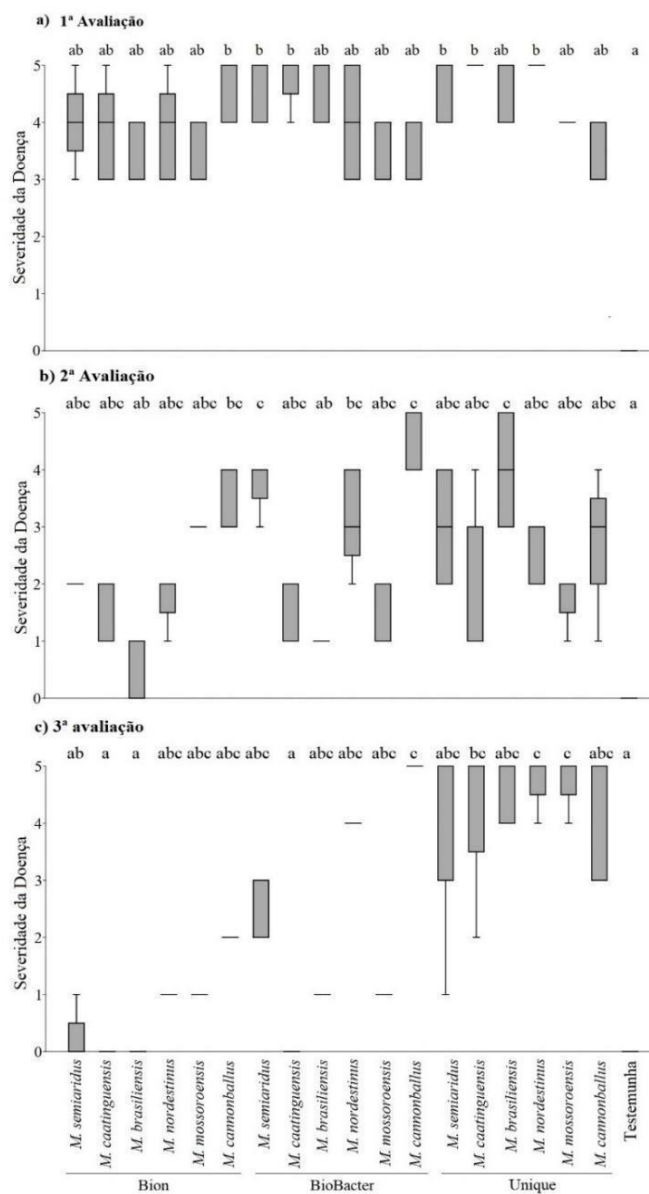


*Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade.

Juliatti (2007) também utilizando diferentes doses (5 para 25 g ha⁻¹) de acilbenzolar-S-Metil (Bion[®]), observou que ocorreu redução na incidência da podridão das maçãs (*Malus domestica*).

Para a variável severidade da doença houve diferença significativa para os tratamentos, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade (Figura 2). Observamos que quanto maior o número de aplicações dos produtos, menor foi a severidade da doença.

Figura 2 – Severidade da doença das espécies de *Monosporascus* em meloeiro, em resposta a aplicação dos produtos comerciais Bion[®], Biobacter[®] e Unique[®].



*Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade.

Para os resultados envolvendo severidade da doença, podemos observar que o tratamento Bion[®] apresentou os melhores resultados na redução da severidade e os tratamentos inoculados com *M. brasiliensis* e *M. caatinguensis*, na terceira avaliação, obtiveram média da severidade 0, não diferindo da testemunha absoluta (Figura 2). Para o tratamento com BioBacter[®], também houve inibição da severidade ocasionada por *M. caatinguensis* para a terceira avaliação, não diferindo da testemunha absoluta.

Observamos, assim, a efetividade na utilização dos produtos Bion[®] e BioBacter[®] para inibição da severidade da doença causada *M. brasiliensis* e *M. caatinguensis*, para o patossistema meloeiro amarelo.

Tais resultados corroboraram com os estudos de Garcia (2019), observando que quanto maior o número de aplicações de Bion[®], na severidade da mancha bacteriana em tomate menor, foi a severidade da doença. Essa eficiência do produto Bion[®] no controle da doença tem sido frequentemente observada em diversos trabalhos, como nos patossistemas, mancha bacteriana do fumo (COLE, 1999), requeima da batata (TÖFOLI et al., 2005), *Monilinia fructicola* na pós-colheita de pêssegos (BARRETO et al., 2016), *Colletotrichum lindemuthianum* em plantas de feijão (CAMPOS et al., 2009), entre outros.

Este produto, conhecido comercialmente como Bion[®], é utilizado para vários patógenos, incluindo os fungos. o mesmo se trata de um produto com atividade antimicrobiana direta, pois induz a produção de compostos para autodefesa da planta, interferindo em seus processos fisiológicos e bioquímicos. Pode ser aplicado em pulverização foliar ou no solo, tratamento de sementes e até mesmo aplicação em frutos pós-colheita (KNIGHT et al., 1997; COLE, 1999; MYRESIOTIS et al., 2014).

O Bion[®] atua na indução da biossíntese de enzimas envolvidas na formação de compostos de defesa vegetal, e proteínas relacionadas a patogenicidade (OLIVEIRA et al., 2016). Não possui ação fungistática, como os fungicidas, e desenvolve um papel semelhante ao ácido salicílico na via de transdução do sinal que leva à resistência sistêmica adquirida da planta contra patógenos (YAMAGUCHI, 1998).

A redução da severidade de doença, em função do uso deste produto, está relacionada ao aumento da atividade de enzimas que exercem ação antimicrobiana e proteção antioxidativa (ANDRADE et al., 2013). Esta severidade encontrada pode indicar infectividade, bem como o grande potencial destrutivo do agente causal (BRUTON et al., 1999; BRUTON et al., 2000).

É importante observar que diferentes fatores internos e externos às plantas desempenham funções importantes no desenvolvimento de epidemias, entre as quais se destacam os níveis de resistência genética ou susceptibilidade do hospedeiro. Além disso, as doenças causadas por patógenos transmitidos pelo solo são predominantemente influenciadas pelo clima (MIYASAKA, 2008).

Então, devemos considerar a existência de variabilidade na virulência entre as espécies estudadas, evitando-se que genótipos de meloeiro suscetíveis sejam considerados resistentes, em função da utilização de isolados pouco virulentos ou com capacidade reduzida de infectar (BRUTON et al., 1999; BRUTON et al., 2000).

