

ERIKA VALENTE DE MEDEIROS

**DENSIDADE POPULACIONAL DE *Monosporascus cannonballus*:  
RELAÇÃO COM A UTILIZAÇÃO DE AGROTÊXTIL, DIFERENTES  
CULTURAS E TEMPO DE CULTIVO**

**Tese apresentada à Universidade Federal  
Rural do Semi-Árido, como parte das  
exigências para obtenção do título de  
Doutor em Agronomia: Fitotecnia.**

ORIENTADOR:

Prof. Dr. RUI SALES JÚNIOR

MOSSORÓ-RN  
2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Ao meu pai (*in memoriam*), grande homem, melhor pai do mundo, pessoa ao qual eu dedico toda uma vida de sonhos e realizações, pelo referencial de ética e honestidade, pelo apoio, estímulo, amor e dedicação para que eu chegasse aqui.

À minha mãe pelo incentivo

**Dedico**

**Ao meu esposo, Gustavo Pereira Duda  
grande incentivador desta conquista e pelo  
companheirismo, apoio e momentos de  
felicidade**

Ofereço

## AGRADECIMENTOS

Às forças superiores que nos impulsiona à seguir em frente todos os dias: Deus e entidades de luz.

Aos meus pais Abidoral Medeiros do Nascimento (*in memoriam*) e Cleide Valente de Medeiros pelo grande incentivo para realização de grandes sonhos e realizações.

À Gustavo Pereira Duda por todo amor, dedicação e compreensão e paciência.

Aos irmãos Bianca Valente de Medeiros e Fábio Welligton Valente de Medeiros, às subrinhas Thaís Nunes de Medeiros e Thalita Nunes de Medeiros e ao cunhado Jefferson Nunes e Silva pelo apoio e acolhida

Ao amigo e orientador, Dr. Rui Sales Júnior, pelo incentivo, respeito, dedicação e amizade e acima de tudo orientação e dedicação para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Sami Jorge Michereff, pelo apoio na execução deste trabalho.

Aos Professores e pesquisadores Glauber Henrique de Sousa Nunes, Cláudia Miranda Martins, Alessandra Monteiro Salviano Mendes e Vander Mendonça pelos ensinamentos e atenção dispensados para o engrandecimento deste trabalho, na participação da banca.

Aos grandes amigos: Cynthia, Thaís, Élson, Cláudia, Juliany, Khaddja, Vander, Django, Mauro, pelo apoio, amizade e incentivo.

Aos amigos do Doutorado Karidja, Jailma, Romeu, Django, Renato, Mauro, Jane, Gilsimar, Damiana, e todos que fizeram parte de um convívio tão agradável e que fez com que dificuldades fossem facilmente superadas.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido – Ufersa, ao Coordenador do programa de Pós-Graduação em Fitotecnia: Francisco Bezerra Neto e todos os outros professores deste programa pela contribuição e auxílio na minha formação profissional.

Aos funcionários da Ufersa: Manoel, Socorro, Otoni, Elídio, Maria José, Mércia e tantos outros.

E a todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

“Eu acredito é na rapaziada  
Que segue em frente e segura o rojão  
Eu ponho fé é na fé da moçada  
Que não foge da fera e enfrenta o leão  
Eu vou à luta com essa juventude  
Que não corre da raia a troco de nada  
Eu vou no bloco dessa mocidade  
Que não tá na saudade e constrói  
A manhã desejada”.

(E vamos à luta: Gonzaguinha).

## **BIOGRAFIA**

ERIKA VALENTE DE MEDEIROS, filha de Abidoral Medeiros do Nascimento e Cleide Valente de Medeiros, nascida no dia 28 de março de 1981 em Recife-Pernambuco. Em fevereiro de 2000, ingressou no curso de Ciências biológicas da Universidade de Pernambuco-UPE e em março do mesmo ano, na Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Universidade que escolheu para cursar. Foi bolsista do PIBIC/ CNPq por três anos, pelo departamento de Antibióticos da UFPE. Graduou-se como licenciada em Ciências biológicas-UFPE em abril de 2004. Em março desse mesmo ano, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia: Fitotecnia, da antiga Escola Superior de Agricultura de Mossoró-ESAM, atualmente Universidade Federal Rural do Semi-árido-UFERSA, como bolsista da CAPES, recebendo o título de mestre em novembro de 2005. Em 2006 ingressa no Doutorado em Fitotecnia da UFERSA. É integrante do corpo docente do curso de Especialização em Saúde Pública e Saúde da Família na FIP- Faculdades integradas de Patos, onde orienta alunos em monografias. Participa de projetos de Iniciação científica, co-orientando alunos de Ciências biológicas da UERN-Universidade Estadual do Rio Grande do Norte e de Agronomia pela UFERSA. É aprovada em concursos públicos para professor Substituto em Plantas daninhas e cultivos agrícolas e Botânica, ambos da UFERSA. É aprovada no concurso para professor efetivo de Bioestatística e março de 2007, assina a carteira como professora DNS III da UNP-Universidade Potiguar, câmpus avançado de Mossoró. Em novembro de 2007 assume a vaga de professor substituto em Botânica pela UFERSA.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	15
<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	19
<b>2.1 <i>Monosporascus cannonballus</i>-aspectos gerais.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Aspectos taxonômicos e morfológicos.....</b>	<b>20</b>
<b>2.3 Condições de desenvolvimento.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4 Patogenicidade.....</b>	<b>22</b>
<b>2.5 Hospedeiros.....</b>	<b>23</b>
<b>2.6 Sintomatologia.....</b>	<b>24</b>
<b>2.7 Danos econômicos.....</b>	<b>25</b>
<b>2.8 Quantificação de ascósporos no solo.....</b>	<b>25</b>
<b>2.9 Infectividade de ascósporos de <i>M. cannonballus</i>.....</b>	<b>28</b>
<b>2.10 Germinação de ascósporos.....</b>	<b>29</b>
<b>2.11 Epidemiologia.....</b>	<b>30</b>
<b>2.12 Controle.....</b>	<b>30</b>
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33



<b>CAPÍTULO II – INFLUÊNCIA DO AGROTÊXTIL SOBRE A DENSIDADE POPULACIONAL DE <i>Monosporascus cannonballus</i> EM SOLO CULTIVADO COM MELANCIA.....</b>	40
RESUMO .....	40
ABSTRACT .....	41
1 INTRODUÇÃO .....	42
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	45
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
4 CONCLUSÕES .....	54
2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55
<b>CAPÍTULO III – <i>Monosporascus cannonballus</i> DENSITY IN SOILS CULTIVATED WITH DIFFERENT CROPS IN THE STATE OF RIO GRANDE DO NORTE, BRAZIL.....</b>	58
ABSTRACT .....	58
RESUMO .....	59
1 INTRODUCTION.....	60
2 MATERIALS AND METHODS.....	64
3 RESULTS AND DISCUSSION.....	66
4 CONCLUSION.....	69
BIBLIOGRAPHIC REFERENCES .....	70
<b>CAPÍTULO IV - DENSIDADE DE ASCÓSPOROS DE <i>Monosporascus cannonballus</i> EM SOLOS COM DIFERENTES TEMPOS DE PLANTIO DE MELOEIRO E SUA RELAÇÃO COM A BIOMASSA</b>	73

<b>MICROBIANA.....</b>	
RESUMO .....	73
ABSTRACT .....	74
1 INTRODUÇÃO .....	75
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	77
<b>2.1 Processamento das amostras para determinação da densidade populacional de <i>M. cannonballus</i>.....</b>	77
<b>2.2 Processamento das amostras para determinação do carbono da biomassa microbiana .....</b>	78
<b>2.3 Análise estatística.....</b>	79
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	80
4 CONCLUSÕES .....	85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	86

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

### CAPÍTULO II

- Figura 1. Densidade de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* ( $\text{g}^{-1}$  solo) em função dos dias após o transplantio. (A) solo com cobertura de agrotêxtil branco gramatura de  $15 \text{ g m}^{-2}$  (B) sem cobertura em solo cultivado com melancia Mickylee..... 49
- Figura 2. Média diária da temperatura do ar (a) e do solo (b) com (TCA) e sem (TSA) cobertura de agrotêxtil branco com gramatura de  $15 \text{ g m}^{-2}$  em função dos dias após o transplantio ao longo do ciclo da cultura da melancia Mickylee..... 52

### CAPÍTULO III

- Table 1. Ascospores population of *Monosporascus cannonballus* in soil samples proceeding from production areas of ten different crops and one uncultivated (Caatinga), located in the cities of Baraúnas, Assú and Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. 2006..... 67

### CAPÍTULO IV

- Figura 1. Densidade de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* por grama em solos sem e com cultivo de meloeiro (*Cucumis melo* L.), em diferentes anos de cultivo (0, 1, 2, 4, 6 e 12 anos), em solos coletados à uma profundidade de 0-20 cm..... 82
- Figura 2. Teor de carbono microbiano em solos sem e com cultivo de meloeiro (*Cucumis melo* L.), em diferentes anos de cultivo (0, 1, 2, 4, 6 e 12 anos), em solos coletados à uma profundidade de 0-20 cm..... 83

## RESUMO

MEDEIROS, Erika valente de. **Densidade populacional de *Monosporascus cannonballus*: relação com a utilização de agrotêxtil, diferentes culturas e tempo de cultivo.** 2008. 89f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2008.

*M. cannonballus* é um fitopatógeno que ataca a raiz do meloeiro em momentos próximos à colheita e possui ascósporos como estrutura de resistência a qual permanece nos solos durante muito tempo. Foram realizados três experimentos no intuito de avaliar diferentes formas de manejo sobre a densidade populacional de ascósporos de *M. cannonballus* em solos do Rio Grande do Norte. O primeiro experimento teve como objetivo avaliar os efeitos da cobertura de planta com agrotêxtil branco de 15 g m<sup>-2</sup> sobre a densidade populacional de *M. cannonballus*, em solo cultivado com melancia. O objetivo do segundo trabalho foi quantificar a densidade populacional do inóculo em solos com diferentes cultivos e um sem cultivo. E o último, avaliar a densidade populacional de *M. cannonballus* em solos com diferentes tempos de cultivo com meloeiro, e sua relação com a biomassa microbiana do solo. No primeiro experimento, o delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados e os tratamentos dispostos em esquema de parcelas subdivididas, com três repetições. As parcelas foram constituídas por utilização ou não do agrotêxtil e as subparcelas pelas épocas de coleta de solo (0, 12, 24, 36, 48 dias após o transplantio). As variáveis analisadas foram densidade de ascósporos, temperatura do solo e do ar. No segundo, as amostras foram coletadas em 10 áreas produtoras de algodão, manga, feijão, mamão, pimentão, melancia, acerola, banana, coco e melão e em uma de área sem cultivo. No terceiro ensaio, as amostras foram coletadas em cinco fazendas produtoras, em áreas com (0, 1, 2, 4, 6 e 12) anos de cultivo de meloeiro. As variáveis analisadas foram densidade populacional de ascósporos de *M. cannonballus* e carbono microbiano do solo. A extração dos ascósporos foi realizada mediante o método de flotação em sacarose modificado e quantificados em microscópio estereoscópico a 60x. A biomassa microbiana foi determinada através da quantificação do carbono microbiano pelo método fumigação-extração. Não houve influência da utilização da cobertura de agrotêxtil perante a densidade de ascósporos de *M. cannonballus* no solo cultivado com melancia, mesmo que tenha proporcionado redução nas temperaturas médias do ar e do solo, sendo uma alternativa eficaz de manejo na produção da melancia Mickylee. Entre as áreas analisadas, a densidade

média de ascósporos foi superior no solo cultivado com meloeiro (espécie hospedeira do patógeno), com 8,09 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo, seguido por médias quantificadas em manga, melancia e acerola, apresentando as médias 2,00; 2,60 e 2,10 ascósporos.g<sup>-1</sup>, respectivamente, na qual foram superiores às médias dos solos cultivados com feijão, pimentão, mamão, algodão, banana e coco, mas não diferiram do nível de ascósporos do solo sem cultivo. No terceiro experimento, a densidade de ascósporos g<sup>-1</sup> de solo de *M. cannonballus* cresce à medida que aumenta o tempo de cultivo de meloeiro, não há relação entre a densidade de *M. cannonballus* e o teor de carbono microbiano do solona qual apresentou maior teor nos primeiros dois anos de cultivo para todas as fazendas analisadas.

**Palavras-chaves:** inoculo, extração de ascósporos, biomassa microbiana.

## ABSTRACT

MEDEIROS, Erika valente de. *Monosporascus cannonballus* **Population density: relation with the use agrotêxtil, different cultures and time of culture.** 2008. 89p. Thesis (Dr in Agronomy: Plant Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2008.

*M. cannonballus* is a phytopathogen that attacks the melon root in next moments the harvest and possess structure of resistance ascospores in which remains in ground during much time. It was carried through three experiments with objective of to evaluate different forms of handling on the *M. cannonballus* ascospores population density in ground of Rio Grande do Norte. The first experiment had as objective to evaluate the effect of the row cover with white polypropylene of 15 g m<sup>-2</sup> on the *M.cannonballus* population density in soil cultivated with watermelon. The objective of second work were to quantify the ascospores population density in soils cultivated with different crops and uncultivated area. And the last one, to evaluate the *M. cannonballus* population density in ground with different times of melon plantation, and the relation with the microbial biomass. In the first experiment, the experimental design was of randomized blocks and the treatments in subdivided parcels scheme, with three replications. The parcels consisted of use or not row cover and subparcelas through the time of soil collected (0, 12, 24, 36, 48 days after the transplanting). The variables evaluates were ascospores density, soil and air temperature. In the second, the soil samples were collected from 10 producing areas of cotton, mango, bean, papaya, chili, watermelon, acerola, banana, coconut and melons and from one uncultivated area. The third experiment the samples was collected in five producing farms, areas with (0, 1, 2, 4, 6 and 12) years of meloeiro culture. The variables analyzed had been ascospores population density of *M. cannonballus* and microbial carbon. Ascospores were extracted through a modified method of flotation in saccharosis and quantified under stereoscopic microscope at 60X. The microbiana biomass was determined through the quantification of microbial carbon for the method fumigation-extraction. There was not influence of the characteristics gotten for the row cover before the ascospores density of *M. cannonballus*, in the soils cultivated with watermelon, exactly that it has proportionate reduction in the average soil and air temperatures, being efficient alternative in the Mickylee watermelon production. Between the analyzed areas, the ascospore density means was higher in cultivated with cantaloupes soil (pathogen hosts), equalling 8.09 ascospores.g<sup>-1</sup>, followed by the means quantified in the mango, watermelon and acerola, presenting the averages 2.00; 2.60; and 2.10

ascosporos.g-1 respectively, in which they had been superior to the averages of ground cultivated with beans, chili, papaya, cotton, banana and coconut, but did not differ from that was presented by the uncultivated soil. In the third experiment, the density of ascospores g<sup>-1</sup> soil of *M. cannonballus* grows to the measure that increases the time of melon culture, it does not have relation between the *M. cannonballus* density and microbial carbon of soil which presented greater content in first the two years of culture for all the analyzed farms.

**Index terms:** inoculum, ascospore extraction, microbiana biomass.

## CAPÍTULO I

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

O fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker (*Ascomycota*, *Sordariomycetidae*) é um importante patógeno radicular do meloeiro (*Cucumis melo* L.) e outras cucurbitáceas.

Sua presença vem limitando a produção desta olerícola em regiões produtoras no Brasil e no mundo (MARTYN & MILLER, 1996; SALES et al., 2003; 2004), haja vista a sua elevada patogenicidade na qual isoladamente ou em associação com outros patógenos, causa a doença colapso, cujos sintomas são amarelecimento, com gradual declínio das ramas, seguido de murcha e morte das plantas na época próxima à formação dos frutos, como consequência da necrose do sistema radicular e perda de muitas raízes secundárias e terciárias (MARTYN & MILLER, 1996).

De fase assexual desconhecida, *M. cannonballus* é um ascomiceto habitante do solo (MEDEIROS et al., 2006b), que apresenta peritécios globosos, pretos, com ascos clavados a piriformes, contendo apenas um ascósporo por asco. Os ascósporos são asseptados, globosos, pretos, lisos, com parede espessa, medem de 30 a 50 µm de diâmetro (SIVANESAN, 1991) e têm capacidade de sobreviver no solo por longos períodos na ausência de hospedeiro, constituindo o inóculo primário para as infecções radiculares (MARTYN & MILLER, 1996; STANGHELLINI et al., 1996; WAUGH et al., 2003).

O monitoramento do inóculo de *M. cannonballus* no solo é uma medida que pode auxiliar no manejo do colapso do meloeiro (MERTELY et al., 1993; WAUGH et al., 2003). Como inexitem meios seletivos para isolamento desse organismo, o método



da extração física pela flotação de sacarose tem sido aplicado com várias modificações para detecção e quantificação dos ascósporos no solo (STANGHELLINI & RASMUSSEN, 1992; MERTELY et al., 1993; BELTRÁN et al., 2005; SALES JR. et al., 2007).

No Brasil, *M. cannonballus* foi detectado pela primeira vez em 2002, em áreas de cultivo de melão nos estados do Rio Grande do Norte (RN) e Ceará (CE) (SALES JR. et al., 2003). Em levantamentos conduzidos nessa região no ano seguinte, o fungo foi isolado de 30% das áreas apresentando colapso (Andrade et al., 2005), evidenciando a magnitude do problema e a necessidade da adoção de medidas integradas de manejo da doença.

