



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

LUAN VÍTOR NASCIMENTO

**POTENCIAL DE INÓCULO PARA PATOGENICIDADE DE *Macrophomina*
phaseolina (Tassi) Goid. EM MELOEIRO**

MOSSORÓ

2018

LUAN VÍTOR NASCIMENTO

**POTENCIAL DE INÓCULO PARA PATOGENICIDADE DE *Macrophomina*
phaseolina (Tassi) Goid. EM MELOEIRO**

Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio.

MOSSORÓ

2018

©Todos os direitos estão reservados à 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, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas
da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N244p Nascimento, Luan Vítor.
Potencial de inóculo para patogenicidade de
Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid. em meloeiro /
Luan Vítor Nascimento. - 2018.
35 f. : il.

Orientadora: Márcia Michelle de Queiroz
Ambrósio.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-Árido, Curso de Agronomia, 2018.

1. Cucumis melo. 2. Fungos habitantes do solo 3.
Podridão radicular. I. Ambrósio, Márcia Michelle de
Queiroz, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

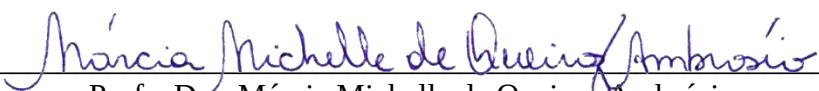
LUAN VÍTOR NASCIMENTO

POTENCIAL DE INÓCULO PARA PATOGENICIDADE DE *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. EM MELOEIRO

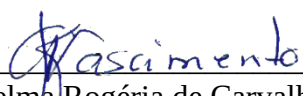
Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Defendida em: 13/09/2018.

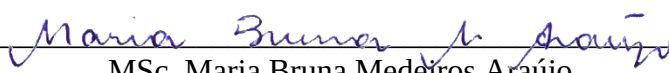
BANCA EXAMINADORA



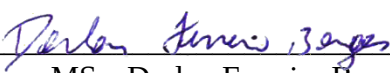
Profa. Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio
(UFERSA)
Presidente



Profa. Dra. Selma Rogéria de Carvalho Nascimento
(UFERSA)
Primeiro Membro Examinador



MSc. Maria Bruna Medeiros Araújo
(UFERSA)
Segundo Membro Examinador



MSc. Darlan Ferreira Borges
(UFERSA)
Terceiro Membro Examinador

Ofereço à minha madrinha Eugênia Nascimento de Carvalho (in memoriam), que pouco acompanhou minha vida acadêmica, mas com certeza seria minha maior incentivadora.

Dedico aos meus pais, Julia Elza do Nascimento e Rui Francisco do Nascimento por todo amor e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, ao Senhor Deus, que me guiou, me guia e continuará me guiando por todos os caminhos, e trilhou toda minha jornada até aqui.

A toda minha Família, em especial aos meus pais, meu irmão Lucas Emanuel Nascimento e minha tia Ruth Paulo do Nascimento Moura, a quem tudo devo por estarem ao meu lado em todas as minhas decisões, me apoiando e dando conselhos.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido, por ter me proporcionado oportunidades muito além do ensino e da pesquisa, contribuindo para minha formação profissional.

À Profa. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio, que me recebeu de braços abertos no grupo de pesquisa, abriu portas, e me instruiu da melhor forma possível, como exemplo de comprometimento e humildade.

Aos membros da banca examinadora, Selma Rogéria de Carvalho Nascimento, Maria Bruna Medeiros Araújo e Darlan Ferreira Borges pela disponibilidade em participar deste processo e pelas valiosas contribuições.

A todos os professores da graduação, que pavimentaram meu caminho acadêmico e profissional, em especial ao Prof. Nildo da Silva Dias, meu primeiro orientador e a quem devo muito do que aprendi, sendo hoje um grande amigo; e a Profa. Elizangela Cabral dos Santos, coordenadora do Curso de Agronomia, a quem recorri para resolver muitos problemas, sempre prestativa e acabou se tornando uma amiga.

À equipe do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia (Gisellya Cruz, Isadora Medeiros, Karol Alves, Shamyra Geórgia, Ednardo Damasceno e Geovane Almeida) que conviveu comigo diariamente e tanto me ajudou durante as pesquisas.

À Louise Guimarães Medeiros Silva, técnica do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFERSA e amiga, que me aguentou, me ensinou e ajudou durante as pesquisas, me fez companhia e ainda me deu conselhos valiosos.

Aos companheiros e amigos do Projeto Caatinga, Anna Letícia, Natália Quirino, Tatianne Alves, Afonso Luiz e Assis Neto, que proporcionaram momentos alegres e divertidos durante os diversos trabalhos e excursões do projeto.

Aos meus colegas e amigos de curso, em especial a Risianne Lima, Joabe Crispim, Mateus Davi, Régis Cavalcante, Tarcísio Filho e Yally Ayaky que se tornaram minha segunda turma durante a segunda parte do curso.

E a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para minha formação pessoal e profissional.

RESUMO

Os patógenos que causam podridão radicular ameaçam a produção de melão nas principais áreas produtoras do Brasil. O fungo *Macrophomina phaseolina* está entre os mais incidentes nas regiões produtoras do Rio Grande do Norte e Ceará e que apresenta difícil controle. A busca por acessos e variedades resistentes, assim como métodos alternativos para controle desse fungo é constante. Para avaliar com segurança os métodos de controle é necessário isolados patogênicos, eficientes métodos de inoculação e potenciais de inóculos que propiciem a infecção na planta. Assim, o presente estudo teve por objetivo verificar o potencial de inóculo ideal para causar podridão radicular no meloeiro. Dois ensaios foram realizados, um deles utilizando arroz como substrato-inóculo de *M. phaseolina*, e outro utilizando substrato areno-orgânico, ambos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos referentes aos potenciais de inóculos (0, 9, 18, 27, 36 e 45 g. L⁻¹ de substrato) e seis repetições. A incidência e a severidade da doença foram avaliados 30 dias após o plantio. O potencial de inóculo 18 g.L⁻¹, tanto em arroz como em substrato areno-orgânico, foi eficiente em promover podridão radicular em meloeiro e pode ser indicado para uso em estudos que necessitem de infestação do solo.

Palavras-chave: *Cucumis melo*. Fungos habitantes do solo. Podridão radicular.