3.2 Influência dos produtos e espécies de *Monosporascus* nas variáveis morfológicas do meloeiro

Houve diferença estatística para os tratamentos avaliados (Bion[®], BioBacter[®] e Unique[®]), nas variáveis comprimento do sistema radicular (CSR) e parte aérea (CPA), massa fresca da raiz (MFR), da parte aérea (MFPA), massa seca da raiz (MSR), e parte aérea (MSPA). Onde obtivemos um aumento significativo nestas variáveis analisadas para todos os tratamentos estudados.

O Bion[®] obteve os maiores valores, dentre os produtos, para CPA (9,06; 13,23; 20,13), MFPA (0,60; 2,16; 5,61), MSPA (0,05; 0,25; 0,24) para os três períodos de avaliação, referentes a comprimento de parte aérea.

Porém, BioBacter[®] se mostrou com os maiores valores, entre os produtos, para as variáveis CSR (4,12; 6,16; 7,0), MFR (0,03; 0,08; 0,31), MSR (0,01; 0,04; 0,02), para os três períodos de avaliação, referentes ao sistema radicular.

Observamos assim, um aumento de matéria fresca e seca, bem como comprimento tanto de parte aérea como de raiz, à medida que aumentou o número de aplicações para todos os produtos comerciais utilizados (Tabela 2).

Tabela 2 - Efeito dos produtos comerciais nas variáveis morfológicas do meloeiro.

Produtos	Variáveis Morfológicas do Meloeiro ¹																	
	CPA			MFPA			MSPA			CSR			MFR			MSR		
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
Bion®										3,53	5,24	5,08	0,02	0,04	0,24	0,01	0,02	0,01
	9,06a	13,23a	20,13a	0,60a	2,16a	5,61a	0,05a	0,25a	0,24a	b	b	b	b	b	b	b	b	b
BioBacter	6,87	11,08	13,38	0,41	1,70	4,04	0,03	0,20										
®	b	b	b	b	b	b	b	b	0,22a	4,12a	6,16a	7,0a	0,03a	0,08a	0,31a	0,01a	0,04a	0,02a
Unique®									0,09	3,23			0,02			0,01		0,01
	5,37c	6,51c	8,48c	0,23c	0,45c	0,97c	0,03c	0,14c	b	b	3,98c	4,16c	b	0,03c	0,09c	b	0,01c	b

¹ Comprimento da parte aérea (CPA); Massa fresca da parte aérea (MFPA); Massa seca da parte aérea (MSPA); Comprimento do sistema radicular (CSR); Massa fresca da raiz (MFR); Massa seca da raiz (MSR).

*Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tais resultados discordam daqueles obtidos por Buzi et al. (2004), onde os autores observaram que embora o Bion[®] (Acibenzolar S-metil) aplicado em tratamento de sementes tenha conferido proteção a plantas de melão contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Didymella bryoniae*, o mesmo causou redução na taxa de crescimento das plântulas. O aumento na dose de Bion[®], aplicada sobre plantas de couve-flor contra míldio (*Peronospora parasitica*), também reduziu a estatura física das plantas, comprimento de parte aérea, de 5,9 % para 38,3 %, respectivamente (GODARD et al 1999). Heil et al. (2000), trabalhando com trigo induzido com Bion[®] (150 mg i.a. L⁻¹) em dose única, observaram redução do crescimento.

Houve diferença estatística para os tratamentos espécies de *Monosporascus* avaliados em todas as variáveis analisadas, de acordo com o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 3).

Observamos que a espécie *M. caatinguensis* obteve as maiores médias para todas as variáveis estudadas e em todos os períodos de avaliação, com exceção para o primeiro e segundo período de avaliação de matéria fresca e seca de raiz.

Segundo Bruton et al., (2000), a existência de diferentes grupos de isolados, quando considerada a patogenicidade, indica a ocorrência de variabilidade patogênica entre os isolados de origem tanto da mesma área, como de áreas diferentes.

A diferença do desenvolvimento observado entre os tratamentos de espécies fúngicas deve-se à variação da resposta (SIQUEIRA e SAGGIN JÚNIOR, 2001; JANOS, 2007), a qual é grandemente influenciada pela eficiência de cada combinação fungo-planta-ambiente (SMITH; SMITH; JAKOBSEN, 2003).

A redução de doença pelo uso de Bion[®], sem acréscimos à produção, também foi observada em outros patossistemas, como a mancha bacteriana do tomateiro (LOUWS et al., 2001), mancha bacteriana do fumo (COLE, 1999), requeima da batata (TÖFOLI et al., 2005), entre outros.

Segundo Fontana (2019), é ideal que produtos que ativem os mecanismos de defesa da planta sejam aplicados preventivamente, pois uma planta injuriada necessita de maiores taxas metabólicas para manutenção e respiração, resultando muitas vezes em redução do desempenho.

Tabela 3 - Influência de espécies de *Monosporascus* nas variáveis morfológicas do meloeiro.

Espécies	CPA			MFPA			MSPA			CSR			MFR			MSR		
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
<i>M. semiaridus</i>	6,83b	8,47b	16,11b	0,33c	0,78c	3,13b	0,03c	0,07c	0,15b	3,70b	5,30a	5,00b	0,03a	0,06c	0,21c	0,02a	0,03b	0,02b
<i>M. caatinguensis</i>	9,18a	13,30a	21,79a	0,60a	2,89a	7,04a	0,05a	0,44a	0,27a	4,04a	6,15a	7,25a	0,03a	0,10a	0,37a	0,02a	0,04a	0,03a
<i>M. brasiliensis</i>	7,12b	14,32a	15,17bc	0,47b	2,80a	3,90b	0,04b	0,40a	0,18b	3,61b	5,34a	5,16b	0,03a	0,10a	0,29b	0,02a	0,04a	0,02b
<i>M. nordestinus</i>	7,07b	9,58b	12,86cd	0,36c	1,05b	3,07b	0,04b	0,18b	0,16b	2,53c	5,12a	4,12c	0,03a	0,04b	0,14d	0,02a	0,03b	0,02b
<i>M. mossoroensis</i>	7,24b	9,87b	11,94d	0,48b	1,20b	3,50b	0,04b	0,15b	0,15b	3,50b	6,05a	5,22b	0,03a	0,04b	0,21c	0,02a	0,03b	0,02b
<i>M. cannonballus</i>	5,18c	6,10c	6,12e	0,21d	0,33d	0,60c	0,03c	0,05d	0,08c	3,47b	3,68b	4,13c	0,03a	0,03d	0,05e	0,02a	0,03b	0,02b

¹ Comprimento da parte aérea (CPA); Massa fresca da parte aérea (MFPA); Massa seca da parte aérea (MSPA); Comprimento do sistema radicular (CSR); Massa fresca da raiz (MFR); Massa seca da raiz (MSR).

*Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Para a interação espécies x produtos, podemos observar que o produto Bion[®] proporcionou os maiores valores para as vareáveis comprimento, massa fresca e seca para raiz e parte aérea, não diferindo do tratamento com BioBacter[®], para o isolado *M. caatinguensis*, onde obteve valores iguais ou maiores que o produto Bion[®].

Estes resultados não corroboraram com o trabalho realizado por Cabral (2010), que ao trabalhar com o patossistema mancha-aquosa x meloeiro amarelo, utilizando Bion[®], obteve diminuição no crescimento das plântulas, sendo este efeito atribuído ao custo da transferência de processos metabólicos envolvidos no crescimento, para a síntese de compostos relacionados à defesa da planta (BUZI et al., 2004).

Estas mudanças morfológicas que observamos no crescimento vegetativo dependem da divisão e expansão de células, sendo esta última condicionada à pressão de turgência, processo afetado pela baixa disponibilidade de água no solo ou pelo excesso de transpiração e danos bióticos provocados no sistema radicular (SANTOS et al., 2013).

Os nossos valores podem ser justificados possivelmente pela diminuição dos danos, visto que a menores índices de incidência e severidade da doença, durante a condução do experimento, proporcionou menor estresse às células vegetais das plantas, não comprometendo demasiadamente o desenvolvimento vegetativo da cultura.

Após esta indução de resistência, as plantas são aptas para estabelecer uma condição fisiológica única, atendendo mais rapidamente e efetivamente, quando são expostas a vários estresses bióticos e abióticos (BRUCE et al., 2007). Com isso, as plantas de meloeiro submetidas ao estresse biótico, através das diferentes espécies do fungo patogênico *Monosporascus*, obtiveram diferentes comportamentos em seu desenvolvimento morfológico, com a aplicação dos diferentes produtos comerciais. Em nossa interação, os melhores resultados foram observados para *M. caatinguensis*, tratados com Bion[®] e BioBacter[®], para os três períodos de avaliação (Tabela 4).

Tabela 4 - Influência dos produtos comerciais e das espécies de *Monosporascus* nas variáveis morfológicas do meloeiro.

COMPRIMENTO DA PARTE AÉREA									
Espécies	Primeira avaliação			Segunda avaliação			Terceira avaliação		
	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]
<i>M. semiaridus</i>	9,70 aA	5,45 bC	5,33 bB	13,34 aB	5,75 bC	6,33 bA	20,84 aB	13,00 bBC	14,50 bA
<i>M. caatinguensis</i>	10,30 aA	10,85 aA	6,38 bA	18,00 aA	17,75 aA	7,57 cA	27,70 aAB	31,33 aA	9,40 cB
<i>M. brasiliensis</i>	10,20 aA	6,00 bC	5,19 bB	18,00 aA	17,10 Aa	6,98 bA	27,68 aA	8,90 bCD	8,93 bB
<i>M. nordestinus</i>	8,90 aB	7,80 aB	4,50 bB	14,99 aB	7,63 bC	6,13 bA	26,03 aA	6,55 bD	6,00 bBC
<i>M. mossoroensis</i>	11,30 aA	6,03 bC	4,40 bB	12,50 aB	10,89 aB	6,23 bA	15,60 aC	15,60 aB	4,10 bC
<i>M. cannonballus</i>	5,08 bC	4,00 bD	6,45 aA	6,00 aC	6,45 aC	5,86 aA	6,00 aD	4,40 aD	7,95 aBC
MASSA FRESCA DA PARTE AÉREA									
Espécies	Primeira avaliação			Segunda avaliação			Terceira avaliação		
	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]
<i>M. semiaridus</i>	0,56 aB	0,20 bC	0,24 bA	1,61 aD	0,36 Bc	0,37 bA	4,70 aC	2,04 bCD	2,66 bA
<i>M. caatinguensis</i>	0,80 aA	0,87 aA	0,26 bA	4,00 aA	3,59 aA	0,62 bA	6,93 bAB	13,37 aA	0,83 cAB
<i>M. brasiliensis</i>	0,80 aA	0,40 bB	0,21 cA	4,40 aA	3,77 bA	0,51 cA	7,44 aAB	3,58 bBC	0,67 cB
<i>M. nordestinus</i>	0,50 aC	0,40 aB	0,16 bA	2,39 aC	0,39 bC	0,37 bA	8,24 aA	0,46 bD	0,51 bB
<i>M. mossoroensis</i>	0,93 aA	0,29 bC	0,23 bA	1,75 aD	1,39 aB	0,45 bA	5,92 aBC	4,36 aB	0,22 bB
<i>M. cannonballus</i>	0,20 aD	0,17 aC	0,28 aA	0,33 aE	0,28 aC	0,38 aA	0,45 aD	0,41 aD	0,93 aAB

Tabela 4 – (Continuação).

Espécies	MASSA SECA DA PARTE AÉREA								
	Primeira avaliação			Segunda avaliação			Terceira avaliação		
	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]
<i>M. semiaridus</i>	0,03 aB	0,02 bC	0,03 aA	0,13 aC	0,03 bD	0,04 bB	0,29 aB	0,02 cD	0,13 bA
<i>M. caatinguensis</i>	0,06 aA	0,06 aA	0,03 bA	0,31 aB	0,30 aB	0,04 bB	0,29 bB	0,43 aA	0,10 cAB
<i>M. brasiliensis</i>	0,06 aA	0,03 bC	0,02 bB	0,45 aA	0,50 aA	0,30 bA	0,39 aA	0,35 aA	0,11 bAB
<i>M. nordestinus</i>	0,05 aA	0,04 aB	0,02 bB	0,40 aA	0,05 cD	0,20 bA	0,22 aBC	0,16 abC	0,11 bAB
<i>M. mossoroensis</i>	0,06 aA	0,03 bC	0,03 bA	0,18 aB	0,18 aC	0,09 aB	0,20 aC	0,22 aB	0,03 bB
<i>M. cannonballus</i>	0,03 aB	0,02 bC	0,04 aA	0,05 aC	0,05 aD	0,05 aB	0,06 aD	0,07 aCD	0,10 aAB
Espécies	COMPRIMENTO DO SISTEMA RADICULAR								
	Primeira avaliação			Segunda avaliação			Terceira avaliação		
	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]
<i>M. semiaridus</i>	4,12 bA	5,00 aA	2,83 bA	5,14 aB	4,50 aC	3,63 aA	8,08 aA	5,05 bC	6,70 aA
<i>M. caatinguensis</i>	4,30 bA	6,00 aA	3,30 bA	8,00 aA	8,25 aA	4,03 bA	8,06 aA	8,68 aA	5,00 bB
<i>M. brasiliensis</i>	4,30 aA	3,00 bB	4,83 aA	7,38 aA	5,50 bB	3,13 cA	7,98 aA	4,17 bCD	3,33 bBCD
<i>M. nordestinus</i>	2,80 aB	3,30 aB	1,50 bB	7,22 aA	4,13 bC	4,00 bA	6,86 aA	2,50 bC	3,00 bCD
<i>M. mossoroensis</i>	2,92 aB	4,20 aB	3,40 aA	7,53 aA	6,32 aB	4,30 bA	6,50 aA	6,75 aB	2,40 bD
<i>M. cannonballus</i>	2,75 aB	3,00 aB	3,50 aA	3,50 aB	2,76 aC	4,78 aA	4,50 aB	3,33 aD	4,55aBC

Tabela 4 – (Continuação).

