

ANA PAULA MEDEIROS DOS SANTOS RODRIGUES

**VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Monosporascus cannonballus*
ORIUNDOS DE PLANTAS DANINHAS PRESENTES EM CAMPOS
DE PRODUÇÃO DE MELOEIRO**

**MOSSORÓ-RN
2017**

ANA PAULA MEDEIROS DOS SANTOS RODRIGUES

**VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Monosporascus cannonballus*
ORIUNDOS DE PLANTAS DANINHAS PRESENTES EM CAMPOS
DE PRODUÇÃO DE MELOEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido,
como parte das exigências para obtenção do título de
Doutor em Fitotecnia.

ORIENTADOR: D. SC. RUI SALES JÚNIOR
COORIENTADOR: D.SC. KAMILA CÂMARA CORREIA

Catalogação na Fonte
Catalogação de Publicação na Fonte. UFERSA - BIBLIOTECA CENTRAL ORLANDO
TEIXEIRA - CAMPUS MOSSORÓ

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

R696v Rodrigues, Ana Paula Medeiros dos Santos.
Variabilidade de isolados de *Monosporascus*
cannonballus oriundos de plantas daninhas
presentes em campos de produção de meloeiro / Ana
Paula Medeiros dos Santos Rodrigues. - 2017.
100 f. : il.

Orientador: Rui Sales Júnior.
Coorientadora: Kamila Câmara Correia.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Fitotecnia, 2017.

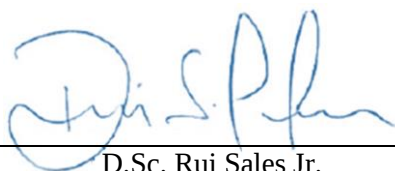
1. *Boerhavia diffusa* L.. 2. *Cucumis melo*. 3.
Fluazinam. 4. Patógenos radiculares. 5. *Trianthema*
portulacastrum L.. I. Sales Júnior, Rui, orient.
II. Câmara Correia, Kamila, co-orient. III. Título.

ANA PAULA MEDEIROS DOS SANTOS RODRIGUES

VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Monosporascus cannonballus* ORIUNDOS DE PLANTAS DANINHAS PRESENTES EM CAMPOS DE PRODUÇÃO DE MELOEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Fitotecnia.

APROVADA EM: 17/02/2017



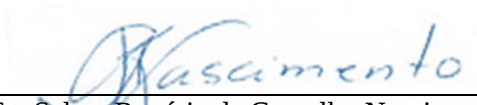
D.Sc. Rui Sales Jr.
UFERSA



D. Sc. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio
UFERSA



D. Sc. Glauber Henrique de Sousa Nunes
UFERSA



D.Sc. Selma Rogéria de Carvalho Nascimento
UFERSA



D.Sc. Hailson Alves Ferreira Preston
UFRN

Aos meus pais, Olacildo Rodrigues da Silva e Josefa Medeiros dos Santos Rodrigues, por todo amor, carinho, apoio e dedicação que sempre me ofereceram. Amo vocês!

Dedico

Ao meu amado esposo, Antonio Francisco de Mendonça Júnior, por todo amor, carinho, dedicação e companheirismo que tem a mim, sem ele tudo seria mais difícil. Ao meu irmão José Rodrigues da Silva Neto, pelo amor e companheirismo, sempre presente quando preciso.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

À Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar o caminho nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) pelas oportunidades de ensino, tanto na graduação como no mestrado e doutorado, fornecendo sempre a estrutura para realização da pesquisa e do sonho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

À Pós-graduação em Fitotecnia, em especial a todos que compõem o corpo docente, pelos ensinamentos transmitidos durante o mestrado e doutorado.

Ao meu orientador Rui Sales Júnior, pela atenção, orientação e conhecimentos transmitidos, ao longo dos seis anos de trabalho, de mestrado e doutorado, e pelo apoio no desenvolvimento do trabalho.

A minha amiga e Professora Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio, que sempre me recebeu de braços abertos, por toda a atenção, amizade, pelos ensinamentos e por toda ajuda que sempre me deu quando precisei.

A minha coorientadora Professora Kamila Correia, pela ajuda no desenvolvimento do projeto e da tese.

À todos os membros da banca, pela examination e colaboração no trabalho, em especial ao Professor Glauber Henrique Nunes e a Professora Selma Rogéria, pelos ensinamentos ao longo de todos os meus doze anos na Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

À todos os colegas do Laboratório de Fitopatologia, em especial à Diego, Thomaz, Kaline, Hailton, Ricardo, Rayssa, Alfredo, Ohana, Jacqueline, Izabel, Andréia e Naama pela grande ajuda na condução do trabalho, pela amizade, convivência e por todas as risadas, pode ter certeza, sem vocês eu não estaria aqui, muito obrigada.

Aos meus amigos, Patrícia Kamyla, Thailson, Claudinha, Neymar, Héliida, Sandra, Cleide, Wanessa, Carlos Henrique, Kledson, Felício e todos os outros pelo apoio sempre oferecido, e por aguentarem por tanto tempo as minhas conversas sobre as loucuras da Tese!

À minha família por tudo que representa na minha vida, pelo amor, dedicação, incentivo, paciência, e compreensão demonstrados, aos meus avós (In memoriam), pelo exemplo de vida, a todos os meus tios e tias, primos, e aos meus sogros que sempre me acolheram e torceram por mim.

À todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Muito Obrigado!

RESUMO

RODRIGUES, Ana Paula Medeiros dos Santos. **Variabilidade de isolados de *Monosporascus cannonballus* oriundos de plantas daninhas presentes em campos de produção de meloeiro**. 2017. 100f. (Tese) Doutorado em Agronomia: Fitotecnia – Universidade Federal Rural do Semi-Árido/UFERSA, Mossoró-RN, 2017.

O Nordeste brasileiro se destaca no cenário nacional, tendo o cultivo do melão (*Cucumis melo* L.) como uma das atividades de maior expressão social e econômica da região. Dentre os principais problemas enfrentados pelos produtores, destacam-se as doenças, dentre elas, o colapso do meloeiro causado por *Monosporascus cannonballus*. Apesar da importância da doença, pouco se conhece sobre a variabilidade desse patógeno. Visando investigar a variabilidade em isolados de *M. cannonballus* oriundos de plantas daninhas em áreas produtoras de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. O trabalho foi dividido em duas etapas: análise dos isolados de brejo e análise dos isolados de pega pinto. Dezoito isolados de pega-pinto (*Boerhavia diffusa* L.) e dezoito isolados de brejo (*Trianthema portulacastrum* L.) foram avaliados quanto à taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA), nas diferentes temperaturas, (20, 25, 30 e 35 °C), níveis de salinidade, (0, 1, 4 e 8%), e níveis de pH, (5,5, 6,0 e 8,0), bem como a inibição do crescimento micelial ao fungicida fluazinam (ICMF), e ao índice de severidade da doença a melão e melancia (ISD). Para o estudo dos isolados de brejo verificou-se que a temperatura de 30 °C apresentou os maiores valores de TCM, enquanto a de 20 °C os menores. Os maiores valores de NP foram registrados na temperatura de 30 °C enquanto a de 25 °C foi a única onde houve produção de ascósporos. Os níveis de 0 e 1% de salinidade registraram os maiores valores de TCM, e o de 8% os menores. Valores de NP foram observados apenas nos níveis de 0 e 1% de salinidade, sendo no de 0% registrados os maiores valores. Foi verificado ascósporos apenas no nível de 0%. Os níveis de pH 5,5 e 6,0 proporcionaram os maiores valores de TCM, enquanto o de 8,0 os menores. Peritécios foram observados em todos os níveis de pH, sendo o nível 6,0 o que proporcionou maior valor. Não houve produção de ascósporos em nenhum nível de pH. Todos os isolados apresentaram baixa sensibilidade ao fluazinam, com média de 15,53% ICMF. Todos os isolados foram patogênicos a melão e melancia com ISD médio de 56,25 e 70,13 % respectivamente. Na análise multivariada foi verificada a formação de 4 grupos de similaridade. Para o estudo dos isolados de pega-pinto, constatou-se que as temperaturas de 30 e 35 °C apresentaram os maiores valores de TCM, enquanto a de 20 °C os menores. Os maiores valores de NP foram registrados nas temperaturas de 30 e 35 °C enquanto as de 25 e 30 °C foram as

únicas que apresentaram ascósporos. Os níveis de 0 e 1% de salinidade registraram os maiores valores de TCM, e o de 8% os menores. Valores de NP e NA foram observados apenas nos níveis de 0 e 1% de salinidade. Os níveis de pH 5,5 e 6,0 proporcionaram os maiores valores de TCM, enquanto o de 8,0 os menores. Peritécios foram observados em todos os níveis de pH, sendo o de 6,0 o que proporcionou maior valor. Ascósporos foram observados nos níveis de 5,5 e 6, sendo o de 6 com maiores valores. Todos os isolados foram sensíveis ao fungicida fluazinam, com média de 19,76 % ICMF. Todos os isolados foram patogênicos a melão e melancia, com exceção do MCp-09 que não foi a melão, com um ISD médio de 56,25 e 70,13 % respectivamente. Na análise multivariada foi verificada a formação de 5 grupos de similaridade. Isolados de uma mesma área foram distribuídos em diferentes grupos de similaridade, indicando alta variabilidade entre os isolados. A ocorrência desta alta variabilidade deve ser considerada nos programas de melhoramento de melão, evitando que genótipos suscetíveis sejam considerados resistentes.

Palavras-chave: *Boerhavia diffusa* L.. *Cucumis melo*. Fluazinam. Patógenos radiculares. *Trianthema portulacastrum* L.

ABSTRACT

RODRIGUES, Ana Paula Medeiros dos Santos. **Variability of *Monosporascus cannonballus* isolates from weeds in melon production fields.** 2017. 100f. (Tese) Doutorado em Agronomia: Fitotecnia – Universidade Federal Rural do Semi-Árido/UFERSA, Mossoró-RN, 2017.

The Brazilian Northeast stands out in the national scenario, with the melon (*Cucumis melo* L.) cultivation as one of the activities of greater social and economic expression of region. Among the main problems faced by the producers are the diseases, among them, the melon collapse caused by *Monosporascus cannonballus*. Despite the importance of the disease, little is known about the variability of this pathogen. Aiming to investigate variability in *M. cannonballus* isolates from weeds in areas that produce melon, in the states of Rio Grande do Norte and Ceará. The research was divided into two stages: analysis of bredo and pinto-pinto isolates. Eighteen of Bredo (*Trianthema portulacastrum* L.) and pega-pinto (*Boerhavia diffusa* L.) isolates were evaluated for mycelial growth rate (MGR), number of perithecia (NP) and number of ascospores (NA) in different temperatures (20, 25, 30 and 35 °C), salinity levels (0, 1, 4 and 8%), and pH levels (5.5, 6.0 and 8.0), as well as inhibition of mycelial growth to the fungicide fluazinam (IMGF), and to the severity index of the disease to melon and watermelon (SID).. For the study of the bredo isolates, it was verified that the temperature of 30 °C presented the highest values of MGR, whereas the one of 20 °C the smaller ones. The highest values of NP were recorded in the temperature of 30°C while that of 25°C was the only one where there was ascospore production. The levels of 0 of 1% of salinity registered the highest values of MGR, and 8% of the lowest. NP values were only observed in the 0 and 1% salinity levels, with the highest values being 0%. Ascospores were only found at the 0% level. Levels of pH 5.5 and 6.0 provided the highest values of MGR, while 8.0 had the lowest values. Perithecias were observed at all pH levels, with level 6.0 giving the highest value. There was no ascospore production at any pH level. All isolates presented low sensitivity to fluazinam, with a mean of 15.53% IMGF. All isolates were pathogenic to melon and watermelon with mean SID of 56.25 and 70.13%, respectively. In multivariate analysis it was verified the formation of 4 similarity groups. For the study of pinto-pinto isolates, temperatures of 30 and 35 °C showed the highest MGR values, while the lowest were at 20 °C. The highest values of NP were recorded at temperatures of 30 and 35°C while those at 25 and 30°C were the only ones that presented ascospores. The salinity levels of 0 and 1% had the highest MGR values, while the lowest were at 8%. NP and NA values were observed only at the 0 and 1% salinity levels. Levels of pH 5.5 and 6.0 provided the highest values of MGR, while 8.0 had the lowest values. Perithecias were observed at all pH levels, with 6.0 being the highest value. Ascospores were observed at the levels of 5.5 and 6,

with 6 being the highest values. All isolates were sensitive to the fungicide fluazinam, with a mean of 19.76% IMGf. All isolates were pathogenic to melon and watermelon, except for MCp-09 that was not melon, with an average SID of 56.25 and 70.13%, respectively. In multivariate analysis it was verified the formation of 5 similarity groups. Isolates from the same area were distributed in different similarity groups, indicating high variability among the isolates. The occurrence of this high variability should be considered in melon breeding programs, avoiding that susceptible genotypes are considered resistant.

Keywords: *Boerhavia diffusa* L.. *Cucumis melo*. Fluazinam. Root pathogens. *Trianthema portulacastrum* L.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 01.	Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes temperaturas e sensibilidade ao fungicida fluazinam (ICMF) mensurados para estimar a variabilidade de isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i> , oriundos de plantas de brejo em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.....	51
Tabela 02.	Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes níveis de salinidade, mensuradas para estimar a variabilidade de isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i> , oriundos de plantas de brejo em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.....	56
Tabela 03.	Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes níveis de pH, mensuradas para estimar a variabilidade de isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i> , oriundos de plantas de brejo em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.....	59
Tabela 04.	Patogenicidade de isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i> oriundos de plantas de brejo em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, baseada no índice de severidade da doença (ISD), comprimento de raiz (CR) e peso fresco de raiz (PFR).....	61

CAPÍTULO III

Tabela 01.	Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes temperaturas e sensibilidade ao fungicida fluazinam (ICMF) mensurados para estimar a variabilidade de isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i> , oriundos de plantas de pega-pinto em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.....	82
Tabela 02.	Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes níveis de salinidade, mensuradas para estimar a variabilidade de isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i> , oriundos de plantas de pega-pinto em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.....	86
Tabela 03.	Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes níveis de pH, mensuradas para estimar a variabilidade de isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i> , oriundos de plantas de pega-pinto em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.....	90
Tabela 04.	Patogenicidade de isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i> oriundos de plantas de pega-pinto em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, baseada no índice de severidade da doença (ISD), comprimento de raiz (CR) e peso fresco de raiz (PFR).....	92

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 01.** Peritécios de *Monosporascus cannonballus* infiltrados nas raízes de melão. Mossoró-RN, UFERSA..... 25

CAPÍTULO II

- Figura 01.** Escala de notas utilizada para a avaliação da virulência de isolados de *Monosporascus cannonballus* Mossoró-RN, 2016..... 48
- Figura 02.** Taxa de crescimento micelial (2A), e número de peritécios (2B) dos isolados de *Monosporascus cannonballus* oriundos de brejo em função de diferentes temperaturas..... 53
- Figura 03.** Taxa de crescimento micelial (3A), e número de peritécios (3B) dos isolados de *Monosporascus cannonballus* em função de diferentes níveis de salinidade..... 58
- Figura 04.** Agrupamento geral de 18 isolados de *Monosporascus cannonballus* oriundos de brejo obtidos em diferentes áreas de cultivo de melão dos estados do Rio Grande Norte e Ceará, baseado na análise da distância Euclidiana pela ligação média, considerando as características fisiológicas e a sensibilidade ao fungicida fluazinam..... 64

CAPÍTULO III

- Figura 01.** Escala de notas utilizada para a avaliação da virulência de isolados de *Monosporascus cannonballus* Mossoró-RN, 2016..... 79
- Figura 02.** Taxa de crescimento micelial (2A), e número de peritécios (2B) dos isolados de *Monosporascus cannonballus* oriundos de pega-pinto em função de diferentes temperaturas..... 83
- Figura 03.** Taxa de crescimento micelial (3A), e número de peritécios (3B) dos isolados de *Monosporascus cannonballus* em função de diferentes níveis de salinidade..... 87
- Figura 04.** Agrupamento geral de 18 isolados de *Monosporascus cannonballus* oriundos de pega-pinto obtidos em diferentes áreas de cultivo de melão dos estados do Rio Grande Norte e Ceará, baseado na análise da distância Euclidiana pela ligação média, considerando as características fisiológicas e a sensibilidade ao fungicida fluazinam..... 95

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1	A CULTURA DO MELOEIRO.....	19
2.2	DOENÇAS NA CULTURA DO MELOEIRO.....	20
2.2.1	“Colapso” de ramas na cultura do melão.....	20
2.2.2	<i>Monosporascus cannonballus</i> – Aspectos gerais.....	21
2.2.3	Taxonomia e morfologia do patógeno.....	21
2.2.4	Condições de desenvolvimento.....	22
2.2.5	Patogenicidade.....	23
2.2.6	Hospedeiros.....	24
2.2.7	Sintomatologia.....	24
2.2.8	Danos econômicos.....	25
2.2.9	Métodos de controle.....	26
2.2.10	Variabilidade em <i>Monosporascus cannonballus</i>	28
2.3	PLANTAS DANINHAS COMO HOSPEDEIRAS ALTERNATIVAS DE FITOPATÓGENOS.....	28
2.3.1	Plantas daninhas hospedeiras de fungos.....	29
	REFERÊNCIAS.....	31

CAPÍTULO II

1	INTRODUÇÃO.....	43
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1	DADOS GERAIS DOS EXPERIMENTOS.....	45
2.1.1	Obtenção dos isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i>	45
2.1.2	Análise do crescimento micelial.....	46
2.1.3	Análise da produção de peritécios.....	46
2.1.4	Análise da produção de ascósporos.....	46
2.1.5	Sensibilidade ao fungicida fluazinam.....	47
2.1.6	Virulência em meloeiro e melancieira.....	47
2.1.7	Análises estatísticas.....	49
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4	CONCLUSÕES.....	65
	REFERÊNCIAS.....	66

CAPÍTULO III

1	INTRODUÇÃO.....	74
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	76
2.1	DADOS GERAIS DOS EXPERIMENTOS.....	76
2.1.1	Obtenção dos isolados de <i>Monosporascus cannonballus</i>	76
2.1.2	Análise do crescimento micelial.....	77
2.1.3	Análise da produção de peritécios.....	77
2.1.4	Análise da produção de ascósporos.....	77
2.1.5	Sensibilidade ao fungicida fluazinam.....	78
2.1.6	Virulência em meloeiro e melancieira.....	78
2.1.7	Análises estatísticas.....	80
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
4	CONCLUSÕES.....	96
	REFERÊNCIAS.....	97

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta-se como o 3º maior produtor mundial de frutas, com uma produção de aproximadamente 45 milhões de toneladas (FAO, 2012). O meloeiro (*Cucumis melo* L.) se destaca entre as principais culturas do país, gerando emprego e renda. No ano de 2014 foi a fruta mais exportada com 196,850 mil toneladas (IBRAF, 2015). A Região Nordeste do Brasil é responsável por aproximadamente, 95% da produção nacional de melão, com 18,074 mil hectares plantados, sendo os principais estados produtores o Rio Grande do Norte, Ceará, Bahia e Pernambuco (IBGE, 2015). Alta luminosidade, baixos índices pluviométricos e baixa umidade relativa do ar são fatores ambientais encontrados no Nordeste brasileiro que permitem a produção desta cultura o ano inteiro, favorecendo o aumento da exportação e garantindo expressão econômica e social, com a formação de empregos diretos (transporte, comercialização, venda de insumos e outros) e indiretos (CELIN, 2014).

A crescente expansão da produção de melão no Nordeste brasileiro, associada ao cultivo intensivo e contínuo sem rotação de culturas, tem proporcionado o aumento da incidência e severidade de algumas doenças radiculares. Dentre estas enfermidades, destaca-se o “colapso” ou “declínio” de ramas das cucurbitáceas, que é decorrente do desequilíbrio hídrico entre o sistema radicular e a parte aérea da planta, principalmente no estágio próximo à colheita, fase na qual a planta necessita de maior e contínuo aporte de água para suprir a demanda hídrica, o que vem a ser comprometido devido ao apodrecimento do sistema radicular (GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 2000; BELTRÁN et al., 2005).

O fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker é um dos principais agentes do colapso em vários países, causando grandes perdas e reduzindo a produção do meloeiro em todo o mundo (SALES JÚNIOR et al., 2003; 2004). Estudos realizados por García-Jimenez et al. (2000), mostraram que a produção de melão na Espanha diminuiu em torno de 40% em apenas 15 anos, em áreas afetadas por esta síndrome. Os sintomas incluem amarelecimento e morte das folhas mais velhas, com gradual declínio das ramas, seguido de murcha e morte das plantas na época próxima a formação dos frutos, podendo em alguns casos provocar perda total da cultura (MARTYN e MILLER, 1996). Na etapa final da doença observam-se também os

peritécios do fungo infiltrados nas raízes. Com o ataque, as raízes apresentam coloração marrom que evoluem para podridão, ocasionando necrose do sistema radicular e perda de muitas raízes secundárias e terciárias, tornando-se incapazes de absorver água e nutrientes (GARCÌA-JIMÈNEZ et al., 2000; FITA et al., 2007), além dos frutos apresentarem menor teor de açúcares e tamanho reduzido, perdendo o seu valor comercial (MERTELY et al., 1991; MARTYN e MILLER, 1996).

Diversos métodos de controle vêm sendo testados para combater este patógeno, entretanto ainda não se tem algo eficiente. No caso do controle químico não existem produtos registrados no Brasil (MAPA, 2016) para controlar esse fungo, além de estudos evidenciarem que o uso de agrotóxicos é pouco eficaz para o controle de patógenos radiculares. A utilização de plantas resistentes parece ser a forma mais interessante de controle do colapso, embora apresente algumas dificuldades como a obtenção de cultivares com características agronômicas desejáveis e o tempo de sua obtenção (GARCÌA-JIMENEZ et al. 1998; FITA et al., 2007). Na Espanha, sob condições de campo e infestação artificial em casa de vegetação, identificou-se o acesso Pat 81, também pertencente à subespécie *agrestis*, com alto nível de tolerância (ESTEVA; NUEZ, 1994; IGLESIAS; NUEZ, 1998, IGLESIAS et al. 2000). Mais recentemente, avaliando cultivares iranianas, Salari et al. (2012, 2013) identificaram as cultivares ‘Sfidak khatdar’, ‘Sfidak bekhat’, ‘Nabijani’, ‘Ghandak’, ‘Mollamosai’, ‘Chappat’, ‘Shadgan’ e ‘Hajmashallahi’ como moderadamente resistentes a *M. cannonballus*. Entretanto até o momento inexistem cultivares comerciais de meloeiro resistentes a *M. cannonballus*.

O conhecimento da variabilidade das populações dos patógenos é essencial para o desenvolvimento de estratégias de manejo das doenças radiculares. Estudos envolvendo a biologia do patógeno e os componentes da doença podem constituir importantes instrumentos de investigação da variabilidade em populações de patógeno (BRUTON, 1998).

Apesar da importância do colapso do meloeiro a nível mundial, a variabilidade das populações de *M. cannonballus* tem sido pouco estudada. Investigações envolvendo a análise da virulência (MERTLELY, 1993; BRUTON et al., 1999; ANDRADE et al., 2005) e o polimorfismo do dsRNA (LOVIC et al., 1995; CLUCK et al., 2009) constataram a presença de diversidade entre os isolados de *M. cannonballus*. Estudos realizados por Correia et al., (2014) quando analisaram a variabilidade de isolados de *M. cannonballus* oriundos de meloeiro, constataram que existe variabilidade patogênica e fisiológica nas populações de *M. cannonballus* causadoras do colapso do meloeiro nas áreas de plantio dos estados do Ceará e Rio Grande do Norte.

Foi detectado no Nordeste brasileiro duas espécies de plantas daninhas, brejo (*Boerhavia diffusa* L.) e pega-pinto (*Trianthema portulacastrum* L.) como hospedeiras de *M. cannonballus* em áreas produtoras de cucurbitáceas (RODRIGUES, 2013). Estas espécies

apresentam um ótimo desenvolvimento na região semi-árida, tornando-se plantas de fácil e rápida disseminação, podendo servir como fonte de inóculo de *M. cannonballus* durante a entressafra.

Entretanto, são escassas as informações sobre a variabilidade deste patógeno obtido de espécies daninhas, o que eleva a importância de estudar o comportamento de isolados destas espécies de plantas, tendo em vista que essas plantas daninhas ocorrem comumente nas áreas produtoras de melão da região nordeste.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo investigar a variabilidade de isolados de *M. cannonballus* oriundos de brejo (*Trianthema portulacastrum* L.) e pega-pinto (*Boerhavia diffusa* L.), em áreas produtoras de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, com base nas características fisiológicas, severidade da doença e sensibilidade ao fungicida fluazinam.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A CULTURA DO MELOEIRO

O meloeiro é uma espécie pertencente à família das Cucurbitáceas, cujo lugar de origem ainda não está bem esclarecido. Há evidências que desde milhares de anos o homem já cultivava algumas espécies desta família, tanto no novo como no velho mundo (WHITAKER; DAVIS, 1962; ROBINSON; DECKER-WALTERS, 1997; BRUTON, 1998). Índia, Pérsia e China são consideradas centros secundários de origem de onde possivelmente ocorreu a sua dispersão para bacia mediterrânea, sendo reintroduzido pelos Árabes na Espanha (ROBINSON; DECKER-WALTERS, 1997; MAROTO, 2002).

O cultivo do meloeiro no “Novo Mundo” aconteceu após a segunda viagem de Cristóvão Colombo que trouxe sementes para serem plantadas na Ilha Isabela, no arquipélago de Galápagos. No Brasil, a cultura foi introduzida pelos imigrantes europeus, sendo o Rio Grande do Sul, provavelmente, o primeiro estado produtor de melão (PEDROSA, 1997). Ainda que outros historiadores afirmem ser São Paulo o primeiro a cultivar esta olerícola.

A produção de melão no Brasil tem crescido consideravelmente nos últimos anos, devido, principalmente, às adequadas condições climáticas, que favorecem o desenvolvimento da cultura. A Região Nordeste é responsável por aproximadamente, 95% da produção nacional de melão, com 18,074 mil hectares plantados, sendo os principais estados produtores o Rio Grande do Norte, Ceará, Bahia e Pernambuco (IBGE, 2015).

Alta luminosidade, baixos índices pluviométricos e baixa umidade relativa do ar são fatores ambientais encontrados no Nordeste brasileiro, os quais permitem o cultivo ininterrupto ao longo do ano, favorecendo o aumento da exportação e garantindo expressão econômica e social através da geração de empregos diretos (transporte, comercialização, venda de insumos e outros) e indiretos.

Desta forma, temos que, o melão é de grande importância comercial para a exportação brasileira, e em 2014 foi a fruta mais exportada, com um volume de 196.850 mil toneladas, representando mais da metade do total das exportações (AGRIANUAL, 2015). Tal situação se deve em grande parte à boa aceitação do melão pelo mercado externo, especialmente pelos países europeus.

O polo Agrícola Mossoró - Assú destaca-se como a maior região produtora de melão do Rio Grande do Norte. O desenvolvimento dessa olerícola na região foi beneficiado pelo limitado índice pluviométrico anual na região do semiárido do Rio Grande do Norte, oferta de trabalho abundante, terra disponível, capacidade empresarial e facilidade para escoar a produção para o mercado externo, favorecendo a competitividade do meloeiro no estado (OLIVEIRA et al., 2011)

2.2 DOENÇAS NA CULTURA DO MELOEIRO

Em função das condições climáticas e do período de exploração, diversas doenças, causadas principalmente por fungos, bactérias, nematóides e vírus afetam a cultura do meloeiro, limitando o seu cultivo (LOPES; REIS; LIMA, 2008). Dentre os fatores limitantes à produção, as doenças têm provocado grandes perdas na produtividade e na qualidade dos frutos, afetando a aparência do produto devido à presença de pequenas manchas na casca que podem levar ao descarte do fruto, além de elevarem o custo de produção com o uso excessivo de agrotóxicos (CÉSAR; SANTOS, 2001).

No Brasil, a infestação por patógenos de solo tem ocasionado perdas significativas na produção de hortalças e inviabilizado algumas áreas de produção comercial dessas culturas (AUMONDE, 2007). Esses patógenos de solo são agentes de algumas das várias doenças que acometem o meloeiro, destacando-se entre elas o “declínio” de ramas, “colapso”, ou “morte súbita” (GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 1994a). Os sintomas incluem amarelecimento e morte das folhas mais velhas, com gradual declínio das ramas, seguido de murcha e morte das plantas na época próxima à formação dos frutos, podendo ocasionar em alguns casos, perda total da cultura. (MARTYN & MILLER, 1996).

