

DOMINGOS EDUARDO GUIMARÃES TAVARES DE ANDRADE

**FREQÜÊNCIA DE FUNGOS ASSOCIADOS AO COLAPSO DO
MELOEIRO E INFLUÊNCIA DA DENSIDADE DE INÓCULO E
ISOLADOS DE *Monosporascus cannonballus*
NA SEVERIDADE DA DOENÇA**

**RECIFE -PE
MARÇO – 2004**

DOMINGOS EDUARDO GUIMARÃES TAVARES DE ANDRADE

**FREQÜÊNCIA DE FUNGOS ASSOCIADOS AO COLAPSO DO
MELOEIRO E INFLUÊNCIA DA DENSIDADE DE INÓCULO E
ISOLADOS DE *Monosporascus cannonballus*
NA SEVERIDADE DA DOENÇA**

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

RECIFE - PE

MARÇO - 2004

**FREQÜÊNCIA DE FUNGOS ASSOCIADOS AO COLAPSO DO
MELOEIRO E INFLUÊNCIA DA DENSIDADE DE INÓCULO E
ISOLADOS DE *Monosporascus cannonballus*
NA SEVERIDADE DA DOENÇA**

DOMINGOS EDUARDO GUIMARÃES TAVARES DE ANDRADE

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff - Orientador

Prof. Dr. Delson Laranjeira – Co-orientador

Prof. Dr. Rui Sales Jr. – Co-orientador

RECIFE - PE

MARÇO - 2004

**FREQÜÊNCIA DE FUNGOS ASSOCIADOS AO COLAPSO DO
MELOEIRO E INFLUÊNCIA DA DENSIDADE DE INÓCULO E
ISOLADOS DE *Monosporascus cannonballus*
NA SEVERIDADE DA DOENÇA**

DOMINGOS EDUARDO GUIMARÃES TAVARES DE ANDRADE

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 17 de março de 2004.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE)

EXAMINADORES:

Dr. Ailton Reis (Embrapa Hortaliças)

Prof. Dr. Egberto Araújo (ESAM)

Prof^a. Dr^a. Elvira Maria Régis Pedrosa (UFRPE)

Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima (UFAL)

Prof^a. Dr^a. Sônia Maria Alves de Oliveira (UFRPE)

RECIFE - PE

MARÇO - 2004

A Deus, aos meus pais Sílvio e Enilda e aos meus irmãos Kátia, Roberto e Rogério, imprescindíveis nas horas mais difíceis.

AGRADEÇO

A Cristina, minha querida esposa, por seu amor e dedicação, pelo incentivo e confiança depositados em mim.

OFEREÇO

Ao nosso amado filho Vítor Arthur, que ilumina as nossas vidas e nos dá forças para continuar lutando por um futuro próspero.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelo apoio institucional e à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo;

Ao professor Sami Jorge Michereff pela amizade, apoio, incentivo e orientação que tornou possível a realização desta pesquisa;

Aos professores Clístenes Williams e Júlio Villar pelo apoio nas análises físicas e químicas dos solos e aos professores Maria Menezes, Rosa Mariano, Sônia Oliveira, Rildo Sartori, Romero Moura, Elvira Pedrosa e Delson Laranjeira, pela amizade e ensinamentos em muitos momentos;

À Coordenação do curso de Pós-Graduação em Fitossanidade, pelo apoio dispensado; aos demais funcionários e professores do curso, pelos ensinamentos ministrados;

Aos colegas de turma do Doutorado em Fitopatologia, Regina Ceres, L.A.M. Peruch, Vitorina Covello e Luciana Sartori, pela amizade e boa convivência;

Aos bolsistas e estagiários do Laboratório de Epidemiologia de Doenças de Plantas, Michelle, Isaac, Christiana, Gustavo, Caio e Hirvison, os quais foram imprescindíveis para a realização deste trabalho, pela amizade e apoio nas horas difíceis;

Aos meus sobrinhos Sabrina e Rodrigo, por existirem e proporcionarem muitos momentos de descontração e carinho a nossa família;

Aos produtores de melão do Rio Grande do Norte e Ceará, pela gentil acolhida e colaboração;

Aos amigos Luciana Cordeiro, Suzana, Andréa, Maria “gorda”, Angélica, Viviane, Alice, Adelmo, Adriana, Genira, Roberto “Bob”, Darci, Flávia, Ilka, Fabíola, César, Gustavo, Fábio, Robson, Fabrício, Hugo e Hugo Zago, pelos momentos de descontração e amizade;

Ao Sr. Luís Coelho da Silva, pela amizade e apoio em todas as montagens de experimento nas casas-de-vegetação;

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	vii
SUMÁRIO.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
CAPÍTULO 1 – Introdução Geral	01
Referências Bibliográficas	08
CAPÍTULO II – Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos.....	13
Resumo	14
Abstract	15
Material e Métodos	17
Resultados e Discussão	19
Agradecimentos.....	26
Referências Bibliográficas	27
CAPÍTULO III – Influência da densidade de inóculo e de isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i> na severidade do colapso do meloeiro.....	30
Resumo	31
Abstract	32
Material e Métodos	34
Resultados e Discussão	36
Agradecimentos.....	44
Referências Bibliográficas	44
CONCLUSÕES GERAIS	47

RESUMO

Este estudo teve como objetivos determinar a frequência de fungos associados às raízes de meloeiro (*Cucumis melo* L.) com sintomas de colapso, relacionando-a com as características físicas, químicas e microbiológicas dos solos, e verificar a influência de densidades de inóculo e isolados de *Monosporascus cannonballus* sobre o colapso do meloeiro, avaliando metodologias adequadas para a quantificação da doença. Meloeiros com sintomas de colapso e amostras de solos foram coletados em 10 áreas produtoras, localizadas nos municípios de Mossoró e Baraúna (RN) e Quixeré (CE). A frequência de isolamento (FI) de fungos foi obtida para cada área, enquanto as amostras de solo foram analisadas quanto às características físicas, químicas e microbiológicas. No ensaio de densidades de inóculo de *M. cannonballus* foram utilizadas as densidades de 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 25 e 50 ufc/g de solo, avaliando-se a severidade do colapso (SD), comprimento da planta (CP), biomassa fresca da parte aérea (BFPA) e da raiz (BFR), biomassa seca da parte aérea (BSPA) e da raiz (BSR), áreas da 1ª e 2ª folhas definitivas (A1FD e A2FD), área foliar acumulada (AFA), volume total da planta (VTP), biomassa fresca total (BFTP) e biomassa seca total da planta (BSTP). No ensaio de variabilidade foram utilizados 44 isolados de *M. cannonballus*, na densidade de inóculo de 10 ufc/g de solo. No levantamento da FI, prevalências elevadas (100%) foram constatadas para *Fusarium solani* e *Macrophomina phaseolina*, enquanto valores menores foram verificados para *Rhizoctonia solani* (40%), *M. cannonballus* (30%) e *Sclerotium rolfsii* (30%). *Fusarium solani* e *M. phaseolina* apresentaram FI similares, variando de 1,6 a 60,0%, enquanto *M. cannonballus* apresentou FI de 0,0 a 71,1%, *R. solani* de 0,0 a 18% e *S. rolfsii* de 0,0 a

13,3%. As FI de *F. solani* e *M. cannonballus* foram respectivamente superiores em meloeiros dos tipos Orange (57,1%) e Cantaloupe (40,9%), assim como em áreas com um ou dois anos (45,4%) e com mais de cinco anos (48,2%) de cultivo. As FI de *F. solani* e *M. cannonballus* correlacionaram-se inversamente entre si ($r = -0,79$), sendo estas influenciadas pela quantidade de *Bacillus* spp. presente no solo ($r = -0,71$ e $0,80$, respectivamente). A FI de *M. phaseolina* correlacionou-se com o teor de fósforo ($r = 0,68$), a FI de *R. solani* com o grau de flocculação ($r = 0,67$), capacidade de campo ($r = -0,81$), pH ($r = -0,75$), teor de alumínio ($r = 0,85$) e acidez total ($r = 0,69$), enquanto a FI de *S. rolfsii* correlacionou-se com o ponto de murcha permanente ($r = -0,78$) e a água disponível no solo ($r = 0,75$). As curvas de progresso da SD, CP, A1FD, A2FD e AFA, em função das densidades de inóculo, foram ajustadas pelo modelo não-linear logístico dose-resposta. Baixas densidades de inóculo (0,1; 0,5 e 1 ufc/g de solo) produziram elevados níveis de SD, que variaram de 15,6 a 53,1%. Densidades entre 20 e 50 ufc/g de solo não aumentaram substancialmente a SD. No ensaio com diferentes isolados de *M. cannonballus*, o conjunto das variáveis analisadas propiciou a separação de três grupos de similaridade, ficando evidente a variabilidade dos isolados dentro de uma mesma área e entre áreas. Elevados coeficientes de correlação e determinação confirmaram o ajuste da SD com A1FD, A2FD e AFA nos dois ensaios, demonstrando o potencial de utilização destas variáveis para quantificar o colapso do meloeiro.

ABSTRACT

This study aimed to verify the frequency of fungi associated to melon (*Cucumis melo* L.) roots with collapse symptoms and their correlation with physical, chemical and microbiologic characteristics of soils. It also aimed to analyze the influence of inoculum densities and strains of *Monosporascus cannonballus* on the melon collapse, evaluating suitable methods to quantify disease. Melon plants with collapse symptoms and soil samples were collected from 10 producing areas, located in the counties of Mossoró and Baraúna (State of Rio Grande do Norte) and Quixeré (State of Ceará). The isolation frequency (FI) of fungi was obtained for each area, while the soil samples were analyzed in relation to physical, chemical and microbiologic characteristics. *Monosporascus cannonballus* inoculum densities of 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 25 and 50 cfu/g of soil were essayed for collapse severity (SD), plant length (CP), shoot fresh biomass (BFPA) and root fresh biomass (BFR), shoot dry biomass (BSPA) and root dry biomass (PSR), areas of first and second true leaves (A1FD and A2FD), accumulated leaf area (AFA), total volume of plant (VTP), total fresh biomass of plant (BFTP) and total dry biomass of plant (BSTP). In the variability essay were utilized 44 strains of *M. cannonballus* with inoculum density of 10 cfu/g of soil. In the FI survey, high prevalences were verified for *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina* (100%), while lower values were verified for *Rhizoctonia solani* (40%), *M. cannonballus* (30%) and *Sclerotium rolfsii* (30%). *Fusarium solani* and *M. phaseolina* presented similar FI, ranging from 1.6 to 60.0%, while *M. cannonballus* showed FI from 0.0 to 71.1%, *R. solani* from 0.0 to 18.0% and *S. rolfsii* from 0.0 to 13.3%. The FI of *F. solani* and *M. cannonballus* were respectively higher in melon type Orange (57.1%) and Cantaloupe (40.9%), as well as in areas with one or two years (45.4%) and

with more than five years (48.2%) of cropping. The FI of *F. solani* and *M. cannonballus* were inversely correlated ($r = -0.79$), and were influenced by the amount of *Bacillus* spp. in the soil ($r = -0.71$ and 0.80 , respectively). The FI of *M. phaseolina* correlated with phosphorus level ($r = 0.68$), the FI of *R. solani* with flocculation degree ($r = 0.67$), field capacity ($r = -0.81$), pH ($r = -0.75$), aluminum level ($r = 0.85$) and total acidity ($r = 0.69$). The FI of *S. rolfisii* correlated with the permanent wilting point ($r = -0.78$) and soil available water ($r = 0.75$). The progress curves of SD, CP, A1FD, A2FD and AFA, related to inoculum densities, were adjusted by non-linear logistic model. Low inoculum densities (0.1, 0.5 and 1 cfu/g of soil) produced high levels of SD, ranging from 15.6 to 53.1%. Densities from 20 to 50 cfu/g of soil did not substantially increase SD. In the essay with different *M. cannonballus* strains, the analyzed variables propitiated formation of three similarity groups and evidenced strain variability within and among areas. High coefficients of correlation and determination confirmed the fit of SD with A1FD, A2FD and AFA in two essays demonstrating potential use to quantify the melon collapse.

Capítulo I

Introdução Geral

Introdução Geral

Classificação botânica e comercial do meloeiro

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) pertence à família das cucurbitáceas, as plantas apresentam ciclo anual, de porte herbáceo, caule prostrado, com gavinhas e número de hastes ou ramificações variáveis (Joly, 1991). As folhas são alternadas, simples, palmadas, pentalobuladas, angulosas quando jovens e subcordiformes quando completamente desenvolvidas. O sistema radicular é bem ramificado e o maior volume de raízes situa-se nos primeiros 20 a 30cm de profundidade do solo. As flores nascem nas axilas das folhas, sendo as femininas e hermafroditas isoladas, e as masculinas, em grupo de 3 a 5. O fruto é uma baga indeiscente, com forma, tamanho e coloração variáveis, contendo de 200 a 600 sementes, a casca pode apresentar-se lisa, enrugada, tipo “rede” ou em forma de gomos (Pedrosa, 1997).

As variedades botânicas *C. melo* var. *inodorus* Naud. e *C. melo* var. *cantalupensis* Naud. foram agrupadas em tipos comerciais que correspondem respectivamente aos melões inodoros e aromáticos. Os melões cultivados são resultantes não só da hibridação natural entre espécies em ambientes variáveis, mas, também, de programas intensivos de melhoramento genético (Menezes et al., 2000). A classificação comercial por tipo representa o agrupamento de variedades ou híbridos com uma ou mais características semelhantes, facilmente identificáveis e diferenciadas dos demais, como o aspecto da casca (cor quando maduro, presença ou ausência de suturas, cicatrizes, reticulação ou rendilhamento), cor da polpa, formato do fruto, etc. Os tipos comerciais de melão são amarelo ou valenciano, melão verde espanhol ou pele de sapo, orange fresh ou branco, charentais, gália e cantaloupe (Ferreira et al., 1982; Zapata et al., 1989; Shoemaker, 1992; Odet, 1993; Pedrosa, 1997; Alves et al., 2000; Costa et al., 2000).

Importância econômica da cultura do meloeiro

O meloeiro situa-se atualmente como uma das olerícolas mais importantes no mundo, com área cultivada de 1.358.700 hectares e produção de 21.750.512 toneladas, no ano de 2003 (FAO, 2004). Entre os principais países produtores, destacam-se a China (8.656.904 t), Turquia (1.900.000 t), Estados Unidos da América (1.300.000 t) e Espanha (1.062.000 t). O Brasil é o 12º produtor mundial dessa olerícola e o 2º da América Latina, com produção de 352.000 toneladas e produtividade média de 12,4 toneladas por hectare (FAO, 2004; IBGE, 2004).

No Brasil, a produção de melão concentra-se na região Nordeste, sendo os maiores pólos produtores os estados do Rio Grande do Norte (181.760 t) e Ceará (92.047 t), destacando-se os municípios de Baraúna (RN) (104.500 t), Mossoró (RN) (62.500 t) e Quixeré (CE) (61.500 t) como os maiores produtores nacionais no ano de 2002 (IBGE, 2004). Os estados da Bahia (43.016 t) e Pernambuco (16.686 t) são respectivamente o 3º e 4º maiores produtores nacionais de melão. O Nordeste brasileiro foi responsável, no ano de 2002, por aproximadamente 95% da produção nacional (IBGE, 2004), destacando-se na oferta de melão tanto para o mercado interno quanto para exportação. Na Região Nordeste, esta cultura vem assumindo maior expressão social e econômica, pelo fato de absorver uma grande quantidade de mão-de-obra e gerar um montante considerável de divisas para a economia nacional (Dias et al., 1998).