Como não existem informações sobre os fatores que fazem com que os níveis populacionais de ascósporos de *M. cannonballus* em solos brasileiros aumentem, objetivou-se nesse trabalho quantificar a densidade populacional de *M. cannonballus* relacionado à utilização de agrotêxtil, diferentes culturas e tempo de cultivo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 *Monosporascus cannonballus*- Aspectos gerais

*Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker é um fitopatógeno que acomete a raiz do meloeiro e, isoladamente ou em associação com outros fitopatógenos causam a síndrome denominada “Colapso” em cucurbitáceas. Foi citado pela primeira vez no Arizona em melões do tipo Cantaloupe, não sendo identificado (TROUTMAN e MATEJKA, 1970). Foi referido apenas no ano de 1974, quando Pollack e Uecker o descreveram em raízes de meloeiro, sendo sua primeira referência. Posteriormente foi descrito uma nova espécie atribuída ao mesmo gênero, *M. eutypoides* (Petrik) Von Arx, com características similares. A diferença entre as espécies é que *M. cannonballus* apresenta de 1 a 2 ascósporos por asca e *M. eutypoides* apresenta de 1 a 3 (SIVANESAN, 1991 b).

Em estudos realizados em Israel, comprovaram que *M. eutypoides* era o agente causal do “Colapso” em meloeiro (REUVENI et al., 1983; KRIKUN, 1985); Atualmente, sabe-se que o *M. cannonballus* é o verdadeiro agente causal desta enfermidade (PIVONIA et al., 1997), porém é aceita a versão que ambos pertencem à mesma espécie, *M. cannonballus* (MARTYN et al., 1993; LOVIC et al., 1995).

Recentemente, outra espécie de tal gênero foi descrita na Espanha, isolados de árvores nativas de solos arenosos como *Helichrysum stoechas*, *Lobularia maritima* e *Ononis natrix*. Essa espécie foi descrita como *M. ibericus* Collado, Gonzáles, Stchigel,

Guarro e Peláez e as principais diferenças em relação à *M. cannonballus* é que possui de 1 a 6 ascósporos por asca e vivem saprofiticamente nas raízes das plantas supracitadas (COLLADO et al., 2002).

Atualmente, *M. cannonballus* encontra-se descrito em diversos países produtores de melão, como Japão, Israel, Espanha, Estados Unidos, Índia, Líbia, Paquistão, Tunísia, Taiwan (MARTYN e MILLER, 1996) Arábia Saudita, Guatemala (COHEN et al., 1999), Honduras, México e Itália (SALES JR., 1999). Sendo, recentemente detectado no Brasil, nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará (SALES JR. et al., 2004).

## **2.2 Aspectos taxonômicos e morfológicos**

*M. cannonballus* é um ascomiceto, pirenomiceto, homotálico, com hifas septadas, hialinas, com largura entre 7,5 e 14  $\mu\text{m}$  (WATANABE, 1979). A fase assexual deste fungo ainda é desconhecida.

São formadores de peritécios na qual possuem formas globosas de 500 $\mu\text{m}$  de diâmetro, e coloração preta, que aparecem no final do ciclo da doença, infiltrados em raízes afetadas (SALES JR., 2002). Tais peritécios formam ascas (GARCIA-JIMÉNEZ et al., 1994). Essas ascas são piriformes, de parede grossa, com tamanho de 56-90 x 30-55  $\mu\text{m}$ , que possui um anel periapical não funcional. *M. cannonballus* possui apenas um ascósporo no interior da asca e esta é uma das características diferenciais entre espécies do gênero *Monosporascus* (BELTRÁN, 2006). Estas ascas desaparecem com o tempo deixando livre os ascósporos que saem através do anel periapical (GARCIA-JIMÉNEZ et al., 1994).

Tais ascósporos possuem forma de uma esfera perfeita, com um diâmetro de 30 a 50  $\mu\text{m}$  e de coloração preta, sendo marrom antes de sua maturação (SIVANESAN, 1991a). O nome *M. cannonballus* é uma alusão referente à sua forma

que lembra uma bala de canhão. Os ascósporos são multinucleados, podendo conter de um a seis núcleos (POLLACK e UECKER, 1974).

Em meio de cultura podem apresentar dois tipos de colônia: a primeira, de rápido crescimento, de cor branca, podendo ficar mais escuras com o tempo, formam peritécios com 20 a 30 dias de cultivo, podendo ser observado de 120 a 259 peritécios/cm<sup>2</sup> (MARTYN et al., 1992). Ao contrário da outra, que apresenta crescimento lento, de coloração amarela, nunca formam peritécios e são de baixa patogenicidade (GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 1994).

### **2.3 Condições de desenvolvimento**

*M. cannonballus* é um fungo adaptado às condições áridas e semi-áridas (MARTYN e MILLER, 1996; COHEN et al., 2000; PIVONIA et al., 2002a; STANGHELLINI et al., 2004, MEDEIROS et al., 2006b).

A temperatura ótima de crescimento é entre 25 e 35°C, sendo inibido em temperaturas acima de 40°C e abaixo de 15°C. Um isolado proveniente da Líbia, obteve seu ótimo de crescimento à 45°C (MARTYN e MILLER, 1996). Sendo, por isso considerado um fungo termófilo (WOLFF, 1996; BRUTON et al., 1999; PIVONIA, 2002a).

Segundo Pivonia et al. (2002b), este caráter termófilo prediz que tal fungo será patogênico apenas em regiões quentes, sendo saprofítico em regiões mais frias. De acordo com Matyn e Miller (1996) a ocorrência de baixas temperaturas e umidade na época de maturação dos frutos pode evitar sérios danos.

Tecnologias que preconizam a exploração intensiva, tais como monocultura, irrigação por gotejamento, aumento da densidade de plantio e uso de cobertura plástica ("mulch"), propiciam as condições favoráveis para o aumento da infectividade dos ascósporos de *M. cannonballus* e do desenvolvimento do colapso (BRUTON, 1998).

Em relação à influência da salinidade diante do desenvolvimento de *M. cannonballus*, esses fungos apresentam tolerância. Problema este enfrentado por diversos tipos de solos encontrados em regiões áridas e semi-áridas (solos desérticos). Estudos realizados por Martyn e Miller (1996) demonstraram que o teor de salinidade que *M. cannonballus* tolera é de 8 a 10% dessas soluções, seja causado por cloreto de sódio ou cloreto de potássio, quando avaliado “in vitro”.

A faixa de pH que permite um melhor crescimento de *M. cannonballus* quando analisado “in vitro” foi entre 6 e 7, podendo crescer até um pH igual à 9 (MARTYN e MILLER, 1996), sendo seu crescimento inibido com valores de pH inferiores à 4.

Entretanto, Andrade et al. (2005) analisando a relação entre frequência de isolamento de *M. cannonballus* em raízes com sintomas de colapso coletadas em áreas produtoras de meloeiro no Rio Grande do Norte e Ceará com o pH do solo, não encontraram correlação significativa.

Medeiros (2005) avaliando a influência de características químicas e físicas do solo sobre a densidade populacional de ascósporos de *M. cannonballus*, observou que algumas características dos solos tais como pH, teores de P disponível, Al, Ca e Mg trocáveis, densidade aparente, densidade real e porosidade possuíam relação com a densidade populacional de *M. cannonballus*, ainda que com pequenos índices de correlação que foram: -0,25; -0,34; 0,41; -0,39; -0,34; 0,41; 0,38 e -0,40, respectivamente.

## **2.4 Patogenicidade**

A patogenicidade de cepas de *M. cannonballus* tem sido motivo de discussão entre a comunidade científica. Bruton et al. (1996) estudaram diferenças do grau de patogenicidade de cepas norte-americanas e espanholas em casa-de-vegetação, utilizando solo naturalmente infestado. Eles verificaram que as cepas espanholas eram

menos virulentas que as norte-americanas. Entretanto, Paniagua (2000) em estudo similar, detectaram cepas espanholas mais agressivas que as norte-americanas.

Em estudo sobre o assunto, alguns pesquisadores não encontraram patogenicidade em isolados estudados (WATANABE, 1979). De nove isolados, Mertely et al (1991), encontrou seis moderadamente patogênicos, dois levemente patogênicos e um não patogênico.

Segundo Pivonia et al.(1997), em experimentos de patogenicidade conduzidos em condições de campo, com inoculação artificial, foram registrados altos índices de mortalidade de plantas de meloeiro, para todas as combinações do qual *Monosporascus* sp. estava envolvido.

Em levantamentos sobre a patogenicidade deste fitopatógeno a meloeiro, foi constatado que de 130 cultivares, 108 eram desde moderadamente até altamente susceptíveis, ao ataque de *M. cannonballus* (WOLFF, 1995).

Em campos da Califórnia, Aegerter et al. (2000) verificaram que *M. cannonballus* reduz o comprimento da raiz em até 93% e parece que estes fungos persistem saprofiticamente nos solos.

Provavelmente, o tipo de cultura que *M. cannonballus* apresenta como a que não forma peritécio e possui baixa patogenicidade, pode estar ligada a presença de material genético extra, como dsRNA ou RNA bacteriano, encontrado em diferentes proporções em todos os isolados que mostraram pouca virulência. A presença destes materiais pode ser consequência de restos de RNA procedentes da replicação de alguns vírus (MARTYN et al., 1993).

## **2.5 Hospedeiros**

*M. cannonballus* é descrito como sendo fitopatígeno de cucurbitáceas em todo o mundo, principalmente melão e melancia (STANGHULLINI et al., 2001; SALES JR. et al., 2002).

Martyn e Miller (1996) estudando a patogenicidade de *M. cannonballus* nos Estados Unidos, verificaram que o mesmo afeta diferentes tipos de plantas da família das cucurbitáceas, sejam elas: *Cucumis melo* L. (melão), *C. sativus* L. (pepino), *Citrullus lanatus* L. (melancia), *Cucurbita pepo* L. (abóbora), *C. moschata* Duschne et Poir (abóbora), *C. maxima* Duch. (moranga), *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. (cabaça) e *Luffa aegyptiaca* Mill (bucha).

Os danos causados por *M. cannonballus* também podem ser observados em plantas que não pertencem à família das cucurbitáceas. Entretanto, Mertely et al., (1993a) afirma que relatos em espécies que não sejam da família das cucurbitáceas pode não ter importância agrícola.

Sivanersan (1991a) o descreveu na gramínea *Triticum aestivum* (trigo), sendo observado também em grandes cultivos como milho (*Zea mays*); sorgo (*Sorghum bicolor*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*) (MERTELY et al., 1993a). Este fungo também foi encontrado como sendo patógeno de papilionáceas como *Medicago sativa* (POLLACK e UECKER, 1974) e em outras espécies como trevo (*Trifolium pratense*), gergelim (*Sesamum indicum*) (SIVANESAN, 1991a), *Iris* sp, *Achyranthes aspera* na Índia (HAWKSWORTH e CICARONE, 1978), tomate (*Lycopersicon esculentum*), algodão (*Gossypium hirsutum*) e brócolis (*Brassica oleracea*).

## **2.6 Sintomatologia**

As infecções começam nas raízes secundárias e posteriormente na raiz principal e, nos casos mais graves, chegam até o colo (MARTYN e MILLER, 1996). Com o avanço da infecção, as raízes ficam pardas, ocorrendo uma perda generalizada

de raízes secundárias (GARCÍA-JIMÉNEZ, 1992), além de uma diminuição do córtex ao redor do cilindro central (MERTELY et al., 1991).

Tais danos acarretam uma diminuição da capacidade da planta em absorver água, causando um desequilíbrio hídrico, provocando o decaimento de ramos e murcha generalizada (MARTYN e MILLER, 1996).

A presença de peritécios pode ser visto no tecido das raízes apodrecidas no final do ciclo da doença (MERTELY et al., 1991; SALES JR. et al., 2001; 2002), facilitando a identificação do agente causal da doença no campo.

## **2.7 Danos econômicos**

O colapso do meloeiro atribuído a *M. cannonballus* Pollack e Uecker é considerado uma doença de importância agrícola, tendo em vista dizimar cultivos da referida cucurbitácea em todo o mundo (SALES JR. et al., 2003; 2004).

Em levantamentos realizados por García-Jiménez et al. (2000), foi constatado que a produção de melão na Espanha diminuiu em torno de 40% em apenas 15 anos, principalmente devido ao colapso, com a predominância de patógenos radiculares como *Acremonium cucurbitarcerum* Alfaro-García, W. Gams et J. García-Jiménez e *M. cannonballus*.

Alcântara et al. (1997), em testes de patogenicidade executados no Vale de Arava (Israel), identificaram *M. cannonballus* como o agente mais agressivo envolvido na referida síndrome.

No Brasil, em cultivos comerciais de meloeiro no Rio Grande do Norte, *M. cannonballus* apresentou índice de frequência de 15% em dois campos de produção



comercial no verão de 2002 (SALES JR. et al., 2003; 2004). Em levantamentos conduzidos nessa região no ano seguinte, o fungo foi isolado de 30% das áreas que apresentaram o colapso (ANDRADE et al., 2005).

## **2.8 Quantificação de ascósporos no solo**

O inóculo primário deste fungo são os ascósporos que são produzidos na superfície das raízes e que se mantém no solo (WAUGH et al., 2003), dessa forma, o gerenciamento desta enfermidade vem sendo feita mediante a detecção e quantificação do inóculo de *M. cannonballus* presente no solo (MERTELY et al., 1993b).

Stanghellini e Rasmussen (1992) e modificado por Mertely et al (1993b) que utilizaram a extração física desses ascósporos do solo através do método de flotação em sacarose, tradicionalmente utilizada para nematóide (JENKINS, 1964), a fim de quantificar densidades populacionais do fungo em estudo. Esses dois métodos são similares e possuem como diferença apenas a velocidade de centrifugação que no caso do primeiro é de 900 g e no segundo, 2000 g.

Entretanto, Beltrán (2001) adicionou algumas modificações nesse método, com obtenção de melhores resultados. Dentre estes está a utilização de uma peneira de 30  $\mu\text{m}$  ao invés de 38  $\mu\text{m}$ , como recomendado. Este autor afirmou obter melhor rendimento, pois nenhum ascósporos passa pela peneira de 30  $\mu\text{m}$ , uma vez que o tamanho deste está entre 30 a 50  $\mu\text{m}$ .

Sales Júnior et al. (2006) ao fazer um comparativo da eficiência de vários tipos de açúcares na extração de ascósporos de *M. cannonballus*, observou que o açúcar comum é tão eficiente quanto a sacarose, barateando assim, os custos com as pesquisas.

Waugh et al. (2000) afirmaram que a distribuição de ascósporos de *M. cannonballus* é bastante uniforme tanto horizontal como verticalmente e constataram

que o sistema radicular de melão, pode chegar a suportar uma produção de  $395.000 \pm 115.000$  ascósporos, sendo uniformemente distribuídos à uma profundidade de 10 a 20 cm.

Em estudos de extração de ascósporos realizados em solos de fazendas produtoras de meloeiro (*Cucumis melo* L.) e solos provenientes de ecossistema de Caatinga, Medeiros et al. (2006b) observaram que havia ascósporos deste fungo em ambiente de Caatinga em solos do Rio Grande do Norte e Ceará e que seu número não diferia daqueles solos cultivados, sendo considerado um habitante natural dos solos. Da mesma forma, outros estudos sobre a biologia de *M. cannonballus* demonstraram que este é um habitante natural de solos (STANGUELLINI et al., 1996).

Um rápido aumento na densidade do inóculo de *M. cannonballus* no solo tem sido associado com a morte das raízes do meloeiro, a partir de duas semanas da colheita e atingindo o máximo com dois a quatro meses após a morte das plantas, o que pode ser consequência da redução nos níveis de nutrientes disponíveis e estímulo à formação de estruturas reprodutivas (WAUGH et al., 2003; STANGHELLINI et al., 2004; BELTRÁN et al., 2005).

Outros fatores, como temperatura, umidade do solo e manejo da cultura, também exercem grande influência sobre a população de *M. cannonballus* no solo. Elevadas densidade de ascósporos têm sido registradas em solos com temperaturas entre 25 e 30 °C (PIVONIA et al., 2002b; WAUGH et al., 2003) e sem saturação de umidade (BELTRÁN et al., 2006).

Em estudo realizado no Texas, o manejo intensivo da cultura do meloeiro, como cultivos sucessivos sem rotação, uso de irrigação por gotejamento e de cobertura plástica (“mulch”), propiciou um rápido aumento da densidade de inóculo de *M. cannonballus* quando comparado ao manejo tradicional, caracterizado pelo uso da rotação de culturas com milho e cebola, irrigação por sulco e solo descoberto (MERTELY et al., 1993b).

No Arizona (EUA), 76% das áreas cultivadas com meloeiro e com histórico da doença apresentaram até 3 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo e somente 3% das áreas apresentaram 6 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo, o máximo registrado. Além disso, a média de duas áreas de deserto sem cultivo foi de 1,08 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo (STANGHELLINI et al., 1996). O nível populacional máximo de *M. cannonballus* no Texas (EUA) foi de 14,40 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo (MERTELY et al., 1993b), na Califórnia (EUA) foi de 2,10 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo (RADEWALD et al., 2004) e na Espanha foi de 2,34 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo (BELTRÁN et al., 2005), todos em áreas cultivadas com meloeiro.