Inúmeros agentes fitopatogênicos podem causar o colapso das ramas atuando de forma isolada ou em conjunto (BRUTON, 1998; AEGERTER et al., 2000; GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 2000; BELTRÁN et al., 2005). Nas áreas de produção dos estados do Rio Grande do Norte e do Ceará, vários fungos associados às raízes de meloeiro podem causar o colapso de ramas, com destaque para *Monosporascus cannonballus* (ANDRADE ET al., 2005; MARINHO et al., 2002).

2.2.1 “Colapso” de ramas na cultura do meloeiro

O “declínio” de ramas vem se mostrando uma doença de importância crescente em todo o mundo, haja vista que os agentes patogênicos desta síndrome podem atacar isoladamente ou em associação (SALES JÚNIOR et al., 2003). Segundo Martyn e Miller (1996), um dos agentes fúngicos mais importantes responsáveis por esta síndrome em cultivos de meloeiro no mundo é *Monosporascus cannonballus*, descrito em melancia na Tunísia (MARTYN et al., 1994), Estados Unidos - Califórnia (BRUTON; DAVIS; GORDON, 1995), México (MARTYN et al., 1996), Itália (GENNARI et al., 1999) e Egito (EL-DESOUKY; EL WAKIL, 2003).

No Brasil, este patógeno foi detectado pela primeira vez em 2002 em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará (SALES JÚNIOR et al., 2003), e posteriormente em 2008 e 2009 foi relatado pelo mesmo autor em áreas de melancia nos mesmos estados (SALES JUNIOR et al., 2010).

2.2.2 *Monosporascus cannonballus* – Aspectos gerais

O fungo *M. cannonballus* é um fitopatógeno que infecta a raiz da melancia e do meloeiro, podendo ocorrer isoladamente ou em associação com outros fitopatógenos causando a síndrome denominada “declínio” das ramas em cucurbitáceas. Foi citado pela primeira vez no Arizona em melões do tipo Cantaloupe (TROUTMAN e MATEJKA, 1970). Posteriormente foi referido no ano de 1974, quando Pollack e Uecker o descreveram em raízes de meloeiro, sendo sua primeira referência. Atualmente é encontrado em diversos países como Itália (GENNARI et al., 1999), Espanha (LOBO RUANO, 1991), Tunísia (MARTYN et al., 1994), Japão (WATANABE, 1979), Arábia Saudita (KARLATTI et al., 1997), Taiwan (TSAY & TUNG, 1995), México (MARTYN & MILLER, 1996), Guatemala (BRUTON & MILLER, 1997a), Honduras (BRUTON & MILLER, 1997b) e Brasil (SALES JÚNIOR et al., 2003).

Acreditava-se que este fitopatógeno teria sido introduzido no Brasil por materiais de propagação vindos da Espanha. Entretanto, em levantamento dos níveis populacionais de *M. cannonballus* em solos com cultivo de meloeiro e solos de ecossistema Caatinga, realizado por Medeiros et al. (2006), verificou-se a não significância entre os níveis de ascósporos nos dois ambientes, indicando que este fungo é habitante natural dos solos do semi-árido nordestino.

2.2.3 Taxonomia e morfologia do patógeno

Monosporascus cannonballus é um fungo habitante do solo, é um ascomiceto, pirenomiceto, homotático, com hifas septadas, hialinas, com largura entre 7,5 e 14 µm (WATANABE, 1979). A fase assexuada (conídios) deste fungo ainda é desconhecida (SIVANESAN, 1991). Os Ascomycetes, em geral, produzem oito ascósporos dentro de cada asca, no entanto, *M. cannonballus* produz um ascósporo por asca (e raramente dois), de aproximadamente 38 a 50 µm, característica essa que o diferencia das demais espécies deste gênero (BELTRÁN, 2006).

O nome *M. cannonballus* é uma alusão referente à forma dos seus ascósporos que lembra uma bola de canhão, uma vez que quando maduros, estes são de formato esférico e de coloração marrom escuro a negros e brilhantes (POLLACK & UECKER, 1974). Este fungo apresenta peritécios globosos, pretos, de formato esférico com diâmetro de 500 µm (SIVANESAN, 1991), os quais geralmente aparecem no final do ciclo da cultura, infiltrados em raízes afetadas (SALES JÚNIOR et al., 2002), e que são facilmente visíveis a olho nú, ou ainda, observados em lupa. Estes peritécios, por sua vez, formam ascas periformes, de parede grossa, com diâmetro entre 30-50 µm (BELTRÁN, 2006), com capacidade para sobreviver no solo por longos períodos na ausência de hospedeiro, constituindo o inóculo primário para as infecções radiculares (MARTYN; MILLER, 1996; STANGHELLINI et al., 1996; WAUGH et al., 2003).

Durante o ciclo de vida do patógeno as ascas desaparecem deixando livres os ascósporos. Em meio de cultura, o fungo pode apresentar dois tipos de colônias: a primeira, de crescimento rápido e coloração esbranquiçada, que pode ficar mais escura com o tempo e por fim, forma peritécios com 20 a 30 dias de cultivo; a segunda, ao contrário da outra, caracteriza-se por baixa patogenicidade apresentando crescimento lento, coloração amarela e nunca formam peritécios (GARCÍA- JIMÉNEZ et al., 1994).

2.2.4 Condições de desenvolvimento

Segundo Martyn & Miller (1996), *M. cannonballus* é um fungo termófilo bem adaptado às condições áridas e semi-áridas, com temperatura ótima de crescimento variando entre 25 e 35 °C, sendo inibido em temperaturas acima de 40 °C e abaixo de 15 °C. Entretanto, um isolado oriundo da Líbia obteve o seu ótimo de crescimento a 45 °C, sendo, portanto, considerado termófilo (WOLFF, 1996; BRUTON et al., 1999; PIVONIA, 2002a). De acordo com Pivonia et al. (2002b), este caráter termófilo prediz que tal fungo é patogênico apenas em regiões quentes, sendo saprofítico em regiões mais frias. Devido a essa característica, a região Nordeste do Brasil se mostra como excelente ambiente para o desenvolvimento deste patógeno. Por este motivo, a solarização do solo, como uma estratégia isolada, é incapaz de controlar este patógeno (REUVENI et al. 1983).

Correia et al. (2014), quando realizaram estudo com 57 isolados de *M. cannonballus* obtidos de raízes de meloeiro infectadas em campos de produção nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, verificaram grande variabilidade na taxa de crescimento micelial dos isolados, onde a temperatura de 28 °C foi a mais propícia ao crescimento, enquanto a de 38 °C foi a menos adequada. Temperaturas mais elevadas aumentam a penetração das hifas nas raízes e são determinantes para ocorrência do colapso do meloeiro. A ocorrência de altas temperaturas no ar e no solo, são fatores limitantes para o desenvolvimento da doença, sendo a temperatura do solo mais crítica para infecção e colonização, aumentando a gravidade do colapso. (PIVONIA et al. 2002; STANGHELLINI et al. 2004).

A faixa de pH que proporciona o melhor crescimento do fungo, quando analisado “*in vitro*” está entre 6 e 7, podendo crescer até pH igual à 9, sendo seu crescimento inibido com valores de pH inferiores à 4. Apresenta ainda tolerância a níveis relativamente altos de sódio e cloreto de potássio, que podem variar de 8 a 10% e tem ótimo crescimento micelial em potencial osmótico de -0,6 a -0,8 Mpa (MARTYN & MILLER, 1996).

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

Tecnologias que preconizam a exploração intensiva, tais como monocultura, aumento da densidade de plantio, irrigação por gotejamento e uso de cobertura plástica “mulch”, propiciam a formação de um microclima artificial que permite o crescimento e infestação do patógeno, criando um ambiente favorável para o aumento da infectividade e desenvolvimento da doença (BRUTON, 1998). Segundo Mertely et al. (1993), em um estudo realizado no Texas, sob as mesmas condições supracitadas, houve um rápido aumento da densidade de inóculo de *M. cannonballus* quando comparado ao manejo tradicional, caracterizado pelo uso da rotação de culturas com milho e cebola, irrigação por sulco e solo descoberto.

2.2.5 Patogenicidade

Com relação à patogenicidade de cepas de *M. cannonballus*, há controvérsias, e esse assunto tem sido motivo da discussão entre a comunidade científica. Bruton et al. (1996), verificaram que as cepas espanholas eram menos virulentas que as norte-americanas. Entretanto, Paniagua (2000) em estudo similar, constatou que as cepas espanholas se mostraram mais agressivas que as norte-americanas. Pivonia et al. (1997), realizaram ensaios de patogenicidade conduzidos em condições de campo, com inoculação artificial, e registraram altos índices de mortalidade de plantas de meloeiro, para todas as combinações em que *Monosporascus* sp. estava envolvido.

Em testes de patogenicidade realizados em áreas produtoras de melão na Califórnia, Aegerter et al. (2000) verificaram que *M. cannonballus* causou colapso e severos danos nas raízes das plantas reduzindo o comprimento em até 93%. Os autores afirmaram que este fungo parece permanecer saprofiticamente nos solos. Em levantamentos sobre a patogenicidade deste fitopatógeno a meloeiro, foi constatado que dentre 130 cultivares, 108 foram de moderadamente até altamente susceptíveis, ao ataque deste fitopatógeno (WOLFF, 1996).

No Brasil, Andrade et al. (2005) conduziram um estudo de patogenicidade de *M. cannonballus* à meloeiro, avaliando diferentes densidades de inóculo. Os autores não encontraram correlação significativa entre severidade de sintomas e as variáveis referentes ao peso da parte aérea da planta. Balbino (2015) avaliando a susceptibilidade de cultivares de diferentes culturas, cucurbitáceas e não cucurbitáceas, frente a inoculação de dois isolados de *M. cannonballus*, um de meloeiro e outro de pega-pinto, obtidos de áreas produtoras de melão do Nordeste brasileiro, observou diferentes graus de resistência e susceptibilidade nas culturas inoculadas, sendo as espécies de cucurbitáceas as que apresentaram o maior índice geral da doença.

Alguns tipos de colônias de *M. cannonballus* caracterizam-se por não formarem peritécios e por apresentarem baixa patogenicidade, este fato pode está ligado a presença de material genético extra, como dsRNA ou RNA bacteriano, encontrado em diferentes proporções

em todos os isolados que mostraram pouca virulência. A presença destes materiais pode ser consequência de restos de RNA procedentes da replicação de alguns vírus (MARTYN et al., 1993).

2.2.6 Hospedeiros

Com relação aos seus hospedeiros o *M. cannonballus* é descrito como sendo fitopatógeno de cucurbitáceas em todo o mundo, como por exemplo, pepino (*Cucumis sativus* L.), melão, melancia e abóbora (*Cucurbita pepo* L.), abóbora (*Cucurbita moschata* (Duchesne) Duchesne et Poir), moranga (*Cucurbita máxima* Duch.), cabaça (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.) e bucha (*Luffa aegyptiaca* Mill), sendo melão e melancia os principais (STANGHELLINI et al., 2001; SALES JÚNIOR et al., 2002).

Os danos causados por *M. cannonballus* também podem ser observados em plantas que não pertencem à família das cucurbitáceas. Entretanto, Mertely et al., (1993) afirmam que relatos em espécies que não sejam da família das cucurbitáceas podem não ter importância agrícola, contribuindo apenas para a persistência do patógeno durante curtos ou prolongados períodos de rotação de culturas.

M. cannonballus foi descrito em plantas que não pertencem a esta família, como por exemplo, milho (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris*) e trigo (*Triticum aestivum* L.) (SIVANERSAN, 1991); foi detectado também como patógeno de papilionáceas como (alfafa) *Medicago sativa* L. (POLLACK; UECKER, 1974) e em outras espécies como (trevo) *Trifolium pratense* L., gergelim (*Sesamum indicum* L.), lírio (*Iris* sp.), *Achyranthes áspera* L. na Índia, tomate (*Lycopersicon sculentum* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e brócolis (*Brassica oleracea* L.), todavia em nenhuma dessas culturas a patogenicidade foi estabelecida segundo os Postulados de Koch (SIVANESAN, 1991).

Recentemente foi relatado no Nordeste brasileiro em raízes de plantas daninhas, brejo (*Trianthema portulacastrum* L.) e pega-pinto (*Boerhavia diffusa* L.) (RODRIGUES, 2013).

2.2.7 Sintomatologia

As infecções começam nas raízes secundárias e, posteriormente, na raiz principal e, nos casos mais graves, chegam até o colo (MARTYN; MILLER, 1996). Os sintomas da doença iniciam-se com amarelecimento gradual e a seca das folhas mais velhas, o qual avança rapidamente para as folhas mais jovens, causando a seca e morte prematura das plantas (MARTYN; MILLER, 1996). As raízes apresentam-se necrosadas e apodrecidas. Estes sintomas são observados inicialmente nas raízes secundárias e posteriormente na raiz principal e hipocótilo, onde se observa a redução do córtex ao redor do cilindro vascular, impedindo que o sistema radicular realize sua função. O córtex desaparece quase que completamente nos últimos

estágios da enfermidade, fazendo com que o hipocótilo adquira uma consistência mole, sendo facilmente desprendido do solo, o que leva a perda de parte do sistema radicular da planta (SILVA et al., 2010).

Esses danos provocam a redução da capacidade da planta em absorver água, causando um desequilíbrio hídrico e acarretando o decaimento de ramas e murcha generalizada (MARTYN; MILLER, 1996). Ao final do ciclo da doença, a presença de peritécios pode ser observada no tecido das raízes apodrecidas (MERTELY et al., 1991; SALES JR. et al., 2001; 2002), facilitando a identificação do agente causal da doença no campo.



Figura 1. Peritécios de *Monosporascus cannonballus* infiltrados nas raízes de melão. Mossoró-RN, UFERSA (RODRIGUES, 2016).

2.2.8 Danos econômicos

O “declínio” de ramas é uma doença considerada de importância agrícola, reduzindo áreas de cultivo de cucurbitáceas em todo o mundo (SALES JÚNIOR et al., 2003; 2004). Os danos causados pelo *M. cannonballus* diminui a capacidade de absorção de água e nutrientes pela planta, prejudicando o período de maturação dos frutos, podendo ocasionar em alguns casos, perda total da cultura (MARTYN; MILLER, 1996).

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

Estudos realizados por García-Jimenez et al. (2000), mostraram que a produção de melão na Espanha diminuiu em torno de 40% em apenas 15 anos, principalmente devido à referida enfermidade, com predominância de patógenos radiculares como *M. cannonballus* e *Acremonium cucurbitacearum* Alvaro-Garcia, W. Gams & J. García-Jimenez.

No Brasil, em áreas de cultivos de meloeiro no Rio Grande do Norte, essa enfermidade apresentou uma incidência de 15% em dois campos de produção comercial em 2002 (SALES JUNIOR et al., 2003). Em prospecções realizadas na mesma região no ano seguinte, o fungo foi isolado de 30% das raízes das plantas provenientes das áreas que apresentaram incidência da doença (ANDRADE et al., 2005).

2.2.9 Métodos de controle

Algumas tentativas de controle têm sido utilizadas, entretanto têm sido pouco eficientes, devido ao fato do fungo ser considerado termófilo e bem adaptado ao clima árido e semiárido. No Brasil, apesar de algumas medidas estarem sendo estudadas, estas ainda são pouco eficazes e ainda não são muito bem estabelecidas devido à falta de informações sobre a epidemiologia desta doença, além disso, o Nordeste Brasileiro dispõe de condições edafo-climáticas ideais para o desenvolvimento deste patógeno (SILVA et al., 2010).

Todavia, tem se alcançado bons resultados, quando feito o manejo integrado da doença, o qual dificulta o desenvolvimento do patógeno. Dentre as técnicas do manejo pode-se citar a utilização de variedades resistentes, produção de mudas enxertadas, manipulação do sistema de irrigação, controle químico a base de fungicida e uso de outros fumigantes, de forma isolada ou em combinação com a solarização do solo (COHEN et al., 2000), uma vez que isoladamente a solarização do solo não é eficiente para controlar o patógeno (REUVENI et al., 1983).

O controle químico é pouco eficaz no campo. Entretanto, testes “*in vitro*” mostram alguns resultados positivos. Segundo Cohen et al. (1999), testando 29 ingredientes ativos, observaram que apenas os ativos fluazinam e kresoxym-metil conseguiram inibir 100% o crescimento “*in vitro*” de *M. cannonballus*. Dados esses que foram confirmados em campo, mostrando que ao utilizar o fluazinam houve uma redução de 87% de plantas com sintomas de colapso. Medeiros et al. (2006), constataram que os ingredientes ativos difenoconazole, fluazinam, tiofanato metílico, piraclostrobina + metiram, cresoxim-metílico, chlorothalonil, trifluozole e propiconazole sobre a eficiência no controle “*in vitro*” de um isolado de *M. cannonballus*, observaram que o fluazinam foi o que apresentou maior eficiência, na concentração $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, seguido de propiconazole. Guimarães et al. (2008), encontraram resultado semelhante, onde o fluazinam foi eficiente para controle do referido fungo em condições de casa-de-vegetação. Contudo, apesar dos diversos estudos envolvendo princípios ativos, não há produtos registrados para o controle desta enfermidade no Brasil (MAPA, 2016). Correia et al. (2014) verificaram uma alta sensibilidade de 57 isolados de *M. cannonballus* oriundos de melão do nordeste brasileiro, quando avaliados *in vitro* com aplicação do fungicida fluazinam.

A fumigação com brometo de metila mostrou-se como uma forma de controle eficaz em algumas zonas produtoras de cucurbitáceas no mundo (STANGUELLINI et al., 2001). Entretanto, esta é uma técnica causa grande impacto ambiental, motivo pelo foi proibido a utilização do referido produto a partir de 2015 (STANGUELLINI et al., 2004). No Brasil a sua produção e comercialização já são proibidas desde 2006, por meio da Instrução

Normativa conjunta 01 de 10 de setembro de 2002 (MAPA, 2013). Outros fumigantes vêm sendo testados, como é o caso de 1,3-dicloropropeno e a combinação deste com cloropicrina, embora sejam menos eficientes que o brometo de metila (MILLER et al., 1992).

Alternativas de controle biológico ainda são pouco evidenciadas, embora os resultados em laboratório e em casa de vegetação sejam promissores. Batten et al. (2000) utilizando cepas de *Trichoderma* e *Chaetomium*, obtiveram resultados bastante positivos com relação ao controle do *M. cannonballus*, ainda que em condições controladas. Zhang et al. (1999) em experimento em casa-de-vegetação confirmaram a eficiência do controle biológico de *M. cannonballus*, por *T. virens* Rifai. O qual se baseia na ação antagônica interespecífica ou por meio de competição pelo tecido da planta que, uma vez colonizado, não permite a infecção por parte das espécies fitopatogênicas; por meio da ação direta, pelos mecanismos do micoparasitismo. (SILVA et al., 2010).

Sales Júnior et al. (2007), estudando o controle biológico de *M. cannonballus* através da infestação de substrato com as concentrações de 4 e 8 x 10⁵ UFC g⁻¹ de *Chaetomium* verificaram que este foi eficiente em mais de 50% no controle *M. cannonballus*, proporcionando controle satisfatório do fitopatógeno alvo.

Guimarães et al. (2012), analisando a viabilidade de *Trichoderma* como agente de controle biológico na cultura do meloeiro, na região de Mossoró- RN, constataram que o uso de biopreparados de *Trichoderma* nas atuais condições de utilização da região, não apresentou resultados positivos, como foi observado anteriormente em outros trabalhos.

Diversos métodos de controle cultural vêm sendo estudados, entre eles a utilização de enxerto de meloeiro sobre abóbora (*Cucurbita* spp.) (COHEN et al., 2000) e a eliminação de restos de cultivo, para evitar o aumento do nível populacional de inóculo no solo (STANGHELLINI et al., 2004). Segundo Koren e Edelstein (2004) em Israel, o uso de melancia enxertada é responsável por cerca de 65% da área plantada total da cultura. Estudos realizados em condições de campo mostraram que a incidência de *M. cannonballus* em meloeiro enxertado foi menor do que naquelas plantas não enxertadas, concluindo assim, que a enxertia é um método efetivo de controle da doença, mas ainda são necessárias pesquisas para determinar a combinação perfeita para cada caso (COHEN et al., 2000).

A resistência de cultivares à *M. cannonballus* têm sido incluída como alternativa de controle (COHEN et al., 2000) ainda que se desconheça cultivares comerciais com níveis aceitáveis de resistência ao patógeno. Sales Júnior et al. (2002), avaliando o comportamento de melão e melancia em solo inoculado com *M. cannonballus*, concluíram que as duas cultivares de melancia estudadas foram resistentes ao fungo, sendo necessária, no entanto, a avaliação de mais genótipos para obtenção de resultados mais consistentes.

Segundo Crosby (2001) avaliando o germoplasma de *Cucumis melo* L. *agrestis* (Naud) Pangalo em solo inoculado com *M. cannonballus*, foram encontrados três genótipos resistentes ou imunes ao patógeno, concluindo assim, que há possibilidade da introdução de genes que conferem a resistência.

2.2.10 Variabilidade em *Monosporascus cannonballus*

Apesar da importância do colapso do meloeiro a nível mundial, a variabilidade das populações de *M. cannonballus* tem sido pouco estudada. Investigações envolvendo a análise da virulência (MERTLELY, 1993; BRUTON et al., 1999; ANDRADE et al., 2005) e o polimorfismo do dsRNA (LOVIC et al., 1995; CLUCK et al., 2009) constataram a presença de diversidade entre os isolados de *M. cannonballus*. Estudos realizados por Correia et al., (2014) analisando a variabilidade de isolados de *M. cannonballus* oriundos de meloeiro, constataram que existe variabilidade patogênica e fisiológica nas populações de *M. cannonballus* causadoras do colapso do meloeiro nas áreas de plantio dos estados do Ceará e Rio Grande do Norte.

Isolados espanhóis de *M. cannonballus* apresentaram grande variabilidade na taxa de crescimento micelial em função da temperatura, sendo observado que isolados mais agressivos não apresentaram maiores taxas de crescimento micelial na faixa de temperatura ótima (28 a 34 °C).

A existência de variabilidade nas populações de *M. cannonballus* poderá ter implicações no melhoramento genético para resistência ao declínio, especialmente na estabilidade e durabilidade da resistência. A inabilidade para discriminar entre isolados moderadamente a altamente virulentos pode conduzir a uma escolha desastrosa dos isolados a serem testados na seleção de germoplasmas resistentes. Portanto, avaliações precisas de virulência de patógenos habitantes do solo são necessárias para monitorar a introdução de gene (s) e ou/ deriva genética dentro da população do patógeno (BRUTON et al., 2000).

2.3 PLANTAS DANINHAS COMO HOSPEDEIRAS ALTERNATIVAS DE FITOPATÓGENOS

As plantas daninhas, segundo Pitelli (1985) são aquelas que, espontaneamente, emergem nos ecossistemas agrícolas podendo interferir não só na produtividade das plantas cultivadas, mas também na operacionalização do sistema de produção empregado. Estas plantas têm algumas características peculiares como a capacidade de produzir grande número de sementes, apresentarem dormência e germinação desuniforme.

A competição é, sem dúvida, a forma mais conhecida de interferência direta das plantas daninhas nas culturas agrícolas, segundo Silva et al. (2010), a convivência da melancia com estas plantas durante todo o ciclo, pode reduzir a produtividade comercial da cultura em até

100%, porém, estas também servem como hospedeiras de algumas pragas e doenças (CHIAVEGATO, 1986). Segundo Chaves et al. (2003), as plantas daninhas podem atuar como hospedeiras secundárias de fitopatógenos, servindo com fontes de inóculo e desempenhando uma importante função na epidemiologia das doenças.

Alguns trabalhos evidenciam a importância das plantas daninhas como hospedeiras alternativas e fonte de inóculo de diferentes fitopatógenos como fungos, vírus e nematóides.

2.3.1 Plantas daninhas hospedeiras de fungos

Diversos trabalhos mostram a importância das plantas daninhas como hospedeiras alternativas e potenciais fonte de inóculo de variados fungos. Raid e Pennypacker (1987), trabalhando com *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) causador da antracnose em tomateiro, concluíram que algumas espécies de plantas daninhas servem como fonte de inóculo secundário durante o cultivo e como fonte de inóculo primário entre cultivos de tomate. Os autores constataram que o fungo infectou plantas daninhas de diferentes famílias e que a eficiência na infecção aumentou com a senescência das plantas. Observaram também que a maioria das plantas infectadas não apresentaram sintomas.

Berrie e Burgess (2001) e Parikka e Lemmetty (2009) inocularam diversas espécies de plantas daninhas comumente encontradas em plantações de morango (*Fragaria* L.) com *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds e concluíram que todas atuavam como hospedeiras e, além disso, serviam como fonte de inóculo primário para o surgimento da antracnose em morango. Freeman, Horowitz e Sharon (2001) isolaram *C. acutatum* de plantas daninhas assintomáticas e estes isolados causaram sintomas de antracnose em plantas de morango. Os resultados obtidos por esses autores sugerem que as plantas daninhas hospedeiras de *C. acutatum* podem servir como fontes de inóculo e permitir a sobrevivência do fungo entre as safras de morango.

Hartman, Manandhar e Sinclair (1986) relatam a ocorrência de *Colletotrichum* spp. em plantas daninhas coletadas de campos de produção de soja e milho. Alguns isolados de *C. truncatum* obtidos de plantas daninhas foram tão patogênicos em plântulas de soja (*Glycine Max* L.) quanto os isolados obtidos da soja. Os autores concluíram que a alta incidência de *Colletotrichum* spp. nas folhas de soja e plantas daninhas sugere que o patógeno está presente desde cedo no campo de produção, e a sua presença em plantas daninhas se dá de forma assintomática.

Estudos conduzidos por Batista (1984) constataram plantas daninhas frequentes em cultivos de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth), como hospedeiras do fungo *Colletotrichum guaranicola* (Albuq.) agente da antracnose do guaranazeiro, a principal doença da cultura (Albuquerque, 1961; Trindade & Poltronieri, 1997). Esta doença tem sido apontada como

responsável pela redução da área cultivada com guaraná no Estado do Amazonas (IBGE, 1999), podendo levar à redução de até 88% das plantações, em condições de cultivo tradicional, e, com isso, inviabilizar cultivos de guaraná como alternativa econômica dos produtores (ARAÚJO et al., 2002). Miléo et al. (2007), realizando levantamento em seis áreas cultivadas com guaranazeiro, identificaram 47 espécies de plantas daninhas como hospedeiras de 1009 isolados fúngicos. Dentre os diversos fungos isolados estava o *C. guaranicola*, agente causal da antracnose do guaranazeiro, presente em 11 espécies de plantas daninhas.

Frare (2011) também avaliou diferentes espécies de plantas daninhas como fonte de inóculo de *C. acutatum* na cultura do citros (*Citrus* spp.), este pesquisador observou que o fungo apresentou sobrevivência em todas as plantas daninhas que foram inoculadas, embora estas tenham se mostrado como assintomáticas, e esse mesmo isolado quando inoculado em flores de citros, desencadeou sintomas típicos de podridão floral dos citros. O autor conclui que as plantas daninhas avaliadas podem servir como hospedeiras alternativas de *C. acutatum*, resultando em fonte de inóculo primário e secundário deste patógeno para a cultura do citros.

Sales Júnior et al. (2012) relataram a ocorrência de *M. phaseolina* e *R. solani*, agentes causais do “declínio” das ramas, em plantas daninhas prevalentes em áreas de cultivo de melão no Nordeste Brasileiro. O levantamento detectou 13 espécies daninhas hospedeiras de *M. phaseolina* e uma espécie hospedeira de *R. solani*, concluindo que o controle das plantas daninhas na entressafra é essencial para o sucesso no manejo do colapso das ramas do meloeiro, doença de importância econômica para a região, quando *M. phaseolina* predomina entre os agentes causais.

Rodrigues (2013) avaliando a ocorrência de plantas daninhas como hospedeiras alternativas de fitopatógenos radiculares em áreas de produção de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, verificou 14 espécies de plantas daninhas, como hospedeiras de patógenos radiculares causadores do declínio de ramas em melão e melancia. Destas 14 espécies, duas foram relatadas como hospedeiras de *M. cannonballus*, brejo (*Trianthema portulacastrum* L.) e pega-pinto (*Boerhavia diffusa* L.).

REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL 2015 - **ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA**. São Paulo: FNP. São Paulo, outubro de 2014. 512p
- AEGETER, B. J.; GORDON, T.R.; DAVIS, R.M. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in Califórnia. **Plant Disease**, Saint Paul v. 84, n.3, p.224-230, 2000.
- ALBUQUERQUE, F. C. Antracnose do guaraná. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. **Serviço de Informação Agrícola**, 22 p, 1961.
- ALCANTARA, T. P.; RASMUSSEN, S.L. STANGHELLINI, M. E. Biological characterization of *Monosporascus cannonballus*. **Phytopathology**, Saint. Paul, v. 87, n. 3, 1997.
- AUMONDE, T.Z.; PEIL, R.M.N.; PEDÓ, T.; STRASBURGER, A.S. Enxertia de melancia Crimson Sweet sobre diferentes porta-enxertos na fase de muda. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 47, 2007, Porto Seguro. **Anais...** Brasília: Horticultura Brasileira, 2007.
- ANDRADE, D.E.G.T.; MICHEREFF, S.J.; BIONDI C.M.; NASCIMENTO, C.W.A.; SALES JÚNIOR, R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 31, n. 4, p. 327-333, 2005.
- ARAÚJO, J. C. A. et al. Surto de antracnose (*Colletotrichum guaranicola*) do guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) no Estado do Amazonas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 78, 2002.
- BALBINO, D.A.D. **Reação de diferentes culturas a *Monosporascus cannonballus***. 50 p. 2015. 50 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2015.
- BATISTA, M. F. Plantas silvestres hospedeiras de *Colletotrichum guaranicola*. In: Simpósio Brasileiro do Guaraná, 1., 1984, Manaus. **Anais...** Manaus: Embrapa- UEPAE de Manaus, p. 409-411. 1984.

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

BERRIE, A. M.; BURGESS, C. M. A review of research on epidemiology and control of blackspot of strawberry (*Colletotrichum acutatum*) with special reference to weeds as alternative hosts. In: GORDON, S. C.; CROSS, J. V. (Ed.) Proceedings of the IOBCWPRS Working Group. **International Plant Protection in Orchards**, v. 26, p. 163-168, 2001.

BRUTTON, B. D.; GARCÍA JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J.; POPHAM, T. W. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. **Plant Disease**, St Paul, v.84: p. 907-913, 2000.

BRUTTON, B.D.; GARCÍA JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J. Análisis of the relationship between temperature and vine declines caused by *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on muskmelon. **Subtropical Plant Science**, v. 51, p. 23-28. 1999.

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

BRUTON, B. D.; MILLER, M. E. Occurrence of vine decline diseases of muskmelon in Guatemala. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 81, n. 6, p. 694, 1997a.

BRUTON, B. D.; MILLER, M. E. Occurrence of vine decline diseases of melons in Honduras. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 81, n. 6, p. 696, 1997b.

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

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

CELIN EF; PASTORI PL; NUNES GHS; ARAGÃO FAS. 2014. Agronegócio brasileiro do melão na última década. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 53. **Horticultura brasileira.**, v. 31, n. 2, (Suplemento-CD Rom), julho,2014.

CLUCK, T.W., BILES CL, DUGGAN, M., JACKSON, T., CARSON, K., ARMENGOL, J., GARCIA-JIMENEZ, J., BRUTON, B.D., Association of dsRNA to downregulation of perithecial synthesis in *Monosporascus cannonballus*. **The Open Mycology Journal** 3:9-19, 2009.

CHAVES, A. L. R.; BRAUN, M. R.; EIRAS, M.; COLARICCIO, A.; GALLETI, S. R. Erigon bonariensis: hospedeira alternativa do lettuce mosaic vírus no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 307-311, 2003.

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

COHEN, R.; PIVONIA, S.; SHTIENBERG, D.; EDELSTEIN, M.; RAZ, D.; GERSTIL, Z.; KATAN, J. Efficacy of fluazinam in suppression of *Monosporascus cannonballus*, the causal agent of sudden wilt of melons. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, n. 12, p. 1137-1141, 1999.

CORREIA, K. C.; SILVA, E. K. C.; CAMARA, M. P. S.; SALES JUNIOR, R.; MIZUBUTI, E. S. G.; ARMENGOL, J.; JIMENEZ, J. G.; MICHEREFF, S. J . Fitness components of *Monosporascus cannonballus* isolates from northeastern Brazilian melon fields. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 03, p. 217-223, 2014.

CROSBY, K. M. Screening *Cucumis melo* L. Agrestis germplasm for resistance to *Monosporascus cannonballus*. **Subtropical Plant Science**, v. 53, p. 24-26, 2001.

El-Desouky, S. M.; El Wakil, A. A.; Occurrence of *Monosporascus* root rot and vine decline of cantaloupe and watermelon in Egypt. **Egyptian J Phytopathol.**, v. 3, p. 141-150, 2003.

ESTEVA, J., NUEZ, F. Field resistance to melon dieback in *Cucumis melo* L. **Cucurbit Genetic Cooperative**, v.17, p. 76-77, 1994.

PEDROSA, J. F. **Cultura do melão**. Mossoró: ESAM, 1997. 51 p. (Apostila).

CÉsar, N. S.; SANTOS, G. R. Doenças da cultura da melancia no Projeto Formoso, Tocantins. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 411, 2001.

WHITAKER, T. W.; DAVIS, D. W. **Cucurbits: botany, cultivation and utilization**. London: Leonard Hill, 1962. 250 p.

ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. **Cucurbits**. New York: CAB International (Crop Production Science in Horticulture nº 6), 1997. 226 p.

FAO. FAOSTAT. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/611/default.aspx>. ancor>. 2012.

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

FRARE, G.F. **Sobrevivência de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da podridão floral dos citros, em plantas daninhas**. 2011. 87p. Dissertação (Mestrado) - ESALQ - Piracicaba, 2011.

FONTES, P. C. R.; PUIATTI, M. Cultura do melão. In: FONTES, P.C.R. (Ed.). **Olericultura: teoria e prática**. Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa, 2005. Cap.26, p. 407-428.

FREEMAN, S.; HOROWITZ.; SHARON, A. Pathogenic and nonpathogenic lifestyles in *Colletotrichum acutatum* from strawberry and other plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v.91, n. 10, p. 986-992, 2001.

GARCÍA-JIMÉNEZ, J., VELÁZQUEZ, M.T., JORDÁ, C. & ALFARO-GARCÍA, A. *Acremonium* species as the causal agent of muskmelon collapse in Spain. **Plant Disease**, v. 78, p. 416- 419. 1994.

GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J.; SALES, R.; JORDÁ, C.; BRUTON, B. D. Fungal pathogens associated with melon collapse in Spain. **EPPO Bull**, v. 30, p. 169-173, 2000.

GENNARI, S.; MIROTTI, A.; SPORTELLI, M. 1999. Assessment of *Monosporascus cannonballus* from watermelon plants. **Informatore Fitopatologico** v. 49, p. 38-40, 1999.

GUIMARÃES, I. M.; SALES JUNIOR, R.; SILVA, K. J. P.; MICHEREFF, S. J.; NOGUEIRA, D. R. S. Efeito de fluazinam no controle *Monosporascus cannonballus*, agente causal do declínio de ramas em meloeiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 4, p. 147-153, 2008.

GUIMARÃES, I. M. **Viabilidade do uso de *Trichoderma* como agente de controle biológico na cultura do melão em Mossoró - RN**. 2012. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - UFRPE, Recife, 2012.

HARTMAN, G. L.; MANANDHAR, J. B.; SINCLAIR, J. B. Incidence of *Colletotrichum* spp. On soybeans and weeds in Illinois and pathogenicity of *Colletotrichum truncatum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 70, n. 8, p 780-782, 1986.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola municipal**: Culturas temporárias e permanentes. 99p. 2015.

IGLESIAS, A., NUEZ, F. Caracterización de diversas entradas de melón frente al colapso o muerte súbita. **Actas de Horticultura**, v. 22, p. 139-147, 1998.

IGLESIAS, A., PICÓ, B.; NUEZ, F. A temporal genetic analysis of disease resistance genes: resistance to melon vine decline derived from *Cucumis melo* var. *agrestis*. **Plant Breeding**, v. 118, p. 1-6, 2000.

MAROTO, J. V. **Horticultura herbácea especial**. Madrid: Ed. Mundi-Prensa, 2002. 702 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola municipal**: Culturas temporárias e permanentes. 99p. 2015.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. **Anuário Brasileiro da Fruticultura**. Editora Gazeta. 2015.

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

KARLATTI, R. S.; ABDEEN, F. M.; AL-FEHAID, M. S. First report of *Monosporascus cannonballus* in Saudi Arabia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 81, n.10, p. 1215, 1997.

KOREN, A.; EDELSTEIN, M. Advantages and limitations of grafted vegetable transplants in Israel. **HortScience**, v. 39, p. 873, 2004.

LOBO RUANO, M. Severe diseases of melons and watermelons. **Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas**, Espanha, 1991.

LOPES, C. A.; REIS, A.; LIMA, M. F. Principais doenças da cultura da melancia no Brasil. Brasília: **Embrapa hortaliças**, (Circular Técnica nº61), 2008. 10 p.

LOVIC, B. R., VALADEZ, V. A., MARTYN, R.D. MILLER, M.E. Preliminary analyses of dsRNA length polymorphism in clonal, root, and field populations of . In: Lester, G., DUNPLAN, J., et al. (Ed). **Cucurbitaceae** **94**, pp. 201-203. Gateway, College Station, USA, 1995.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Livro Técnico e Científico. EDUSP, São Paulo, 225p. 1978.

JOBST, J.; KING, K.; HEMLEBEN, V. Molecular evolution of the internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and phylogenetic relationships among species of the family Cucurbitaceae. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 9, p. 204-219, 1998.

MAPA. **Instrução normativa conjunta nº 1, de 10 de setembro de 2002a**. Disponível em: <http://www.climate-policy-map.econsense.de/legalasis_download/brazil/inst_norm_methylbromide>. Pdf. Acesso em: 10 jan. 2013.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Agrofit- sistema de agrotóxicos fitossanitários**. <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> 2016.

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

MARTYN, R. D.; LOVIC, B. R.; MADDOX, D. A.; GERMASH, A.; MILLER, M. E. First report of *Monosporascus* root rot/vine decline of watermelon in Tunisia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 78, n. 12, p. 1220, 1994.

MARTYN, R. D.; MILLER, M. E. *Monosporascus* root rot and vine decline: an emerging disease of melons worldwide. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 80, n. 1, p. 716- 725, 1996.

COSTA, N. D. (ed.). **A cultura do melão**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia– SP. 117 p. (Coleção Plantar, 44, Série Vermelha. Fruteiras). 2001.

MARINHO, R. E. M. *et al.* Identificação da micoflora associada a raízes de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 15, n. 01, p. 25-28, 2002.

MAROTO, J.V. (Ed.). **Horticultura herbácea especial**. 2a ed. Madrid: Mundi-Prensa, 611 p. 1994.

MEDEIROS, E. V.; ALBUQUERQUE, J. F. C.; MICHEREFF, S. J.; SALES JÚNIOR, R. NUNES, G. H. S. Controle de *Monosporascus cannonballus* por tiazolidina-2-4-diona e efeito sobre o agente de controle biológico *Trichodema* spp. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 1, p. 44-50, 2006.

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

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

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**, Saint Paul, v. 77, n. 1, p. 766- 771, 1993.

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

MILÉO, L. J.; SILVA, J. F.; BENTES, J. L. S. CHRISTOFFOLETI, P. J. Plantas daninhas hospedeiras alternativas de *Colletotrichum guaranicola* em cultivos de Guaranà no Estado do Amazonas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 4, p. 771-782, 2007.

OLIVEIRA, D. M.; ALMEIDA, C. A. S.; PONTES, F. S. T.; DANTAS, C. C.; PONTES, F. M. A cultura do melão no estado do Rio Grande do Norte pós plano real: 1995-2009. **Revista Verde**, Pombal, v. 6, n. 3, p. 192, 2011.

PANIAGUA, A. G. **Histopatologia del ataque a raíz de melón. Estudios sobre la patogenicidad de cepas de *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker aisladas de**

melon. 86p. Tese (Doutorado em Fitopatología) Universidad Politécnica de Valencia, Espanha, 2000.

PARIKKA, P. LEMMETTY, A. Survival of *Colletotrichum acutatum* on alternative hosts. In: NJF SEMINAR: CHALLENGES IN SUSTAINABLE PLANT PROTECTION IN SRTAWBERRIES, 429, 2009, Sweden. **NJF Report**, Sweden: SLU, 2009. 17p

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

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

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

POLLACK, F. G.; UECKER, F. A. *Monosporascus cannonballus* an unusual Ascomycete in cantaloupe roots. **Mycologia**, Philadelpha, v. 66, n. 1, p. 346-349, 1974.

RAID, R. N.; PENNYPACKER, S. P. Weeds as host for *Colletotrichum coccodes*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 71, n. 1, p. 643-645, 1987.

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

RODRIGUES, A.P.M.S. **Ocorrência de plantas daninhas como hospedeiras alternativas de fitopatógenos radiculares e avaliação da patogenicidade sobre as culturas do melão e da melancia.** 76p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Brasil, 2013.

SALARI, M.; PANJEHKEH, N.; NASIRPOOR, Z.; ABKHOO, J. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, p. 15324-15329, 2012.

- SALARI, M.; PANJEHKEH, N.; NASIRPOOR, Z.; ABKHOO, J. Reaction of Melon (*Cucumis melo* L.) Cultivars to *Monosporascus cannonballus* (Pollack & Uecker) and their effect on total phenol, total protein and peroxidase activities. **Journal of Phytopathology**, v. 161, p. 363-368, 2013.
- SALES JÚNIOR, R.; VICENT, A.; ARMENGOL, J.; GARCIA-JIMÉNEZ, J.; KOBORI, R. F. Comportamento de cultivares de meloeiro e melancia inoculados com *Acremonium cucurbitacearum* e *Monosporascus cannonballus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 206-210, 2002.
- SALES JÚNIOR, R.; OLIVEIRA, O. F.; SENHOR, R. F.; ALVES, M. Z. *Monosporascus cannonballus* agente causal do colapso em plantas de melão no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 5, p. 567, 2003.
- SALES JR., R., NASCIMENTO, I.J.B., FREITAS, L.S., BELTRÁN, R., ARMENGOL, J., VICENT, A.; GARCIA-JIMÉNEZ, J. First report of *Monosporascus cannonballus* on melon in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, p.84, 2004.
- SALES JÚNIOR, R., BELTRÁN, R., VICENT, A., ARMENGOL, J., GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; MEDEIROS, E.V. Controle biológico de *Monosporascus cannonballus* com *Chaetomium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 070-074, 2007.
- SALES JÚNIOR, R.; SANTANA, C. V. S.; NOGUEIRA, D. R. S.; SIVA, K. J. P. ; GUIMARÃES, I. M. First Report of *Monosporascus cannonballus* on Watermelon in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 2, p. 278, 2010.
- SALES JR, R.; OLIVEIRA, O. F.; MEDEIROS, E. V.; GUIMARÃES, I. M.; ORREIA, K. C.; MICHEREFF, S. J. Ervas daninhas como hospedeiras alternativas de patógenos causadores do colapso do meloeiro. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 43, p. 195-198, 2012.
- SILVA, K. J. P.; CORDEITO, A. G.; NOGUEIRA, D. R. S.; SALES JUNIOR, R. *Monosporascus cannonballus*: Agente causal do colapso ou morte súbita do meloeiro. **Revista Verde**, Pombal, v.5, n.4, p. 11-18, 2010.
- SIVANESAN, A. *Monosporascus cannonballus*. **Mycopathologia**. 114:53, 1991.
- STANGHELLINI, M. E.; KIM, D. H.; RASMUSSEN, S. L. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. **Phytopathology**, v. 86, p. 509-514, 1996.

STANGUELLINI, M.E.; KIM, D.H.; WAUGH, M.M.; RADEWALD, K.C.; SIMS, J.J.; OHR, H.D.; MAYBERRY, K.S.; TURINI, T.; MCCASLIN, M.A. Vine decline of melons caused by *Monosporascus cannonballus*: I. preplant disease management strategies. **Phytopathology**, v. 91 p. 84, 2001.

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

TSAY, J. G; TUNG, B. K. The occurrence of *Monosporascus* root rot/vine decline of muskmelon in Taiwan. **Plant Pathology Bulletin**, Chiayi, v. 4, n. 1, p. 25-29, 1995.

TORRES J. M. Los tipos de melón comerciales. In: NAMESNY A. (Coord.). **Melones. Compendios de Horticultura**. Madrid: Ediciones de Horticultura, 1997. p. 13-19.

TROUTMAN, J. L.; MATEJKA, J. C. Three fungi association with cantaloupe roots in Arizona. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 60, n. 1, p. 1317, 1970.

TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S. Doenças do guaraná. In: KIMATI, H. et al. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo, 1997, p. 459-462.

WATANABE, T. *Monosporascus cannonballus*, an ascomycete from wilted melon roots described in Japan. **Transactions of the Mycological Society of Japan**, Kyoto, v. 20, n. 3, p. 312-316, 1979.

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

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

WOLFF, D.W. Evaluation of melon germoplasm for resistance to *Monosporascus* root rot/vine decline symptom expression in melon (*Cucumis melo* L.). In: EUCARPIA MEETING ON CUCURBIT GENETICS AND BREEDING. **Cucurbits Toward 2000**, 6, Málaga, Espanha, p. 224-228, 1996.

CAPÍTULO II

VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Monosporascus cannonballus* ORIUNDOS DE BREDO PRESENTES EM ÁREAS PRODUTORAS DE MELOEIRO

RESUMO

O Nordeste se destaca no cenário nacional, tendo o cultivo do melão (*Cucumis melo* L.) como uma das atividades de maior expressão social e econômica da região. Dentre os principais problemas enfrentados pelos produtores, destacam-se as doenças, dentre elas o colapso do meloeiro causado por *Monosporascus cannonballus*. Apesar da importância da doença pouco se conhece sobre a variabilidade desse patógeno. Visando investigar a variabilidade em isolados de *M. cannonballus* oriundos de breo em áreas produtoras de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, Dezoito isolados foram avaliados quanto à taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA), nas diferentes temperaturas, (20, 25, 30 e 35 °C), níveis de salinidade, (0, 1, 4 e 8%), e níveis de pH, (5,5, 6,0 e 8,0), bem como a inibição do crescimento micelial ao fungicida fluazinam (ICMF), e ao índice de severidade da doença a melão e melancia (ISD). A temperatura de 30°C apresentou os maiores valores de TCM, enquanto a de 20°C os menores. Os maiores valores de NP foram registrados na temperatura de 30°C enquanto a de 25°C foi a única onde houve produção de ascósporos. Os níveis de 0 e 1% de salinidade registraram os maiores valores de TCM, e o de 8% os menores. Valores de NP foram observados apenas nos níveis de 0 e 1% de salinidade, sendo no de 0% registrados os maiores valores. Foi verificada formação de ascósporos apenas no nível de 0%. Os níveis de pH 5,5 e 6,0 proporcionaram os maiores valores de TCM, enquanto o de 8,0 os menores. Os valores de NP foram observados em todos os níveis de pH, sendo o de 6,0 o que proporcionou maiores valores. Não houve produção de ascósporos em nenhum nível de pH. Todos os isolados apresentaram baixa sensibilidade ao fungicida fluazinam, com média de 15,53% ICMF. Todos os isolados foram patogênicos a melão e melancia com um ISD médio de 56,25 e 70,13 % respectivamente. Na análise multivariada foi verificada a formação de 4 grupos de similaridade. Diferentes isolados de uma mesma área foram distribuídos em diferentes grupos de similaridade, indicando a alta variabilidade entre os isolados.

Palavras-chave: *Cucumis melo*. Patógeno radicular. Colapso do meloeiro. Fluazinam.

VARIABILITY OF *Monosporascus cannonballus* ISOLATES FROM BREDO PLANTS IN AREAS OF MELON

ABSTRACT

The Brazilian Northeast stands out in the national scenario, with the melon (*Cucumis melo* L.) cultivation as one of the activities of greater social and economic expression of region. Among the main problems faced by the producers are the diseases, among them, the melon collapse caused by *Monosporascus cannonballus*. Despite the importance of the disease, little is known about the variability of this pathogen. Aiming to investigate variability in *M. cannonballus* isolates from weeds in areas that produce melon, in the states of Rio Grande do Norte and Ceará. Eighteen Bredo (*Trianthema portulacastrum* L.) isolates were evaluated for mycelial growth rate (MGR), number of perithecia (NP) and number of ascospores (NA) in different temperatures (20, 25, 30 and 35 °C), salinity levels (0, 1, 4 and 8%), and pH levels (5.5, 6.0 and 8.0), as well as inhibition of mycelial growth to the fungicide fluazinam (IMGF), and to the severity index of the disease to melon and watermelon (SID). It was verified that the temperature of 30 °C presented the highest values of MGR, whereas the one of 20 °C the smaller ones. The highest values of NP were recorded in the temperature of 30°C while that of 25°C was the only one where there was ascospore production. The levels of 0 of 1% of salinity registered the highest values of MGR, and 8% of the lowest. NP values were only observed in the 0 and 1% salinity levels, with the highest values being 0%. Ascospores were only found at the 0% level. Levels of pH 5.5 and 6.0 provided the highest values of MGR, while 8.0 had the lowest values. Perithecias were observed at all pH levels, with level 6.0 giving the highest value. There was no ascospore production at any pH level. All isolates presented low sensitivity to fluazinam, with a mean of 15.53% IMGF. All isolates were pathogenic to melon and watermelon with mean SID of 56.25 and 70.13%, respectively. In multivariate analysis it was verified the formation of 4 similarity groups. In multivariate analysis it was verified the formation of 5 similarity groups. Isolates from the same area were distributed in different similarity groups, indicating high variability among the isolates.

Keywords: *Cucumis melo*. Melon collapse. Root pathogens. Fluazinam.

1 INTRODUÇÃO

A Região Nordeste do Brasil é responsável por aproximadamente 95% da produção nacional de melão, com 18,074 mil hectares plantados, sendo os principais estados produtores o Rio Grande do Norte, Ceará, Bahia e Pernambuco (IBGE, 2015). A cadeia produtiva do melão nesses estados tem contribuindo para a geração de emprego e renda, com relevante importância econômica e social para o semiárido, (CELIN et al, 2014).

A crescente expansão da produção do melão (*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 algumas doenças radiculares.

Dentre estas doenças, 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 reduzindo a produção do meloeiro em todo o mundo (SALES JÚNIOR et al., 2003; 2004). Estudos realizados por García-Jimenez et al. (2000), mostraram que a produção de melão na Espanha diminuiu em torno de 40% em apenas 15 anos, em áreas afetadas por esta síndrome. Os sintomas incluem amarelecimento e morte das folhas mais velhas, com gradual declínio das ramas, seguido de murcha e morte das plantas na época próxima a formação dos frutos, podendo em alguns casos provocar perda total da cultura (MARTYN e MILLER, 1996). Na etapa final da doença observam-se também os peritécios do fungo infiltrados nas raízes. Com o ataque, as raízes apresentam coloração marrom que evoluem para podridão, ocasionando necrose do sistema radicular e perda de muitas raízes secundárias e terciárias, tornando-se incapazes de absorver água e nutrientes (GARCÍA-JIMÈNEZ et al., 2000; FITA et al., 2007), além dos frutos apresentarem um menor teor de açúcares e tamanho reduzido, perdendo o seu valor comercial (MERTELY et al., 1991; MARTYN e MILLER, 1996).

No Brasil, este patógeno foi detectado pela primeira vez em 2002 em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará (SALES JÚNIOR et al., 2003) e, posteriormente, em 2008 e 2009 foi relatado pelo mesmo autor em áreas de melancia nos mesmos estados (SALES JUNIOR et al., 2010).

Algumas tentativas de controle têm sido utilizadas, entretanto têm sido pouco eficientes, devido ao fato do fungo ser considerado termófilo e bem adaptado ao clima árido e semiárido. No Brasil, apesar de algumas medidas estarem sendo estudadas, estas ainda são pouco eficazes e ainda não são bem estabelecidas, devido à falta de informações sobre a epidemiologia desta doença, além disso, o Nordeste brasileiro dispõe de condições edafo-climáticas ideais para o desenvolvimento deste patógeno (SILVA et al., 2010). O controle químico tem sido insatisfatório e/ou antieconômico (COHEN et a., 1999, 2000; EDELSTEIN et al., 1999;

STANGHELLINI et al., 2004; FITA et al., 2007). Não existem fungicidas registrados no Brasil para o controle eficiente de *M. cannonballus* (MAPA 2016). A utilização de plantas resistentes parece ser a forma mais eficiente de controle do colapso do meloeiro, embora apresente algumas dificuldades como a obtenção de cultivares com características agrônomicas desejáveis e o tempo de sua obtenção (ARMENGOL, 1998; FITA et al., 2007). Entretanto, até o momento, não existem cultivares comerciais de meloeiro resistentes a *M. cannonballus*.

O sucesso dos programas de melhoramento genético visando à resistência depende do conhecimento prévio sobre a variabilidade do patógeno, portanto é essencial que este aspecto seja investigado antes da seleção de fonte de resistência no hospedeiro (BRUTON, 1998).

Apesar da importância do colapso do meloeiro a nível mundial, a variabilidade das populações de *M. cannonballus* tem sido pouco estudada. Investigações envolvendo a análise da virulência (MERTLELY, 1993; BRUTON et al., 1999; ANDRADE et al., 2005) e o polimorfismo do dsRNA (LOVIC et al., 1995; CLUCK et al., 2009) constataram a presença de diversidade entre os isolados de *M. cannonballus*. Estudos realizados por Correia et al., (2014) analisando a variabilidade de isolados de *M. cannonballus* oriundos de meloeiro, constataram que existe variabilidade patogênica e fisiológica nas populações de *M. cannonballus* causadoras do colapso do meloeiro nas áreas de plantio dos estados do Ceará e Rio Grande do Norte.

Duas espécies de plantas daninhas, brejo (*Boerhavia diffusa* L.) e pega-pinto (*Trianthema portulacastrum* L.) detectadas como hospedeiras de *M. cannonballus* em áreas produtoras de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro (RODRIGUES, 2013), apresentam um ótimo desenvolvimento na região semiárida, tornando-se plantas de fácil e rápida disseminação, podendo servir como fonte de inóculo deste fungo durante a entressafra. Nascimento et al. (2011), realizando um levantamento das comunidades infestantes em diferentes sistemas de cultivo de milho na região de Mossoró-RN, verificou que a espécie *T. portulacastrum* L. se mostrou frequente em 100% das áreas de plantio convencional de milho, indicando que a região é bastante propícia para a propagação dessa planta, e que a mesma é comumente encontrada em áreas de cultivo de diversas espécies.

Entretanto, são escassas as informações sobre a variabilidade deste patógeno obtido de espécies daninhas, o que eleva a importância de estudar o comportamento de isolados oriundos destas plantas, tendo em vista que estas ocorrem comumente nas áreas produtoras de melão da região nordeste.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo investigar a variabilidade de 18 isolados de *M. cannonballus* oriundos de brejo (*Trianthema portulacastrum* L.), em áreas produtoras de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, com base nas características fisiológicas, severidade da doença e sensibilidade ao fungicida fluazinam.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DADOS GERAIS DOS EXPERIMENTOS

2.1.2 Obtenção dos isolados de *Monosporascus cannonballus*

A escolha da espécie daninha foi feita com base em estudos anteriores, onde esta espécie, brejo, foi relatada como hospedeira alternativa do fungo *Monosporascus cannonballus*, em áreas produtoras de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro (RODRIGUES, 2013).

Foram coletadas 260 plantas de brejo (*Trianthema portulacastrum* L.), assintomáticas, em áreas produtoras de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. Posteriormente as raízes dessas plantas foram levadas ao Laboratório de Fitopatologia II da UFERSA, onde o sistema radicular foi cuidadosamente lavado em água corrente, para eliminar resíduos de solo aderidos e realizado a desinfestação superficial com álcool 70%, por 60 segundos, e imersas em solução de hipoclorito de sódio a 2% durante 60 segundos, após isso foram lavadas em água destilada e esterilizada por três vezes, para retirar o excesso de cloro. Os fragmentos foram colocados em placas de Petri com meio de cultura batata-dextrose-água (BDA), suplementado com estreptomicina (500 ppm). As placas foram mantidas em estufa tipo BOD à temperatura de $27\pm1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, durante 5-7 dias.