A área plantada de meloeiro no Nordeste brasileiro aumentou de 9.800 hectares, em 1996, para 14.126 hectares no ano de 2002 (IBGE, 2004), o que corresponde a um aumento de 69,4% e demonstra o crescente interesse por esta cultura na região. O pólo RN/CE caracteriza-se pela existência de grandes e médias empresas com modernas tecnologias, equipamentos importados para irrigação, fertirrigação, processamento de embalagem, classificação de frutos, alta produtividade, associada a alta competitividade, junto aos mercados interno e externo (Dias et al., 1997).

O interesse pela cultura do meloeiro no Submédio do São Francisco (PE e BA) também tem aumentado nos últimos anos devido à crescente demanda para exportação e às ótimas condições climáticas para o seu desenvolvimento nessa região, como temperaturas elevadas e altos níveis de insolação, que favorecem o desenvolvimento de frutos com elevado teor de sólidos solúveis (Costa et al., 2000).

O colapso do meloeiro

A expansão da cultura do meloeiro no Nordeste brasileiro, aliada ao cultivo intensivo e contínuo sem rotação de culturas, tem possibilitado o aumento do número e da severidade de doenças (Santos et al., 2000). Nos últimos anos, tem se tornado especialmente importante uma doença causada por fitopatógenos radiculares denominada colapso, que vem produzindo grandes perdas e limitando a produção do meloeiro nas principais regiões produtoras do mundo (García-Jiménez et al., 2000). Entre as causas que contribuíram para o aumento da severidade do colapso destacam-se as mudanças nas práticas culturais como introdução de híbridos suscetíveis, uso de cobertura plástica, transplante, irrigação de alta frequência, aumento na densidade de plantio e ausência de rotações de cultivos apropriadas (Brutton, 1998; Cohen et al., 2000).

Os fungos fitopatogênicos associados ao colapso são diversos e, com frequência aparecem combinados (Brutton, 1998; García-Jiménez et al., 2000). Em função das características da infecção, os fungos causadores do colapso podem ser agrupados em três categorias (Brutton, 1998; Aegerter et al., 2000; Costa et al., 2000; García-Jiménez et al., 2000; Santos et al., 2000): a) causador de murchas vasculares: *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* Snyder e Hansen; b) causadores de podridões do colo: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Grif. e Maubl., *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm e *Myrothecium roridum* Tode; c) causadores de podridões de raízes: *Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae* Snyder e Hansen, *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker, *Rhizopycnis vagum* Farr e *Acremonium cucurbitacearum* Alfaro-García, Gams e García-Jiménez.

Entre os principais fungos associados ao colapso do meloeiro, a nível mundial, destaca-se *M. cannonballus*, o qual foi detectado recentemente em plantios no Nordeste do Brasil (Marinho et al., 2002; Sales Jr. et al., 2003), embora venha causando grandes perdas e limitando a produção do meloeiro nas principais regiões produtoras do mundo há vários anos (Martyn e Miller, 1996; Bruton et al., 2000).

O fungo *M. cannonballus* pertencente à classe dos Ascomycetes (Alexopoulos et al., 1996), apresenta micélio de coloração branca a cinza, esparso a abundante, peritécios globosos, dentro dos quais emergem os ascos com ascósporos. Apesar dos ascomicetos em geral produzirem oito ascósporos por asco, *M. cannonballus* produz apenas um ou, muito raramente, dois ascósporos. O estágio assexual (anamorfo) desse fungo não tem sido

observado (Pollack e Uecker, 1975). Os ascósporos são escuros, esféricos, multinucleados com dupla camada, apresentam tamanhos variando de 40 a 50 μm de diâmetro, são extremamente resistentes a dessecação e constituem a fonte de inóculo primário entre as épocas de plantio (Stanghellini et al., 1996).

Os sintomas de colapso são de fácil identificação, uma vez que as plantas afetadas apresentam principalmente necroses e podridões nas raízes e têm como consequência a murcha e morte na época próxima à formação dos frutos (García-Jiménez et al., 2000). Os primeiros sintomas do colapso do meloeiro são o amarelecimento gradual e seca das folhas mais velhas, o qual avança rapidamente para as folhas jovens, causando a seca completa e morte prematura das plantas (Martyn e Miller, 1996). Devido à ocorrência de colapso, foram constatadas reduções de até 50% na área cultivada com meloeiro nas principais zonas de produção da Espanha (Sales Jr., 1999), inexistindo dados sobre as perdas relacionadas a esta doença no Brasil.

A infecção da planta por *M. cannonballus* pode ocorrer por propágulos (micélio ou ascósporos), que sobreviveram no solo ou em restos culturais, os quais estimulados por exsudatos de raízes e pela microbiota existente no solo, desenvolvem-se, invadem os tecidos, colonizam e destroem o córtex das raízes (Stanghellini et al., 2000). A manutenção do *M. cannonballus* no campo pode ser favorecida, a despeito de sua especificidade, por restos de plantas de meloeiro e hospedeiros secundários. *Monosporascus cannonballus* pode apresentar limitada incursão nas células epidérmicas e corticais de plantas não hospedeiras, que são assim classificadas devido aos efeitos sobre estas serem mínimos e geralmente não reconhecidos. Este tipo de hospedeiro e muitas ervas daninhas podem contribuir para a persistência do patógeno durante curtos ou prolongados períodos de rotação de culturas (Mertely et al., 1993a). Além disso, apesar da pouca informação na literatura sobre a epidemiologia de *M. cannonballus*, aparentemente o fungo consegue sobreviver no solo por algum tempo. Uematsu e Sekiyama (1990) relataram que meloeiros, crescendo em amostras de solo infestadas e estocadas por um a cinco anos, desenvolveram sintomas de podridão de raízes, sendo o fungo reisolado das raízes.

A relação entre densidade de inóculo e severidade da doença tem sido uma área de muito interesse envolvendo outros patógenos habitantes do solo, o mesmo não acontecendo com *M. cannonballus*. No entanto, alguns trabalhos têm mostrado que a severidade do colapso do meloeiro aumenta com o incremento da concentração de inóculo, mas em geral,

a severidade depende do nível de resistência das cultivares testadas e da temperatura (Bruton et al., 1999; Pivonia et al., 2002).

A resposta de meloeiros a doenças incitadas por patógenos radiculares pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento da planta, nível e tipo de resistência envolvida, densidade de inóculo do patógeno no solo, variabilidade do patógeno e condições ambientais (Mertely et al., 1993b; Bruton, 1998). Assim, a avaliação contínua da variabilidade *M. cannonballus*, monitorando possíveis mudanças na população, juntamente com a determinação dos níveis de inóculo adequados para causar doença, são necessárias para obtenção de cultivares resistentes em programas de melhoramento genético do meloeiro, além de fornecerem informações para o manejo da doença.

O controle químico dos fitopatógenos causadores de colapso do meloeiro através da fumigação do solo com brometo de metila, chloropicrina, 1,3 dichloropropeno ou sódio metam (VapamTM) tem sido insatisfatório e/ou antieconômico (Cohen et al., 1999; Edelstein et al., 1999; Cohen et al., 2000), sendo geralmente recomendada a utilização de práticas integradas, uma vez que utilizadas individualmente dificilmente propiciarão o sucesso esperado. As principais medidas de controle envolvem: uso de variedades resistentes quando disponíveis; manipulação da fertilidade do solo, visando reduzir o crescimento, esporulação e virulência dos fungos fitopatogênicos; manejo de irrigação; pousio do solo; destruição de restos culturais, uso da rotação de culturas com plantas não hospedeiras, o que não elimina os patógenos, mas reduz drasticamente a quantidade de inóculo; uso de sementes sadias; prevenção da disseminação dos patógenos, reduzindo o movimento de solo infestado, bem como o trânsito de máquinas, animais e operários de lavouras infectadas para áreas livres das doenças (Díaz-Ruíz e García-Jiménez, 1994; Blancard et al., 1996; Bruton et al., 1998; Cohen et al., 2000; Stanghellini et al., 2004).

A utilização de cultivares resistentes parece ser a forma mais interessante de controle do colapso do meloeiro, embora apresente algumas dificuldades, tais como a obtenção de cultivares que apresentem características agronômicas desejáveis e o tempo necessário para sua obtenção (Díaz-Ruíz e García-Jiménez, 1994; Blancard et al., 1996). Para a compreensão das interações entre patógeno e hospedeiro, e manutenção da estabilidade de cultivares resistentes por um longo período de tempo, é essencial estudar os efeitos das numerosas interações entre a variabilidade dos patógenos e os fatores do ambiente (Beckman, 1987).

Estudos de dinâmica populacional de *M. cannonballus*, da interação com outros organismos no solo, influência de mudanças ambientais, adição de suplementos orgânicos e inorgânicos, aplicação de produtos via fumigação do solo, e manejo de irrigação vêm contribuir para o entendimento de como o patógeno persiste no solo e, conseqüentemente, quais práticas podem ser utilizadas em programas de manejo da doença (Cohen et al., 2000). No entanto, a falta de precisão e acurácia na avaliação de doenças causa grandes dificuldades para a estimativa correta da agressividade dos fitopatógenos, da resistência da planta e de efeitos do meio ambiente sobre a severidade da doença, principalmente quando se trata de patógenos radiculares (O'Brien e Van Bruggen, 1992).

Patógenos radiculares, além de incitarem danos diretos em raízes, modificam características e padrões de crescimento, desenvolvimento e reprodução de cucurbitáceas (Box, 1996). Portanto, a utilização de características de crescimento de plantas, tais como, biomassa, variações na coloração, número de folhas, altura da planta, respiração, área foliar e volume da planta, podem auxiliar na quantificação de doenças causadas por patógenos radiculares em meloeiro. Dentre estas, a medição da área foliar permite a avaliação contínua da doença, sendo de fácil determinação (Biernacki e Bruton, 2000 e 2001).

Apesar da importância mundial do colapso do meloeiro e, potencialmente, para o Brasil, pouco se conhece sobre a severidade da doença no País, particularmente nas áreas de plantio do Nordeste brasileiro, constatando-se apenas um estudo sobre a micoflora associada às raízes de meloeiro (Marinho et al., 2002), assim como inexistem estudos sobre a relação entre as características dos solos, densidade de inóculo e variabilidade de isolados, as quais constituem importantes aspectos no desenvolvimento de estratégias de manejo integrado da doença nas condições edafo-climáticas do Nordeste brasileiro, bem como no desenvolvimento de cultivares resistentes em programas de melhoramento genético de meloeiro. Portanto, baseado nestas considerações, o presente trabalho teve como objetivos verificar a frequência de isolamento de espécies fúngicas associadas às raízes de meloeiro com sintomas de colapso na principal região produtora do Nordeste; analisar a relação entre as características física, química e microbiológica dos solos e a frequência de isolamento de espécies fúngicas; verificar a influência de densidades de inóculo e de diferentes isolados de *M. cannonballus* sobre o colapso do meloeiro, bem como avaliar metodologias adequadas para quantificação da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aegerter, 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**, St. Paul, v.84, n.3, p.224-230, 2000.

Alexopoulos, C.J.; Mims, C.W.; Blackwell, M. **Introductory mycology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. 868p.

Alves, R.E.; Pimentel, C.R.; Maia, C.E.; Castro, E.B.; Viana, F.M.P.; Costa, F.V.; Andrade, G.G.; Filgueiras, H.A.C.; Almeida, J.H.S.; Menezes, J.B.; Costa, J.G.; Pereira, L.S.E. **Manual de melão para exportação**. Brasília: EMBRAPA/SPI, 2000. 51p.

Beckman, C.H. **The nature of wilt diseases of plants**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1987. 175p.

Biernacki, M.; Bruton, B.D. Comparison of leaf-area index with root weight for assessing plant damage by soil-borne pathogens. In: Katzir, N.; Paris, H.S. (Eds.). **Cucurbitaceae '2000**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, 2000. p.163-169.

Biernacki, M.; Bruton, B.D. Quantitative response of *Cucumis melo* inoculated with root rot pathogens. **Plant disease**, St. Paul, v.85, n.1, p.65-70, 2001.

Blancard, D.; Lecoq, H.; Pitrat, M. **Enfermedades de las cucurbitáceas**: observar, identificar, luchar. Madri: Mundi-Prensa, 1996. 301p.

Box, J. Modern methods for root investigations. In: Waisel, Y.; Eshel, A.; Kafkafi, U. (Eds.) **Plant roots**. New York: Marcel Dekker, 1996. p.193-237.

Bruton, B.D. Soilborne diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: McCreight, J. (Ed.). **Cucurbitaceae '98**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, 1998. p.143-166.

Bruton, B.D.; García-Jiménez, J.; Armengol, J. Analysis of the relationship between temperature and vine declines caused by *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on muskmelon. **Subtropical Plant Science**, Welasco, v.51, p.23-28, 1999.

Bruton, B.D.; García-Jiménez, J.; Armengol, J.; Popham, T.W. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n.8, p.907-913, 2000.

Bruton, B.D.; Russo, V.M.; Garcia-Gimenez, J.; Miller, M.E. Carbohydrate partitioning, cultural practices, and vine decline diseases of cucurbits. In: McCreight, J. (Ed.). **Cucurbitaceae '98**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, 1998. p.189-200.

Cohen, R.; Pivonia, S.; Burger, Y.; Edelstein, M.; Gamliel, A.; Katan, J. Toward integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n.5, p.496-505, 2000.

Cohen, R.; Pivonia, S.; Edelstein, M.; Raz, D.; Katan, J. Efficacy of fluazinon I suppression of *Monosporascus cannonballus*, the causal agent of sudden wilt of melons. **Plant Disease**, St. Paul, v.83, n.12, p.1137-1141, 1999.

Costa, N.D.; Dias, R.C.S.; Faria, C.M.B.; Tavares, S.C.C.H.; Terao, D. **Cultivo do melão**. Petrolina: Embrapa Semi Árido, 2000. 67p. (Embrapa Semi Árido. Circular Técnica, 59).

Dias, R.C.S.; Costa, N.D.; Cerdan, C. Cadeia produtiva de melão do Nordeste. In: Seminário Nacional Sobre Prospecção Tecnológica, 1997. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1997. p.68-69.

Dias, R.C.S.; Costa, N.D.; Cerdan, C.; Silva, P.C.G.; Queiroz, M.A.; Zuza, F.; Leite, L.A.S.; Pessoa, P.F.A.P.; Terao, D.A. Cadeia produtiva do melão no Nordeste. In: Castro, A.M.G.; Lima, S.M.V.; Goedert, W.J.; Fonseca Filho, A.; Vasconcelos, J.R.P. **Cadeias produtivas e sistemas naturais**. Brasília: EMBRAPA/SPI, 1998. p. 440-493.

Díaz Ruíz, J.R.; García Jimenez, J. **Enfermedades de las cucurbitáceas en España**. Madrid: Phytoma, 1994. 155p.

