

# 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

Erika V. Medeiros<sup>1</sup>, Rui S. Júnior.<sup>1</sup>, Sami J. Michereff<sup>2</sup> & Marcos R. Barbosa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Cx. Postal 137, CEP 59625-900, Mossoró, RN, e-mail: evmbio@hotmail.com; <sup>2</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife, PE

(Aceito para publicação em 04/10/2006)

Autor para correspondência: Érika Valente de Medeiros

---

MEDEIROS, E.V., SALES JUNIOR, 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 31:500-504. 2006.

## RESUMO

O fungo *Monosporascus cannonballus* é um importante patógeno radicular do meloeiro na região Nordeste, onde causa a doença denominada colapso. Como não existem informações sobre os níveis populacionais de ascósporos de *M. cannonballus* em solos brasileiros, realizou-se este trabalho com o objetivo de comparar as densidades de ascósporos em amostras solo de 15 áreas não cultivadas de Caatinga e 15 áreas produtoras de melão do Rio Grande do Norte e do Ceará. Em todos os solos analisados foram detectados ascósporos de *M. cannonballus*, sendo que as populações nas áreas não cultivadas variaram de 0,18 a 18,30 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo e nas áreas cultivadas com meloeiro de 0,50 a 26,04 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo. Não houve diferença significativa ( $P=0,05$ ) na densidade média de ascósporos entre solos não cultivados e cultivados. Entre as áreas cultivadas, a densidade média de ascósporos foi significativamente superior nas áreas com histórico de colapso causado por *M. cannonballus*, comparado às áreas sem histórico da doença. Pelos resultados alcançados há indícios que *M. cannonballus* não foi introduzido no Brasil por materiais de propagação, mas já era habitante natural dos solos de Caatinga antes da chegada da cultura do meloeiro.

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

## ABSTRACT

**Quantification of *Monosporascus cannonballus* ascospores in non-cultivated soils of Caatinga and melon producing fields in Rio Grande do Norte and Ceará States**

The fungus *Monosporascus cannonballus* is an important melon root pathogen in the Northeast of Brazil, where it causes a disease called collapse. As information on population levels of *M. cannonballus* ascospores in Brazilian soils does not exist, this study aimed to compare ascospore density between soil samples of 15 non-cultivated areas of the Caatinga and 15 soil samples of melon producing areas in the States of Rio Grande do Norte and Ceará. Ascospores of *M. cannonballus* were detected in all soil samples analyzed. The density of the ascospores varied from 0.18 to 18.30 ascospores.g<sup>-1</sup> of soil in non-cultivated Caatinga soil. Ascospore density in areas cultivated with melon varied from 0.50 to 26.04 ascospores.g<sup>-1</sup> of soil. There was no significant statistical difference ( $P=0.05$ ) in the ascospore average density between cultivated and non-cultivated soil. Among the cultivated areas, the ascospore average density was significantly higher in the areas with a history of collapse caused by *M. cannonballus* when compared with areas without a disease history. There is evidence that *M. cannonballus* was not introduced in Brazil by propagation material, but is possibly a natural inhabitant of non-cultivated soils of Caatinga.

**Additional keywords:** *Cucumis melo* L., melon collapse, ascospore extraction, inoculum.

---

O fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker (*Ascomycota*, *Sordariomycetidae*) é um importante patógeno radicular do meloeiro (*Cucumis melo* L.) na região Nordeste, o principal pólo produtor brasileiro (Andrade *et al.*, 2005). Isoladamente ou em associação com outros

patógenos causa a doença denominada colapso ou declínio, cujos 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, como consequência da necrose do sistema radicular e perda de muitas raízes secundárias e terciárias (Martyn & Miller, 1996).

De fase assexuada ainda desconhecida, *M. cannonballus* é um ascomiceto habitante do solo, que

---

\*Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró RN. 2005.

apresenta peritécios globosos, pretos, com ascos clavados a piriformes, contendo apenas um ascósporo por asco. Os ascósporos são asseptados, globosos, pretos, lisos, com parede espessa, medem de 30 a 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Sivanesan, 1991) e têm capacidade de sobreviver no solo por longos períodos na ausência de hospedeiro, constituindo o inóculo primário para as infecções radiculares (Martyn & Miller, 1996; Stanghellini *et al.*, 1996; Waugh *et al.*, 2003).