Após este período, os pontos que apresentaram crescimento fúngico de *M. cannonballus* tiveram fragmentos de suas colônias repicados para placas de Petri contendo meio BDA, visando à obtenção de culturas puras, para posterior identificação e preservação. Foram obtidos 18 isolados de *M. cannonballus* de brejo de diferentes localidades do Rio Grande do Norte e Ceará (Limoeiro/CE, Assú/RN, Mossoró/RN e Pau Branco/RN), sendo cada isolado oriundo de uma única planta. Todos os isolados foram purificados por meio da técnica de “ponta de hifa”, para a obtenção de culturas puras. A adaptabilidade saprofítica dos isolados foi comparada em relação ao crescimento micelial, produção de peritécios e produção de ascósporos em diferentes temperaturas, níveis de pH, níveis de salinidade, bem como em relação à sensibilidade ao fungicida fluazinam. A adaptabilidade patogênica dos isolados foi comparada em relação à virulência a melão e melancia. Para identificação, foram confeccionadas lâminas para microscopia, contendo as estruturas reprodutivas e de infecção dos fungos, coloridas com azul de algodão em lactofenol, observadas em microscópio óptico e comparadas com as descrições das chaves para identificação de fungos (Barnett & Hunter, 1970; Carmichael et al., 1980; Sutton, 1980; Hanlin, 1990).

2.1.3 Análise do crescimento micelial

Discos de micélio (5 mm de diâmetro) retirados da margem de colônia de cada isolado com 15 dias de crescimento em BDA foram transferidos para o centro de placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo BDA. As placas foram mantidas nas temperaturas de 20, 25, 30 e 35 °C, para o ensaio de diferentes temperaturas. Para o ensaio de pH, o meio BDA foi ajustado para pH , 6 e 8 com a adição de tampão fosfato citrato ou Tris-HCl, e a testemunha consistiu do BDA padrão, pH 5,5. As placas foram mantidas em estufa tipo BOD a 30 °C. Para o ensaio de salinidade o meio BDA foi suplementado com 1, 4 e 8% (peso/volume) de NaCl, respectivamente, a testemunha consistiu em placas contendo BDA sem NaCl, as placas foram mantidas na BOD a 30 °C. Para todos os ensaios foram utilizadas quatro placas (repetições) para cada isolado e tratamento, num delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial. O crescimento das colônias foi mensurado após 24, 48 e 72 horas de incubação, em duas direções perpendiculares. Os dados, subtraídos do tamanho do disco original (5 mm), foram utilizados para calcular o diâmetro da colônia. Os dados de crescimento micelial de cada isolado foram utilizados para calcular a taxa de crescimento micelial (TCM; mm/hora), pela equação $TCM = \frac{DMF - 0,5}{3}$ onde; o DMF=diâmetro final, 0,5= ao diâmetro do disco utilizado e 3 = dias de duração do ensaio (tempo necessário para fungo preencher a placa) (CORREIA et al., 2014).

2.1.4. Análise da produção de peritécios

Para a análise da produção de peritécios em diferentes temperaturas, níveis de salinidade e pH, as placas utilizadas na análise do crescimento micelial nos respectivos ensaios foram mantidas até 45 dias para formação e quantificação dos peritécios. Quatro discos de ágar (12 mm de diâmetro) foram selecionados aleatoriamente e removidos de cada colônia, totalizando 16 discos por tratamento/isolado. Cada disco foi colocado em lâminas de vidro. Sobre os discos foram colocadas lamínulas, que foram pressionadas mecanicamente, visando facilitar a observação e contagem do número de peritécios sob microscópio estereoscópio (lupa). Cada disco consistiu de um volume de 0,395 cm³ e o número de peritécios produzidos (PP) nos diferentes ensaios foram expressos como peritécios por cm³ (CORREIA et al., 2014).

2.1.5 Análise da produção de ascósporos

Para a análise da produção de ascósporos, as placas utilizadas na análise do crescimento micelial (item 2.1.3) nos diferentes ensaios, foram mantidas até 50 dias em estufa tipo BOD,

quando os peritécios foram removidos e transferidos para lâminas de vidro para quantificação dos ascósporos. Dez peritécios foram selecionados aleatoriamente e removidos de cada colônia (placa) e cada conjunto foi considerado um tratamento (40 peritécios por isolado). Cada peritécio foi colocado em lâminas de vidro. Sobre os peritécios foram colocadas lamínulas, que foram pressionadas mecanicamente, visando facilitar a observação e contagem do número de ascósporos produzidos (AP) nos diferentes ensaios. Os ascósporos foram observados sob microscópio com ampliação de 40 ×, e o número de ascósporos foi expresso em ascósporos/peritécio (CORREIA et al., 2014).

2.1.6 Sensibilidade ao fungicida fluazinam

Foi utilizada a formulação comercial do fungicida fluazinam (Frowncide 500 SC, 500 g/L i.a., Syngenta, São Paulo, SP, Brasil). O fungicida foi dissolvido em água esterilizada e adicionado a BDA fundente (45°C) para alcançar a concentração 10µg de i.a./L, a seleção dessa dose foi baseada em estudos anteriores (CORREIA et al., 2014). Discos de micélio (5 mm de diâmetro) retirados da margem de cada colônia de cada isolado com 15 dias de crescimento em BDA foram transferidos para o centro de placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo BDA com o fungicida. Placas contendo BDA sem fungicida foram utilizadas como testemunhas. As placas foram mantidas na temperatura de 30°C, no escuro. Foram utilizadas quatro placas (repetições) para cada isolado, num delineamento experimental inteiramente casualizado. O crescimento da colônia foi mensurado como descrito anteriormente (item 2.1.3). As porcentagens de inibição do crescimento micelial pelo fluazinam (ICMF) foram calculadas para cada isolado, pela fórmula: $ICMF = [(C - F)/C] \times 100$, onde C é o diâmetro da colônia da testemunha (sem fungicida) e F é o diâmetro da colônia para o tratamento com fungicida (CORREIA et al., 2014).

2.1.7 Virulência em meloeiro e melancia

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, no campus da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, localizada no município de Mossoró. Foi avaliada a virulência dos 18 isolados de breo a melão e melancia. A produção do inóculo foi realizada a partir de um meio líquido BD (batata e dextrose) contendo micélios do fungo. A contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) foi feita através do método da contagem em placa (TORTORA, 2006). O inóculo foi padronizado para a concentração de $2,5 \times 10^2$ UFC mL⁻¹. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dezenove tratamentos e quatro repetições. Sendo realizado dois ensaios, um para melão e outro para melancia. Vasos de 200 ml cada, foram cheios com uma mistura de 1:3 de solo e substrato esterilizados, em seguida foi realizada a inoculação, com o auxílio de uma proveta, 8 ml de inóculo foi colocado nos vasos, e

a testemunha foi tratada com 8 ml de água destilada. Posteriormente, sementes de melão (Amarelo-Goldex) e melancia (Crimson Sweet) pré-germinadas em papel germiteste foram colocadas nos vasos.

Após 21 dias, as plântulas foram removidas dos vasos e o sistema radicular de cada planta suavemente lavado em água corrente e avaliado quanto ao comprimento das raízes (CP), peso fresco das raízes (PFR) e severidade da doença, com o auxílio de uma escala de notas de 0 a 4 adaptada de Correia et al., (2014), onde: 0 = nenhuma descoloração ou redução de massa da raiz; 1 = ligeira descoloração, com até 25% de redução da massa da raiz; 2 = descoloração moderada, com até 50% de redução da massa da raiz; 3 = descoloração grave, com até 75% de redução da massa da raiz; 4 = redução da massa da raiz maior que 90%. A quantificação da redução da massa das raízes foi baseada na massa das raízes apresentada pelas plantas da testemunha. Os dados de severidade foram utilizados para calcular o índice de severidade da doença (ISD) em cada repetição pela fórmula de McKinney (MCKINNEY, 1923), onde: $ISD = (\sum vn) / (NV) \times 100$, em que v representa o valor numérico da classe, n é o número de plantas atribuído à classe, N é o número total de plantas na repetição e V é o valor numérico da classe mais alta.



Figura 1. Escala de notas utilizada para a avaliação da virulência de isolados de *M. cannonballus*) 0 = nenhuma descoloração ou redução de massa da raiz; 1 = ligeira descoloração, com até 25% de redução da massa da raiz; 2 = descoloração moderada, com até 50% de redução da massa da raiz; 3 = descoloração grave, com até 75% de redução da massa da raiz; 4 = redução da massa da raiz maior que 90% Adaptada de Correia et al. (2014). Mossoró, RN 2016.

2.1.7 Análises estatísticas

As análises foram conduzidas em duas etapas: inicialmente, foi realizada a análise univariada, considerando cada variável separadamente. Posteriormente os dados foram submetidos à análise multivariada, considerando as variáveis em conjunto. Para a análise univariada, os dados de severidade (SEV) taxa de crescimento micelial (TCM) e inibição do crescimento micelial (ICM) foram transformados em $(x + 0,5)^{1/2}$, enquanto os dados de número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) foram transformados em $\log (x+1)$, e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de agrupamento Scott-Knott ($P=0,05$) com o auxílio do programa Assistat 7.7. As análises de regressão foram feitas com o auxílio do programa MiniTab 17. Na análise multivariada foi empregada a análise de agrupamento pelo método hierárquico de Ward, utilizando como medida de distância, o quadrado da distância euclidiana.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados de *M. cannonballus* oriundos de brejo diferiram em relação à taxa de crescimento micelial (TCM), independentemente da temperatura utilizada (Tabela 1).

Foi constatada variabilidade nos isolados sendo cinco grupos distintos de isolados a 20 °C, quatro a 25 °C, quatro a 30 °C e cinco a 35 °C. Na temperatura de 20 °C, a TCM média foi de 9,64 mm/dia e os valores variaram de 0,67 a 18,58. Valores da TCM maiores que 10 mm/dia foram registrados em 33,33 % dos isolados incubados a 20 °C. Na temperatura de 25 °C, a TCM média foi de 14,08 mm/dia e os valores variaram de 7,50 a 18,33 mm/dia, sendo que 88,88 % dos isolados apresentaram valores da TCM maiores que 10 mm/dia e apenas o isolado MCB-11 mostrou TCM maior que 20 mm/dia. Na temperatura de 30 °C a TCM média foi de 21,74 mm/dia e os valores variaram de 9,37 a 26,96, apresentando 83,33 % dos isolados com TCM maior que 20 mm/dia. Na temperatura de 35 °C a TCM média foi de 20,28 mm/dia e os valores variaram de 0 a 28,33 mm/dia, com 72,22 % dos isolados apresentando uma TCM maior que 20 mm/dia.

Os isolados de *M. cannonballus* analisados apresentaram variabilidade na taxa de crescimento micelial em função das diferentes temperaturas (Figura 2A). A temperatura de 30 °C mostrou-se como sendo a mais adequada para o crescimento micelial dos isolados, enquanto a de 20 °C como a menos adequada. Espera-se que patógenos do sistema radicular em solos tropicais sejam favorecidos por temperaturas mais elevadas (MICHEREFF et al. 2005). Um isolado canadense de *M. cannonballus* obtido de melão quando submetido a diferentes concentrações de nutrientes no meio BDA e a diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C), apresentou independentemente das concentrações de nutrientes, maior taxa de crescimento micelial na temperatura de 30 °C (WAUGH et al., 2003).

Os isolados de brejo analisados, quanto ao crescimento micelial, apresentam a mesma tendência de comportamento que isolados de meloeiro, embora tenham sido extraídos de uma espécie daninha, esta se adapta muito bem ao clima semi-árido assim como o melão, fato que contribui para o crescimento ser favorecido por temperaturas mais altas, decaindo a partir de uma determinada faixa.

Isolados espanhóis de *M. cannonballus* oriundos de melão apresentaram grande variabilidade na taxa de crescimento micelial, entretanto vários paralisaram o crescimento micelial a partir de 37 °C (PANIAGUA, 2000). Correia et al. (2014), realizando estudo com 57 isolados de *M. cannonballus* obtidos de raízes de meloeiro infectadas em campos de produção nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, verificaram grande variabilidade na taxa de crescimento micelial dos isolados, onde a temperatura de 28 °C foi a mais propícia ao crescimento, enquanto a de 38 °C foi a menos adequada.

Tabela 1. Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes temperaturas e sensibilidade ao fungicida fluazinam (ICMF) mensurados para estimar a variabilidade de isolados de *Monosporascus cannonballus*, oriundos de plantas de brejo em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.

Isolado	Localidade	Características fisiológicas												Fluazinam
		¹TCM (mm/dia)				²NP (peritécios/cm³)				³NA (ascósporos/peritécios)				
		20 °C	25 °C	30 °C	35 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C	
MCb – 01	Limoeiro/CE	10,62c	14,12b	24,46ª	22,92b	0,00d	0,00b	0,79b	0,00c	-	0,00b	-	-	32,06a
MCb – 02	Limoeiro/CE	9,42c	16,75b	26,58ª	22,83b	0,00d	0,00b	0,00b	0,00c	-	0,00b	-	-	35,03a
MCb – 03	Limoeiro/CE	6,75c	16,33b	23,96ª	16,21d	0,16d	0,00b	0,00b	0,00c	-	0,00b	-	-	20,48a
MCb – 04	Limoeiro/CE	9,54c	14,96b	22,67ª	25,54a	53,16b	223,10a	452,85a	443,67a	-	0,00b	-	-	17,24a
MCb – 05	Limoeiro/CE	10,75c	12,71c	21,46b	21,58b	28,64b	145,41a	401,42a	329,90b	-	0,00b	-	-	26,22a
MCb – 06	Assú/RN	8,87c	8,50d	19,33b	18,75c	2,85d	0,00b	308,54a	75,63c	-	0,00b	-	-	6,05c
MCb – 07	Assú/RN	7,46c	13,08c	20,17b	19,79c	2,69d	74,05b	277,69a	103,01b	-	0,00b	-	-	8,59b
MCb – 08	Assú/RN	11,71c	16,00b	20,21b	21,71b	0,00d	2,53b	15,51b	85,60b	-	0,00b	-	-	10,16b
MCb – 09	Assú/RN	3,37d	11,04c	15,62c	14,71d	0,79d	1,58b	30,06b	137,03b	-	0,00b	-	-	27,02a
MCb – 10	Assú/RN	8,62c	10,12c	23,37a	26,54a	0,32d	0,00b	280,54a	0,00c	-	0,00b	-	-	33,55a
MCb – 11	Mossoró/RN	18,58a	23,29a	26,96a	20,91b	9,49c	4,27b	25,79b	31,65c	-	0,00b	-	-	5,49c
MCb – 12	Mossoró/RN	9,71c	12,21c	21,29b	23,37b	52,22b	0,00b	36,39b	841,46a	-	0,00b	-	-	7,28c
MCb – 13	Mossoró/RN	8,92c	14,92b	22,75a	21,17b	0,63d	7,44b	2,06b	0,32c	-	0,00b	-	-	4,33c
MCb – 14	Mossoró/RN	15,00b	16,37b	23,54a	20,67b	6,49c	11,71b	0,63b	0,32c	-	0,00b	-	-	13,42b
MCb – 15	Mossoró/RN	14,25b	18,33b	25,00a	22,71b	9,49c	30,06b	2,06b	10,13c	-	0,00b	-	-	4,13c
MCb – 16	PauBranco/RN	9,33c	14,46b	22,91a	28,33ª	77,06b	205,22a	392,72a	72,63b	-	0,00b	-	-	13,01b
MCb – 17	PauBranco/RN	0,67e	7,50d	9,37d	0,00e	0,00d	64,24b	301,11a	0,00c	-	0,00b	-	-	12,50b
MCb – 18	PauBranco/RN	9,96c	12,71c	21,70b	17,41c	232,28a	116,45a	249,52a	36,08c	-	174,57a	-	-	3,03c
Médias		9,64	14,08	21,74	20,28	26,46	49,23	154,32	120,41	-	9,69	-	-	15,53

¹Taxa de crescimento micelial em meio BDA sob incubação à 20, 25 30 e 35°C; ²Número de peritécios produzidos em meio BDA sob incubação à 20, 25, 30 e 35°C; ³Número de ascósporos produzidos em meio BDA sob incubação à 20, 25, 30 e 35°C; ⁴Inibição do crescimento micelial por fluazinam, incubado à 30°C.

Médias originais. Para realização da ANOVA os dados de TCM e ICMF, foram transformados em $(x+0,5)^{0,5}$, enquanto os dados de NP e NA foram transformados em Log (x+1). As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P = 0,05).

Temperaturas mais elevadas aumentam a penetração das hifas nas raízes e são determinantes para ação do colapso do meloeiro. A ocorrência de altas temperaturas no ar e no solo, são fatores limitantes para o desenvolvimento da doença, sendo a temperatura do solo mais crítica para infecção e colonização, aumentando a gravidade do colapso. (PIVONIA et al. 2002; STANGHELLINI et al. 2004).

Houve produção de peritécios em todas as temperaturas estudadas, entretanto, a maioria dos isolados produziram nas temperaturas de 30 °C e 35 °C (Tabela 1). Na temperatura de 20 °C o número médio de peritécios foi de 26,46 peritécios/cm³ e os valores variaram de 0,0 a 232,28 peritécios/cm³, com quatro isolados que não produziram peritécios. Já na de 25 °C o NP médio foi de 49,23 e os valores variaram de 0,0 a 223,10 peritécios/cm³, sendo que seis isolados não produziram peritécios. Na condição de 30 °C a média do NP foi de 154,32 e os valores variaram de 0,0 a 452,85 peritécios/cm³, com dois isolados que não produziram peritécios. Na temperatura de 35 °C a média do NP foi de 120,41 com valores variando entre 0,0 a 841,46 com cinco isolados que não produziram peritécios.

Os resultados indicam que 30 °C é a temperatura mais adequada para a formação de, enquanto a menos propícia é 20 °C (Figura 1B). As observações feitas corroboram com estudos anteriores, onde isolados de melão apresentaram a faixa de temperatura ideal para a formação de peritécios entre 25 °C e 30 °C, sendo 28 °C a temperatura ótima (SIVANESAN, 1991; MARTYN E MILLER, 1996). Um isolado de meloeiro do Canadá apresentou o número máximo de formação de peritécios nas temperaturas de 25 °C e 30 °C, enquanto poucos se formaram a 35 °C e nenhum a 20 °C (WAUGH et al., 2003). Os resultados obtidos confirmam observações feitas por Correia et al. (2014) onde isolados de melão do nordeste brasileiro apresentaram maior formação de peritécios na temperatura de 28 °C que a 22 °C.

Com relação ao número de ascósporos (NA), houve produção apenas na temperatura de 25 °C (Tabela 1). Nesta temperatura apenas um isolado (MCb-18) produziu ascósporos com média de 174,57 ascósporos/peritécios. Isolados de melão do nordeste brasileiro apresentaram maior formação de acósporos na temperatura de 28 °C que a 22 °C (CORREIA et al., 2014). As observações corroboram com estudos anteriores (SIVANESAN, 1991; MARTYN E MILLER, 1996, PIVONIA et al., 2002) onde a faixa de temperatura entre 25 °C e 30 °C foi analisada como a mais propícia para produção de ascósporos. Segundo Correia et al. (2014) a variabilidade entre isolados de *M. cannonballus* com relação a formação de peritécios e produção de ascósporos, indica diferenças no potencial destrutivo dos isolados.

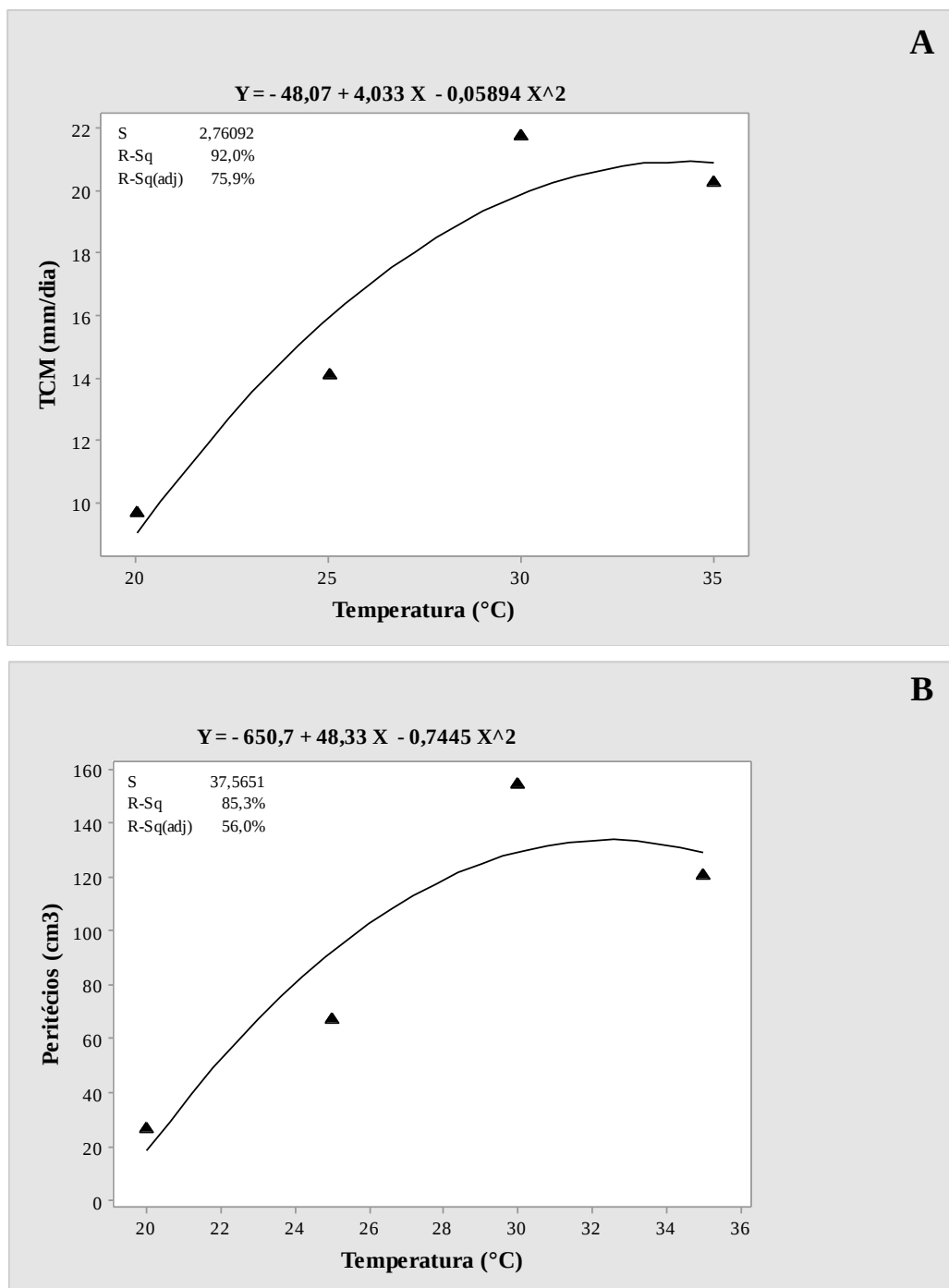


Figura 2. Taxa de crescimento micelial (2A), e número de peritécios (2B) dos isolados de *M. cannonballus* oriundos de brejo em função de diferentes temperaturas.

A maioria dos isolados apresentaram baixa sensibilidade ao fungicida fluazinam quando submetidos a 10µg de i.a./L (Tabela 1). A média da inibição do crescimento micelial por fluazinam (ICMF) foi de 15,53 %, e os valores variaram entre 3,03 a 35,03 % sendo que a maioria dos isolados, 66,66 % apresentaram níveis de ICMF entre 3,04 e 17,24 % e 33,33 % dos isolados entre 20,48 e 35,03%. A baixa sensibilidade dos isolados ao fungicida fluazinam divergem das observações encontradas por Correia et al. (2014), onde isolados de *M. cannonballus* obtidos de raízes de meloeiro em campos de produção no RN e CE apresentaram

alta sensibilidade ao fluazinam. Portanto, mesmo sabendo que esse fungicida não tem sido utilizado especificamente para controle do colapso do meloeiro nas áreas estudadas, o que faria esperar uma alta sensibilidade desses isolados, já que os mesmos não sofreram pressão de seleção exercida pela aplicação sucessiva de um mesmo ingrediente ativo, o que observou-se foi o contrário, uma baixa sensibilidade, que leva a pressupor que esses isolados obtidos de uma espécie daninha apresentam grande variabilidade e capacidade adaptativa para conseguirem sobreviver em espécies de plantas com características rústicas, como é o brejo.

Os isolados de *M. cannonballus* diferiram em relação à taxa de crescimento micelial (TCM), independentemente dos níveis de salinidade utilizados (Tabela 2). Foi constatada a formação de dois grupos distintos de isolados no nível de 0%, três no nível de 1%, cinco no nível de 4% e quatro no nível de 8%. Todos os isolados apresentaram crescimento micelial em todos os níveis de salinidade, com exceção do isolado MCB- 17 que não cresceu ao nível de 4 %.

No nível de salinidade de 0%, a TCM média foi de 20,32 mm/dia e os valores variaram de 5,56 a 28,3 mm/dia, sendo que 66,66% dos isolados apresentaram valores da TCM maiores que 20 mm/dia. No nível de 1% de salinidade, a TCM média foi de 21,83 mm/dia e os valores variaram de 3,89 a 28,33 mm/dia, com 66,66% dos isolados apresentando valores da TCM maiores que 20 mm/dia. No nível de 4% de salinidade, a TCM média foi de 17,79 mm/dia e os valores variaram de 0,0 a 23,61 mm/dia, sendo que 55,55% dos isolados apresentaram valores da TCM maiores que 20 mm/dia e apenas três isolados, MCB-11, MCB-13 e MCB-15, apresentaram valores de TCM maiores que 23 mm/dia. No nível de 8% de salinidade, a média da TCM foi de 7,07 mm/dia e os valores variaram de 1,11 a 10,32, com 83,33% dos isolados apresentando valores da TCM até 10 mm/dia e apenas três isolados, MCB-10, MCB-14 e MCB-15, apresentaram valores maiores que 10 mm/dia.

Foi observada variabilidade entre os isolados de *M. cannonballus* analisados em função dos diferentes níveis de salinidade (Figura 3A). Os níveis 0 e 1% de salinidade mostraram-se como os mais propícios para o crescimento micelial dos isolados, enquanto o nível 8% como o menos adequado, porém houve crescimento micelial em todos os níveis. Estudos anteriores demonstram que o teor de salinidade que *M. cannonballus* tolera é de 8 a 10% dessas soluções, seja causado por cloreto de sódio ou cloreto de potássio, quando avaliado “in vitro” (MARTYN E MILLER, 1996).

Os isolados de brejo apresentam essa mesma tolerância relatada pelos autores anteriores, obtendo crescimento micelial em todos os níveis analisados, embora haja um decréscimo à medida que se aumentam as doses de NaCl. O agropólo RN-CE é responsável por quase toda a produção nacional de melão, e para atender toda a demanda de mercado interno e externo, as fontes de recursos hídricos de boa qualidade estão ficando escassas e obrigando o

uso de fontes de água de qualidade inferior, que segundo Medeiros et al. (2003) é de origem calcária e tem salinidade média de $1,64 \text{ dS m}^{-1}$. Entretanto as culturas quando irrigadas com água salina podem provocar a salinização do solo. O fato desses isolados continuarem crescendo a um nível de até 8 % de NaCl demonstram a adaptação as condições locais, favorecendo a manutenção da doença na região.

Tabela 2. Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes níveis de salinidade, mensuradas para estimar a variabilidade de isolados de *Monosporascus cannonballus*, oriundos de plantas de brejo em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.