No Brasil, acreditava-se que este fitopatógeno teria sido introduzido por materiais de propagação vindos da Espanha. Entretanto, Medeiros et al. (2006b), realizaram um levantamento do nível populacional de *M. cannonballus* em solos com cultivo de meloeiro e solos de ecossistema Caatinga, verificaram que não existe diferença estatística entre o nível de ascósporos nos dois ambientes. As populações em áreas não cultivadas variaram de 0,18 a 18,30 ascósporos g<sup>-1</sup> de solo, sendo que em 60% das áreas o nível populacional foi superior a 3 ascósporos g<sup>-1</sup> de solo. Em áreas cultivadas com meloeiro, as populações variaram de 0,50 a 26,04 ascósporos g<sup>-1</sup> de solo e 40% das áreas apresentaram níveis superiores a 3 ascósporos g<sup>-1</sup> de solo

## **2.9 Infectividade de ascósporos de *M. cannonballus***

Como o colapso do meloeiro é considerado uma doença monocíclica devido ao patógeno não possuir uma fase anamórfica conhecida e formar ascósporos principalmente no final do ciclo da cultura, a densidade inicial de inóculo de *M. cannonballus* no solo poderia ser relevante para prever os riscos futuros de doença no campo (BELTRÁN et al., 2005).

Ao avaliarem o potencial reprodutivo de *M. cannonballus* no solo, Waugh et al. (2003) concluíram que campos eram considerados problemáticos quando apresentavam no mínimo 2 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo.

Mertely et al. (1993b) afirmaram que a densidade de inóculo é apenas um dos componentes do potencial de inóculo desse microrganismo, que envolve também a viabilidade e a infectividade dos ascósporos.

Embora os ascósporos de *M. cannonballus* possam ser extraídos do solo, não germinam ou raramente germinam em condições de laboratório, o que dificulta determinar quantitativamente a viabilidade de ascósporos de populações residentes no solo (STANGHELLINI et al., 1996).

A infectividade dos ascósporos é difícil de ser avaliada em populações residentes, pois cada propágulo possui sua infectividade inerente, que é influenciada por vários aspectos do solo, como condições de temperatura e umidade, fontes e níveis de nutrientes disponíveis, e atividade microbiana (STANGHELLINI et al., 1996; PIVONIA et al., 2002 a e b; WAUGH et al., 2003; BELTRÁN et al., 2005).

A planta hospedeira também exerce influência sobre a infectividade dos ascósporos de *M. cannonballus*, pela qualidade e quantidade de exsudatos radiculares estimulantes liberados, bem como pelo nível de predisposição à infecção devido ao estresse hídrico (PIVONIA et al., 1997). Portanto, existem muitas influências sobre o potencial de inóculo que podem resultar na ausência de correlação entre densidade populacional de *M. cannonballus* no solo e intensidade do declínio no cultivo (STANGHELLINI et al., 2004).

Além disso, ascósporos de *M. cannonballus* têm capacidade de sobreviver no solo por longos períodos na ausência de hospedeiro, constituindo o inóculo primário para as infecções radiculares (MARTYN e MILLER, 1996; STANGHELLINI et al., 1996; WAUGH et al., 2003).

## **2.10 Germinação de ascósporos**

Ascósporos de *M. cannonballus* germinam na rizosfera de plantas de meloeiro, seja por solo naturalmente infestado ou de produção. Entretanto, pouca ou nenhuma germinação ocorre na rizosfera de melão cujo desenvolvimento se deu em solo anteriormente autoclavado para procedimento da inoculação deste patógeno.

Provavelmente os exsudados da planta atuando isoladamente não estimulam a germinação de *M. cannonballus* e que a microflora do solo pode estar envolvida neste processo. Stanguellini et al. (2000) observaram que os actinomicetos e bactérias Gram-positivas estão envolvidos, de forma direta ou indireta, na indução da germinação de ascósporos, na presença de exsudados de raízes de plantas de melão cantaloupe.

A secreção de enzimas para permitir a penetração do fitopatógeno no tecido do hospedeiro é um fenômeno comum (AGRIOS, 1996). No caso de *M. cannonballus*, a enzima secretada para este fim é a celulase na qual propicia um maior poder de penetração no hospedeiro (BRUTON et al., 1996).

## 2.11 Epidemiologia

A doença causada por *M. cannonballus* denominada “Colapso das ramas” é uma doença monocíclica completando seu ciclo ao longo do ciclo de cultivo do hospedeiro (MARTYN e MILLER, 1996).

A capacidade do micélio vegetativo atuar como inóculo primário das infecções é significativamente inferior à dos ascósporos (TSAY et al., 1999). Os ascósporos são os inóculos primários que germinam e infectam as raízes de plantas susceptíveis, sendo favorecido pelos exudados do sistema radicular da planta em um ambiente favorável, com temperaturas de 25 a 30°C.

Nos estágios avançados da enfermidade, com as raízes encontram-se muito deterioradas e quando a temperatura não é favorável, os peritécios são formados nos tecidos dessas raízes e estima-se que uma única planta é capaz de produzir cerca de 400.000 ascósporos (WAUGH et al., 2003).

## 2.12 Controle

Algumas tentativas de controle ainda são pouco eficazes, tendo em vista tratar-se de um patógeno radicular, que só reflete a sua sintomatologia quando a planta se apresenta no período de desenvolvimento e enchimento dos frutos, o que vem a ocasionar sintomas de declínio de ramas que, em casos mais avançados da doença, pode levar a morte da planta.

Algumas espécies de *Trichoderma* têm sido utilizadas como agentes biocontroladores de fitopatógenos, devido à sua capacidade competitiva, seja pelo rápido crescimento micelial ou ao antagonismo direto, envolvendo enrolamento e penetração de hifas, somado à secreção de antibióticos deletérios ao fitopatógeno (JEFFRIES e YOUNG, 1994).

Alternativas de controle biológico para *M. cannonballus* foi estudada por Batten et al. (2000) utilizando cepas de *Trichoderma* e *Chaetomium*. Esses autores obtiveram resultados bastante promissores, ainda que em condições controladas.

Zhang et al. (1999) em experimento em casa-de-vegetação confirmaram a eficiência do controle biológico de *M. cannonballus*, por *T. virens* Rifai.

Sales Júnior et al. (2007) avaliaram o potencial do controle biológico *M. cannonballus* pela utilização de *Chaetomium* inoculados em bandejas para produção de melão pele de sapo e afirmaram que a infestação do substrato com 4 e 8 x 10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup> de *Chaetomium* proporcionou controle satisfatório do fitopatógeno alvo.

A fumigação com brometo de metila vem sendo a única forma de controle eficaz em algumas zonas produtoras de cucurbitáceas, como é o caso do Valle do Arava em Israel (STANGUELLINI et al., 2001). Porém, tal medida pode causar um grande impacto ambiental (COHEN et al., 1999; STANGHELLINI et al., 2004), motivo pelo qual será proibida a utilização do referido produto até o ano de 2015 (STANGHELLINI et al., 2004). No Brasil, sua produção e comercialização encontram-se proibidas desde 31 de dezembro de 2006, através da Instrução Normativa conjunta de 10 de setembro de 2002 (MAPA, 2007). Algumas medidas vem sendo testadas para substituir tal produto. Cohen et al. (2000) testaram medidas combinadas de fumigação e solarização, aproveitando o caráter termófilo do *M. cannonballus*, sendo tão eficaz quanto a utilização do brometo de metila.

Outros fumigantes também estão sendo testados como é o caso de 1,3-dicloropropeno e a combinação deste com cloropicrina, embora sejam menos eficientes que o brometo de metila (MILLER et al., 1992).

Diversos métodos de controle cultural vêm sendo estudados, entre eles a utilização de enxerto de meloeiro sobre abóbora (*Cucurbita* spp.) (Cohen et al., 2000) e a eliminação de restos de cultivo, para evitar o aumento do nível populacional de inóculo no solo (STANGHELLINI et al., 2004).

Medeiros et al. (2006 c) ao avaliarem os ingredientes ativos difenoconazole, fluazinam, tiofanato metílico, piraclostrobina + metiram, cresoxim-metílico, chlorothalonil, trifluozole e propiconazole sobre a eficiência no controle “in vitro” de um isolado *M. cannonballus* proveniente de área produtora do Rio Grande do Norte, observaram que o Fluazinam foi o que apresentou maior eficiência, na concentração  $0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , seguido de Propiconazole.

Esse resultado também foi observado por Cohen et al. (1999) que, testando 29 ingredientes ativos, observaram que apenas os ativos fluazinam e kresoxym-metil conseguiram inibir 100% o crescimento “in vitro” de *M. cannonballus*. Dados esses que foram confirmados em campo, mostrando que ao utilizar o fluazinam houve uma redução de 87% de plantas com sintomas de colapso.

A obtenção de moléculas ativas eficientes também vem sendo estudada. Neste sentido, compostos tiazolidínicos são importantes por apresentarem atividades farmacológica, inseticida, herbicida e fungicida (LIU et al., 2000). O composto tiazolidínico Tiazolidina-2,4-diona foi avaliado perante o controle “in vitro” de quatro isolados de *M. cannonballus* e um de *Trichoderma* sp. em diferentes concentrações, sendo um composto promissor no controle de *M. cannonballus* uma vez que inibiu eficazmente o desenvolvimento deste fungo “in vitro” e foi seletivo, uma vez que não interferiu no desenvolvimento de *Trichoderma* sp. (MEDEIROS et al., 2006 a), agente de controle biológico de *M. cannonballus* (SALES JR. et al., 2007).



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEGETER, B. J.; GORDON, T.R.; DAVIS, R.M. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in Califórnia. **Plant Disease**, v. 84, n.3, 2000.

AGRIOS, G.N. **Fitopatología**. México: Ed. Uteha-Noriega Editores, 1996. 838p.

ALCANTARA, T. P.; RASMUSSEN, S.L. STANGHELLINI, M. E. Biological characterization of *Monosporascus cannonballus*. **Phytopathology**, v. 87, n. 3, 1997.

ANDRADE, D.E.G.T.; MICHEREFF, S.J.; BIONDI C.M.; NASCIMENTO, C.W.A.; SALES JÚNIOR, R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 31, n. 4, p. 327-333, 2005.

BATTEN, J. S.; SCHOTHOF, K.G.; LOVIC, B.R.; MILLER, M. E.; MARTYN, R. D. Potential for biocontrol of *Monosporascus* root rot/vine decline under greenhouse conditions using hypovirulent isolates of *Monosporascus cannonballus*. **European Journal of Plant Pathology**, v.106, n.10, p.639-649, 2000.

BELTRÁN, R. **Aspectos ecológicos y patológicos de *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker**. (Monografía). 2001, 102 f. Universidad Politécnica de Valencia. 2001.

BELTRÁN, R. **Estudios epidemiológicos y de patogenicidad de *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker**. 2006. 315f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) Universidad Politécnica de Valencia, Espanha, 2006.

BELTRÁN, R.; VICENT, A.; SALES JÚNIOR, R.; GARCÍA-JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J. Population dynamics of *Monosporascus cannonballus* ascospores in marsh soils in eastern Spain. **European Journal of Plant Pathology**, v. 113, p. 357-365, 2005.

BRUTON, B.D. *Phomopsis* black rot and puple stem. In: ZITER, T.A.; HOPIKINS, D. L.; THOMAS C.E. Eds. **Compendium of Cucurbit Disease**, Minesota, p. 52-53, 87p., 1996.

BRUTON, B.D. Soilborne diseases in Cucurbitaceae: Pathogen virulence and host resistance. **In: CUCURBITACEAE '98**. McCreight J., Alex., Va., 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. 1999.

COHEN, R. PIVONIA, S.; BURGER, J. EDELSTEIN, M.; GAMLIEL, A.; KATAN, J. Toward integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. **Plant Disease**, v.84, n. 5 p. 496-505. 2000.

COHEN, R.; PIVONIA, S.; SHTIENBERG, D.; EDELSTEIN, M.; RAZ, D.; GERSTIL, Z.; KATAN, J. Efficacy of fluazinam in suppression of *Monosporascus cannonballus*, the causal agent of sudden wilt of melons . **Plant Disease**, v. 83, p.1137-1141, 1999.

COLLADO, J. GONZÁLEZ, A. PLATAS, G., STCHIGEL, A.M., GUARRO, J. E PELÁEZ, F. *Monosporascus ibericus* sp. nov., and endophytic ascomycete from plantas on saline soils, with observations on the position of the genus based on sequence analysis of the 18S rDNA. **Micological Research**, v.106, n.3, p.118-127, 2002.

GARCÍA-JIMÉNEZ, J. Secaimento de ramas por *Macrophomina* (*M. phaseolina*).In: Díaz Rufiz, J. R. Y García-Jiménez, J. (eds). **Enfermedades de las Cucurbitáceas en España**: Valencia: S.E.F.-PHYTOMA. 1994. p. 54-56.

GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J.; MARTÍNEZ-FERRER, G.; VELÁQUEZ, M. T.; ALFARO, A. Evolución del aspecto de la raíz de melón y de su micoflora asociada en una parcela afectada de muerte súbita. **Phytoma España**, v.41, p. 13-18. 1992.

GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL J.; SALES, R.; JORDÁ, C.; BRUTON BD, Fungal pathogens associated whith melon collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, v.30, p.169-273, 2000.

HAWKSWORTH, D.L.; CICCARONE, A. Studies on a species of *Monosporascus* isolated from triticum. **Mycopathologia**, Netherlands-New York, v.66, n.3, p.147-151, 1978.

JEFFRIES, P.; YOUNG, T.W.K. **Interfungal parasitic relationships**. Cambridge: University Press, 1994. 296p.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease**, v. 48, p. 692, 1964.

KRIKUN, J. Observations on the distribution of the pathogen *Monosporascus eutypoides* as related to soil temperature and fertigation. **Phytoparasitica**, v. 13, p.3-4, 1985.

LIU, S.; QUIAN, X.; SONG, G.; CHEN, J.; CHEN, W. Fluorine containing heterocyclic compounds: synthesis of 6-substituted-aryl-1,2,4-triazolo[5,1-b] 1,3,5-thiadiazim-7-one derivates. **Journal of Fluorine Chemistry**, Japan, v. 105, p. 111-115, 2000.

LOVIC, B.R.; MARTYN, R.D. E MILLER, M.E. Sequence analysis of the ITS regions of rDNA in *Monosporascus* spp. to evaluated its potencial for PCR-mediated detection. **Phytopathology**, v. 85, n.6, p. 655-661, 1995.

MARTYN, R.D.; LOVIC, B.R.; MILLER, M.E. Evidence that *Monosporascus cannonballus* and *M. eutypoides* may be synonymous. **Plant Disease**, v. 12 p. 1347. 1993.

MARTYN, R.D.; MERTELY, J.C.; MILLER, M.E.; KATSAR, C.; BAASIRI, M.E. Morphology and germination of *Monosporascus cannonballus* ascospores. **Phytopathology**, v. 82, p.1115, 1992.

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

MEDEIROS, E.V. **Densidade de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* em solos de Caatinga e de Cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará e testes de controle *in vitro***. 2005. 98f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2005.

MEDEIROS, E.V; ALBUQUERQUE, J.F.C.; MICHEREFF, S. J.; SALES JÚNIOR, R. NUNES, G.H.S. Controle de *Monosporascus cannonballus* por tiazolidina-2,4-diona e

efeito sobre o agente de controle biológico *Trichoderma* spp. **Caatinga**, v.19, n.1, p.44-50, 2006 a.

MEDEIROS, E.V., SALES JÚNIOR, R., MICHEREFF, S.J.; BARBOSA, M.R. Quantificação de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* em solos não cultivados de Caatinga e em áreas de cultivo de melão do Rio Grande do Norte e Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.500-504. 2006 b.

MEDEIROS, E.V.; SALES JÚNIOR, R.; MICHEREFF, S. J. Eficiência de fungicidas no controle “in vitro” de *Monosporascus cannonballus*. **Caatinga**, v.19, n.4, p.360-368, 2006 c.

MERTELY J.C., MARTYN R.D. MILLER M.E.; BRUTON B.D. The role of *Monosporascus cannonballus* and other fungi in a root rot disease of muskmelon. **Plant Disease**, v.75, n.11, p. 1133-1137, 1991.

MERTELY, J.C.; MARTYN, R.D.; MILLER, M.E.; BRUTON, B.D. An expanded host range for the muskmelon pathogen *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, v. 77, p.667-673. 1993a.

MERTELY, J.C.; MARTYN, R.D.; MILLER, M.E.; BRUTON, B.D. Quantification of *Monosporascus cannonballus* ascospores in three commercial muskmelon fields in south Texas. **Plant Disease**, v. 77, p.766-771. 1993b.

MILLER, M.E.; MARTYN, R.D.; BRUTON, B.D. Yield of muskmelon (*Cucumis melo*) as affected by fumigants in fields infested with *Monosporascus cannonballus*. **Phytopathology**, V.82, n.10, p.1091. 1992.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA.Sislegis – Sistema de Consulta a Legislação.Julho,2006.Disponível em:<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2958>>Acesso em 11 de nov. de 2007.