O monitoramento do inóculo de *M. cannonballus* no solo é uma medida que pode auxiliar no manejo do colapso do meloeiro (Mertely *et al.*, 1993; Waugh *et al.*, 2003). Como inexitem meios seletivos para isolamento desse organismo, o método da extração física pela flotação de sacarose tem sido aplicado com várias modificações para detecção e quantificação dos ascósporos no solo (Stanghellini & Rasmussen, 1992; Mertely *et al.*, 1993; Beltrán *et al.*, 2005).

No Brasil, *M. cannonballus* foi detectado pela primeira vez em 2002, em áreas de cultivo de melão nos estados do Rio Grande do Norte (RN) e Ceará (CE) (Sales Jr. *et al.*, 2003). Em levantamentos conduzidos nessa região no ano seguinte, o fungo foi isolado de 30% das áreas apresentando colapso (Andrade *et al.*, 2005), evidenciando a magnitude do problema e a necessidade da adoção de medidas integradas de manejo da doença. Como não existem informações sobre os níveis populacionais de ascósporos de *M. cannonballus* em solos brasileiros, objetivou-se nesse trabalho quantificar e comparar as densidades de ascósporos em solos não cultivados de Caatinga e em solos de áreas produtoras de melão do RN e CE.

Amostras de solo foram coletadas em 15 áreas não cultivadas de Caatinga e 15 áreas produtoras de melão, localizadas na região semi-árida dos estados do RN e CE, no período de março a abril de 2005 (Tabela 1). Cada amostra foi composta por cinco sub-amostras, coletadas em zig-zague, à profundidade de 10 a 20 cm, onde se encontra a maior concentração de ascósporos de *M. cannonballus* (Mertely *et al.*, 1993). Nas áreas produtoras de melão, foram obtidas informações sobre o histórico da ocorrência de colapso causado por *M. cannonballus*.

As amostras de solo foram secas em ambiente coberto e depois peneiradas em malha de 2 mm para retirada de resíduos. De cada amostra de solo foram retiradas seis sub-amostras, constituindo as repetições, das quais os ascósporos de *M. cannonballus* foram extraídos pelo método de flotação de sacarose, conforme Beltrán *et al.* (2005). Inicialmente, as amostras foram peneiradas em uma malha de 250  $\mu\text{m}$ , eliminando-se as partículas retidas. Uma amostra de 20 g de solo peneirado foi colocada em 500 ml de água, agitada durante 5 min e depois passada por peneiras com malhas de 75 e 30  $\mu\text{m}$ . As partículas retidas na malha de 30  $\mu\text{m}$  foram lavadas em água corrente e centrifugadas a 900 g, durante 4 min. O sobrenadante foi descartado e as partículas foram dissolvidas em 40 ml de solução de sacarose a 50% e centrifugadas a 900 g, durante 2 min. As partículas restantes foram dissolvidas em solução de sacarose a 50% e

centrifugadas. O sobrenadante foi passado por uma malha de 30  $\mu\text{m}$  e as partículas retidas distribuídas em placas de Petri, procedendo-se à contagem dos ascósporos característicos em um microscópio estereoscópico a 60x.

Os dados obtidos foram transformados em  $\sqrt{x+1}$  e submetidos à análise de variância. As médias dentro das áreas de Caatinga e dentro das áreas cultivadas foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $P=0,05$ ), enquanto o teste *t* para amostras independentes ( $P=0,05$ ) foi utilizado na comparação das médias entre áreas de Caatinga e cultivadas, bem como entre áreas com e sem histórico da doença dentro das cultivadas.

Ascósporos de *M. cannonballus* foram detectados em todos os solos analisados do RN e do CE, incluindo áreas não cultivadas de Caatinga e cultivadas com meloeiro (Tabela 1), confirmando a observação de que esse fungo é habitante de solos de regiões quentes, áridas e semi-áridas (Martyn & Miller, 1996; Cohen *et al.*, 2000; Pivonia *et al.*, 2002; Stanghellini *et al.*, 2004).