ABSTRACT

Root rot-causing pathogens are considered a major threat for muskmelon production in the Brazil's main producing areas. *Macrophomina phaseolina* is within the most incident fungi in the producing regions of Rio Grande do Norte and Ceará states and hard to control. The pursuit for resistant accessions and varieties, as well as alternative control methods for this fungi is a continuous task. To reliably evaluate control methods we need pathogenic isolates, efficient inoculation methods and inoculum potential that is capable of causing infection in the plant. This way, the present study aimed to assess the ideal inoculum potential to cause root rot in muskmelon. Two trials were carried out in greenhouse, one using rice as inoculum-substrate for *M. phaseolina*, and another one using a sandy-organic substrate, both conducted in a completely randomized experimental design, with six treatments referring to the inoculum potential (0, 9, 18, 27, 36, and 45 g per L of substrate) and six replicates. Disease incidence and severity were evaluated 30 days after planting. The inoculum potential of 18 g.L⁻¹, in rice and sandy-organic substrate, was efficient in promoting root rot in muskmelon, and may be indicated for use in studies that requires soil infestation.

Keywords: *Cucumis melo*. Soilborne pathogens. Root rot.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Substratos contendo discos de meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) com estruturas do fungo. Frasco com arroz (A), frasco com substrato areno-orgânico (B).....	20
Figura 2	–	Frascos com arroz (A) e substrato areno-orgânico (B) infestados.....	20
Figura 3	–	Teste de patogenicidade do isolado Me 248 em meloeiro (A), utilizando a metodologia de inoculação por meio do palito de dente (B).....	21
Figura 4	–	Infestação do substrato comercial Tropstrato HT hortaliças®, com arroz (A) e substrato areno-orgânico (B) infestados com <i>Macrophomina phaseolina</i> para distribuição na cova de plantio.....	21
Figura 5	–	Progressão dos sintomas da podridão radicular (<i>M. phaseolina</i>) em meloeiro. (A) menos de 3 % dos tecidos infectados; (B) 3-10 % dos tecidos infectados; (C) 11-25 % dos tecidos infectados; (D) 26-50 % dos tecidos infectados; (E) mais de 50 % dos tecidos infectados; e (F) planta morta.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Incidência e severidade da podridão radicular em meloeiro, causada por <i>Macrophomina phaseolina</i> , 30 dias após a semeadura, utilizando substrato areno-orgânico como inóculo.....	25
Tabela 2	–	Incidência e severidade da podridão radicular em meloeiro, causada por <i>Macrophomina phaseolina</i> , 30 dias após a semeadura, utilizando arroz como inóculo.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA	Batata dextrose ágar
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
PHS	Patógenos habitantes do solo

LISTA DE SÍMBOLOS

©	Copyright
\$	Cifrão
°	Grau
®	Marca registrada
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Cultura do melão	15
2.2 Patógenos habitantes do solo	15
2.3 Podridão radicular	16
2.3.1 <i>Macrophomina phaseolina</i>	17
2.4 Controle de <i>M. phaseolina</i>	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma das hortaliças de maior popularidade no mundo, e seu consumo vem crescendo nos últimos anos. O Brasil é um dos grandes produtores mundial da fruta, considerado autosuficiente para abastecer o mercado interno, e destinando a maior parte da produção, cerca de 60 %, para exportação. Em 2017, o país exportou 233,6 mil toneladas, movimentando valores de US\$ 162,9 milhões. O país apresenta como principais compradores da fruta Inglaterra, Holanda e a Espanha (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2018).

O Nordeste é a principal região produtora de melão do Brasil. Os estados do Ceará e Rio Grande do Norte juntos asseguram aproximadamente 90 % do que é produzido da fruta no país, com a produção concentrada principalmente na Chapada do Apodi, entre os dois estados (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2017).

Problemas fitossanitários são comuns em grandes áreas agrícolas que apresentam práticas de monocultivo, como são as regiões produtoras de melão do Rio Grande do Norte. Como principais doenças, as causadas por fungos habitantes do solo apresentam bastante incidência nas áreas produtoras de melão do nordeste, podendo ocasionar o abandono de áreas. Diversos gêneros de fungos e, associações destes, podem causar podridões no sistema radicular do meloeiro, dentre eles, os mais isolados de plantas sintomáticas são *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. e *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. (DANTAS et al., 2013; AMBRÓSIO et al., 2015; NASCIMENTO, 2015).

O controle dos patógenos mencionados, assim como da maioria dos habitantes do solo, é difícil, sendo necessário o uso de técnicas de manejo que desfavoreçam o seu desenvolvimento. Tais práticas vão desde a rotação de culturas, controle da irrigação, solarização, controle químico, controle biológico, e ainda o desenvolvimento de cultivares mais tolerantes ou resistentes a estes microrganismos (AZEVEDO, 2011; BEDENDO, 2018; NASCIMENTO et al., 2018). Para estudos de resistência de acessos e cultivares, efeito de produtos químicos e biológicos, entre outros é necessário além do uso de isolados comprovadamente patogênicos, métodos de inoculação e potenciais de inóculo eficientes na infecção da planta.

Diferentes metodologias já foram descritas para estes fins. Uma das mais utilizadas é a infestação do solo com substratos, como arroz e substrato areno-orgânico, contendo estruturas do fungo (FALCÃO et al., 2005; MEDEIROS et al., 2015). Desta forma, esta metodologia simula a infestação do solo por determinado organismo a partir da utilização de substratos no

ato da semeadura. Porém, a maioria dos trabalhos não relata a concentração ideal de inóculo de *M. phaseolina* capaz de causar infecção e sintomas da doença no meloeiro, de forma que se possa avaliar com segurança métodos de controle de *M. phaseolina* na referida cultura.

Diante do exposto, o objetivo do estudo foi determinar o potencial de inóculo ideal para causar podridão radicular no meloeiro, utilizando arroz e substrato areno-orgânico infestados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do melão

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) pertence à família botânica das Cucurbitáceas, compreendendo uma das famílias de hortaliças mais importantes economicamente, estando atrás apenas das Solanaceas (YUSTE-LISBONA et al., 2011). As cucurbitáceas em geral, são culturas de clima quente (SHARMA, KATOCH e RANA, 2016) e por esse motivo a cultura do melão se desenvolve tão bem no Nordeste brasileiro, onde está retida 95,7 % da produção nacional (IBGE, 2018), com ciclo médio de 65 dias e produtividade de até 25 toneladas por hectare. O clima da principal região produtora de melão do país, nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte, é o ideal para a cultura, com temperaturas médias entre 25 e 32 °C (CRUZ et al., 2016).