PANIAGUA, A. G. **Histopatología del ataque a raíz de melón. Estudios sobre la patogenicidad de cepas de *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker aisladas de melon.** 2000. 86f., Tese (Doutorado em Fitopatología) Universidad Politécnica de Valencia, Espanha, 2000.

PIVONIA, S.; COHEN, R.; KAFKAFI, U.; BEM ZE'EV, I. S.; KATAN, J. Sudden wilt of melons in Southern Israel: fungal agentes and relationship with plant development. **Plant Disease**, v.81, n.11, 1997.

PIVONIA, S., COHEN, R.; KATAN, J.; KIGEL, J. Effect of fruit load on the water balance of melon plants infected with *Monosporascus cannonballus*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 60, p. 39-49, 2002a.

PIVONIA, S., COHEN, R.; KIGEL, J.; KATAN, J. Effect of soil temperature on disease development in melon plants infected by *Monosporascus cannonballus*. **Plant Pathology**, v. 51, p. 472-479, 2002b.

POLLACK F.G.; UECKER F. A.; *Monosporascus cannonballus*, an unusual Ascomycete in cantaloupe roots. **Mycologia**, v. 66, p.346-349, 1974.

RADEWALD, K.C., FERRIN, D.M. E STANGHELLINI, M.E. Sanitation practices that inhibit reproduction of *Monosporascus cannonballus* in melon roots left in the field after crop termination. **Plant Pathology**, v. 53, p.660-668, 2004.

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.

SALES JÚNIOR, R. **Secuencia del ataque de patógenos fúngicos a raíz de melón. Histopatología de la infección por *Acremonium cucurbitacearum*** Alfaro-García, W. Gams et J. García-Jiménez. 1999. Tese (Doutorado em fitopatología)-Universidade Politécnica de Valencia. Espanha, 1999.

SALES JÚNIOR, R., ARMENGOL, J., VICENT, A. E GARCÍA-JIMÉNEZ, J. Evaluación de daños en raíces de melón y sandía y frecuencia de aislamiento de *Acremonium cucurbitacearum* y *Monosporascus cannonballus* en una parcela afectada de colapso. **Boletín de Sanidad Vegetal Plagas**, v.27, p. 177-163, 2001.

SALES JÚNIOR, R., BELTRÁN, R., MICHEREFF, S.J., ARMENGOL, J., GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; MEDEIROS, E.V. Análisis de distintos tipos de azúcares en el método de extracción de ascosporas de *Monosporascus cannonballus* en suelo. **Fitopatologia Brasileira**, v.1, p.185-187, 2006.

- SALES JÚNIOR, R., BELTRÁN, R., VICENT, A, ARMENGOL, J., GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; MEDEIROS, E.V. Controle biológico de *Monosporascus cannonballus* com *Chaetomium*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.070-074, 2007.
- SALES JR., R., NASCIMENTO, I.J.B., FREITAS, L.S., BELTRÁN, R., ARMENGOL, J., VICENT, A.; GARCIA-JIMÉNEZ, J. First report of *Monosporascus cannonballus* on melon in Brazil. **Plant Disease**, v.88, p. 84, 2004.
- SALES JR., R.; OLIVEIRA, O.F.; SENHOR, R.F.; ALVES, M.Z. *Monosporascus cannonballus* agente causal do colapso em plantas de melão no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n.5, p. 567, 2003.
- SALES JR., R.; VICENT, A.; ARMENGOL, J.; GARCIA-JIMÉNEZ, J.; KOBORI R.F. Comportamento de cultivares de meloeiro e melancia inoculados com *Acremonium cucurbitacearum* e *Monosporascus cannonballus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n.2, p. 206-210, 2002.
- SIVANESAN, A. *Monosporascus cannonballus*. **Mycopathologia**, v.114, p.53-54, 1991a.
- SIVANESAN, A. *Monosporascus eutypoides*. **Mycopathologia**, v.114, p.55-56, 1991b.
- STANGHELLINI, M.E.; KIM, D.H.; WAUGH, M. Microbe-mediated germination of ascospores of *Monosporascus cannonballus*. **Phytopathology**, v.90, p. 243-247, 2000.
- STANGHELLINI, M.E., KIM, D.H.; RASMUSSEN, S.L. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. **Phytopathology**, v.86, p. 509-514, 1996.
- STANGUELLINI, M.E.; KIM, D.H.; WAUGH, M.M.; RADEWALD, K.C.; SIMS, J.J.; OHR, H.D.; MAYBERRY, K.S.; TURINI, T.; MCCASLIN, M.A. Vine decline of melons caused by *Monosporascus cannonballus*: I. preplant disease management strategies. **Phytopathology**, V. 91 p. 84, 2001.
- STANGHELLINI, M.E.; RASMUSSEN, S.L. A quantitative method for the recovery of ascospores of *Monosporascus cannonballus* from field soil. **Phytopathology**, v.82, p.1115, 1992.

STANGUELLINI, M.E.; WAUGH, M.M.; RADEWALD, K.C.; KIM, D.H.; FERRIN, D.M.; TURINI, T. Crop residue destruction strategies that enhance rather than inhibit reproduction of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Pathology**, V. 53 p. 50-53, 2004

TROUTMAN, J.L. E MATEJKA, J.C. Three fungi associated with cantaloupe roots in Arizona. **Phytopathology**, v.60, p.1317, 1970

TSAY, J.G. CHEN, R.S.; TUNG, B.K. Survival of *Monosporascus cannonballus* in the field soils. **Plant Pathology Bulletin**, v. 8, n.3, p.121-124, 1999.

WATANABE, T. *Monosporascus cannonballus*, an ascomycete from wilted melon roots undescribed in Japan. **Transactions Mycological Society of Japan**, Boca Raton, Florida, v.20, n.6, p.312-316, 1979.

WAUGH, M.M.; STANGUELLINI, M.E.; KIM, D. Population dynamics of *Monosporascus cannonballus*. **Phytopathology**, v. 90, n.6, p.82, 2000.

WAUGH, M. M.; KIM, D,H; FERRIN, D. M; STANGHELLINI, M. E; Reproductive potential of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, v.87, p. 45-50, 2003.

WOLFF, D.W. Evaluation of melon germoplasm 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 2000**, 6, Málaga, Espanha, p. 224-228, 1996.

WOLFF DW, LESKOVAR DI, BLACK MC, MILLER ME. Differential fruit load in melon (*Cucumis melo* L.) affects shoot and root growth, and vine decline symptoms. **Hortscience**, v.32, p. 526, 1997.

ZHANG, J.X., BRUTON, B.D., HOWELL, C.R.; MILLER, M.E. Potential of *Trichoderma virens* for biocontrol of root rot and vine decline in *Cucumis melo* L. caused by *Monosporascus cannonballus*. **Subtropical Plant Science**, v.51, p. 29-37. 1999.

## CAPÍTULO II

### INFLUÊNCIA DO AGROTÊXTIL SOBRE A DENSIDADE POPULACIONAL DE *Monosporascus cannonballus* EM SOLO CULTIVADO COM MELANCIA

#### RESUMO

O fungo *M. cannonballus* é um importante patógeno radicular que ocasiona a síndrome denominada colapso em cucurbitáceas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da cobertura de planta com agrotêxtil branco de 15 g m<sup>-2</sup> sobre a densidade populacional de *M. cannonballus*, em solo cultivado com melancia. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas, com três repetições. As parcelas foram constituídas por utilização ou não do agrotêxtil e as subparcelas pelas épocas de coleta de solo (0, 12, 24, 36, 48 dias após o transplantio). As variáveis analisadas foram densidade de ascósporos, temperatura do solo e do ar. Não houve influência da utilização da cobertura de agrotêxtil perante a densidade de ascósporos de *M. cannonballus* no solo cultivado com melancia uma vez que não houve diferenças significativas desde a primeira coleta.

**Palavras-chave:** *Citrullus lanatus*, extração de ascósporos, inóculo, temperatura



## ABSTRACT

### INFLUENCE OF THE ROW COVER ON THE POPULATION DENSITY OF *Monosporascus cannonballus* IN SOIL CULTIVATED WITH WATERMELON

The fungus *M. cannonballus* is an important root pathogen that causes collapse in cucurbitaceas. The present work had as objective to evaluate the effect of the row cover with white polypropylene of 15 g m<sup>-2</sup> on the population density of *M. cannonballus* in soil cultivated with watermelon [*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsu & Nakai]. The experimental design was of randomized blocks using parcels subdivided scheme with three replications. The parcels consisted of use or not row cover and subparcelas through the time of soil collected (0, 12, 24, 36, 48 days after the transplanting). The variables evaluated were ascospores density, soil temperature and air temperature. There was not influence of the characteristics gotten for the row cover before the ascospores density of *M. cannonballus*, in the soils cultivated with watermelon that did not have significant differences since the first collection.

**Index terms:** *Citrullus lanatus*, ascospores extraction, inoculum, temperature.

## 1 INTRODUÇÃO

A melancia (*Citrullus lanatus* (Thumb) Matsu e Nakai) é uma das olerícolas mais apreciadas em todo o mundo. O Brasil possui uma área plantada de 78. 232 hectares, sendo produzida praticamente em todos os estados, destacando-se como os principais produtores os estados da Bahia, São Paulo e Rio Grande do Sul (IBGE, 2006).

Para suprir esta demanda, os produtores brasileiros vêm investindo em novas tecnologias a fim de aumentar a produtividade e qualidade dos produtos, como, por exemplo, a utilização da cobertura de agrotêxtil que além de aumentar a produtividade vêm sendo uma alternativa na redução no número de aplicações de agroquímicos, por permitir que a cultura permaneça sem contato com o meio externo durante parte do seu ciclo.

O agrotêxtil, também chamado de “não tecido”, é confeccionado a partir de longos filamentos de polipropileno que são colocados em camadas e soldados entre si por temperaturas apropriadas, constituindo-se num material muito leve e de resistência suficiente para sua utilização na agricultura, permitindo a troca gasosa entre o ambiente externo e o ambiente interno e passagem de água (ABINT, 2005), além do material agir como uma barreira contra pragas, cria um microclima favorável ao crescimento e desenvolvimento das culturas (HERNÁNDEZ & CASTILLA, 1993).

Na região Nordeste mais especificamente no pólo agrícola Mossoró/Assu, o agrotêxtil já é utilizado há, aproximadamente, cinco anos nas culturas do meloeiro e da melancieira, sobre as plantas, desde o transplântio até início da floração, com o objetivo de reduzir a incidência de pragas (principalmente mosca-branca e minadora). Entretanto, em algumas cultivares tem-se verificado um aumento do teor de sólidos solúveis totais. Essa proteção evita conseqüentemente, a entrada de algumas viroses nos primeiros 30 dias de ciclo da cultura, principalmente aquelas transmitidas por mosca-branca e pulgões.

A utilização de tecnologias como a implantação de “mulch”, introdução de novos híbridos, somada as outras práticas culturais tais como: transplântio, irrigação de alta freqüência, incremento na densidade de plantio, ausência de rotações de cultura, nem sempre são as mais adequadas para obtenção de uma boa produtividade, pois pode gerar um ambiente favorável ao desenvolvimento de alguns fitopatógenos que vivem no solo, tais como *M. cannonballus* (BRUTON, 1998)

Esse fungo é um importante patógeno radicular, sendo um dos principais responsáveis pelo colapso do meloeiro e melancieira, em regiões áridas e semi-áridas em todo mundo (MARTYN & MILLER, 1996; STANGUELLINI et al., 2003).

No Brasil, o primeiro relato foi verificado em cultivos comerciais de meloeiro no Rio Grande do Norte, onde *M. cannonballus* apresentou índice de freqüência de 15% em dois campos de produção comercial de melão no verão de 2002 (SALES JÚNIOR et al., 2003).

Acreditava-se que a introdução do referido patógeno tinha sido feita por materiais de propagação contaminados, vindos da Espanha, onde *M. cannonballus* é um fator limitante da produção de meloeiro. Entretanto, em estudos de prospecção da densidade populacional de ascósporos em solos do Rio Grande do Norte e Ceará, este fungo foi identificado também em ambiente de ecossistema de Caatinga, não sendo, portanto, introduzido (MEDEIROS, 2005). Da mesma forma, outros estudos sobre a

biologia de *M. cannonballus* demonstraram que este é um habitante natural de solos (STANGUELLINI et al., 1996).

É considerado um fungo termófilo, uma vez que é favorecido por condições de altas temperaturas, entre 25 e 35°C (WOLFF, 1996; PIVONIA et al., 1997).

Os inóculos primários responsáveis pela infecção são os ascósporos que são produzidos em peritécios de raízes infectadas, apresentam peritécios globosos, pretos, com ascas clavadas a piriformes, contendo apenas um ascósporo por asca. Portanto, o gerenciamento da doença causada por este pode ser realizado pela detecção e quantificação dos ascósporos no solo por extração física pelo método flotação em sacarose (SALES JÚNIOR et al., 2006).

Heo et al., (2001) fazendo um levantamento da densidade populacional de solos cultivados com diversas cucurbitáceas, observou que em solos cultivados com melancia apresentaram 0,26 ascósporos g<sup>-1</sup> de solos provenientes de Ichom, enquanto que em Kwangju, 0,27 ascósporos g<sup>-1</sup>, ambos na Coreia. Estes autores também fizeram a distribuição vertical dos níveis de ascósporos para as mesmas cucurbitáceas, mostrando que a 10 cm de profundidade havia 0,38 ascósporos g<sup>-1</sup> de solo cultivado com melancia enquanto que a 20 e a 30 cm de profundidade, apresentava 0,1 e 0,3, respectivamente.

Como não há relatos sobre a influência do agrotêxtil sobre a densidade populacional de patógenos no solo, somado ao fato desta tecnologia estar ganhando importância no setor agrícola, principalmente na cultura do melão e melancia, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do uso do agrotêxtil sobre a densidade populacional de *M. cannonballus* em solo cultivado com melancia.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na horta do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido em Mossoró-RN, no período de agosto a dezembro de 2005, em solo classificado de acordo com Embrapa (1999) como Argissolo Vermelho-amarelo Eutrófico. Da área experimental foram retiradas amostras de solo, na camada de 10-20 cm, cuja análise química foi realizada conforme Embrapa (1997) revelou os seguintes resultados: pH (água 1:2,5) = 8,2; Ca = 4,35  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Mg = 0,7  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; K = 0,41  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Na = 0,22  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  e P = 119,98  $\text{mg dm}^{-3}$ .

O município de Mossoró está situado a 18 m de altitude, a 5°11' de latitude sul e 37°20' de longitude oeste. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é BSw<sup>h</sup>, isto é, seco e muito quente, com duas estações climáticas: uma seca que vai geralmente de junho a janeiro, e outra chuvosa, de fevereiro a maio, apresentando temperatura média anual de 27,4°C, precipitação pluviométrica anual irregular com média de 673 mm e umidade relativa de 68,9% (CARMO FILHO et al., 1991).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas (2 x 5) no tempo, com três repetições. As parcelas foram constituídas por utilização ou não do agrotêxtil (branco com gramatura de 15  $\text{g m}^{-2}$ ) e as subparcelas pelas épocas de coleta de solo (0, 12, 24, 36, 48 dias após o transplântio - DAT). A parcela experimental foi composta por três fileiras de 15 m de comprimento no espaçamento de 2,0 x 0,5 m, perfazendo uma área de 90  $\text{m}^2$  e área total de 540  $\text{m}^2$ .

O preparo do solo constou de aração e gradagem, seguido do sulcamento em linhas, espaçadas de 2 m e profundidade de 0,30 m. As adubações foram realizadas com base na análise do solo, sendo aplicado em fundação 4 t ha<sup>-1</sup> do composto orgânico polifétil®. A adubação de cobertura foi realizada diariamente via água de irrigação com 91 kg ha<sup>-1</sup> de N, nas formas de uréia, ácido nítrico e nitrato de cálcio e 126 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O nas formas de cloreto de potássio e sulfato de potássio, iniciada a partir do quinto dia após o transplântio. O sistema de irrigação adotado foi por gotejamento, constituído de uma linha lateral por fileira de plantas com gotejadores tipo autocompensante, com vazão média de 1,4 L h<sup>-1</sup>, espaçados de 0,30 m e distância entre linhas de 2 m com irrigações realizadas diariamente, e as lâminas determinadas com base na evapotranspiração da cultura (ALLEN et al., 1998).

A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido para 128 mudas, preenchidas com substrato comercial. O transplântio foi realizado aos 12 dias após a semeadura, quando as mudas apresentavam duas folhas definitivas, no espaçamento 2,0 x 0,5 m. A cultivar utilizada foi a MickyLee com ciclo em torno de 60 a 80 dias. Após o transplântio, nos tratamentos com agrotêxtil, as plantas foram cobertas e permaneceram por um período de 24 dias (quando teve início o florescimento da melancia). Como tratamentos culturais foram realizadas capinas manuais e aplicação de defensivos de acordo com as recomendações técnicas adotadas na região para a melancieira.

Para análise da densidade de ascósporos de *M. cannonballus* foram coletadas seis amostras simples na qual foram coletadas numa profundidade de 10 a 20 cm, onde se encontra a maior parte dos ascósporos de *M. cannonballus* (MERTELY et al., 1993). Estas foram secas e peneiradas em malha de 2 mm afim de que fossem retirados os resíduos. A extração de ascósporos de *M. cannonballus* foi realizada pelo método de flotação em sacarose (BELTRÁN et al., 2005).