Isolado	Localidade	Características fisiológicas											
		¹ TCM 0%	TCM 1%	TCM 4%	TCM 8%	² NP 0%	NP 1%	NP 4%	NP 8%	³ NA 0%	NA 1%	NA 4%	NA 8%
			(mm/dia)				(peritécios cm ⁻³)				(ascósporos/peritécios)		
MCb – 01	Limoeiro/CE	22,67a	24,28a	12,56c	3,22c	0,00b	0,00b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 02	Limoeiro/CE	24,06a	22,94a	10,06c	3,11c	0,00b	0,00b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 03	Limoeiro/CE	21,06a	16,11b	5,83d	1,11d	0,00b	0,00b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 04	Limoeiro/CE	24,22a	17,94b	18,72b	6,39b	121,31a	1,27b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 05	Limoeiro/CE	5,56b	23,28a	18,50b	7,00b	31,22a	0,63b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 06	Assú/RN	27,00a	19,28b	20,83a	7,33b	13,29b	0,00b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 07	Assú/RN	28,33a	22,22b	21,06a	8,61a	0,00b	0,00b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 08	Assú/RN	14,00b	20,61b	21,83a	8,78a	194,94a	0,21b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 09	Assú/RN	21,44a	19,89b	22,06a	7,72b	3,38b	4,85b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 10	Assú/RN	28,33a	28,06a	20,83a	10,00a	33,76a	0,00b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 11	Mossoró/RN	16,89a	28,33a	23,17a	8,83a	0,00b	6,54b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 12	Mossoró/RN	19,28a	21,00b	20,00b	9,89a	41,14a	0,00b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 13	Mossoró/RN	10,78b	18,44b	23,61a	9,56a	12,66b	0,42b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 14	Mossoró/RN	21,78a	28,33a	22,17a	10,33a	22,36a	3,16b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 15	Mossoró/RN	24,72a	28,33a	23,56a	10,72a	0,00b	8,86b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 16	PauBranco/RN	24,67a	25,83a	16,39b	6,89b	0,21b	97,47a	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 17	PauBranco/RN	6,00b	3,89c	0,00e	1,22d	65,61a	48,31b	-	-	0,00b	-	-	-
MCb – 18	PauBranco/RN	24,94a	24,22a	19,11b	6,50b	145,99a	69,20a	-	-	179,95a	-	-	-
Médias		20,32	21,83	17,79	7,07	38,10	13,38	-	-	9,99	-	-	-

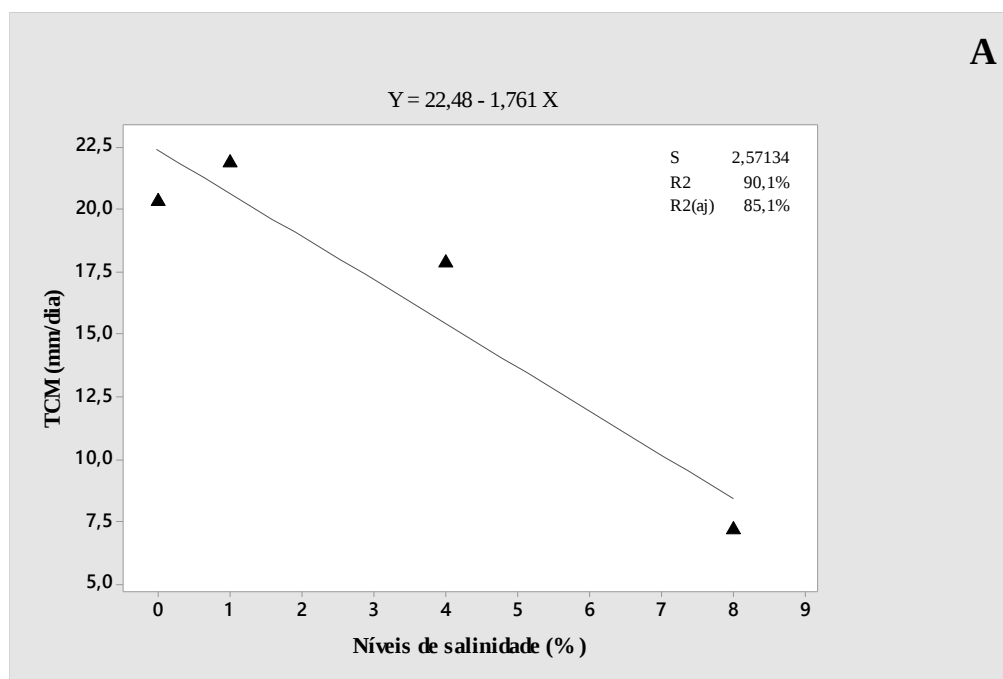
¹Taxa de crescimento micelial em meio BDA sob os níveis de 0, 1, 4 e 8% de salinidade; ²Número de peritécios produzidos em meio BDA sob os níveis de 0, 1, 4 e 8% de salinidade;

³Número de ascósporos produzidos em meio BDA sob os níveis de 0, 1, 4 e 8% de salinidade.

Médias originais. Para realização da ANOVA os dados de TCM e ICMF, foram transformados em $(x+0,5)^{0,5}$, enquanto os dados de NP e NA foram transformados em $\text{Log}(x+1)$. As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P = 0,05$).

Houve produção de peritécios apenas nos níveis de 0% e 1%. (Tabela 2). No nível de 0 % o NP médio foi de 38,10 peritécios/cm³ e os valores variaram de 0,0 a 194,94 peritécios/ cm³, sendo que seis isolados não produziram peritécios. Neste nível 44,44% dos isolados produziram até 50 peritécios/cm³, e três isolados, produziram mais que 100 peritécios/cm³. No nível de 1% de salinidade o NP médio foi de 13,38 % e os valores variaram de 0,0 a 97,47 peritécios/cm³, com sete isolados, 38,88%, que não produziram peritécios. Ao nível de 1% 44,44% dos isolados produziram até 10 peritécios/cm³, e apenas três isolados (MCb-16, MCb-17 e MCb-18) produziram entre 40 a 100 peritécios/ cm³.

Os resultados indicam que a condição ideal para produção de peritécios é ao nível de 0% de salinidade, havendo uma produção bem reduzida ao nível de 1% e nenhuma produção a 4 e 8% (Figura 2B). Apesar de existirem poucos estudos, sabe-se que ambientes salinos constituem um meio desfavorável para a microbiota, assim como para a maioria das plantas. Os fungos são os microrganismos mais sensíveis, enquanto as bactérias têm sensibilidade variável (STAMFORD et al., 2005).



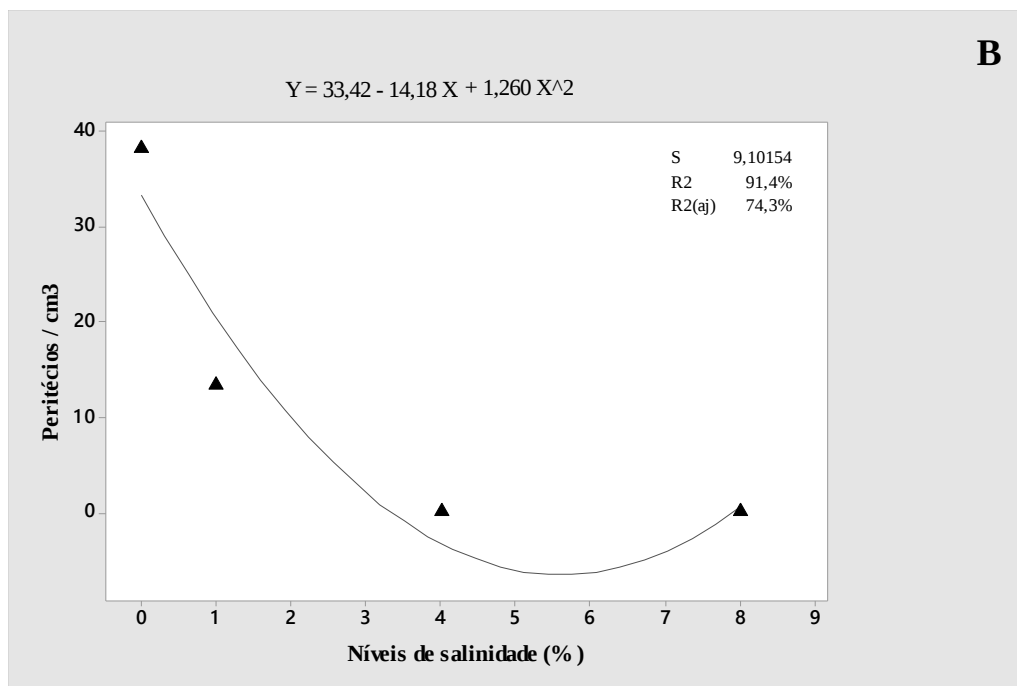


Figura 3. Taxa de crescimento micelial (3A), e número de peritécios (3B) dos isolados de *M. cannonballus* oriundos de breo em função de diferentes níveis de salinidade.

Em relação ao número de ascósporos (NA) houve produção apenas no nível de 0% (Tabela 2). Neste nível apenas um isolado (MCb-18) produziu ascósporos com média de 9,99. Os isolados do presente estudo tiveram o seu potencial reprodutivo afetado, apesar de apresentarem crescimento micelial em todos os níveis de salinidade, não produziram peritécios nem ascósporos em teores de NaCl maiores que 1%. O potencial reprodutivo de *M. cannonballus* é um aspecto significativo a ser considerado no manejo da doença (WAUGH et al., 2003). A variação entre isolados de acordo com estes componentes de reprodução, como observado neste estudo, indica a diferença no potencial competitivo dos isolados.

Os isolados de *M. cannonballus* diferiram em relação à taxa de crescimento micelial (TCM), independentemente dos níveis de pH utilizados (Tabela 3). Foi constatada a formação de dois grupos distintos de isolados nos níveis de 5,5, 6 e 8. Todos os isolados apresentaram crescimento micelial independentemente dos níveis de pH. No nível de pH 5,5, a TCM média foi de 12,38 e os valores variaram de 4,94 a 20,00 mm/dia, sendo que 38,88% dos isolados apresentaram valores da TCM até 10,0 mm/dia, e 61,61% dos isolados mostraram valores entre 10,0 e 20,0 mm/dia. No nível de pH 6,0 a TCM média foi de 11,91 mm/dia e os valores variaram de 5,39 a 18,78 mm/dia, com 27,77 % dos isolados apresentando valores da TCM até 10,0 mm/dia, e 72,22 % com valores entre 10,0 e 20,0 mm/dia. No nível de pH 8,0 a TCM média foi de 8,58 e os valores variaram de 0,28 a 16,17, com 66,66% dos isolados apresentando valores da TCM até 10,0 mm/dia e apenas um isolado (MCb-15) apresentou valor da TCM maior que 15,0 mm/dia.

Tabela 3. Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes níveis de pH, mensuradas para estimar a variabilidade de isolados de *Monosporascus cannonballus*, oriundos de plantas de brejo em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.

Isolado	Localidade	Características fisiológicas								
		¹ TCM 5,5	TCM 6	TCM 8	² NP 5,5	NP 6	NP 8	³ NA 5,5	NA 6	NA 8
		(mm/d)			(ascósporos/peritécios)			(%)		
MCp-01	Limoeiro/CE	11,89a	11,89a	12,61a	0,79c	27,37b	0,00b	-	-	-
MCp-02	Limoeiro/CE	15,06a	9,61b	10,17a	0,00c	12,97b	0,00b	-	-	-
MCp-03	Limoeiro/CE	16,28a	13,44a	8,72a	0,00c	0,00b	0,00b	-	-	-
MCp-04	Limoeiro/CE	14,56a	14,83a	6,89b	447,94a	559,81a	5.54b	-	-	-
MCp-05	Limoeiro/CE	12,06a	13,00a	6,11b	353,01a	453,01a	2.53b	-	-	-
MCp-06	Assú/RN	6,50b	7,94b	0,78b	226,42a	357,91a	0,00b	-	-	-
MCp-07	Assú/RN	6,22b	5,39b	0,28b	174,21b	329,90a	0,00b	-	-	-
MCp-08	Assú/RN	7,44b	6,11b	3,50b	12,02c	38,45b	1.42b	-	-	-
MCp-09	Assú/RN	16,78a	15,06a	13,28a	38,92b	41,77b	16.45a	-	-	-
MCp-10	Assú/RN	14,56a	10,50a	9,83a	162,34b	315,82a	0,00b	-	-	-
MCp-11	Mossoró/RN	9,56b	13,17a	10,61a	28,16c	31,96b	1.58b	-	-	-
MCp-12	Mossoró/RN	16,33a	13,94a	8,78a	46,20b	49,84b	0.15b	-	-	-
MCp-13	Mossoró/RN	7,67b	17,22a	12,33a	3,64c	6,17b	1,58b	-	-	-
MCp-14	Mossoró/RN	17,28a	10,94a	9,39a	9,65c	1,42b	0,00b	-	-	-
MCp-15	Mossoró/RN	15,83a	18,78a	16,17a	4,43c	5,54b	0,00b	-	-	-
MCp-16	PauBranco/RN	9,89b	11,72a	7,61b	364,71a	452,68a	0,00b	-	-	-
MCp-17	PauBranco/RN	4,94b	11,67a	8,00a	299,84a	359,18a	0,00b	-	-	-
MCp-18	PauBranco/RN	20,00a	9,17b	9,39a	226,26a	300,32a	0.32b	-	-	-
Médias		12,38	11,91	8,58	133,25	185,78	1,643	-	-	-

¹Taxa de crescimento micelial em meio BDA sob os níveis de pH de 5,5, 6 e 8; ²Número de peritécios produzidos em meio BDA sob os níveis de pH de 5, 6 e 8; ³Número de ascósporos produzidos em meio BDA sob os níveis de pH de 5, 6 e 8.

Médias originais. Para realização da ANOVA os dados de TCM e ICMF, foram transformados em $(x+0,5)^{0,5}$, enquanto os dados de NP e NA foram transformados em Log $(x+1)$. As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P = 0,05).

Foi observada variabilidade entre os isolados de *M. cannonballus* analisados em função dos diferentes níveis de pH (Tabela 3). Os níveis de 5,5 e 6,0 mostraram-se como os mais adequados para o crescimento micelial, enquanto o nível de 8 como o menos propício, porém houve crescimento micelial em todos os níveis. A faixa de pH que permite um melhor crescimento de *M. cannonballus* quando analisado “in vitro” foi entre 6 e 7, podendo crescer até um pH igual à 9 (MARTYN e MILLER, 1996), sendo seu crescimento inibido com valores de pH inferiores à 4. Entretanto, Andrade et al. (2005) analisando a relação entre frequência de isolamentos de *M. cannonballus* em raízes com sintomas de colapso coletadas em áreas produtoras de meloeiro no Rio Grande do Norte e Ceará com o pH do solo, não encontraram correlação significativa. Medeiros et al., (2006) avaliando a influência de características químicas e físicas do solo sobre a densidade populacional de ascósporos de *M. cannonballus*, observou que algumas características dos solos tais como pH, teores de P disponível, Al, Ca e Mg trocáveis, densidade aparente, densidade real e porosidade possuíam relação com a densidade populacional de *M. cannonballus*, ainda que com pequenos índices de correlação que foram: -0,25; -0,34; 0,41; -0,39; -0,34; 0,41; 0,38 e -0,40, respectivamente.

Houve produção de peritécios em todos os níveis de pH, 5,5, 6,0 e 8,0 (Tabela 3). No nível de 5,5 o NP médio foi de 133,25 peritécios/cm³ e os valores variaram de 0,0 a 447,94

peritécios/cm³, sendo que dois isolados não produziram peritécios. Nesse nível 44,44% dos isolados produziram até 50 peritécios/cm³, e três isolados produziram mais que 300 peritécios/cm³. No nível de pH 6,0 o NP médio foi de 185,78 e os valores variaram de 0,0 a 559,81 peritécios/cm³, com um isolado que não produziu peritécios. Nesse nível 50,00% dos isolados produziram até 50 peritécios/cm³ e 44,44% produziram mais que 300 peritécios/cm³. No nível de pH 8,0, o NP médio foi de 1,64 peritécios/cm³, e os valores variaram de 0,0 a 16,45 peritécios/cm³, com 10 isolados que não produziram peritécios. Neste nível 38,88% dos isolados produziram até 10 peritécios/cm³ e apenas um isolado (MCb- 09) e produziu mais que 10 peritécios/cm³.

Em relação ao NA não houve produção em nenhum nível de pH (Tabela 3). Os resultados indicam que o nível de pH 6,0 foi o mais propício para a produção de peritécios, confirmando as observações feitas por Martyn e Miller, (1996) onde a faixa de pH que permitiu melhor crescimento de *M. cannonballus* quando analisado “in vitro” foi entre 6 e 7. Os resultados observados para a taxa de crescimento micelial, produção de peritécios e número de ascósporos por isolados de *M. cannonballus* a diferentes temperaturas, diferentes níveis de salinidade e diferentes níveis de pH confirmam a observação de que a aptidão de um indivíduo ou classe de fenótipos são influenciados não apenas pelos atributos genéticos destes indivíduos, mas também pelo ambiente no qual eles foram encontrados (ANTONOVICS & ALEXANDRE, 1989).

Todos os isolados de *M. cannonballus* foram patogênicos a melão (Tabela 4). Houve diferenças entre os isolados quanto ao índice de severidade da doença (ISD), com um valor médio de 56,25%. Usando o teste de agrupamento de Scott-Knott, foi possível distinguir dois grupos de isolados com base no ISD. Valores do índice de severidade da doença (ISD), entre 50 e 100 %, foram apresentados por 50 % dos isolados, enquanto 33,33% dos isolados mostraram ISD abaixo de 40%. Com relação ao comprimento de raiz (CR), houve a formação de quatro grupos distintos. Observou-se diferença entre os isolados para essa variável, com valores variando entre 3,40 cm e 17,90 cm e um valor médio de 10,82 cm. Valores de CR maiores que 10 cm foram encontrados em 66,66 % dos isolados e apenas três isolados apresentaram valores menores que 8 cm.

Foi verificada diferença entre os isolados quanto ao peso de raiz (PR), com um valor médio de 0,24g. Observou-se a formação de quatro grupos distintos, e os valores de PR variaram de 0,04 a 0,52 g. Valores de CR maiores do que 0,20 g foram registrados em 50 % dos isolados, enquanto 33,33% dos isolados mostraram valores menores que 0,10 g.

Diferentes isolados de uma mesma área foram classificados em grupos distintos com relação ao ISD (Tabela 4). Valores do ISD maiores do que 90% foram registrados em três isolados, MCb-01, MCb-08, MCb-09, pertencentes a duas localidades diferentes. Estes isolados

Tabela 4. Patogenicidade de isolados de *Monosporascus cannonballus* oriundos de plantas de brejo em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, baseada no índice de severidade da doença (ISD), comprimento de raiz (CR) e peso fresco de raiz (PFR).

Isolado	Localidade	Melão			Melancia		
		ISD (%)	CR (cm)	PFR (g)	ISD (%)	CR (cm)	PFR (g)
Testemunha		0,00b	14,20b	0,63a	00,00c	15,00a	0,67a
MCp-01	Limoeiro/CE	100,00a	3,40e	0,04d	93,75a	9,66b	0,09d
MCp-02	Limoeiro/CE	25,00b	13,12c	0,44b	75,00a	5,66b	0,33c
MCp-03	Limoeiro/CE	81,25a	8,71d	0,07d	75,00a	10,55b	0,36c
MCp-04	Limoeiro/CE	56,25a	9,33d	0,09d	75,00a	9,57b	0,35c
MCp-05	Limoeiro/CE	43,75b	11,43c	0,28c	62,50a	10,06b	0,42b
MCp-06	Assú/RN	18,75b	11,20c	0,49a	87,50a	11,90b	0,26c
MCp-07	Assú/RN	62,50a	11,33c	0,44b	75,00a	9,50b	0,47b
MCp-08	Assú/RN	93,75a	6,80d	0,04d	81,25a	10,10b	0,13d
MCp-09	Assú/RN	100,00a	3,50e	0,04d	93,75a	10,45b	0,31c
MCp-10	Assú/RN	87,50a	11,01c	0,07d	81,25a	15,50a	0,45b
MCp-11	Mossoró/RN	25,00b	17,16a	0,52a	68,75a	10,60b	0,36c
MCp-12	Mossoró/RN	31,25b	13,12c	0,29c	68,75a	11,15b	0,31c
MCp-13	Mossoró/RN	68,75a	10,50c	0,09d	37,50b	13,00a	0,64a
MCp-14	Mossoró/RN	43,75b	11,66c	0,18c	43,75b	10,55b	0,41b
MCp-15	Mossoró/RN	37,50b	14,33b	0,42b	93,75a	10,85b	0,19d
MCp-16	PauBranco/RN	62,50a	11,60c	0,23c	62,50a	11,90b	0,19d
MCp-17	PauBranco/RN	31,25b	17,90a	0,37b	31,25b	9,80b	0,52b
MCp-18	PauBranco/RN	43,75b	8,80d	0,25c	56,25b	9,20b	0,42b
Médias		56,25	10,82	0,24	70,13	10,55	0,35
Testemunha		0,00b	14,20b	0,63a	00,00c	15,00a	0,67a

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P = 0,05).

apresentaram também menores valores de peso fresco da raiz e de comprimento, indicando a ação do patógeno na alteração da biomassa das raízes. A infecção causada por *M. cannonballus* começa nas raízes, onde se observam necrose e apodrecimento, tanto na zona da raiz como no colo da planta (MARTYN e MILLER, 1996). Com o avanço da infecção, ocorre um escurecimento nos tecidos das raízes primárias e, posteriormente, das secundárias (MERTELY et al., 1993). Também se observa o reflexo deste apodrecimento e perda da funcionalidade radicular.

Valores do ISD menores ou iguais a 25 % foram obtidos por três isolados, MCb-02, MCb-06 e MCb-11, pertencentes a três localidades diferentes. Estes isolados apresentaram em sua maioria maiores valores de peso fresco da raiz e de comprimento, indicando que isolados menos severos provocam menores danos na biomassa das raízes, entretanto isso não ocorre para todos. 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 à emissão pela planta infectada de novas raízes e brotos, que acabam influenciando as medidas obtidas por essas variáveis (BOX, 1996).

Todos os isolados de *M. cannonballus* foram patogênicos a melancia. (Tabela 4). Houve diferenças entre os isolados quanto ao índice de severidade da doença (ISD), com um valor médio de 70,13%. Usando o teste de agrupamento de Scott-Knott, foi possível distinguir dois

grupos de isolados com base no ISD. Valores do índice de severidade da doença (ISD), entre 50 e 90 %, foram registrados por 77,77 % dos isolados, com apenas um isolado MCB-01 apresentando valor de ISD maior que 90 %. Com relação ao comprimento de raiz (CR), houve diferenças entre os isolados para esta variável, com valores variando entre 5,66 cm e 15,50 cm e um valor médio de 10,55 cm. Foi verificada a formação de dois grupos distintos. Valores de CR entre 10 e 15 cm, foram encontrados em 66,66 % dos isolados, e apenas um isolado, MCB-02, registrou valor inferior a 6 cm.

Foi observada diferença entre os isolados quanto ao peso de raiz (PR), com um valor médio de 0,35 g. Verificou-se a formação de quatro grupos distintos, e os valores de PR variaram de 0,09 a 0,64 g. Valores de CR maiores do que 0,30 g foram registrados em 72,22 % dos isolados, e apenas um isolado apresentou valor menor que 0,10 g.

Diferentes isolados de uma mesma área foram classificados em grupos distintos com relação ao ISD em melancia (Tabela 4). Valores do ISD maiores do que 90% foram registrados em três isolados, MCB-01, MCB-09 e MCB-15 pertencentes a três localidades diferentes. Esses isolados não apresentaram, como para melão, a sua maioria com menores valores de peso e comprimento da raiz, confirmando as observações feitas por Box, (1996), onde as variáveis de biomassa e volume de raízes não conseguem refletir exatamente a diferença entre os tratamentos quando se trabalha com doenças radiculares, devido a emissão pela planta afetada de novos brotos, que acabam alterando as medidas das variáveis.

Dois isolados apresentaram valores do ISD menores que 40 %. O isolado MCB-13 com um valor de ISD de 37,50% e o isolado MCB-17 com 31,25%, pertencentes a duas localidades diferentes. Esses isolados registraram maiores valores de peso fresco de raiz e de comprimento, confirmando a baixa patogenicidade. A infecção causada por *M. cannonballus* começa nas raízes, onde se observam necrose e apodrecimento, tanto na zona da raiz como no colo da planta, seguido de perda de massa radicular (MARTYN e MILLER, 1996). Entretanto registros de altos valores de comprimento de raiz e peso de raiz, associados a um baixo ISD confirmam a pouca virulência dos isolados citados acima.

O número de agrupamentos de isolados obtidos pela análise de Scott-Knott variou conforme a variável considerada (Tabela 4). 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 (BRUTON, 1999; BRUTON, 2000; Mertely, 1991; Mertely, 1993).

De acordo com Bruton (1996) e Martyn e Miller, (1996) há uma variação considerável na virulência em isolados de *M. cannonballus* que vão desde fracamente virulento a altamente virulento. Esta variação pode ser devida ao caráter genético dos isolados. Fato também

comprovado por Bezerra et al. 2013, que avaliando estruturas populacionais de *M. cannonballus* em meloeiros do nordeste brasileiro verificou uma diversidade genética do patógeno.

A diferença na severidade entre isolados de *M. cannonballus* em relação a infecção de diferentes espécies, pode ser reflexo da variabilidade genética existente entre eles, o que confere a cada um, um grau específico de virulência. Este fator, já foi relatado por Andrade et al. (2005) o qual classificou isolados de *M. cannonballus* obtidos de áreas de meloeiro dos estados do RN e CE em três grupos distintos, de acordo a severidade da doença. Correia et al. 2014 realizando estudo sobre teste de virulência em mudas de meloeiro com isolado de *Monosporascus* agruparam os isolados do fungo em diferentes grupos de virulência.

Segundo Bruton (1998) a resposta de plantas de cucurbitácea a doenças incitadas por patógenos radiculares pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento da planta, nível e tipo de resistência envolvida, densidade do inóculo do patógeno no solo, variabilidade do patógeno e condições ambientais. 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 resistente.

Considerando a resistência de plantas como um fator crítico no manejo do colapso do meloeiro (BRUTON, 1999; BRUTON, 2000) 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* obtidos de espécies daninhas como verificada 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.

Utilizando o conjunto das variáveis analisadas, a análise multivariada da distância quadrada euclidiana por ligações de Ward permitiu a separação dos isolados de *M. cannonballus* de brejo em quatro grupos de similaridade quando considerado um nível dissimilaridade de 70% entre grupos (Figura 4).

O grupo 1 apresenta seis isolados pertencentes a duas localidades diferentes. O grupo 2 possui oito isolados oriundos de quatro localidades diferentes. O grupo 3 apresenta dois isolados pertencentes a uma mesma localidade. O grupo foi composto por apenas um isolado. Essas observações permitem inferir que a distribuição dos isolados de *M. cannonballus* de uma mesma área em diferentes grupos de similaridade, tanto na análise univariada quanto na multivariada, indica a ocorrência de alta variabilidade entre os isolados de uma mesma área.

Os resultados obtidos são semelhantes aos encontrados em estudos anteriores envolvendo a avaliação da virulência para isolados de melão (BRUTON et al., 2000; ANDRADE et al., 2005; CORREIA et al., 2014). A ocorrência dessa alta variabilidade nos

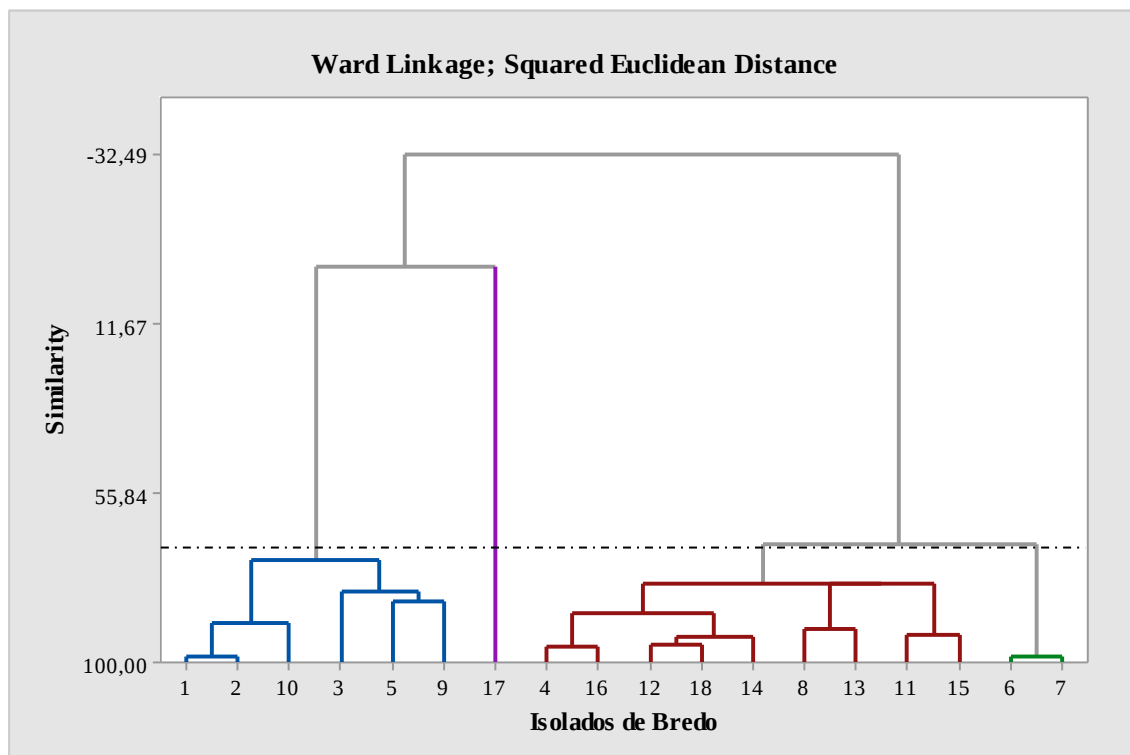


Figura 4. Agrupamento geral de 18 isolados de *Monosporascus cannonballus* oriundos de bredos obtidos em diferentes áreas de cultivo de melão dos estados do Rio Grande Norte e Ceará, baseado na análise do quadrado da distância Euclidiana pela ligação de Ward, considerando as características fisiológicas e a sensibilidade ao fungicida fluazinam.

isolados de bredos é algo que deve ser mais bem estudado, tendo em vista que esta espécie daninha ocorre comumente em alta frequência durante a entressafra do meloeiro na região, fato que leva a um maior cuidado no manejo de controle desta espécie, já que a mesma pode estar servindo como fonte de sobrevivência e manutenção do patógeno nas áreas produtoras de melão.