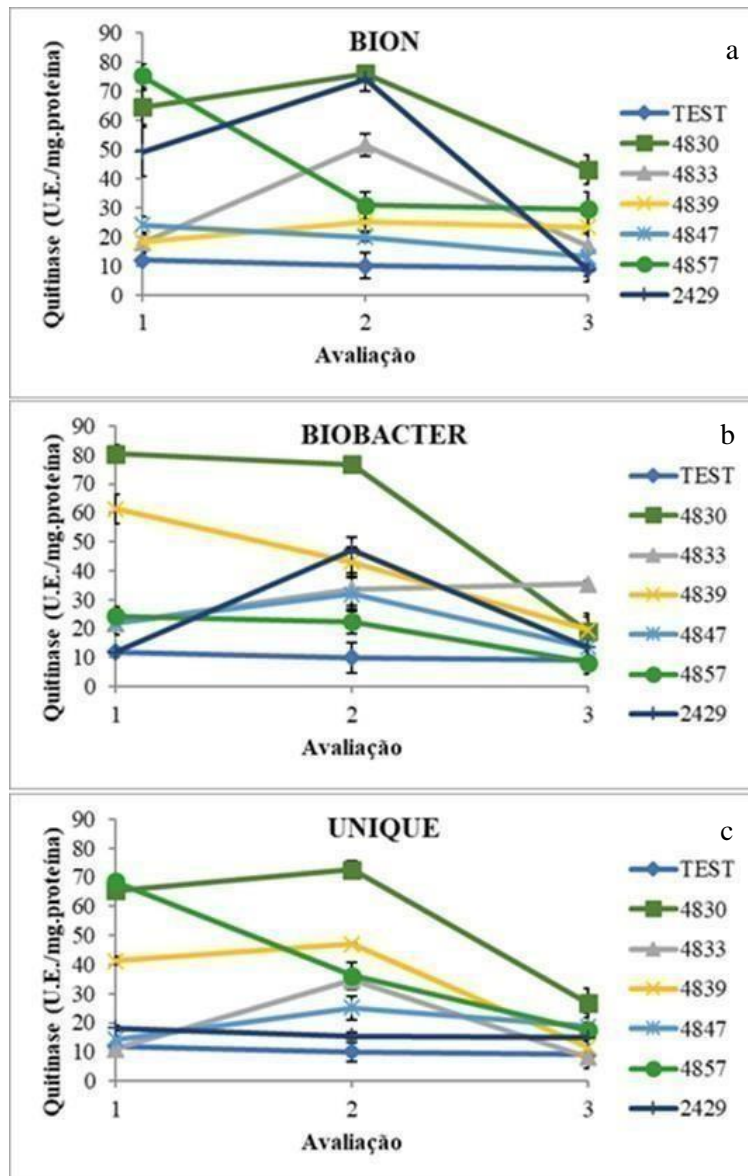
Espécies	MASSA FRESCA DA RAIZ								
	Primeira avaliação			Segunda avaliação			Terceira avaliação		
	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]
<i>M. semiaridus</i>	0,03 aB	0,03 aC	0,03 aA	0,13 aC	0,03 bD	0,04 bB	0,29 aB	0,23 aB	0,15 bA
<i>M. caatinguensis</i>	0,06 aA	0,06 aA	0,03 dA	0,23 bB	0,50 aB	0,04 cB	0,29 bB	0,44 aA	0,10 cAB
<i>M. brasiliensis</i>	0,06 aA	0,03 bC	0,03 bA	0,38 bA	0,65 aA	0,30 bA	0,39 aA	0,34 aA	0,11 bAB
<i>M. nordestinus</i>	0,05 aA	0,04 aB	0,03 bA	0,20 bB	0,05 cD	0,30 aA	0,25 aBC	0,16 abC	0,11 bAB
<i>M. mossoroensis</i>	0,05 aA	0,03 bC	0,03 bA	0,18 aB	0,18 aC	0,09 aB	0,21 bC	0,27 aB	0,10 cB
<i>M. cannonballus</i>	0,04 aB	0,03 aC	0,03 aA	0,05 aC	0,06 aD	0,05 aB	0,07 aD	0,10 aCD	0,15 bA
Espécies	MASSA SECA DA RAIZ								
	Primeira avaliação			Segunda avaliação			Terceira avaliação		
	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]	Bion [®]	BioBacter [®]	Unique [®]
<i>M. semiaridus</i>	0,02 bA	0,02 ab	0,02 bA	0,02 bC	0,02 bD	0,03 aA	0,15 bC	0,20 abC	0,13 bA
<i>M. caatinguensis</i>	0,03 aA	0,04 aA	0,02 aA	0,03 bB	0,24 aA	0,03 bA	0,24 bB	0,40 aA	0,05 cB
<i>M. brasiliensis</i>	0,03 aA	0,02 aB	0,02 aA	0,07 bA	0,13 aB	0,03 cA	0,35 aA	0,30 aB	0,05 bB
<i>M. nordestinus</i>	0,02 aA	0,02 aB	0,02 aA	0,06 aA	0,03 bD	0,03 bA	0,22 aAB	0,06 bD	0,04 bB
<i>M. mossoroensis</i>	0,02 aA	0,02 aB	0,02 aA	0,04 bB	0,06 aC	0,03 bA	0,20 aAB	0,20 aC	0,06 bB
<i>M. cannonballus</i>	0,02 aA	0,02 aB	0,02 aA	0,03 aB	0,03 aD	0,03 aA	0,04 aD	0,06 aD	0,04 aB

*Valores seguidos pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente entre si pelo Teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

3.3 Influência dos produtos comerciais no aumento da produção enzimática

A aplicação do Bion[®] proporcionou uma maior atividade da quitinase (QUI), na pré-semeadura e 7 DAS, sendo mais evidente em plantas inoculadas com as espécies *M. semiaridus* (4830), *M. cannonballus* (2429) e *M. caatinguensis* (4833) (Figura 3A).