Edelstein, M.; Cohen, R.; Burger, Y.; Shriber, S.; Pivonia, S.; Shtienberg, D. Integrated management of sudden wilt in melons, caused by *Monosporascus cannonballus*, using grafting and reduced rates of methyl bromide. **Plant Disease**, St. Paul, v.83, n.12, p.1142-1145, 1999.

FAO. **FAOSTAT** - Agricultural statistics database. [online]. Rome: World Agricultural Information Centre 2002. Disponível em: <http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp>. Acesso em: 07 fev. 2004.

Ferreira, F.A.; Pedrosa, J.F.; Alvarenga, M.A.R. Melão: cultivares e métodos culturais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.85, p.26-28, 1982.

García-Jiménez, J.; Armengol, J.; Sales Jr., R.; Jordá, C.; Bruton, B.D. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, Paris, v.30, p.169-173, 2000.

IBGE. **Produção agrícola municipal**. [online]. Rio de Janeiro. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2004. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp>>. Acesso em: 07 fev. 2004.

Joly, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Nacional, 1991. 777p.

Marinho, R.E.M.; Sales Jr. R.; Maracajá, P.B.; Silva, G.F.; Costa, F.M.; Silva, E.C. Identificação da micoflora associada a raízes de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. **Caatinga**, Mossoró, v.15, n.1/2, p.25-28, 2002.

Martyn, R.D.; Miller, M.E. *Monosporascus* root rot and vine decline: an emerging disease of melon worldwide. **Plant Disease**, St. Paul, v.80, n.7, p.716-725, 1996.

Menezes, J.B.; Filgueiras, H.A.C.; Alves, R.E.; Maia, C.E.; Andrade, G.G.; Almeida, J.H.S.; Viana, F.M.P. Características do melão para exportação. In: Alves, R.E. (Org.). **Melão: pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA/SPI, 2000. p.13-22. (Frutas do Brasil, 10).

Mertely, J.C.; Martyn, R.D.; Miller, M.E.; Bruton, B.D. An expanded host range for the muskmelon pathogens *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, St. Paul, v.77, n.8, 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**, St. Paul, v.77, n.8, p.766-771, 1993b.

O'Brien, R.; Van Bruggen, A. Accuracy, precision and correlation to yield loss of disease severity scales for cork root of lettuce. **Phytopathology**, St. Paul, v.82, n.1, p.91-96, 1992.

Odet, J. **Le melon**. Paris: CTIFL, 1993. 295p.

Pedrosa, J. F. **Cultura do Melão**. 4 ed. Mossoró: ESAM, 1997. 51P.

Pivonia, S.; Cohen, R.; Rigel, J.; Katan, J. Effect of soil temperatura on disease development in melon plants infected by *Monosporascus cannonballus*. **Plant Pathology**, London, v.51, p.472-479, 2002.

Pollack, F.G.; Uecker, F.A. *Monosporascus cannonballus*, an unusual ascomycete in cantaloupe roots. **Mycologia**, Bronx, v.66, n.3, p.346-349, 1975.

Sales Jr., 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. 204f. Tesis (Doctoral en Fitopatología) - Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, 1999.

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, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.5, p.567, 2003.

Santos, A.A.; Freire, F.C.O.; Lima, J.A.A.; Cardoso, J.E. **Doenças do meloeiro em áreas irrigadas no Estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 11p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa, 35).

Shoemaker, W.H. Melons: musk melons, water melons, and doneydews. In: Swiader, J. M.; Ware, G. N. **Producing vegetable crops**. Illinois: IPP, 1992. p.361-380.

Stanghellini, M.E.; Kim, D.H.; Rasmussen, S.L. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. **Phytopathology**, St. Paul, v.86, n.5, p.509-514, 1996.

Stanghellini, M.E.; Kim, D.H.; Waugh, M.M. Microbe-mediated germination of ascospores of *Monosporascus cannonballus*. **Phytopathology**, St. Paul, v.90, n.3, p.243-247, 2000.

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**, London, v.53, p.50-53, 2004.

Uematsu, S.; Sekiyama, K. Comparison of morphological characteristics and pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* Pollack and Uecker collected in Japan, distribution in melon plants with root rot symptoms and survival in soils under laboratory conditions. **Soil Microorganisms**, Tokio, v.35, p.7-12, 1990.

Zapata, N.M.; Cabrera, P.; Banõn, R; Roth, P. **El melón**. Madrid: Mundi-Prensa, 1989. 173p.

Capítulo II

Freqüência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos

Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos

Domingos E.G.T. de Andrade¹, Sami J. Michereff^{1,4}, Caroline M. Biondi², Clístenes W.A. Nascimento², Rui Sales Jr.³

¹Departamento de Agronomia – Área de Fitossanidade e ²Área de Solos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife-PE, Brasil. E-mail: sami@ufrpe.br;

³Departamento de Fitossanidade, Escola Superior de Agricultura de Mossoró, CEP 59625-900, Mossoró-RN, Brasil. E-mail: jrui@hotmail.com; ⁴Bolsista do CNPq.

Parte de Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco. Bolsista da CAPES.

Autor para correspondência: Domingos E.G.T. de Andrade

Aceito para publicação em:

RESUMO

Andrade, D.E.G.T.; Michereff, S.J.; Biondi, C.M.; Nascimento, C.W.A.; Sales Jr., R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. *Summa Phytopathologica*

Meloeiros (*Cucumis melo* L.) com sintomas de colapso e amostras de solos foram coletados em 10 áreas produtoras, localizadas nos municípios de Mossoró e Baraúna (RN) e Quixeré (CE). A frequência de isolamento de fungos em raízes de meloeiro foi obtida para cada área, enquanto as amostras de solo foram analisadas quanto às características físicas, químicas e microbiológicas. Prevalências elevadas foram constatadas para *Fusarium solani* e *Macrophomina phaseolina* (100%), enquanto valores menores foram verificados para *Rhizoctonia solani* (40%), *Monosporascus cannonballus* (30%) e *Sclerotium rolfsii* (30%). *Fusarium solani* e *M. phaseolina* apresentaram frequências de isolamento similares, variando de 1,6 a 60,0%, enquanto *M. cannonballus*, apresentou frequência de 0,0 a 71,1%, *R. solani* de 0,0 a 18,0% e *S. rolfsii* de 0,0 a 13,3%. As frequências de *F. solani* e *M. cannonballus* foram respectivamente superiores em meloeiros dos tipos Orange (57,1%) e Cantaloupe (40,9%), assim como em áreas com um ou dois anos (45,4%) e com mais de cinco anos de cultivo (48,2%). As frequências de isolamento de *F. solani* e *M. cannonballus* correlacionaram-se inversamente ($r = -0,79$),

sendo estas influenciados pela quantidade de *Bacillus* spp. presente no solo ($r = -0,71$ e $0,80$, respectivamente). A frequência de *M. phaseolina* correlacionou com o teor de fósforo ($r = 0,68$), *R. solani* com grau de floculação ($r = 0,67$), capacidade de campo ($r = -0,81$), pH ($r = -0,75$), teor de alumínio ($r = 0,85$) e acidez total ($r = 0,69$), enquanto *S. rolfsii* correlacionou com o ponto de murcha permanente ($r = -0,78$) e a água disponível no solo ($r = 0,75$).

Palavras-chave adicionais: *Cucumis melo*, patógenos radiculares, levantamento.

ABSTRACT

Andrade, D.E.G.T.; Michereff, S.J.; Biondi, C.M.; Nascimento, C.W.A.; Sales Jr., R. Frequency of fungi associated to melon collapse and relationship with physical, chemical and microbiological characteristics of soils. *Summa Phytopathologica*

Melon (*Cucumis melo* L.) plants with collapse symptoms and soil samples were collected from 10 producing areas, located at the counties Mossoró and Baraúna (State of Rio Grande do Norte, Brazil) and Quixeré (State of Ceará, Brazil). The frequency of fungus isolation from melon roots was obtained for each area, while soil samples were analyzed in relation to physical, chemical and microbiological characteristics. High prevalences were found for *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina* (100%), while lower values were observed for *Rhizoctonia solani* (40%), *Monosporascus cannonballus* (30%) and *Sclerotium rolfsii* (30%). *Fusarium solani* and *M. phaseolina* showed similar isolation frequencies, ranging from 1.6 to 60.0%, while *M. cannonballus*, presented frequency from 0.0 to 71.1%, *R. solani* from 0.0 to 18.0% and *S. rolfsii* from 0.0 to 13.3%. Frequencies of *F. solani* and *M. cannonballus* were respectively higher in melons types Orange (57.1%) and Cantaloupe (40.9%), as well as in areas with one or two years (45.4%) and with more than five years of cropping (48.2%). Isolation frequencies of *F. solani* and *M. cannonballus* were inversely correlated ($r = -0.79$), and influenced by the amount of *Bacillus* spp. in the soil ($r = -0.71$ and 0.80 , respectively). The frequency of *M. phaseolina* was correlated with phosphorus level ($r = 0.68$); *R. solani* with flocculation degree ($r = 0.67$), field capacity ($r = -0.81$), pH ($r = -0.75$), aluminum level ($r = 0.85$) and total acidity ($r = 0.69$), while *S. rolfsii* correlated with permanent wilting point ($r = -0.78$) and available soil water ($r = 0.75$).

Additional keywords: *Cucumis melo*, root pathogens, survey.

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma das olerícolas mais importantes no mundo, com área cultivada de 1.358.700 hectares e produção de 21.750.512 t, no ano de 2003 (7). No Brasil, a região Nordeste foi responsável por 95% da produção de melão no ano de 2002, com destaque para os pólos produtores localizados nos municípios de Baraúna (104.500 t) e Mossoró (62.500 t), no Rio Grande do Norte, e Quixeré (61.500 t), no Ceará (12).

A expansão da cultura do meloeiro no Nordeste brasileiro, aliada ao cultivo intensivo e contínuo sem rotação de culturas, tem contribuído para o aumento da incidência e severidade de doenças (25). Nos últimos anos, tem se tornado especialmente importante o colapso do meloeiro, causado por fitopatógenos habitantes do solo, que vem acarretando grandes perdas e limitando a produção do meloeiro nas principais regiões produtoras do mundo (9). Entre as causas que contribuíram para o aumento da severidade do colapso destacam-se as mudanças nas práticas culturais como introdução de híbridos, uso de cobertura plástica, transplante, irrigação de alta frequência, aumento na densidade de plantio e ausência de rotações de cultivos apropriadas (2).

Os fungos fitopatogênicos associados ao colapso do meloeiro são diversos e, com frequência, aparecem combinados (2, 9). Os principais fungos causadores do colapso no Nordeste brasileiro são *Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae* Snyder e Hansen, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Grif. e Maubl., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker, *Myrothecium roridum* Tode e *Rhizoctonia solani* Kuhn (5, 14, 23, 25).

Os sintomas de colapso são de fácil identificação, uma vez que as plantas afetadas apresentam principalmente necroses e podridões nas raízes e têm como consequência murcha e morte na época próxima à formação dos frutos (9).

Apesar da importância mundial do colapso do meloeiro e, potencialmente, para o Brasil, pouco se conhece sobre a severidade da doença no País, particularmente em áreas de plantio do Nordeste brasileiro, constatando-se apenas um estudo sobre a micoflora associada às raízes de meloeiro (14), assim como inexistem estudos sobre a relação entre as características dos solos e a frequência desses microrganismos, o que constitui importante aspecto no desenvolvimento de estratégias de manejo integrado da doença. Portanto, baseado nestas considerações, o presente trabalho teve como objetivos verificar a frequência de isolamento de espécies fúngicas associadas às raízes de meloeiro com sintomas de colapso na principal região produtora do Nordeste, bem como analisar a

relação entre estas freqüências e as características físicas, químicas e microbiológicas dos solos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de amostras

No ano agrícola de 2003 foram realizados levantamentos para analisar a população fúngica associada às raízes de meloeiro em 10 áreas de plantio comercial, com 40 a 200 ha plantados, localizadas nos municípios de Mossoró (RN), Baraúna (RN) e Quixeré (CE). Os plantios foram escolhidos ao acaso e em cada plantio foram coletados no mínimo 20 meloeiros com 65 a 75 dias de idade apresentando sintomas de colapso causado por patógenos radiculares, em uma área com 100 x 100 m (9). Simultaneamente à coleta de plantas, foram efetuadas coletas de solo, sendo removidas, aleatoriamente, seis sub-amostras de 5 kg de solo a uma profundidade de 0-20 cm em cada local, totalizando uma amostra composta de 30 kg de solo/área. Em cada propriedade, foram obtidas informações adicionais quanto à localização geográfica, avaliada pelo Sistema de Posicionamento Global (GPS 48 Personal Navigator, Garwin International, Olathe, KS, USA), tipo de meloeiro cultivado e tempo de plantio no local.

Freqüência de fungos associados às raízes de meloeiro com colapso

As raízes das plantas coletadas foram lavadas cuidadosamente em água corrente, para retirada do solo aderido, e posteriormente secas ao ambiente por duas horas. Após este período, de cada planta foram retirados 10 fragmentos do tecido vegetal afetado, incluindo colo, raiz principal e raízes secundárias (14). Os fragmentos foram submetidos a procedimentos de rotina para o isolamento de fungos e transferidos para placas de Petri, contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), suplementado com 250 ppm de tetraciclina, sendo incubados por 15 dias à temperatura de 25 ± 2 °C, sob luminosidade contínua. Posteriormente, as espécies fúngicas foram identificadas ao microscópio ótico, sendo calculada a freqüência de isolamento de fungos associados às raízes de meloeiro, em relação ao total de fragmentos plaqueados. A freqüência de isolamento por área foi obtida considerando-se a quantidade de plantas coletadas em cada área, enquanto a prevalência consistiu da quantidade de áreas com presença da espécie fúngica em relação ao total de áreas analisadas. A freqüência de combinações entre espécies fúngicas associados às raízes de meloeiro também foi calculada para cada área avaliada.

A comparação das frequências médias de isolamento de espécies fúngicas e de combinações entre espécies nas áreas avaliadas, considerando também o tipo de meloeiro cultivado e o tempo de plantio no local, foi efetuada pelo teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade. Além disso, visando comparar a influência das diferentes espécies fúngicas obtidas sobre a frequência de isolamento, os dados médios das frequências foram submetidos à análise de correlação de Pearson, ao nível de 5% de probabilidade.

Características físicas, químicas e microbiológicas dos solos e relação com a frequência de fungos associados às raízes de meloeiro com colapso

As amostras de solo foram secas em ambiente coberto durante 10 dias e depois peneiradas para retirada de resíduos. Após este processamento inicial, frações das amostras foram analisadas quanto às características físicas, químicas e microbiológicas. As análises físicas e químicas consistiram na determinação da densidade global (g/cm^3), densidade da partícula (g/cm^3), porosidade (%), percentuais de areia, argila e silte, classe textural, relação silte/argila, teor de argila natural (%), grau de floculação (%), capacidade de campo, ponto de murcha permanente, água disponível, condutividade hidráulica (cm/h), potencial hidrogeniônico (pH), fósforo (P) disponível (mg/dm^3), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na) e alumínio (Al) trocáveis (cmolc/dm^3), acidez potencial (cmolc/dm^3), carbono (C) orgânico (g/kg) e matéria orgânica (g/kg) (6).