As amostras foram peneiradas em uma malha de 250  $\mu\text{m}$ , eliminando-se as partículas retidas. Posteriormente, 20 g de solo peneirado foram colocadas em 500 mL de água e agitados durante 5 minutos. Em seguida, passada por peneiras com malhas de 75 e 30  $\mu\text{m}$ . As partículas retidas na malha de 30  $\mu\text{m}$  foram lavadas em água corrente e centrifugadas à 900 g, durante 4 min. O sobrenadante foi descartado e as partículas dissolvidas em 40 mL de solução de sacarose à 50 % e centrifugada à 900 g, durante 2 min. As partículas restantes foram novamente dissolvidas em sacarose 50 % e centrifugadas. Passou-se o sobrenadante por uma malha de 30  $\mu\text{m}$  e as partículas retidas foram distribuídas em placas de Pétri, procedendo-se à contagem dos ascósporos característicos em microscópio estereoscópio a 60x.

Durante o ciclo da cultura, para o acompanhamento de alguns fatores microclimáticos, foi instalada uma mini-estação meteorológica equipada com dataloggers, conectado a sensores de temperatura do solo (15 cm de profundidade), temperatura do ar (15 cm acima da superfície do solo) nas áreas com e sem agrotêxtil.

Os dados dos níveis populacionais de ascósporos de *M.cannonballus* foram transformados em  $\sqrt{x+1}$ , submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Foram estimadas curvas de regressões, tendo as épocas de coleta do solo como variável independente. Modelos exponencial, logarítmico, quadrático e polinomiais foram testados, tendo sido selecionados com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e no quadrado médio dos desvios de regressão.

Visando comparar os valores da densidade de ascósporos de *M. cannonballus* com as demais variáveis avaliadas, foi efetuada análise de correlação de Pearson, ao nível de 5% de probabilidade.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

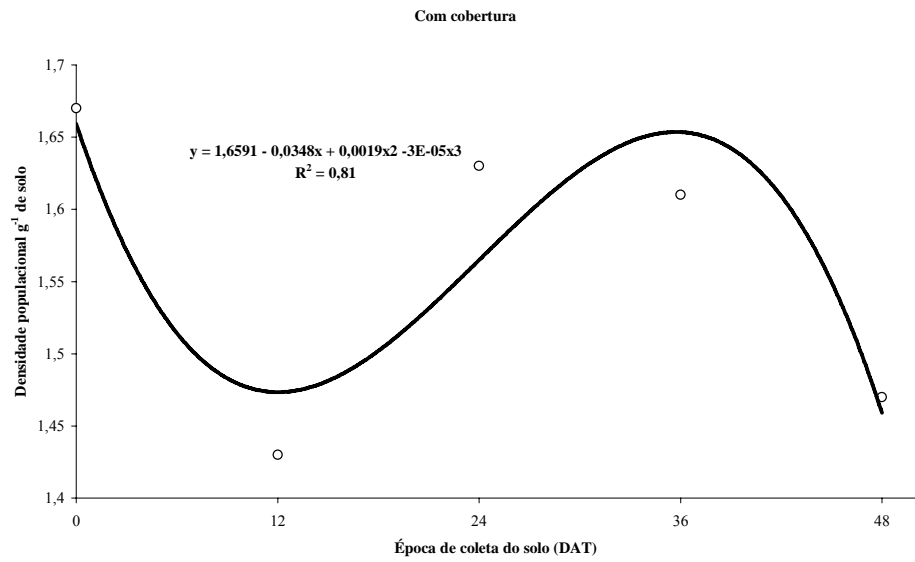
Foram observados níveis de ascósporos de *M. cannonballus* no solo estudado, antes mesmo de ser instalado o experimento, na primeira coleta, com média de aproximadamente 1,66 ascósporos  $g^{-1}$  de solo. Não houve interação significativa entre os fatores estudados e os tratamentos com e sem cobertura com agrotêxtil não influenciaram significativamente na densidade populacional de *M. cannonballus*.

Modelos polinomiais foram os que melhor se ajustaram aos dados para descrever a variação sofrida pela densidade de ascósporos nos períodos analisados (Figura 1 a e b).

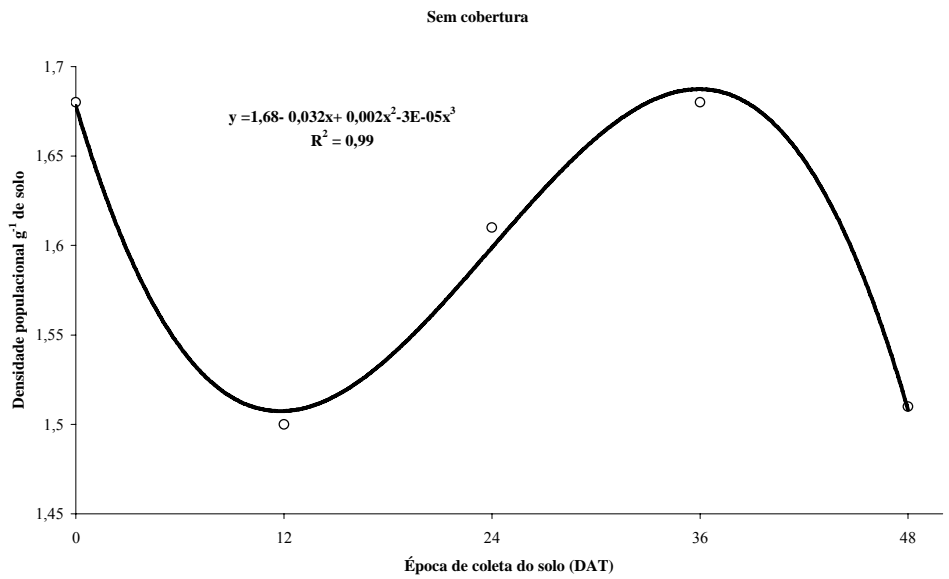
Na época em que a cultura esteve protegida, ou seja, 24 dias após o transplântio, os níveis populacionais de ascósporos de *M. cannonballus* apresentaram médias de 1,56 ascósporos. $g^{-1}$  de solo para o tratamento com cobertura e de 1,60 ascósporos. $g^{-1}$  de solo para o tratamento sem cobertura.

Após a retirada da cobertura, para o tratamento que estava coberto a densidade média de ascósporos  $g^{-1}$  de solo na última coleta foi de 1,4 e de 1,5 para o tratamento sem agrotêxtil.





A)



B)

**Figura 1.** Densidade de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* ( $\text{g}^{-1}$  solo) em função dos dias após o transplantio. (A) solo com cobertura de agrotêxtil branco gramatura de  $15 \text{ g m}^{-2}$  (B) sem cobertura em solo cultivado com melancia MickyLee.

No Brasil, ainda não existe um parâmetro que indique um limiar de risco do número de ascósporos necessários para causar doença. Waugh et al. (2003) concluíram que campos cultivados com meloeiro eram considerados problemáticos quando apresentavam no mínimo  $2 \text{ ascósporos.g}^{-1}$  de solo. Caso esse risco fosse considerado, este solo estaria no limiar de risco, uma vez que apareceram níveis pouco inferiores à média limite, porém sem ocorrência de sintomas, podendo vir a ser patogênico e apresentar sintomas de doenças em cultivos sucessivos.

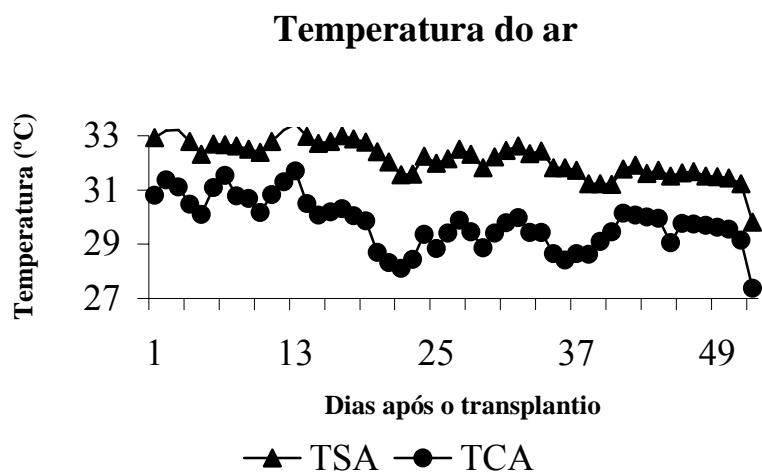
Entretanto, pouco se sabe sobre qual o fator responsável pelo aumento da infectividade e virulência destes ascósporos. Em estudo de prospecção de áreas cultivadas com meloeiro com e sem histórico da doença no Rio Grande do Norte e Ceará, áreas que apresentam histórico de colapso ocasionado por *M. cannonallus* apresentaram médias  $7,94 \text{ ascósporos.g}^{-1}$  de solo, enquanto que áreas sem histórico de colapso, apresentaram níveis significativamente inferiores com média de  $2,17 \text{ ascósporos.g}^{-1}$  de solo (MEDEIROS et al., 2006). Entretanto, a densidade de inóculo inicial é um dos fatores que deve estar associado com outros que a favoreçam, uma vez que em experimentos realizados por Stanguellini et al. (1996), observaram que a densidades populacionais de *M. cannonballus* em solos de plantio comercial de meloeiro que estava sendo afetado, era similar à densidade em solos nativos, indicando que existe algum fator que predisponha à infecção.

Neste experimento, os solos cultivados com melancieira sob proteção de agrotêxtil apresentaram ascósporos e o referido fungo foi identificado, em associação com outros patógenos, em isolamento realizado em meio de cultura batata dextrose-água. Entretanto, não foi observado sintomas de colapso na planta, o que pode ser explicado pelo fato da melancia ser pouco susceptível ao *M. cannonballus* como foi

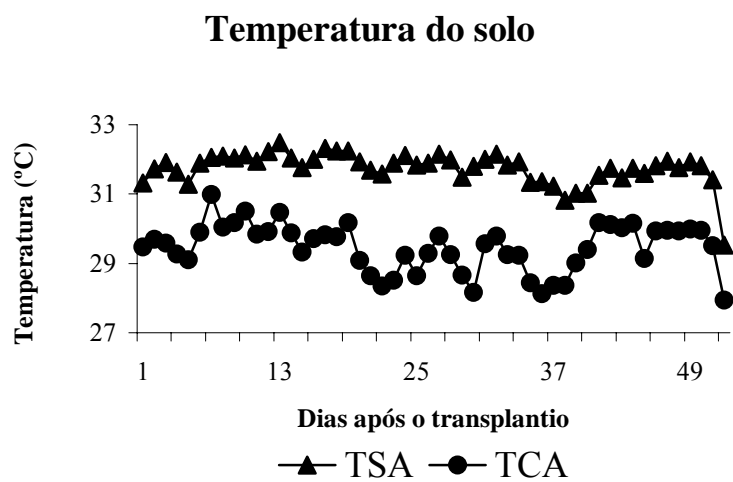
observado por Sales Júnior et al. (2002) que obteve um índice geral de doença ocasionado por *M. cannonballus* de 4,4 a 2,2 dentre 19 cultivares de melão, enquanto que nas cultivares de melancia Charleston Gray e Crimson Sweet obtiveram média de índice geral de doença de 1,1 e 1,3, respectivamente, com porcentagem de reisolamento abaixo de 40%.

O nível de ascósporos não se correlacionou significativamente com a temperatura do solo e do ar em ambos tratamentos com e sem cobertura. No período em que a cultura da melancia permaneceu coberta, ou seja, até 24 DAT, a diferença máxima da temperatura média diária do ar entre os dois ambientes foi de 5,32°C, onde a temperatura média com agrotêxtil (TCA) foi de 30,24°C e sem agrotêxtil (TSA) de 32,65°C. Após esse período (retirada da cobertura), a diferença máxima da temperatura média do ar entre os dois tratamentos foi de 5,25°C, com 29,34 e 31,76°C de média para a TAC e TAS, respectivamente (Figura 2).

O comportamento da temperatura média diária do solo (15 cm de profundidade) foi semelhante ao da temperatura média diária do ar, pois a temperatura do solo sem agrotêxtil (TSA) foi superior à temperatura do solo com cobertura de agrotêxtil (TCA), cujos valores médios durante o período em que a cultura permaneceu coberta foram de 31,94°C e 29,65°C, respectivamente, com diferença máxima da temperatura entre os dois ambientes de 4,14°C. Após a retirada da cobertura, a diferença máxima da temperatura média do solo entre os dois tratamentos foi de 4,21°C, com média de 29,29°C (TCA) e 31,58°C (TSA) (Figura 2b).



A)



B)

**Figura 2.** Média diária da temperatura do ar (a) e do solo (b) com (TCA) e sem (TSA) cobertura de agrotêxtil branco com gramatura de 15 g m<sup>-2</sup> em função dos dias após o transplântio ao longo do ciclo da cultura da melancia Mickylee.

Em condições climáticas da Espanha, Otto (1997) verificou que a temperatura do ar e do solo sob o agrotêxtil foram maiores que em ambiente natural na fase inicial de crescimento das espécies cultivadas (alface, couve-chinesa, beterraba e espinafre), com diferenças de até 5,5 e 2,2°C para temperaturas do ar e do solo, respectivamente. Entretanto com o crescimento das culturas, os valores da temperatura entre os dois ambientes tenderam a se igualar, tanto para a temperatura do ar como do solo. Para o cultivo do feijão-vagem, em Ponta Grossa (PR), as temperaturas do ar e do solo foram maiores sob agrotêxtil em relação ao ambiente natural, durante todo o ciclo da cultura, com diferenças médias entre ambientes de 2,63 e 1,97°C, respectivamente, para a temperatura do ar e do solo (PEREIRA et al., 2003). Segundo Otto et al. (2000), a intensidade dessas modificações depende da época do ano, do desenvolvimento da cultura e da espécie cultivada.

Elevada densidade de ascósporos de *M. cannonballus* têm sido registradas em solos com temperaturas entre 25 e 30° C (WAUGH et al., 2003) e sem saturação de umidade (BELTRÁN et al., 2005). Porém, neste experimento, a diferença máxima da temperatura média do ar e do solo entre os dois tratamentos e entre os períodos analisados (com e sem a cobertura de agrotêxtil), não foi suficiente para provocar diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre os níveis populacionais de *M. cannonballus*.

Estudos em cultivos sucessivos numa mesma área em que seja adotada a prática da utilização do agrotêxtil são necessários a fim de se verificar o comportamento deste fungo ao longo do tempo sob proteção da cobertura.

#### **4 CONCLUSÕES**

Não houve influência da utilização da cobertura de agrotêxtil na densidade de ascósporos de *M. cannonballus* no solo cultivado com melancia, mesmo que tenha proporcionado redução nas temperaturas médias do ar e do solo, sendo uma alternativa eficaz de manejo na produção da melancia Mickylee, podendo participar de um programa de manejo integrado de pragas e doenças.

#### **5 AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo apoio financeiro (Proc.477787/2006-1).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABINT. **Agrotêxtil: uma nova alternativa de proteção para a agricultura.** Disponível em: <<http://www.abint.org/paginas>>. Acesso em: 18 ago. de 2005.

ALLEN, R. G.; PEREIRA, L.S.; RAES, D.; SMITH, M. **Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements.** Rome: FAO, (FAO, Irrigation and Drainage Paper, 56), 1998.300p.

BELTRÁN, R., VINCENT, A., SALES JR., R., GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J. Population dynamics of *Monosporascus cannonballus* ascospores in marsh soils in eastern Spain. **European Journal of Plant Pathology**. v. 113, p.357-365. 2005.

BRUTON, B.D. Soilborne diseases in Cucurbitaceae: Pathogen virulence and host resistance. *In*: **CUCURBITACEAE '98**. McCreight J., Alex., Va, 1998. 143-166 p.

CARMO FILHO; ESPÍNOLA SOBRINHO, J. F.; MAIA NETO. **Dados meteorológicos de Mossoró.** Mossoró: ESAM/FGD, 110p. (Coleção Mossoroense, série c, 630). 1991.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo.** 2ª ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997.212p.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Rio de Janeiro, 1999. 412 p.

HERNANDÉZ, J; CASTILLA, N. El semiforzado cubiertas flotantes. **Hortofruticultura**, v.4: p. 34-36, 1993.

HEO, H.; RYU, K.; LEE, Y. Cultural characteristics and ascospores density in soil of *Monosporascus cannonballus* on Cucurbitaceae plants. **Plant Disease**, v.7, p.16-19, 2001.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 23 de out. de 2006

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

MEDEIROS, E.V. **Densidade de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* em solos de Caatinga e de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará e testes de controle *in vitro***. 2005. 98f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2005.

MEDEIROS, E.V.; SALES JÚNIOR, R.; MICHEREFF, S.J. BARBOSA, M. R. Quantificação de Ascósporos de *Monosporascus cannonballus* em Solos não cultivados de Caatinga e em áreas de cultivo de melão do Rio Grande do Norte e Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, p.500-504. 2006.