4 CONCLUSÕES

1. Existe variabilidade fisiológica nas populações de *Monosporascus cannonballus* oriundas de brejo (*Trianthema portulacastrum* L.), em áreas produtoras de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.
2. Todos os isolados de *M. cannonballus* foram sensíveis ao fluazinam.
3. Existe variabilidade patogênica entre isolados de *M. cannonballus* oriundos de brejo, tanto em uma mesma área como em áreas diferentes.

5 REFERÊNCIAS

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

ANTONOVICS, J., ALEXANDER, H.M. The concept of fitness in plant fungal pathogen systems. In: LEONARD, K.J., FRY, W.E. (Eds.) **Plant disease epidemiology**. New York, NY, USA. McGraw-Hill. pp. 185-214, 1989.

ARMENGOL, J., SANZ, E., MARTÍNEZ-FERRER, G., SALES, R., BRUTON, B.D. & GARCÍA-JIMÉNEZ, J. Host range of *Acremonium cucurbitacearum*, cause of *Acremonium* collapse of muskmelon. **Plant Pathology**, v. 47, p. 29-35. 1998.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3.ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1970.

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

BOX, J. **Modern methods for root investigations**. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.) *Plant roots*. New York: Marcel Dekker, p.193-237, 1996.

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

BRUTON, B.D., GARCIA-JIMENEZ, J., ARMENGOL, J., POPHAM, T.W. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. **Plant Disease**, Saint Paul 84:907-913, 2000.

BRUTON, B.D.; GARCÍA JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J. Análisis of the relationship between temperatura and vine declines caused by *Acremonium cucurbitacearum* and

Monosporascus cannonballus on muskmelon. **Subtropical Plant Science**, v. 51, p. 23-28. 1999.

CARMICHAEL, J.; KENDRICK, K. B.; CONNERS, I.L.; SIGLER, L. **Genera of Hyphomycetes**. Alberta: The University of Alberta Press, 1980.

CHILOSI, G., REDA, R., ALEANDRI, M.P., CAMELE, I., ALTIERI, L., MONTUSCHI, C., LANGUASCO, L., ROSSI, V., AGOSTEO, G.E., MACRO, C., CARLUCCI, A., LOPS, F., MUCCI, M., RAIMONDO, M.L., FRISILO, S. Fungi associated with root rot collapse of melon in Italy. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, 38:147-154, 2009.

CELIN EF; PASTORI PL; NUNES GHS; ARAGÃO FAS. 2014. Agronegócio brasileiro do melão na última década. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 53. **Horticultura brasileira**, v. 31, n. 2, (Suplemento-CD Rom), julho, 2014.

CLUCK, T.W., BILES CL, DUGGAN, M., JACKSON, T., CARSON, K., ARMENGOL, J., GARCIA-JIMENEZ, J., BRUTON, B.D., Association of dsRNA to downregulation of perithecial synthesis in *Monosporascus cannonballus*. **The Open Mycology Journal**, 3:9-19, 2009.

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

COHEN, R.; PIVONIA, S.; SHTIENBERG, D.; EDELSTEIN, M.; RAZ, D.; GERSTIL, Z.; KATAN, J. Efficacy of fluazinam in suppression of *Monosporascus cannonballus*, the causal agent of sudden wilt of melons. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, n. 12, p. 1137-1141, 1999.

CORREIA, K. C.; SILVA, E. K. C.; CAMARA, M. P. S.; SALES JUNIOR, R.; MIZUBUTI, E. S. G.; ARMENGOL, J.; JIMENEZ, J. G.; MICHEREFF, S. J . Fitness components of *Monosporascus cannonballus* isolates from northeastern Brazilian melon fields. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 03, p. 217-223, 2014.

EDELSTEIN, M., COHEN, R., BURGER, Y., SHIBER, 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**, Saint Paul 83:1142-1145, 1999.

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

GARCÍA-JIMÉNEZ, J., VELÁZQUEZ, M.T., JORDÁ, C. & ALFARO-GARCÍA, A. *Acremonium* species as the causal agent of muskmelon collapse in Spain. **Plant Disease**, Saint Paul v. 78, p. 416- 419. 1994a.

GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J.; SALES JÚNIOR, R.; JORDÁ, C.; BRUTON, B. D. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 30, n. 14, p.169-173, 2000.

HANLIN, R. T. Illustrate genera of Ascomycetes. 2.ed. **The American Phytopathological Society**, Saint Paul, 324 p. 1990.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola municipal**: Culturas temporárias e permanentes. 2015. 99p.

LOVIC, B. R., VALADEZ, V. A., MARTYN, R.D. MILLER, M.E. Preliminary analyses of dsRNA length polymorphism in clonal, root, and field populations of . In: Lester, G., DUNPLAN, J., et al. (Ed). **Cucurbitaceae 94**, pp. 201-203. Gateway, College Station, USA, 1995.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Agrofit: sistema de agrotóxicos fitossanitários**. < http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> 2016.

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.

MEDEIROS, J. F. et al. Caracterização das águas subterrâneas usadas para irrigação na área produtora de melão da Chapada do Apodi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 3, p. 469-472, 2003.

MEDEIROS, E.V.; SALES JÚNIOR, R., MICHEREFF, S. J. & BARBOSA, M. R. Quantificação de Ascósporos de *Monosporascus cannonballus* em Solos não cultivados de Caatinga e em áreas de cultivo de Melão do Rio Grande do Norte e Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 31(5), set - out 2006.

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

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**, Saint Paul, v. 77, n. 1, p. 766- 771, 1993a.

MICHEREFF, S. J., DOMINGOS E. G. T., ANDRADE, M. M. – **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais** / eds. Recife : UFRPE, Imprensa Universitária, 398 p. 2005.

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

PANIAGUA, A.G. **Estúdios sobre la patogenicidad de cepas de Monosporascus cannonballus Pollack e Uecker aisladas de mélon. Histopatologia del ataque a raíz de mélon.** Trabajo de Fin de Carrera. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, Spain, 2000.

RODRIGUES, A.P.M.S. **Ocorrência de plantas daninhas como hospedeiras alternativas de fitopatógenos radiculares e avaliação da patogenicidade sobre as culturas do melão e da melancia.** 76p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Brasil, 2013.

STAMFORD, N. P.; JOSÉ J.V. RODRIGUES; RICHARD J. HECK; DOMINGOS E.G.T. A. Propriedades Físicas e Químicas dos Solos. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais** / eds. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 398 p. 2005.

SALES JÚNIOR, R.; SANTANA, C. V. S.; NOGUEIRA, D. R. S.; SIVA, K. J. P. ; GUIMARÃES, I. M. First Report of *Monosporascus cannonballus* on Watermelon in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 2, p. 278, 2010.

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

SALES JÚNIOR, 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, vol.28, n.5, p. 567-567. 2003.

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

SILVA, K. J. P.; CORDEITO, A. G.; NOGUEIRA, D. R. S.; SALES JUNIOR, R. *Monosporascus cannonballus*: Agente causal do colapso ou morte súbita do meloeiro. **Revista Verde**, Mossoró, v.5, n.4, p. 11-18, 2010.

SIVANESAN, A. *Monosporascus cannonballus*. **Mycopathologia**. 114:53, 1991.

STAMFORD, N. P.; JOSÉ J.V. RODRIGUES, R. J. HECK DOMINGOS E.G.T. ANDRADE 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, p.509-514, 1996.

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

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

SUTTON, B. C. The Coelomycetes. Surrey: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696 p.

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

WAUGH, M. M., KIM, FERRIN, D. M., STANGHELLINI, M. E. Reproductive Potential of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, 2003.

CAPÍTULO III

VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Monosporascus cannonballus* ORIUNDOS DE PEGA-PINTO PRESENTES EM ÁREAS PRODUTORAS DE MELOEIRO

RESUMO

O Nordeste se destaca no cenário nacional, tendo o cultivo do melão (*Cucumis melo* L.) como uma das atividades de maior expressão social e econômica da região. Dentre os principais problemas enfrentados pelos produtores, destacam-se as doenças, dentre elas o colapso do meloeiro causado por *Monosporascus cannonballus*. Apesar da importância da doença pouco se conhece sobre a variabilidade desse patógeno. Visando investigar a variabilidade em isolados de *M. cannonballus* oriundos de plantas daninhas em áreas produtoras de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, 18 isolados de pega-pinto foram avaliados quanto a taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA), nas diferentes temperaturas, (20, 25, 30 e 35 °C), níveis de salinidade, (0, 1, 4 e 8%), níveis de pH, (5,5, 6,0 e 8,0), bem como a inibição do crescimento micelial pelo fungicida fluazinam (ICMF), e ao índice de severidade da doença (ISD). As temperaturas de 30 e 35 °C apresentaram os maiores valores de TCM, enquanto a de 20 °C os menores. Os maiores valores de NP foram registrados nas temperaturas de 30 e 35°C enquanto as de 25 e 30 °C foram as únicas que apresentaram ascósporos. Os níveis 0 e 1% de salinidade registraram os maiores valores de TCM, e 8% os menores. Valores de NP e NA foram observados apenas nos níveis de 0 e 1% de salinidade. Os níveis de pH 5,5 e 6,0 proporcionaram os maiores valores de TCM, enquanto de 8,0 os menores. Peritécios foram observados em todos os níveis de pH, sendo o nível 6,0 o que proporcionou maiores valores. Ascósporos foram observados nos pHs 5,5 e 6, sendo o nível 6 onde observou-se os maiores valores. Todos os isolados apresentaram baixa sensibilidade ao fungicida fluazinam, com média de 19,76% ICMF. Todos os isolados foram patogênicos a melão e melancia, com exceção do MCp-09 que não foi a melão, com um ISD médio de 56,25 e 70,13 % respectivamente. Na análise multivariada foi verificada a formação de 5 grupos de similaridade. Diferentes isolados de uma mesma área foram distribuídos em diferentes grupos de similaridade, indicando a alta variabilidade entre os isolados.

Palavras-chave: *Cucumis melo*. Espécies daninhas. *Citrullus lanatus*. Patógenos radiculares.

VARIABILITY OF *Monosporascus cannonballus* ISOLATES FROM PEGA-PINTO PLANTS IN AREAS OF MELON

ABSTRACT

The Brazilian Northeast stands out in the national scenario, with the melon (*Cucumis melo* L.) cultivation as one of the activities of greater social and economic expression of region. Among the main problems faced by the producers are the diseases, among them, the melon collapse caused by *Monosporascus cannonballus*. Despite the importance of the disease, little is known about the variability of this pathogen. Aiming to investigate variability in *M. cannonballus* isolates from weeds in areas that produce melon, in the states of Rio Grande do Norte and Ceará. Eighteen pega-pinto (*Boerhavia diffusa* L.) isolates were evaluated for mycelial growth rate (MGR), number of perithecia (NP) and number of ascospores (NA) in different temperatures (20, 25, 30 and 35 ° C), salinity levels (0, 1, 4 and 8%), and pH levels (5.5, 6.0 and 8.0), as well as inhibition of mycelial growth to the fungicide fluazinam (IMGF), and to the severity index of the disease to melon and watermelon (SID). It was verified that the temperatures of 30 and 35 °C showed the highest MGR values, while the lowest were at 20 °C. The highest values of NP were recorded at temperatures of 30 and 35°C while those at 25 and 30°C were the only ones that presented ascospores. The salinity levels of 0 and 1% had the highest MGR values, while the lowest were at 8%. NP and NA values were observed only at the 0 and 1% salinity levels. Levels of pH 5.5 and 6.0 provided the highest values of MGR, while 8.0 had the lowest values. Perithecias were observed at all pH levels, with 6.0 being the highest value. Ascospores were observed at the levels of 5.5 and 6, with 6 being the highest values. All isolates were sensitive to the fungicide fluazinam, with a mean of 19.76% IMGF. All isolates were pathogenic to melon and watermelon, except for MCp-09 that was not melon, with an average SID of 56.25 and 70.13%, respectively. In multivariate analysis it was verified the formation of 5 similarity groups. Isolates from the same area were distributed in different similarity groups, indicating high variability among the isolates.

Keywords: *Citrillus lanatus*. *Cucumis melo*. Root pathogens. Weeds.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a cultura do meloeiro se destaca entre as principais do país, gerando emprego e renda. No ano de 2013, foram produzidas 191.412,6 t de melão, rendendo 147.579.929 milhões de dólares, e no ano de 2014, de janeiro a julho, foram produzidas 47.001,12 t, gerando 36.065.199 milhões de dólares (ALICE WEB/MDIC, 2014).

A região Nordeste se destaca na produção, suas condições edafo-climáticas com alta luminosidade, altas temperaturas e baixo índice de pluviosidade, são ideias para o crescimento e desenvolvimento da cultura. O melão tem uma importância enorme para a região, gerando emprego e renda, provocando desenvolvimento social e econômico para o local.

Apesar do mercado promissor, diversas doenças de solo que afetam o meloeiro (*Cucumis melo* L.) têm sido detectadas, com importância crescente ao longo dos anos (SALES JÚNIOR et al., 2002). O cultivo intensivo e contínuo dessas cucurbitáceas aliado as práticas de intenso manejo, tais como, utilização do “mulch” e da manta térmica (tecido-não- tecido - TNT), introdução de híbridos, transplântio, irrigação por gotejamento, aumento na densidade de plantio, ausência de rotação de culturas adequadas, entre outros, desencadeou um aumento no número e na severidade das doenças radiculares (BRUTON et al., 1998).

Dentre essas enfermidades, destaca-se o “colapso” ou “declínio” de ramas das cucurbitáceas, que é decorrente do desequilíbrio hídrico entre o sistema radicular e a parte aérea da planta, principalmente no estágio próximo à colheita, fase na qual a planta necessita de maior e contínuo aporte de água para suprir a demanda hídrica, o que vem a ser comprometido devido ao apodrecimento do sistema radicular (GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 2000; BELTRÁN et al., 2005).

O fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack et Uecker encontra-se como um dos principais fitopatógenos causadores dessa enfermidade. Trata-se de um ascomiceto, habitante do solo, que apresenta peritécios pretos e globosos, os quais geralmente aparecem no final do ciclo da cultura, infiltrados em raízes afetadas (SALES JUNIOR et al., 2002), e que são facilmente visíveis a olho nu, ou ainda, observados em lupa. No Brasil foi relatado pela primeira vez em 2002, em áreas de cultivo de melão nos estados do Rio Grande do Norte (RN) e Ceará (CE) (SALES JR. et al., 2003) e posteriormente na cultura da melancia (SALES JR. et al., 2010). Até o presente momento não foi relatada a forma assexual de *M. cannonballus*. O mesmo apresenta característica termófila e elevada capacidade de sobreviver no solo, se adaptando bem a regiões de climas áridos e semiáridos, por longos períodos, na ausência de hospedeiro.

Embora inexistam informações precisas sobre as perdas relacionadas a esta doença no Brasil, estudos de prospecção de campo realizados por Andrade et al. (2005) observou que este fungo se encontrava presente em 30% das áreas de produção de melão que apresentavam

“declínio” de ramas. Evidenciando assim a magnitude do problema e a necessidade da adoção de medidas integradas de manejo da doença

Diversos métodos de controle vêm sendo testados para combater este patógeno, entretanto ainda não se tem algo satisfatório. No caso do controle químico não existem produtos registrados no Brasil (MAPA, 2016) para controlar esse fungo, além de estudos evidenciarem que o uso de agrotóxicos é pouco eficaz para o controle de patógenos radiculares. A utilização de plantas resistentes parece ser a forma mais interessante de controle do colapso, embora apresente algumas dificuldades como a obtenção de cultivares com características agronômicas desejáveis e o tempo de sua obtenção (GARCÍA-JIMENEZ; ARMENGOL; MARTÍNEZ-FERRER, 1998; FITA et al., 2007). Entretanto até o momento inexistem cultivares comerciais de meloeiro resistentes a *M. cannonballus*.

Mesmo diante da importância do colapso do meloeiro a nível mundial, a variabilidade das populações de *M. cannonballus* tem sido pouco estudada. Investigações envolvendo a análise da virulência (MERTLELY, 1993; BRUTON et al., 1999; ANDRADE et al., 2005) e o polimorfismo do dsRNA (LOVIC et al., 1995; CLUCK et al., 2009) constataram a presença de diversidade entre os isolados de *M. cannonballus*. Estudos realizados por Correia et al., 2014 analisando a variabilidade de isolados de *M. cannonballus* oriundos de meloeiro, constataram que existe variabilidade patogênica e fisiológica nas populações de *M. cannonballus* causadoras do colapso do meloeiro nas áreas de plantio dos estados do Ceará e Rio Grande do Norte.

Estudos envolvendo a biologia do patógeno e os componentes da doença podem constituir importantes instrumentos de investigação da variabilidade em populações de patógenos radiculares (CORREIA et al. 2014), servindo para o desenvolvimento de programas adequados de melhoramento e manejo do patógeno.

A espécie de planta daninha, *Boerhavia diffusa* L., detectada como hospedeira deste fungo em áreas produtoras de cucurbitáceas no nordeste brasileiro (RODRIGUES, 2013), apresentam um ótimo desenvolvimento na região semi-árida, tornando-se plantas de fácil e rápida disseminação, podendo servir como fonte de inóculo de *M. cannonballus* durante a entressafra.

Diante da crescente importância dessa doença e da escassez de informações sobre o comportamento de isolados oriundos de plantas daninhas, objetivo do presente estudo foi investigar a variabilidade de 18 isolados de *M. cannonballus* oriundos de pega-pinto (*Boerhavia diffusa* L.), em áreas produtoras de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, com base nas características fisiológicas, severidade da doença e sensibilidade ao fungicida fluazinam.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DADOS GERAIS DOS EXPERIMENTOS

2.1.2 Obtenção dos isolados de *Monosporascus cannonballus*

A escolha da espécie daninha foi feita com base em estudos anteriores, onde esta espécie, pega-pinto, foi relatada como hospedeira alternativa do fungo *Monosporascus cannonballus*, em áreas produtoras de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro (RODRIGUES, 2013).

Foram coletadas 260 plantas de pega-pinto (*Boerhavia diffusa* L.), assintomáticas, em áreas produtoras de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. Posteriormente as raízes dessas plantas foram levadas ao Laboratório de Fitopatologia II da UFERSA, onde o sistema radicular foi cuidadosamente lavado em água corrente, para eliminar resíduos de solo aderidos e realizado a desinfestação superficial com álcool 70%, por 60 segundos, e imersas em solução de hipoclorito de sódio a 2% durante 60 segundos, após isso foram lavadas em água destilada e esterilizada por três vezes, para retirar o excesso de cloro. Os fragmentos foram colocados em placas de Petri com meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), suplementado com estreptomicina (500 ppm). As placas foram mantidas em estufa tipo BOD à temperatura de $27\pm1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, durante 5-7 dias.

Após este período, os pontos que apresentaram crescimento fúngico de *M. cannonballus* tiveram fragmentos de suas colônias repicados para placas de Petri contendo meio BDA, visando à obtenção de culturas puras, para posterior identificação e preservação. Foram obtidos 18 isolados de *M. cannonballus* de brejo de diferentes localidades do Rio Grande do Norte e Ceará (Limoeiro/CE, Assú/RN, Mossoró/RN e Pau Branco/RN), sendo cada isolado oriundo de uma única planta. Todos os isolados foram purificados por meio da técnica de “ponta de hifa”, para a obtenção de culturas puras. A adaptabilidade saprofítica dos isolados foi comparada em relação ao crescimento micelial, produção de peritécios e produção de ascósporos em diferentes temperaturas, níveis de pH, níveis de salinidade, bem como em relação à sensibilidade ao fungicida fluazinam. A adaptabilidade patogênica dos isolados foi comparada em relação à virulência a melão e melancia. Para identificação, foram confeccionadas lâminas para microscopia, contendo as estruturas reprodutivas e de infecção dos fungos, coloridas com azul de algodão em lactofenol, observadas em microscópio óptico e comparadas com as descrições das chaves para identificação de fungos (Barnett & Hunter, 1970; Carmichael et al., 1980; Sutton, 1980; Hanlin, 1990).

2.1.3 Análise do crescimento micelial

Discos de micélio (5 mm de diâmetro) retirados da margem de colônia de cada isolado com 15 dias de crescimento em BDA foram transferidos para o centro de placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo BDA. As placas foram mantidas nas temperaturas de 20, 25, 30 e 35 °C, para o ensaio de diferentes temperaturas. Para o ensaio de pH, o meio BDA foi ajustado para pH, 6 e 8 com a adição de tampão fosfato citrato ou Tris-HCl, e a testemunha consistiu do BDA padrão, pH 5,5. As placas foram mantidas em estufa tipo BOD a 30 °C. Para o ensaio de salinidade o meio BDA foi suplementado com 1, 4 e 8% (peso/volume) de NaCl, respectivamente, a testemunha consistiu em placas contendo BDA sem NaCl, as placas foram mantidas na BOD a 30 °C. Para todos os ensaios foram utilizadas quatro placas (repetições) para cada isolado e tratamento, num delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial. O crescimento das colônias foi mensurado após 24, 48 e 72 horas de incubação, em duas direções perpendiculares. Os dados, subtraídos do tamanho do disco original (5 mm), foram utilizados para calcular o diâmetro da colônia. Os dados de crescimento micelial de cada isolado foram utilizados para calcular a taxa de crescimento micelial (TCM; mm/hora), pela equação $TCM = \frac{DMF - 0,5}{3}$ onde; o DMF=diâmetro final, 0,5= ao diâmetro do disco utilizado e 3= dias de duração do ensaio (tempo necessário para fungo preencher a placa) (CORREIA et al., 2014).

2.1.4. Análise da produção de peritécios

Para a análise da produção de peritécios em diferentes temperaturas, níveis de salinidade e pH, as placas utilizadas na análise do crescimento micelial nos respectivos ensaios foram mantidas até 45 dias para formação e quantificação dos peritécios. Quatro discos de ágar (12 mm de diâmetro) foram selecionados aleatoriamente e removidos de cada colônia, totalizando 16 discos por tratamento/isolado. Cada disco foi colocado em lâminas de vidro. Sobre os discos foram colocadas lamínulas, que foram pressionadas mecanicamente, visando facilitar a observação e contagem do número de peritécios sob microscópio estereoscópio (lupa). Cada disco consistiu de um volume de 0,395 cm³ e o número de peritécios produzidos (PP) nos diferentes ensaios foram expressos como peritécios por cm³ (CORREIA et al., 2014).

2.1.5 Análise da produção de ascósporos

Para a análise da produção de ascósporos, as placas utilizadas na análise do crescimento micelial (item 2.1.3) nos diferentes ensaios, foram mantidas até 50 dias em estufa tipo BOD,

quando os peritécios foram removidos e transferidos para lâminas de vidro para quantificação dos ascósporos. Dez peritécios foram selecionados aleatoriamente e removidos de cada colônia (placa) e cada conjunto foi considerado um tratamento (40 peritécios por isolado). Cada peritécio foi colocado em lâminas de vidro. Sobre os peritécios foram colocadas lamínulas, que foram pressionadas mecanicamente, visando facilitar a observação e contagem do número de ascósporos produzidos (AP) nos diferentes ensaios. Os ascósporos foram observados sob microscópio com ampliação de 40 ×, e o número de ascósporos foi expresso em ascósporos/peritécio (CORREIA et al., 2014).

2.1.6 Sensibilidade ao fungicida fluazinam

Foi utilizada a formulação comercial do fungicida fluazinam (Frowncide 500 SC, 500 g/L i.a., Syngenta, São Paulo, SP, Brasil). O fungicida foi dissolvido em água esterilizada e adicionado a BDA fundente (45°C) para alcançar a concentração 10µg de i.a./L, a seleção dessa dose foi baseada em estudos anteriores (CORREIA et al., 2014). Discos de micélio (5 mm de diâmetro) retirados da margem de cada colônia de cada isolado com 15 dias de crescimento em BDA foram transferidos para o centro de placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo BDA com o fungicida. Placas contendo BDA sem fungicida foram utilizadas como testemunhas. As placas foram mantidas na temperatura de 30°C, no escuro. Foram utilizadas quatro placas (repetições) para cada isolado, num delineamento experimental inteiramente casualizado. O crescimento da colônia foi mensurado como descrito anteriormente (item 2.1.3). As porcentagens de inibição do crescimento micelial pelo fluazinam (ICMF) foram calculadas para cada isolado, pela fórmula: $ICMF = [(C - F)/C] \times 100$, onde C é o diâmetro da colônia da testemunha (sem fungicida) e F é o diâmetro da colônia para o tratamento com fungicida (CORREIA et al., 2014).

2.1.7 Virulência em meloeiro e melancia

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, no campus da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, localizada no município de Mossoró. Foi avaliada a virulência dos 18 isolados de pega-pinto a melão e melancia. A produção do inóculo foi realizada a partir de um meio líquido BD (batata e dextrose) contendo micélios do fungo. A contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) foi feita através do método da contagem em placa (TORTORA, 2006). O inóculo foi padronizado para a concentração de $2,5 \times 10^2$ UFC mL⁻¹. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dezenove tratamentos e quatro repetições. Sendo realizado dois ensaios, um para melão e outro para melancia. Vasos de 200 ml cada, foram cheios com uma mistura de 1:3 de solo e substrato esterilizados, em seguida

foi realizada a inoculação, com o auxílio de uma proveta, 8 ml de inóculo foi colocado nos vasos, e a testemunha foi tratada com 8 ml de água destilada. Posteriormente, sementes de melão (Amarelo-Goldex) e melancia (Crimson Sweet) pré-germinadas em papel germiteste foram colocadas nos vasos.

Após 21 dias, as plântulas foram removidas dos vasos e o sistema radicular de cada planta suavemente lavado em água corrente e avaliado quanto ao comprimento das raízes (CP), peso fresco das raízes (PFR) e severidade da doença, com o auxílio de uma escala de notas de 0 a 4 adaptada de Correia et al., (2014), onde: 0 = nenhuma descoloração ou redução de massa da raiz; 1 = ligeira descoloração, com até 25% de redução da massa da raiz; 2 = descoloração moderada, com até 50% de redução da massa da raiz; 3 = descoloração grave, com até 75% de redução da massa da raiz; 4 = redução da massa da raiz maior que 90%. A quantificação da redução da massa das raízes foi baseada na massa das raízes apresentada pelas plantas da testemunha. Os dados de severidade foram utilizados para calcular o índice de severidade da doença (ISD) em cada repetição pela fórmula de McKinney (MCKINNEY, 1923), onde: $ISD = (\sum vn) / (NV) \times 100$, em que *v* representa o valor numérico da classe, *n* é o número de plantas atribuído à classe, *N* é o número total de plantas na repetição e *V* é o valor numérico da classe mais alta.