O melão é a principal atividade econômica do estado do Rio Grande do Norte, que garantiu a liderança na produção brasileira com 354.793 toneladas de fruto produzidas em 2016, seguido do Ceará com 98.533 t e Bahia com 63.049 t. Dentre os principais municípios produtores, destacam-se Mossoró (RN), Tibau (RN), Limoeiro do Norte (CE) e Apodi (RN) com 199.000, 49.600, 45.480 e 40.000 t produzidas em 2016, respectivamente (IBGE, 2018).

Os cultivos sucessivos e a monocultura, práticas comuns nas regiões produtoras de melão do eixo RN-CE, favorecem o aumento da população de patógenos habitantes do solo (NASCIMENTO et al., 2018). Por esse motivo, estas regiões tem apresentado crescente preocupação com o aumento da incidência e severidade de doenças radiculares disseminadas por esses microrganismos (PORTO, 2015).

2.2 Patógenos habitantes do solo

O termo ‘patógenos habitantes do solo (PHS)’ está ligado àqueles microrganismos causadores de doenças em plantas no qual o inóculo, ou seja, estruturas reprodutivas ou vegetativas capazes de infectar o hospedeiro (esporo, micélio, escleródio, células, etc), está presente no solo. Estes patógenos são causadores de diversas doenças, das quais muitas são de difícil detecção e diagnóstico, devido a sua complexidade, muitas vezes causadas por um complexo de microrganismos. O solo, por ser também um ambiente extremamente complexo, torna mais difícil o entendimento dessas doenças (KOIKE et al., 2003).

Os fungos apresentam-se como os PHS que mais causam doenças em plantas, sendo por isso considerado o grupo mais importante (KOIKE et al., 2003). *Fusarium*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* e *Verticillium* estão entre os gêneros de fungo habitantes do solo que afetam e causam doenças em diversas culturas importantes, entre cereais, hortaliças e frutíferas (MIHAJLOVIĆ et al., 2017).

A persistência destes microrganismos no solo está ligada a produção de estruturas de resistência, como clamidosporos, oosporos e escleródios, que permite a sobrevivência por longos períodos, mesmo na ausência de hospedeiros e condições desfavoráveis (KOIKE et al., 2003; NASCIMENTO et al., 2018). Estes patógenos também apresentam grande capacidade saprofítica, sobrevivendo a partir do aproveitamento de nutrientes oriundo da decomposição da matéria orgânica de restos culturais (BEDENDO, 2018). Além disso, a maioria dos PHS apresenta uma gama de hospedeiros, que dificulta o manejo utilizando a rotação de culturas.

2.3 Podridão radicular

A podridão do sistema radicular é causada por diversos PHS, estando muitas vezes associada a um complexo de vários fungos atacando simultaneamente, e por isso está entre as doenças mais comuns causadas por estes fitopatógenos. É considerada, dentre as doenças de fungos habitantes do solo, uma das mais destrutivas da cultura do melão em todo o mundo (LIMA et al., 2005; CHILOSI et al., 2008).

A doença caracteriza-se pela podridão de raízes e colo da planta. Devido ao ataque no sistema radicular, às plantas tem o desenvolvimento comprometido, apresentando amarelecimento nas folhas mais velhas e posterior murchamento devido a deficiência na absorção de água e nutrientes. Plantas jovens, por oferecerem menor resistência, morrem rapidamente. Enquanto que plantas mais velhas, quando atacadas, apresentam produtividade reduzida, podendo ou não morrer. O excesso de umidade aliado às altas temperaturas no solo favorecem a infecção e disseminação da maioria dos patógenos (SOBRINHO et al., 2008; BEDENDO, 2018).

Os fungos *Cylindrocladium*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Thielaviopsis* e *Verticillium* estão entre os principais gêneros que causam doenças no sistema radicular (CORREIA e MICHEREFF, 2018). Em cucurbitáceas, destacam-se *Diaporthe melonis*, *Fusarium* spp., *M. phaseolina*, *Myrothecium roridum*, *Phytophthora* spp. e *Rhizoctonia solani* (PAVAN, REZENDE e KRAUSE-SAKATE, 2016), como agentes causadores da podridão radicular. Nas principais regiões produtoras de melão do Brasil, nos

estados do Ceará e Rio Grande do Norte, os fungos mais isolados de plantas sintomáticas são as espécies *F. solani* e *M. phaseolina* (PORTO, 2015). Andrade et al. (2003), relatou elevada incidência destes fungos em raízes de meloeiro com sintomas de colapso em levantamento realizado em municípios produtores do Rio Grande do Norte e Ceará.

2.3.1 *Macrophomina phaseolina*

O fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. pertence ao filo Ascomycota e classe Ascomycetes. Produz micélio uninucleado, picnídios marrom-escuros, solitários ou agregados, com 100 a 200 µm de diâmetro. A principal fonte de inóculo do fungo são os microescleródios, produzido em grandes quantidades em tecidos atacados, medindo em torno de 100 µm de diâmetro (ALMEIDA et al., 2014). O fungo persiste no solo e em restos vegetais por 3 a 12 anos na forma de microescleródios (SHARMA, KATOCH e RANA, 2016). Estresse hídrico e temperatura superior a 27 °C por vários dias seguidos favorecem a doença. (BIANCHINI, MARINGONI e CARNEIRO, 2005).

M. phaseolina tem uma ampla distribuição geográfica, encontrado principalmente em regiões de clima tropical e subtropical, com clima árido ou semiárido da África, Ásia, Europa, América do Norte e Sul (ISLAM et al., 2012), afetando mais de 500 espécies selvagens e de interesse econômico, como soja (*Glycine max* (L.) Merr.), milho (*Zea mays* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e girassol (*Helianthus annuus* L.) (BIANCHINI, MARINGONI e CARNEIRO, 2005; ALMEIDA et al., 2014; AMBRÓSIO et al., 2015). Cohen et al. (2016) menciona *M. phaseolina* como sendo o fungo mais isolado de áreas produtoras de melancia no Norte de Israel e o principal causador do colapso do meloeiro na região.