As populações em áreas não cultivadas variaram de 0,18 a 18,30 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo, sendo que em 60% das áreas o nível populacional foi superior a 3 ascósporos.g<sup>-1</sup> rama de solo. Em áreas cultivadas com meloeiro, as populações variaram de 0,50 a 26,04 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo e 40% das áreas apresentaram níveis superiores a 3 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo (Tabela 1). Esses níveis populacionais são muitos elevados quando comparados aos registrados em outros estudos em que a mesma metodologia de extração foi utilizada. No Arizona (EUA), 76% das áreas cultivadas com meloeiro e com histórico da doença apresentaram até 3 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo e somente 3% das áreas apresentaram 6 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo, o máximo registrado. Além disso, a média de duas áreas de deserto sem cultivo foi de 1,08 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo (Stanghellini *et al.*, 1996). O nível populacional máximo de *M. cannonballus* no Texas (EUA) foi de 14,40 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo (Mertely *et al.*, 1993), na Califórnia (EUA) foi de 2,10 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo (Radewald *et al.*, 2004) e na Espanha foi de 2,34 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo (Beltrán *et al.*, 2005), todos em áreas cultivadas com meloeiro.

Houve diferença significativa ( $P=0,05$ ) nos níveis populacionais de ascósporos de *M. cannonballus* entre as áreas não cultivadas (Caatinga), bem como entre as áreas cultivadas com meloeiro. Por outro lado, não foi constatada diferença significativa na densidade média de ascósporos entre solos não cultivados (4,27 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo) e cultivados (5,25 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo), assemelhando ao registrado no deserto do Arizona (Stanghellini *et al.*, 1996).

Entre as áreas cultivadas com meloeiro, a densidade média de ascósporos foi significativamente superior nas áreas com histórico de colapso causado por *M. cannonballus* (7,94 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo) comparado às áreas sem histórico da doença (2,17 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo), divergindo do verificado no Arizona, onde populações similares foram observadas em campos com e sem histórico de colapso (Stanghellini *et al.*, 1996).

**TABELA 1** - População de ascósporos de *Monosporascus cannonballus* em amostras de solo provenientes de ecossistema de Caatinga e áreas de produção de meloeiro dos estados do Rio Grande do Norte e Ceará

Ambiente	Código	Local	Histórico de colapso <sup>1</sup>	População ( ascósporos.g solo) <sup>2</sup>
Solo de Caatinga não cultivado	C-01	Mossoró, RN	-	18,30 a
	C-02	Km 0, RN	-	7,00 b
	C-03	Baraúnas, RN	-	6,82 b
	C-04	Tabuleiro das Russas, CE	-	5,92 c
	C-05	Tabuleiro das Russas, CE	-	5,04 c
	C-06	Assú, RN	-	4,34 d
	C-07	Mossoró, RN	-	3,67 d
	C-08	Lagoa do Piató, RN	-	3,12 d
	C-09	Baraúnas, RN	-	3,10 d
	C-10	Lagoa Virgem, RN	-	2,58 e
	C-11	Assú, RN	-	1,81 e
	C-12	Macau, RN	-	1,60 e
	C-13	Pendências, RN	-	0,31 f
	C-14	Macau, RN	-	0,22 f
	C-15	Alto do Rodrigues, RN	-	0,18 f
	Média	-		4,27 A
Solo cultivado com meloeiro	M-01	Km 0, RN	+	26,04 a
	M-02	Baraúnas, RN	+	11,98 b
	M-03	Baraúnas, RN	+	7,58 c
	M-04	Km 0, RN	+	6,06 d
	M-05	Tabuleiro das Russas, CE	-	5,77 d
	M-06	Tabuleiro das Russas, CE	+	5,50 d
	M-07	Mossoró, RN	-	2,73 e
	M-08	Assú, RN	-	2,61 e
	M-09	Mossoró, RN	+	2,54 e
	M-10	Macau, RN	+	1,98 e
	M-11	Quixeré, CE	+	1,87 e
	M-12	Mossoró, RN	-	1,78 e
	M-13	Assú, RN	-	1,19 f
	M-14	Assú, RN	-	0,64 f
	M-15	Baraúnas, RN	-	0,50 f
	Média	-		5,25 A

<sup>1</sup>(-) = sem registro de ocorrência de colapso causado por *M. cannonballus*; (+) = com registro de ocorrência da doença.

<sup>2</sup>Médias originais. Para efeito de análise, as médias foram transformadas em raiz ( $x + 1$ ). Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada ambiente de origem não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P=0,05$ ), enquanto que as médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem significativamente entre si pelo teste t para amostras independentes ( $P=0,05$ ).