Figura 3 – Atividade enzimática da quitinase, em raízes de meloeiro, inoculados com espécies de *Monosporascus* em resposta a aplicação dos produtos comerciais, Bion[®] (a), Biobacter[®] (b) e Unique[®] (c).



Entretanto, para a espécie *M. mossoroensis* (4857), a maior atividade da QUI foi observada na aplicação pré-semeadura (Figura 3A). Já para o Biobacter[®], as plantas inoculadas com o *M. semiaridus* (4830) apresentam maior atividade da QUI, nas fases de pré e 7 DAS, respectivamente (Figura 3B).

Vale destacar que para o *M. brasiliensis* (4839), a atividade da QUI reduziu em função da época de avaliação (Figura 3B). As plantas tratadas com o Unique[®] apresentaram maior atividade da QUI, nas duas primeiras avaliações (Figura 3C). Entretanto, os maiores valores foram observados nas plantas inoculadas com o *M. mossoroensis* (4857), na pré semeadura e o *M. semiaridus* (4830) aos 7 DAS (Figura 3C). Esses resultados sugerem que o aumento da atividade da QUI, promovida pelos eliciadores testados, acontece principalmente nos primeiros dias após as aplicações, bem como em função da espécie de *Monosporascus*. A maior atividade da QUI, nas primeiras avaliações, ocorreu provavelmente devido a indução por voláteis sintetizados preliminarmente (ALMEIDA et al, 2012). A super expressão de genes de QUI, em plantas, tem aumentado a resistência dessas plantas a patógenos, uma vez que a enzima catalisa a hidrólise dos polímeros quitina, componentes principais das paredes celular dos

fungos, podendo apresentar atividade antimicrobiana (VAN LOON, 2006).

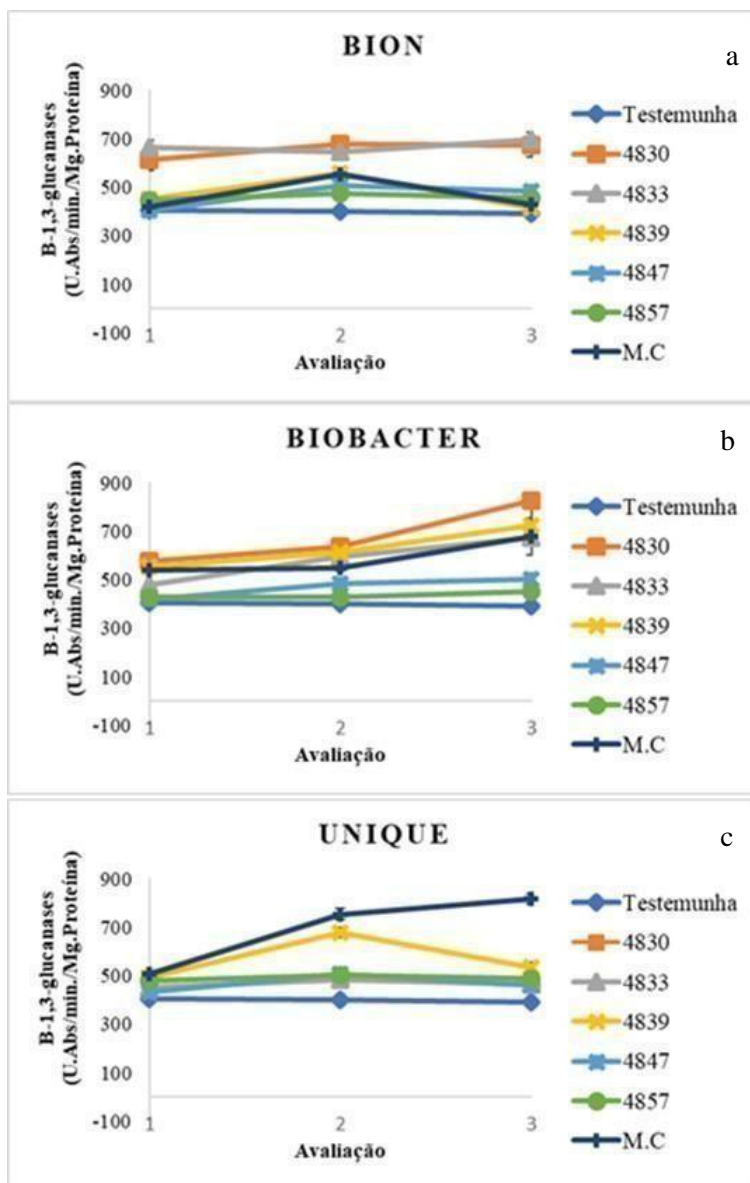
Além disso, grande variedade de QUI pode ser encontrada entre as espécies de fungos, os quais podem produzir essa enzima para degradar o substrato e obter nutrientes que garantam sua sobrevivência, quando submetidos a condições adversas, o que explica a diferença da atividade da QUI, em função das espécies de *Monosporascus* estudadas (HOMTHONG et al, 2016). Resultados semelhantes foram observados por Ji e Kùc (1996), em melão sobre *Colletotrichum lagenarium*. No patossistema caupí-*Macrophomina phaseolina*, a atividade da enzima quitinase mostrou-se efetivamente aumentada nos tratamentos com Bion[®], em associação com o patógeno ou isoladamente (SOBRINHO, 2004).

Sob aplicação do Bion[®], a atividade da enzima glucanase (GLU) foi maior em plantas inoculadas com as espécies *M. semiaridus* (CMM4830) e *M. caatinguensis* (CMM4833) aos 14 DAS (Figura 4A). Porém, quando as plantas foram inoculadas com o *M. cannonballus* (CMM2429) e *M. brasiliensis* (CMM4839), o pico de atividade da GLU ocorreu aos 7 DAS (Figura 4A).

As plantas tratadas com o Biobacter[®] apresentaram maior atividade da GLU aos 14 DAS, com destaque para as que foram inoculadas com o *M. semiaridus* (CMM4830) (Figura 4B). Já com a aplicação do Unique[®], as maiores atividades da GLU foram obtidas

aos 14 DAS em plantas inoculadas com o *M. cannonballus* (CMM2429) e aos 7 DAS com o *M. brasiliensis* (CMM4839) (Figura 4C).

Figura 4 – Atividade enzimática da β -1,3-glicanase em raízes de meloeiro inoculadas com espécies de *Monosporascus* em resposta a aplicação dos produtos comerciais, Bion[®] (a), Biobacter[®](b) e Unique[®](c).