No levantamento das populações microbianas, de cada amostra de 30 kg de solo foram removidas 10 sub-amostras de 10 g e homogeneizadas. Após as diluições em série, alíquotas de 0,1 mL foram distribuídas no meio batata-dextrose-ágar (BDA), com e sem adição de 250 ppm de tetraciclina, para isolamentos de fungos totais e bactérias totais, respectivamente, bem como no meio B de King (KMB), para isolamento de *Pseudomonas* spp. fluorescentes. No isolamento de *Bacillus* spp., as diluições foram submetidas a banho-maria de 80 °C por 20 minutos, com posterior distribuição em meio BDA, sem adição de antibiótico. As culturas foram incubadas a 25 ± 2 °C, sob luminosidade contínua. As populações bacterianas foram avaliadas após 48 horas de incubação, enquanto os fungos foram avaliados após cinco dias. Cada população resultou do número médio de colônias em seis placas, sendo expressas em unidades formadoras de colônia por grama de solo (ufc/g). Para avaliar as possíveis características dos solos relacionadas à frequência de isolamentos de espécies fúngicas associadas às raízes de meloeiro com colapso, foram efetuadas comparações dos valores médios da frequência de isolamento de cada espécie obtida com os valores das variáveis associadas às características físicas, químicas e

microbiológicas de cada solo, pela análise de correlação de Pearson, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No levantamento das espécies fúngicas associadas às raízes de meloeiro com sintomas de colapso, ficaram evidentes as elevadas prevalências de *F. solani* e *M. phaseolina* (Tabela 1), com 100% das áreas de plantio apresentando plantas infectadas com estes microrganismos, enquanto menores prevalências foram verificadas para *R. solani* (40%), *M. cannonballus* (30%) e *Sclerotium rolfsii* Sacc. (30%). Esses resultados confirmam o relato de Marinho et al. (14) em relação aos fungos *F. solani* e *M. phaseolina*, que se encontram disseminados em quase todos os campos de produção dos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. Com exceção de *S. rolfsii*, todos os fungos registrados encontram-se associados ao colapso do meloeiro em diversos países (2, 4, 9). No entanto, a ocorrência de *M. cannonbalus*, recentemente detectado no Brasil (23), em 30% das áreas de plantio, é extremamente preocupante devido a esta espécie ser uma das mais agressivas associadas às raízes de meloeiro, sendo considerada fator principal no colapso em vários países, principalmente em regiões semi-áridas (3, 4, 15, 28).

As freqüências de isolamento das espécies fúngicas variaram bastante entre as áreas de cultivo avaliadas. *Fusarium solani* e *M. phaseolina* apresentaram freqüências similares, variando de 2,0 a 60,0% e de 1,6 a 54,4%, respectivamente, enquanto *M. cannonballus*, apresentou freqüência de 0,0 a 71,1%, *R. solani* de 0,0 a 18,0% e *S. rolfsii* de 0,0 a 13,3% (Tabela 1). Em relação à média geral, a freqüência de *F. solani* (35,0%) foi similar a *M. phaseolina* (26,0%) e significativamente superior aos demais, enquanto *M. cannonballus* (14,2%) não diferiu significativamente de *M. phaseolina*, no entanto diferiu de *R. solani* (3,6%) e *S. rolfsii* (2,7%). Os resultados assemelham-se aos constatados por Marinho et al. (14) ao analisarem a microbiota associada às raízes de meloeiro em dois campos de produção da região nordeste, em que *F. solani*, *M. phaseolina* e *M. cannonoballus*, apresentaram freqüências médias de isolamento de 29,6%, 30,5% e 8,1%, respectivamente.

Tabela 1. Frequências de isolamento e de combinações entre espécies fúngicas associadas às raízes de meloeiro com sintomas de colapso, obtidas de áreas de cultivo dos municípios de Mossoró, Baraúna (RN) e Quixeré (CE).

Área	Local	Tipo ¹	Tempo (anos) ²	Frequência de isolamento (%) ³					Frequência de combinações (%) ⁴		
				FS	MP	MC	RS	SR	1	2	≥3
A-01	Baraúnas	Amarelo	9	28,9	54,4	0,0	0,0	0,0	11,1	88,9	0,0
A-02	Mossoró	Gália	1	40,0	29,0	0,0	4,0	10,0	10,0	50,0	40,0
A-03	Mossoró	Cantaloupe	5	34,3	13,6	0,0	3,6	3,6	14,3	78,6	7,1
A-04	Mossoró	Orange	5	52,0	12,0	4,0	10,0	0,0	20,0	60,0	20,0
A-05	Baraúnas	Amarelo	2	30,0	26,0	0,0	18,0	0,0	0,0	80,0	20,0
A-06	Baraúnas	Orange	1	60,0	16,7	0,0	0,0	13,3	11,1	44,4	44,4
A-07	Quixeré	Cantaloupe	8	14,7	1,6	71,1	0,0	0,0	57,9	36,8	5,3
A-08	Baraúnas	Gália	3	38,0	26,0	0,0	0,0	0,0	40,0	60,0	0,0
A-09	Baraúnas	Amarelo	3	50,0	50,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0
A-10	Mossoró	Amarelo	5	2,0	31,0	67,0	0,0	0,0	20,0	70,0	10,0
Média ⁵				35,0 a	26,0 ab	14,2 b	3,6 c	2,7 c	18,4 b	66,9 a	14,7 b

¹Tipo de meloeiro cultivado na área por ocasião da amostragem.

²Tempo de cultivo com meloeiro na área amostrada.

³Frequência de isolamento de espécies fúngicas obtida pela média de 10 fragmentos retirados por planta em relação ao total de plantas de cada área. FS = *Fusarium solani*, MP = *Macrophomina phaseolina*, MC = *Monosporascus cannonballus*, RS = *Rhizoctonia solani* e SR = *Sclerotium rolfsii*.

⁴Frequência de combinações entre as espécies fúngicas obtidas de cada área, onde: 1 = % de plantas apresentando apenas infecção por uma espécie fúngica, 2 = % de plantas apresentando infecções simultâneas por duas espécies fúngicas e 3 = % de plantas apresentando infecções simultâneas por três ou mais espécies fúngicas.

⁵Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem estatisticamente entre si pelo teste Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade.

A frequência de isolamento média de *M. cannonballus* (14,2%) observada neste trabalho foi obtida de plantas com 60-75 dias de cultivo, sendo esse valor semelhante ao observada por Sales Jr. et al. (23) em dois plantios de meloeiro em Mossoró (15,0%) e superior às observadas por Sales Jr. et al. (22), com plantas na mesma idade na Espanha, que apresentaram frequência de isolamento de 5,0%, aumentando para 7,5% apenas aos 90 dias e alcançando o máximo de 15,0% aos 110 dias de cultivo. No entanto, quando consideradas as três áreas de cultivo que apresentaram *M. cannonballus* no presente estudo, verifica-se que em duas (A-07 e A-10) as frequências de isolamento foram de 71,1% e 67,0%, respectivamente, apresentando, portanto, alta infestação pelo fungo. Isto pode ser justificado pelo elevado potencial reprodutivo e de adaptação às condições de semi-árido, de *M. cannonballus*, onde uma única planta afetada pelo patógeno é capaz de produzir 400.000 ascósporos, que incorporados uniformemente em 0,03 m³ de solo, considerando-se a densidade do solo, resulta aproximadamente numa densidade de inóculo de 10 ascósporos/g de solo (29).

O colapso do meloeiro raramente é causado por um único microrganismo, sendo comumente associado a um conjunto de fungos (2), embora um patógeno possa

predominar em relação aos outros e ser determinante na ocorrência da doença (9). Os levantamentos nas áreas de plantio demonstraram que as espécies fúngicas predominantes foram *F. solani* e *M. phaseolina*. No entanto, relatos na literatura são conflitantes em relação à importância de *F. solani* na ocorrência do colapso. Alguns estudos têm demonstrado que este fungo não é patogênico ao meloeiro e, aparentemente, atua como colonizador secundário dos tecidos radiculares doentes (1), sendo um saprófita comum do solo, freqüentemente isolado de raízes de meloeiro (11). Outros estudos, no entanto, demonstram a participação deste fungo como importante na podridão do colo de cucurbitáceas, o que culmina com a redução acentuada do sistema radicular e morte da planta (10, 17).

As espécies fúngicas *M. phaseolina* e *M. cannonballus* têm relação direta com a severidade do colapso do meloeiro em vários países, principalmente em ambientes semi-áridos (2, 4). Em levantamentos efetuados em áreas de produção da Espanha no período de 1987 a 1996, foram constatados nas raízes, principalmente, *Acremonium cucurbitacearum* Alfaro-García, Gams & García-Jiménez (82,5%), *M. phaseolina* (32,7%) e *M. cannonballus* (29,5%), participantes ativos no colapso de plantas de meloeiro (9).

Os fungos *R. solani* e *S. rolfsii* apresentaram baixa freqüência de isolamento das raízes de meloeiro e prevalência nas áreas de cultivo amostradas, no entanto, são habitantes comuns dos solos e apresentam vasta gama de hospedeiros. Alguns estudos demonstram a freqüência de *R. solani* em raízes de meloeiro com colapso (1, 9, 22), no entanto, não foram encontrados relatos da participação de *S. rolfsii* na doença.

Fungos como *A. cucurbitacearum* e *Rhizopycnis vagum* Farr, associados ao colapso em diversos países (1, 2, 9), não foram detectados nas raízes de meloeiro nos levantamentos efetuados neste estudo. Além disso, embora *L. theobromae* e *M. roridum* tenham sido detectados em meloeiro no Nordeste brasileiro (5, 21, 25), não foram constatados nesses levantamentos.

A ocorrência de associações entre espécies fúngicas é um fato comum em raízes de meloeiro, sendo freqüentemente mais de um fungo isolado de raízes de uma mesma planta de meloeiro, às vezes até da mesma lesão (1). Nesse sentido, foram analisadas as freqüências de combinações de espécies fúngicas que ocorreram em plantas de uma mesma área, sendo observado que combinações entre duas espécies atuando conjuntamente no sistema radicular de uma mesma planta foram significativamente mais freqüentes (66,9%) do que infecções isoladas (18,4%) e que associações entre três ou mais espécies (14,7%) (Tabela 1). Entre as combinações, a que ocorreu com maior freqüência foi *F. solani* + *M.*

phaseolina, possivelmente por não competirem pelos mesmos sítios de infecção, sendo o primeiro causador de podridões de raízes (10), enquanto o segundo atua preferencialmente no colo da planta (21).

Na comparação da frequência de isolamentos de cada espécie fúngica entre as áreas, com relação aos diferentes tipos de meloeiro cultivado (Tabela 2), verificou-se que a frequência de *F. solani* foi significativamente superior no tipo Orange (57,1%) do que nos tipos Cantaloupe (23,0%) e Amarelo (23,5%), enquanto para *M. phaseolina* esta frequência foi significativamente maior no tipo Amarelo (40,7%) do que em Cantaloupe (6,7%) e para *M. cannonballus* foi significativamente superior em Cantaloupe (40,9) do que em Gália (0,0%) e Orange (1,4%). Não houve diferenças significativas entre as frequências de isolamento de *R. solani* e *S. rolfsii* nos diferentes tipos de meloeiro. Apesar de *M. cannonballus* infecta todos os tipos de meloeiro comerciais (24), é relacionado na literatura com mais ênfase a melões do tipo Cantaloupe (1, 3, 28, 29), provavelmente devido à maior importância comercial desse tipo de melão em outros países.

Tabela 2. Frequência de isolamento de espécies fúngicas associadas às raízes de meloeiro com sintomas de colapso, obtidas de áreas de cultivo dos municípios de Mossoró, Baraúna (RN) e Quixeré (CE), considerando diferentes tipos de meloeiro e o tempo de plantio no local.

Variável	Frequência de isolamento de espécies fúngicas (%) ³				
	<i>Fusarium solani</i>	<i>Macrophomin a phaseolina</i>	<i>Monosporascus cannonballus</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>
Tipo de meloeiro ¹					
Amarelo	23,5 b ⁴	40,7 a	23,1 ab	3,1 a	0,0 a
Gália	39,3 ab	28,0 ab	0,0 b	2,7 a	6,7 a
Cantaloupe	23,0 b	6,7 b	40,9 a	1,5 a	1,5 a
Orange	57,1 a	15,0 ab	1,4 b	3,6 a	8,6 a
Tempo de cultivo (anos) ²					
1-2	45,4 a	23,8 a	0,0 b	5,4 a	9,2 a
3-5	30,8 ab	24,1 a	17,7 ab	2,5 a	1,3 b
+5	19,3 b	18,6 a	48,2 a	0,0 a	0,0 b

¹Tipo de meloeiro cultivado na área por ocasião da amostragem.

²Tempo de cultivo com meloeiro na área amostrada.

³Frequência de isolamento obtida pela média de 10 fragmentos retirados por planta em relação ao total de plantas de cada área.

⁴Médias seguidas pela mesma letra na vertical, dentro de cada variável, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação ao tempo de plantio no local (Tabela 2), verificou-se que a frequência de isolamento de *F. solani* foi significativamente superior em áreas onde o meloeiro era cultivado por um ou dois anos (45,4%), do que em áreas com mais de cinco anos de plantio

(19,3%), sendo o inverso em relação a *M. cannonballus*, ou seja, áreas com mais de cinco anos (48,2%) apresentaram frequência significativamente superior a áreas com um ou dois anos de plantio (0,0%). Esse comportamento de *M. cannonballus* pode estar associado à pequena gama de hospedeiros que possui, caracterizando-se pela preferência por cucurbitáceas, cujos plantios sucessivos aumentam a densidade de inóculo no solo (4, 15). Além disso, o comportamento desses microrganismos pode ser explicado, em parte, pelos dados da Tabela 3, que mostram correlação significativa e inversamente proporcional ($r = -0,79$) entre as frequências de *F. solani* e *M. cannonballus*, ou seja, áreas onde ocorreram maiores frequências de isolamento de *F. solani*, apresentaram menor frequência de *M. cannonballus* e vice-versa. Portanto, a relação entre estas duas espécies pode justificar, em parte, a inversão entre frequências de isolamento nas áreas de plantio, considerando-se o tempo de plantio no local. Estes microrganismos, por atuarem no mesmo sítio de infecção (9), possivelmente competem entre si, embora inexistam estudos sobre as relações entre estes patógenos que confirmem essa hipótese. Em relação a *M. phaseolina*, *R. solani* e *S. rolfsii*, não foram verificadas diferenças significativas na frequência de isolamento desses fungos das raízes de meloeiro considerando o tempo de plantio no local, embora em outros patossistemas tenha sido relatada a influência do tempo de plantio no aumento da densidade de inóculo desses fungos no solo (19).

Tabela 3. Coeficientes de correlação entre as frequências das espécies fúngicas associadas às raízes de meloeiro com sintomas de colapso, obtidas de áreas de cultivo dos municípios de Mossoró, Baraúna (RN) e Quixeré (CE).

	<i>Macrophomina phaseolina</i>	<i>Monosporascus cannonballus</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>
<i>F. solani</i>	0,03	-0,79*	0,10	0,49
<i>M. phaseolina</i>	-	-0,34	-0,19	-0,19
<i>M. cannonballus</i>	-	-	-0,29	-0,30
<i>R. solani</i>	-	-	-	-0,16

*Significativo ao nível de 5% de probabilidade pela análise de correlação de Pearson.