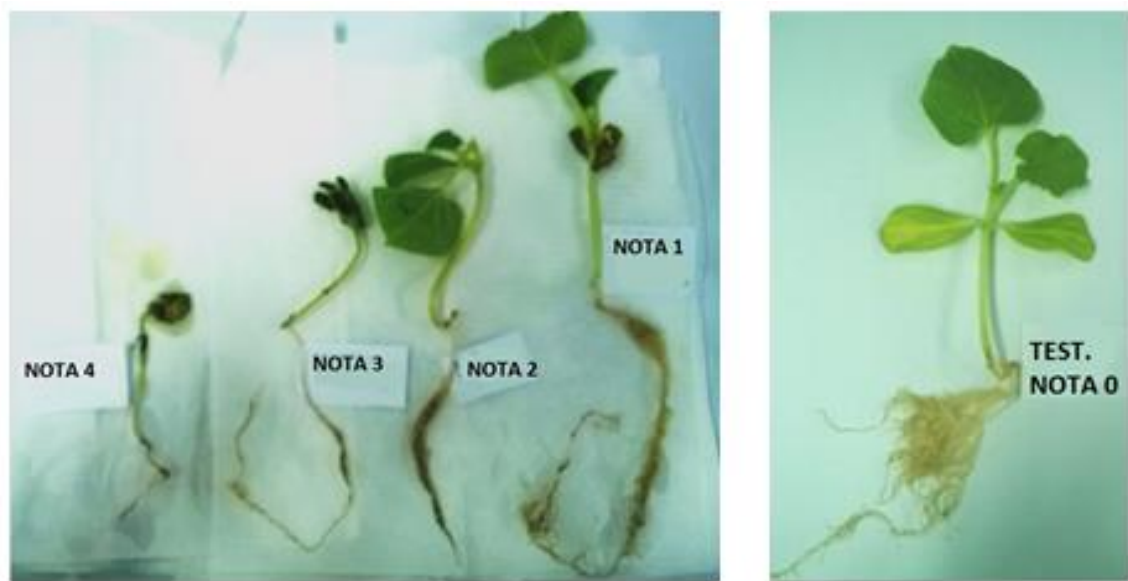


Figura 1. Escala de notas utilizada para a avaliação da virulência de isolados de *M. cannonballus*) 0 = nenhuma descoloração ou redução de massa da raiz; 1 = ligeira descoloração, com até 25% de redução da massa da raiz; 2 = descoloração moderada, com até 50% de redução da massa da raiz; 3 = descoloração grave, com até 75% de redução da massa da raiz; 4 = redução da massa da raiz maior que 90% Adaptada de Correia et al. (2014). Mossoró, RN 2016.

2.1.7 Análises estatísticas

As análises foram conduzidas em duas etapas: inicialmente, foi realizada a análise univariada, considerando cada variável separadamente. Posteriormente os dados foram submetidos à análise multivariada, considerando as variáveis em conjunto. Para a análise univariada, os dados de severidade (SEV) taxa de crescimento micelial (TCM) e inibição do crescimento micelial (ICM) foram transformados em $(x + 0,5)^{1/2}$, enquanto os dados de número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) foram transformados em $\log (x+1)$, e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de agrupamento Scott-Knott ($P=0,05$) com o auxílio do programa Assistat 7.7. As análises de regressão foram feitas com o auxílio do programa MiniTab 17. Na análise multivariada foi empregada a análise de agrupamento pelo método hierárquico de Ward, utilizando como medida de distância, o quadrado da distância euclidiana.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi constatada variabilidade nos isolados de *M. cannonballus* de pega-pinto em relação à taxa de crescimento micelial (TCM), sendo três grupos distintos de isolados a 20° C, quatro a 25 °C, três a 30 °C e seis a 35 °C (Tabela 1). Na temperatura de 20 °C, a TCM média foi de 6,97 mm/dia e os valores variaram de 2,83 a 10,54 mm/dia. Valores da TCM menores que 10 mm/dia foram registrados em 94,44 % dos isolados incubados a 20 °C. Na temperatura de 25 °C, a TCM média foi de 10,83 mm/dia e os valores variaram de 3,70 a 17,37 mm/dia, sendo que 72,22 % dos isolados apresentaram valores da TCM maiores que 10 mm/dia. Na temperatura de 30 °C a TCM média foi de 18,28 mm/dia e os valores variaram de 3,20 a 26,50 mm/dia, apresentando 44,44 % dos isolados com TCM maior que 20 mm/dia. Na temperatura de 35 °C a TCM média foi de 18,64 mm/dia e os valores variaram de 5,33 a 28,04 mm/dia, com 50,00 % dos isolados apresentando uma TCM maior que 20 mm/dia.

Os isolados de *M. cannonballus* estudados apresentaram variabilidade na taxa de crescimento micelial em função das diferentes temperaturas (Figura 2A). As temperaturas de 30 e 35 °C mostraram-se como as mais adequadas para o crescimento micelial dos isolados, apresentando valores muito semelhantes, enquanto a de 20 °C foi a menos propícia. Correia et al. (2014), realizando estudo com 57 isolados de *M. cannonballus* obtidos de raízes de meloeiro infectadas em campos de produção nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, verificaram grande variabilidade na taxa de crescimento micelial dos isolados, onde a temperatura de 28 °C foi a mais propícia ao crescimento, enquanto a de 38 °C foi a menos adequada.

Segundo Michereff et al. (2005) os patógenos radiculares ocorrentes em solos tropicais são favorecidos por temperaturas mais elevadas. Um isolado canadense de *M. cannonballus* obtido de melão quando submetido a diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C), apresentou, maior taxa de crescimento micelial na temperatura de 30 °C (WAUGH et al., 2003). Isolados espanhóis de *M. cannonballus* oriundos de melão apresentaram grande variabilidade na taxa de crescimento micelial, entretanto vários paralisaram o crescimento a partir de 37 °C (PANIAGUA, 2000).

Em Israel e no Arizona, os melões são cultivados em duas épocas durante o ano. Em ambos os casos, a infecção por *M. cannonballus* e a gravidade da doença foi maior nas estações mais quentes, e foi também correlacionada com o aumento das temperaturas do solo (PIVONIA et al. 2002; STANGHELLINI et al. 2004)

A planta daninha analisada como hospedeira desse patógeno, pega-pinto, é uma espécie herbácea, perene, de fácil e rápida disseminação, característica de clima tropical e se desenvolve bem em altas temperaturas (PÉREZ et al. (2000). Provavelmente por esses fatores, os isolados

analisados apresentam comportamento semelhante aos isolados de melão já relatados na literatura, quanto ao aumento na taxa de crescimento micelial em temperaturas mais elevadas, pois tanto o melão como o pega-pinto são espécies de ótimo desenvolvimento em climas áridos e semi-áridos.

Tabela 1. Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes temperaturas e sensibilidade ao fungicida fluazinam (ICMF) mensurados para estimar a variabilidade de isolados de *Monosporascus cannonballus*, oriundos de plantas de pega-pinto em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.

Isolado	Localidade	Características fisiológicas												Fluazinam	
		¹ TCM20	TCM25	TCM30	TCM35	² NP20	NP25	NP30	NP35	³ NA20	NA25	NA30	NA35		⁴ ICMF
			(mm/dia)				(peritécios/cm ³)			(ascósporos/peritécios)			(%)		
MCp-01	Limoeiro/CE	5,75b	8,33c	14,62b	10,54d	0,00c	2,05c	12,02b	48,41a	-	0,00b	0,00b	-	15,67b	
MCp-02	Limoeiro/CE	8,08a	11,25b	15,79b	14,54c	0,00c	15,50c	127,37a	41,45a	-	0,00b	0,00b	-	17,25b	
MCp-03	Limoeiro/CE	8,00a	11,45b	14,41b	10,95d	0,00c	0,00c	8,54b	38,29a	-	0,00b	0,00b	-	18,55b	
MCp-04	Limoeiro/CE	7,37a	12,04b	15,00b	12,08d	2,05c	0,00c	10,60b	33,22a	-	0,00b	0,00b	-	15,26b	
MCp-05	Limoeiro/CE	4,37b	9,16c	17,20b	8,41e	0,00c	0,31c	7,43b	27,37b	-	0,00b	0,00b	-	20,19b	
MCp-06	Assú/RN	3,79c	4,50d	15,70b	24,25a	2,05c	0,00c	10,75b	78,48a	-	0,00b	0,00b	-	49,41a	
MCp-07	Assú/RN	5,71b	3,70d	16,66b	28,04a	9,33c	0,15c	22,31b	187,50a	-	0,00b	0,00b	-	23,25b	
MCp-08	Assú/RN	8,71a	14,95a	23,04a	24,41a	0,31c	0,00c	41,93b	2,37b	-	0,00b	0,00b	-	22,18b	
MCp-09	Assú/RN	2,83c	5,50d	21,12a	14,79c	1,42c	0,00c	1,58b	75,31a	-	0,00b	0,00b	-	55,92a	
MCp-10	Assú/RN	7,58a	10,79b	14,08b	24,58a	0,00c	0,00c	0,00b	21,83b	-	0,00b	0,00b	-	2,32b	
MCp-11	Mossoró/RN	4,75b	8,67c	3,20c	5,33f	17,56b	16,77c	2,37b	70,88a	-	0,00b	0,00b	-	16,31b	
MCp-12	Mossoró/RN	7,83a	13,33b	20,20a	19,41b	232,27a	2,37c	112,97a	95,57a	-	0,00b	0,00b	-	13,28b	
MCp-13	Mossoró/RN	8,58a	10,71b	23,04a	18,16b	76,58b	0,00c	89,24a	553,16a	-	0,00b	0,00b	-	21,64b	
MCp-14	Mossoró/RN	10,54a	17,37a	26,50a	23,29a	0,94c	85,44a	156,01a	412,65a	-	0,00b	0,00b	-	19,60b	
MCp-15	Mossoró/RN	6,04b	11,33b	19,70a	23,66a	47,15b	85,12a	92,87a	11,86b	-	21,77a	0,00b	-	6,24b	
MCp-16	PauBranco/RN	9,16a	15,70a	22,79a	25,45a	68,19b	184,49a	223,57a	113,92a	-	72,67a	22,60a	-	13,12b	
MCp-17	PauBranco/RN	9,33a	13,29b	23,45a	26,00a	26,89b	95,88a	203,48a	143,67a	-	0,00b	0,00b	-	11,05b	
MCp-18	PauBranco/RN	7,04a	12,75b	22,54a	21,58b	9,33c	27,37b	152,21a	24,05b	-	0,00b	0,00b	-	14,36b	
Médias		6,97	10,83	18,28	18,64	27,45	28,64	70,85	110,00		5,25	1,25		19,76	

¹Taxa de crescimento micelial em meio BDA sob incubação à 20, 25 30 e 35°C; ²Número de peritécios produzidos em meio BDA sob incubação à 20, 25, 30 e 35°C; ³Número de ascósporos produzidos em meio BDA sob incubação à 20, 25, 30 e 35°C; ⁴Inibição do crescimento micelial por fluazinam, incubado à 30°C.

Médias originais. Para realização da ANOVA os dados de TCM e ICMF, foram transformados em $(x+0,5)^{0,5}$, enquanto os dados de NP e NA foram transformados em $\text{Log}(x+1)$. As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P = 0,05$).

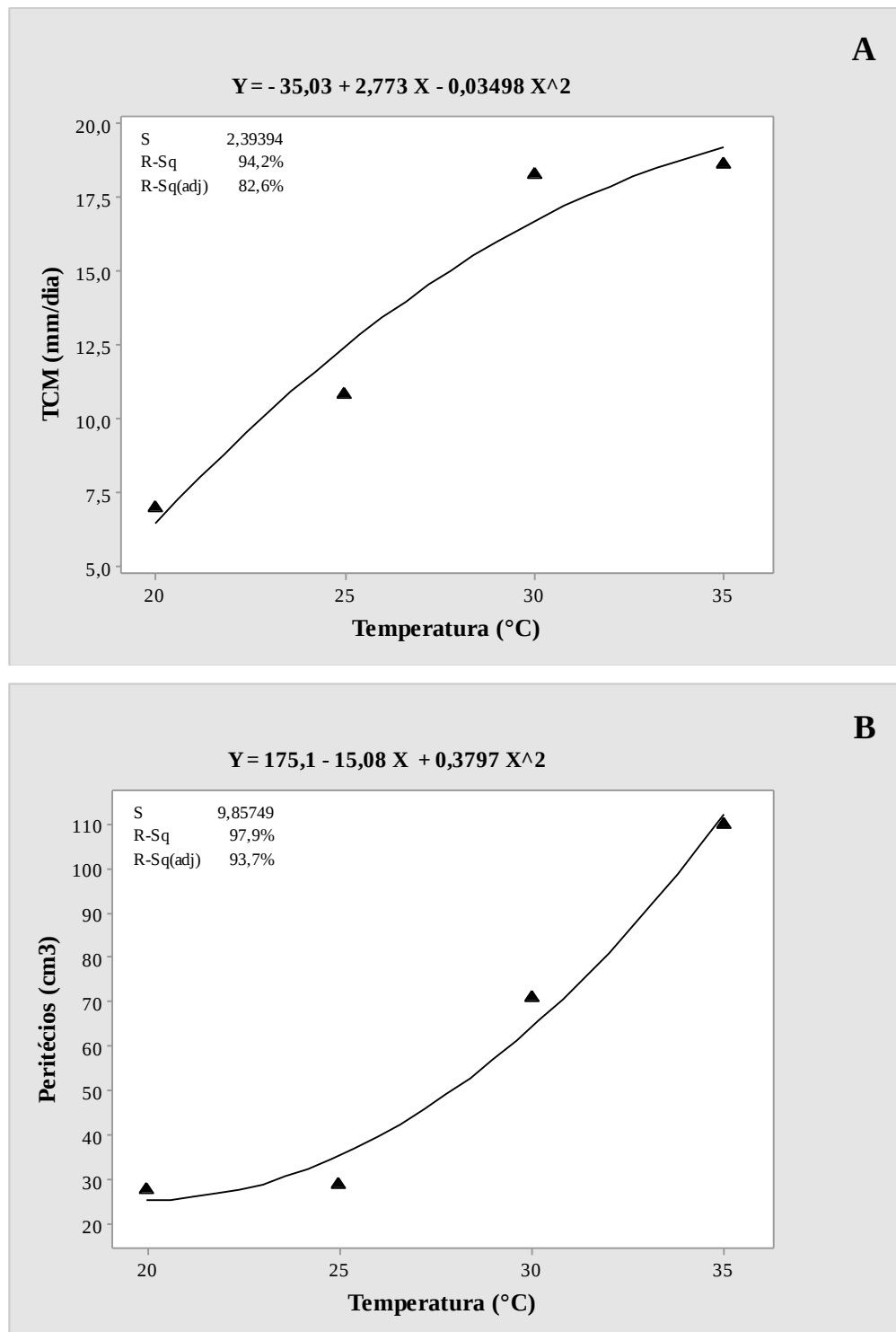


Figura 2. Taxa de crescimento micelial (2A), e número de peritécios (2B) dos isolados de *M. cannonballus* oriundos de pega-pinto em função de diferentes temperaturas.

Houve produção de peritécios em todas as temperaturas estudadas, entretanto, a maioria dos isolados produziram nas temperaturas de 30 e 35 °C (Tabela 1). Na temperatura de 20 °C o número médio de peritécios foi de 27,45 peritécios/cm³ e os valores variaram de 0,0 a 232,27 peritécios/cm³, com cinco isolados que não produziram peritécios. Na temperatura de 25 °C o

NP médio foi de 28,64 peritécios/cm³ e os valores variaram de 0,0 a 184,49 peritécios/cm³, sendo que sete isolados não produziram peritécios. Na temperatura de 30 °C a média do NP foi de 70,85 peritécios/cm³ e os valores variaram de 0,0 a 223,57 peritécios/cm³, com um isolado que não produziu peritécios. Na temperatura de 35 °C, todos os isolados produziram peritécios, o NP médio foi de 110,00 peritécios/cm³ com valores variando entre 2,37 a 553,16.

A temperatura mais adequada para a formação de peritécios foi a de 35 °C, enquanto a menos propícia foi a de 20 °C (Figura 1B). Estudos realizados por Correia et al.(2014) mostraram que isolados de melão do nordeste brasileiro apresentaram maior formação de peritécios na temperatura de 28 °C. Outros levantamentos com isolados de melão apresentaram a faixa de temperatura entre 25 e 30 °C, como a ideal para a formação de peritécios, sendo 28 °C a temperatura ótima (SIVANESAN, 1991; MARTYN E MILLER, 1996). Um isolado de meloeiro do Canadá apresentou o número máximo de formação de peritécios nas temperaturas de 25 e 30 °C, enquanto poucos se formaram a 35 °C e nenhum a 20 °C (WAUGH et al., 2003).

Os isolados de pega-pinto analisados apresentaram maior formação de peritécios na temperatura de 35 °C, divergindo de observações relatadas por outros autores com relação a isolados de melão, onde na temperatura de 35 °C havia uma menor produção dessas estruturas. Entretanto, considerando que o pega-pinto é uma espécie de planta daninha muito adaptada às condições áridas, estes isolados podem estar sofrendo também adaptações com o intuito de manter a sua sobrevivência em condições mais adversas.

Com relação ao número de ascósporos (NA), houve produção apenas nas temperaturas de 25 e 30 °C (Tabela 1). Dois isolados (MCp- 15 e MCp-16) produziram ascósporos a 25 °C, com um NA médio de 5,25 ascósporos/peritécios. A 30 °C apenas um isolado (MCp- 16) produziu ascósporos com um valor de 22,60 ascósporos/peritécios. As observações corroboram com estudos anteriores (SIVANESAN, 1991; MARTYN E MILLER, 1996, PIVONIA et al., 2002) onde as temperaturas 25 e 30 °C foram analisadas como as mais propícias para produção de ascósporos. Segundo Correia et al.(2014) isolados de melão do nordeste brasileiro apresentaram maior formação de acósporos na temperatura de 28 °C e menor produção a 22 °C.

Informações sobre o comportamento de isolados de *M. cannonballus* de espécies daninhas são inexistentes na literatura, contudo no presente trabalho percebe-se uma grande variabilidade entre esses isolados de pega-pinto, principalmente com relação a produção das estruturas reprodutivas do fungo.

Todos os isolados foram sensíveis ao fluazinam, apresentando em sua maioria uma baixa sensibilidade ao fungicida quando submetidos a 10µg de i.a./L (Tabela 1). A média da inibição do crescimento micelial por fluazinam (ICMF) foi de 19,76 %, e os valores variaram entre 2,32 a 55,92 % sendo que a maioria dos isolados, 72,22 % apresentaram níveis de ICMF entre 2,32 e 20,19 % e 27,77 % dos isolados entre 21,64 e 55,92%. Estudos realizados por

Correia et al. (2014), analisando a variabilidade de isolados de *M. cannonballus* obtidos de raízes de meloeiro em campos de produção do RN e CE, verificaram alta sensibilidade dos isolados ao fluazinam, diferindo dos resultados encontrados no presente estudo para os isolados de pega-pinto. Entretanto deve-se levar em consideração que isolados extraídos de espécies daninhas podem apresentar uma adaptabilidade a ambientes adversos, já que conseguem sobreviver em plantas de características rústicas, como é pega-pinto.

Foi verificada diferença entre os isolados de *M. cannonballus* em relação à taxa de crescimento micelial (TCM), independentemente dos níveis de salinidade utilizados (Tabela 2). Constatou-se a formação de dois grupos distintos de isolados nos níveis de 0 e 1 % e três nos níveis de 4 e 8 %. Todos os isolados apresentaram crescimento micelial nos níveis de salinidade estudados, com exceção do isolado MCp- 05 que não cresceu ao nível de 8 % .

A TCM média no nível de 0% foi de 21,20 mm/dia e os valores variaram de 8,00 a 28,33 mm/dia, com 55,56% dos isolados apresentando valores da TCM maiores que 20 mm/dia. Ao nível de 1%, a TCM média foi de 22,17 mm/dia e os valores variaram de 16,78 a 28,33 mm/dia, com 72,22% dos isolados apresentando valores da TCM maiores que 20 mm/dia. No nível de 4%, a TCM média foi de 15,32 mm/dia e os valores variaram de 4,0 a 21,67 mm/dia, sendo que 50 % dos isolados apresentaram valores da TCM maiores que 15 mm/dia. No nível de 8% de salinidade, a média da TCM foi de 5,04 mm/dia e os valores variaram de 0,0 a 10,83, com 88,88% dos isolados apresentando valores da TCM até 10 mm/dia e apenas um isolado, MCp-06, apresentou valor maior que 10 mm/dia.

Foi constatada variabilidade entre os isolados de *M. cannonballus* de pega-pinto em função dos diferentes níveis de salinidade (Figura 2A). Os níveis de 0 e 1% de salinidade mostraram-se como os mais adequados para o crescimento micelial dos isolados, enquanto o nível de 8% como o menos propício, entretanto todos os níveis apresentaram crescimento micelial. Martyn e Miller (1996) relatam que o teor de salinidade que *M. cannonballus* tolera é de 8 a 10% dessas soluções, seja causado por cloreto de sódio ou cloreto de potássio, quando avaliado “in vitro”.

Os isolados de pega-pinto analisados apresentam esse mesmo comportamento, mostrando crescimento micelial em todos os níveis utilizados no estudo, porém observa-se um decréscimo nesse crescimento, a medida que se aumentam os níveis de salinidade. Esta espécie de planta daninha é comumente encontrada nas áreas produtoras de melão do pólo RN-CE. Essa região se caracteriza por abranger quase a totalidade da produção nacional de melão. Esse aumento de demanda dessa fruta pelo mercado tem provocado a escassez de recursos hídricos de boa qualidade, levando aos produtores a utilizarem águas de qualidade inferior, como por exemplo, águas com altos teores de sais (MEDEIROS et al. 2003) Esta prática de uso de irrigação com águas mais salinas, terminam por provocar a salinização do solo. No entanto o

comportamento dos isolados demonstram boa adaptação as condições atuais da região, mantendo a sobrevivência do patógeno e desenvolvimento da doença.

Tabela 2. Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes níveis de salinidade, mensuradas para estimar a variabilidade de isolados de *Monosporascus cannonballus*, oriundos de plantas de pega-pinto em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.

Isolado	Localidade	Características fisiológicas											
		¹ TCM 0%	TCM 1%	TCM 4%	TCM 8%	² NP 0%	NP 1%	NP 4%	NP 8%	³ NA 0%	NA 1%	NA 4%	NA 8%
		(mm/dia)				(peritécios/cm ³)				(ascósporos/peritécios)			
MCp-01	Limoeiro/CE	17,39a	21,06b	14,00a	2,17b	48,31a	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-02	Limoeiro/CE	11,61b	22,50a	12,50a	1,61b	226,58a	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-03	Limoeiro/CE	19,39a	17,50b	12,72a	2,83b	0,00d	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-04	Limoeiro/CE	18,83a	24,11a	10,06b	1,22b	40,72a	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-05	Limoeiro/CE	16,22a	20,17b	11,83a	0,00c	14,98b	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-06	Assú/RN	28,33a	22,72a	21,44a	10,83a	1,05d	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-07	Assú/RN	23,56a	23,44a	4,00c	7,61a	10,97c	6,12a	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-08	Assú/RN	25,39a	28,33a	16,39a	4,39a	0,00d	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-09	Assú/RN	21,89a	17,28b	13,61a	5,50a	0,00d	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-10	Assú/RN	19,39a	22,06a	13,50a	5,72a	0,00d	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-11	Mossoró/RN	8,00b	16,78b	10,06b	3,89a	0,00d	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-12	Mossoró/RN	27,56a	23,33a	19,56a	4,89a	24,89b	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-13	Mossoró/RN	18,17a	26,17a	18,72a	7,89a	49,58a	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-14	Mossoró/RN	27,33a	19,28b	19,11a	7,17a	16,67b	0,84b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-15	Mossoró/RN	24,56a	27,61a	19,72a	7,83a	4,01c	0,00b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-16	PauBranco/RN	23,11a	15,00b	17,06a	3,44b	33,54a	36,71a	-	-	89,47a	79,65a	-	-
MCp-17	PauBranco/RN	26,33a	23,33a	19,89a	7,00a	20,46b	2,95b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
MCp-18	PauBranco/RN	24,50a	28,33a	21,67a	6,72a	2,74c	0,42b	-	-	0,00b	0,00b	-	-
Médias		21,20	22,17	15,32	5,04	27,47	2,61	-	-	4,97	4,42	-	-

¹Taxa de crescimento micelial em meio BDA sob incubação à 20, 25 30 e 35°C; ²Número de peritécios produzidos em meio BDA sob incubação à 20, 25, 30 e 35°C; ³Número de ascósporos produzidos em meio BDA sob incubação à 20, 25, 30 e 35°C; ⁴Inibição do crescimento micelial por fluazinam, incubado à 30°C.

Médias originais. Para realização da ANOVA os dados de TCM e ICMF, foram transformados em $(x+0,5)^{0,5}$, enquanto os dados de NP e NA foram transformados em $\text{Log}(x+1)$. As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P = 0,05$).

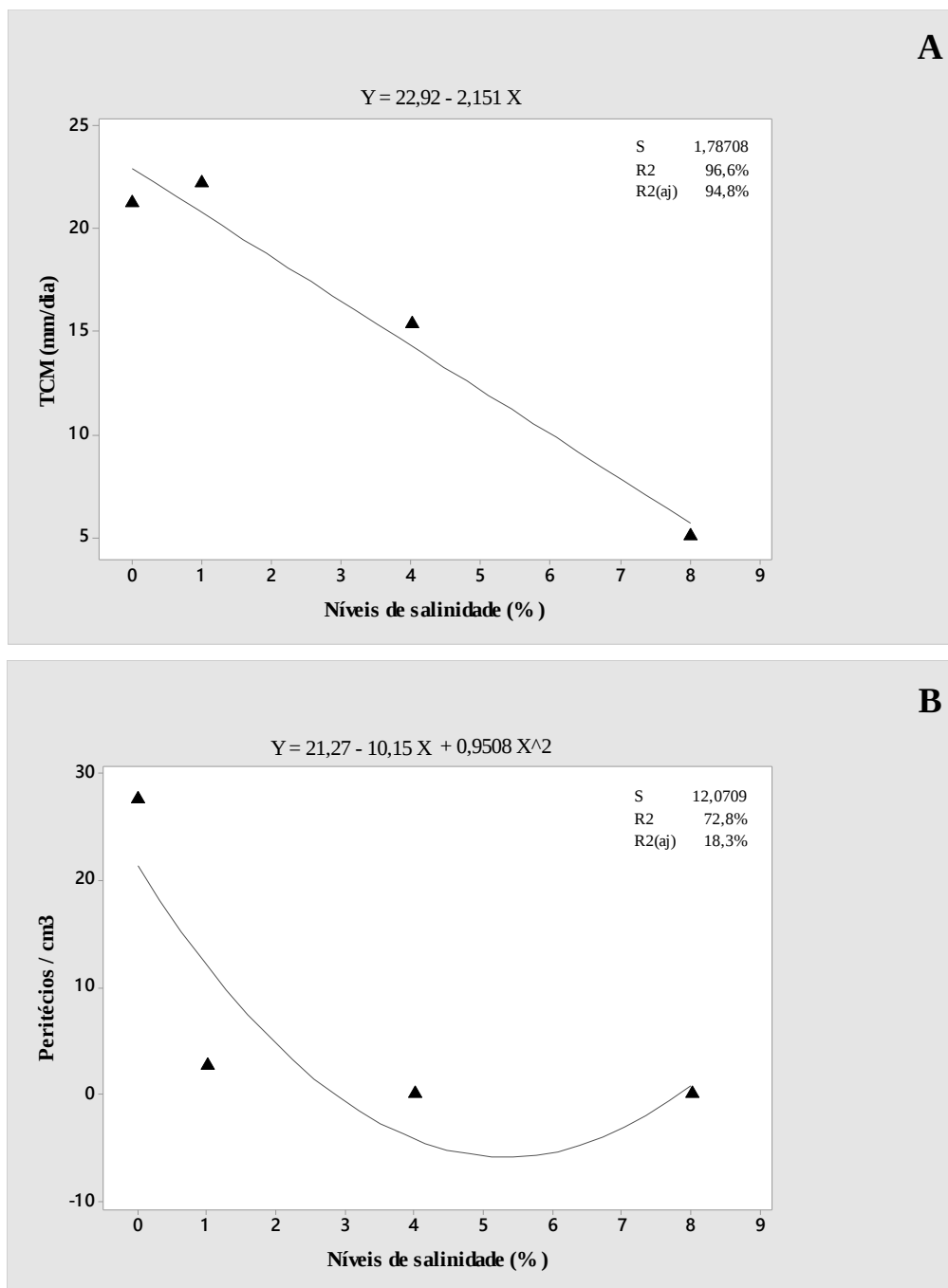


Figura 3. Taxa de crescimento micelial (3A), e número de peritécios (3B) dos isolados de *M. cannonballus* em função de diferentes níveis de salinidade.