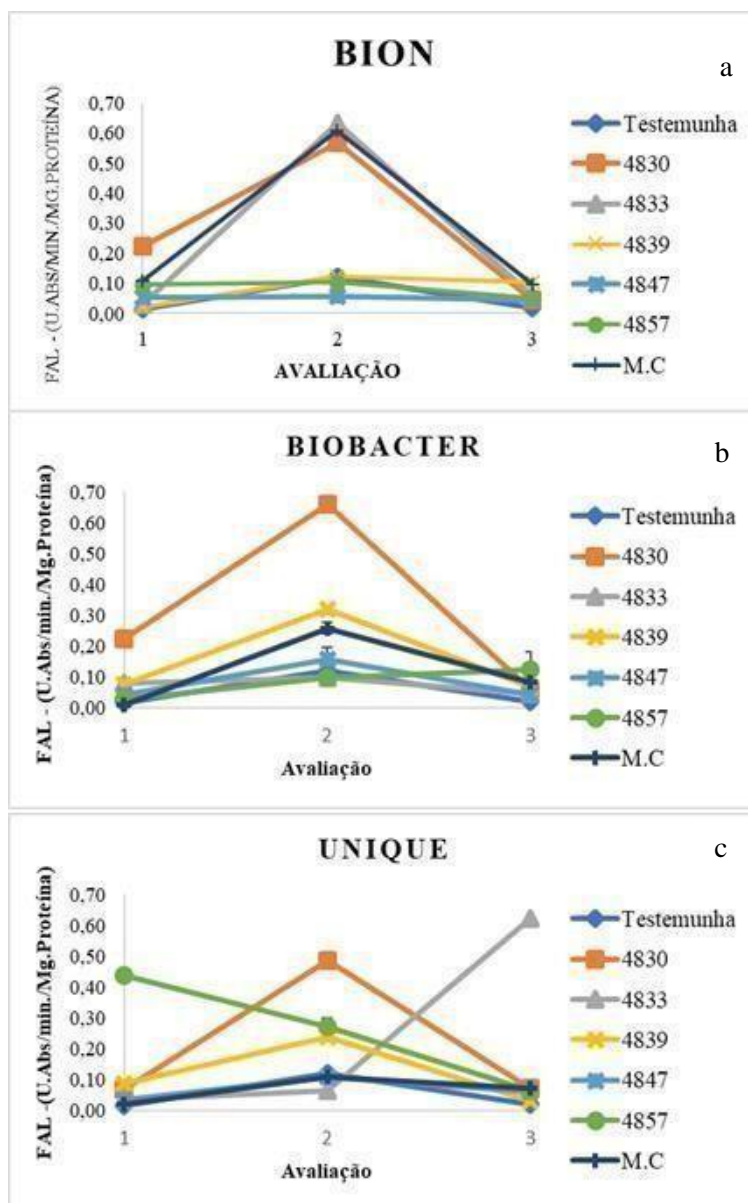
O aumento da atividade da β -1,3-glucanase, nas raízes de meloeiro, em função da aplicação dos indutores de resistência e as espécies de *Monosporascus* evidenciam o papel da β -1,3-glucanase, no mecanismo de defesa do meloeiro contra *Monosporascus* spp., pois o substrato para a enzima, o β -1,3-glucano é um dos principais componentes da parede celular dos fungos (GUPTA et al., 2013). Entretanto, o Bion[®] possui em sua composição o acinbenzolar-S-metil, um análogo do ácido salicílico, o qual é um indutor de resistência de amplo espectro (BURKETOVA et al., 2015). Já o Biobacter[®] e Unique[®], são fertilizantes à base de zinco e cobre, respectivamente, os quais podem agir melhorando o aspecto nutricional das plantas, deixando mais resistente, como também causando danos na parede celular dos fungos.

Esses fatores contribuem para o aumento de enzimas relacionadas com a defesa das plantas. Altos níveis desta enzima estão associados com maior resistência a doenças e, portanto, são úteis marcadores bioquímicos de resistência induzida (OOSTENDORP et al., 2001; BUZI et al., 2004; POZO et al., 2005).

Em plantas de mamoeiro, a indução de resistência à podridão radicular por indutores bióticos e abióticos foi constatada pelos incrementos na atividade da β -1,3-glucanase, após pulverização das plantas com fungicidas, indutores abióticos não fungicidas e com o indutor biótico (*Saccharomyces cerevisiae*) (TAVARES et al., 2009), resultados semelhantes ao do presente estudo. Corroborando com essas afirmações, Tuzun et al., (1989) observaram uma correlação positiva entre indução de resistência a *Phytophthora parasitica* Dastur, em fumo e ativação de β -1,3-glucanase, sugerindo que as plantas induzidas ficam sensibilizadas e respondem mais rapidamente do que as plantas do tratamento controle e que a β -1,3-glucanase é um componente da resposta de defesa da planta para restringir o desenvolvimento do patógeno.

A atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi maior aos 7 DAS sob a aplicação do Bion[®], com destaque para as plantas inoculadas com as espécies *M. caatinguensis* (CMM4833), *M. cannonballus* (CMM2429) e *M. semiaridus* (CMM4830), respectivamente (Figura 5A). Sob aplicação do Biobacter[®] os resultados foram semelhantes, com a maior atividade da FAL observada nas plantas inoculadas com o *M. semiaridus* (CMM4830) (Figura 5B). Em função da aplicação do Unique[®], os maiores valores para a FAL foram obtidos em plantas inoculadas com o *M. caatinguensis* (CMM4833) aos 14 DAS e o *M. semiaridus* (CMM4830) em plantas inoculadas aos 7 DAS (Figura 5C).

Figura 5 – Atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase, em raízes de meloeiro, inoculados com espécies de *Monosporascus* e em resposta a aplicação dos produtos comerciais Bion[®] (a), Biobacter[®], (b) e Unique[®](c).



A maior atividade da FAL aos 7 DAS estar associada tanto ao processo infeccioso proporcionado pelas espécies de *Monosporascus*, como também pelo processo de indução da resistência, já que foi observado comportamento distinto entre os indutores testados. Essa enzima está envolvida no primeiro passo da síntese dos fenilpropanoides, com a conversão de fenilalanina em ácido-trans-cinâmico, o que resulta em compostos como as fitoalexinas e, principalmente, lignina, que conferem resistência à parede celular e atuam como sinalizadores e em respostas de defesa (LORENZETTI et al., 2018).