As características físicas, químicas e microbiológicas das diferentes amostras de solos estudadas encontram-se na Tabela 4, enquanto as correlações com as frequências de isolamento das diferentes espécies fúngicas constam da Tabela 5. Correlações significativas entre características microbiológicas das amostras dos solos foram obtidas

Tabela 4. Características físicas, químicas e microbiológicas de amostras de solos das áreas de cultivo de meloeiro com sintomas de colapso dos municípios de Mossoró, Baraúna (RN) e Quixeré (CE).

Área	Características físicas ¹													
	DG	DP	PR	Areia(%)	Argila(%)	Silte(%)	S/A	Classe textural	AN	GF	AD	CH		
A-01	1,81	2,47	26,75	89,40	9,10	1,50	0,16	areia	5,24	42,42	1,27	19,73		
A-02	1,60	2,86	43,93	77,90	17,60	4,50	0,26	franco arenoso	1,24	92,95	-33,79	21,21		
A-03	1,75	2,60	32,66	85,90	10,60	3,50	0,33	areia franca	3,74	64,72	1,77	19,75		
A-04	1,72	2,67	35,45	89,40	8,60	2,00	0,23	areia	4,24	50,70	1,09	56,65		
A-05	1,41	2,56	45,01	43,52	48,48	8,00	0,17	argila	19,74	59,28	0,05	0,37		
A-06	1,71	2,56	33,39	92,90	6,10	1,00	0,16	areia	2,74	55,08	0,73	88,71		
A-07	1,55	2,67	41,86	51,90	32,60	15,50	0,48	franco argilo arenoso	13,24	59,39	5,93	3,25		
A-08	1,67	2,56	34,91	92,90	6,10	1,00	0,16	areia	2,24	63,28	0,75	108,39		
A-09	1,57	2,63	40,39	57,52	35,48	7,00	0,20	argila arenosa	9,24	73,96	114,66	4,00		
A-10	1,64	2,56	36,11	80,40	15,10	4,50	0,30	areia franca	6,24	58,68	2,26	11,89		
	Características microbiológicas ²				Características químicas ¹									
	FT	BT	PF	BAC	pH	Ca + Mg	Ca	Al	Na	K	H + Al	P	C.O	M.O
A-01	0,40	23,60	0,80	0,00	7,10	3,20	2,60	0,05	0,23	1,91	0,66	226,00	2,87	4,94
A-02	2,80	43,20	0,00	0,00	4,55	6,50	4,85	0,40	1,04	1,88	3,55	12,38	4,54	7,83
A-03	5,00	371,60	2,00	0,40	7,28	7,50	5,25	0,05	2,13	1,79	0,50	149,95	4,85	8,37
A-04	1,80	98,40	6,60	10,80	7,02	6,00	4,10	0,05	1,30	1,82	0,33	186,30	4,11	7,08
A-05	0,80	8,40	0,20	7,80	7,70	12,00	9,95	0,05	0,14	2,07	1,98	16,36	13,19	22,74
A-06	0,40	7,20	0,60	3,20	7,02	3,60	2,60	0,05	0,08	1,67	0,50	78,40	1,00	1,73
A-07	8,60	28,20	0,00	11,20	7,40	12,20	9,90	0,05	0,39	1,94	0,66	37,94	8,46	14,59
A-08	1,20	38,60	1,00	0,40	5,87	3,25	2,20	0,05	0,34	1,64	0,25	36,24	4,11	7,08
A-09	0,40	1,60	0,20	0,60	8,30	10,40	8,30	0,00	0,65	2,10	0,83	70,40	9,70	16,73
A-10	1,60	5,40	2,60	0,00	7,42	3,75	2,90	0,05	0,13	1,80	0,66	118,10	4,11	7,08

¹ As análises das características físicas e químicas consistiram na determinação da densidade global (DG), densidade da partícula (DP), porosidade (PR), dos percentuais de areia, argila e silte, da relação silte/argila (S/A), teor de argila natural (AN), grau de flocculação (GF), capacidade de campo (CC), ponto de murcha permanente (PMP), água disponível (AD), condutividade hidráulica (CH), potencial hidrogeniônico (pH), P disponível, K, Ca, Mg, Na e Al trocáveis, acidez potencial (H+Al), carbono orgânico (CO) e matéria orgânica (MO) (9).

² FT = fungos totais ($\times 10^3$ ufc/g de solo), BT = bactérias totais ($\times 10^4$ ufc/g de solo), PF = *Pseudomonas* spp. fluorescentes ($\times 10^4$ ufc/g de solo) e BAC = *Bacillus* spp. ($\times 10^4$ ufc/g de solo).

apenas com relação a frequência de isolamento de *F. solani* e *M. cannonballus*. Ambos foram influenciados significativamente pela quantidade de *Bacillus* spp. presente no solo, sendo que *F. solani* foi correlacionado inversamente ($r = -0,71$) e *M. cannonballus* positivamente ($r = 0,85$) à quantidade de *Bacillus* spp. A influência positiva da microbiota do solo na germinação de propágulos e ascósporos de *M. cannonballus* também foi constatada por Stanghellini et al. (27), que justificou a influência positiva devido ao fato dos exsudatos de raízes por si só não serem suficientes para a indução da germinação dos ascósporos. Por outro lado, antagonismo de *Bacillus* spp. sobre *F. solani* tem sido relatado em outros patossistemas (26).

Tabela 5. Correlação entre a frequência de isolamento de espécies fúngicas associadas às raízes de meloeiro com sintomas de colapso e características físicas, químicas e microbiológicas dos solos das áreas de cultivo dos municípios de Mossoró, Baraúna (RN) e Quixeré (CE).

Características dos solos	<i>Fusarium solani</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i>	<i>Manosporascus cannonballus</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>
Densidade global	-0,12	0,62	-0,04	-0,07	-0,05
Densidade da partícula	-0,26	-0,30	0,26	0,62	-0,10
Porosidade	-0,01	-0,62	0,16	0,30	0,01
Areia	-0,11	0,45	-0,17	0,20	-0,02
Argila	0,17	-0,39	0,07	-0,20	0,07
Silte	-0,11	-0,57	0,49	-0,16	-0,12
Relação silte/argila	-0,22	-0,36	0,60	0,02	-0,39
Teor de argila natural	0,02	-0,30	0,19	-0,44	-0,09
Grau de flocculação	0,29	-0,29	-0,27	0,67*	0,15
Capacidade de campo	0,12	-0,24	0,25	-0,81*	0,16
Ponto de murcha permanente	-0,50	0,13	0,20	0,17	-0,78*
Água disponível	0,49	-0,20	-0,08	-0,44	0,75*
Condutividade hidráulica	-0,20	-0,01	-0,07	0,03	0,25
Fungos totais	-0,32	-0,28	0,60	-0,07	-0,41
Bactérias totais	0,09	0,53	-0,01	-0,20	-0,29
<i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes	-0,44	0,18	0,48	-0,16	-0,28
<i>Bacillus</i> spp.	-0,71*	-0,30	0,85*	-0,43	-0,25
pH	0,30	-0,03	0,13	-0,75*	0,31
Cálcio+Magnésio	-0,02	-0,33	0,33	-0,32	0,01
Cálcio	0,03	-0,35	0,30	-0,32	0,02
Alumínio	-0,17	0,03	-0,14	0,85*	-0,29
Sódio	-0,06	0,43	0,14	-0,04	-0,22
Potássio	0,12	-0,07	0,07	-0,22	0,06
Acidez potencial	0,01	-0,01	-0,26	0,69*	-0,22
Fósforo	-0,16	0,68*	0,12	-0,36	-0,20
Carbono orgânico	0,14	-0,34	0,09	-0,31	0,01
Matéria orgânica	0,14	-0,34	0,09	-0,31	0,01

*Significativo ao nível de 5% de probabilidade pela análise de correlação de Pearson.

Em relação a *M. phaseolina*, houve correlação significativa apenas com o teor de fósforo ($r = 0,68$) nas amostras de solo das diferentes áreas, contrariando estudos realizados em outros patossistemas que demonstram a importância de características físicas como densidade, porosidade e umidade, na sobrevivência, infectividade e colonização desta espécie fúngica (8, 18). Características do solo como grau de flocculação ($r = 0,67$), capacidade de campo ($r = -0,81$), pH ($r = -0,75$), teor de alumínio ($r = 0,85$) e acidez potencial ($r = 0,69$) correlacionaram-se significativamente com a frequência de isolamento de *R. solani*, divergindo do constatado em estudos de supressividade natural de solos a esse microrganismo (13, 16), nos quais esse fenômeno foi relacionado a baixos valores de pH e elevados níveis de alumínio. A frequência de isolamento de *S. rolfsii* correlacionou-se com o ponto de murcha permanente ($r = -0,78$) e níveis de água disponível ($r = 0,75$), confirmando que este microrganismo é favorecido por alta umidade do solo, embora sem saturação, uma vez que tem como característica marcante não suportar anaerobiose (20).

As espécies *M. cannonballus*, *F. solani*, *M. phaseolina*, *R. solani* e *S. rolfsii* foram detectadas em meloeiro exibindo sintomas de colapso em áreas de produção dos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, sendo as frequências de isolamento destas espécies influenciadas por diferentes características físicas, químicas e microbiológicas dos solos, no entanto, estudos adicionais são necessários para avaliar o papel de cada espécie fúngica e da interação entre as espécies na severidade do colapso do meloeiro, assim como, analisar com maior profundidade as características físicas, químicas e microbiológicas dos solos relacionados à ocorrência e severidade do colapso do meloeiro no Nordeste brasileiro.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos aos produtores de melão dos municípios de Mossoró, Baraúna (RN) e Quixeré (CE), à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, a Anacleto J. da Fonseca Jr., aos engenheiros agrônomos Luís G.C. Silva e Christiana F. Bruce, e aos Prof. Clístenes W.A. Nascimento e José J.V. Rodrigues, pelo apoio nas análises físicas, químicas e microbiológicas dos solos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aegerter, 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**, St. Paul, v.84, n.3, p.224-230, 2000.
2. Brutton, B.D. Soilborne diseases. In: McCreight, J. (Ed.). **Cucurbitae'98**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, 1998. p.143-166.
3. Bruton, B.D.; García-Jiménez, J.; Armengol, J.; Popham, T.W. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n.8, p.907-913, 2000.
4. Cohen, R.; Pivonia, S.; Burger, Y.; Edelstein, M.; Gamliel, A.; Katan, J. Toward integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n.5, p.496-505, 2000.
5. Costa, N.D.; Dias, R.C.S.; Faria, C.M.B.; Tavares, S.C.C.H.; Terao, D. **Cultivo do melão**. Petrolina: Embrapa Semi Árido, 2000. 67p. (Embrapa Semi Árido. Circular Técnica, 59).
6. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **Manual de métodos de análises de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1997. 212p.
7. FAO. **FAOSTAT** - Agricultural statistics database. [online]. Rome: World Agricultural Information Centre 2002. Disponível em: <http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp>. Acesso em: 07 fev. 2004.
8. Gangopadhyay, S.; Wyllie, T.D.; Teague, W.R. Effect of bulk density and moisture content of soil on the survival of *Macrophomina phaseolina*. **Plant and Soil**, Crawley, v.68, n.2, p.241-247, 1982.
9. García-Jiménez, J.; Armengol, J.; Sales Jr., R.; Jordá, C.; Bruton, B.D. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, Paris, v.30, p.169-173, 2000.
10. García-Jiménez, J.; Moya, M.J.; Armengol, J.; Sales Jr.; R., Miguel, C.; Garcia-Morato, M.; Pardo, A. La podredumbre del cuello y frutos de la calabaza: una enfermedad potencialmente grave para el cultivo de cucurbitáceas en España. **Phytoma**, Valencia, n.107, p.17-20, 1999.
11. Gordon, T.R.; Okamoto, D.; Jacobson, D.J. Colonization of muskmelon and non-susceptible crops by *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* and other species of *Fusarium*. **Phytopathology**, St. Paul, v.79, n.11, p.1095-1100, 1989.

12. IBGE. **Produção agrícola municipal**. [online]. Rio de Janeiro. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2004. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp>>. Acesso em: 07 fev. 2004.
13. Kobayashi, N.; Ko, W.H. Nature of supression of *Rhizoctonia solani* in Hawaiian soils. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.84, n.4, p.691-694, 1985.
14. Marinho, R.E.M.; Sales Jr. R.; Maracajá, P.B.; Silva, G.F.; Costa, F.M.; Silva, E.C. Identificação da micoflora associada a raízes de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. **Caatinga**, Mossoró, v.15, n.1/2, p.25-28, 2002.
15. Martyn, R.D.; Miller, M.E. Monosporascus root rot and vine decline: an emerging disease of melon worldwide. **Plant Disease**, St. Paul, v.80, n.7, p.716-725, 1996.
16. Michereff Filho, M.; Michereff, S.J.; Silva E.B.; Andrade, D.E.G.T.; Antunes Sobrinho, S; Noronha, M.A.; Mariano, R.L.R. Influência de tipos de solo do Estado de Pernambuco na intensidade da doença induzida por *Rhizoctonia solani* em feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, n.1, p.19-25, 1996.
17. Nagao, H.; Sato, K.; Ogiwara, S. Susceptibility of *Cucurbita* spp. to thecucurbit root-rot fungus, *Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae* race 1. **Agronomie**, Paris, v.2, p.95-102, 1994.
18. Olaya, G.; Abawi, G.S. Influence of water on survival of sclerotia in soil and on colonization of bean stem segments by *Macrophomina phaseolina*. **Plant Disease**, St. Paul, v.80, n.12, p.1351-1354, 1996.
19. Parker, C.A.; Rovira, A.D.; Moore, K.J.; Wong, P.T.W. **Ecology and management of soilborne plant pathogens**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1985. 358p.
20. Punja, Z.K. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.23, p.97-127, 1985.
21. Rêgo, A.M.; Carrijo, I.V. Doenças das cucurbitáceas. In: Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Costa, H. (Eds.). **Controle de doenças de plantas: hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. v.2, p.535-597.
22. Sales Jr., R.; Armengol, J.; Vicent, A.; García-Jiménez, J. Evaluación de daños en raíces de melón y sandía e frecuencia de aislamiento de *Acremonium cucurbitacearum* y *Monosporascus cannonballus* en una parcela afectada de colapso. **Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas**, Madrid, v.27, p.177-183, 2001.

23. 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, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.28, n.5, p.567, 2003.
24. 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**, Fortaleza, v.27, n.2, p.206-210, 2001.
25. Santos, A.A.; Freire, F.C.O.; Lima, J.A.A.; Cardoso, J.E. **Doenças do meloeiro em áreas irrigadas no Estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 11p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa, 35).
26. Sinclair, J.B. *Bacillus subtilis* as a biocontrol agent for plant diseases. In: Agrihotri, V.P.; Singh, N.; Chaur, H.S.; Singh, U.S.; Dwivedi, T.S. (Eds.). **Perspectives in plant pathology**. New Delhi: Today & Tomorrow, 1989. p.367-374.
27. Stanghellini, M.E.; Kim, D.H.; Waugh, M.M. Microbe-mediated germination of ascospores of *Monosporascus cannonballus*. **Phytopathology**, St. Paul, v.90, n.3, p.243-247, 2000.
28. Stanghellini, M.E.; Kim, D.H.; Waugh, M.M.; Ferrin, D.M.; Alcantara, T.; Rasmussen, S.L. Infection and colonization of melon roots by *Monosporascus cannonballus* in two cropping seasons in Arizona and California. **Plant Pathology**, London, v.53, p.54-57, 2004.
29. Waugh, M.M.; Kim, D.H.; Ferrin, D.M.; Stanghellini, M.E. Reproductive potential of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, St. Paul, v.87, n.1, p.45-50, 2003.