MERTELY, J.C., MARTYN, R.D., MILLER, M.E.; BRUTON, B.D. Quantification of *Monosporascus cannonballus* ascospores in three commercial muskmelon fields in south Texas. **Plant Disease**. v. 77, p.766-771.1993.

OTTO, R. F. **Cubiertas de agrotexil en especies hortícolas: balances termicos, evapotranspiracion y respuestas productivas**. 1997. 175 f. (Tesis Doctoral) Universidad de Córdoba, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y Montes. Córdoba, Espana. 1997.

OTTO, R. F.; GIMENEZ, C.; CASTILLA, N. Modificações microclimáticas sob proteção de polipropileno cultivado com espécies hortícolas em Córdoba, Espanha. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.18, n.3, p.2004 – 211, 2000.

PEREIRA, A. V.; OTTO, R. F.; REGHIN, M. Y. Respostas do feijão-vagem cultivado sob proteção com agrotêxtil em duas densidades de plantas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.21, n.3, p.564 – 569. 2003.

PIVONIA, S; COHEN,R.; KAFKAFI, U; BEN ZE'EV IS, KATAN J. Sudden wilt of melons in southern Israel: fungal agents and relationship with plant development. **Plant Disease**. v.81, p.1264-1268. 1997.

SALES JÚNIOR, R., BELTRÁN, R., MICHEREFF, S.J., ARMENGOL, J., GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; MEDEIROS, E.V. Ascosporas de *Monosporascus cannonballus* en Suelo. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v.31, p.185-187. 2006.



SALES JR., R.; VICENT, A.; ARMENGOL, J.; GARCIA-JIMÉNEZ, J.; KOBORI R.F. Comportamento de cultivares de meloeiro e melancia inoculados com *Acremonium cucurbitacearum* e *Monosporascus cannonballus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.2, p.206-210. 2002.

SALES JR., R.; OLIVEIRA, O.F.; SENHOR, R.F.; ALVES, M.Z. *Monosporascus cannonballus* agente causal do colapso em plantas de melão no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v.28, n.5, p. 567. 2003.

STANGHELLINI, M.E., KIM, D.H.; RASMUSSEN, S.L. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. **Phytopathology**. v.86, p.509-514. 1996.

STANGHELLINI, M.E.; FERRIN, D.M.; KIM, D.H.; WAUGH, M.M.; RADEWALD, K.C.; SIMS, J.J.; OHR, D.C. Application of preplant fumigants via drip irrigation systems for the management of root rot of melons caused by *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**. v.87, n.10, p.1176-1178. 2003.

WAUGH, M.M., KIM, D.H., FERRIN, D.M.; STANGHELLINI, M.E. Reproductive potential of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease** v.87, p.45-50. 2003.

WOLF, D.W. Evaluation of melon germoplasm for resistant to *Monosporascus* root rot/vine decline symptomexpression in melon (*Cucumis melo* L.). In: **Cucurbits toward 2000: EUCARPIA MEETING ON CUCURBIT GENETCS AND BREEDING**, 6, Málaga, Espanha, p. 224-228. 1996.

### CAPÍTULO III

#### *Monosporascus cannonballus* DENSITY IN SOILS CULTIVATED WITH DIFFERENT CROPS IN THE STATE OF RIO GRANDE DO NORTE, BRAZIL

#### ABSTRACT

This work aimed to quantify *Monosporascus cannonballus* ascospores population density in soils cultivated with different crops. The soil samples were collected from 10 producing plots cultivated with cotton, mango, beans, papaya, chili, watermelon, acerola, banana, coconut and cantaloupe melons, and from one uncultivated area, located in the Rio Grande do Norte State, Brazil. Ascospores were extracted by means of a modified method of flotation in saccharosis and quantified under stereoscopic microscope at 60X. Ascospores of *M. cannonballus* were detected in all studied soil samples and the means differed significantly ( $P < 0.05$ ) among the sampled areas. Ascospore average density mean was significantly higher in the soil cultivated with cantaloupes melons (pathogen hosts), reaching 8.09 ascospores  $g^{-1}$ , followed by the means densities quantified in the mango, watermelon and acerola areas, with 2.00; 2.60 and 2.10 ascospores  $g^{-1}$ , respectively. These results did not differ significantly among them, but differed significantly from the means quantified in the areas cultivated with beans, chili, papaya, cotton, banana and coconut, which, in turn, did not differ significantly from the results of by the uncultivated soil.

**Index terms:** ascospore extraction, inoculum, Vine decline.

## RESUMO

### DENSIDADE DE *Monosporascus cannonballus* EM SOLOS SOB DIFERENTES CULTIVOS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL

O objetivo deste trabalho foi quantificar a densidade populacional de *Monosporascus cannonballus* em solos com diferentes cultivos. As amostras foram coletadas em 10 áreas produtoras de algodão, manga, feijão, mamão, pimentão, melancia, acerola, banana, coco e melão e em uma de área sem cultivo, localizadas no Rio Grande do Norte, Brasil. A extração dos ascósporos foi realizada mediante o método de flotação em sacarose modificado e quantificados em microscópio estereoscópico a 60x. Ascósporos de *M. cannonballus* foram detectados em todas as amostras de solo analisadas e houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na densidade média de ascósporos entre as áreas analisadas. A densidade média de ascósporos foi significativamente superior no solo cultivado com meloeiro (espécie hospedeira do patógeno), com 8,09 ascósporos  $g^{-1}$  de solo, seguido por manga, melancia e acerola que não diferiram significativamente entre si, apresentando, 2,00; 2,60 e 2,10 ascósporos  $g^{-1}$ , respectivamente, não diferindo significativamente entre si, mas diferindo entre as médias quantificadas nas áreas com feijão, pimentão, mamão, banana e coco que, por sua vez, não diferiram significativamente daquele apresentado pelo solo não cultivado.

**Palavras-chave:** extração de ascósporos, inóculo, morte súbita.

## 1 INTRODUCTION

The fungus *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker is a soilborne pathogen which incites root injury and causes a disease known as vine decline, which can take the form of crown rot, root rot, sudden death, sudden wilt, wilt, and vine collapse (BRUTON et al., 2000).

Vine decline, caused by *M. cannonballus*, is a destructive disease that affects plant growth, development and reproductive output of melons and watermelon areas mainly in arid and semi-arid regions of the world (MARTYN & MILLER, 1996; AEGETER et al., 2000). This fungus attacks plant roots and modifies their characteristics and pattern of growth and development. The symptoms include yellowing of older leaves and a general decline and death of plants when fruits approach maturity, following death of the crown leaves and a gradual decline of the vine as the plant approaches maturity. Sometimes, root symptoms include rotting of secondary and feeder roots and reddish or corky lesions on the taproot (AEGETER et al., 2000). This commonly occurs within 2 weeks of harvest. Foliar symptoms are not observed until about 10 to 20 days before harvest (BRUTON, 1998).

It has been suggested that some practices, such as introduction of hybrid cultivars, transplants, plastic mulch, drip irrigation and increased plant density in absence of adequate rotation, contribute to the increase in number and severity of soilborne disease (BRUTON et al., 2000).

The disease caused by *M. cannonballus* was first reported by Pollack & Uecker (1974). Today is reported in several countries such as India, southern Spain, United States, Saudi Arabia, Central America, Japan, Taiwan and Tunisia (COHEN et al.,

2000). This disease was reported on melon for the first time in Brazil in the states of Rio Grande do Norte and Ceará in 2002 (SALES JÚNIOR et al., 2004).

The economic losses caused by this pathogen are estimated at about 10-25% of the crops annually in the United States of America (MARTYN & MILLER, 1996). In Spain muskmelon production areas decreased in 15 years by more than 40% due mainly to vine decline caused by *M. cannonballus* (GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 2000). This fungus is the most aggressive species involved in the sudden wilt of melons (BRUTON, 1998).

Such fungus produce large numbers of distinctive, spherical, thick-walled ascospores, which are produced in perithecia on infected roots, and function as the primary survival structure and *inoculum* for root infection. The ascospores are black, 35 to 50  $\mu\text{m}$  in diameter (STANGHELLINI et al., 1996; STANGHELLINI et al., 2000). Waugh et al (2003) had concluded that fields should be considered problematic when the soil presented 2 ascospores  $\text{g}^{-1}$  of soil, associated with significant crop losses.

Waugh et al. (2003), in a survey about disease dynamics in the field, concluded that *M. cannonballus* is a monocyclic pathogen. The most appropriate strategies used to suppress disease for monocyclic pathogens are those activities that reduce the size of pathogen population (FRY, 1982).

Management *M. cannonballus* caused disease can be made by detection and quantification of the primary inoculum (MERTELY et al., 1993; WAUGH et al., 2003). These ascospores in the soil are extracted through a physical method based on a sucrose centrifugation technique (STANGHELLINI & RASMUSSEN, 1992; MERTELY et al., 1993; BELTRÁN et al., 2005).

However, despite of the ascospores of *M. cannonballus* can be extracted from the soil, they can germinate or not in laboratory conditions, making it difficult to evaluate the infectivity of ascospores (STANGHELLINI et al., 1996). Such infectivity can be influenced by abiotic factors, such as aspect of the ground, temperature, humidity,

sources and availability of biotic nutrients (STANGHELLINI et al., 1996; PIVONIA et al., 2002; WAUGH et al., 2003; BELTRÁN et al., 2005).

According to Mertely et al (1993), the distinct species of the family cucurbitaceae could be distributed according to a scale of susceptibilities in relation to the severity of the symptoms of the collapse, being the species of the cucurbit sort most tolerant to the disease caused for *M. cannonballus*.

Studies carried on in South Korea had confirmed the high susceptibilities of melons cantaloups, watermelon and cucumber to *M. cannonballus* (HEO et al., 2001). Other species of the cucurbitaceae family that are susceptible to *M. cannonballus* are *Cucurbita texana* (Scheele) A. Gray (MARTYN et al., 1993) and *B. hispida* (Thunb.) Cogn (TSAY & TUNG, 1997). Martyn & Miller (1996), carrying on studies concerning to pathogenicity of *M. cannonballus* in the United States, observed that the pathogen have as cucurbitaceous hosts *Cucumis melo* L., *C. sativus* L., *Citrullus lanatus* L., *Cucurbita pepo* L., *C. moschata* (Duchesne) Duchesne et Poir, *C. maxima* Duch., *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl., and *Luffa aegyptiaca* Mill.

Infantino et al. (2002) showed that vine decline in *Cucumis sativus* L. plants, in Italy, had *M. cannonballus* as one of the main pathogens of this syndrome. In the same way, in Japan, this fungus caused similar symptomatology in *L. siceraria*, used as rootstock against a vascular disease caused by *Fusarium* on watermelon (UEMATSU et al., 1992).

The actual damages caused by *M. cannonballus* can be also observed in plants that do not belong to the family cucurbitaceae. Mertely et al (1993) described *M. cannonballus* in *Zea mays* L., *Sorghum bicolor* L. and *Phaseolus vulgaris* L. This fungus was also found as pathogenenic to *Medicago sativa* L. (POLLACK & UECKER, 1974), *Triticum aestivum* L. and other species such as *Trifolium pratense* L., *Sesamum indicum* L. (SIVANESAN, 1991), *Iris* sp, *Achyranthes aspera* L. in the indian (HAWKSWORTH & CICARONE, 1978), *Lycopersicon esculentum* L.,

*Gossypium hirsutum* L. and *Brassica oleracea* L.. In other studies, *M. cannonballus* was isolated at low percentages in *Capsicum annuum* L., *Solanum melongena* L., *Brassica oleracea* var. *italica* and *Brassica oleraceae* var. *capitata* (TSAY & TUNG, 1997).

The purpose of this study was to quantify the densities of *M. cannonballus*'s inoculum in soil cultivated with different crops located in the municipalities of Baraúna, Assú and Mossoró, State of Rio Grande do Norte, Brazil.

## **2 MATERIALS AND METHODS**

Soil samples were collected from ten cultivated areas and from an uncultured one (control) from January to February, of 2006. The crops in cultivated areas were cotton (*Gossypium hirsutum* L.), mango (*Mangifera indica* L.), beans (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), papaya (*Carica papaya* L.), chili (*Capsicum annum* L.), watermelon (*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum. et Nakai), acerola (*Malpighia emarginata* DC.), banana (*Musa spp.*), coconut (*Cocos nucifera* L.) and cantaloupes melons (*Cucumis melo* L.).

Each area was represented by five samples, collected in zigzag to the depth of 10-20 cm, where there is a highest concentration of *M. cannonballus* ascospores (MERTELY et al., 1993).

Each sample was composed for six repetition and the *M. cannonballus* ascospores were extracted by the method of flotation in sucrose, according to Sales Júnior et al. (2006), which was adapted from the method of Stanghellini & Rasmussen (1992) that, instead of using a 38 µm bolter, the method uses a 30 µm one, in order to capture a higher number of ascospores of *M. cannonballus* in the soil, since the means of diameter of the ascospores is from 35 µm to 50 µm (MARTYN & MILLER, 1996).

The soil samples were dried in laboratory for later sifting in 2 mm similar meshes to eliminate thicker particles. Afterwards the sieved samples were sifted again in a 250µm mesh sieve, with 20g of each sub-sample weighted and mixed to 200mL of distilled water for 5 minutes, when it was then put through 75 µm and 30µm sieves.

The collected material was washed and centrifuged three times at 2,000g, approximately 3,000 rotations/minute. The first centrifugation was carried for four minutes with water only to separate the remaining particles that could reduce the



visualization of the ascospores. The two other centrifugations were made from 30-40 mL of 50% sucrose solution to obtain a gradient of density to separate soil and ascospores particles. The last centrifugation was carried out during two minutes and later, the remaining particles were passed through a mesh of 30 $\mu$ m. The remaining material was washed in water in a Petri's dishes.

This suspension was diluted in the water at (4°C) and the characteristic ascospores were counted under a stereoscopic 60x microscope. The data were transformed into  $\sqrt{(x+1)}$  and submitted to a variance analysis.

### 3 RESULTS AND DISCUSSION

All analyzed soils, including the uncultured soil, contained *M. cannonballus* ascospores, which is in accordance to Stanghellini et al. (2004) who have claimed that this fungus is a natural soil inhabitant, mainly in arid and semi-arid regions, as well as in Brazil (MEDEIROS et al., 2006).

There were significant differences among ascospores average densities. The soil from the area cultivated with cantaloupes had the highest ascospores concentration (8.09 ascospores g<sup>-1</sup> of soil), ranging from a maximum of 12.10 to a minimum of 4.55 (Table 1), significantly different from the densities found in the other areas. High indices of *M. cannonballus* ascospores in the soil cultivated with cantaloupes melons were also found in Texas, with as many as 14.4 ascospores g<sup>-1</sup> (MERTELY et al., 1993).

In Korea, Heo et al. (2001), studying the distribution of ascospores in naturally infested fields, observed that the population density of *M. cannonballus* ascospores in cantaloupes melons varied from 0.115 to 0.73 for each gram of soil. These authors also found that the ascospore density rates in eastern soils cultivated with cantaloupes ranged from 0.24 to 0.50 per gram of soil.

The relationships between ascospores density and illness severity had not yet been evaluated in Brazil. Waugh et al. (2003) found collapse associated with *M. cannonballus* in cantaloupes plantations, where the ground contained a little more than 2 ascospores g<sup>-1</sup> of soil. Assuming this threshold level, 36.3% of the samples would be at risk for collapse, such as the soils cultivated with mango, watermelon and acerola

that did not show statistical differences among them, presenting, respectively, 2.00; 2.60 and 2.10 ascospores g<sup>-1</sup> of soil. However, cantaloups melons presented a significantly higher density. The occurrence of *M. cannonballus* in roots of mango and acerola has not been reported, but watermelon is considered to be host to *M. cannonballus* (SALES JÚNIOR et al., 2002)

**Table 1.** Ascospores population of *Monosporascus cannonballus* in soil samples proceeding from production areas of ten different crops and one uncultivated (Caatinga), located in the cities of Baraúnas, Assú and Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. 2006

*Tabela 1. População de ascósporos de Monosporascus cannonballus em amostras de solo provenientes de 10 áreas com diferentes culturas e uma sem cultivo (Caatinga), localizadas nos municípios de Baraúnas, Assú e Mossoró, Rio grande do Norte, Brasil. 2006*

Sample	Culture	Place of Collection	Population (ascospores g <sup>-1</sup> of soil)*		
			Means	Maximum	Minimum
LDC-01	Uncultured	Mossoró-RN	0,30 a	0,60	0,10
LDC-02	Watermelon	Mossoró-RN	2,60 b	3,30	2,20
LDC-03	Cantaloups	Mossoró-RN	8,09 c	12,10	4,55
LDC-04	Papaya	Baraúnas-RN	0,58 a	0,80	0,35
LDC-05	Chili	Baraúnas-RN	0,73 a	0,95	0,60
LDC-06	Beans	Baraúnas-RN	1,28 a	1,70	1,05
LDC-07	Mango	Baraúnas-RN	2,00 b	3,50	1,25
LDC-08	Cotton	Baraúnas-RN	0,99 a	1,35	0,65
LDC-09	Banana	Assú-RN	0,64 a	0,85	0,40
LDC-10	Coconut	Assú-RN	1,19 a	2,15	0,50
LDC-11	Acerola	Assú-RN	2,10 b	2,50	1,35
<b>CV (%)=</b>	<b>11,56</b>				

\*Original data were transformed into  $\sqrt{x + 1}$ . Means followed by the same letter in the columns do not differ statistically (Scott-Knott's test; p>0.05).