Em 2014 foi relatada uma nova espécie do gênero *Macrophomina*, causadora de podridão cinzenta do caule. A nova espécie identificada por Sarr et al. (2014), *M. pseudophaseolina*, foi encontrada em Senegal, isolada de *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, *Arachis hypogaea*, *Hibiscus sabdariffa* L. e *Vigna unguiculata*. Estes autores inicialmente propuseram que a espécie teria ocorrência restrita a Senegal, mas a teoria foi descartada quando Machado et al. (2018), estudando isolados de espécies oleaginosas de diferentes estados (Minas Gerais, Paraíba, Rio Grande do Norte e Bahia), relataram pela primeira vez *M. pseudophaseolina* causando podridão cinzenta em *A. hypogaea*, *G. hirsutum* e *Ricinus communis* L. no Brasil. No meloeiro, até o presente momento, só foi relatado *M. phaseolina* causando a podridão radicular.

Em uma das principais culturas nacionais com mercado internacional, a soja, *M. phaseolina* causa a podridão negra, e está entre as cinco doenças mais importantes da cultura (VIBHA, 2016). No meloeiro, a principal forma de infecção é por meio dos escleródios que estão presentes no solo ou em restos culturais, podendo ainda ser transmitido via sementes infectadas (PEREIRA et al., 2012).

2.4 Controle de *M. phaseolina*

A ameaça causada por esses fitopatógenos habitantes do solo na produção de alimentos deve-se principalmente a dificuldade em controlá-los, devido à produção de estruturas de resistência e ampla gama de hospedeiros. O uso de produtos químicos no manejo destes patógenos, na maioria das vezes, torna-se inviável do ponto de vista técnico e econômico, além de ser muito agressivo ao meio ambiente (LIMA et al., 2005). O brometo de metila, principal fumigante de solo utilizado para controle de PHS por mais de 40 anos, teve seu uso proibido através do Protocolo de Montreal, sendo banido no Brasil desde 2007 (DUNIWAY, 2002; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2018; NASCIMENTO et al., 2018).

Desde então, é crescente a necessidade de métodos alternativos de controle, tais como o uso de microrganismos antagonistas, solarização do solo e o controle cultural, a partir da rotação de cultura e/ou incorporação de material vegetal no solo. Ainda assim, essas técnicas apresentam algumas limitações, por exemplo, quanto à produção de agentes de biocontrole em quantidade suficiente ou a necessidade de manter a cultura principal ausente por um longo período para rotação ou aplicação da solarização (LIMA et al., 2005; NASCIMENTO et al., 2018). Por esses motivos, o desenvolvimento de materiais melhorados geneticamente com características de resistência torna-se uma das principais alternativas para o controle de doenças radiculares.

Os programas de melhoramento, no processo de estudo para o desenvolvimento de novas variedades, além da descoberta de novos acessos com fonte de resistência e a utilização de isolados comprovadamente patogênicos, requerem principalmente formas eficientes de inoculação do microrganismo nas plantas. E por isso há uma necessidade em desenvolver metodologias eficientes quanto à forma de inoculação e o potencial de inóculo para garantir, de forma segura, o resultado do teste da reação de resistência ou susceptibilidade do material avaliado (MEDEIROS et al., 2015). Desta forma, o conhecimento do potencial de inóculo que seja capaz de causar doença na planta é extremamente importante para uma avaliação eficiente de métodos de controle de *M. phaseolina*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Dois ensaios foram realizados em estufa agrícola do Centro de Ciências Agrárias da UFERSA, um ensaio utilizando arroz e outro utilizando substrato areno-orgânico ambos infestados com *M. phaseolina*. Em ambos os ensaios o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos, referentes à quantidade de inóculo (0, 9, 18, 27, 36 e 45 g.L⁻¹ de substrato) e seis repetições.

Os substratos infestados foram preparados no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFERSA, a partir da transferência de cinco discos (6 mm de diâmetro) retirados das colônias cultivadas em meio de cultura BDA (batata dextrose ágar) para frascos contendo arroz com casca e substrato areno-orgânico (Figura 1 e Figura 2), separadamente, ambos previamente esterilizados em autoclave por 2 horas à 120 °C, sendo uma hora por dia, com intervalo de 24 horas entre cada esterilização. O substrato areno-orgânico foi preparado seguindo a proporção de três partes de esterco curtido, uma parte de areia lavada e 2 % de aveia (v/p) (MEDEIROS et al., 2015). O isolado fúngico de *M. phaseolina* utilizado (Me 248) foi mantido preservado pelo método Castellani na coleção micológica do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFERSA, o qual foi selecionado para este trabalho devido a sua elevada agressividade em meloeiro (AMBRÓSIO et al., 2015; MEDEIROS et al., 2015; PORTO et al., 2016). Antes de iniciar os ensaios, a patogenicidade do fungo foi testada em dez plantas de melão, utilizando o método do palito infestado com estruturas do fungo. Todas as plantas apresentaram sintomas de podridão no caule (Figura 3).



Figura 1 Substratos contendo discos de meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) com estruturas do fungo. Frasco com arroz (A), frasco com substrato areno-orgânico (B).