Alguns autores evidenciam que a ativação da fenilalanina amônia-liase é induzida por outros fatores, como fermento (SALTVEIT, 2000) ou luz (CHEN et al., 2002), ocorrendo o pico da atividade enzimática entre 24 e 48 horas após a indução. Por outro lado, trabalhos com indutores bióticos e abióticos em bananeira (*Musa spp.*) e feijoeiro tem evidenciado o pico de atividade tardiamente, ocorrendo entre 6 e 12 dias após a indução (CAMPOS et al., 2003; SARAVANAN et al., 2004), corroborando com o resultado do presente trabalho, onde o pico de atividade se deu 7 DAS (primeira avaliação). Esses resultados evidenciam o papel da indução de resistência em plantas, uma vez que essa enzima possui um papel muito importante na ramificação do metabolismo primário para formação de metabólitos secundários.

4. CONCLUSÃO

Os produtos Bion[®] e BioBacter[®] aplicados em sementes e plântulas de meloeiro favoreceram a redução da incidência e severidade, quando realizadas três aplicações, com destaque para *M. brasiliensis* e *M. caatinguensis* que não diferiram da testemunha.

Para as variáveis morfológicas, comprimento, massa fresca e massa seca de parte aérea e raiz, os isolados *M. brasiliensis* e *M. caatinguensis* foram os que obtiveram os maiores valores, quando aplicados os produtos Bion[®] e BioBacter[®], corroborando com os resultados de incidência e severidade.

Os produtos comerciais utilizados influenciaram positivamente, aumentando a atividade das enzimas quitinase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanases e, conseqüentemente, favoreceram a redução da incidência e severidade, que por sua vez foram benéficos para manter o desempenho nas características físicas de desenvolvimento da plântula de meloeiro amarelo.

É ideal que os produtos que ativem os mecanismos de defesa da planta sejam aplicados preventivamente, pois uma planta injuriada necessita de maiores taxas metabólicas para manutenção e respiração.

REFERÊNCIAS

AGHDAM, M. S. et al. Impact of salicylic acid on postharvest physiology of fruits and vegetables. In: **Eco-friendly technology for postharvest produce quality**. Academic Press, Cambridge, 2016. p. 243-268.

ALEANDRI, M. P. et al. Effect of chemical resistance inducers on the control of *Monosporascus* root rot and vine decline of melon. **Phytopathologia Mediterranea**, Viterbo Itália, v. 49, n. 1, p. 20, Abr/2010.

ALMEIDA, H. O. et al. Enzimas marcadoras de indução de resistência diferencialmente reguladas em soja resistente e suscetível à ferrugem-asiática-da-soja. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 2, p. 163-172, Fev/2012.

ANDRADE, C. C. L. et al. Indutores de resistência no controle da pinta bacteriana do tomateiro e na atividade de enzimas de defesa. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 28-34, Fev/2013.

BARRETO, C. F. et al. Ácido salicílico na pós - colheita para redução de podridão parda e manutenção qualidade de pêssego 'chiripá'. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo, v. 17, n. 1, p. 50-57, Jan/2016.

BEN SALEM, I. et al. Development of a screening test for resistance of cucurbits and Cucurbita hybrid rootstocks to *Monosporascus cannonballus*. **Tunisian Journal of Plant Protection**, v. 10, n. 1, p. 23-33, Dez/2015.

BOLLER, T. Chemoperception of microbial signals in plant cells. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 46, n. 1, p. 189-214, Jun/1995.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

- BRUCE, T. J. A. et al. Stressful memories of plants: evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, v. 173, n. 6, p. 603-608, 2007.
- BRUTON, B. D.; GÁRCIA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J. Analysis of the relationship between temperature and vine declines caused by *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on muskmelon, **Subtropical Plant Science**, Welasco, v. 51, n. 1, p. 23-28, Jul/1999.
- BRUTON, B. D. et al. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 84, n. 8, p. 907-913, Fev/2000.
- BURKETOVA, L. et al. Bio-based resistance inducers for sustainable plant protection against pathogens. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 994-10041, Nov/2015.
- BUZI, A. et al. Induction of Resistance in Melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by Seed Treatments with Acibenzolar-S-methyl and Methyl Jasmonate but not with Salicylic Acid. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, n. 1, p. 34-42, Jan/2004.
- CABRAL, C. P. GAMA, M.A.S. ALEXANDRE, E.R. MARIANO, R.L.R. SILVEIRA, E.B. Efeito de acibenzolar-S-metil, mananolidossacarídeo e bioflavonoids cítricos no controle de mancha-aquosa e no crescimento do meloeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n.1, p. 119-123, Jan/2010.
- CAMPOS, A. D. et al. Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 15, n. 3, p. 129-134, Dez/2003.
- CAMPOS, A. D. Considerações sobre indução de resistência a patógenos em plantas. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2009, 28 p.
- CHEN, Y.; SHIN, J.; LIU, Z. Effect of light on peroxidase and lignin synthesis in mungbean hypocotyls. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 33-39, Jan/2002.

COLE, D. L. The efficacy of Acibenzolar-S-Methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal diseases of tobacco. **Crop Protection**, Guildford, v. 18, n. 4, p. 267-273, Mai/1999.

CÔTÉ, F. et al. Characterization of binding proteins that recognize oligoglucoside elicitors of phytoalexins in soybean. **Physiologia Plantarum**, v. 93, n. 2, p. 401, Fev/1995.

DOREY, S. et al. Spatial and temporal induction of cell death, defense genes, and accumulation of salicylic acid in tobacco leaves reacting hypersensitively to a fungal glycoprotein elicitor. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, St. Paul, v. 10, n. 5, p. 646-655, Abr/1997.

DURNER, J.; SHAH, J.; KLESSIG, D. F. Salicylic acid and disease resistance in plants, **Trends in Plant Science**, Barking, v. 2, n. 7, p. 266-274, Jul/1997.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4,0. **Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria**, v. 45, n. 2000, p. 235, 2000.

FONTANA, D. C. et al. Aplicação de acibenzolar-s-methyl em trigo no controle alternativo de *Gibberella zea*. **Revista de ciências agronômicas**, Ilha Solteira – SP, v. 28, n. 2, p. 138-151, Jan/2019.

GARCIA, R. M. **Ajuste da combinação entre acibenzolar-s-metil e cobre no controle da mancha bacteriana e retorno econômico no tomate de mesa**. 2019. 31 p. Dissertação (Mestrado em Olericultura) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Morrinhos, Goiás, 2019.

GODARD, J. F. et al. Benzothiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. **Crop Protection**, Rotterdam, v. 18, n. 6, p. 397- 405, Jul/1999.

GUPTA, P.; RAVI, I.; SHARMA, V. Induction of β -1,3-glucanase and chitinase activity in the defense response of *Eruca sativa* plants against the fungal pathogen *Alternaria brassicicola*. **Journal of Plant Interactions**, v. 8, n. 2, p. 155-161, Mar/2013.