With respect to ascospores density in soil cultivated with watermelon in two areas of Ichon, it was found an average of 0.26 ascospores  $\text{g}^{-1}$  of soil, while in nine areas of Kwangju, in Korea, the average rate was 0.27 ascospores  $\text{g}^{-1}$  of soil (HEO et al., 2001). The cultivated soil with watermelon in Brazil presented higher indices than those found in Korea (Table 1), which can be probably explained by the crop and soil local conditions. With an intensive use, without crop rotation with practices such as the plastic cover (*Mulch*), drip irrigation for dripping, increase of plant density, that are not always the most indicated techniques to bring a high productivity (BRUTON, 1998).

The consequence of this, is an inadequate handling that, many times, makes the environment favorable for the development of some phytopathogens, as is the case of *M. cannonballus*. This fungus is thermophilo and develops well with the plastic use that increases the temperature of the microenvironment.

Low levels of *M. cannonballus* ascospores were found in the soils cultivated with beans, chili, papaya, cotton, banana and coconut, with lower population levels for the risk limit (2 ascospores  $\text{g}^{-1}$  of soil), with no differences to the average level found in the uncultivated environment (Control). These data corroborate with Stanghellini et al., (1996), who also observed ascospores in native desert areas, with average densities ranging from 1.11 to 1.72 ascospores  $\text{g}^{-1}$  of soil, indicating that this fungus is a natural inhabitant of soil.

#### **4 CONCLUSION**

The present data show that in the entire analyzed soil samples some level of *M. cannonballus* population was found.

The absence of differences between the ascospores density of the uncultivated soil and those cultivated with plants that are not hostesses of the pathogen, or that are described as hostesses but do not quite frequently, demonstrates that these fungi are natural inhabitants of the soil

Additional studies are necessary to investigate the factors involving the germination of the ascospores that tend to be main cause of vine decline in cantaloupes and watermelon in the state of Rio Grande do Norte.

## REFERENCES

- AEGETER, B. J.; GORDON, T.R.; DAVIS, R.M. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with Melon Root Rot and Vine Decline in California. **Plant Disease**. v. 84,n.3, 2000.
- BELTRÁN, R., VINCENT, A., SALES JR., R., GARCÍA-JIMÉNEZ, J. & ARMENGOL, J. Population dynamics of *Monosporascus cannonballus* ascospores in marsh soils in eastern Spain. **European Journal of Plant Pathology** v.113 p.357-365, 2005.
- BRUTON, B.D. Soilborne diseases in Cucurbitaceae: Pathogen virulence and host resistance. In: **CUCURBITACEAE '98**. McCreight J., Alex., Va, p.143-166, 1998.
- BRUTON, B.D.; GARCIA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J. POPHAM, T. W. Assentment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n.8, p.907-913, 2000.
- COHEN, R., PIVONIA, S., BURGER, Y., EDELSTEIN, M., GAMLIEL, A. & KATAN, J. Toward integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. **Plant Disease**, v.84, n.5, p.:496-505, 2000.
- FRY, W. A. **Principles of plant disease management**. New york, USA: Academic press, 1982.
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL J.; SALES JR, R.; JORDÁ, C.; BRUTON B.D., Fungal pathogens associated whith melon collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, v.30, p.169-73, 2000.
- HAWKSWORTH, D. L.; CICCARONE, A. Studies on a species of *Monosporascus* isolated from triticum. **Mycopathologia**, v.66, n.3, p. 147-151, 1978.
- HEO, N.Y.; RYU, K.Y.; HYN, I.H.; KWON, J.H. Occurrence and distribution of *Monosporascus* root rot and pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* on Cucurbitaceae plants. **Research in Plant Disease**, v. 7, n.1, p.11-15, 2001

INFANTINO, A.; CIUFFREDA, G.; MONTUSHI, C.; CARLUCCI, A.; PUCCI, N.; SAVINO, A.; FRISULLO, S. Fungi associated with vine decline and root rots of cucurbits in Italy. **Journal of Plant Pathology**, v.84, n.3, p.183, 2002.

MARTYN, R.D. & MILLER, M.E. *Monosporascus* root rot and vine decline: an emerging disease of melon worldwide. **Plant Disease**, v.80, p.716-725, 1996.

MARTYN, R.D.; LOVIC, B.R.& MILLER, M.E. Evidence that *Monosporascus cannonballus* and *M. eutypoides* may be synonymous. **Plant Disease**. v. 12 p. 1347. 1993.

MERTELY, J.C., MARTYN, R.D., MILLER, M.E. & BRUTON, B.D. Quantification of *Monosporascus cannonballus* ascospores in three commercial muskmelon fields in south Texas. **Plant Disease**, v.77, p.766-771, 1993.

PIVONIA, S., COHEN, R., RIGEL, J.; KATAN, J. Effect of soil temperature on disease development in melon plants infected by *Monosporascus cannonballus*. **Plant Pathology**, v.51, p.472-479, 2002.

POLLACK, F.G. & UECKER, F. A. *Monosporascus cannonballus*: an unusual ascomycete in cantaloups roots. **Mycologia**, v.66, p.346-349, 1974.

SALES JR., R.; NASCIMENTO, I.J.B.; FREITAS, L.S.; BELTRÁN, R.; ARMENGOL, J.; VICENT, A.; GARCIA-JIMÉNEZ, J. First report of *Monosporascus cannonballus* on melon in Brazil. **Plant Disease**, v.88, n.1, p.84, 2004.

SALES JR, R., VICENT, A., ARMENGOL, J., GARCÍA-JIMÉNEZ, J. & KOBORI, R.F. Comportamento de cultivares de meloeiro e melancia inoculados com *Acremonium cucurbitacearum* e *Monosporascus cannonballus*. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.206-210, 2002.

SIVANESAN A. *Monosporascus cannonballus*. **Mycopathologia**, v.114, p.53-54, 1991.

STANGHELLINI, M.E., KIM, D.H. & RASMUSSEN, S.L. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. **Phytopathology**, v.86, p.509-514. 1996.

STANGHELLINI, M.E.; KIM, D.H & WAUGH, M. Microbe-mediated germination of ascospores of *Monosporascus cannonballus*. Ecology and population biologi. **Phytopathology**, v.30, n.3, p.243-247, 2000.

STANGHELLINI, M.E. & RASMUSSEN, S.L. A quantitative method for the recovery of ascospores of *Monosporascus cannonballus* from field soil. **Phytopathology**, v. 82, p.1115. 1992.

STANGUELLINI, M.E.; WAUGH, M.M.; RADEWALD, K.C.; KIM, D.H.; FERRIN, D.M.; TURINI, T. CROP residue destruction strategies that enhance rather than inhibit reproduction os *Monosporascus cannonballus*. **Plant Pathology**. V. 53 p. 50-53, 2004

TSAY J. G. E TUNG, B. K. Effects of *Monosporascus cannonballus* on the growth of cucurbit and solonaceous vegetable seedlings. **Plant Pathology Bulletin**, v.6, p. 203-211, 1997.

UEMATSU, S.; HIROTA, K.; SHIRAIISHI, T.; OOIZUMI, T.; SEKIYAMA, K.; ISHIKURA, H.; EDAGAWA, Y. *Monosporascus* root rot of bottle gourm stock of watermelon caused by *Monosporascus cannonballus*. **Annals of the Phytopatological Society of Japan**, v.20, p.312-316, 1992.

WAUGH, M.M., KIM, D.H., FERRIN, D.M. & STANGHELLINI, M.E. Reproductive potential of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, v. 87, p. 45-50. 2003.



## CAPÍTULO IV

### DENSIDADE DE ASCÓSPOROS DE *Monosporascus cannonballus* EM SOLOS COM DIFERENTES TEMPOS DE PLANTIO DE MELOEIRO E SUA RELAÇÃO COM A BIOMASSA MICROBIANA

#### RESUMO

*Monosporascus cannonballus* vem se tornando um dos principais patógenos radiculares na cultura do meloeiro na região do semi-árido. Como não existem informações sobre os níveis populacionais de ascósporos de *M. cannonballus* em solos com diferentes tempos de cultivo de meloeiro no Brasil, realizou-se este trabalho com o intuito de avaliar a densidade populacional de *M. cannonballus* em solos com diferentes históricos de plantio, e sua relação com a biomassa microbiana. As amostras foram coletadas em cinco fazendas produtoras de meloeiro, em áreas com diferentes tempos de cultivo de meloeiro (0, 1, 2, 4, 6 e 12 anos), com seis repetições. As variáveis analisadas foram densidade populacional de ascósporos de *M. cannonballus* e teor de carbono microbiano do solo. A densidade de ascósporos  $\text{g}^{-1}$  de solo de *M. cannonballus* cresce à medida que aumenta o tempo de cultivo de meloeiro, visto em todas as fazendas de produção. Não há relação entre a densidade populacional de *M. cannonballus* e a biomassa microbiana. E o carbono microbiano foi maior nos solos com os primeiros anos de cultivo.

**Palavras-chave adicionais:** *Cucumis melo* L., colapso do meloeiro, extração de ascósporos, inóculo, biomassa microbiana.

## ABSTRACT

### *Monosporascus cannonballus* ASCOSPORES POPULATION IN SOILS WITH DIFFERENT TIMES OF MELON CULTIVATED AND THE RELATION WITH THE MICROBIAL BIOMASS

*Monosporascus cannonballus* has been one of the main root rot pathogens in the melon culture in the regions of semi-arid. As there are not information about the population levels of *M. cannonballus* ascospores in soils with different time of melon culture in Brasil, this work was made with the aim to evaluate the population density of *M. cannonballus* in soils with different descriptions and the relation with the microbial biomass. The samples had been collected in five melon producing farms, in areas with different times of melon crops (0, 1, 2, 4, 6 and 12 years), with six repetitions. The variables analyzed had been ascospores population density of *M. cannonballus* and microbial carbon. The density of ascospores  $g^{-1}$  soil of *M. cannonballus* grows to the measure that increases the time of melon culture. Relation does not exist between *M. cannonballus* population density and microbial carbon. And the microbial carbon was bigger in first years of culture.

**Additional key-words:** *Cucumis melo* L., melon collapse, ascospores extraction, inoculum, microbial biomass

## 1 INTRODUÇÃO

*Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker é um Ascomiceto habitante do solo que ataca a raiz do meloeiro e de outras culturas como pepino, melancia, abóbora, moranga, entre outras (MARTYN e MILLER, 1996). Sendo, atualmente, um dos principais patógenos envolvidos na síndrome do colapso do meloeiro (ALCÂNTARA, 1997)

São formadores de peritécios que aparecem no final do ciclo da doença, infiltrados em raízes afetadas (SALES JÚNIOR, 2002). Os peritécios formam ascas piriformes, de parede grossa, de 56-90 x 30-55  $\mu\text{m}$ , que possui um anel periapical não funcional. *M. cannonballus* possui apenas um ascósporo no interior da asca, e esta é uma das características diferenciais entre as espécies deste gênero (BELTRÁN, 2006). Com o tempo, estas ascas desaparecem, deixando livre os ascósporos que saem através do anel periapical para o meio ambiente (GARCIA-JIMÉNEZ et al., 1994).

Os ascósporos apresentam forma esférica, com diâmetro de 30 a 50  $\mu\text{m}$  e coloração preta (SIVANESAN, 1991). A especificação deste fungo é uma alusão referente a forma de seus ascósporos, que lembra uma bala de canhão, o que facilita o monitoramento de sua população em solo pela quantificação dos ascósporos através do método de extração em gradiente de sacarose (SALES JÚNIOR, 2006).

Além da densidade populacional, a dinâmica bioquímica natural da comunidade de microrganismos no solo também podem ser medidas através da biomassa microbiana, que pode servir como bioindicador (NIELSEN e WINDING,

2002), pois esta é a fração ativa da matéria orgânica dos solos (DUDA, 1999), servindo para diagnosticar e monitorar impactos ambientais sobre a microbiota do solo (OBBARD 2001).

Até o presente momento, nenhum trabalho foi realizado para quantificar o nível de ascósporos de *M. cannonballus* e sua relação com o tempo de cultivo e a biomassa microbiana. Sendo, no entanto, de extrema importância o estudo dessa relação, no intuito de propiciar subsídios para o melhor entendimento da biologia do fungo, assim como, proporcionar informações que venham a contribuir com futuros programas de manejo desta enfermidade em meloeiro. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo quantificar o nível de ascósporos de *M. cannonballus* em solos com diferentes tempos de cultivo de meloeiro, e sua relação com a biomassa microbiana do solo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em cinco fazendas produtoras de melão, localizadas no agropolo Mossoró-Assú (RN) e Baixo Jaguaribe (CE). Amostras de solo foram coletadas à uma profundidade de 0-20 cm, em cada uma das áreas de produção de meloeiro com diferentes tempos de cultivo com meloeiro: 0 (mata virgem de Caatinga), 1, 2, 4, 6 e 12 anos. As coletas obedeceram ao caminhar em zigue-zague, sendo obtidas 10 sub-amostras de cada solo. Posteriormente, estas foram homogeneizadas e postas para secar à sombra.

Das cinco áreas prospectadas, quatro encontram-se no RN: nos municípios de Mossoró (A), Baraúna - (B e C) e Pau-Branco (D) e outra no CE, município de Icapuí (E); cujas coordenadas geográficas, tomadas com um aparelho GPS “*Global Position System*” modelo Etrex Venture são: A: S 05°03’112”, W 037°21’687”; B: S 05°09’05,5”, W 037°36’59,3”, C: S 05°04’48,6”, W 037°47’21,7”, D: S 04°53’12,0”, W 037°24’10,8” e E: S 04° 51’ 26,1”, W 037° 21’ 23,6”).

### **2.1 Processamento das amostras para determinação da densidade populacional de *M. cannonballus***

De cada amostra de solo foram retiradas seis alíquotas de 20g, sendo estas as repetições para cada solo/tempo de cultivo amostrado. Posteriormente foram processadas mediante o método de gradiente de sacarose, conforme Sales Júnior et al. (2006). Que consiste em colocar cada alíquota em agitação durante 5 min em 500 mL de água, e posteriormente tamizá-la em peneiras com malhas de 75 e 30 µm. As partículas retidas na malha de 30 µm foram lavadas em água corrente e centrifugadas a

900 g, durante 4 min. Em seguida, elimina-se o sobrenadante, e dissolve-se as partículas em 40 mL de solução de sacarose a 50%, sendo novamente centrifugado a 900 g, durante 2 min. Repete-se a centrifugação na mesma concentração de sacarose, e posteriormente, passa-se o sobrenadante em uma malha de 30  $\mu\text{m}$ , coletando-se as partículas retidas nesta e distribuindo-as em placas de Petri, para proceder a contagem dos ascósporos em microscópio estereoscópico a 60x.

## **2.2 Processamento das amostras para determinação do carbono da biomassa microbiana**

Amostras de solo seco ao ar, foram submetidas ao reumedecimento até próximo a capacidade de campo e submetidas à incubação por um período de 24 horas conforme Gonçalves (1999).

Para determinação da biomassa microbiana, estas foram submetidas ao processo de irradiação conforme a metodologia descrita por Mendonça & Matos (2005), que consiste na utilização de energia eletromagnética (microondas). Antes de submeter as amostras fumigadas ao microondas foi realizado o cálculo da potência do aparelho e calculado o tempo de exposição da amostra no microondas de acordo com Mendonça & Matos (2005).

Para a quantificação do C microbiano adotou-se a metodologia descrita por Vance et al. (1987) utilizando-se como extrator  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0,5 M, sendo colocado 50 mL de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0,5 M em uma alíquota de 20 g de solo.

A quantificação do carbono foi feita por colorimetria (BARTLETT; ROSS, 1988), que é considerado o método mais apropriado para a determinação de C microbiano, e é menos susceptível a erros analíticos conforme Duda et al. (2005).

O carbono microbiano foi encontrado pela diferença da quantidade de carbono da amostra fumigada (CF) pela quantidade de carbono encontrado na amostra não fumigada (CNF) dividido por 0,33 **(1)**.

$$CB=(CF-CNF)/0,33 \quad \mathbf{(1)}$$

### **2.3 Análise estatística**

Para efeito de cálculo, os dados de *M. cannonballus* foram transformados em raiz (x+1). Com base nos resultados obtidos, os dados foram submetidos a análise de variância e com as médias originais de tempo de cultivo, foram selecionadas curvas de regressão, tendo estas como variável independente. As curvas foram selecionadas com base no coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) e desvio de regressão.

Realizou-se correlação linear simples entre a densidade de ascósporos de *M. cannonballus* e a biomassa microbiana.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ) para o tempo de cultivo sobre a densidade de ascósporos de *M. cannonballus*. Curva polinomial de segundo grau foi a que melhor descreveu este comportamento. Os resultados obtidos indicam uma tendência, entre o aumento do tempo de cultivo e o nível de ascósporos de *M. cannonballus* no solo em todas as fazendas (Figura 1).

Observa-se que o ponto máximo da curva de regressão foi aos 10 anos de cultivo de meloeiro o qual apresentou uma média de 24,89 ascósporos  $\text{g}^{-1}$  de solo.