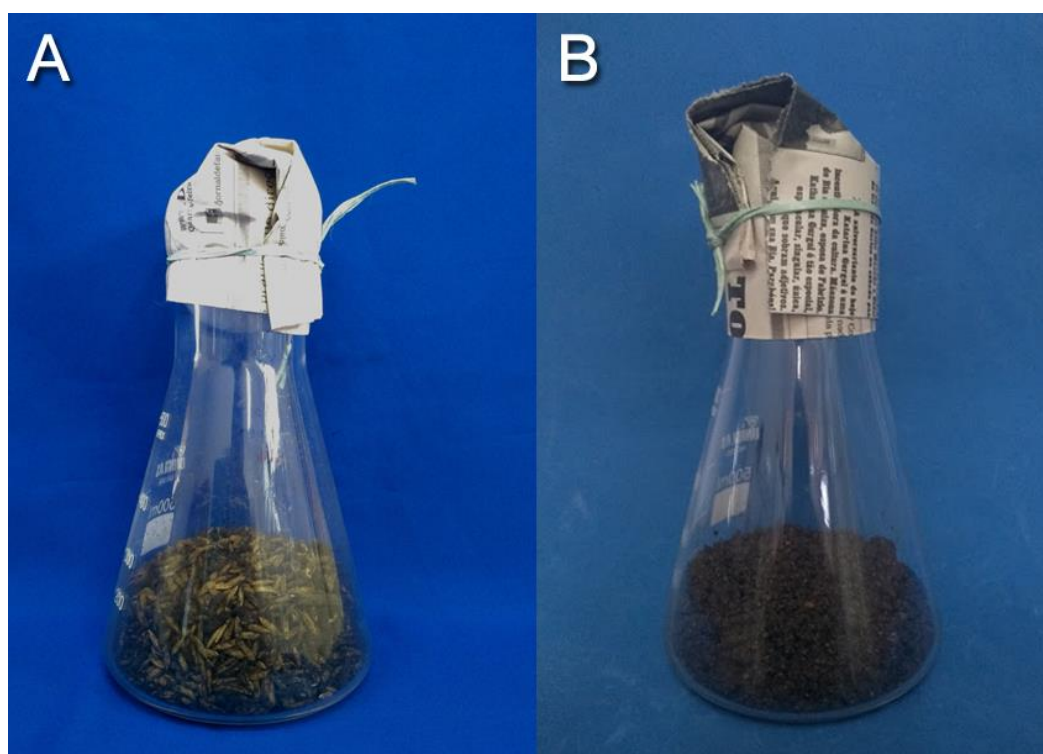


Figura 2 Frascos com arroz (A) e substrato areno-orgânico (B) infestados.



Figura 3 Teste de patogenicidade do isolado Me 248 em meloeiro (A), utilizando a metodologia de inoculação por meio do palito de dente (B).

Cada unidade experimental foi formada por um vaso com capacidade para 0,5 L, contendo substrato comercial Tropstrato HT hortaliças[®], autoclavado (2 horas à 120 °C por dois dias consecutivos, com intervalo de 24 horas entre cada esterilização). A infestação do substrato ocorreu antes da semeadura, com o inóculo sendo colocado na cova de plantio (Figura 4). Foram semeadas, em cada vaso, quatro sementes de melão da cultivar Goldex, sendo feito o desbaste com 14 dias após a semeadura, deixando apenas uma planta por vaso.



Figura 4 Infestação do substrato comercial Tropstrato HT hortaliças[®], com arroz (A) e substrato areno-orgânico (B) infestados com *Macrophomina phaseolina* para distribuição na cova de plantio.

As avaliações foram feitas 30 dias após a semeadura, onde estimou-se a incidência e a severidade da doença. A incidência foi estimada através do percentual de plantas sintomáticas dentro de cada tratamento. Já a severidade da doença foi avaliada utilizando-se uma adaptação da escala de notas descrita por Ambrósio et al. (2015) onde 0 = assintomático, 1 = menos dos 3% dos tecidos infectados, 2 = 3-10% dos tecidos infectados, 3 = 11-25% dos tecidos infectados, 4 = 26-50% dos tecidos infectados, 5 = mais de 50% dos tecidos infectados e 6 = plantas mortas em pré ou pós-emergência (Figura 5).

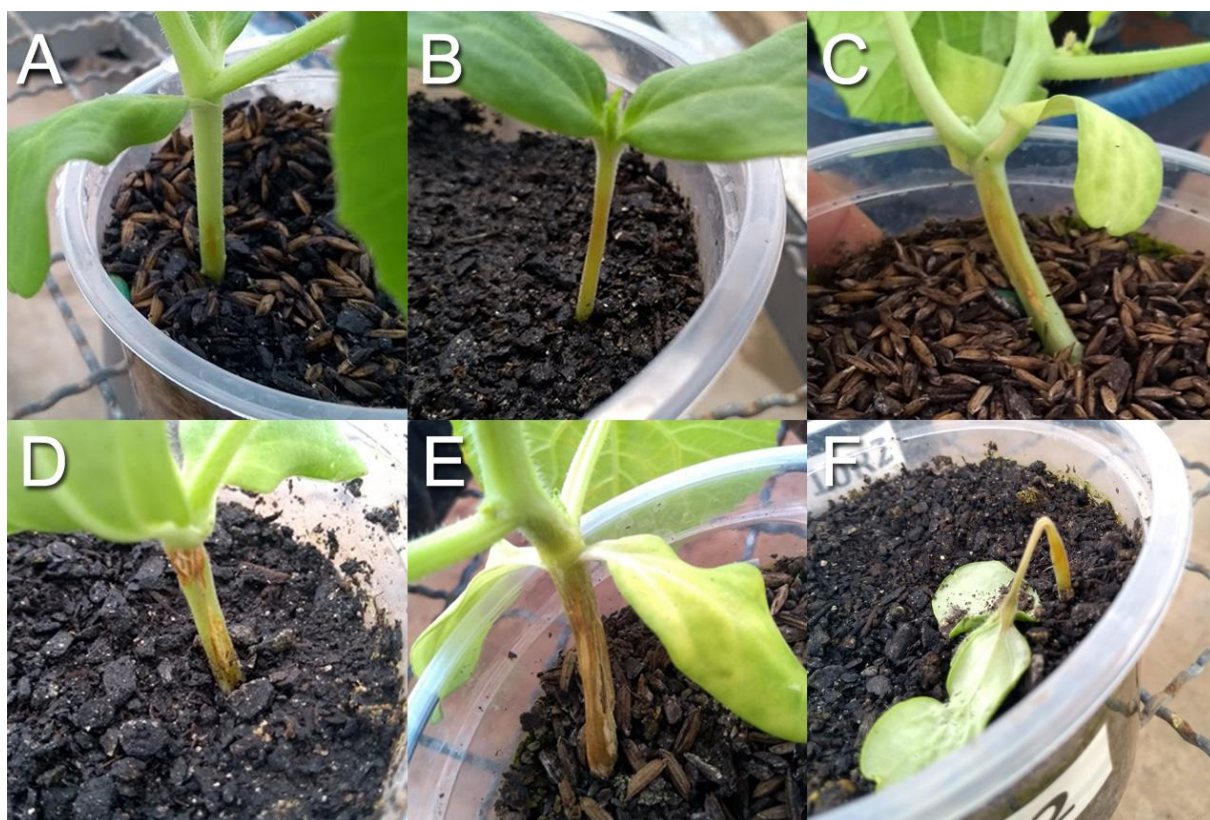


Figura 5 Progressão dos sintomas da podridão radicular (*M. phaseolina*) em meloeiro. (A) menos de 3 % dos tecidos infectados; (B) 3-10 % dos tecidos infectados; (C) 11-25 % dos tecidos infectados; (D) 26-50 % dos tecidos infectados; (E) mais de 50 % dos tecidos infectados; e (F) planta morta.