CREENCORP BIORGANIKS DE MEXICO AS DE CV. **Histórico**. Saltillo, Coahuila, México. SBC, 2014. Disponível em: <<https://greencorp.mx/producto/biocontrol/biobactericida/biobacter-o/>>. Acesso em: 07 ago. 2021.

HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Responses to plant pathogens, In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W., JONES, R. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, Rockville, Maryland, American Society of Plant Physiologists, p, 1102-1157, 2000.

HEIL, M. et al. Reduced growth and seed set following chemical induction of pathogen defence: does systemic acquired resistance (SAR) incur allocation cost?. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 88, n. 4, p. 645-654, Ago/2000.

HOMTHONG, M. et al. Isolamento e caracterização de quitinase de fungos do solo, *Paecilomyces* sp. **Agriculture and Natural Resources**, v. 50, n. 4, p. 232-242, Jul/2016.

JANOS, D. P. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. **Mycorrhiza**, Québec, v. 17, n. 2, p. 75-92, 2007.

Jl, C.; KUĆ, J. Antifungal activity of cucumber β -1, 3-glucanase and chitinase. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 49, n. 4, p. 257-265, 1996.

JULIATTI, F. C.; DUARTE, R. P.; FREITAS, P. T. de. Acil benzolar (bion) em combinação com fungicidas no controle da mancha de ramularia, ferrugem e podridão de maçãs, efeito na produtividade e qualidade das fibras do algodoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 6., 2007, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2007.

KESSMANN, H. et al. CGA 245704: mode of action of a new plant activator, In: **Internacional Plant Protection Congress**, 1995, The Hague, Netherlands, *Abstracts*, The Hague, 1995, p.2-7.

KNIGHT, S. C. et al. Rationale and perspectives on the development of fungicides. **Annual Review of Plant Pathology**, Palo Alto, v. 35, n. 1, p. 349-372, Jan/1997.

LORENZETTI, E. et al. Indução de resistência à *Macrophomina phaseolina* em soja tratada com extrato de alecrim. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 44, n. 1, p. 45-50, Mar/2018.

LOUWS, F. J. et al. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. **Plant Disease**, v. 85, n. 5, p. 481-488, Mai/2001.

MYRESIOTIS, C. K.; VRYZAS, Z.; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Enhanced root uptake of acibenzolar-S-methyl (ASM) by tomato plants inoculated with selected *Bacillus* plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 77, n. 1, p. 26- 33, Mai/ 2014.

NEGREIROS, A. M. P. et al. Prevalent weeds collected from cucurbit fields in Northeastern Brazil reveal new species diversity in the genus *Monosporascus*. **Annals of Applied Biology**, v. 174, n. 3, p. 349-363, 2019.

OLIVEIRA, M. D. M.; VARANDA, C. M. R.; FÉLIX, M. R. F. Induced resistance during the interaction pathogen x plant and the use of resistance inducers. **Phytochemistry letters**, Amsterdam, v. 15, n. 1, p. 152-158, Mar/2016.

OOSTENDORP, M. et al. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, n. 1, p. 19–28, Jan/2001.

POZO, M. J.; VAN LOON, L. C.; PIETERSE, C. M. J. Jasmonates - signals in plant-microbe interactions. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 23, n. 1, p. 211–222, Jan/2005.

RESENDE, M. L. V. et al. Percepção e transdução de sinais para a ativação de respostas de defesa em plantas contra patógenos. **Percepção e Transdução de Sinais**, v. 15, n. 1, p. 129-197, Jan/2007.

RYALS, J. A. et al. Systemic acquired resistance. **Plant Cell**, v. 8, n. 10, p. 1809-1819, Out/1996.

SAGRO. **Qualidade dos produtos**. 2021. Disponível em: <http://www.sagro.com.br/#produto>. Acesso em: 08 Fev 2021.

SALTVEIT, M. E. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, n. 1, p. 61-69, Dez/2000.

SANTOS, C. M. et al. Seasonal variations of photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L, grown in

semi-humid and semi-arid areas subject to water stress. **Industrial Crops and Products**, v. 41, n. 1, p. 203-213, Jan/2013.

SARAVANAN, T.; BHASKARAN, R.; MUTHUSAMY, M. *Pseudomonas fluorescens* induced enzymological changes in banana roots (cv, Rasthali) against *Fusarium* wilt. **Plant Pathology Journal**, v. 3, n. 2, p. 72-80, Jan/2004.

SIQUEIRA, I. T. D. Indução de resistência por acibenzolar-S-metil em feijão caupi no controle da antracnose, **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 1, p. 76-82, Jan/2019.

SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN JÚNIOR, O. J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, New York, v. 11, n. 1, p. 245-255, Out/2001.

SMITH, C. J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**, London, v. 132, n. 1, p. 1-45, Mai/1996.

SMITH, S. E.; SMITH, F. A.; JAKOBSEN, I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. **Plant Physiology**, Washington, v. 133, n. 1, p. 16-20, Set/2003.

SOBRINHO, A. C. **Patossistema caupi x *Macrophomina phaseolina*: método de detecção em sementes, esporulação e controle do patógeno**. 2004. 139p, Tese (Doutorado Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

STASKAWICZ, B. J. et al. Molecular genetics of plant disease resistance. **Science**, Washington, v. 268, n. 5, p. 661- 667, Mai/1995.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, n. 1, p. 235- 270, Set/1997.

TAVARES, G. M. et al. Indução de resistência do mamoeiro à podridão radicular por indutores bióticos e abióticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 11, p. 1416-1423, Nov/2009.

TÖFOLI, J. G. et al. Ação de acybenzolar-S-methyl isolado e em mistura com fungicidas no controle da requeima da batata. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 749-753, Jul/2005.

TRUMAN, W. et al. *Arabidopsis* systemic immunity uses conserved defense signaling pathways and is mediated by jasmonates. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 03, p. 1075-1080, Jan/2007.

TUZUN, S. et al. Induced systemic resistance to blue mold: early induction and accumulation of β -1,3-glucanase, chitinase, and other pathogenesis-related proteins (b-proteins) in immunized Tobacco. **Physiology and Biochemistry**, v. 79, n. 9, p. 1-5, Jan/1989.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, v. 34, n. 1, p. 68-71, Fev/2006.

VAN LOON, L. C.; REP, M.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, CA, **Anais...** Palo Alto: ARP, v. 44, 2006.

WIRTH, S, J.; WOLF, G. A. Micro-plate colourimetric assay for endoacting cellulase, xylanase, chitinase, 1,3- β -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, n. 26, p. 511-519, Jun/1992.

YAMAGUCHI, I. Activators for systemic acquired resistance. **Fungicidal Activity**, p. 193-219, 1998.