Capítulo III

**Influência da densidade de inóculo e de isolados de
Monosporascus cannonballus na severidade
do colapso do meloeiro**

Influência da densidade de inóculo e de isolados de *Monosporascus cannonballus* na severidade do colapso do meloeiro

Domingos E.G.T. de Andrade^{1*}, Sami J. Michereff^{1**}, Michelle A.S. Borges¹, Isaac B. Araújo¹, Rui Sales Jr.²

¹Departamento de Agronomia – Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil. E-mail: sami@ufrpe.br

²Departamento de Fitossanidade, Escola Superior de Agricultura de Mossoró, CEP 59625-900, Mossoró-RN, Brasil. E-mail: jrrui@hotmail.com

Parte de Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco.

*Bolsista CAPES.

**Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

Autor para correspondência: Domingos E.G.T. de Andrade

Aceito para publicação em:

RESUMO

Andrade, D.E.G.T.; Michereff, S.J.; Borges, M.A.S.; Araújo, I.B.; Sales Jr., R. Influência da densidade de inóculo e de isolados de *Monosporascus cannonballus* na severidade do colapso do meloeiro. **Summa Phytopathologica**

Este estudo teve como objetivos verificar a influência de densidades de inóculo e isolados de *Monosporascus cannonballus* sobre o colapso do meloeiro (*Cucumis melo* L.) e avaliar metodologias adequadas à quantificação da doença. Foram utilizadas as densidades de inóculo de 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 25 e 50 ufc/g de solo, sendo avaliadas a severidade do colapso (SD), comprimento da planta (CP), biomassa fresca da parte aérea (BFPA) e da raiz (BFR), biomassa seca da parte aérea (BSPA) e da raiz (BSR), áreas da 1ª e 2ª folhas definitivas (A1FD e A2FD), área foliar acumulada (AFA), volume total da planta (VTP), biomassa fresca total (BFTP) e biomassa seca total da planta (BSTP). No ensaio de variabilidade foram utilizados 44 isolados de *M. cannonballus*, na densidade de inóculo de 10 ufc/g de solo. As curvas de progresso da SD, CP, A1FD, A2FD e AFA, em função das densidades de inóculo, foram ajustadas pelo modelo não-linear logístico dose-resposta. Baixas densidades de inóculo (0,1; 0,5 e 1 ufc/g de solo) produziram elevados

níveis de SD, que variaram de 15,6 a 53,1%. Densidades entre 20 e 50 ufc/g de solo não aumentaram substancialmente a SD. No ensaio com diferentes isolados de *M. cannonballus*, o conjunto das variáveis analisadas propiciou a separação de três grupos de similaridade, ficando evidente a variabilidade dos isolados dentro de uma mesma área e entre áreas. Elevados coeficientes de correlação e determinação confirmaram o ajuste da SD com A1FD, A2FD e AFA nos dois ensaios, demonstrando o potencial de utilização dessas variáveis para quantificar o colapso do meloeiro.

Palavras-chave adicionais: *Cucumis melo*, patógeno radicular, variabilidade, quantificação da doença.

ABSTRACT

Andrade, D.E.G.T., Michereff, S.J., Borges, M.A.S., Araújo, I.B., Sales Jr., R. Influence of inoculum density and strains of *Monosporascus cannonballus* on severity of melon collapse. *Summa Phytopathologica*

This study aimed to verify the influence of inoculum density and strains of *Monosporascus cannonballus* on severity of melon (*Cucumis melo* L.) collapse, and evaluate suitable methods to quantify disease. The inoculum densities utilized were 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 25 and 50 cfu/g of soil. The variables evaluated were collapse severity (SD), plant length (CP), shoot fresh biomass (BFPA) and root fresh biomass (BFR), shoot dry biomass (BSPA), root dry biomass (BSR), areas of first and second true leaves (A1FD and A2FD), accumulated leaf area (AFA), plant total volume (VTP), plant total fresh biomass (BFTP) and total dry biomass (BSTP). In the variability essay 44 strains of *M. cannonballus* were utilized with inoculum density of 10 cfu/g of soil. The progress curves of SD, CP, A1FD, A2FD and AFA, according to inoculum densities were adjusted by nonlinear logistic model. Low inoculum densities (0.1, 0.5 and 1 cfu/g of soil) caused high levels of SD, which ranged from 15.6 to 53.1%. Densities between 20 and 50 cfu/g of soil did not substantially increase SD. In the essay with different *M. cannonballus* strains the analyzed variables propitiated the formation of three similarity groups. There was variability of strains within and among areas. High coefficients of correlation and determination confirmed the fitness of SD with A1FD, A2FD and AFA in both essay, showing potential for utilization of these variables to quantify melon collapse.

Additional keywords: *Cucumis melo*, root pathogen, variability, disease assessment.

A expansão da cultura do meloeiro (*Cucumis melo* L.) no Nordeste brasileiro, associada ao cultivo intensivo e contínuo sem rotação de culturas, tem proporcionado o aumento da incidência e severidade de doenças radiculares (16). Nos últimos anos, o colapso do meloeiro, causado por fitopatógenos habitantes do solo, tem se tornado especialmente importante. O fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker é um dos principais agentes do colapso em vários países, causando grandes perdas e limitando a produção do meloeiro há vários anos (6, 9). No Brasil, esse patógeno foi detectado recentemente no principal pólo produtor, localizado na região Nordeste (15).

Os sintomas de colapso são de fácil identificação, uma vez que as plantas afetadas apresentam principalmente necroses e podridões nas raízes e têm como consequência a murcha e morte das plantas na época próxima à formação dos frutos (8). No entanto, danos em raízes não são facilmente avaliados devido ao pequeno diâmetro destas, tipo e padrão de arranjo de crescimento no solo, opacidade do solo, fácil desprendimento destas e consequente perda de parte do sistema radicular, além de exigir o envolvimento de maior número de pessoas e tempo (4).

Patógenos radiculares, além de incitarem danos diretos em raízes, modificam características e padrões de crescimento, desenvolvimento e reprodução de cucurbitáceas (5). Portanto, a utilização de características de crescimento de plantas, tais como, biomassa, variações na coloração, número de folhas, altura da planta, respiração, área foliar e volume da planta, podem auxiliar na quantificação de doenças causadas por patógenos radiculares em meloeiro. Dentre estas, a medição da área foliar permite a avaliação contínua da doença, sendo de fácil determinação (2, 3).

A resposta de plantas de melão a doenças incitadas por patógenos radiculares pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento da planta, nível e tipo de resistência envolvido, densidade do inóculo do patógeno no solo, variabilidade do patógeno e condições ambientais (5). Assim, a avaliação contínua da variabilidade do patógeno, monitorando possíveis mudanças na população, juntamente com a determinação dos níveis de inóculo adequados para causar doença, são necessárias para obtenção de cultivares resistentes em programas de melhoramento genético do meloeiro, além de fornecerem informações para o manejo da doença. Portanto, o presente trabalho teve como objetivos verificar a influência de densidades de inóculo e diferentes isolados de *M. cannonballus* sobre o colapso do meloeiro, bem como avaliar metodologias para quantificação da doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo do inóculo, infestação do solo e plantio do meloeiro

O inóculo de *M. cannonballus* foi preparado em frascos de Erlenmeyer contendo 250 g de substrato constituído de areia lavada-farinha de milho (13) na proporção de 3:1, com adição de 50 mL de água destilada. Em cada frasco foram colocados três discos de 5 mm de diâmetro de cultura do fungo, previamente cultivado em meio batata-dextrose-ágar (BDA), com sete dias de idade. Após um período de incubação de 30 dias a 25 ± 2 °C e luminosidade contínua, foram retiradas alíquotas de 1g, efetuadas diluições em série, sendo a diluição de 10^{-3} distribuída em meio BDA, estimando-se o número de unidades formadoras de colônias (ufc)/g de substrato (8).

Nos ensaios foi utilizado solo (areno-argiloso; pH = 4,6; N: 1.030 ppm; P = 3 mg/dm³; K = 0,14 cmol_c/dm³; Al =: 1,40 cmol_c/dm³; Ca+Mg = 0,80 cmol_c/dm³), previamente esterilizado com brometo de metila (Bromex®) e corrigido para pH = 6,5 pela adição de CaCO₃+Mg. Após 30 dias deste tratamento, o solo foi acondicionado em vasos plásticos (3 kg de capacidade) e infestado com *M. cannonballus* pela deposição de substrato colonizado em quantidade que proporcionasse a densidade final desejada, seguido da homogeneização da mistura.

O plantio de meloeiro (cv. Frevo) foi efetuado imediatamente após a infestação do solo. Antes do plantio, as sementes foram desinfestadas em solução de NaClO 1,5% por dois minutos, lavadas em água corrente e colocadas para secar durante 45 minutos.

Influência da densidade de inóculo de *Monosporascus cannonballus* na severidade do colapso do meloeiro

Foram utilizados dois isolados de *M. cannonballus* (MC-01 e MC-02), obtidos de plantas de meloeiro do tipo Amarelo, procedentes de um plantio comercial (A-10) de Mossoró. O plantio do meloeiro foi efetuado em vasos contendo solo infestado com o patógeno nas densidades de inóculo de 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 25 e 50 ufc/g de solo, mantidos em casa-de-vegetação. A testemunha consistiu do plantio de meloeiro em solo não infestado.

A avaliação foi realizada aos 45 dias após o plantio, pela mensuração das seguintes variáveis: a) severidade do colapso (SD), determinada com o auxílio de escala de notas para as raízes variando de 0 a 4, onde: 0 = sem sintomas, 1 = menos de 10% das raízes com fraca descoloração ou lesões, 2 = moderada descoloração ou podridão, com lesões atingindo

até 25% das raízes, 3 = lesões convergindo a 50% das raízes e morte das raízes secundárias e 4 = necrose generalizada das raízes ou planta morta (1), sendo posteriormente calculado o índice de doença (10); b) comprimento da planta (CP), obtido pela medição da distância da base da planta à gema apical do ramo principal; c) volume da parte aérea (VPA) e da raiz (VR), obtidos pela medição do volume de água deslocado em proveta; d) biomassa fresca da parte aérea (BFPA) e da raiz (BFR), obtidas pela pesagem do material vegetal fresco em balança analítica; e) biomassa seca da parte aérea (BSPA) e da raiz (BSR), obtidas pela pesagem do material vegetal, seco em estufa durante três dias a 60 °C; f) áreas da 1ª e 2ª folhas definitivas (A1FD e A2FD, respectivamente), digitalizadas em imagens com resolução de 300 dpi e quantificadas pelo software QUANT v.1.0.1 (18); g) área foliar acumulada (AFA), obtida pela soma das áreas das duas primeiras folhas definitivas; h) volume total da planta (VTP), biomassa fresca total (BFTP) e biomassa seca total da planta (BSTP), obtidas pela soma dos valores das respectivas variáveis analisadas para parte aérea e raiz.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas. Foi realizada a análise de correlação de Pearson, ao nível de 5% de probabilidade, entre a severidade da doença e as demais variáveis. As variáveis que correlacionaram significativamente com a severidade da doença foram submetidas à análise de regressão linear, tendo a severidade da como variável dependente. Com base nos resultados obtidos, os dados foram então submetidos às análises de regressão não-lineares, tendo a densidade de inóculo como variável independente e as variáveis correlacionadas como variáveis dependentes.

Durante o período de realização do experimento, a temperatura na casa de vegetação foi de $27 \pm 3,5$ °C e a umidade relativa de $78 \pm 2,5$ %.

Influência de diferentes isolados de *Monosporascus cannonballus* na severidade do colapso em meloeiro

Foram utilizados 44 isolados de *M. cannonballus*, obtidos de plantas de meloeiro com sintomas de colapso, procedentes de duas áreas de plantio comercial, sendo 25 isolados (MC-01 a MC-25) da área A-10, localizada em Mossoró (RN), e 19 isolados (MC-26 a MC-44) da área A-07, localizada em Quixeré (CE).

O plantio do meloeiro foi efetuado em vasos contendo solo infestado com o patógeno na densidade de inóculo de 10 ufc/g de solo, mantidos em casa de vegetação. A testemunha consistiu do plantio de sementes de meloeiro em solo não infestado. A

avaliação foi realizada aos 45 dias após o plantio, sendo mensuradas as variáveis SD, CP, A1FD, A2FD e AFA, definidas anteriormente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. Visando comparar os valores da severidade da doença com as demais variáveis avaliadas, foi efetuada a análise de correlação de Pearson, ao nível de 5% de probabilidade.

O agrupamento geral dos isolados de *M. cannonballus* foi efetuado pela análise da distância Euclidiana por ligações simples, utilizando-se os dados médios das variáveis avaliadas.

Durante o período de realização do experimento, a temperatura na casa-de-vegetação foi de $28 \pm 4,5$ °C e a umidade relativa de $65 \pm 3,5$ %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A falta de precisão e acurácia na avaliação de doenças causa grandes dificuldades para a estimativa correta da virulência do patógeno, da resistência da planta e de efeitos do meio ambiente sobre a severidade da doença, principalmente quando se trata de patógenos radiculares (14). Nesse sentido, os níveis de severidade do colapso do meloeiro (SD), induzidos pelos isolados MC-01 e MC-02 de *M. cannonballus*, foram significativamente correlacionados com o comprimento da planta (CP) ($r = -0,97$ e $r = -0,90$), área da 1ª folha definitiva (A1FD) ($r = -0,96$ e $-0,89$), área da 2ª folha definitiva (A2FD) ($r = -0,95$ e $-0,89$) e área foliar acumulada (AFA) ($r = -0,95$ e $-0,89$) (Tabela 1), assemelhando-se ao verificado por Biernacki & Bruton (3) em relação a dados obtidos de imagens digitalizadas de folhas de meloeiro e a severidade da doença causada por *M. cannonballus*.

Não foram constatadas correlações significativas da SD com VPA, VR, BFPA, BFR, BSPA, BSR, VTP, BFTP e BSTP (Tabela 1). As variáveis de biomassa e volume de raízes ou plantas são facilmente obtidas, mas não conseguem refletir diferenças significativas entre tratamentos quando se consideram doenças radiculares, devido a emissão pela planta infectada de novas raízes e brotos, que acabam influenciando as medidas obtidas por essas variáveis (4).

Tabela 1. Coeficientes de correlação entre as variáveis utilizadas para avaliar o efeito da densidade de inóculo na severidade do colapso do meloeiro, causado pelos isolados MC-01 e MC-02 de *Monosporascus cannonballus*.