Houve produção de peritécios apenas nos níveis de 0 e 1%. (Tabela 2). No nível de 0 % o NP médio foi de 27,47 peritécios/cm³ e os valores variaram de 0,0 a 226,58 peritécios/ cm³, com cinco isolados não produziram peritécios. Nesse nível 466,66% dos isolados produziram até 50 peritécios/cm³, e apenas um isolado produziu mais que 200 peritécios/cm³. Ao nível de 1% o NP médio foi de 2,61 % e os valores variaram de 0,0 a 36,71 peritécios/cm³, com treze isolados que não produziram peritécios. Ao nível de 1% todos os isolados produziram apenas até 36,71 peritécios/cm³. Os resultados mostram que a condição ideal para produção de

peritécios é ao nível de 0% de salinidade, havendo uma produção bem reduzida ao nível de 1% e nenhuma a 4 e 8% (Figura 2B). São escassas as informações na literatura com relação ao comportamento de *M. cannonballus* frente a condições salinas, entretanto Stamford et al. (2005) relata que os ambientes salinos constituem um meio desfavorável para a microbiota, assim como para a maioria das plantas, sendo os fungos são os microrganismos mais sensíveis.

Em relação ao NA houve produção apenas por um isolado nos níveis de 0 e 1% (Tabela 2). Observa-se que os isolados de pega-pinto do presente estudo tiveram o seu potencial reprodutivo afetado, apesar de apresentarem crescimento micheal em todos os níveis de salinidade, não produziram peritécios nem ascósporos em teores de NaCl maiores que 1%. O potencial reprodutivo de *M. cannonballus* é um aspecto significativo a ser considerado no manejo da doença (WAUGH et al., 2003). A variação entre isolados de acordo com estes componentes de reprodução, como observado neste estudo, indica a diferença no potencial competitivo dos isolados.

Os isolados de *M. cannonballus* diferiram em relação à taxa de crescimento micelial (TCM), para todos os níveis de pH, com exceção ao nível de pH 6,0 onde não houve diferença entre os isolados. (Tabela 3). Foi verificada a formação de dois grupos distintos de isolados nos níveis de 5,5, e 8, e apenas um grupo ao nível de 6. Todos os isolados apresentaram crescimento micelial independentemente dos níveis de pH. Ao nível de 5,5, a TCM média foi de 13,48 e os valores variaram de 8,78 a 18,94 mm/dia, sendo que 83,33% dos isolados apresentaram valores da TCM maiores que 10,0 mm/dia. No nível de pH 6,0 a TCM média foi de 10,61 mm/dia e os valores variaram de 6,89 a 13,06 mm/dia, com 66,66 % dos isolados apresentando valores da TCM maiores que 10,0 mm/dia. Ao nível de pH 8,0 a TCM média foi de 10,26 e os valores variaram de 4,06 a 16,50 com 50 % dos isolados apresentando valores da TCM maiores que 10,0 mm/dia e apenas um isolado (MCp-18) apresentou valor da TCM maior que 15,0 mm/dia.

Constatou-se variabilidade entre os isolados de *M. cannonballus* analisados em função dos diferentes níveis de pH (Tabela 3). Os níveis de 5,5 e 6,0 mostraram-se como os mais propícios para o crescimento micelial dos isolados, enquanto o nível de 8 como o menos propício, porém houve crescimento micelial em todos os níveis. Estudos relatam que a faixa de pH que permite um melhor crescimento de *M. cannonballus* quando analisado “in vitro” foi entre 6 e 7, podendo crescer até um pH igual à 9 (MARTYN e MILLER, 1996), sendo seu crescimento inibido com valores de pH inferiores à 4. Entretanto, Andrade et al. (2005) analisando a relação entre frequência de isolamento de *M. cannonballus* em raízes com sintomas de colapso coletadas em áreas produtoras de meloeiro no Rio Grande do Norte e Ceará com o pH do solo, não encontraram correlação significativa.

Houve produção de peritécios em todos os níveis de pH, (5,5, 6,0 e 8,0) (Tabela 3). Ao nível de 5,5, todos os isolados produziram peritécios, o NP médio foi de 69,62 peritécios/cm³ e

os valores variaram de 6,65 a 204,40 peritécios/cm³. Neste nível, 55,55% dos isolados produziram até 50 peritécios/cm³, e cinco isolados produziram mais que 100 peritécios/cm³. No nível de pH 6,0 o NP médio foi de 89,47 e os valores variaram de 0,0 a 258,07 peritécios/cm³, com apenas um isolado que não produziu peritécios. Nesse nível 44,44 % dos isolados produziram até 50 peritécios/cm³ e dois isolados produziram mais que 200 peritécios/cm³. No nível de pH 8,0 o NP médio foi de 1,44 peritécios/cm³, e os valores variaram de 0,0 a 12,66 peritécios/cm³, com 13 isolados que não produziram peritécios.

Quanto ao número de ascósporos (NA) houve produção nos níveis de 5,5 e 6 (Tabela 3). Os resultados indicam que o nível de pH 6,0 foi o mais propício para a produção de peritécios e ascósporos. Observações feitas por Martyn e Miller, (1996) constaram que a faixa de pH que permitiu melhor crescimento de *M. cannonballus* quando analisado “in vitro” foi entre 6 e 7. Os resultados observados para a taxa de crescimento micelial, produção de peritécios e número de ascósporos por isolados de *M. cannonballus* a diferentes temperaturas, diferentes níveis de salinidade e diferentes níveis de pH, mostram que esses isolados obtidos pega-pinto, apresentam alta variabilidade com relação a todas as características avaliadas, demonstrando a capacidade de adaptação as diferentes condições ambientais.

Os isolados de *M. cannonballus* diferiram em relação à taxa de crescimento micelial (TCM), para todos os níveis de pH, com exceção ao nível de pH 6,0 onde não houve diferença entre os isolados. (Tabela 3). Foi verificada a formação de dois grupos distintos de isolados nos níveis de 5,5, e 8, e apenas um grupo ao nível de 6. Todos os isolados apresentaram crescimento micelial independentemente dos níveis de pH. Ao nível de 5,5, a TCM média foi de 13,48 e os valores variaram de 8,78 a 18,94 mm/dia, sendo que 83,33% dos isolados apresentaram valores da TCM maiores que 10,0 mm/dia. No nível de pH 6,0 a TCM média foi de 10,61 mm/dia e os valores variaram de 6,89 a 13,06 mm/dia, com 66,66 % dos isolados apresentando valores da TCM maiores que 10,0 mm/dia. Ao nível de pH 8,0 a TCM média foi de 10,26 e os valores variaram de 4,06 a 16,50 com 50 % dos isolados apresentando valores da TCM maiores que 10,0 mm/dia e apenas um isolado (MCp-18) apresentou valor da TCM maior que 15,0 mm/dia.

Tabela 3. Características fisiológicas, taxa de crescimento micelial (TCM), número de peritécios (NP) e número de ascósporos (NA) em função de diferentes níveis de pH, mensuradas para estimar a variabilidade de isolados de *Monosporascus cannonballus*, oriundos de plantas de pega-pinto em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.

Isolado	Localidade	Características fisiológicas								
		TCM 5,5	TCM 6 (mm/dia)	TCM 8	NP 5,5	NP 6 (ascósporos/peritécios)	NP 8	NA 5,5	NA 6 (%)	NA 8
MCp-01	Limoeiro/CE	8,78b	7,33a	7,00b	8,86b	44,30b	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-02	Limoeiro/CE	9,89b	11,72a	4,06b	137,02 ^a	176,89a	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-03	Limoeiro/CE	13,39b	10,50a	12,17a	13,13b	16,14b	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-04	Limoeiro/CE	12,28b	7,33a	12,67a	10,44b	28,48b	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-05	Limoeiro/CE	11,67b	9,83a	7,78b	14,24b	17,42b	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-06	Assú/RN	17,00a	11,11a	16,50a	14,39b	18,04b	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-07	Assú/RN	18,94a	10,17a	10,61b	18,98b	34,02b	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-08	Assú/RN	10,61b	9,94a	9,67b	41,14b	56,64b	2.53b	0,00b	0,00d	-
MCp-09	Assú/RN	12,78b	13,00a	7,72b	6,65b	4,75c	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-10	Assú/RN	13,00b	12,44a	4,22b	6,80b	0,00c	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-11	Mossoró/RN	15,17a	7,22a	14,61a	12,66b	3,79c	12.66a	0,00b	0,00d	-
MCp-12	Mossoró/RN	12,28b	11,89a	8,83b	87,97 ^a	132,91a	3.01b	0,00b	0,00d	-
MCp-13	Mossoró/RN	14,00b	11,00a	5,11b	85,44 ^a	114,39a	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-14	Mossoró/RN	15,50a	10,67a	16,11a	150,32a	179,59a	0,00b	0,00b	0,00d	-
MCp-15	Mossoró/RN	15,56a	14,11a	13,67a	92,72 ^a	104,58a	6.96a	0,00b	34,17c	-
MCp-16	PauBranco/RN	10,44b	6,89a	8,67b	198,57a	241,14a	0.79b	0,00b	242,20a	-
MCp-17	PauBranco/RN	17,61a	12,78a	9,89b	204,40a	258,07a	0,00b	40,35a	116.17b	-
MCp-18	PauBranco/RN	13,67b	13,06a	15,44a	149,37a	179,27a	0,00b	0,00b	0,00d	-
Médias		13,48	10,61	10,26	69,62	89,47	1,442	2,24	21,81	-

¹Taxa de crescimento micelial em meio BDA sob os níveis de pH de 5,5, 6 e 8; ²Número de peritécios produzidos em meio BDA sob os níveis de pH de 5, 6 e 8; ³Número de ascósporos produzidos em meio BDA sob os níveis de pH de 5, 6 e 8.

Médias originais. Para realização da ANOVA os dados de TCM e ICMF, foram transformados em $(x+0,5)^{0,5}$, enquanto os dados de NP e NA foram transformados em $\text{Log}(x+1)$. As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P = 0,05$).

Constatou-se variabilidade entre os isolados de *M. cannonballus* analisados em função dos diferentes níveis de pH (Tabela 3). Os níveis de 5,5 e 6,0 mostraram-se como os mais propícios para o crescimento micelial dos isolados, enquanto o nível de 8 como o menos propício, porém houve crescimento micelial em todos os níveis. Estudos relatam que a faixa de pH que permite um melhor crescimento de *M. cannonballus* quando analisado “in vitro” foi entre 6 e 7, podendo crescer até um pH igual à 9 (MARTYN e MILLER, 1996), sendo seu crescimento inibido com valores de pH inferiores à 4. Entretanto, Andrade et al. (2005) analisando a relação entre frequência de isolamento de *M. cannonballus* em raízes com sintomas de colapso coletadas em áreas produtoras de meloeiro no Rio Grande do Norte e Ceará com o pH do solo, não encontraram correlação significativa.

Houve produção de peritécios em todos os níveis de pH, 5,5, 6,0 e 8,0 (Tabela 3). Ao nível de 5,5, todos os isolados produziram peritécios, o NP médio foi de 69,62 peritécios/cm³ e os valores variaram de 6,65 a 204,40 peritécios/cm³. Nesse nível 55,55% dos isolados produziram até 50 peritécios/cm³, e cinco isolados produziram mais que 100 peritécios/cm³. No nível de pH 6,0 o NP médio foi de 89,47 e os valores variaram de 0,0 a 258,07 peritécios/cm³, com apenas um isolado que não produziu peritécios. Nesse nível 44,44 % dos isolados produziram até 50 peritécios/cm³ e dois isolados produziram mais que 200 peritécios/cm³. No nível de pH 8,0 o NP médio foi de 1,44 peritécios/cm³, e os valores variaram de 0,0 a 12,66 peritécios/cm³, com 13 isolados que não produziram peritécios.

Quanto ao número de ascósporos (NA) houve produção nos níveis de 5,5 e 6 (Tabela 3). Os resultados indicam que o nível de pH 6,0 foi o mais propício para a produção de peritécios e ascósporos. Observações feitas por Martyn e Miller, (1996) constaram que a faixa de pH que permitiu melhor crescimento de *M. cannonballus* quando analisado “in vitro” foi entre 6 e 7. Os resultados observados para a taxa de crescimento micelial, produção de peritécios e número de ascósporos por isolados de *M. cannonballus* a diferentes temperaturas, diferentes níveis de salinidade e diferentes níveis de pH, mostram que esses isolados obtidos pega-pinto, apresentam alta variabilidade com relação a todas as características avaliadas, demonstrando a capacidade de adaptação as difentes condições ambientais

Todos os isolados de *Monosporascus cannonballus* foram patogênicos a melão, com exceção do MCp-09 (Tabela 4). Houve diferenças entre os isolados quanto ao índice de severidade da doença (ISD), com um valor médio de 42,01%. Através do teste de agrupamento de Scott-Knott, foi possível distinguir dois grupos de isolados com base no ISD. Valores do índice de severidade da doença (ISD), maiores que 50 % foram apresentados por 55,55 % dos isolados, com três isolados registrando valores abaixo de 20 %. Com relação ao comprimento de raiz (CR), houve diferenças entre os isolados para essa variável, com valores variando entre 3,76 cm e 21,75 cm e um valor médio de 11,90 cm. Para essa variável foi verificada a formação

de quatro grupos distintos. Valores de CR menores que 10 cm foram registrados em 38,88 % dos isolados, enquanto valores maiores que 15 cm foram verificados em 22,22 % dos isolados.

Foi observada diferença entre os isolados quanto ao peso de raiz (PFR), com um valor médio de 0,24g. Quatro grupos distintos foram formados, e os valores de PFR variaram de 0,02 a 0,53 g. Valores de CR maiores do que 0,30 g foram registrados em 27,77% dos isolados, enquanto valores iguais ou menor que 0,15 foram observados em 44,44 % dos isolados.

Tabela 4. Patogenicidade de isolados de *Monosporascus cannonballus*, oriundos de plantas de pega-pinto em áreas de cultivo de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, baseada no índice de severidade da doença (ISD), comprimento de raiz (CR) e peso fresco de raiz (PFR).

Isolado	Localidade	Melão			Melancia		
		ISD (%)	CR (cm)	PFR (g)	ISD (%)	CR (cm)	PFR (g)
Testemunha		0,00b	14,20b	0,63a	00,00c	15,00a	0,67a
MCp-01	Limoeiro/CE	50,00a	10,86c	0,26c	37,50b	14,33a	0,40b
MCp-02	Limoeiro/CE	56,25a	9,87c	0,06d	68,75a	10,20b	0,51b
MCp-03	Limoeiro/CE	62,50a	10,84c	0,07d	56,25a	10,30b	0,44b
MCp-04	Limoeiro/CE	56,25a	9,33c	0,24c	93,75a	11,75b	0,16d
MCp-05	Limoeiro/CE	62,50a	10,03c	0,11d	75,00a	11,82b	0,42b
MCp-06	Assú/RN	18,75b	17,52 ^a	0,15d	25,00b	12,20a	0,48b
MCp-07	Assú/RN	18,75b	16,62 ^a	0,48a	68,75a	10,15b	0,23c
MCp-08	Assú/RN	31,25a	13,72b	0,26c	81,25a	11,57b	0,29c
MCp-09	Assú/RN	0,00b	21,75 ^a	0,53a	6,25c	11,55b	0,60a
MCp-10	Assú/RN	37,50a	18,13 ^a	0,48a	37,50b	10,85b	0,31c
MCp-11	Mossoró/RN	25,00b	9,0c	0,13d	87,50a	10,90b	0,27c
MCp-12	Mossoró/RN	50,00a	6,87d	0,02d	43,75b	12,30a	0,26c
MCp-13	Mossoró/RN	50,00a	13,23b	0,39b	68,75a	11,13b	0,24c
MCp-14	Mossoró/RN	50,00a	9,66c	0,05d	68,75a	10,95b	0,31c
MCp-15	Mossoró/RN	31,25a	12,47c	0,44b	62,50a	9,30b	0,39b
MCp-16	PauBranco/RN	12,50b	10,83c	0,35b	68,75a	10,75b	0,16d
MCp-17	PauBranco/RN	62,50a	9,80c	0,15d	31,25b	11,90b	0,59a
MCp-18	PauBranco/RN	81,25a	3,76d	0,20c	43,75b	9,85b	0,55a
Médias		42,01	11,90	0,24	59,92	11,21	0,36

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P = 0,05).

Observa-se que diferentes isolados de uma mesma área foram classificados em grupos distintos com relação ao ISD (Tabela 4). Valores do ISD maiores do que 60% foram registrados em três isolados, MCp-03, MCp-05 e MCp-17, pertencentes a duas localidades diferentes. Apenas um isolado apresentou valor maior que 80%, o MCp-18. Esses isolados que se mostraram como os mais severos a melão, apresentaram também menores valores de peso fresco da raiz e de comprimento, indicando a ação do patógeno na alteração da biomassa das raízes. A infecção causada por *M. cannonballus* começa nas raízes, onde se observam necrose e apodrecimento, tanto na zona da raiz como no colo da planta, com o avanço da infecção, ocorre um escurecimento nos tecidos das raízes primárias e, posteriormente, das secundárias, resultando na perda de massa radicular (MERTELY et al., 1993).

O isolado MCp-09 se mostrou como não patogênico com um ISD de 0%, e com os maiores valores de comprimento e peso de raiz. Valores do ISD menores que 15 % foi

registrado por apenas um isolado, MCp-16, que também mostram maiores valores de comprimento e peso, indicando a relação entre a severidade e essas características. Entretanto, nem sempre as variáveis de biomassa e volume de raízes conseguem refletir diferenças significativas entre tratamentos quando se consideram doenças radiculares, devido à emissão pela planta infectada de novas raízes e brotos, que acabam influenciando as medidas obtidas por essas variáveis (BOX, 1996).

Todos os isolados de *Monosporascus cannonballus* foram patogênicos a melancia. (Tabela 4). Houve diferenças entre os isolados quanto ao índice de severidade da doença (ISD), com um valor médio de 59,92%. Através do teste de agrupamento de Scott-Knott, foi possível distinguir três grupos de isolados com base no ISD. Valores do índice de severidade da doença (ISD), entre 60 e 90 %, foram registrados por 55,55 % dos isolados, com apenas um isolado MCp-04 apresentando valor de ISD maior que 90 %. Em relação ao comprimento de raiz (CR), houve diferenças, com valores variando entre 9,30 cm e 14,33 cm e um valor médio de 11,21 cm. Observou-se a formação de dois grupos distintos. Valores de CR entre 10 e 14 cm, foram registrados em 88,88 % dos isolados, e apenas dois isolados, MCp-15 e MCp-18, apresentaram valores menores que 10 cm.

Os isolados de pega-pinto apresentaram diferença quanto ao peso fresco de raiz (PFR), com um valor médio de 0,36 g. Verificou-se a formação de quatro grupos distintos, e os valores de PFR variaram de 0,16 a 0,60 g. Valores de PFR menores do que 0,30 g foram registrados em 38,88 % dos isolados.

Foi verificado que diferentes isolados de uma mesma área se organizaram em grupos distintos com relação ao ISD em melancia (Tabela 4). Valores do ISD maiores do que 80% foram registrados em três isolados, MCp-04, MCp-08 e MCp-11 pertencentes a três localidades diferentes. Estes isolados apresentaram também menores valores para PFR, entretanto o mesmo não é observado para CR, indicando que a alta severidade da doença reduz mais a massa radicular do que o comprimento das raízes. O isolado MCp-09 apresentou o menor valor de ISD, com 6,25%, paralelamente mostrou também o maior valor de PFR, indicando que a massa radicular foi pouco reduzida quando a severidade da doença é baixa. É importante ressaltar que esse mesmo isolado foi o que não se mostrou patogênico a melão, todavia, estudos posteriores devem ser realizados para se entender melhor o comportamento desses isolados de plantas daninhas.

O número de agrupamentos de isolados obtidos pela análise de Scott-Knott variou conforme a variável considerada (Tabela 4). 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 (BRUTON, 1999; BRUTON, 2000; Mertely, 1991; Mertely, 1993).

A diferença na severidade entre isolados de *M. cannonballus* em relação a infecção de diferentes espécies, pode ser reflexo da variabilidade genética existente entre eles, o que confere a cada um, um grau específico de virulência. Este fator, já foi relatado por Andrade et al. (2005) o qual classificou isolados de *M. cannonballus* obtidos de áreas de meloeiro dos estados do RN e CE em três grupos distintos, de acordo a severidade da doença. Correia et al. 2014 realizando estudo sobre teste de virulência em mudas de meloeiro com isolado de *Monosporascus* agruparam os isolados do fungo em diferentes grupos de virulência.

Tendo em vista que a resistência de plantas é um fator crítico no manejo do colapso do meloeiro (BRUTON, 1999; BRUTON, 2000) e na seleção de fontes de resistência à doença, a existência de variabilidade na virulência entre os isolados de *M. cannonballus* obtidos de espécies daninhas, é um fator de suma importância que deve ser considerado, 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.

Utilizando o conjunto das variáveis analisadas, a análise multivariada da distância quadrada euclidiana por ligações de Ward permitiu a separação dos isolados de *M. cannonballus* de pega-pinto em cinco grupos de similaridade quando considerado um nível dissimilaridade de 80% entre grupos (Figura 4).

O grupo 1 apresenta seis isolados pertencentes a duas localidades diferentes. O grupo 2 possui oito isolados oriundos de três localidades diferentes. O grupo 3 é composto por dois isolados de uma mesma localidade e os grupos 4 e 5 são compostos por apenas um isolado cada. O grupo 1 foi composto basicamente por isolados da mesma localidade, indicando a semelhança dos isolados quanto ao local de origem. Entretanto os isolados, MCp-06 e MCp-07 apesar de serem oriundos da mesma localidade, se organizaram em grupos diferentes. Essas observações permitem inferir que a distribuição dos isolados de *M. cannonballus* de uma mesma área em diferentes grupos de similaridade, indica a ocorrência de alta variabilidade entre os isolados.

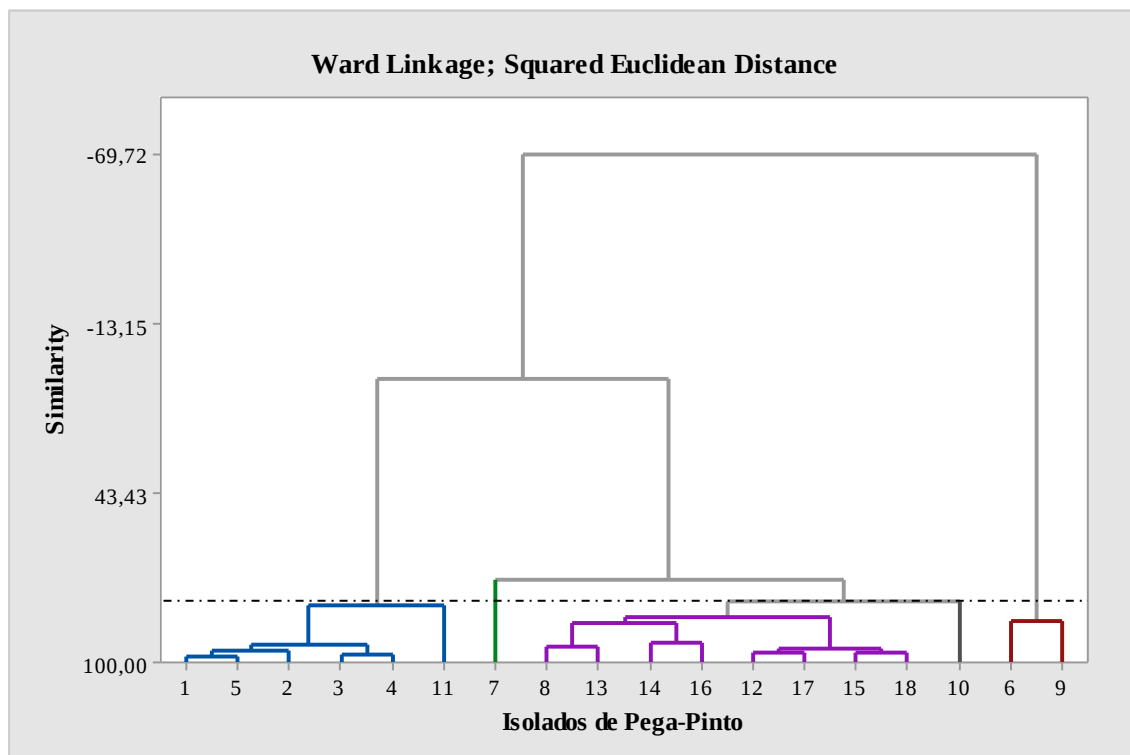


Figura 4. Agrupamento geral de 18 isolados de *Monosporascus cannonballus* oriundos de pega-pinto obtidos em diferentes áreas de cultivo de melão dos estados do Rio Grande Norte e Ceará, baseado na análise da distância quadrada euclidiana pela ligação de Ward, considerando as características fisiológicas e a sensibilidade ao fungicida fluazinam.

A ocorrência dessa alta variabilidade nos isolados de pega-pinto é algo que deve ser mais bem estudado, tendo em vista que esta espécie daninha ocorre comumente em alta frequência durante a entressafra do meloeiro na região, fato que leva a um maior cuidado no manejo de controle desta espécie, já que a mesma pode estar servindo como fonte de sobrevivência e manutenção do patógeno nas áreas produtoras de melão.

4 CONCLUSÕES

1. Existe variabilidade fisiológica nas populações de *Monosporascus cannonballus* oriundas de pega-pinto (*Boerhavia diffusa* L.), em áreas produtoras de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará.
2. Todos os isolados de *M. cannonballus* apresentaram uma baixa sensibilidade ao fungicida fluazinam.
3. Existe variabilidade patogênica entre isolados de *M. cannonballus* oriundos de pega-pinto, tanto em uma mesma área como em áreas diferentes.

5 REFERÊNCIAS

AGROSTAT - Estatísticas de Comercio Exterior do Agronegócio Brasileiro. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROSTAT.html>>. Acesso em dez. 2014.

ALICEWEB/MDIC - Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior/Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Disponível em: <<http://aliceweb.mdic.gov.br/index/home>> Acesso em: 12 ago. 2016.

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

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

BOX, J. Modern methods for root investigations. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.) *Plant roots*. New York: Marcel Dekker, p.193-237, 1996.

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

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.; 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, n.1, p.23-28, 1999.

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

CORREIA, K. C.; SILVA, E. K. C.; CAMARA, M. P. S.; SALES JUNIOR, R.; MIZUBUTI, E. S. G.; ARMENGOL, J.; JIMENEZ, J. G.; MICHEREFF, S. J . Fitness components of *Monosporascus cannonballus* isolates from northeastern Brazilian melon fields. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 03, p. 217-223, 2014.

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

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, n. 2, p. 169-173, 2000.

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.

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**, Saint Paul, v. 77, n. 1, p. 766- 771, 1993.

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.

MICHEREFF, S. J., DOMINGOS E. G. T., ANDRADE, M. M. – Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais / eds. Recife : UFRPE, Imprensa Universitária, 398 p. 2005

NASCIMENTO, P. G. M. L.; SILVA, M. G. O.; FONTES, L. O.; RODRIGUES, A. P. M. S.; MEDEIROS, M. A.; FREITAS, F. C. L. **Levantamento Fitossociológico das comunidades infestantes em diferentes sistemas de plantio de milho em Mossoró-RN**. Agropecuária Científica no Semi-Árido, v. 7, n. 3. p. 01- 09, 2011.

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

Pérez *et al.* "**A família Nyctaginaceae na bacia do rio Balsas, México**". *Polibotánica* (11). ISSN 1405-2768, 2000.

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

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

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

SALES JÚNIOR, R.; SANTANA, C. V. S.; NOGUEIRA, D. R. S.; SIVA, K. J. P. ; GUIMARÃES, I. M. First Report of *Monosporascus cannonballus* on Watermelon in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 2, p. 278, 2010.

SIVANESAN, A. *Monosporascus cannonballus*. **Mycopathologia**. 114:53, 1991.

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

STAMFORD, N. P.; JOSÉ J.V. RODRIGUES; RICHARD J. HECK; DOMINGOS E.G.T. Andrade Propriedades Físicas e Químicas dos Solos cap.3- **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais** / eds. Recife : UFRPE, Imprensa Universitária, 398 p. 2005.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Agrofit- sistema de agrotóxicos fitossanitários.** <

http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> 2016.

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.

MEDEIROS, J. F. et al. Caracterização das águas subterrâneas usadas para irrigação na área produtora de melão da Chapada do Apodi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 3, p. 469-472, 2003.

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**, Saint Paul, v. 77, n. 1, p. 766- 771, 1993.

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.

SIVANESAN, A. *Monosporascus cannonballus*. **Mycopathologia**. 114:53, 1991.

WATANABE, T. *Monosporascus cannonballus*, an ascomycete from wilted melon roots described in Japan. **Transactions of the Mycological Society of Japan**, Kyoto, v. 20, n. 3, p. 312-316, 1979.

WAUGH, M. M., KIM, FERRIN, D. M., STANGHELLINI, M. E. Reproductive Potential of *Monosporascus cannonballus*. **Plant Disease**, Saint Paul, 2003.