Plantas sintomáticas foram coletadas e isoladas para confirmação do patógeno. O isolamento foi feito por desinfestação superficial do tecido doente em hipoclorito de sódio (2,5 %) e plaqueamento em meio de cultura BDA (adicionado de tetraciclina $0,05 \text{ g.L}^{-1}$) (HANADA et al., 2010).

Devido aos dados de incidência e severidade da podridão radicular não possuírem distribuição normal foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, complementado com o teste de comparações múltiplas de Dunn, ao nível de significância de 5 %, através do programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado do potencial de inóculo de *M. phaseolina*, em ambos os ensaios, foi significativo estatisticamente ($p \leq 0,05$) quanto a incidência e severidade da podridão radicular no meloeiro.

No ensaio onde utilizou-se o substrato areno-orgânico, o potencial de inóculo mínimo capaz de causar podridão radicular foi 18 g.L⁻¹ (Tabela 1). A infestação com 36 g.L⁻¹ foi a que apresentou maior incidência (83 %) e maior severidade (4,0) da doença. Quando utilizou-se 9 g.L⁻¹ de substrato areno-orgânico infestado com estruturas do patógeno, as plantas não exibiram sintomas de podridão radicular, apresentando comportamento semelhante ao tratamento testemunha. A ausência de podridão radicular onde utilizou-se 9 g.L⁻¹ de substrato infestado pode ter sido influenciada pela quantidade e característica do substrato-inóculo aplicado, devido a baixa concentração de inóculo e volume dentro do vaso. Embora este potencial de inóculo não tenha causado doença no meloeiro, ele já foi utilizado por Sánchez et al. (2013), quando inocularam *M. phaseolina* em morango usando aveia como substrato-inóculo, e apresentou resultados positivos para incidência da podridão do colo. Medeiros et al. (2015) quando testaram métodos para inoculação de *M. phaseolina* em meloeiro com diversos isolados, verificaram que o potencial de inóculo utilizando substrato areno-orgânico infestado, usado uma concentração de 30 g.L⁻¹, não foi eficiente para discriminar os acessos quanto a resistência ou susceptibilidade.

Tabela 1 Incidência e severidade da podridão radicular em meloeiro, causada por *Macrophomina phaseolina*, 30 dias após a semeadura, utilizando substrato areno-orgânico como inóculo.

Potencial de inóculo (g.L ⁻¹)	Incidência (%) ¹	Severidade ²
0	11,0 (0) b	11,0 (0,0) b
9	11,0 (0) b	11,0 (0,0) b
18	23,0 (67) a	23,58 (3,8) a
27	20,0 (50) ab	18,67 (2,0) ab
36	26,0 (83) a	25,5 (4,0) a
45	20,0 (50) ab	21,25 (3,0) ab

Valores seguidos de mesma letra nas colunas não apresentaram diferença estatística entre si pelo teste de comparações múltiplas de Dunn, ao nível de 5 % de probabilidade. ¹Valores referentes à incidência são “rank” médios obtidos através da análise não paramétrica (valores reais entre parênteses). ²Valores referentes à severidade são “rank” médios obtidos através da análise não paramétrica (valores reais entre parênteses, escala de notas de 0 a 6).

Já no experimento utilizando arroz infestado, o potencial de inóculo 9 g.L⁻¹ apresentou podridão radicular, ainda que em baixa intensidade (Tabela 2), enquanto que o potencial de inóculo 36 g.L⁻¹ foi o que apresentou maior incidência da doença (83 %) e maior severidade (5,0). Este também foi o potencial de inóculo que apresentou o maior número de plantas mortas, com cinco plantas, dentre as seis repetições utilizadas, morrendo em pré ou em pós-emergência.

Tabela 2 Incidência e severidade da podridão radicular em meloeiro, causada por *Macrophomina phaseolina*, 30 dias após a semeadura, utilizando arroz como inóculo.

Potencial de inóculo (g.L ⁻¹)	Incidência (%) ¹	Severidade ²
0	10,5 (0) b	10,5 (0,0) c
9	16,5 (33) ab	17,17 (2,0) abc
18	22,5 (67) a	22,25 (3,2) ab
27	16,5 (33) ab	27,17 (1,8) bc
36	25,5 (83) a	16,08 (5,0) a
45	19,5 (50) ab	17,83 (2,0) abc

Valores seguidos de mesma letra nas colunas não apresentaram diferença estatística entre si pelo teste de comparações múltiplas de Dunn, ao nível de 5 % de probabilidade. ¹Valores referentes à incidência são “rank” médios obtidos através da análise não paramétrica (valores reais entre parênteses). ²Valores referentes à severidade são “rank” médios obtidos através da análise não paramétrica (valores reais entre parênteses, escala de 0 a 6).

Em ambos os ensaios, os potenciais de inóculos 18 e 36 g.L⁻¹ foram os únicos que diferiram-se estatisticamente do tratamento controle quando avaliou-se a incidência e a severidade da podridão radicular. A infestação com 45 g.L⁻¹, em ambos os ensaios, apresentou incidência e severidade inferiores à aplicação de 36 g.L⁻¹. Este resultado é contrário ao encontrado por Khanzada et al. (2012), quando estudaram diferentes doses de inóculo de *M. phaseolina* em quiabo, em que as crescentes concentrações de escleródios (0 a 50 escleródios por grama de solo) apresentaram comportamento linear crescente quanto a incidência da doença e mortalidade das plantas. A redução na incidência e na severidade da podridão radicular para o potencial de inóculo mais concentrado pode estar ligada também à competição do próprio microrganismo no substrato, inibindo a germinação de esporos e reduzindo a taxa de infecção das plantas, assim como foi observado por Ragazzi et al. (1986), estudando a relação da concentração de inóculo de *Cronartium flaccidum* com o desenvolvimento de sintomas em *Pinnus* spp., onde o aumento da concentração de esporos (uredosporos) reduziu o aparecimento de sintomas. Os autores explicaram o fato através do “efeito de massa”, o qual inibe a germinação de esporos quando o ambiente apresenta grande quantidade dos mesmos.