Variável ¹	CP	VPA	BFPA	BSPA	VR	BFR	BSR	A1FD	A2FD	AFA	VTP	BFTP	BSTP
Isolado MC-01													
SD	-0,97*	-0,70	-0,72	-0,68	-0,61	-0,60	-0,28	-0,96*	-0,95*	-0,95*	-0,69	-0,72	-0,65
CP		0,78*	0,79*	0,77*	0,70	0,70	0,45	0,97*	0,96*	0,96*	0,77*	0,79*	0,75
VPA			0,99*	0,99*	0,97*	0,94*	0,79*	0,83*	0,85*	0,84*	0,99*	0,94*	0,99*
BFPA				0,99*	0,96*	0,93*	0,78*	0,85*	0,86*	0,86*	0,99*	0,92*	0,99*
BSPA					0,98*	0,96*	0,83*	0,82*	0,84*	0,83*	0,99*	0,93*	0,99*
VR						0,99*	0,88*	0,78*	0,80*	0,79*	0,98*	0,94*	0,98*
BFR							0,89*	0,78*	0,81*	0,80*	0,96*	0,94*	0,96*
BSR								0,49	0,51	0,51	0,82*	0,74	0,86*
A1FD									0,99*	0,99*	0,83*	0,87*	0,80*
A2FD										1,00*	0,84*	0,88*	0,82*
AFA											0,84*	0,87*	0,81*
VTP												0,95*	0,99*
BFTP													0,92*
Isolado MC-02													
SD	-0,90*	-0,65	-0,61	-0,72	-0,57	-0,61	-0,59	-0,89*	-0,89*	-0,89*	-0,64	-0,58	-0,71
CP		0,79*	0,77*	0,83*	0,72	0,79*	0,65	0,98*	0,98*	0,98*	0,79*	0,74	0,81*
VPA			0,99*	0,98*	0,94*	0,97*	0,90*	0,86*	0,84*	0,85*	0,99*	0,94*	0,98*
BFPA				0,98*	0,95*	0,97*	0,90*	0,84*	0,81*	0,83*	0,99*	0,96*	0,98*
BSPA					0,94*	0,97*	0,93*	0,89*	0,87*	0,88*	0,98*	0,95*	0,99*
VR						0,98*	0,85*	0,78*	0,73	0,75*	0,96*	0,98*	0,93*
BFR							0,89*	0,85*	0,81*	0,83*	0,98*	0,98*	0,97*
BSR								0,76*	0,74	0,75*	0,90*	0,88*	0,94*
A1FD									0,99*	0,99*	0,85*	0,81*	0,89*
A2FD										0,99*	0,82*	0,76*	0,86*
AFA											0,84*	0,78*	0,87*
VTP												0,96*	0,98*
BFTP													0,95*

¹ SD = severidade de doença, CP = comprimento da planta, VPA = volume da parte aérea, BFPA = biomassa fresca da parte aérea, BSPA = biomassa seca da parte aérea, VR = volume da raiz, BFR = biomassa fresca da raiz, BSR = biomassa seca da raiz, A1FD = área da 1ª folha definitiva, A2FD = área da 2ª folha definitiva, AFA = área foliar acumulada, VTP = volume total da planta, BFTP = biomassa fresca total da planta e BSTP = biomassa seca total da planta.

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pela análise de correlação de Pearson.

As análises de regressão linear dos dados de SD com as variáveis correlacionadas confirmaram o ajuste dos dados (Figura 1). Os elevados e significativos coeficientes de determinação obtidos nas combinações de SD com as variáveis CP ($R^2 = 94,6$ e $81,1\%$), A1FD ($R^2 = 93,3$ e $82,3\%$), A2FD ($R^2 = 91,1$ e $80,0\%$) e AFA ($R^2 = 92,2$ e $80,4\%$), respectivamente para os isolados MC-01 e MC-02, comprovam o bom ajuste dos dados entre as variáveis analisadas. De maneira similar, Biernacki & Bruton (2) verificaram correlação significativamente alta e um bom ajuste de dados entre a severidade do colapso e medições das áreas foliares da 1ª, 2ª e 3ª folhas definitivas e área acumulada das três folhas. Segundo esses autores, as áreas foliares da 1ª e 2ª folhas definitivas foram capazes

de mensurar com grande precisão a doença, sendo a probabilidade de detectar diferenças significativas na severidade da doença sensivelmente maior com a utilização de medidas da área foliar do que com variáveis de massa e volume de raízes.

As curvas de progresso da SD do colapso do meloeiro, assim como da CP, A1FD, A2FD e AFA, em função das densidades de inóculo de *M. cannonballus*, ajustaram-se ao modelo não-linear logístico dose-resposta [$y = a/(1+(x/b)^c$)], com coeficientes de determinação para as variáveis analisadas variando de 93,0 a 99,2% (isolado MC-01) e de 97,4 a 99,5% (isolado MC-02) (Figura 2), indicando que as equações resultantes permitem estimativas da intensidade do colapso do meloeiro com elevados níveis de precisão quando as variáveis SD, CP, A1FD, A2FD e AFA são consideradas. Modelos de regressão não-linear têm sido mais adequados para descrever o progresso do colapso do meloeiro que modelos lineares (6, 7).

O aumento da densidade de inóculo de *M. cannonballus* influenciou significativamente na intensidade do colapso do meloeiro, quando consideradas as variáveis SD, CP, A1FD, A2FD e AFA (Figura 2). Todas as densidades de inóculo testadas resultaram em algum nível de SD ou produziram reduções significativas nas variáveis CP, A1FD, A2FD e AFA. Baixas densidades de inóculo (0,1; 0,5 e 1 ufc/g de solo) produziram elevadas severidades da doença, as quais variaram de 20,3 a 53,1% e 15,6 a 31,2%, para os isolados MC-01 e MC-02, respectivamente. Os elevados níveis de severidade do colapso do meloeiro, mesmo em densidades de inóculo muito baixas, indicam a elevada viabilidade e infectividade dos propágulos de *M. cannonballus* no solo, bem como o grande potencial destrutivo desse patógeno (6, 7). Nesse sentido, em campos de produção de meloeiro na Califórnia e no Arizona (USA) severamente atacados por *M. cannonballus*, as densidades de inóculo não ultrapassavam 3 ufc/g de solo (17, 19).

Densidades de inóculo de 10 a 20 ufc/g de solo produziram níveis de severidade da doença de 68,7 a 74,0% e de 48,4 a 51,9%, respectivamente para os isolados MC-01 e MC-02, enquanto densidades a partir de 20 até 50 ufc/g de solo não provocaram aumentos substanciais nos níveis de severidade e reduções acentuadas nas demais variáveis de crescimento analisadas. De maneira similar, Bruton et al. (6) constataram que densidades de inóculo de 5 a 20 ufc/g de solo são suficientes para que *M. cannonballus* ocasione doença, enquanto incrementos superiores a 20 ufc/g de solo não correspondem a aumentos acentuados da intensidade do colapso do meloeiro. Portanto, a densidade de 10 ufc/g de solo, como verificado neste trabalho, é adequada para realização de estudos envolvendo virulência de *M. cannonballus*.

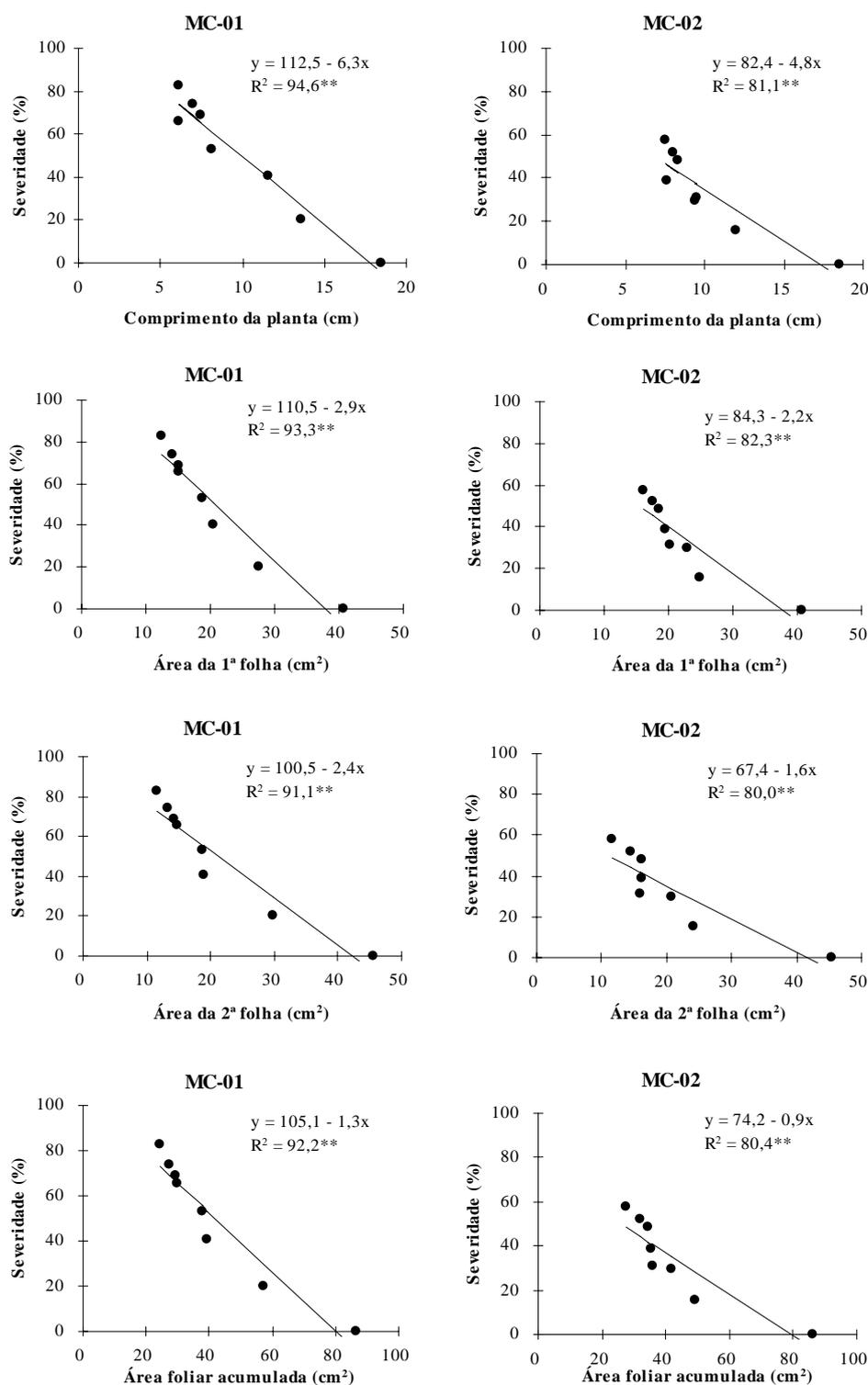


Figura 1. Relação entre os níveis de severidade do colapso em meloeiro (SD) causado por *Monosporascus cannonballus* (isolados MC-01 e MC-02) e as variáveis comprimento da planta (CP), área da 1ª (A1FD) e 2ª (A2FD) folhas definitivas e área foliar acumulada (AFA).

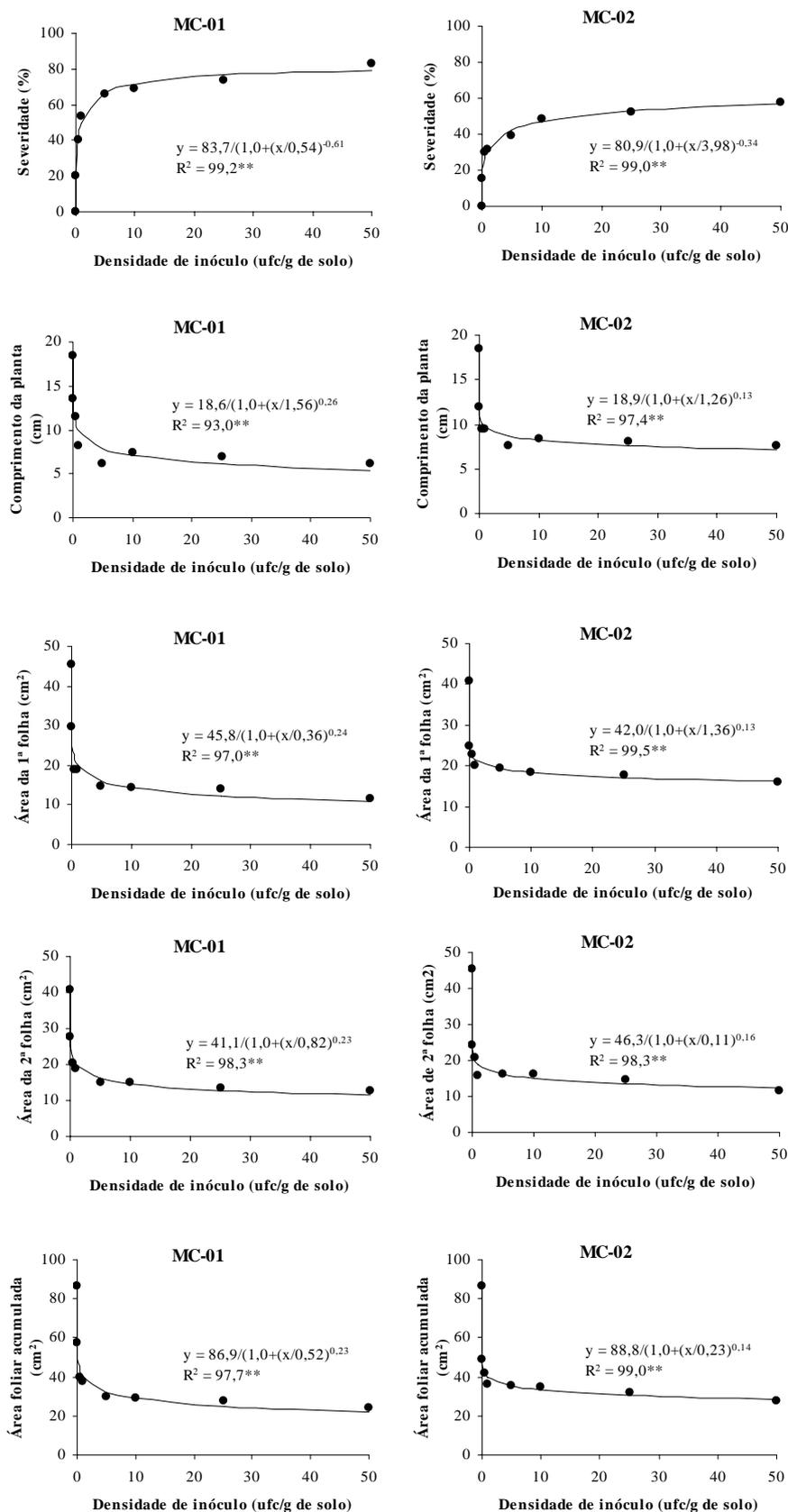


Figura 2. Influência da densidade do inóculo de *Monosporascus cannonballus* (isolados MC-01 e MC-02) na severidade (SD) do colapso do meloeiro, comprimento da planta (CP), área foliar da 1ª (A1FD) e 2ª (A2FD) folha definitiva e, área foliar acumulada (AFA).