Entretanto, esses valores estão acima dos valores encontrados por Stanguellini et al. (1996) na qual fazendo um levantamento da quantidade de ascósporos de *M. cannonballus* em solos do Arizona (EUA) observou que 76% das áreas cultivadas com meloeiro e com histórico da doença, apresentavam até 3 ascósporos  $\text{g}^{-1}$  de solo e apenas 3% apresentavam 6 ascósporos, que foi o máximo registrado naquele ano. O nível populacional máximo encontrado no Texas (EUA) foi de 14,40 ascósporos  $\text{g}^{-1}$  de solo (MERTELY et al., 1993), na Califórnia (EUA) de 2,10 ascósporos  $\text{g}^{-1}$  de solo (RADEWALD et al., 2004) e finalmente na Espanha foi de 2,34 ascósporos  $\text{g}^{-1}$  de solo (BELTRÁN et al., 2005), todos em áreas cultivadas com meloeiro. No Brasil, Medeiros et al. (2006) encontraram nível máximo de 26,04 ascósporos  $\text{g}^{-1}$  de solo cultivado com meloeiro que está no limite dos níveis encontrados neste trabalho. Entretanto, os autores não citam o tempo de monocultivo de meloeiro a que esses solos foram submetidos.

Vale ressaltar que as áreas com o tempo zero, que muito embora nunca tenha sido cultivada (área de Caatinga), apresentaram índices de ascósporos de *M.*



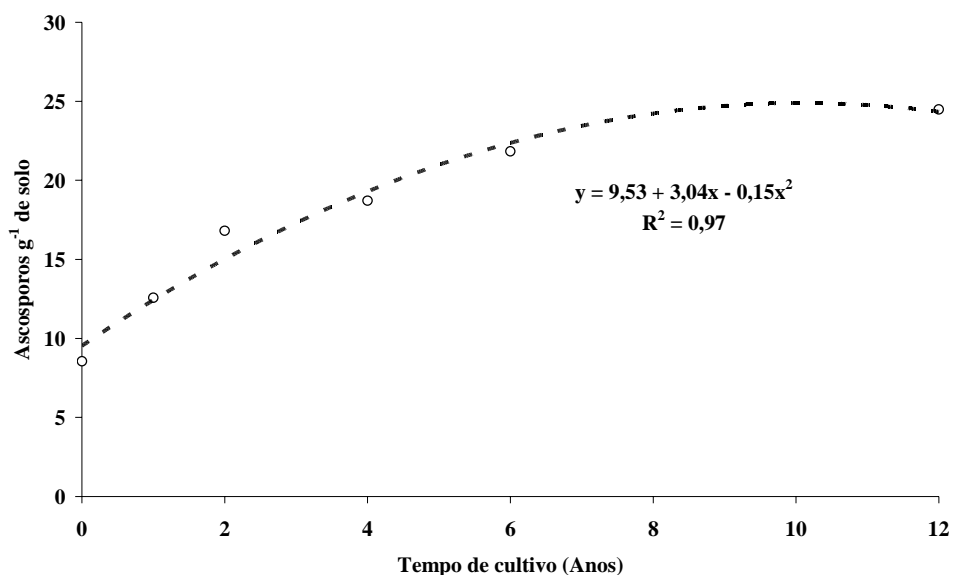
*cannonballus* em todas as fazendas. Isso corrobora com Stanguellini et al. (1996) na qual pesquisando duas áreas de deserto, sem cultivo, encontrou níveis de 1,08 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo. Este fato também foi confirmado em trabalho anterior realizado em condição de mata virgem do bioma Caatinga no Estado do RN e CE, onde se detectaram valores entre 0,18 a 18,30 ascósporos de *M. cannonballus* por grama de solo. Isso vem a contribuir com a hipótese de que esse fungo é um habitante natural do solo (MEDEIROS et al., 2006).

Muitos fatores podem ter influenciado este incremento no número de ascósporos. As áreas de produção de melão no Nordeste, principalmente no RN e CE, estão adotando sistemas tecnológicos que preconizam o manejo intensivo monocultura, cultivos sucessivos sem rotação, uso de irrigação por gotejamento, aumento da densidade de plantio e de cobertura plástica (“mulch”), além de agrotêxtil. Todas as características foram encontradas nas cinco fazendas pesquisadas. Em estudo realizado no Texas, o manejo intensivo da cultura do meloeiro, com essas tecnologias, também propiciou um rápido aumento da densidade de inóculo de *M. cannonballus* quando comparado ao manejo tradicional, caracterizado pelo uso da rotação de culturas com milho e cebola, irrigação por sulco e solo descoberto (MERTELY et al., 1993).

De acordo com Bruton (1998) esses fatores podem estar influenciando no aumento da densidade de inóculo de *M. cannonballus* em solos cultivados com meloeiro.

Atualmente, os produtores vêm buscando soluções para minimizar os problemas advindos do ataque de patógenos radiculares, entre eles o abandono das áreas, migrando os seus campos de produção para outras unidades agrícolas. Observa-se que áreas com 12 anos de cultivo de meloeiro vem sendo abandonadas em função da redução de produtividade, causada pelo ataque principalmente de *M. cannonballus*. Entretanto é importante salientar que a densidade de inoculo deste fungo detectada no solo é apenas um indicativo de risco, mas não o fator dominante para a ocorrência do

colapso. Esse tem que estar associado à viabilidade e infectividade dos ascósporos na qual é influenciada por vários fatores, citados anteriormente.



**Figura 1.** Densidade de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* por grama em solos sem e com cultivo de meloeiro (*Cucumis melo* L.), em diferentes anos de cultivo (0, 1, 2, 4, 6 e 12 anos), em solos coletados à uma profundidade de 0-20 cm.

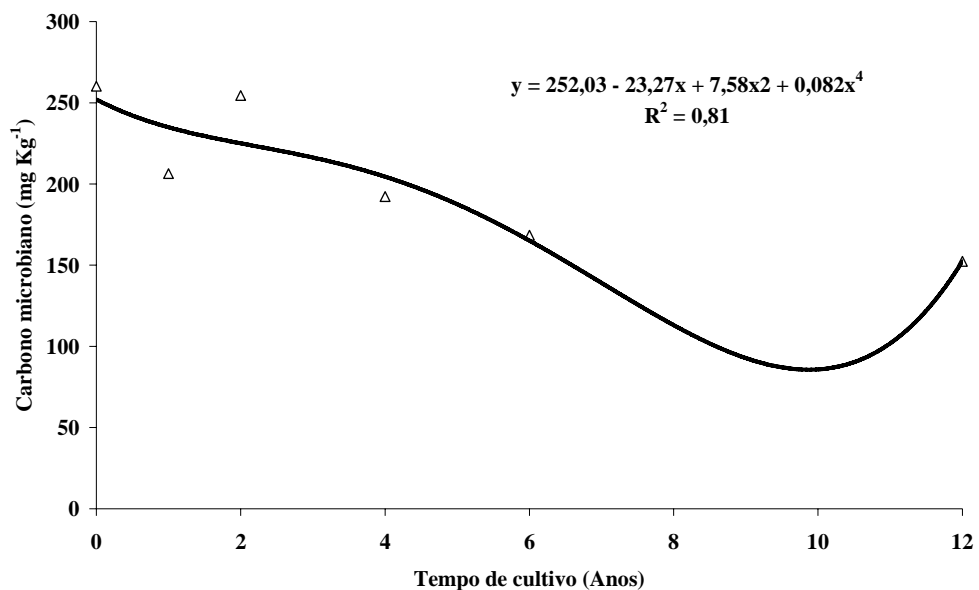
Em relação ao componente da biomassa microbiana, o carbono microbiano do solo, não houve correlação linear significativa com a densidade de ascósporos, de acordo com o coeficientes de correlação de Pearson cujo valor foi de -0,09.

Isso pode ser explicado pela redução dos níveis de nutrientes que solos apresentam com o manejo intensivo em vários anos de cultivo de meloeiro. Este fato pode acarretar em aumento na densidade do inóculo de *M. cannonballus* no solo que estimula a formação de estruturas reprodutivas (WAUGH et al., 2003;

STANGHELLINI et al., 2004; BELTRÁN et al., 2005) e interferir na microbiota do solo (ANDRÉA e HOLLWEG, 2004) na qual acarretam modificações quantitativas e qualitativas, forçando-o à um novo equilíbrio (CARDOSO FILHO & MINHONI, 2007) que pode favorecer o crescimento de populações de outros microrganismos antagonistas do solo (DUDA et al., 2003).

Segundo Cardoso Filho e Minhoni (2007) a comunidade microbiana presente em diversos tipos de solos atua de modo direto e/ou indireto no controle de fitopatógenos, principalmente com os causadores de podridões de raízes, como é o caso do objeto do presente estudo.

A biomassa microbiana foi maior em solos com até dois anos de cultivo de meloeiro, em todas as fazendas analisadas (Figura 2). Entretanto, segundo Silveira e Freitas (2007) a biomassa coletiva e o nível de microrganismos podem variar muito dentro e entre os diversos tipos de ecossistemas e agroecossistemas e que o monitoramento de ambos pode ser indicativo biológico das alterações refletidas por diversos tipos de manejo (BALOTA et al., 1998).



**Figura 2.** Teor de carbono microbiano em solos sem e com cultivo de meloeiro (*Cucumis melo* L.), em diferentes anos de cultivo (0, 1, 2, 4, 6 e 12 anos), em solos coletados à uma profundidade de 0-20 cm.

Diante dos resultados obtidos, sugere-se medidas de manejo menos agressivas que proporcione maior sustentabilidade dos solos, como rotações e incorporação de culturas, utilização de porta-enxertos e a simples eliminação de restos culturais, entre outras, visto que tecnologias utilizadas atualmente como a utilização de “mulch” aumenta a temperatura do solo e é uma prática que pode aumentar a população de *M. cannonballus* em solos por este ser um fungo termófilo, como visto em trabalhos anteriores.

#### **4 CONCLUSÕES**

A densidade de ascósporos  $\text{g}^{-1}$  de solo de *M. cannonballus* cresce à medida que aumenta o tempo de cultivo de meloeiro.

Não há relação entre a densidade populacional de *M. cannonballus* com a biomassa microbiana do solo.

Os solos das áreas com até dois anos de plantio de meloeiro apresentaram maiores teores de carbono microbiano.

#### **5 AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo apoio financeiro (Proc.477787/2006-1).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCANTARA, T. P.; RASMUSSEN, S.L. STANGHELLINI, M. E. Biological characterization of *Monosporascus cannonballus*. **Phytopathology**, v. 87, n. 3, 1997.
- ANDRÉA, M, M. and HOLLWEG, M. J. M.; Comparação de métodos para determinação de biomassa microbiana em dois solos. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 28, p.981-986, 2004.
- BELTRÁN, R. **Estudios epidemiológicos y de patogenicidad de *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker**. 2006. 315f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) Universidad Politécnica de Valencia, Espanha, 2006.
- BELTRÁN, R., VINCENT, A., SALES JR., R., GARCÍA-JIMÉNEZ, J. and ARMENGOL, J. Population dynamics of *Monosporascus cannonballus* ascospores in marsh soils in eastern Spain. **European Journal of Plant Pathology**, v. 113, p. 357-365, 2005.
- BRUTON, B.D. SOILBORNE DISEASES *In cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance*. in: mcreight, j. (ed.) *cucurbitaceae '98*. Alexandria. **International Society of Horticultural Science**. 1998. p.143-166.
- BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.22, p.641-649, 1998.
- BARTLETT ROSS, D.S. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 52, p.1191- 1992, 1988.
- CARDOSO FILHO, J.A. and MINHONI, M.T.A. Interações microbianas e controle de fitopatógenos na rizosfera. In: SILVEIRA, A.P.D. & FREITAS, S.S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto agrônômico de Campinas, 2007. p. 239-258.
- DUDA, G.P.; CAMPELLO, E.F.C; MENDONÇA, E.S. et al. Avaliação de frações da matéria orgânica do solo para caracterização de áreas degradadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.723-728, 1999.

- DUDA, G. P.; MONTEIRO, M. T.; SALVIANO, A. M.; GUERRA, J. G. M. Comparação entre métodos colorimétrico e titrimétrico para determinação de carbono microbiano. **Caatinga**, v-18, p. 52-57, 2005
- DUDA, G. P.; GUERRA, J. G. M.; MONTEIRO, M. T.; DEPOLLI, H.; TEIXEIRA, M. G. Perennial herbaceous legumes as live soil mulches and their effects on C, N and P of the microbial biomass. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 1, p. 139-147, 2003.
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J. Secaimento de ramas por *Macrophomina (M. phaseolina)*.in: Díaz Rufiz, J. R. y García-Jiménez, J. (eds). **Enfermedades de las cucurbitáceas en España: Valencia: Sociedad Española de Fitopatología - S.E.F.-Phytoma**. 1994. p. 54-56.
- GONÇALVES, A. S. Biomassa microbiana de carbono de solos de pastagens do Estado do Rio de Janeiro, Dissertação de Mestrado, 1999, 76p.
- MARTYN, R.D. and MILLER, M.E. *Monosporascus* root rot and vine decline: an emerging disease of melon worldwide. **Plant disease**, v. 80, p.716-725, 1996.
- MEDEIROS, E.V.; SALES JÚNIOR, R.; MICHEREFF, S.J.; BARBOSA, M.R. Quantificação de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* em solos não cultivados de caatinga e em áreas de cultivo de melão do Rio Grande do Norte e Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 500-504, 2006.
- MENDONÇA, E. S; MATOS, E. S. **Matéria orgânica do solo: métodos de análises**.Viçosa: UFV, P. 86-92, 2005.
- MERTELY, J.C., MARTYN, R.D., MILLER, M.E. & BRUTON, B.D. Quantification of *Monosporascus cannonballus* ascospores in three commercial muskmelon fields in south texas. **Plant Disease**, v.77. p.766-771, 1993.
- NIELSEN, M.N. and WINDING, A. **Microorganisms as indicators of soil health**. Denmark, National Environmental Research Institute, 2002. 84p. (Technical report, 388).
- OBBARD, J.P. Ecotoxicological assessment of heavy metals in sewage sludge amendend soils. **Applied Geochemistry**, v.16, p.1405-1411, 2001.

- PIVONIA, S.; COHEN, R.; KAFKAFI, U.; BEM ZE'EV, I. S.; KATAN, J. Sudden wilt of melons in Southern Israel: fungal agents and relationship with plant development. **Plant Disease**, v.81, n.11, 1997.
- POLLACK F.G. and UECKER F. A. *Monosporascus cannonballus*, na unusual Ascomycete in cantaloupe roots. **Mycologia**. v. 66, p. 346-349, 1974.
- RADEWALD, K.C., FERRIN, D.M. E STANGHELLINI, M.E. Sanitation practices that inhibit reproduction of *Monosporascus cannonballus* in melon roots left in the field after crop termination. **Plant Pathology**. v. 53, p.660-668, 2004.
- SALES JR., R.; ARMENGOL, J.; VICENT, A.; GARCIA-JIMÉNEZ, J. Evaluación de daños en raíces de melón y sandía y frecuencia de aislamiento de *Acremonium cucurbitacearum* y *Monosporascus cannonballus* en una parcela afectada de colapso. **Boletín Sanidad Vegetal Plagas**. v.27, p.177-183, 2001.
- SALES JR., R.; NASCIMENTO, I.J.B.; FREITAS, L.S.; BELTRÁN, R.; ARMENGOL, J.; VICENT, A.; GARCIA-JIMÉNEZ, J. First report of *Monosporascus cannonballus* on melon in brazil. **Plant Disease**. v.88, p.84, 2004.
- SALES JR., R.; OLIVEIRA, O.F.; SENHOR, R.F.; ALVES, M.Z. *Monosporascus cannonballus* agente causal do colapso em plantas de melão no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**. v.28, p. 567, 2003.
- SALES JR., R.; VICENT, A.; ARMENGOL, J.; GARCIA-JIMÉNEZ, J.; KOBORI, R.F. Comportamento de cultivares de meloeiro e melancia inoculados com *Acremonium cucurbitacearum* e *Monosporascus cannonballus*. **Fitopatologia Brasileira**. v.27, p.206-210, 2002.
- SILVEIRA, A.P.D. and FREITAS, S.S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Instituto agrônômico de Campinas, 2007. 312p.
- SIVANESAN, A. *Monosporascus cannonballus*. **Mycopathologia**, v.114, p.53-54, 1991.
- STANGHELLINI, M.E. and RASMUSSEN, S.L. A quantitative method for the recovery of ascospores of *Monosporascus cannonballus* from field soil. **Phytopathology**, v.82, p. 1115. 1992.



STANGHELLINI, M.E., KIM, D.H.; RASMUSSEN, S.L. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. **Phytopathology**, v.86, p.509-514, 1996.

STANGHELLINI, M.E.; WAUGH, M.M.; RADEWALD, K.C.; KIM, D.H.; FERRIN, D.M.; TURINI, T. Crop residues destruction strategies that enhance rather than inhibit reproduction of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Pathology**, v.53, p.50-53, 2004.

VANCE, E. D.; BROOKS, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v.19, p.703-707, 1987.

WAUGH, M.M., KIM, D.H., FERRIN, D.M.; STANGHELLINI, M.E. Reproductive potential of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, v.87, p.45-50, 2003.