A literatura apresenta diversas metodologias para inoculação de *M. phaseolina* em diferentes culturas para testes de patogenicidade, tais como a inserção de palito no colo da planta, inserção de arroz na haste, imersão de raízes em solução de esporos, entre outras (PRATT et al., 1998; CLAUDINO e SOARES, 2014; GÜLER e GÜLDÜR, 2018). No

meloeiro, a inserção de palito no colo da planta é uma das técnicas mais utilizadas (AMBRÓSIO et al., 2015; MEDEIROS et al., 2015; COHEN et al., 2016) embora alguns pesquisadores considerem-a como sendo muito agressiva à planta (MEDEIROS et al., 2015). Assim, a infestação do substrato apresenta-se como o método de inoculação que mais se aproxima das condições de campo, onde os patógenos encontram-se habitando o solo naturalmente. Adicionalmente, a resposta a um determinado potencial de inóculo pode variar de acordo com a cultura e com as características do isolado. E devido às poucas informações encontradas na literatura sobre o assunto, faz-se necessário o desenvolvimento de novos estudos para esclarecer se um mesmo potencial de inóculo de *M. phaseolina* é capaz de reproduzir resultados semelhantes em diferentes culturas.

Diante disto, mesmo não havendo diferença significativa para a incidência e a severidade da podridão radicular entre os potenciais de inóculos aplicados, o potencial 18 g.L^{-1} , em ambos os substratos, apresentou alta incidência (maior que 60 %) e severidade, e pode ser levado em consideração para uso em estudos que dependem de uma inoculação eficiente e que evite que plantas suscetíveis não sejam infectadas (RESENDE, FLOOD e COOPER, 1995), reduzindo os gastos e o tempo para a produção de inóculo, bem como equipamentos para incubação.

5 CONCLUSÃO

O potencial de inóculo 18 g.L^{-1} de *M. phaseolina*, tanto em arroz quanto em substrato areno-orgânico, foi eficiente em promover podridão radicular em meloeiro, e pode ser indicado para uso em testes de patogenicidade, estudos de melhoramento genético e testes de produtos químicos e biológicos utilizados para o controle da doença.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Álvaro Manuel Rodrigues et al. ***Macrophomina phaseolina* em soja**. Londrina: EMBRAPA, 2014. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/989352/1/Doc.346OL.pdf>> Acesso em: 7 de ago. 2018.

AMBRÓSIO, M. M. Q. et al. Screening a variable germplasm collection of *Cucumis melo* L. for seedling resistance to *Macrophomina phaseolina*. **Euphytica**, Holanda, v. 206, n. 2, p. 287-300, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10681-015-1452-x>> Acesso em: 6 set. 2018.

ANDRADE, D. E. G. T. et al. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 4, p. 327-333, 2003. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/242414852_Frequency_of_fungi_associated_with_melon_collapse_and_its_relationship_with_physical_chemical_and_microbiological_characteristics_of_soils> Acesso em: 6 set. 2018.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2017. Cleonice de Carvalho et al. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2017. Disponível em: <http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2017/03/PDF-Fruticultura_2017.pdf> Acesso em: 16 maio 2018.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2018. Benno Bernardo Kist et al. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018. Disponível em: <http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2018/04/FRUTICULTURA_2018_dupla.pdf> Acesso em: 16 maio 2018.

AZEVEDO, Orlando Eduardo Queiroz. **Potencial antagônico de isolados de trichoderma sp aos fungos *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotium rolfsii***. 2011. 24 f. Monografia (Curso de Agronomia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, 2011.

BEDENDO, I. P. Damping-off. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds). **Manual de Fitopatologia**. 5ª ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p. 573.

BEDENDO, I. P. Podridões de raiz e colo. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds). **Manual de Fitopatologia**. 5ª ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p. 573.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds). **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4ª Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 66.

CHILOSI, R. et al. Fungi associated with root rot and collapse of melon in Italy. **EPPO Bulletin**, França, v. 38, n. 1, p. 147-154, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2008.01200.x>> Acesso em: 6 set. 2018.

CLAUDINO, M. R.; SOARES, D. J. Pathogenicity and aggressiveness of *Macrophomina phaseolina* isolates to castor (*Ricinus communis*). **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v. 39, n. 6, p. 453–456, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1982-56762014000600006>> Acesso em: 6 set. 2018.

COHEN, R. et al. Variation in the responses of melon and watermelon to *Macrophomina phaseolina*. **Crop Protection**, Inglaterra, v. 85, p. 46-51, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.03.015>> Acesso em: 6 set. 2018.

CORREIA, K. C.; MICHEREFF, S. J. Fundamentos e desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. (Eds). **Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos**. 1ª Ed. Recife: EDUFRPE, 2018. p. 208.

CRUZ, B. L. S. et al. Efeito de adubos verdes sobre a podridão radicular de fusarium em meloeiro (*Cucumis melo* L.). **Revista de Ciências Agrárias/Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, Belém, v. 59, n. 1, p. 39-46, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4322/rca.1978>> Acesso em: 6 set. 2018.

DANTAS, A. M. M. et al. Incorporation of plant materials in the control of root pathogens in muskmelon. **Revista Agr@mbiente**, Boa Vista-RR, v. 7, n. 3, 2013. Disponível em: <<https://revista.ufr.br/agroambiente/article/viewFile/1257/1198>> Acesso em: 6 set. 2018.

DUNIWAY, J. M. Status of Chemical Alternatives to Methyl Bromide for Pre-Plant Fumigation of Soil. **Phytopathology**, Minnesota, v. 92, n. 12, p. 1337-1343, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.12.1337>> Acesso em: 6 set. 2018.

FALCÃO, V. J. et al. **Estabelecimento de metodologia para contaminação do solo com propágulos dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, e expressão da doença em soja**. Brasília: EMBRAPA, 2005. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CENARGEN/27926/1/cot135.pdf>>. Acesso em: 4 set. 2018.

GÜLER, G. I.; GÜLDÜR, E. Inoculation Techniques For Assessing Pathogenicity of *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* And *Rhizoctonia solani* From Pepper (*Capsicum annum*) Seedling. **Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi**, Turquia, v. 5, n.1, p. 1-8, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.19159/tutad.310211>> Acesso em: 6 set. 2018.