Foram constatadas diferenças significativas entre os isolados do patógeno quando consideradas as variáveis SD, CP, A1FD, A2FD e AFA (Tabela 2). O número de agrupamentos de isolados obtidos pela análise de Scott-Knott variou conforme a variável considerada (Tabela 2). Os níveis de SD variaram entre 18,7 e 78,1% e foi possível a separação dos isolados em quatro grupos de similaridade, reduzindo-se para três grupos quando consideradas a A2FD e a AFA, e para dois grupos quando consideradas o CP e a A1FD. A existência de diferentes grupos quando considerada a mesma variável indica a ocorrência de variabilidade entre os isolados de *M. cannonballus* oriundos de uma mesma área, assim como de áreas diferentes, semelhante ao verificado em outros países envolvendo esse patossistema (6, 7, 11, 12).

Correlações significativas foram constatadas entre todas as variáveis estudadas, no entanto, elevadas correlações foram obtidas entre a variável SD e A1FD ($r = -0,97$), SD e A2FD ($r = -0,94$) e SD e AFA ($r = -0,97$) (Tabela 3), confirmando os ajustes entre estas variáveis, verificados nos ensaios de densidades de inóculo.

Tabela 2. Variabilidade de isolados de *Monosporascus cannonballus*, oriundos de Mossoró (RN) e Quixeré (CE), baseada na severidade da doença (SD), comprimento da planta (CP), área da 1ª (A1FD) e 2ª (A2FD) folhas definitivas e, área foliar acumulada (AFA) .

Isolado ¹	SD (%)	CP (cm)	A1FD (cm ²)	A2FD (cm ²)	AFA (cm ²)
MC-01	75,0 a*	7,7 a	12,5 b	7,6 c	20,1 c
MC-02	57,8 b	7,9 a	15,8 a	11,7 b	27,6 b
MC-03	76,5 a	5,6 b	11,7 b	8,5 c	20,2 c
MC-04	78,1 a	5,6 b	11,3 b	8,2 c	19,6 c
MC-05	73,4 a	4,8 b	11,9 b	8,5 c	20,5 c
MC-06	35,9 d	7,9 a	17,2 a	13,9 a	31,1 a
MC-07	35,9 d	8,3 a	17,1 a	13,6 a	30,7 a
MC-08	57,8 b	6,7 a	15,3 a	11,6 b	26,9 b
MC-09	71,8 a	6,1 b	12,3 b	6,8 c	19,2 c
MC-10	76,5 a	4,9 b	11,5 b	6,7 c	18,2 c
MC-11	75,0 a	5,4 b	12,2 b	6,9 c	19,1 c
MC-12	73,4 a	5,0 b	12,3 b	7,5 c	19,9 c
MC-13	71,8 a	4,7 b	13,3 b	6,2 c	19,6 c
MC-14	73,4 a	4,1 b	11,0 b	7,0 c	18,0 c
MC-15	54,6 b	6,0 b	15,6 a	10,4 b	26,0 b
MC-16	46,8 c	5,5 b	16,5 a	12,1 b	28,6 b
MC-17	51,5 b	6,7 a	15,1 a	10,2 b	25,3 b
MC-18	76,5 a	3,6 b	11,8 b	7,3 c	19,2 c
MC-19	43,7 c	6,3 b	16,7 a	11,1 b	27,9 b
MC-20	56,2 b	6,5 b	15,9 a	10,5 b	26,4 b
MC-21	28,1 d	7,2 a	17,8 a	14,2 a	32,0 a
MC-22	29,6 d	6,0 b	17,5 a	14,0 a	31,5 a
MC-23	54,6 b	7,0 a	15,6 a	11,2 b	26,8 b
MC-24	48,4 c	7,7 a	16,2 a	10,8 b	27,0 b
MC-25	18,7 d	9,8 a	20,6 a	15,2 a	35,8 a
MC-26	29,6 d	8,8 a	17,8 a	13,5 a	31,3 a
MC-27	54,6 b	7,6 a	15,2 a	10,1 b	25,4 b
MC-28	29,6 d	8,1 a	17,5 a	13,0 a	30,5 a
MC-29	35,9 d	7,8 a	16,8 a	13,5 a	30,4 a
MC-30	21,8 d	9,7 a	20,1 a	14,9 a	35,0 a
MC-31	56,2 b	7,4 a	15,7 a	10,7 b	26,5 b
MC-32	54,6 b	8,0 a	15,6 a	10,5 b	26,2 b
MC-33	43,7 c	7,5 a	16,8 a	10,1 b	26,9 b
MC-34	45,3 c	8,0 a	16,4 a	11,3 b	27,7 b
MC-35	29,6 d	8,7 a	17,8 a	12,5 a	30,3 a
MC-36	53,1 b	7,5 a	15,7 a	10,8 b	26,6 b
MC-37	21,8 d	7,8 a	19,4 a	14,2 a	33,6 a
MC-38	45,3 c	7,4 a	16,0 a	11,5 b	27,6 b
MC-39	34,3 d	7,4 a	16,6 a	14,1 a	30,8 a
MC-40	71,8 a	4,9 b	12,8 b	7,8 c	20,7 c
MC-41	73,4 a	6,6 a	12,6 b	6,7 c	19,4 c
MC-42	68,7 a	5,6 b	12,6 b	9,0 c	21,6 c
MC-43	75,0 a	7,4 a	11,7 b	8,5 c	20,2 c
MC-44	76,5 a	5,9 b	11,9 b	9,1 c	21,1 c
CV (%)	20,2	32,3	24,6	22,1	18,6

*Média de quatro repetições. Médias seguidas pela mesma letra no sentido vertical não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Coeficientes de correlação entre as variáveis utilizadas para avaliar o efeito de diferentes isolados de *Monosporascus cannonballus* na severidade do colapso do meloeiro.

Variáveis	CP	A1FD	A2FD	AFA
SD	-0,74 *	-0,97 *	-0,94 *	-0,97 *
CP		0,77 *	0,74 *	0,77 *
A1FD			0,92 *	0,98 *
A2FD				0,98 *

¹ SD = severidade de doença, CP = comprimento da planta, A1FD = área da 1ª folha definitiva, A2FD = área da 2ª folha definitiva e AFA = área foliar acumulada.

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pela análise de correlação de Pearson.

O agrupamento geral dos isolados de *M. cannonballus*, realizado com base na análise da distância Euclidiana por ligações simples dos dados de SD, CP, A1FD, A2FD e AFA, permitiu a detecção de três grupos de similaridade entre os isolados quando considerada a distância de ligação média = 8 (Figura 3), confirmando a existência de variabilidade na virulência. Os isolados do grupo I (MC-01, MC-03, MC-04, MC-05, MC-09, MC-10, MC-11, MC-12, MC-13, MC-14, MC-18, MC-40, MC-41, MC-42, MC-43 e MC-44) incitaram a maior severidade do colapso e o menor crescimento das plantas de meloeiro, os isolados do grupo II (MC-02, MC-08, MC-15, MC-16, MC-17, MC-19, MC-20, MC-23, MC-24, MC-27, MC-31, MC-32, MC-33, MC-34, MC-36 e MC-38) foram intermediários em relação à severidade da doença e ao crescimento das plantas, enquanto os isolados do grupo III (MC-06, MC-07, MC-21, MC-22, MC-25, MC-26, MC-28, MC-29, MC-30, MC-35, MC-37 e MC-39) incitaram os menores níveis de severidade e afetaram com menor intensidade o crescimento das plantas.

Como a resistência de plantas é um fator crítico no manejo do colapso do meloeiro (6, 7), na seleção de fontes de resistência à doença nas condições brasileiras deve ser considerada a existência de variabilidade na virulência entre os isolados de *M. cannonballus*, como comprovada nesse estudo, evitando desta forma que genótipos de meloeiro suscetíveis sejam considerados resistentes, em função da utilização de isolados pouco virulentos ou com capacidade reduzida de infectar e colonizar a planta.

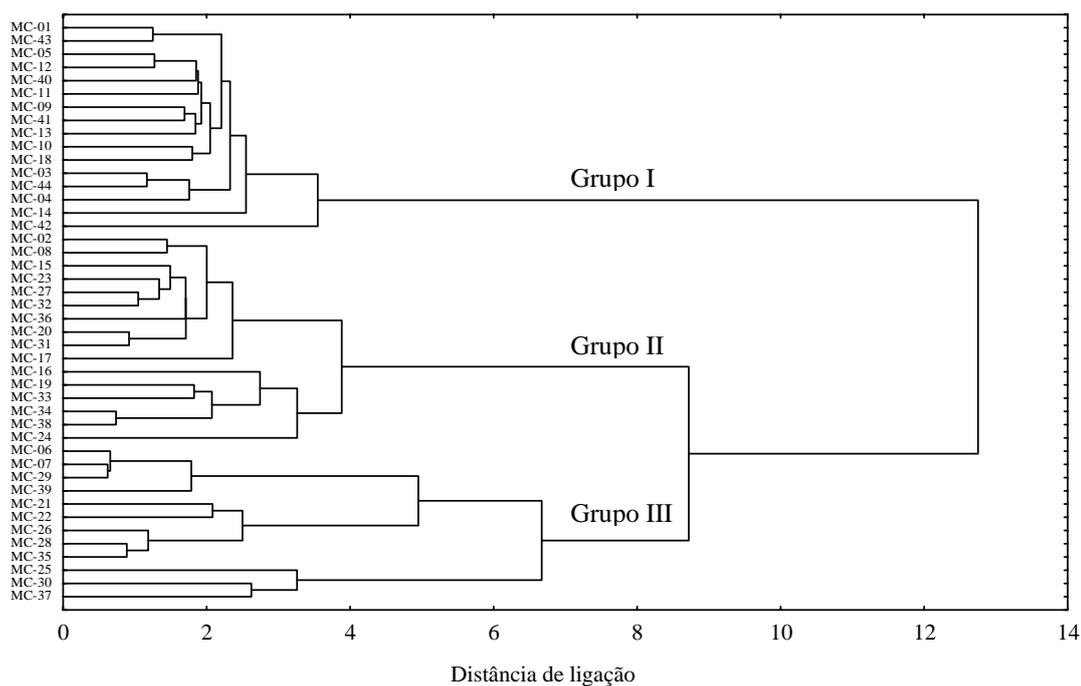


Figura 3. Agrupamento de 44 isolados de *Monosporascus cannonballus* obtidos de meloeiros cultivados nos municípios de Mossoró (RN) e Quixeré (CE), baseado na análise da distância Euclidiana por ligações simples, considerando a severidade da doença (SD), o comprimento da planta (CP), as áreas da 1^a (A1FD) e 2^a (A2FD) folhas definitivas e, a área foliar acumulada (AFA).

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aegerter, 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**, St. Paul, v.84, n.3, p.224-230, 2000.

2. Biernacki, M.; Bruton, B.D. Comparison of leaf-area index with root weight for assessing plant damage by soil-borne pathogens. In: Katzir, N.; Paris, H.S. (Eds.) **Cucurbitaceae '2000**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, 2000. p.163-169.
3. Biernacki, M.; Bruton, B.D. Quantitative response of *Cucumis melo* inoculated with root rot pathogens. **Plant Disease**, St. Paul, v.85, n.1, p.65-70, 2001.
4. Box, J. Modern methods for root investigations. In: Waisel, Y.; Eshel, A.; Kafkafi, U. (Eds.) **Plant roots**. New York: Marcel Dekker, 1996. p.193-237.
5. Bruton, B.D. Soilborne diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: McCreight, J. (Ed.). **Cucurbitaceae '98**. Alexandria: International Society of Horticultural Science, 1998. p.143-166.
6. Bruton, B.D.; García-Jiménez, J.; Armengol, J.; Popham, T.W. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n.8, p.907-913, 2000.
7. Bruton, B.D.; García-Jiménez, J.; Armengol, J. Analysis of the relationship between temperature and vine declines caused by *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on muskmelon. **Subtropical Plant Science**, Welasco, v.51, p.23-28, 1999.
8. García-Jiménez, J.; Armengol, J.; Sales Jr., R.; Jordá, C.; Bruton, B.D. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, Paris, v.30, p.169-173, 2000.
9. Martyn, R.D.; Miller, M.E. *Monosporascus* root rot and vine decline: an emerging disease of melon worldwide. **Plant Disease**, St. Paul, v.80, n.7, p.716-725, 1996.
10. McKinney, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, n.5, p.195-218, 1923.
11. Mertely, J.C.; Martyn, R.D.; Miller, M.E.; Bruton, B.D. An expanded host range for the muskmelon pathogens *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, St. Paul, v.77, n.7, p.667-673, 1993.
12. Mertely, J.C.; Martyn, R.D.; Miller, M.E.; Bruton, B.D. Role of *Monosporascus cannonballus* and other fungi in root rot/vine decline disease of muskmelon. **Plant Disease**, St. Paul, v.75, n.11, p.1133-1137, 1991.

13. Nene, Y.L.; Haware, M.P. Screening chickpea for resistance to wilt. **Plant Disease**, St Paul, v.64, n.4, p.379-380, 1980.
14. O'Brien, R.; Van Bruggen, A. Accuracy, precision and correlation to yield loss of disease severity scales for cork root of lettuce. **Phytopathology**, St. Paul, v.82, n.1, p.91-96, 1992.
15. 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, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.28, n.5, p.567, 2003.
16. Santos, A.A.; Freire, F.C.O.; Lima, J.A.A.; Cardoso, J.E. **Doenças do meloeiro em áreas irrigadas no Estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 11p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa, 35).
17. Stanghellini, M.E.; Kim, D.H.; Rasmussen, S.L. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. **Phytopathology**, St. Paul, v.86, n.5, p.509-514, 1996.
18. Vale, F.X.R.; Fernandes Filho, E.I.; Liberato, J.R. Quant - a software for plant disease severity assessment. In: Congress of Plant Pathology, 8., 2003, Christchurch. **Proceedings...** Christchurch: International Society of Plant Pathology, 2003. p.105 (Abstract 8.18) .
19. Waugh, M.M.; Kim, D.H.; Ferrin, D.M.; Stanghellini, M.E. Reproductive potential of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, St. Paul, v.87, n.1, p.45-50, 2003.

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. *Fusarium solani* e *Macrophomina phaseolina* foram às espécies fúngicas freqüentemente associadas às raízes de plantas de meloeiro exibindo sintomas de colapso, nos campos de produção do Rio Grande do Norte e do Ceará;
2. Populações de *Bacillus* spp. nos solos das áreas de produção correlacionaram-se com a freqüência de isolamento de *Monosporascus cannonballus* e de *F. solani* de raízes de meloeiro com sintomas de colapso;
3. Características físicas e químicas dos solos das áreas de produção correlacionaram-se com a freqüência de isolamento de *M. phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* de raízes de meloeiro com sintomas de colapso;
4. Mais de um fungo fitopatogênico está associado às raízes de meloeiro com sintomas de colapso nas áreas de produção amostradas nos Estados do Rio Grande do Norte e Ceará;
5. Baixas densidades de inóculo (0,1 a 1 ufc/g de solo) de *M. cannonballus* são suficientes para ocasionar o colapso do meloeiro;
6. Densidade de inóculo de 10 ufc/g de solo é adequada para estudos envolvendo o colapso do meloeiro causado por *M. cannonballus*;
7. Existe variabilidade na virulência entre os isolados de *M. cannonballus*, que deve ser considerada em programas de melhoramento, visando à resistência de plantas ao colapso do meloeiro;
8. Variáveis como áreas da 1ª e 2ª folhas definitivas e área foliar acumulada podem ser utilizadas para quantificar a intensidade do colapso do meloeiro.