Um rápido aumento na densidade do inóculo de *M. cannonballus* no solo tem sido associado com a morte das raízes do meloeiro, a partir de duas semanas da colheita e atingindo o máximo com dois a quatro meses após a morte das plantas, o que pode ser consequência da redução nos níveis de nutrientes disponíveis e estímulo à formação de

estruturas reprodutivas (Waugh *et al.*, 2003; Stanghellini *et al.*, 2004; Beltrán *et al.*, 2005). Outros fatores, como temperatura, umidade do solo, e manejo da cultura, também exercem grande influência sobre a população de *M. cannonballus* no solo. Elevadas densidades de ascósporos têm sido registradas em solos com temperaturas entre 25 e 30

°C (Pivonia *et al.*, 2002; Waugh *et al.*, 2003) e sem saturação de umidade (Beltrán *et al.*, 2005). Em estudo realizado no Texas, o manejo intensivo da cultura do meloeiro, como cultivos sucessivos sem rotação, uso de irrigação por gotejamento e de cobertura plástica (“mulch”), propiciou um rápido aumento da densidade de inóculo de *M. cannonballus* quando comparado ao manejo tradicional, caracterizado pelo uso da rotação de culturas com milho e cebola, irrigação por sulco e solo descoberto (Mertely *et al.*, 1993).

Como o colapso do meloeiro é considerado uma doença monocíclica devido ao patógeno não possuir uma fase anamórfica conhecida e formar ascósporos principalmente no final do ciclo da cultura, a densidade inicial de inóculo de *M. cannonballus* no solo poderia ser relevante para prever os riscos futuros de doença no campo (Beltrán *et al.*, 2005). Ao avaliarem o potencial reprodutivo de *M. cannonballus* no solo, Waugh *et al.* (2003) concluíram que campos eram considerados problemáticos quando apresentavam no mínimo 2 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo. Caso esse limiar de risco fosse considerado nas áreas avaliadas no RN e CE, 67% das áreas não cultivadas e 60% das cultivadas teriam risco de serem problemáticas quanto à incidência de colapso. No entanto, 20% das áreas cultivadas (M-05, M-07 e M-08) com níveis populacionais superiores ao limite de risco (2 ascósporos.g<sup>-1</sup> de solo) não apresentaram histórico de ocorrência do colapso causado por *M. cannonballus* (Tabela 1), o que reforça a abordagem de Mertely *et al.* (1993), na qual a densidade de inóculo é apenas um dos componentes do potencial de inóculo desse microrganismo, que envolve também a viabilidade e a infectividade dos ascósporos.

Embora os ascósporos de *M. cannonballus* possam ser extraídos do solo, não germinam ou raramente germinam em condições de laboratório, o que dificulta determinar quantitativamente a viabilidade de ascósporos de populações residentes no solo (Stanghellini *et al.*, 1996). A infectividade dos ascósporos é difícil de ser avaliada em populações residentes, pois cada propágulo possui sua infectividade inerente, que é influenciada por vários aspectos do solo, como condições de temperatura e umidade, fontes e níveis de nutrientes disponíveis, e atividade microbiana (Stanghellini *et al.*, 1996; Pivonia *et al.*, 2002; Waugh *et al.*, 2003; Beltrán *et al.*, 2005). Além disso, a planta hospedeira também exerce influência sobre a infectividade dos ascósporos de *M. cannonballus*, pela qualidade e quantidade de exsudatos radiculares estimulantes liberados, bem como pelo nível de predisposição à infecção devido ao estresse hídrico (Pivonia *et al.*, 1997). Portanto, existem muitas influências sobre o potencial de inóculo que podem resultar na ausência de correlação entre densidade populacional de *M. cannonballus* no solo e intensidade do declínio no cultivo (Stanghellini *et al.*, 2004).