HANADA, R. E. et al. Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (Cacao) and *T. grandiflorum* (Cupuaçu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of black-pod disease. **Fungal Biology**, Holanda, v. 114, n. 11-12, p. 901–910, 2010. Disponível em: <[doi:10.1016/j.funbio.2010.08.006](https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.08.006)> Acesso em 16 set. 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal – 2016**: sistema IBGE de recuperação automática. Rio de Janeiro: IBGE, 2016. Disponível em <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/5457>> Acesso em 24 maio 2018.

ISLAM, M. S. et al. Tools to kill: Genome of one of the most destructive plant pathogenic fungi *Macrophomina phaseolina*. **BMC Genomics**, Londres, v. 13, n. 1, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-493>> Acesso em: 6 set. 2018.

KHANZADA, A. A. et al. Effect of different inoculation methods and inoculum concentration levels of *Macrophomina phaseolina* on Okra. **eSci Journal of Plant Pathology**, Paquistão, v.

1, p. 1-5, 2012. Disponível em: <<http://escijournals.net/index.php/phytopath/article/view/9>> Acesso em: 6 set. 2018.

KOIKE et al. **Vegetable diseases caused by soilborne pathogens**. California: University of California, 2003. Disponível em <<http://anrcatalog.ucanr.edu/pdf/8099.pdf>> Acesso em: 19 maio 2018.

LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P.; VALLE, L. A. C. Controle Genético de Doenças Radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p. 398.

MACHADO, A. R. et al. Bayesian analyses of five gene regions reveal a new phylogenetic species of *Macrophomina* associated with charcoal rot on oilseed crops in Brazil. **European journal of plant pathology**, Holanda, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10658-018-1545-1>> Acesso em: 6 set. 2018.

MEDEIROS, A. C. et al. Métodos de inoculação de *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* em meloeiro (*Cucumis melo*). **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 4, p. 281-286, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2083>> Acesso em: 6 set. 2018.

MIHAJLOVIĆ, M. et al. Methods for management of soilborne plant pathogens. **Pesticides and Phytomedicine**, Belgrade, v. 32, n. 1, p. 9-24, 2017. Disponível em: <<https://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/1820-3949/2017/1820-39491701009M.pdf>> Acesso em: 6 set. 2018.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Substâncias controladas pelo Protocolo de Montreal**. Brasília: MMA, 2018. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/clima/protecao-da-camada-de-ozonio/substancias-controladas-pelo-protocolo-de-montreal>> Acesso em: 8 ago. 2018.

NASCIMENTO, P. M. L. et al. Incidence of root rot of muskmelon in different soil management practices. **European Journal of Plant Pathology**, Holanda, v. 152, n. 2, p. 433-

446, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10658-018-1488-6>> Acesso em: 6 set. 2018.

NASCIMENTO, Paula Gracielly Moraes Lima do. **Comunidade microbiana do solo e podridão radicular em meloeiro em diferentes sistemas de manejo**. 2015. 76 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, 2015.

PAVAN, M. A.; REZENDE, J. A. M.; KRAUSE-SAKATE, R. Doenças das cucurbitáceas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**, São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. p. 810.

PEREIRA, Ricardo Borges; PINHEIRO, Jadir Borges; CARVALHO, Agnaldo Donizete F. de. **Identificação e manejo das principais doenças fúngicas de meloeiro**. Brasília: EMBRAPA, 2012. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/941622/1/ct1121.pdf>> Acesso em: 22 maio 2018.

PORTO, M. A. F. et al. Feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) no controle da podridão radicular do meloeiro causada por associação de patógenos. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 42, n. 4, p. 327-322, 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v42n4/0100-5405-sp-42-4-0327.pdf>> Acesso em: 16 set. 2018.

PORTO, Maria Alice Formiga. **Associação de *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani* causando podridão radicular em meloeiro sob efeito de adubos verdes**. 2015. 72 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, 2015.

PRATT, R. G. et al. Pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* to Mature Plant Tissues of Alfalfa and White Clover. **Plant Disease**, Minnesota, v. 82, p. 1033–1038, 1998. Disponível em: <<https://doi.org/doi:10.1094/PDIS.1998.82.9.1033>> Acesso em: 6 set. 2018.

RAGAZZI, A.; FEDI, I. D.; MESTURINO, I. *Cronartium flaccidum* on *Pinus* spp.: relation of inoculum concentration to symptom development. **European Journal of Forest Pathology**,

Alemanha, v. 16, p. 16-21, 1986. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1986.tb01048.x>> Acesso em: 6 set. 2018.

R DEVELOPMENT CORE TEAM, R. **A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. 2013.

SARR, M. P. et al. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. **Phytopathologia mediterranea**, Itália, v. 53, n. 2, p. 250-268, 2014. Disponível em: <<http://www.fupress.net/index.php/pm/article/view/13736>> Acesso em: 6 set. 2018.

RESENDE, M. L. V.; FLOOD, J.; e COOPER, R. M. Effect of method of inoculation, inoculum density and seedling age at inoculation on the expression of resistance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) to *Verticillium dahliae* Kleb. **Plant Pathology**, Inglaterra, v. 44, n. 2, 374–383, 1995. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1995.tb02790.x>> Acesso em: 6 set. 2018.

SÁNCHEZ, S. et al. First report of crown rot of strawberry caused by *Macrophomina phaseolina* in Chile. **Plant Disease**, Minnesota, v. 97, n. 7, p. 996-996, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1094/PDIS-12-12-1121-PDN>> Acesso em: 6 set. 2018.

SHARMA, A.; KATOCH, V.; RANA, C. Important diseases of cucurbitaceous crops and their management. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of cucurbits: Growth, cultural practices, and physiology**. Boca Raton: CRC Press, 2016. p. 574.

SOBRINHO, Raimundo Braga et al. **Produção integrada de melão**. Fortaleza: EMBRAPA, 2008. Disponível em <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_3493.pdf> Acesso em: 20 maio 2018.

VIBHA. *Macrophomina phaseolina*: The Most Destructive Soybean Fungal Pathogen of Global Concern. In: KUMAR, P.; GUPTA, V.; TIWARI, A.; KAMLE, M. (Eds). **Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices**. Suíça: Springer, 2016. p. 469.

YUSTE-LISBONA, F. J. et al. Genetic linkage map of melon (*Cucumis melo* L.) and localization of a major QTL for powdery mildew resistance. **Molecular Breeding**, Holanda, v.

27, n. 2, p. 181-192, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11032-010-9421-5>>
Acesso em: 6 set. 2018.