Com os resultados alcançados nesse estudo foi demonstrado que *M. cannonballus* não foi introduzido no Brasil por materiais de propagação, mas já era habitante natural dos solos semi-áridos de Caatinga antes da chegada da cultura do meloeiro. As densidades populacionais verificadas nas áreas não cultivadas constituem um alerta

para o potencial destrutivo que pode representar o colapso do meloeiro com a expansão ou abertura de novas áreas de plantio, principalmente considerando que a migração para áreas novas de Caatinga é uma prática comum dos produtores quando a produtividade é comprometida devido a doenças radiculares. Outro aspecto importante a considerar é que, a densidade de ascósporos de *M. cannonballus* detectada no solo é um indicativo do risco, mas não o fator determinante para a ocorrência de epidemia de colapso, pois a viabilidade e a infectividade desses propágulos é influenciada por vários fatores. Como o inóculo de *M. cannonballus* já existia quando a cultura do meloeiro foi introduzida em áreas de Caatinga desmatadas e os níveis de incidência do colapso nos cultivos se mantiveram em níveis pouco alarmantes até 2002, o aumento significativo da doença pode estar associado à mudança na tecnologia de produção. Nos últimos anos, nas áreas de produção de melão do RN e CE têm sido adotadas tecnologias que preconizam a exploração intensiva, tais como monocultura, irrigação por gotejamento, aumento da densidade de plantio e uso de cobertura plástica (“mulch”), que comprovadamente propiciam as condições favoráveis para o aumento da infectividade dos ascósporos de *M. cannonballus* e do desenvolvimento do colapso (Bruton, 1998). Portanto, há necessidade de estudos sobre fatores que não permitam ao inóculo do fungo presente nas áreas expressar sua máxima potencialidade, representada pela infecção do hospedeiro e desenvolvimento de epidemias do colapso.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, D.E.G.T., MICHEREFF, S.J., BIONDI, C.M., NASCIMENTO, C.W.A. & SALES JR., R. Freqüência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. *Summa Phytopathologica* 31:326-331. 2005.
- BELTRÁN, R., VINCENT, A., SALES JR., R., GARCÍA-JIMÉNEZ, J. & ARMENGOL, J. Population dynamics of *Monosporascus cannonballus* ascospores in marsh soils in eastern Spain. *European Journal of Plant Pathology* 113:357-365. 2005.
- BRUTON, B.D. Soilborne diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: McCreight, J. (Ed.) *Cucurbitaceae '98*. Alexandria. International Society of Horticultural Science. 1998. pp.143-166.
- COHEN, R., PIVONIA, S., BURGER, Y., EDELSTEIN, M., GAMLIEL, A. & KATAN, J. Toward integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. *Plant Disease* 84:496-505. 2000.
- MARTYN, R.D. & MILLER, M.E. *Monosporascus* root rot and vine decline: an emerging disease of melon worldwide. *Plant Disease* 80:716-725. 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* 77:766-771. 1993.

- PIVONIA, S., COHEN, R., KAFKAFI, U., BEM-ZE'EV, I.S. & KATAN, J. Sudden wilt of melons in southern Israel: fungal agents and relationship with plant development. *Plant Disease* 81:1264-1268. 1997.
- 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.
- RADEWALD, K.C., FERRIN, D.M. & STANGHELLINI, M.E. Sanitation practices that inhibit reproduction of *Monosporascus cannonballus* in melon roots left in the field after crop termination. *Plant Pathology* 53:660-668. 2004.
- SALES JR., R., OLIVEIRA, O.F., SENHOR, R.F. & ALVES, M.Z. *Monosporascus cannonballus* agente causal do colapso em plantas de melão no Rio Grande do Norte, Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 28:567. 2003.
- SIVANESAN A. *Monosporascus cannonballus*. *Mycopathologia* 114:53-54. 1991.
- STANGHELLINI, M.E. & RASMUSSEN, S.L. A quantitative method for the recovery of ascospores of *Monosporascus cannonballus* from field soil. *Phytopathology* 82:1115. 1992.
- STANGHELLINI, M.E., KIM, D.H. & RASMUSSEN, S.L. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. *Phytopathology* 86:509-514. 1996.
- STANGHELLINI, M.E., WAUGH, M.M., RADEWALD, K.C., KIM, D.H., FERRIN, D.M. & TURINI, T. Crop residues destruction strategies that enhance rather than inhibit reproduction of *Monosporascus cannonballus*. *Plant Pathology* 53:50-53. 2004.
- WAUGH, M.M., KIM, D.H., FERRIN, D.M. & STANGHELLINI, M.E. **Reproductive potential of *Monosporascus cannonballus***. *Plant Disease* 87:45-50. 2003.